



Szent István Egyetem
Mezőgazdaság - és Környezettudományi Kar
Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet
Halgazdálkodási Tanszék

**Mézgás éger (*Alnus glutinosa* L.)
toboz
penészedésgátló hatásának tesztelése
az ikrakezelésben**

Készítette: Nagy Tímea Melinda
Évfolyam: Ökotoxikológus MSc

Belső konzulens: Dr. Müller Tamás
Beosztása: tudományos főmunkatárs

Belső konzulens: Dr. Bokor Zoltán
Beosztása: tudományos munkatárs

Gödöllő
2013

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék.....	2
1. Bevezetés	4
1.1. Célkitűzések.....	6
2. Irodalmi áttekintés.....	7
2.1. A vízi penész (<i>Saprolegnia</i> és <i>Achlya</i> fajok).....	7
2.2. A vízi penész ellen használt vegyszerek	7
2.2.1. Malachitzöld.....	7
2.2.2. Formalin	8
2.3. Alternatív kezelések a vízi penész ellen	9
2.4. A <i>Saprolegnia</i> és a pH	10
2.5. Mézgás éger (<i>Alnus glutinosa</i>).....	11
2.5.1. A mézgás éger általános jellemzése.....	11
2.5.2. Jelentősége, felhasználása	12
2.5.3. Égertobozok pH csökkentése	13
2.5.4. Mézgás égerben található hatóanyagok	14
2.6. Tannin	15
2.6.1. Tannin leírása.....	15
2.6.2. Tannin felhasználása a halgazdálkodásban.....	16
2.7. Tesztállatok szaporodásbiológiai sajátosságai	17
2.7.1. A ponty (<i>Cyprinus carpio</i>).....	17
2.7.2. Az ezüstkárász (<i>Carassius auratus</i>).....	18
3. Módszerek.....	20
3.1. Égertobozok gyűjtése.....	20
3.2. Égertobozok pH csökkentésének vizsgálata	20
3.3. Ikrabeszerzés	21
3.4. Ikrakezelés 1.	22
3.5. Ikranyerés a második kísérlethez	24
3.6. Ikrakezelés 2.	25
4. Eredmények	27
4.1. Égertobozok pH csökkentésének vizsgálata	27
4.2. Első ikrakezeléses vizsgálat eredményei	28
4.2.1. pH vizsgálat.....	28

4.2.2. Penészedési százalék.....	29
4.2.3. Kelési százalék.....	32
4.3. Második ikrakezeléses vizsgálat eredményei	34
4.3.1. Penészedési százalék.....	34
4.3.2. Kelési százalék	38
4.3.3. A kikelt lárvák mortalitási százaléka kezelésenként.....	42
5. Értékelés és következtetések	43
6. Összefoglalás	45
7. Köszönetnyilvánítás	47
8. Irodalomjegyzék.....	48
9. Nyilatkozat	50

1. Bevezetés

Évezredek óta használnak gyógynövényeket a gyógyászatban, de a kémiai tudomány fejlődésével egyre inkább háttérbe szorultak. Azonban az utóbbi évtized során egyre többen részesítik előnyben a természetes készítményeket a szintetikus szerekkel szemben, mert az alkalmazott szintetikus szerek mellékhatásait megismerve egyre több szert tiltanak be. Emiatt is egyre sürgetőbb alternatív megoldásokat találni bizonyos kereskedelmi forgalomból kivont kémiai készítmények kiváltására.

A gyógynövényes kivonatok használatánál előny, hogy viszonylag könnyen megtermeszthetők vagy gyűjthetők, olcsók, és könnyen előállíthatóak, valamint nem szükséges oldataik készítéséhez és tárolásához különleges eszközigény. Mivel természetes alapú anyagokról van szó, így a felnem-használt mennyiségek megsemmisítése sem okoz számottevő problémát. Hátrányként jelentkezhet az alkalmazásukhoz szükséges információ hiánya, mert kevés tudományosan elismert eredménnyel rendelkezünk. Tisztázatlanok a hatóanyagok és kísérő anyagok egymásra gyakorolt hatása, további problémát jelent a hatóanyag tartalom pontos meghatározása. Fontos, hogy a gyógynövények hatóanyag értékeit nem csak a klimatikus és földrajzi hatások befolyásolják, hanem a gyűjtésük fenológiai időpontja is, emiatt használatuk botanikai ismereteket is megkíván.

Hazánk vezető szerepet játszott az indukált halszaporítás technológiájának kidolgozásában és elterjesztésében a világon. A gazdaságilag fontos halfajainkat ponty (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), fehér busa (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844), amur (*Ctenopharygodon idella* Valenciennes, 1844), a ragadozó fajok közül a harcsa (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758), a süllő (*Stizostedion lucoperca* Linnaeus, 1758) és a csuka (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) kivétel nélkül indukált szaporítással állítják elő az ország keltetőházaiban.

Az indukált szaporítás során létrejövő nagymennyiségű ikra zavartalan embriogenezisének biztosításához különböző technológiai berendezések szükségesek. A tógazdasági keltetőházakban ún. Zuger-üveges (vagy az utóbbi időben elterjedőben van a Mac-Donald üveges) inkubáló rendszert használnak, amelynek lényege, hogy az indukált szaporítás során nyert nagymennyiségű (200 ezer – 2 millió) fejlődő embriót tartalmazó ikrát, a hallárvák keléséig üvegedényekben inkubálják. Az átfolyó, vagy recirkulációs rendszerekben a leggyakrabban előforduló ikrakárosítók a vízi penészgombák (*Saprolegnia spp*). A megjelenő penészgombák a nem megtermékenyült ikrán jó táptalajt találnak, és igen gyorsan felszaporodnak. A kialakult gombafonalakhoz élő, megtermékenyített ikraszemek is hozzá tapadnak, és azokat is behálózza a penész. A penészgomba

hifák egyfelől áttörve az ikrahéjon elpusztítják az embriót, másfelől az ikrahéjon megtelepedő gombatelepek megakadályozzák a fejlődő embriók oxigénfogyasztását, amely az embriók elhalásához, vagy torz keléséhez vezet. A vízi penész ezekkel a folyamatokkal hatalmas károkat okozhat, ezért az ikrát kezelni kell gombaölő szerekkel (HORVÁTH et al., 2000). A napi gyakorlatban számos olyan szintetikus készítményt alkalmaznak, amelyek az állatok egészsége, az állati eredetű élelmiszerek minősége, valamint az ember egészsége szempontjából is egyaránt kedvezőtlenek (SOKORAY-VARGA, 2010). A szakemberek eddig erre a célra főként malachitzöldes vagy formalinos kezelést alkalmaztak.

Az Európai Parlament és a Tanács 1907/2006/EK rendelet 31. cikke alapján készített biztonsági adatlapok szerint, mindkét szerről elmondható, hogy halakra és vízi szervezetekre erősen mérgező, mutagén hatású anyag, de karcinogén hatásuk korlátozott mértékben bizonyítható. Az Európai Unió egyértelmű törekvése ezen szerek betiltása, azonban ma még nincs (vagy csak tesztelés alatt) olyan szer, ami kiválthatná használatát. A fenti gondolatsorból következően célunk volt a gyakorlati használatban lévő környezetkárosító anyagok kiváltására olyan természetes anyagokat találnunk, amelyek megfelelő hatásúak, azonban nagy mennyiségben sem okoznak természetvédelmi problémát.

Tanszékünkön korábban számos gyógynövényes kezelést próbáltak ki az ikrakezelés során, mezei kakukkfűvel, diófa levelével, tormával és centenellával, azonban sajnos egyikkel sem tudtak a formalin kezeléshez hasonló jó eredményeket elérni.

Az akvarisztikában az akváriumi víz pH beállítására gyakran használják a mézgás égerfa tobozainak oldatát. Jelen dolgozatomban célul tűztem ki az éger toboz oldatának hatását felmérni az ikrakezelésben is.

1.1. Célkitűzések

Az előzetes pozitív kutatási eredmények után **főcélkitűzésem** volt megvizsgálni, hogy:

- A mézgás égertoboza valóban megakadályozza-e a penészedést az ikrakeltetés során?

További célkitűzések:

- Tájékozódni, hogy milyen hatóanyagok lehetnek a tobozban.
- Milyen mértékű pH csökkenést okozhat az alkalmazásuk különböző keménységű vizekben?
- Okozhatja-e a pH csökkenés a penészedésgátló (fungicid vagy fungisztatikus) hatást?
- Vízcsérés és vízcsere nélküli Petri-csészés kísérleti rendszerben különböző koncentrációjú égertobozos oldatok tesztelése és összehasonlítása a gyakorlatban gyakran használt formalinnal szemben.
- Megvizsgálni a tobozból kioldódó anyagok lehetséges toxikus hatásait az ikrára és a kikelt lárvára.
- Tesztelni, hogy van-e hatásbeli különbség a különböző földrajzi helyekről (Gödöllő, Dunaújváros, Hannover (Németország)) gyűjtött tobozoknak?
- A gyakorlatban is használható, megfelelő koncentráció beállítására ajánlástétel.

Összefoglalásként elmondható, hogy a végső, jövőbeli célunk egy olyan, egyszerű ikrakezelési eljárás kidolgozása, amely a keltetőházi szakemberek számára könnyen megvalósítható bármely ivadéknevelő rendszerben.

Fontos, hogy az új alternatíva könnyen hozzáférhető és olcsó legyen, így nagymértékben hozzájárulhat a keltetési költségek csökkentéséhez. Ily módon pedig a gazdaságokat is érdekeltté lehetne tenni a környezetkímélő szerek használatában.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A vízi penész (*Saprolegnia* és *Achlya* fajok)

A vízi penész az egyik legrégebben ismert hal-és ikrakórokozó, mely a természetes vizeken és tógazdaságokban egyaránt előfordulhat. Okozói a *Saprolegnia* és az *Achlya* családba tartozó penészgomba fajok. Szaporodásuk spórával történik. Mikroszkopikus nagyságú gombák, de a gombafonalak tömege szabad szemmel is jól láthatóak. Ezeket a fonalakat hifának, a hifák által képzett vattaszerű fonadékot pedig micéliumoknak nevezzük. Keltetés során a gombák az ikraszemeket is károsítják, nagy károkat okozva ezzel (LAJKÓ és TASNÁDI, 2001).

Orosz kutatók a tokféléken (*Acipenseridae*) végzett megfigyeléseik során 42 féle vízi penész fajt mutattak ki (CZECZUGA et al., 1995), ahol a különböző fajok ikráit, eltérő troficitású vizekből származó mintákkal kezelték. A kutatók a minták kiértékelése során megállapították, hogy a kisebb méretű patakokban és tavakban jelentősebb számú (19-37) penészfaj található, amíg a folyókban valamivel kevesebb (17-32), és a nagyobb méretű tavakban található a legkevesebb (17-18) penészfaj.

Érzékenyebb fajnak a sőregtokot (*Acipenser stellatus*), a kecségét (*A. ruthenus*), a sima tokot (*A. nudiventris*), valamint a vágótokot (*A. gueldenstaedtii*) írták le. Kevésbé érzékeny fajok a viza (*Huso huso*), és a perzsa tok (*A. persicus*).

A kísérletsorozat bebizonyította, hogy nem csak a vízminőség befolyásolja jelentősen a vízi penész fajok jelenlétét, de kártételük nagymértékben függ a halfajok érzékenységétől is (CZECZUGA et al., 1995).

2.2. A vízi penész ellen használt vegyszerek

2.2.1. Malachitzöld

A malachitzöld vagy másik nevén Viktória-zöld egy mesterséges festék. A kereskedelemben előforduló változata az aromás vegyületek nagy csoportjába tartozó bázisnak, tetrametildiamido-trifenilkarbinolnak sósavas sója, vagy cinkkloriddal képezett kettős sója. E sók többnyire vízben könnyen oldódnak és a vízoldatból körisbogár-zöld színű nagy prizmákban vagy táblákban kristályosodnak. Intenzív zöld színűek (<http1>).

A malachitzöld egy erős és toxikus fertőtlenítőszer, amely halaknál a náluk előforduló gombás és mikrobiális fertőzések kezelésére szolgál. A malachitzöld a halakra és a vízi

szervezetekre erősen mérgező, mutagén hatású anyag. A malachitzöld toxicitása a hőmérséklet növekedésének és a pH csökkenésének, illetve a fény erősségének hatására növekszik. Ezen kívül fő metabolitja (az LMG- leucomalachit zöld) megtalálható a malachitzölddel kezelt halakban (CULP et al., 2002), amely több évre visszamenőleg kimutatható, így élelmiszerbiztonsági szempontból sem kedvező. Irodalmi adatok szerint, a malachitzöld több mint 90%-a akkumulálódik a halak izomszöveteiben. A LMG-leuco malachitzöld ráadásul hosszú ideig tárolódik azokban (BAUER et al., 1988). De nem csak az állatokra nézve jelent veszélyt, hanem fitotoxikus mivolta révén a vízi növényeket és környezetüket is károsítja (CARRINGTON, 1988). További negatív hatása, hogy a letális dózis és az ajánlott dózis mértéke sok esetben nagyon közel van egymáshoz.

A szakembereket az Európai Unió új szabályozása változtatásra kényszeríti, hiszen a malachitzöldet a haltermelés minden további lépéséből kizárták, mert akkumulálódik a halak szervezetében és karcinogén hatását is kimutatták, így a halat elfogyasztó emberre is káros hatással lehet (SVOBODOVA és VYKUSOVA, 1997).

2.2.2. Formalin

A formalin a formaldehid 30-40%-os vizes oldata, erős fertőtlenítő és konzerváló szer. A szobahőmérsékleten színtelen gáz halmazállapotú formaldehid belélegezve toxikus hatású. Vizes oldata a legtöbb baktériumot és gombát elpusztítja, a spórákat is beleértve. Szemölcsök kezelésére is alkalmazzák, erős bőrszáritó hatása miatt. A szövetek és sejtek tartósításához kiváló vegyület. Mérgező, rákkeltő hatású. Levegőben való maximális koncentrációja 0,1ppm. Ennél magasabb koncentráció esetén a szem irritációját, a nyálkahártya égető érzését, asztmás embereknél a tünetek erősödését és fejfájást okozhat. Az USA-ban, mint lehetséges rákkeltő anyagot tartják számon (<http2>).

Az Európai Unió egyre több megszorítást, és ellenőrzést vezet be a szerrel kapcsolatban, amely már igen kis mennyiségben is kárt okoz az élő szervezetekben (MÉSZÁROS et al., 2009). Az Európai Parlament és a Tanács 1907/2006/EK rendelet 31. cikke alapján készített biztonsági adatlapok szerint, a malachitzöldről és a formalinról is elmondható, hogy halakra és vízi szervezetekre, planktonikus élőlényekre erősen mérgező, mutagén hatású anyagok, karcinogén hatásuk korlátozott mértékben bizonyítható.

Azonban az intenzív ikrakeltetés, és halnevelés mellett elengedhetetlen a gombaölő szerek használata. Az Amerikai Egyesült Államokban, 1991-ben betiltották a malachitzöld használatát, mivel annak nem csak karcinogén, hanem teratogén hatását is kimutatták. Bár a formalin használata

közel azonos mértékben környezetkárosító, mégis engedélyezték lazacfélék (*Salmonidae*), valamint csukafélék (*Esocidae*) ikrájának kezeléséhez (SCHREIER et al., 1995).

2.3. Alternatív kezelések a vízi penész ellen

Az USDA Mezőgazdasági Kutatószolgálatának munkatársai vizsgálatokat végeztek rézszulfáttal a halakat pusztító halpenész, illetve a halikrát károsító gomba (*Saprolegnia spp.*) ellen. A kutatók a rézszulfáttal végzett kezelést hatékonynak találták, és megállapításuk szerint a néhány hektár területű tavakban valójában ez az egyetlen praktikus kezelési mód a kártevők ellen. A vegyszert könnyű használni, hatékony, olcsó és veszélytelen a felhasználóra nézve. A terápiás alkalmazását az USA Élelmiszer-és Gyógyszerügyi Hivatala akvakultúrákban még nem hagyta jóvá, de az engedélyeztetési procedúrát már elindították. A vegyszert az USA Környezetvédelmi Hivatala engedélyezte algairtasra és puhatestűek elleni védelemre. A haltenyésztők jelenleg a halak mellékízét okozó cianobaktériumok és a parazita laposférgeket terjesztő csigák ellen használják a rézszulfátot (CRAIG és HARGREAVES, 2003) ([http3](#)).

Az ikraszemek penészedése ellen a jódozatlan konyhasóval is érhetünk el eredményeket, továbbá az ikra penészedése ellen xanthakridin használata is javasolt ([http4](#)).

Egy másik készítmény Teruo Higa, Japán kutatóprofesszor által kifejlesztett effektív mikroorganizmus-keverék, amelyet az ikrakeltetés során alkalmaznak. A készítményben található fotoszintetizáló baktériumok, tejsavbaktériumok, élesztő, *Actinomyces* gomba, valamint fermentáló gombák nagy fajgazdagságban és megfelelő arányban. A mikroorganizmusok kedvező hatása: a kiszorítás - a kedvezőtlen vagy kórokozó hatású mikroorganizmus kiszorítása, a dominancia-mikroflóra működésének áthangolásával rothadás helyett erjedés megy végbe a bioaktív anyagok termelése - antioxidánsok, vitaminok termelése, amely segíti a hasznos szervezetek működését. A készítmény előnye, hogy nem kiirtja a vízben élő mikroorganizmusokat, hanem a kórokozók életfeltételeit szünteti meg, a hasznos szervezetek pedig megmaradnak (HIGA, 2007).

Több gyógynövénnyel is próbálták már kiváltani a malachitzöld használatát. Használtak már például mezei kakukkfűvet, diófa levelét, tormát és centenellát, (SOKORAY-VARGA, 2010) de sajnos eggyel sem tudtak hasonlóan jó eredményeket elérni. Igaz, hogy a vizsgált anyagok mindegyike hatott a penészesedés ellen, a kontroll értéknél szignifikánsan kisebb százalékban telepedett meg rajtuk a vízi penész. Az eredmények alapján azonban a só-koncentrációs oldatok még mindig jobbnak bizonyultak, mint a gyógynövényes oldatok, ha a kelést, illetve az elúszást is

figyelembe vették. Voltak olyan oldatok, amelyek hatására a penész ugyan nem jelent meg, ám a megtermékenyített ikraszemek sem keltek ki. A gyógynövények közül a kakukkfű bizonyult a leghatásosabbnak, azonban a kelési és elúszási értékek elmaradtak a várt értékektől, amit valószínűleg az oldat csersav tartalma magyaráz. Ezért a gyógynövényes kivonatok alkalmazásánál figyelembe kell venni, hogy egyes hatóanyagok túlzott használata a halakat és az ikrát is károsíthatja (SOKORAY-VARGA, 2010).

A gyógynövények nagy része tartalmaz csersavakat, amelynek jelentős része tannin. A csak tanninkezelés is túlzásba vihető, amely a halkeltetés sikerességét jelentősen befolyásolja (FODOR, 2009).

2.4. A *Saprolegnia* és a pH

Több kutatót is foglalkoztatott a kérdés, hogy a pH csökkentésével nem lehetne megakadályozni a *Saprolegnia* megjelenését. Japán kutatók 2 vízi penész fajt vizsgáltak. (*S. diclina* és *S. parasitica*) Bár a *S. parasitica* izolátumok nagyon alacsony pH-n, pH=3,8-nál már nem csíráztak ki, de a *S. diclina* még pH=3,5-nél is kicsírázott (KITANCHAROEN et al., 1996). Az eltérő faji különbségek mellett további probléma, hogy az embriók és hallárvák már nem élnék túl az ilyen alacsony pH-t, mivel amerikai kutatók által végzett kísérlet szerint az ikra keltethetősége és a lárva túlélése szignifikánsan csökkent pH=5,9-nél és annál alacsonyabb pH-n a tűzcsele (*Pimephales promelas*) halfaj esetében (McCORMICK et al., 1989).

2.5. Mézgás éger (*Alnus glutinosa*)

Rendszertani besorolása:

Ország: Növények (*Plantae*)

Törzs: Zárvatermők (*Angiospermatophyta*)

Osztály: Kétszikűek (*Dicotyledonopsida*)

Rend: Bükkvirágúak (*Fagales*)

Család: Nyírfafélék (*Betulaceae*)

Nemzetség: Éger (*Alnus*)

Alnemzetség: *Alnus*

Faj: Mézgás éger (*Alnus glutinosa*)

Linnaeus, 1758

(HORTOBÁGYI, 1979)

2.5.1. A mézgás éger általános jellemzése

A mézgás éger, vagy más nevén enyves éger, patakok folyók menti liget- és láperdőkben hazánkban gyakori fafaj. Középmagas, kúpos koronát nevelő, lombhullató, egylaki fa. Levelei kicsípett csúcsúak, alakjuk visszás tojásdad, fiatalon enyves tapintásúak (1. ábra). Rügyei hosszúkas alakúak, ragadósak. Kérge sokáig sima felszínű, barnásszürke színű. A porzós barkák a nyíréhez hasonlóak, azonban nagyobbak, bordópiros fellevelekkel, sárga portokokkal rendelkeznek. A termős virágok tojásdad barkában állnak, melyek idővel elfásodnak, megérve tobozszerűek, azonban bennük nem magokat, hanem apró hártyásszárnyú terméseket találunk.

Európa vizes élőhelyein mindenütt elterjedt, a vízparti területek kísérő fafaja. A magas talajvízszintet és az időszakos vízborítást jól elviseli (ÉBERHARDT és SZENDRŐDI, 2005).



1. ábra: A mézgás éger jellegzetes toboza és levele (Fotó: Nagy Tímea, 2013)

2.5.2. Jelentősége, felhasználása

A mézgás éger felhasználása széleskörű. Fája nem korhad a vízben, ennek köszönhetően a vízparti városokban (pl.: Amszterdam) már évszázadok óta használják építőanyagként ([http6](#)).

A leveleit és a kérgét tavasszal (márciustól júniusig) gyűjtik, majd megszárazítják. A szárított leveleket és kérget elsősorban főzet és forrázat formájában hasznosítják. Kérgének hatóanyagai gyulladásgátló tulajdonsággal rendelkeznek, elsősorban szájüregi panaszok esetén alkalmazzák. Fogíny-, torok- és mandulagyulladás, fog- vagy torokfájás esetén a mézgás éger kérgéből készült főzettel érdemes öblögetni. Ez a főzet vérzéscsillapító hatású, a sebgyógyulást is elősegíti (VARRÓ, 1991). A frissen zúzott leveleiből készült meleg borogatás daganatosztató hatású, megszünteti a duzzanatokat, enyhíti a fájdalmakat, főzetük felfrissíti a lábat, a sarokra helyezve megszünteti a láb sajgó fájdalmát. A mellre felrakott friss levelek enyhítik a szoptatós anyák fájdalmas mellfeszülését is ([http7](#)).

A népi gyógyászatban a nem múló hasmenés, vastagbélhurut, hasfájás és vérhas kezelésére a következő főzet ajánlott: 1 liter vízben 50g égertobozt főzünk meg, az így kapott teát naponta háromszor, forrón kell inni (NOSZALY és NOSZALY, 1959).

Növényi kivonata számos gyógyhatású készítmény összetevője, például a szervezet tisztítását segíti elő a baktériumtól és a vírusoktól a „CHLAMYNYL STAR” étrend kiegészítő, amely szintén tartalmaz mézgás éger kivonatot ([http8](#)).

Az égertobozt az akvárium vízhőmérsékletének csökkentésére, savanyításra is használják az akvarisztikában. Érdekes törzsoldatot készíteni, úgy hogy a tobozokat előtte kiáztatjuk, bár általában az akvárium vizébe dobva is használják. Az égertoboz további előnye, hogy festi a vizet, amely sok faj számára igen előnyös, ívatáshoz sokszor nélkülözhetetlen ([http9](#)) ([http10](#)).

2.5.3. Égertobozok pH csökkentése

A pH csökkentő hatása miatt az akvaristák gyakran áztatják a tobozokat az akvárium vízében. Általában 2-3 db tobozt dobnak egy 20 literes akvárium vízébe, vagy a jobb eredmény érdekében a tobozokat 150 ml forró desztillált vízzel leöntik, majd 15-20 percig állni hagyják. A sötétbarna színű, savas (pH=3,5) kivonatot átszűrik, majd ezt öntik az akváriumba ([http10](#)).

Svéd kutatók szintén az égertobozok erőteljes pH csökkentésről számoltak be. Kísérletük során 4 pohárba 3 dl csapvízbe 0,1,2 és 6 db tobozt áztattak és mérték a víz kémhatásának változását 0.,12.,36.,84. órában. A következő fotón (2. ábra) jól láthatóak a mért eredmények. 84 óra után nekik is jelentős pH csökkenést sikerült elérniük (pH=4,11) a 6 db toboz/3 dl esetben ([http11](#)).



2. ábra: Égertobozok áztatása során mért pH eredmények ([http11](#)).

Azonban fontos megemlíteni, hogy a víz keménysége jelentős mértékben befolyásolhatja ezeket az eredményeket. A kemény vizek nehezebben savanyíthatók, mert a karbonátkeménység pufferelő, pH-kiegyenlítő hatású. A lágy, sószegény víz azonnal savas reakciót mutat már kis mennyiségű sav hozzáadásával is ([http12](#)).

2.5.4. Mézgás égerben található hatóanyagok

A gyógynövénykivonatok kinyeréséhez szuperkritikus extrakciót végeznek. A gyógynövények extrakciójához oldószerként általában szén-dioxidot használnak. A szén-dioxid alacsony kritikus hőmérséklete miatt alkalmas biológiailag aktív, hőérzékeny anyagok kinyerésére. Az őrölt, szárított növényeket az extraktor töltettartó betétcsövembe mérik. A henger alakú fémbetét két végét szűrővászonnal és fém szűrőlapok határolják. Az oldószertároló tartályból a szén-dioxid hűtött vezetéken keresztül az extraktorba táplálják adagolószivattyú segítségével, miközben az extraktor köpenyében levő csőkiágán keresztül a megfelelő hőmérsékletet eléri. Az extraktorba belépő szén-dioxid már szuperkritikus állapotban van, mivel nyomása és hőmérséklete meghaladja a kritikus értékeket. Az oldószer kioldja az extraktorban található növényi részből az oldható komponenseket. Az oldott anyagokban feldúsult oldószer ezután nyomáscsökkentő szelepen és hőcserélőn keresztül jut el az első szeparátorba, ahol a beállított nyomás függvényében az oldott anyag és az oldószer részlegesen vagy pedig teljes mértékben elválik egymástól. Tehát a két szeparátorral és a megfelelő nyomásértékek beállításával lehetőség nyílik a kivonatok frakcionálására is. Miután a szén-dioxid és az általa kinyert anyagok maradék nélkül elváltak egymástól, a tiszta szén-dioxidot lehűtik és visszavezetik a folyamat elejére, így újra felhasználható lesz. Szuperkritikus szén-dioxidos extrakcióval tehát, olyan elválasztási technika áll rendelkezésünkre, amely nagy hozzáadott értékű, teljesen szerves oldószer mentes végtermékek előállítását teszi lehetővé. Hazánkban a szuperkritikus extrakció egyik legjelentősebb képviselője Dr. Simándi Béla, aki a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetemen vezeti a kutatásokat évtizedek óta sikeresen ([http13](http://13)).

A hazai Semmelweis Egyetemen folyó kutatásban megvizsgálták a mézgás éger kérget szuperkritikus extrakcióval, majd a nyert extraktumok összetételét TLC, GC-MS, LC-MS, RP-HPLC kromatográfiás elválasztási módszerekkel vizsgálták. Összesen 11 pentaciklusos triterpént és β -szitoszterolt azonosítottak. Az extrakciós kivonat legnagyobb mennyiségben betulint (3,57g/100g), betulinsavat (2,95/100 g) és lupeolt (14,33 g/100 g) tartalmazott. (SZARKA et al., 2012) A lupán típusú pentaciklusos triterpén-származékok, mint a betulin, a betulinsav és a lupeol, természetes összetevők, amely vegyületek fő származási forrása a szár, a kéreg, a levelek és a fagyanta. Az újabb kutatások szerint ezek a vegyi anyagok tumorellenes, a vírusellenes, HIV-ellenes, antibakteriális, gyulladáscsökkentő, antioxidáns, májvédő és anxiolitikus tulajdonságokat mutatnak (SZARKA et al., 2012).

Korábban már beszámoltak skót kutatók, hogy az éger kérge, rügyei, levelei és a pollenje különböző típusú növényi szekunder metabolitokat tartalmaz, beleértve antrakinonokat, fenolos

glikozidokat, flavonglikozidot és terpenoidokat és az őrölt magjaiból hirsutanonolt, oregonint és genkwanint izoláltak (BYRES et al., 2005).

Szabó László (MTA doktora, egyetemi tanár) Gyógynövények és élelmisznövények A-tól Z-ig című könyve szerint a mézgás éger hatóanyagai a következők: kb. 15-20% cserzőanyag, hiperozid-típusú flavonglikozid, alnulin, protalnulin, phlobaphen, gyantasav, taraxerol, taraxeron, lupeol, glutinon és citrullin ([http14](#)).

Egy másik kutatás pedig az égertoboz extrakcióját vizsgálta folyadék-kromatográfiával kapcsolt tömegspektroszkópiával (RP-HPLC), amely során ellagitannint, glutinoint, valamint pedunkulagint és praecoxin D-t izoláltak és megállapították ezek antioxidatív aktivitását (IVANOV et al., 2011).

Halgazdálkodási szempontból a sokféle összetevőből a már Szabó László könyvében is említett magas cserzőanyagtartalom (kb. 15-20%), vagy más néven csersav vagy tannintartalom érdemel nagyobb figyelmet. Egy internetes forrás szerint is az égertobozoknak kb. 15 %-os tannintartalmuk van ([http10](#)). A tannin jótékony hatása az ikrakezelések során már évek óta jól ismert (HORVÁTH et al., 2000).

2.6. Tannin

2.6.1. Tannin leírása

A tannin kifejezés a tölgyfa kelta nevéből származik, utalva az anyag eredetére, hiszen a tölgyfa fájában, illetve annak gubacsaiban nagy mennyiségű csersav van. Ezt a különböző gubacsokban 50-70%-ban megtalálható szerves savat úgy készítik, hogy a felaprított gubacsot éter és borszesz elegyével tökéletesen kivonják, majd ezt a folyadékot vízzel összerázzák, és a különvált vizes réteget vízfürdőn bepárologatják. Mesterségesen úgy készíthető, hogy galluszsavat ezüst-nitráttal oxidálnak, vagy arzénsavval főzik ([http15](#)).

A tanninok, más néven csersavak vagy digalluszsavak keserű ízű, növényi eredetű polifenolok, amelyek összekötik és kicsapják a fehérjéket ([http15](#)). Kémiaiilag nem egységes vegyület, eredetétől függően galluszsavval különböző módon és mértékben acilezett D-glükóz molekulák bonyolult keveréke (STRAUB, 1975).

Tiszta állapotban fehér, por állagú, de levegőn hamar megsárgul. Vízen könnyen, alkoholban és glicerinnel nehezebben, míg éterben egyáltalán nem oldódik. Képlete: $C_{14}H_{10}O_9 + 2H_2O$ ([http15](#))

2.6.2. Tannin felhasználása a halgazdálkodásban

A keltetőházi halszaporítás során széles körben alkalmazzák a tannint. Egyes halfajoknak (pl.: ponty, harcsa) úgynevezett fitofil ikrájuk van (BÍRÓ, 1993). Ennek az ikra típusnak az a jellegzetessége, hogy a felszínén egy ragadós fehérjeanyag található, mely segítségével a természetben képes megragadni a növényeken és az ikra inkubációja illetve a kelés ilyen feltapadt állapotban következik be. Mesterséges halszaporításkor, ha az ikra összeragad, akkor ez a tulajdonság negatívan hat a keltetés sikerességére, mert ennek következtében a belül rekedt ikraszemek nem jutnak elegendő oxigénhez, és a fejlődő embrió elpusztul. Az ilyen rossz ikraszemekeken megtelepednek a különböző penészgombák, azok elkezdenek penészedni, ezzel a hozzáragadt többi ikrát is károsítják. Ennek elkerülése érdekében a termékenyített és már megduzzadt ikrát Zuger-üvegbe kerülés előtt tannin oldattal kezelik, mely kicsapja az ikra felszínén termelődő fehérjét, így megszünteti azok ragadósságát. Ezzel egy időben, mint egy „mellékhatásként” meg is keményíti az ikra falát. Ennek következtében a kifejlődött embrió nehezebben tud kikelni. Az előbbieken leírt 2 hatás ismeretében nagyon fontos előre meghatározni a felhasználni kívánt tannin oldat töménységét, a kezelés idejét és az ismétlések számát, mert a tannin-oldat töménysége összefüggésben áll az ikra kelési százalékkal (ANTALFI és TÖLG, 1971). Fodor Ferenc kísérlete során is 0,1 g/l, 0,5 g/l, 1 g/l és 10 g/l töménységű oldatokba helyezte az ikraszemeket 5, 20 illetve 120 másodpercre. A statisztikai eredményeiből egyértelműen kiderült, hogy minél töményebb oldattal hajtotta végre a kezelést, annál jobban csökkent a halkeltetés sikeressége, míg a kezelési idő nem befolyásolta az embriók fejlődését és kelését. A tannin nagy koncentrációban (10 g/l) károsította a ponty ikrát, ill. csökkentette a kelési százalékot (FODOR, 2009).

A ponty (*Cyprinus carpio*) mesterséges szaporításánál általánosan alkalmazott módszer, hogy a 1 liter tejjel összekevert ikrához 100-120 ml Woynárovich-féle oldatot (10 liter vízbe 40 g konyhasó és 30 g karbamid) adnak, és az ikraszemek ebben a karbamidos oldatban duzzadnak 1-1,5 órát. Eközben az ikra térfogata 6-9-szeresére nő. Ezután következik a csersavas kezelés. Legszélesebb körben elterjedt a 0,5 g/ liter koncentrációjú oldat alkalmazása. Ezt úgy készítik, hogy 10 liter vízbe 5 g por alakú csersavat mérnek, majd alaposan összekeverik. Ebből az oldatból 1 litert öntenek 10-12 liter duzzadt ikratételhez. Arra azonban ügyelni kell, hogy ha a kezelések időtartama a 20 másodpercet meghaladja, akkor az ikra elpusztulhat (LAJKÓ és TASNÁDI, 2001). A kezelést 2-3 alkalommal megismétlik, majd 7-9 literes Zuger-üvegekbe 1-1,5 kg ikrát helyeznek. Más irodalmi adat szerint a termékenyítő oldat után a szemenként már különvált ikrát az első öblítő oldatba (10 liter tóvízhez 15 g tannin) helyezik, folyamatos kevergetés mellett. Az öblítés 10 másodpercig tart.

Ezután 2-3-szor jól átmoszák tiszta tóvízzel az egyes tételeket, majd mivel ekkor még kissé ragad a második öblítő oldatba helyezik (10 liter tóvízhez 3 g tannin) 30-60 másodpercre. Ezt követően tóvízzel ismét átmosva teljesen elveszti ragadósságát, így Zuger-üvegben érlelhetjük tovább (ANTALFI és TÖLG, 1971).

2.7. Tesztállatok szaporodásbiológiai sajátosságai

Az ikrakezelés vizsgálataim során először pontyikrát, másodszor ezüstkárásztól származó ikrát használtam. A következőekben bemutatom a két halfaj szaporodásbiológiai sajátosságait az ikra szempontjából.

2.7.1. A ponty (*Cyprinus carpio*)

Rendszertani besorolása:

Törzs: Gerinchúrosok (*Chordata*)

Főosztály: Csontos halak (*Osteichthyes*)

Osztály: Sugarasúszójú halak (*Actinopterygii*)

Rend: Pontyalakúak (*Cypriniformes*)

Család: Pontyfélék (*Cyprinidae*)

Alcsalád: *Cyprininae*

Nem: *Cyprinus*

Faj: Ponty (*Cyprinus. carpio*)

Linnaeus, 1758

(PINTÉR, 2002)

Különböző éghajlati viszonyok mellett a ponty (3. ábra) ivarérettségét különböző idő alatt éri el. Trópusi vizekben elég erre egyetlen év, míg nálunk a tejesek 2-3, az ikrások 3-4 év után ivarérettek. Természetes ívóhelyét a dús növényzettel borított kiöntések képezik. A vadpontyok ikrájukat fokozatosan érlelik be, az ívás néhány napos közzel ismétlődik. A tógazdasági pontyok ezt a tulajdonságot bizonyos mértékben már elvesztették, mert a kedvező tógazdasági környezetben a bőséges tápanyagellátás eredményeként az ikra fejlődése és érése szinkronizált. Hazánkban a ponty ívási ideje április végétől június végéig húzódhat el. A nőstények testtömeg-kilogrammonként 150-

200 ezer ikrát érlel. A szürkés színű ikraszemek 1-1,5 mm-es, duzzadás után 2-2,5 mm-es átmérőjűek, a növényzethez erősen tapadnak. Kikelésükhöz 3-3,5 nap szükséges (PINTÉR, 2002).



3. ábra: Ponty (<http16>)

2.7.2. Az ezüstkárász (*Carassius auratus*)

Rendszertani besorolása:

Törzs: Gerinchúrosok (*Chordata*)

Főosztály: Csontos halak (*Osteichthyes*)

Osztály: Sugarasúszójú halak (*Actinopterygii*)

Rend: Pontyalakúak (*Cypriniformes*)

Család: Pontyfélék (*Cyprinidae*)

Nem: *Carassius*

Faj: Ezüstkárász (*Carassius auratus*)

Linnaeus, 1758

(PINTÉR, 2002)

Az ezüstkárász (4. ábra) ivarérettségét 2-3 éves korban éri el. Szaporodásbiológiája rendkívül érdekes, az ívasra érett ikrások más halfajokkal – ponttyal, bodorkával, vörösszárnýú keszeggel – ívnak össze, „kakukk-módra” csempészik ikráikat azok fészekaljába. Az idegen halfajtól származó sperma behatol ugyan az ikrába, de azt csak fejlődésre serkenti, az örökítő anyag összeolvadása elmarad. Ez a jelenség az ún. spontán gynogenezis. A kikelő utódok nem hibridek, hanem tiszta ezüstkárászhok, amelyek ivarérettségüket valamennyien, mint nőtények érik el. Érdekes, hogy ez a

jelenség csak az európai ezüstkárászokra jellemző. Az ázsiai populációkban – ha kisebb számban is – mindig jelen vannak a hím ezüstkárászok is. Szaporodásbiológiájának ez a különbsége lehetővé teszi, hogy állománya egy-egy halpusztulás után akár egyetlen példányból is reprodukálódhasson. Gyors szaporodását azonban nemcsak ez segíti. Apró 1,5 mm körüli átmérőjű ikráiból egy-egy szezonban 100-400 ezer darabot érlel. Az ikra lerakása 2 vagy 3 részletben történik, májustól júliusig, alkalmazkodva az éppen nászukat tartó más pontyfélékhez (PINTÉR, 2002).



4. ábra: Ezüstkárász ([http17](http://17))

3. Módszerek

3.1. Égertobozok gyűjtése

A vizsgálataim elvégzéséhez mézgás égertobozokra volt szükségem, amelyek több különböző helyről származtak. A kísérleteim során a különböző helyekről származó tobozokat külön vizsgáltam, hogy kiderüljön, van-e hatásbeli különbsége az eltérő fákról gyűjtött tobozoknak. Ezért igyekeztem földrajzilag 3 jól elkülönült helyről gyűjteni tobozokat, hogy az esetleges rokonsági kapcsolatokból adódó hasonlóságokat kizárjam. Dunaújvárosban, Gödöllőn és a németországi Hannoverben található fákról szedtem a tobozokat 2012-ben nyáron (júliusban) és ősszel (novemberben). Azonban a kísérleteimben csak az ősszel gyűjtött tobozokat tudtam felhasználni, mert csak a fán teljesen elszáradt tobozok álltak el tavaszig. Aminek egy kis zöld része is volt, azok idővel a nagy nedvességtartalmuk miatt bomlani kezdtek, így alkalmatlanná váltak a későbbi kísérleteimhez.

A tobozok méretében nagy különbségeket tapasztaltam. A hannoveri tobozok mérete szemmel láthatóan nagyobb volt, ami az 5. ábrán is jól látható. Ezen méretből adódó különbségek miatt vezettem be, hogy grammban mérem ki és nem darabszámra a kísérleti oldatokba áztatott tobozokat az ikrakezeléses vizsgálataimnál.



**5. ábra: Dunaújvárosi, gödöllői és hannoveri tobozok méretbeli különbségei
(Fotó: Nagy Tímea, 2013)**

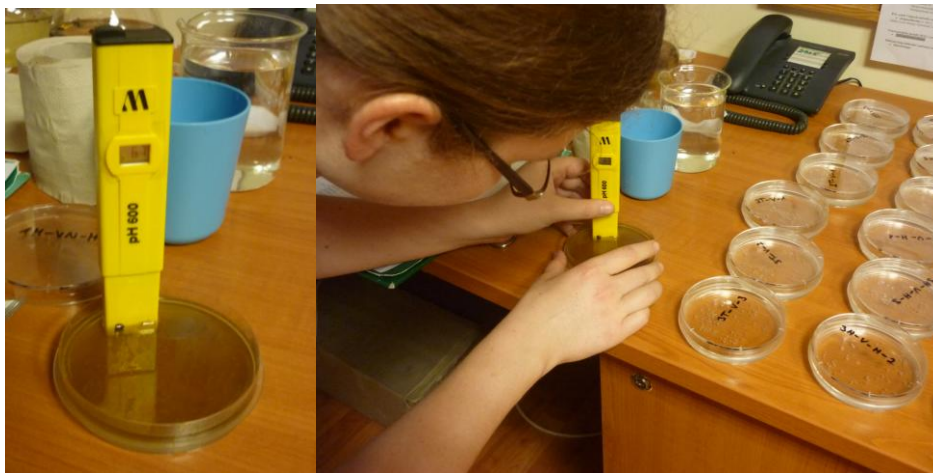
3.2. Égertobozok pH csökkentésének vizsgálata

A szakirodalmi áttekintésben olvashatóan számos irodalmi forrásból kiderült, hogy rengeteg kémiai anyagot tartalmazhatnak az égertobozok és elsősorban cseresavtartalmuk lehet jelentős ([http10](#)) ([http14](#)). Sajnos olyan pontos vizsgálatot nem találtam, ami konkrétan megállapítaná, hogy a sok kémiai anyag közül melyek azok, amelyek valóban ki is oldódnak a vízbe, ha a tobozokat hosszabb

időre vízbe áztatjuk, azonban több forrás is alátámasztotta, azt a feltevést, hogy valószínűleg savak oldódhatnak ki, amelyek a víz pH csökkentését okozhatják (http10) (http11), ezért az irodalmi áttekintés fejezetben hivatkozott svéd kísérlethez hasonló előzetes pH vizsgálatot végeztem a gyűjtött tobozokkal (http11).

A svéd cikkkel ellentétben külön vizsgáltam desztillált és csapvizet éget tobozok különböző koncentrációinak pH változását 0.00h, 12.00h, 24.00h, 48.00h., 60.00h, és 84.00h órában. 5féle koncentrációt állítottam be; 0 toboz/1dl víz, 1 toboz/5 dl víz (kb. 0,015 g/dl tannintartalom (http10)), 1 toboz/1dl víz (kb. 0,075 g/dl tannintartalom), 2 toboz/1 dl víz (kb. 0,15 g/dl tannintartalom) és 6 toboz/1dl víz (kb. 0,45 g/dl tannintartalom). Fontosnak tartottam a desztillált vízzel is elvégezni a vizsgálatot, hogy kiderüljön számomra, hogy a víz keménysége milyen mértékben befolyásolja a kísérletemben a pH csökkenést.

Később az első ikrakezeléses kísérletem során is mértem a Petri-csészékben a pH változást naponta. A pH méréséhez a képen is látható digitális pH mérőműszert (MILWAUKEE PH 600) (6. ábra) használtam, amelyet mérés előtt mérő oldatok segítségével kalibráltam. Ezzel a műszerrel jól és gyorsan lehet mérni 0-14-es pH tartományban 0,1-es pontossággal.



6. ábra: pH mérés digitális pH mérőműszerrel (Fotó: Nagy Tímea és Freisták Gábor, 2013)

3.3. Ikrabeszerzés

Az első ikrakezeléses kísérletem során az ikrát az akasztói Öko 2000 Vállalkozástól kaptuk. Az ikra nagyüzemi indukált szaporításból származott, az ikrafejés 2013. május 17-én történt. A szállítás kocsival történt a SZIE Halgazdálkodási Tanszékére. A termékenyítéstől hozzávetőlegesen a 3. órában szétválogattam 84 db Petri-csészébe az ikraszemeket.

3.4. Ikrakezelés 1.

Az első ikrakezelés kísérletem során mindegyik Petri-csészébe kb. 80 db ikraszemet helyeztem, majd lefotóztam őket, hogy később le tudjam számolni a pontos mennyiséget. Az ikrakezelését csak a termékenyítést követő 2. napon kezdtük el. A vizsgálatom során alkalmazott kezeléseket az 1. táblázatban szemléltetem.

1. táblázat: Az első ikrakezelés kísérletben alkalmazott kezelések 3x ismétléssel

Kezeléstípusok
10g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból
10g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból
10g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről
10g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről
10g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből
10g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből
1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból
1g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból
1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről
1g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről
1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből
1g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből
0,1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból
0,1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről
0,1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből
1,5g/l tannin (vízcseré nélkül)
1,5g/l tannin (vízcserés)
0,15g/l tannin (vízcseré nélkül)
0,15g/l tannin (vízcserés)
0,015g/l tannin (vízcseré nélkül)
0,015g/l tannin (vízcserés)
formalin (vízcseré nélkül)
formalin (vízcserés)
kontroll (vízcseré nélkül)
kontroll (vízcserés)

A kísérlet során 3 féle égartobozos koncentrációt vizsgáltunk; 0,1g égartoboz/l; 1g égartoboz/l; 10g égartoboz/l. A kezelést megelőző napon mérleg segítségével kimértem 10

grammokat a tobozokból és 1 liter recirkulációs rendszerből vett vízben ázni hagytam 12 óráig. Ez volt másnap a törzsoldatom. A 3 különböző városból származó tobozokból külön oldatokat készítettem.

A második naptól kezdve vízcsera nélküli és vízcserés kezeléseket alkalmaztam a Petri-csészékben található ikrán. A vízcsera nélküli kezeléseknél 9 féle égartobozos, 3 féle tanninos, egy formalinos és egy kontroll csoportom volt 3-3 Petri-csészés ismétléssel. A 0,1 g/l-es égartobozos koncentrációk esetében egy főzőpohárban százszoros hígítást végeztem a törzsoldatból. A hígítást is recirkulációs rendszerből vett vízzel végeztem. Ezt követően 6 ml-t öntöttem az új oldatból 3 db Petri-csészébe. A 1 g/l-es égartobozos koncentráció esetében egy másik főzőpohárban tízszeres hígítást végeztem, majd szintén 6 ml-t öntöttem 3 db Petri-csészébe. A 10 g/l-es koncentráció esetében pedig a törzsoldatból öntöttem 6 ml-t 3db Petri-csészébe. Ugyanezt elvégeztem a másik két városból származó égartobozos oldattal is.

Mivel a szakirodalom szerint az égartobozoknak kb. 15%-os tannintartalmuk ([http10](http://10)) van, ezért fontosnak tartottuk tesztelni, hogy ha az egyes égartobozos koncentrációk körülbelüli cersavtartalmával megegyező mennyiségű tannint alkalmazunk, akkor is hasonló hatást érünk-e el vele? Mivel a tannin már egy jól ismert, akár mesterségesen is könnyen előállítható szer, ezért az égartobozos koncentrációkat átszámolva 0,015g/l, 0,15g/l és 1,5g/l-es tanninoldatokat készítettem, amelyekből szintén 6 ml-t öntöttem a Petri-csészékbe.

Ezek mellett formalinos kezelést is végeztem a gyakorlatban használt 1:10 000-es arányban.

A vízcsera nélküli kezeléseknél nem cseréltem az oldatokat, csak a 2. napon öntöttem fel a Petri-csészéket a megfelelő oldatokkal, így az ikraszemek a kísérlet végéig ebben az oldatban maradtak.

A vízcserés kezeléseknél hasonló koncentrációkkal dolgoztam, azonban naponta kétszer kezeltem a vízcserés Petri-csészékben lévő ikrát. Egyszer délelőtt és egyszer délután, úgy hogy óvatosan leöntöttem róluk a vizet, majd 6 ml kísérleti oldatot öntöttem rájuk és 20 percig rajtuk hagytam. Az idő letelte után leöntöttem róluk a folyadékot és kétszeri átmosást követően 6 ml recirkulációs rendszerből vett tiszta vízzel töltöttem fel a Petri-csészéket. A vízcserések esetében szintén 9 féle égartobozos, 3 féle tanninos, egy formalinos és egy kontroll csoportom volt 3-3 Petri-csészés ismétléssel.

A kísérletet 5 napig végeztem és közben mindennap feljegyeztem a kikelt és az elpusztult lárvák számát.

3.5. Ikranyerés a második kísérlethez: Az ezüstkárászok mesterséges szaporításának menete

A szaporítás folyamata az anyahalak kéméletes lehalászásával, válogatásával és a keltetőházba szállításával kezdődött. Szaporításhoz egyforma méretű, egészséges ezüstkárász halakat használtunk. A beszállított anyahalakat szegfűszegolaj oldatban (100 liter vízhez 10 csepp) altattuk. A bódítást akkor tekintettük befejezettnek, ha a halak teljesen elernyedtek, a vízben ellenállás nélkül megfordíthatók voltak, és elengedve sem fordultak vissza. A kábított egyedeket mérlegeltük, és a tömeg ismeretében elkészítettük a hipofízáláshoz szánt hormonoldatot. Testtömeg-kilogrammonként 4,5 mg száraz hipofízist púder finomságúra őröltük, ezt fiziológiás oldatban (0,65%-os NaCl oldatban) feloldottuk, majd 1 ml inzulin injekciós tű segítségével a has alatti úszó tövénél a hasüregbe juttattam (7. ábra). A teljes halakat is kezeltem, 2 mg/testtömeg-kilogramm hipofízis adaggal.



7. ábra: Ezüstkárász beoltása (Fotó: Müller Tamás, 2013)

A hormonkezelés hatására 22-24 °C-os érlelővízben az érési folyamat 11-12 óra múlva befejeződött, így az anyahalak fejhetővé váltak.

Az ikraszórás megkezdésekor az ikrásokat kiemeltem, bódítottam a hormonkezelésben leírt módon, majd az ikrát száraz műanyag edénybe fejtem le (8. ábra).



8. ábra: Ikrafejtés (Fotó: Müller Tamás, 2013)

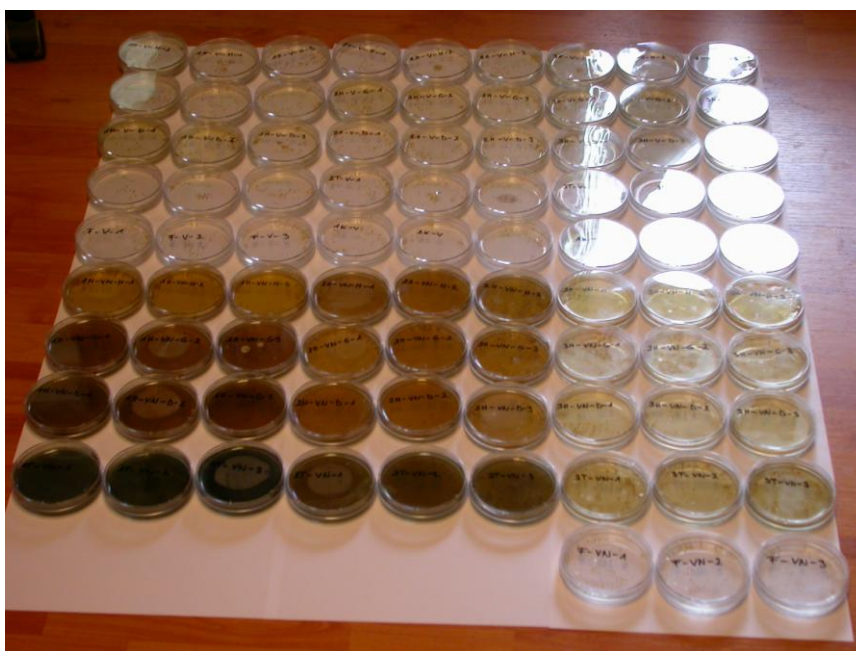
A hímekből a tejet közvetlenül az ikrára fejttem, és az ún. száraz termékenyítési eljárással termékenyítettem. A spermiumokat állott csapvízzel aktiváltam, majd egy perces kevergetés után a Woynárovich-féle termékenyítő oldattal duzzasztottam az ikrát (10 liter vízben 40g konyhasó és 30 g karmabid). A termékenyítő-oldatot 3-4 alkalommal cseréltem. Az ikraduzzasztás végeztével (~50-60 perc) az összetapadást éppen megkezdő ikrát tanninos oldattal (5 g csersav / 10 liter víz) is kezeltem 3×15 másodpercig. Ezt követően válogattam ki az ikratételeket a kezelésre.

3.6. Ikrakezelés 2.

Az ikra egy részét 84 darab Petri-csészébe helyeztem ki, úgy hogy körülbelül ugyanannyi mennyiséget helyezzek az edényekbe (kb. 80 db) és egészséges ikraszemek legyenek. A végén mindegyik Petri-csészébe 4 db szemmel láthatóan rossz ikraszemet is helyeztem, hogy a penészgomba kialakulásának egyformán kedvezzek. A keltetés első 24 órájáig nem kezeltem semmilyen penészedés elleni kísérleti oldattal az ikrát.

Az első kísérlethez képest módosítottam a koncentrációkat, mert a legnagyobb koncentráció (10g/l) túl töménynek bizonyult, amitől az ikrahéjak nagyon megkeményedtek. A kisebb 1g/l-es vízcserés kezelés esetében pedig bár az ikrahéjak már nem voltak kemények, de a penész is megjelent nagyobb mennyiségben (kb. 10 penészes ikraszem/Petri-csésze), ezért az égartobozos koncentrációkat 4g/l, 2g/l és 0,4 g/l-re változtattam. Mivel a tanninos koncentrációknál is hasonló volt a probléma, ezért azokat is megváltoztattam, úgy hogy megint a 15%-át vettem az új égartobozos koncentrációknak, így 0,6 g/l, 0,3 g/l és 0,06 g/l-es tanninos oldatokat készítettem. A második kísérletben is volt kezelés nélküli kontroll és formalinos csoportom is. A különböző koncentrációkat szintén vízcserés és vízcseré nélküli rendszerekben vizsgáltam az első kísérlethez hasonlóan. Mindegyik csoportnál három ismétléssel dolgoztam. Minden egyes Petri-csészét

lefényképeztem miután kihelyeztem az ikratételeket, hogy később pontosan tudjam meghatározni a kelési és penészedési százalékokat. Később számítógépen ImageTool 3.0 program segítségével leszámoltam az összes ikraszemet. A vizsgálat végéig mindennap feljegyeztem a kikelt és elpusztult lárvák számát, hogy később meg tudjam állapítani a kelési és mortalitási százalékokat. Ezek mellett a kísérlet végén leszámoltam a penészes ikraszemek mennyiségét, amelyből megállapíthattam a penészedési százalékokat. A 84 db Petri-csészében vizsgált több, mint 6000 ikraszem a 9. ábrán látható. A kísérletet 4 napig végeztem, kétnapos, nem táplálkozó lárvakorig tartottam a halakat az oldatokban. A kísérlet alatt a víz hőmérséklete 20 °C fok volt.



9. ábra: A második ikrakezelési vizsgálat (Fotó: Nagy Tímea, 2013)

4. Eredmények

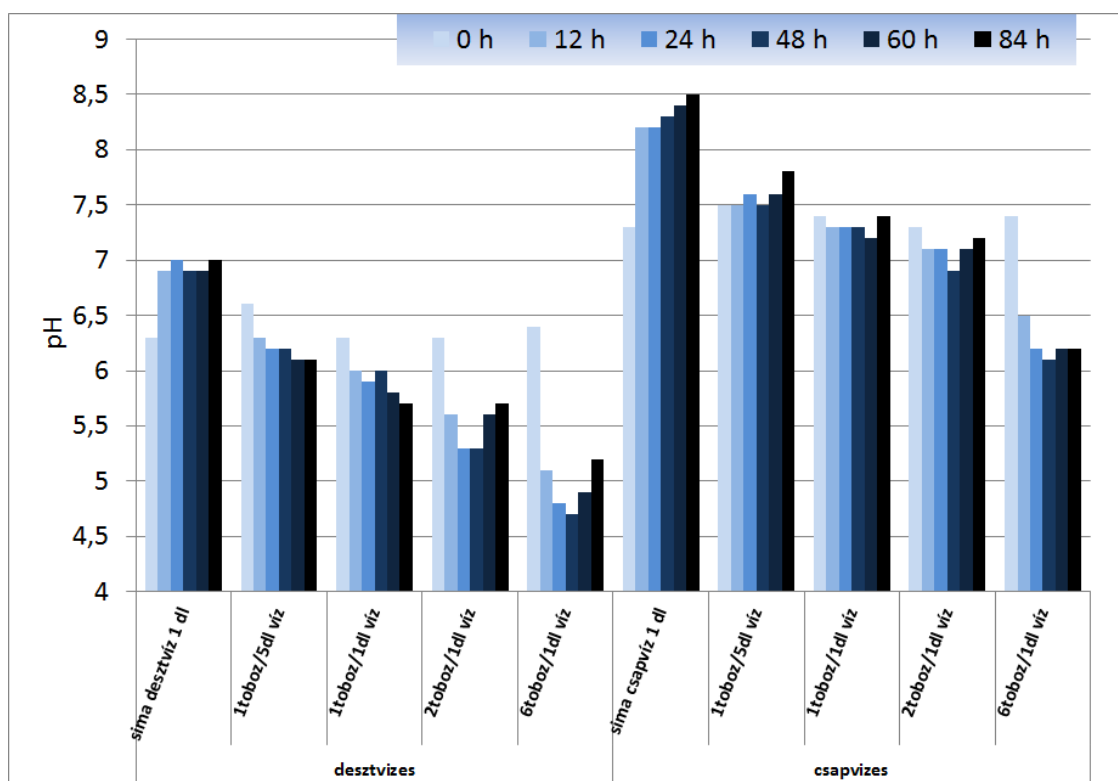
4.1. Égertobozok pH csökkentésének vizsgálata

5 csapvizes és 5 desztillált vizes koncentrációban mértem a pH-t 84 óráig. Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza (2. táblázat).

2. táblázat: Az égertobozokkal végzett első pH vizsgálatom eredményei

	Koncentrációk	0.00h	12.00h	24.00h	48.00h	60.00h	84.00h
desztillált vizes	0 toboz/1dl víz	6,3	6,9	7,0	6,9	6,9	7,0
	1 toboz/5 dl víz (kb. 0,015 g/dl tannintartalom)	6,6	6,3	6,2	6,2	6,1	6,1
	1 toboz/1dl víz (kb. 0,075 g/dl tannintartalom)	6,3	6,0	5,9	6	5,8	5,7
	2 toboz/1 dl víz (kb. 0,15 g/dl tannintartalom)	6,3	5,6	5,3	5,3	5,6	5,7
	6 toboz/1dl víz (kb. 0,45 g/dl tannintartalom)	6,4	5,1	4,8	4,7	4,9	5,2
csapvizes	0 toboz/1dl víz	7,3	8,2	8,2	8,3	8,4	8,5
	1 toboz/5 dl víz (kb. 0,015 g/dl tannintartalom)	7,5	7,5	7,6	7,5	7,6	7,8
	1 toboz/1dl víz (kb. 0,075 g/dl tannintartalom)	7,4	7,3	7,3	7,3	7,2	7,4
	2 toboz/1 dl víz (kb. 0,15 g/dl tannintartalom)	7,3	7,1	7,1	6,9	7,1	7,2
	6 toboz/1dl víz (kb. 0,45 g/dl tannintartalom)	7,4	6,5	6,2	6,1	6,2	6,2

A pH alakulását a koncentrációk és az idő függvényében a következő ábrán szemléltettem (10. ábra). Jól láthatóan csökkent a víz kémhatása az égertobozos oldatoknál a csak sima vizes kontrollcsoportjaimhoz képest. Érdekes, hogy a pH csökkenés a legtöbb esetben 48 óra elteltével stagnálni vagy kicsit növekedni kezdett. Továbbá bebizonyosodott, hogy csapvíznél kevésbé csökkent a pH, mint a desztillált víz esetében.



10. ábra: A pH változás a koncentrációk és az idő függvényében

4.2. Első ikrakezelés vizsgálat eredményei

4.2.1. pH vizsgálat

Az első ikrakezelés kísérletem során is mértem a vízcseré nélküli Petri-csészékben a pH változást naponta. Az eredményeket a következő táblázatban szemléltettem (3. táblázat).

Jól látható a táblázatomban, hogy még a legnagyobb (10 g/l) égetobozos koncentráció esetében is a kontrollcsoport 8-as pH-jához képest 6,7-nél kisebbre nem csökkent a pH, és a kísérlet során az idő múlásával jelentős változások sem történtek, itt is elmondható volt, mint a csak pH-t mérő előkísérletben, hogy a kémhatás idővel stagnált vagy kicsit emelkedett.

3. táblázat: A vízcserre nélküli Petri-csészékben mért pH változása

Vízcserre nélküli koncentrációk	pH 1. nap	pH 2. nap	pH 3. nap
Kontroll	7,9	8,0	8,0
10g égertoboz/l Dunaújvárosból	6,9	7,2	7,1
10g égertoboz/l Gödöllőről	7,2	7,5	7,7
10g égertoboz/l Hannoverből	6,7	7,1	7,3
1g égertoboz/l Dunaújvárosból	7,7	8,0	7,6
1g égertoboz/l Gödöllőről	7,8	8,1	7,7
1g égertoboz/l Hannoverből	7,4	7,9	7,8
0,1g égertoboz/l Dunaújvárosból	8,2	8,4	8,4
0,1g égertoboz/l Gödöllőről	8,2	8,3	8,4
0,1g égertoboz/l Hannoverből	7,9	8,1	8,2
1,5g/l tanninos koncentráció	7,2	7,3	7,3
0,15g/l tanninos koncentráció	8,0	8,1	8,0
0,015g/l tanninos koncentráció	8,2	8,2	8,3
formalinos konc. (1:10 000-es arányban)	8,0	8,1	8,0

4.2.2. Penészedési százalék

A kísérlet végén leszámoltam, hogy az egyes Petri-csészékben hány ikraszemet vett körül szemmel látható penészhaló. Ezzel a mennyiséggel az edényben lévő teljes ikraszámot elosztottam. A penészedés mértékében megfigyelt különbségeket 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat: Penészesedési százalék alakulása a különböző koncentrációkban

Koncentrációk	Penészesedési %
10g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból	0
10g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	0
10g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről	0
10g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	2
10g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből	0
10g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	2
1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból	6
1g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	12
1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről	6
1g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	12
1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből	6
1g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	10
0,1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból	35
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	40
0,1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről	40
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	55
0,1g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből	45
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	50
1,5g/l tannin (vízcseré nélkül)	0
1,5g/l tannin (vízcserés)	6
0,15g/l tannin (vízcseré nélkül)	12
0,15g/l tannin (vízcserés)	14
0,015g/l tannin (vízcseré nélkül)	14
0,015g/l tannin (vízcserés)	55
formalin (vízcseré nélkül)	0
formalin (vízcserés)	25
kontroll (vízcseré nélkül)	75
kontroll (vízcserés)	60

A 10 g/l-es égartobozos vízcseré nélküli Petri-csészékben nem jelent meg penész, míg a vízcserésekben csak 1-2 db penészes ikraszemet figyeltem meg, így elmondható, hogy jelentősen visszaszorította a penész terjedését a kezelés.

Az 1 g/l-es égartobozos koncentrációnál vízcseré nélkülinél már kb. 4-5 db penészes ikraszem volt látható Petri-csészénként az átlagos 80 db ikrát tartalmazó edényekben. A vízcserés megoldásnál már nem tűnt elég hatékonynak a kezelés, mert a penészedés tovább növekedett, kb. 10 db penészes ikra/Petri-csészére.

A 0,1 g/l-es égartobozos vízcsera nélküli és vízcserés kezelés túl gyengének bizonyult, mert nagyon sok penész jelent meg.

A tanninnál a legnagyobb 1,5 g/l-es vízcsera nélküli koncentrációban nem jelent meg penész, míg a vízcserésben már 5 db penészes ikraszem/Petri-csésze volt megfigyelhető.

A 0,15 g/l-es vízcsera nélküli és vízcserés és a 0,015 g/l-es vízcsera nélküli tanninos koncentrációknál a penészedésben nem volt különbség átlagosan 10 db penészes ikraszem/Petri-csésze volt. A 0,015 g/l-es vízcserésnél viszont szinte az ikraszemek fele bepenészesedett.

A vízcsera nélküli formalinban nem jelent meg penész, míg a vízcserésben kb. 20 db penészes ikrát számoltam Petri-csészénként.

A vízcsera nélküli kontrollcsoportot szinte teljesen behálózta a penész, a vízcseréseknél is az ikraszemek több, mint a felét.

4.2.3. Kelési százalékok

Sajnos ismeretlen oknál fogva egyik csoportom kelési százaléka sem haladta meg a 20%-ot. A kelési százalékokat az 5. táblázatban szemléltettem.

5. táblázat: Kelési százalékok alakulása a különböző koncentrációkban

Koncentrációk	Kelési %
10g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Dunaújvárosból	0
10g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	0
10g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Gödöllőről	0
10g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	0
10g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Hannoverből	0
10g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	0
1g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Dunaújvárosból	0,05
1g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	19
1g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Gödöllőről	0
1g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	0,07
1g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Hannoverből	0
1g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	14
0,1g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Dunaújvárosból	0,01
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	16
0,1g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Gödöllőről	11
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	16
0,1g égartoboz/l (vízcseres nélkül) Hannoverből	0,07
0,1g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	0,1
1,5g/l tannin (vízcseres nélkül)	0
1,5g/l tannin (vízcserés)	0
0,15g/l tannin (vízcseres nélkül)	0,04
0,15g/l tannin (vízcserés)	19
0,015g/l tannin (vízcseres nélkül)	15
0,015g/l tannin (vízcserés)	13
formalin (vízcseres nélkül)	15
formalin (vízcserés)	12
kontroll (vízcseres nélkül)	16
kontroll (vízcserés)	13

A kutatásom során túl magas volt a pusztulás minden csoportban. A kevés kikelt lárvák többsége is elpusztult a keltetés 5. napjára. Ezért a teljes kísérletem ismétlésre szorult. Azonban a

kísérlet során tapasztaltakat fel tudtam használni arra, hogy bizonyos következtetéseket levonjak a használt koncentrációkat illetően.

A 10 g/l-es égartobozos koncentráció vízcseré nélkül és vízcserésen is túl töménynek bizonyult, mert az ikraszemek megkeményedtek és nem tudtak kikelni a megkeményedett ikrahéj miatt. Érdekes volt, hogy kipróbáltuk a kényszerkeltetést egy ikrán, vagyis az ikrahéjat óvatosan átlukasztottuk. Így életképesnek tűnő lárva úszott ki, azonban a kísérlet végére elpusztult a valószínűleg túl tömény oldatban.

Az 1 g/l-es égartobozos koncentrációnál már a vízcserésben több lárva is kikelt, nem keményedett meg az ikrahéj annyira, de vízcseré nélkülinél hasonló problémák adódtak, mint a 10 g/l-es koncentrációnál.

A 0,1 g/l-es égartobozos vízcserés és vízcseré nélküli koncentráció nem okozott ikrahéj keményítő hatást.

Érdekes, hogy a tanninos koncentrációknál hasonló hatások voltak megfigyelhetőek. A legnagyobb 1,5 g/l-es vízcseré nélküli koncentrációban befeketedett az egész Petri-csésze és nem volt túlélés, míg a vízcserésben szintén megkeményedett az ikrahéj és nem kelt ki lárva.

A 0,15 g/l-es vízcseré nélküli koncentrációban barnás színű lett a víz és csak 4 db lárva kelt ki, ami a kísérlet végére el is pusztult, míg a vízcserés esetében több lárva kelt ki, de többségük szintén elpusztult.

A 0,015 g/l-es vízcseré nélküli koncentrációban már a tannin nem színezte el a Petri-csészét, azonban hasonló hatást tapasztaltam, mint a 0,15 g/l-es koncentrációjában. A vízcserés esetében a különbség, hogy több kikelt lárva maradt életben.

A vízcseré nélküli formalinban nem maradt életben egy kikelt lárva sem.

Sajnos a vízcserés formalinban is és kezelés nélküli kontroll csoportjaimban is 20% alatt volt a kelési százalék.

A nagyon rossz kelési és mortalitási eredmények miatt mindenképpen ismétlésre szorult ez a vizsgálat. Azonban a koncentrációkat megváltoztattam, mert a 10 g/l-es égartobozos koncentráció túl erősnek bizonyult, mert megkeményítette az ikrahéjat, viszont az 1 g/l-es koncentráció penészedésgátló hatása már nem volt megfelelő, ezért 1 és 10 g/l-es koncentráció között tartottam fontosnak a további kísérletezést. Így helyettük 2 és 4 g/l-es koncentrációt vizsgáltam a következő kísérletben. A 3. koncentrációnak meg 0,1 és 1 g/l között választottam, mert a vízcseré nélkülinél az 1 g/l-es még megkeményítette az ikrahéjat, míg a 0,1 g/l-es már nem, viszont ez a koncentráció már túl gyenge kezelésnek tűnt. Ezért 0,4 g/l-es koncentrációt választottam 3. vizsgált koncentrációnak az új kísérletben, mert a 4 g/l-es törzsoldatból tízszeres hígítással könnyen kikeverhető lesz ez a koncentráció.

A tanninos koncentrációknál is megváltoztattam a leírt problémák miatt úgy, hogy most is az égertobozos koncentrációk 15%-át vettem a koncentrációk meghatározásánál, mivel a szakirodalom szerint az égertobozoknak kb. 15%-a csersav. (http10)

A formalin esetében meghagytam az 1:10 000 arányú hígítást, mivel ez a mennyiség a tógazdasági gyakorlatban már jól bevált mennyiségnek bizonyult.

Feltételezhetően az első kísérlet során az ikra nagy távolságból történő szállítása okozhatta a problémát, ezért a második kísérletünknel már helyben, a Tanszéken végeztük el a mesterséges szaporítást.

4.3. Második ikrakezelés vizsgálat eredményei

4.3.1. Penészedési százalék

A kísérlet során penész csak 5 kezelési típusban jelent meg, a többi Petri-csészében egyáltalán nem volt szemmel látható penész. A következő penészedési százalékokat kaptam az egyes kezelési csoportokban (6. táblázat).

6. táblázat: Penészesedési százalék alakulása a különböző koncentrációkban

Rövidítések	Koncentrációk	Penészesedési %
1H-VN-D	4g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból	3,6
1H-V-D	4g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	0
1H-VN-G	4g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről	0
1H-V-G	4g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	0
1H-VN-H	4g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből	0
1H-V-H	4g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	0
2H-VN-D	2g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból	0
2H-V-D	2g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	0
2H-VN-G	2g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről	0
2H-V-G	2g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	0
2H-VN-H	2g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből	0
2H-V-H	2g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	0
3H-VN-D	0,4g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Dunaújvárosból	0
3H-V-D	0,4g égartoboz/l (vízcserés) Dunaújvárosból	0
3H-VN-G	0,4g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Gödöllőről	0
3H-V-G	0,4g égartoboz/l (vízcserés) Gödöllőről	1,1
3H-VN-H	0,4g égartoboz/l (vízcseré nélkül) Hannoverből	0
3H-V-H	0,4g égartoboz/l (vízcserés) Hannoverből	0
1T-VN	0,6g/l tannin (vízcseré nélkül)	0
1T-V	0,6g/l tannin (vízcserés)	0
2T-VN	0,3g/l tannin (vízcseré nélkül)	0
2T-V	0,3g/l tannin (vízcserés)	0
3T-VN	0,06g/l tannin (vízcseré nélkül)	0
3T-V	0,06g/l tannin (vízcserés)	5,1
F-VN	formalin (vízcseré nélkül)	0
F-V	formalin (vízcserés)	0
K-VN	kontroll (vízcseré nélkül)	14,4
K-V	kontroll (vízcserés)	9,8

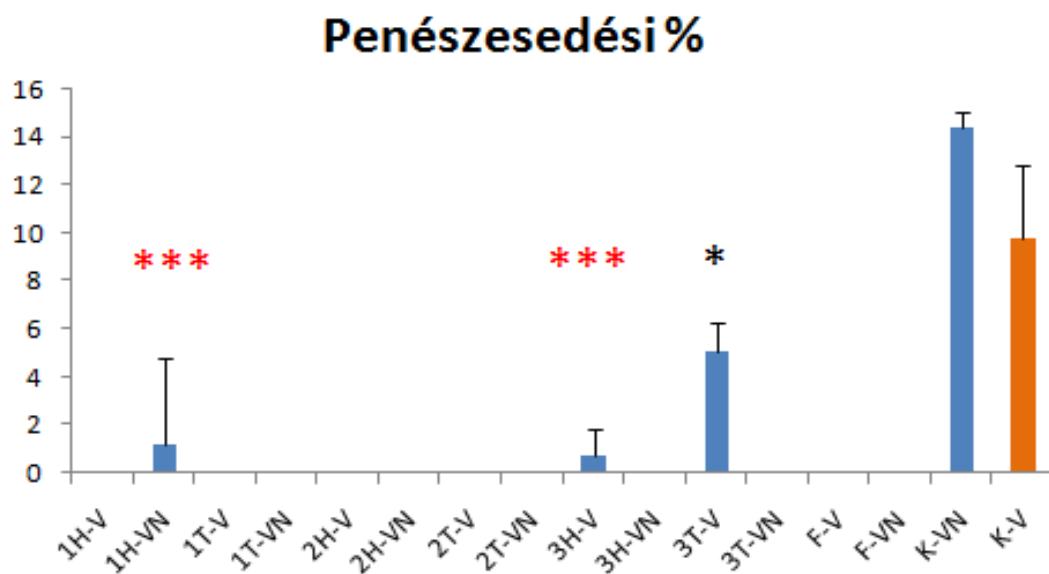
Az eredmények statisztikai elemzése során először homogenitás vizsgálatot végeztünk, amelyből kiderült, hogy az adataim nem normális eloszlásúak, ezért nemparaméteres eljárást kellett alkalmaznunk. Mivel több független mintát szerettük volna összehasonlítani egy szempont szerint, ezért Kruskal-Wallis nemparaméteres próbát alkalmaztunk IBM SPSS Statistics 21 nevű program segítségével.

Az érintett 5 csoporton statisztikai elemzést is végeztünk, hogy megvizsgáljuk, van-e köztük szignifikáns különbség. A kapott P értékeket a 7. táblázat tartalmazza. Ahol szignifikáns különbséget tapasztaltam ($P \leq 0.05$) ott kivastagítottam a számokat.

7. táblázat: P értékek, Kruskal – Wallis teszt (penészesedési % - kezelési típusonként)

	K-VN	K-V	1H-VN	3H-V	3T-V
K-VN	-	-	-	-	
K-V	0,15	-	-	-	-
1H-VN	<0,001	<0,001	-	-	-
3H-V	<0,001	<0,001	0,291	-	-
3T-V	<0,001	0,038	0,001	<0,001	-

A penészesedési %-ok alakulását a vízcserés kontrollcsoporthoz képest a 11. ábrán a vízcseré nélküli kontrollcsoporthoz képest a 12. ábrán szemléltettem. Az eltérő szignifikancia szinteket csillagokkal jelöltem. (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)



11. ábra: Penészesedési % alakulása a vízcserés kontrollhoz képest



12. ábra: Penészesedési % alakulása a vízcserre nélküli kontrollhoz képest

A penészedés mértékében, elmondható, hogy az összes kezelt csoportnál szignifikánsan kevesebb volt a penészesedési % a kontroll csoportokhoz képest, még azoknál a csoportoknál is, ahol kis mértékben megjelent a penész.

Azonban fontos megjegyezni, hogy sajnos meglepő módon túl gyorsan keltek ki a lárvák. Néhány lárva már 48 óra után kikelt és 72 óra után számuk tömegesen megugrott, így a 4. napon (96 óra után) befejeztem a kísérletet, mert olyan nagymértékű volt már a kelés az egyes csoportokban, hogy további vízcserés kezelésük szinte lehetetlenné vált volna lárvavesztés nélkül. A gyors kelés a kísérleti szobában lévő magas hőmérséklettel magyarázható (kb. 27 °C), mivel közben a külső hőmérséklet 30 °C feletti nyári időjárásnak megfelelő volt. Így a gyors kelés nem kedvezett a penész elszaporodásának. Mivel a penész mennyisége akár az egyik napról a másikra a duplájára képes ugrani, ezért jobb lett volna, ha még pár nappal később kel ki az ikra, de az egyes különbségek, így is jól láthatóak.

4.3.2. Kelési százalék

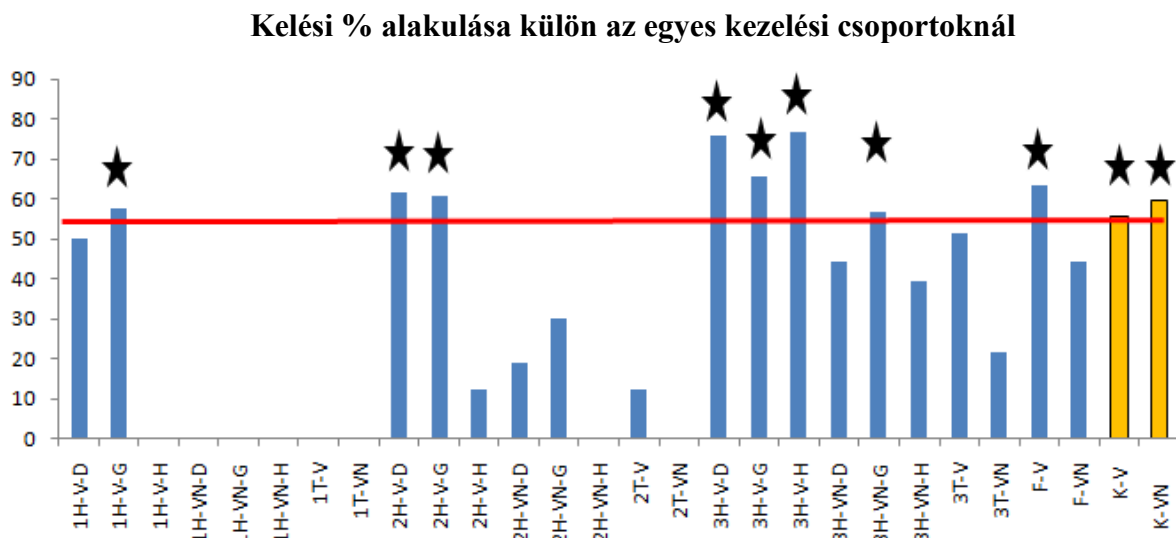
A kelési százalékok alakulását a 8. táblázat tartalmazza.

8. táblázat: Kelési százalék alakulása a különböző koncentrációkban

Rövidítések	Koncentrációk	Kelési %
1H-V-D	4g égartoboz/l (vízcsérés) Dunaújvárosból	50,0
1H-V-G	4g égartoboz/l (vízcsérés) Gödöllőről	57,8
1H-V-H	4g égartoboz/l (vízcsérés) Hannoverből	0,0
1H-VN-D	4g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Dunaújvárosból	0,0
1H-VN-G	4g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Gödöllőről	0,0
1H-VN-H	4g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Hannoverből	0,0
1T-V	0,6g/l tannin (vízcsérés)	0,0
1T-VN	0,6g/l tannin (vízcsere nélkül)	0,0
2H-V-D	2g égartoboz/l (vízcsérés) Dunaújvárosból	61,4
2H-V-G	2g égartoboz/l (vízcsérés) Gödöllőről	60,7
2H-V-H	2g égartoboz/l (vízcsérés) Hannoverből	12,6
2H-VN-D	2g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Dunaújvárosból	18,9
2H-VN-G	2g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Gödöllőről	30,3
2H-VN-H	2g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Hannoverből	0,0
2T-V	0,6g/l tannin (vízcsérés)	12,4
2T-VN	0,6g/l tannin (vízcsere nélkül)	0,0
3H-V-D	0,4g égartoboz/l (vízcsérés) Dunaújvárosból	76,0
3H-V-G	0,4g égartoboz/l (vízcsérés) Gödöllőről	65,4
3H-V-H	0,4g égartoboz/l (vízcsérés) Hannoverből	76,6
3H-VN-D	0,4g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Dunaújvárosból	44,4
3H-VN-G	0,4g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Gödöllőről	56,6
3H-VN-H	0,4g égartoboz/l (vízcsere nélkül) Hannoverből	39,6
3T-V	0,06g/l tannin (vízcsérés)	51,6
3T-VN	0,06g/l tannin (vízcsere nélkül)	21,8
F-V	formalin (vízcsérés)	63,6
F-VN	formalin (vízcsere nélkül)	44,2
K-V	kontroll (vízcsérés)	55,5
K-VN	kontroll (vízcsere nélkül)	59,5

Az átlagos kelési százalékokat a 13. ábrán szemléltettem. A kezelési csoportoknál alkalmazott statisztikai kiértékelésnél a vízcsérés kontroll csoport (K-V) 55 %-os kelési százalékát vettem alapul

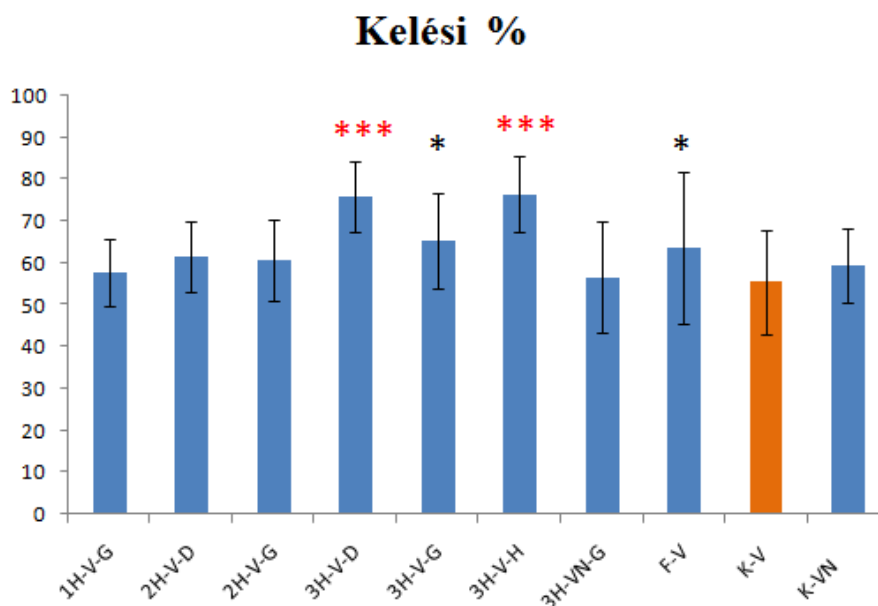
és a következő 13. ábrán fekete csillaggal jelöltem azokat a csoportokat, ahol meghaladta ezt az értéket.



13. ábra: Kelési százalékok eredményei

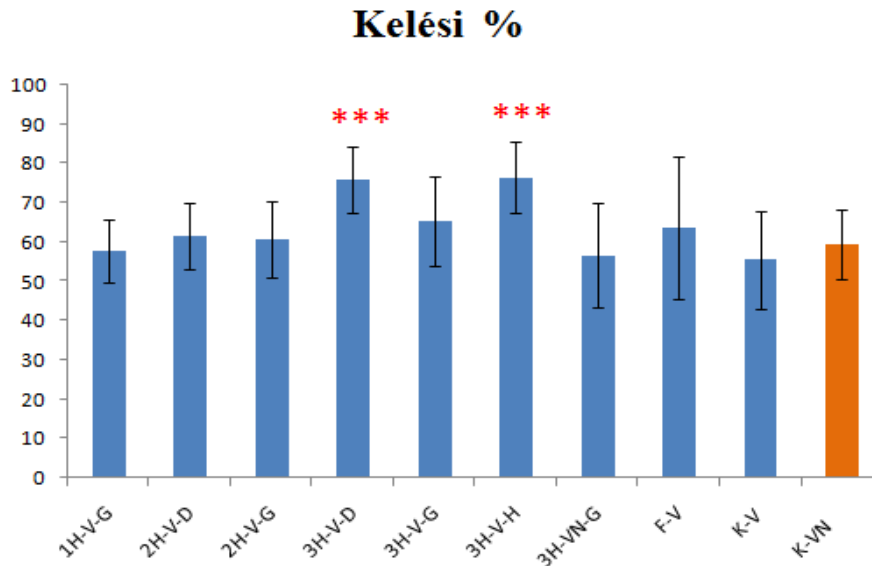
A csillaggal jelölteket a következő ábrákon külön is szemléltettem (14. ábra, 15. ábra). Ezeket a csoportokat Kruskal-Wallis statisztikai próbával összehasonlítottam, hogy megtudjam, hogy van-e szignifikáns különbség közöttük. A statisztikai értékelésnél kapott P értékeket a 9. táblázat tartalmazza.

A vízcserés kontrollhoz képest szignifikánsan jobb kelési %-ot mértem mindhárom különböző földrajzi helyről származó 0,4 g/l-es vízcserés égetobozos kezelésnél és a vízcserés formalinos kezelésnél. Az eltérő szignifikancia szinteket csillagokkal jelöltem. (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)



14. ábra: Kelési % alakulása a vízcserés kontrollcsoporthoz képest

Azonban a vízcseres nélküli kontrollcsoport eredményeihez képest, csak a dunaújvárosi és a hannoveri égetobozos csoport tért el szignifikánsan igazolhatóan (13. ábra).



13. ábra: Kelési % alakulása vízcseres nélküli kontrollcsoporthoz képest

9. táblázat: P értékek, Kruskal – Wallis test (kelési % - kezelési típusonként)

	2H-V	3H-V	3H-VN	3T-V	F-V	F-VN	K-VN	K-V
2H-V	-	-	-	-	-	-	-	-
3H-V	<0,001	-	-	-	-	-	-	-
3H-VN	0,885	<0,001	-	-	-	-	-	-
3T-V	0,182	<0,001	0,225	-	-	-	-	-
F-V	<0,001	0,022	<0,001	0,002	-	-	-	-
F-VN	0,751	<0,001	0,351	0,178	<0,001	-	-	-
K-VN	<0,001	<0,001	0,03	0,06	0,264	0,002	-	-
K-V	0,021	<0,001	0,072	0,369	0,041	0,03	0,351	-

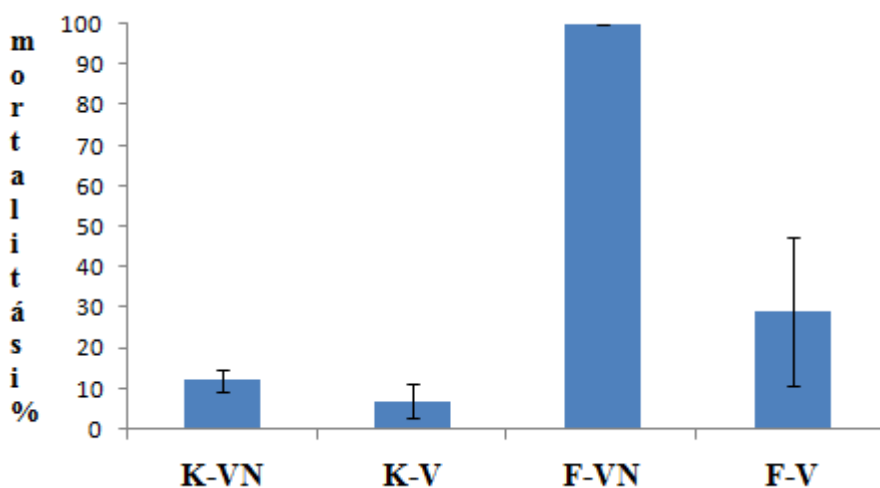
Az égetobozos kezelési típusokon belül eltéréseket tapasztaltam a hasonló koncentrációjú, de különböző földrajzi helyről származó csoportoknál. A legfeltűnőbb különbséget a két nagyobb 2 és 4 g/l-es égetobozos koncentrációnál tapasztaltam, ahol a hannoveres csoportoknál (13. ábra: 1H-V-H, 2H-V-H, 2H-VN-H) a kelési százalék nulla volt.

4.3.3. A kikelt lárvák mortalitási százaléka kezelésenként

A kísérlet során kikelt lárvák pusztulása csak 4 csoportban volt megfigyelhető, amely csoportokban tapasztalt mortalitási százalékokat a következő ábrán szemléltettem (14. ábra).

A többi csoportnál, minden kikelt lárvát életben maradt a kísérlet végéig, ezért elmondható, hogy égetobozos és tanninos oldatokban nem pusztult el kikelt lárvák. Így a túl nagy koncentrációjuk csak a kelésre volt negatív hatással, a kikelt lárvák mortalitási százalékát nem befolyásolta.

Ellentétben a formalinos kezeléssel, ahol a vízcseres nélküli kezelés a kikelt lárvák teljes pusztulását okozta a kísérlet végére. A vízcserés megoldás esetében 29%-os mortalitást figyeltem meg, valószínűleg túl sok volt a napi kétszeri kezelés, míg a kontroll csoportoknál a penészgomba hálójába való beleakadás okozta a pusztulásukat.



14. ábra: Mortalitási százalékok alakulása a kontroll és a formalinos csoportokban

5. Értékelés és következtetések

Alapvető következtetésként megállapíthatjuk, hogy az ikra penészgomba ellen történő kezelése elengedhetetlen a keltetés során és a második ikrakezelés kísérletben alkalmazott égertobozos koncentrációk szignifikánsan csökkentették a vízi penész kialakulását a kezelés nélküli csoportokhoz képest.

További következtetések:

- Több kutatásban is foglalkoztak már a mézgás égerfa egyes részeiben található anyagok azonosításával, ahol számos összetevőt sikerült leírniuk. A tobozokból extrakciós eljárással glutinoint, ellagitannint, valamint pedunculagint és praecoxin D-t izoláltak. (IVANOV et al., 2011) De nem vizsgálták még tudományosan a vízben áztatott tobozból készített oldatok összetételét. Halgazdálkodási szempontból a tobozok kb. 15%-os cserzőanyagtartalma érdemel nagyobb figyelmet.
- A tobozokkal végzett pH vizsgálataimból kiderült, hogy csökkentik a víz kémhatását, de a víz keménysége pufferelő, pH-kiegyenlítő hatású, ezért a pH csökkenés nem olyan jelentős mértékű, így feltételezhető, hogy nem ez okozza a penészedésgátló hatást.
- A 0,4 g/l-es vízcserés égertobozos kezelés esetében szignifikánsan jobb kelési eredményeket tapasztaltunk még a gyakorlatban használt formalinhoz és a tanninos kezelésekhez képest is.
- Az égertobozos vízcseré nélküli kezelések a nagyobb koncentrációkban az ikrahéj keményedését okozták. Így elmondható, hogy csak vízcserés rendszerben érdemes az alkalmazásuk, mert az ikrahéj megkeményedése miatt nem tudnak a lárvák kikelni, így csökken a kelési százalékuk.
- A vizsgált anyagok közül csak a formalin volt toxikus hatással a kikelt lárvákra, a többi esetében a túl nagy koncentrációk csak a kelésre voltak negatív hatással, a kikelt lárvák mortalitási százalékát nem befolyásolták.
- A különböző fákról gyűjtött toboznál hatásbeli különbségeket tapasztaltam, de mindhárom 0,4 g/l-es vízcserés égertobozos kezelések esetében jobb eredményeket tapasztaltam a kelési és penészesedési százalékokban a kezelés nélküli kontrollcsoportokhoz képest.
- Véleményem szerint az égertobozos oldatok vízcserés alkalmazása során a 0,4-2 g/l koncentráció közötti értékekkel érhetünk el megfelelő hatást.

Javaslatok:

- A tógazdasági gyakorlatban is használható koncentráció megállapításához az égartobozos kezelések további vizsgálata szükséges Zuger-üveges rendszerben, mivel a tógazdasági gyakorlatban ilyen nagyüzemi rendszerekben dolgoznak és nem Petri-csészékben, továbbá a Zuger-üveges rendszerben folyamatos vízcseré történik, így elképzelhetőnek tartom, hogy nagyobb koncentrációkban kell az égartobozokat alkalmazni a megfelelő hatás érdekében.
- Javaslom az égartobozos oldatokban található komponensek folyadékkromatográfiával való azonosítását és mennyiségi meghatározását.
- Véleményünk szerint a különböző fajoknál tapasztalt eltérő reakciók miatt érdemes lenne más gazdaságilag jelentős halfajok ikráin is elvégezni ezt a kísérletsorozatot.

6. Összefoglalás

A keltetőházi indukált szaporítás során nyert nagymennyiségű ikrát ún. Zuger-üveges rendszerben inkubálják a hallárvák keléséig. Ezekben a rendszerekben a leggyakrabban előforduló ikrakárosítók a vízi penészgombák (*Saprolegnia spp.*). A megjelenő penészgombák a nem megtermékenyült ikrán jó táptalajt találnak, és igen gyorsan felszaporodnak. A kialakult gombafonalakhoz élő, megtermékenyített ikraszemek is hozzá ragadnak, és azokat is behálózza a penész, amely az embriók elhalásához, vagy torz keléséhez vezet. A vízi penész ezekkel a folyamatokkal hatalmas károkat okozhat, ezért az ikrát kezelni kell gombaölő szerekkel.

A leggyakrabban alkalmazott vízi penész elleni szer a malachitzöld és formalin, azonban káros hatásuk miatt (halakra és vízi szervezetekre, planktonikus élőlényekre erősen mérgező, mutagén hatású anyagok, karcinogén hatásuk korlátozott mértékben bizonyítható) az Európai Unió egyértelmű törekvése ezen szerek betiltása. Manapság, azonban még nincs olyan szer, ami kiválthatná használatukat, így hazánkban a védekezés még nem megoldott. Ezért fontos, hogy ezen környezetkárosító anyagok kiváltására olyan természetes anyagokat találjunk, amelyek megfelelő hatásúak, azonban nagy mennyiségben sem okoznak természetvédelmi problémát.

Célunk volt, hogy az akvarisztikában az akvárium vízhőmérsékletének beállítására már gyakran használt mézgás égerfa tobozait teszteljük az ikrakezelésben. Megvizsgáltuk, hogy ha a vízben áztatott tobozokból nyert oldattal kezeljük az ikrát, akkor megakadályozható-e a penészesedésük a keltetés során. Vízcsere és vízcsere nélküli Petri-csészés kísérleti rendszerben különböző koncentrációjú égertobozos oldatokkal kezeltem két halfaj ikráit (ponty, ezüstkárász) és hasonlítottam össze a gyakorlatban használt szerekkel szemben. Ezenkívül vizsgáltam az égertobozok pH csökkentő hatását és a különböző földrajzi helyekről (Dunaújváros, Gödöllő, Hannover (Németország)) gyűjtött tobozok hatásbeli különbségeit is.

Az eredmények azt mutatták, hogy a 0,4 g/l-es vízcsere égertobozos kezelés esetében szignifikánsan igazolhatóan (Kruskal-Wallis teszt, $p < 0,05$) jobb kelési eredményeket értünk el a gyakorlatban használt formalinos- és a kontroll tanninos kezelésekhez képest. Az égertobozos vízcsere nélküli kezelések a nagyobb koncentrációkban az ikrahéj keményedését okozták. Így elmondható csak vízcsere rendszerben érdemes az alkalmazásuk, mert az ikrahéj megkeményedése miatt nem tudnak a lárvák kikelni, így csökken a kelési százalékuk.

A különböző fáról gyűjtött toboznál hatásbeli különbségeket tapasztaltam, de mindhárom 0,4 g/l-es vízcsere égertobozos kezelések esetében jobb eredményeket tapasztaltam a kelési és penészesedési százalékokban a kezelés nélküli kontrollcsoportokhoz képest.

További vizsgálatok szükségesek az eltérő vízkeménységben alkalmazott dózisokról, a gyűjtés és beáztatási protokollról, hogy üzemi körülmények között is megkezdhesük a mézgás éger tobozból nyert oldatok tesztelését.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton kívánok köszönetet mondani mindenkinek, aki bármilyen formában hozzásegített dolgozatom megvalósulásában.

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, **Dr. Müller Tamásnak és Dr. Bokor Zoltánnak**, akik a kísérletek megszervezésében és lebonyolításában, valamint a dolgozat elkészítésében nagyon sok segítséget nyújtottak.

Köszönetet szeretnék mondani az **akasztói Öko 2000 Vállalkozásnak**, akitől kaptam az ikrát az első ikrakezeléses kísérletemhez és **Dr. Szabó Tamásnak**, aki elhozta nekem az ikrát Gödöllőre.

Hálával tartozom a **családomnak** és a **barátaimnak**, akik segítettek az égetőbozók gyűjtésében és biztattak a dolgozatom megírásában.

Végezetül szeretném megköszönni **Dr. Urbányi Béla**, tanszékvezető Úrnak, hogy a kísérleteim lebonyolításához lehetőséget és teret biztosított a Halgazdálkodási Tanszéken.

Mindezen túl szeretném megköszönni a **Halgazdálkodási Tanszék** minden dolgozójának az önzetlen segítségét.

8. Irodalomjegyzék

- Antalfi A., Tölg I. (1971): Halgazdasági ABC, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 7-8, 53, 60-61, 100-101 p.
- Bauer K., Dangschat H., Knoppler H.O., Neudegger J. (1988): Uptake and elimination of Malachite Green in rainbow trout (in German), Archiv für Lebensmittelhygiene, 39, 97-102 p.
- Berinke L. (1966): Halak. Budapest: Akadémiai Kiadó, 139. p.
- Bíró P. (1993): Halak biológiája, egyetemi jegyzet, MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézet, Tihany, 46, 48 p.
- Byres M., O'Rourke C., Delazar A., Kumarasamy Y., Nahar L., Stewart F., Sarker S.D. (2005): Hirsutanonol, oregonin and genkwanin from the seeds of *Alnus glutinosa* (Betulaceae), Biochemical Systematics and Ecology 33 (2005) 749–752.
- Carrington N., Chris A., Exell A. (1988): The Manual of Fish Health, Tetra Press, NJ. 208 p.
- Craig T. S., Hargreaves J. A. (2003): Copper Sulfate to Manage Cyanobacterial Off-Flavors in Pond-Raised Channel Catfish, In Off-Flavors in Aquaculture Editor(s): Agnes M. Rimando, Kevin K. Schrader, Chapter 10, 133-145 p.
- Culp S.J, Beland F.A, Heflich R.H., Benson R.W., Blankenship L.R., Webb P.J., Mellick P.W., Trotter R.W., Shelton S.D., Greenlees K.J., Manjanatha M.G. (2002). "Mutagenicity and carcinogenicity in relation to DNA adduct formation in rats fed leucomalachite green". Mutation Research, 506-507 p. 55-63 p.
- Czeczuga B., Muszynska E., Wossughi G., Kamaly A., Kiziewicz B. (1995): Aquatic fungi growing on the eggs of several species of acipenserid fishes, Acta Ichthyologica et Piscatoria, 25 (2): 71-79 p.
- Éberhardt B., Szendrői T. (2005): A mi fáink, Meritum Text Kiadó, Dunaújváros, 60 p.
- Fodor F. (2009): A tannin kezelés hatásai a hallárvák kelésére. Szent István Egyetem, Gödöllő, 45 p.
- Higa T. (2007): Forradalom a Föld megmentéséért. (Effektív Mikroorganizmusokkal (EM) oldjuk meg Földünk problémáit), Agroinform Kiadó és Nyomda Kft., Budapest, 61-94 p.
- Hortobágyi T. (SZERK.) (1979): Növényrendszertan, Tankönyvkiadó, Budapest, 598-599 p.
- Horváth L. (2000): Halbiológia és haltenyésztés, Mezőgazda kiadó, Budapest, 238-249 p.
- Ivanov S. A., Nomura K., Malfanov I. L. & Ptitsyn L.R. (2011): Glutinoin, a novel antioxidative ellagitannin from *Alnus glutinosa* cones with glutinoic acid dilactone moiety, Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters Volume 26, Issue 19
- Kitancharoen N., Yuasa K., Hatai K. (1996): Effects on pH and temperature on growth of *Saprolegnia diclina* and *S. parasitica* isolated from various sources, Mycoscience 37: 385-390
- Lajkó I., Tasnádi R. (2001): A tógazdasági haltenyésztés alapjai, Agroinform kiadó és Nyomda KFT, Budapest, 78, 181 p.
- McCormick J. H., Jensen K. M., Anderson L. E. (1989): Chronic effects of low pH and elevated aluminum on survival maturation, spawning and embryo-larval development of the fathead minnow in soft water, Water, Air, and Soil Pollution, February 1989, Volume 43, Issue 3-4, 293-307 p.
- Mészáros E., Hegyi Á., Csenki Zs., Kovács R., Lefler K., Urbányi B. (2009): Malachitzöld-oldat hatása zebradánio (*Danio rerio*) halfajban. 33. Halászati Tudományos Tanácskozás, 54.
- Noszaly M. A., Noszaly I. M. (1959): Gyógynövények és alkalmazásuk a népi gyógyászatban. AMB, Kijev
- Pintér K. (2002): Magyarország halai. Budapest Akadémiai Kiadó, 15, 108, 113, 116-118 p.

- Schreier T. M., Rach J. J., Howe G.E. (1995) Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. *Aquaculture*, 140: 323-33
- Sokoray-Varga, S. F., Demény, F., Boczonádi, Zs., Urbányi, B., Müller, T. (2010): Alternatív módszerek az ikrakezelésben széles kárász (*Carassius carassius* L. 1758) modellen (Alternative methods for egg-treatment, using crucian carp (*Carassius carassius* L. 1758) modell). *Animal Welfare, Etológia és Tartástechnológia* 6(2), 177-199.
- Straub F.B. (1975): *Biológiai Lexikon*, Akadémiai Kiadó, Budapest, 401 p.
- Svobodova Z., Vykusova B. (1997): Ecotoxicological evaluation of pharmaca used in fisheries (in Czech). *Bulletin of the Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodnany, Czech Republic*, 33, 244-254 p.
- Szarka Sz., Felföldi-Gáva A., Simándi B., Blazics B., Simon B., Kéry Á. (2012) Supercritical fluid extraction of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *J. of Supercritical Fluids* 61 (2012) 55– 61
- Varró A. B. (1991): *Gyógynövények gyógyhatásai*. MARKSPED Kft, Kaposvár, 396 p.
- http1: <http://www.kislexikon.hu/malachit-zold.html> (2013.08.)
- http2: <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/formaldehyde> (2013.08.)
- http3: <http://www.agroline.hu/hir/vedekezes-a-halpenesz-ellen> (2013.08.)
- http4: <http://diszhal.info/cikkek/halbetegsegek.php> (2013.08.)
- http5: http://hu.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9z%C3%A1s_%C3%A9ger (2013.08.)
- http6: <http://daffodil2010.hubpages.com/hub/Healing-Properties-Of-Alnus-Glutinosa> (2013.05.)
- http7: <http://javasbiobolt.hu/gyogynovenyek/item/enyves-eger> (2013.05.)
- http8: http://www.starlife.cz/int/products/product_detail.asp?lng=hu&ID=1102 (2013.08.)
- http9: <http://www.haziallat.hu/akvarium/gondozas/akvarium-vizlagytas-gyanta-oxalsav-ph/1206/>
- http10: <http://www.gumtree.ie/cp-fish-in-mayo/black-alder-cones-alnus-glutinosa-and-tetra-pro-colour-469401012> (2013.05.)
- http11: <http://www.pmd.se/zoopet/alkottar/> (2013.05.)
- http12: http://diszhal.info/cikkek/akvarium_viz_kezelese.php#ixzz2MrFHDidd (2013.08.)
- http13: <http://gyogynovenyek.uw.hu/sfe.html> (2013.08.)
- http14: <http://www.melius.hu/gyogy/gyogynov-a-zuj.pdf> (2013.08.)
- http15: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Csersav> (2013.08.)
- http16: <http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tkt/magyarorszag-halfaunaja/ch05s45.html> (2013.08)
- http17: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Ez%C3%BCstk%C3%A1r%C3%A1sz> (2013.08)

9. Nyilatkozat

Alulírott **Nagy Tímea Melinda**, a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Ökotoxikológus MSc szak nappali tagozat hallgatója nyilatkozom, hogy a dolgozat saját munkám, melynek elkészítése során a felhasznált irodalmat korrekt módon, a jogi és etikai szabályok betartásával kezeltem. Hozzájárulok ahhoz, hogy dolgozatom egyoldalas összefoglalója felkerüljön a Kar / Intézet / Szak honlapjára. A digitális verzióban (pdf formátumban) leadott dolgozatom elérhető legyen a témát vezető tanszéken/intézetben, illetve a kialakításra kerülő Kari központi nyilvántartásában, a jogi és etikai szabályok teljes körű betartása mellett.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem.

Gödöllő, 2013.hó.....nap

.....
hallgató aláírása

A dolgozat készítőjének konzulense nyilatkozom arról, hogy a dolgozatot áttekintettem, a felhasznált irodalmat a hallgató korrekt módon, a jogi és etikai szabályok betartásával kezelte.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem.

Gödöllő, 2013.hó.....nap

.....
témavezető aláírása

.....
témavezető aláírása