

SZAKDOLGOZAT

Vass Norbert
Vidékfejlesztési agrármérnöki

Szarvas
2021



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Vidékfejlesztési agrármérnöki Szak

**EGY ÚJ TÍPUSÚ GNRH ANALÓG HORMON HATÁSA A
KECSEGE OVULÁCIÓJÁRA**

Belső konzulens: Dr. habil. Jakab Gusztáv
egyetemi docens

Külső konzulens: Dr. Káldy Jenő
tudományos munkatárs

Készítette: Vass Norbert
REB5PB
nappali tagozat

Intézet/Tanszék: Környezettudományi Intézet

**Szarvas
2021**

Tartalom

1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés.....	3
2.2 Túlhalászat, orvhalászat.....	4
2.3 Vízszenyezés.....	5
2.4 Élőhelyek eltűnése.....	5
2.5 A kaviár.....	6
2.6 A haltenyésztés infrastruktúrája.....	6
2.6.1 Rövid történelem.....	6
2.6.2 Körmedence.....	7
2.6.3 Mechanikai szűrés.....	8
2.6.4 Biológiai szűrés.....	9
2.7 Anyahal nevelés.....	10
2.8 A mesterséges szaporítás menete.....	10
2.9 Hormonális kezelés.....	13
3. Anyag és módszer.....	16
3.1 Előzetes vizsgálatok.....	16
3.2 Anyahalak kiválasztása.....	17
3.3 A halak oltása.....	17
3.4 Fejés.....	18
3.5 Termékenyítés.....	19
3.6 Termékenyülés vizsgálat.....	21
3.7 Statisztikai analízis.....	21
4. Eredmények és értékelésük.....	22
5. Összefoglalás.....	27
6. Köszönetnyilvánítás.....	29
7 Irodalomjegyzék.....	30
8. Ábrajegyzék.....	35

1. Bevezetés

A kecsege (*Acipenser ruthenus*) egyike a 25 tokfajnak, melyek száma világszerte folyamatosan csökken a túlhalászat, a folyószabályozások, a vízszennyezések, a vándorlást gátló vízi műtárgyak és az ívóhelyek eltűnése miatt (Holcik, 1989). A csontos halak (Osteichthyes) főosztályának a sugarasúszójú halak (Actinopterygii) osztályába, ezen belül a tokalakúak (Acipenseriformes) rendjébe és a valódi tokfélék (Acipenseridae) családjába tartozó faj.

Legfontosabb előfordulási helyei a Volga, a Don, az Ob, az Irtis, a Jenyiszej, és mellékfolyói. A Fekete-tenger térségében a Dunában, a Dnyeperben, a Tiszában, a Körösökben, a Drávában és a Rábában találkozhatunk vele (Hensel és Holčík, 1997).

Magyarország vizeiben, főleg a Dunában egykor számos tokféle előfordult. A kecsege kivételével mind anadrom fajok, tehát felúsznak az édesvízű folyók homokos, kavicsos szakaszaira szaporodási céllal, de az életük nagy részét sós vízben, tengerben töltik. Legnagyobb és talán leghíresebb képviselő a viza (*Huso huso*), melynek testtömege akár az egy tonnát is elérheti. A 20. század közepéig a halászok rendszeres zsákmányaként szerepelt. Utolsó kifogott példány Paksnál került elő 1987-ben, tömege 180 kg, hossza 3 méter volt.

Mellette megtalálható volt még a közel 100 kg tömeget is elérni képes vágótok (*Acipenser gueldenstaedtii*), a valamivel kisebb termetű simatok (*Acipenser nudiiventris*) és a söregtok (*Acipenser stellatus*).

Ezen halak folyóinkból való eltűnéséért az al-dunai szorosban megépült vízlépcső rendszerek okolhatók, melyek elzárják a vándorló halak útját. A létesítmény alatti folyószakaszokon még találhatunk a fent említett fajok egyedeiből, felette viszont már szinte csak a kecsege képviseli a tokfélék családját (Őshonos tokhalaink alkonyában. <https://behir.hu/oshonos-tokhalaink-alkonyaban>).

Manapság a tokfélék ívására természetes körülmények között igen csekély esély adódik, ennek fő oka az ívóhelyek megszűnése, vagy azok megközelíthetatlensége a műtárgyak miatt. Ezért az 1950-es években megkezdtek a tokfélék szaporítását mesterséges körülmények között. Ekkor a cél a természetesvízi állományok gyarapítása volt, ivadék méretű halakkal. Később felfedezték a lehetőséget az intenzív

rendszerekben termelt halakban és megkezdődött a nagyobb volumenű szaporítás, hibridizációkkal egybe kötve (Rónyai, 1997). A halászok által a Dunából kifogott kecsegék mennyisége az 1950-es és 1960-as években csökkent, az 1970-es években viszont emelkedett, valószínűleg a telepítések hatására (Hensel & Holčík 1997, Pintér 1991, Tóth 1979). Az intenzív rendszerek kidolgozása után, az 1970-es évek második felétől indult meg a rendszeres kecsege telepítés Magyarországon (Gutti, 2006). A kezdetekben nem beszélhetünk valódi mesterséges szaporításról, ugyanis a természetes ívóhelyen összegyűlt kecsegéket fogták be, majd ivartermékeiket lefejve, mesterségesen termékenyítve, majd keltetve, a nyert ivadékokat előnevelték. Ez a módszer nagyon bizonytalan volt, ezért kezdték el a halak ivarérésének szabályozását, az ivartermékek beérésének serkentésével. Először ponty hipofízissel, ami szintén nem bizonyult elég hatékornak. A tok hipofízis kivonat már egy jobb megoldásnak tűnt, de annak beszerzése igen körülményes és költséges volt. Ekkor kezdték a kísérleteket a különböző szintetikus hormon készítményekkel, melyek igen jó eredményeket hoztak (Pintér és Pócsi, 2002). Rónyai (1997) megállapítása szerint a mesterségesen előállított des-Gly¹⁰ (D-Ala⁶) LH-RH Ethylamid hormon a tokhipofízissel gyakorlatilag azonos eredménnyel alkalmazható a természetes ívási időszakban és azt megelőzően is.

Dolgozatomban a des-Gly¹⁰(D-ALA⁶) LH-RH-acetate nevű szintetikus hormon hatását vizsgáljuk két dózisban, mely egy kísérleti stádiumban levő anyag. Feltevéseink szerint a korábban használt des-Gly¹⁰ (D-Ala⁶) LH-RH Ethylamid hormonhoz képest kevesebb mennyiség is elegendő belőle, azonos határfok mellett. Kísérletem másik célja az új hormon optimális dózisának megtalálása.

Vizsgálataink célja a des-Gly¹⁰(D-ALA⁶) LH-RH-acetate hormon készítménynek a határfok elemzése. A következő fontos kérdésekre kerestük a választ:

1. A korábban használt hormontípus általános 40 µg/ttkg mennyiségével szemben az új hormon 10 és 20 µg/ttkg koncentrációja milyen hatással van a kecsege ovulációjára?
2. Milyen hatással van a hormon az ivartermék mennyiségére és minőségére?
3. Javaslatokat kívánunk megfogalmazni a gyakorlati kecsegetenyésztés számára.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 A tokfélékről

Jelenleg a világon 27 tokfaj él, melyeket négy faj kivételével a kihalás fenyeget (<https://www.fauna-flora.org/news/neglected-species-sturgeon-brink>). Az egyik legősibb taxont képviselik, kialakulásuk mintegy 250 millió évre vezethető vissza (Bemis, Findies és Frande, 1997), mára valamennyiük szerepel az IUCN Vörös Listáján.

A tokalakúak (Acipenseriformes) rendjébe két család tartozik: a valódi tokfélék (Acipenseridae) és a kanalas tokfélék (Polyodontidae), mely utóbbihoz mindössze két faj tartozik, a lapátorrú tok (Polyodon spathula) és a kardorrú tok (Psephurus gladius), jellemzőjük a jelentősen meghosszabodott orr, mely a teljes testhossz egyharmadát is elérheti, bőrük csupasznak tűnik, de apró csontlemezek fellelhetők rajta.

A valódi tokfélék fajainak testén öt sor hosszanti elhelyezkedésű csontos vértör húzódik, melyek színe általában világosabb a test színénél, ami a háti oldalon sötét árnyalatú, barna, szürke, esetleg enyhén zöldes, a hasi oldalon világos sárga, vagy fehér. Jellemzőjük a jellegzetes orr, melyen alul négy bajusszal helyezkedik el, az alsó állású száj felett. A bajszok szájhoz viszonyított helyzete faji bélyeg.

A kecsege az egyetlen tokfélénk, mely egész életét édesvízben tölti. Teste hosszúkás orsó alakú, alulról lapított, bőrét, mint minden valódi tokféléjét, öt hosszanti sor csontlemez fedi, melyeket vértörnek hívunk. Keskeny, hosszú, enyhén felfelé hajló orrának hasi oldalán 4 darab rojtozott bajusszalát visel, melyek lesimítva eléri a hal közepes méretű szájának felső ajkát, az alsó ajka közepén osztott. A környezetétől függően a háta sötét színű, általában barna, vagy zöldes árnyalatú, hasi oldala világos színezetű, sárgás vagy fehér. Testhossza ritkán haladja meg az egy métert, a leggyakrabban kifogott méret 1-2 kg körül alakul (1. ábra).

Nyeste K. és munkatársai (2020) kutatásából kiderül, hogy több magyarországi folyóból került elő kecsege, úgy mint: a Dunából, a Drávából, a Tiszából, a Szamosból, a Kettős- és Hármas- Körösből, valamint a Marosból.



1. ábra, Egy fiatal kecsege, forrás: <https://www.fishworld.eu/hu/halak/kecsege>

A folyók mélyebb, gödrös szakaszait kedveli, köves, kavicsos vagy homokos aljzattal, ahonnan rovarlárvákból, gerinctelenekből és puhatestűekből táplálkozik. Melegvíz kedvelő faj, az optimális hőmérséklet a számára 18 és 25 °C között van. Ugyan édesvízi hal, de 12 ppt (12 g/l) sókoncentrációt még elviseli (Brett, 1983; Semenkova, 2002). A víz kémhatása 7,7-8,8 pH között ideális (Kozlov és Abramovich, 1986).

A tokfélék megritkulásának legfőbb okai az antropogén hatások, a környezetszennyezés, a túlhalászás és az orvhalászat. Vándorló életmódjuk miatt a folyószabályozások is nagyban befolyásolják a tokfélék populációinak fennmaradását.

Az 1970-es évek közepétől a tokfélék halászattal kifogott mennyisége drasztikusan lecsökkent. A legsikeresebb években az éves mennyiség megközelítette, vagy akár meg is haladta a 30 000 tonnát, ezzel szemben 2009-ben már csak 682 t volt a kifogott mennyiség (FAO, 2014).

2.2 Túlhalászat, orvhalászat

A tokféléket évszázadokon át az ikrájukból készíthető fekete kaviár és szálkátlan, ízletes húruk miatt halászták. A kaviár nagyon magas piaci értéke miatt a tokokat nagy mennyiségben halászták, főleg a szaporodásra alkalmas területeken, vagy a folyami és tengeri élőhelyeken. Ennek következtében az állomány hamar meggyengült. A huszadik század kezdetén az éves tokfogás az Al-Dunán még ezer tonna körül alakult, a század végére ez a szám 300-400 tonnára esett vissza. A tokok hosszú életciklusukból adódóan igen későn válnak ivaréretté, ezáltal sok halat már azelőtt kifognak, mielőtt esélye lett volna szaporodni. (Csorbai et. al, 2015).

2.3 Vízszennyezés

Ez a probléma valójában már a középkortól létezik, a vízimalmok, a bőripar és a városi szennyvizek hatása miatt már ekkor kimutatható a tokfélék visszaszorulása (Ferenczi L., 2015). Az 1970-es években megnőtt vízszennyezés mértéke, mely elsősorban tápanyagterhelést jelentett, azaz nitrogén és foszfor került a vizekbe. Ennek hatására erőteljesebbé vált az eutrofizáció a Dunán, valamint a Fekete-tenger északnyugati területein. Az egyéb szennyező anyagok pedig negatívan hatottak a szaporodásra, a megmaradásra és a halak fiziológiai állapotára. Szerencsére a vízminőség mára javulást mutat (Holcik, 1989).

2.4 Élőhelyek eltűnése

A tokok többsége vagy anadrom faj (édesvízben születnek, életük nagy részét tengervízben töltik, majd visszatérnek édesvízbe ívni), vagy katadrom faj (tengervízben születnek, életüknek legnagyobb részét édesvízben töltik, majd visszatérnek a tengervízbe szaporodni). Ezeket a fontos vándorlási útvonalakat szinte minden nagyobb folyón vízerőművekkel, gátakkal zárták el, ezáltal megakadályozva a halak sikeres szaporodását. Az anadrom halak számára egyedüli ívási lehetőségként a vízi létesítmények alatti folyószakasz adott. A Dunán fölfelé haladó tokok útjába a két ütemben megépített vízi létesítmény áll, a Vaskapu I. 1972-ben, a Vaskapu II. 1984-ben

épült a Déli-Kárpátok és a Szerb-érchegység között, Szerbia és Románia határán (Őshonos tokhalaink alkonyában, <https://behir.hu/oshonos-tokhalaink-alkonyaban>).

2.5 A kaviár

A tokfélék legértékesebb luxus-terméke a kaviár, amit fekete aranynek is neveznek, ezt a halak petefészkből nyerik ki az ovuláció előtt vagy után. A kinyert ikrát enyhén sózzák, így tartósítva azt, valamint az ikra lágy burkát is ellenállóbbá teszi. A csomagolás címkéje nem lehet félrevezető és olyan kifejezések, mint a Beluga, az Osetra és a Sevruga alkalmazható a *Huso huso*, az *A. gueldenstaedtii*, az *A. persicus* és az *A. stellatus* esetében (Codex Alimentarius, 2010). A kaviárral történő kereskedelemhez külön engedélyre van szükség, mert a tokfélék a Washingtoni Egyezmény, azaz a CITES hatálya alá esnek. A csomagoláson fel kell tüntetni a fajnevet, az eredetet (vad vagy tenyésztett halból származik), a származási országot, ugyanazon hal ikrájával megtöltött edények számát, az előállítás évét, a feldolgozó azonosítóját és a kaviár színárnyalatát, mely lehet világos, közepes vagy sötét. A legértékesebb a viza, azaz a beluga kaviárja. Jelenleg a világ legnagyobb kaviártermelője és exportőre Irán, második helyen Oroszország áll. Akvakultúrák kaviártermelésben Olaszország és Franciaország jár az élen. (Csorbai et. al. 2015).

2.6 A haltenyésztés infrastruktúrája

2.6.1 Rövid történelem

A halászat és a halfogyasztás az emberiség történelmével egyidős tevékenységek, melyek az utóbbi évszázadokban rohamos fejlődésen mennek keresztül. Kialakult az akvakultúra, mely a tengeri és édesvízi növények és állatok kontrollált körülmények közötti tenyésztését jelenti, magában foglalja a puhatestűek és rákfélék tenyésztését is. A tenyésztési munkákat nyitott vagy zárt, extenzív vagy intenzív tenyészetekben, a szárazföldön lévő tavakban vagy medencékben, illetve part menti vizekben, vagy a part menti nyílt vizekben végzik. Az ágazat termékei az európai hal, rák, és puhatestű fogyasztás 25%-át fedezi, és ez a szám egyre növekszik. A természetes

vizek egyre nagyobb mértékű lehalászása miatt új technikákra van szükség az egyre növekvő igények kielégítésére (Csorbai et. al. 2015).

Így kerül előtérbe az intenzív haltenyésztés, más néven precíziós vagy iparszerű haltenyésztés. Az első próbálkozások a 19. század végén az Egyesült Államokban és Németországban voltak, amikor szivárványos pisztrángot próbáltak ellenőrizhető módon tenyészteni. A nagy fejlődés a második világháború után indult meg, kezdetben sikertelen volt a különböző fajú és méretű halak kádakban, medencékben, ketrecekben való nevelése. Az első sikeres megoldás az úszó ketreces kialakítás volt, melyet alkalmaztak sós és édesvízben egyaránt az 1950-es években (Shepherd és Bromage, 1992).

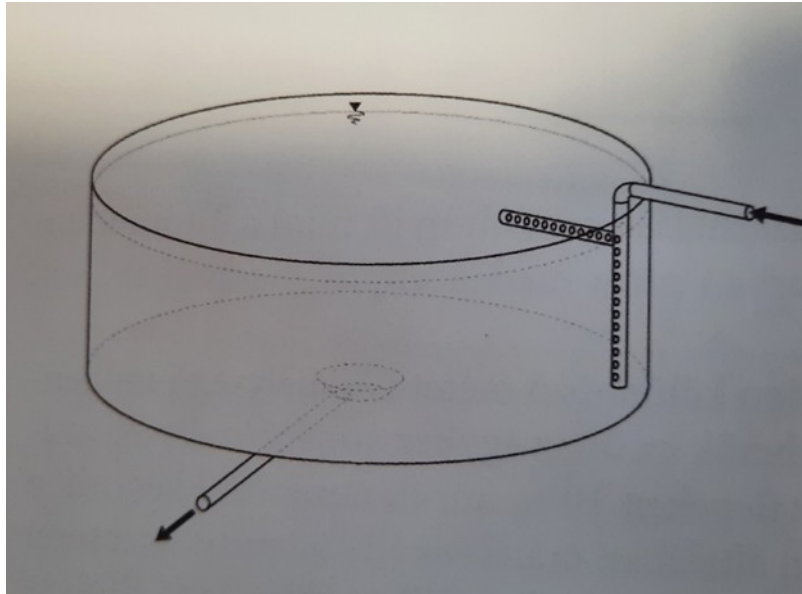
A következő kritérium a takarmányozás. A különböző fajtájú és méretű halak más típusú és méretű tápot igényelnek. Ennek következtében a takarmánygyártók különböző méretű és összetételű tápokat kezdtek gyártani, fajspecifikusan. Az első valódi intenzív telepet Dániában hozták létre, 1962-ben (FAO, 2015).

A következő előrelépést az átfolyóvízes rendszer jelentette, a megfelelő technika kidolgozása és alkalmazása az 1970-es évekre tehető. Ezután került a kialakításra a recirkulációs rendszer, mely már nem számított innovációnak, ugyanis az akvarisztikában és a keltetőházakban már alkalmazták. Az így kialakult recirkulációs intenzív rendszerek a legnagyobb termelési volument jelentik (Wedemeyer, 1996).

2.6.2 Körmedence

A termeléstől függően a medencék mérete és mélysége igen változatos lehet. Helykihasználásuk az alakjukból kifolyólag nem a legjobb. Áruhal termelés esetén akár 10 méter keresztmetszetű is lehet. A vízcsera ideális esetben óránként 1,5-3-szoros. Bennük a víz általában körkörösén áramlik, ami a halak csoportosulása szempontjából nem ideális. Ennek elkerülésére a víz bevezetésén lehet változtatni, azaz több ponton, horizontálisan és vertikálisan is bevezetésre kerülhet. A kiüledő anyagok hatékonyabb eltávolítására szolgál a kettős kifolyású rendszer, ami a kijutó víz mennyiséget ketté osztja, a nagyobb része a medence oldalán lévő főkifolyón távozik. A víz kisebb része a

centrális kifolyón távozik. Így a rendszer mechanikai szűrője nagyban tehermentesített (2. ábra).



2. ábra, A körmedence és benne a víz útja, forrás: Timons és Ebeling, 2007

Anyaga sokféle lehet: beton, PVC, polipropilén, üvegszál-erősítésű poliészter, polietilén, fém, különböző vázas fóliák. A medencék általában talajszinten helyezkednek el, de előfordul földbe süllyesztett megoldás is (Csorbai et. al, 2015).

2.6.3 Mechanikai szűrés

A halak az elfogyasztott takarmány akár 80%-át is, szilárd, gáz vagy oldott anyag formájában a vízbe ürítik. A kibocsájtott anyag nagy része szilárd ürülék, mennyisége akár 400 g is lehet, 1000 g táp elfogyasztása után. Az ürülék szemcsék felületén hamar megindul a különböző baktériumok szaporodása, ez tovább terheli a rendszert az oxigénfogyasztással és az ammónia-termeléssel (Hopkins és Mancini 1989).

A recirkulációs rendszer zavartalan működéséhez ezeket a lebegő anyagokat el kell távolítani. Erre a feladatra a különböző mechanikai szűrők a legalkalmasabbak. A különböző szemcseméreteket különböző módszerekkel és eszközökkel szűrik ki a rendszerből, erre szolgálnak az ülepítők, a csöves ülepítők, a dobszűrők, a gyöngy filterek és a hableválasztók (Csorbai et. al, 2015).

2.6.4 Biológiai szűrés

A halak ürüléktartalma a megfelelően összeállított takarmány elfogyasztása után jó fehérjehasználás esetén 2%, rossz fehérjehasználás esetén maximum 3,5% nitrogént, 0,5% foszfort és 40% szenet tartalmaz. Az ürülék egy része kisebb-nagyobb darabokban marad, ezáltal mechanikusan kiszűrhető a vízből, a másik része viszont akár kolloidális méretűre is felaprózódik, ennek a tisztításához már biológiai szűrésre van szükség. A halak a légzésük során CO_2 -t bocsájtanak ki, ami megváltoztatja a víz pH-ját (Skjolstrup et. al., 1998; Piedrahita, 2003; Suzuki et. al., 2003.; Ebeling, 2006; Eding et. al., 2006.)

A biológiai szűrő az ammóniát nitráttá alakítja. Manapság a recirkulációs üzemekben fixált biofilmmel borított szűrőket használnak. A bioszűrőt jól nedvesedő, hidrofil anyagból készítik, melyek alakja a méretéhez képest nagy fajlagos felületet eredményez, ezáltal segíti a baktériumok minél nagyobb számú megtapadását, így kialakul a biofilm réteg rajtuk. A felhasznált anyagok és formák igen sokfélék lehetnek, a lebegtetett homoktól, a kisebb műanyag elemeken át a nagy összefüggő lapokból álló csepegtetett filterekig (Wheaton et al., 1994.; Hochheimer és Wheaton, 1998.; Gutierrez-Wing és Malone 2006; Guerdet et al., 2010.).

Működésük alapján a biológiai szűrőket két csoportra oszthatjuk. A cső jellegű, ami azt jelenti, hogy a víz egy csövön jut át, miközben a biofilter réteg felett áthalad, eközben anyagokat ad le (ammónia, oxigén, oldott szerves anyag) és anyagokat vesz fel (nitrit, szén-dioxid), majd megtisztulva nem keveredik a még tisztítatlan vízzel. A másik csoport a kevertágyas biofilteres módszer, amikor a biofilter elemek egy kádban helyezkednek el, általában levegőáram keverteti. A tartályba a víz folyamatosan bejut és keveredik, majd a kevert víz jut ki. Ezért szükséges több kád egymás után kapcsolása, így elérhető a kívánt vízminőség. (Smith, 2001; Malone és Pfeiffer, 2006; Rusten et al. 2006; Watten és Sibrell, 2006.)

2.7 Anyahal nevelés

A mesterségesen nevelt kecsgek optimális víz hőmérsékleti igénye 18 és 22 °C közt van (Ponomarev et al., 2002). A hímek az ivarérettséget 4-5 éves korukban érik el és tőlük a tej minden évben lefejhető. A nőstények 6-10 évesen válnak ivaréretté, azokat 2 évente fejjük. A nevelőtavak mérete 0,1 és 4 ha között ideális, 2-2,5 m vízmélységgel, a teljes vízcsere 10-30 nap alatt megy végbe (Syrbulov et al., 2005).

A halak etetését magas fehérjetartalmú (42-45%) táppal végzik, 11-12%-os zsírtartalom mellett, melyet naponta 2-3-szor juttatnak ki. Télen, amikor hideg a víz, a napi adag a halak testtömegének 0,5-1%-a, melegebb vízben a hőmérséklettől függően ez 2-2,5% (Kozlov et al., 2004).

Az anyahal nevelés két és fél évig tart, amikor a hímek ivaréretté válnak. Az érés serkenthető a hőmérséklet változtatásával és az etetési rend módosításával (Bogdan és Mastynski, 1993).

2.8 A mesterséges szaporítás menete

A szaporítani kívánt állatok kiválasztása ősszel történik, amikor a víz hőmérséklete 12 °C, ekkor az ikrás egyedek ivarmirigy érettségi szakaszainak vizsgálatát is elvégzik. A vizsgálat történhet ultrahangos módszerrel, vagy invazív módszerekkel, ilyen a bioptikus, operatív vagy endoszkópos vizsgálat. Ezek hátránya az időigényességen túl az, hogy a halak károsodásával is járhat. A szelekció a vér hemoglobin tartalmán, vagy az ikrák lipidtartalmán is alapulhat. A kiválasztás során a nőstények közül a III., III-IV. és IV. érési stádiumú ivarmiriggyel rendelkező, hímek közül pedig a III-IV. és IV. szakaszban lévő ivarmiriggyel rendelkező egyedek kerülnek kiválogatásra későbbi szaporítás céljából. Az áttelelés során a halak optimális hőmérsékleti tartománya 4-5 °C. Telelés közben a hőmérséklet rövid távú emelkedése 7 °C-ig vagy csökkenése 2 °C-ig nem okoz problémát. (Dettlaff et al. 1993).

Mára a tokféléket igen széles körben szaporítják. A tenyészállatok lehetnek vadon befogottak vagy már mesterséges körülmények között nevelt egyedek. A tokhalakban a petesejtek érése és az ovuláció stimulálható tokhal-hipofízisből és ponty-hipofízisből gyártott készítményekkel (acetonnal szárított agyalapi mirigy szuszpenzió, glicerol kivonat), illetve szintetikus emlős LH-RH (GnRHa) analógok beinjektálásával. A progeszteron, amely in vitro, tehát az élő szervezeten kívüli körülmények között

stimulálja az oocita (megtermékenyített petesejt) érését, nem fejt ki stimuláló hatást, amikor nőtény egyedekbe injektálták. A beadandó dózisok a halak méretétől, fajától, valamint a víz hőmérsékletétől függenek. A hormonális stimulációra való felkészülést közel az ikra inkubálásának optimális hőmérsékletén kell elkezdeni, amely tokfajonként eltérő lehet, pl. vágótok esetében ez 14-18 °C, míg kecsege esetében 10-15 °C. Az injekció intramusculárisan, hátizomba kerül beadásra a hipofízis méretének megfelelő arányában. Ha nagy dózist kell bejuttatni az állatba, akkor érdemes azt a hátizom eltérő részein elvégezni. (Goncharov 1981).

A tenyészállatok érési ideje hőmérsékletfüggő. Az anyahalak érettsége morfológiailag is megállapítható, de e módszer biztos alkalmazásához nagy szakértelem és tapasztalat szükséges. A ovuláció kezdetét folyamatosan, időszakosan ellenőrizni kell. Ha feltűnik a papillából a koelomikus folyadék vagy pár szem ikra, egy órán belül szükséges újrazivsgálni. A nagyobb nőtények hasát időről időre érdemes megtapintani, puha hasuk alapján be lehet azonosítani az érettségi állapotot. Az ivarsejtek gyűjtése akkor kezdődik, amikor a nőtény egyértelmű jeleket mutat, tehát nyomásra erős ovarialis folyadék jelenik meg ikraszemmel. Ebben az esetben a hal készen áll az azonnali fejésre. Az ikra lefejtése után minél hamarabb sort kell keríteni a sperma fejésére (Dettlaff et al. 1993).

Az ikra kinyerése sokszor az anyaállat elhullásával jár. Az egyik kevésbé invazív módszer a Podushka-féle oviduct átvágás, amelyet a legnagyobb hatékonysággal használnak 1986 óta. A módszer lényege, hogy az ikrás hal petevezetékét a hal farka felőli végén átvágják, ezáltal az ikra a hasüregen és az papillán keresztül kifejhető a has előlről hátra haladó masszírozásával. Az ikragyűjtést követően varrás és egyéb kezelés nem szükséges. Ez a művelet a legtöbb esetben nem jár az anyaállat elhullásával (Podushka, 1986).

Egy másik módszer a laparotómia, amely a hasüreg felvágásával jár, általános altatás mellett. Ezt főleg nagyméretű (130+ kg) állatoknál alkalmazzák. Itt az ikra kinyerését követően szükségszerű a vágás (8-14 cm) bevarrása és fertőtlenítése. 80-95 % az így fejt halak túlélési rátája (Podushka, 1986).

A sperma gyűjtését húgycső-katéterrel és eldobható Janet fecskendővel hajtják végre. A sperma későbbi felhasználása esetén kis ideig eltárolható alacsonyabb hőmérsékleten, mint, amelyen a hím addig tartva volt (Podushka, 1986).

Az ikrák mesterséges megtermékenyítése a lefejt spermiummal történik. Általában több hím-től vett mintával termékenyítenek meg egy nősténytől származó ikrát a heterogenitás fenntartása érdekében. A sperma motilitása függ a hím fiziológiai állapotától, a tartási körülményektől és a sperma gyűjtésének időzítésétől. Érdekes a lefejt ikrákat két-három tálba külön-szedni és egyenként megtermékenyíteni egy-egy hím spermájával annak elkerülése érdekében, hogy a jobb minőségű sperma termékenyítse meg a lefejt ikrák nagy részét, így biztosítva a heterogenitást. A monospermiás megtermékenyítés legnagyobb valószínűségének eléréséhez a spermát vízzel keverik össze 1:200 hígításban. Ez az arány kicsit változhat a jelen lévő ovariális folyadék mennyiségének függvényében. Ahogy a termékenyítő oldatot hozzákeverik az ikrához, azonnali két perc keverés szükséges. Amikor a lefejt ikrát víz éri, megkezdődik az ikra aktiválódása, mely során erősen ragadóssá válik. Ezt a ragadós tulajdonságot ásványi iszap vagy talkum hozzáadásával igyekeznek megszüntetni. A tannin is megfelelő erre a célra, viszont ebben az esetben figyelni kell a pontos kiadagolásra és a jó időzítésre, mert hiba esetén a kezelés az ikra mortalitásához vezethet (Podushka, 1986).

A tapadás megszüntetése után az ikrákat vízzel többször átöblítik, amíg a ragadósság megszüntetésére használt anyagot teljesen el nem távolítják. A már tisztított ikrákat egy külön erre a célra kifejlesztett inkubációs rendszerbe helyezik át, ahol biztosítva van a folyamatos vízcsere, és az ikrák fel-le történő mozgása a vízoszlopban. Az inkubációs idő alatt az ikrák mindig vízzel fedettek. Az inkubálandó ikra mennyisége, melyet behelyezünk a keltetőbe függ a keltető rendszer fajtájától (Yushchenko, Osetr, MacDonald, Weiss) és méretétől, illetve a hal fajtájától. A keltető rendszer vízigénye szintén a rendszer fajtájától függ. A keltető rendszer megvilágításának erőssége fajfüggő (*Acipenser stellatus* – 20-100 lux; *A. gueldenstaedtii* – 10-20 lux). Magasabb megvilágításnál nagyobb az esélye az abnormalitások kialakulásának, míg az életképesség csökken. (Chebanov, 2013)

Az ikra termékenységének arányát már a keltető zugerekben meg lehet vizsgálni. A kezdeti termékenységi százalék megbecsülhető a második, harmadik osztódási fázisban. A mintázás ideje függ a víz-hőmérséklettől. A különböző tokhalak ikrájának inkubálási időtartama a víz hőmérsékletétől függ. A hőmérsékletet az optimális fajspecifikus tartományban kell tartani, közel az átlagértékhez. A tartomány felső határához közeli víz-hőmérsékleti értékek negatívan befolyásolhatják az embrió fejlődését, amely a deformitások magasabb arányú előfordulásához és/vagy alacsony

sziktartalék kialakulásához vezet. Az alsó hőmérsékleti értékhez közel pedig megnövekedhet az inkubációs idő, amely következtében az ikra több preventív kezelést igényel, habár keléskor nagyobb súlyú és gyorsabb növekedésű prelárvát kapunk. A vízhőmérséklet állandó értéken tartásával elkerülhető a deszinkronizáltság az embrió fejlődésében, amely az ikra kelésének időszakában a tömeges kelés hiányával járhat. Így a lárvák eltérően fejlődnek. A víz hőmérsékletének napi változása nem szabad 2 °C-nál magasabb legyen, ezt gyakran ellenőrizni kell (Podushka, 1986).

Az ikrák kelése általában egy-egy úszó prelárva megjelenésével kezdődik és több napig is eltart. A lárvák súlya és hossza fajspecifikus tulajdonság. A prelárvák hőmérséklettől és fajfüggően napokon keresztül endogén táplálkozás útján a szikzacskóból elégítik ki energia- és tápanyagszükségeiket, illetve ez idő alatt fejlődik az emésztőrendszer is és növekszik a lárva. A prelárvák fényre adott válasza fontos fajra jellemző tulajdonság. Bizonyos fajok, illetve eltérő helyekről származó populációk lárvái fotofóbok (Azovi származású vágótok), míg mások (Volga származású vágótok) fotopozitív viselkedésűek. A lárvák fényhez való viszonya a fejlődésük alatt változásokon megy keresztül. A prelárva növekedése alatt nagy figyelmet kell fordítani a különösen kockázatos posztembrionális fejlődési időszakokra, mint átmenet a kopolyulégzésre, illetve az exogén táplálkozás kezdete. Az exogén táplálkozás akkor kezdődik, amikor a szikzacskó eltűnik. Az exogén táplálékra történő áttérés jelzi az prelárva időszak befejeződését és a lárva időszak kezdetét, mely összefüggésben van a légzésben, metabolizmusban, növekedésben és túlélésben bekövetkező változásokkal (Chebanov, 2013).

2.9 Hormonális kezelés

Száritott tok hipofízisből az általában használt dózis nőstények esetében 2-2,5 mg/testtömeg kg, hímek esetében 1-1,5 mg/testtömeg kb. (Doroshov és Lutes, 1984). A ponty hipofízist is sikeresen lehet alkalmazni fehér és szibériai tok esetében, ekkor a használt dózis nőstények esetében 4-6 mg/ttkg, hímek esetében 1-2 mg/ttkg. (Doroshov és Lutes, 1984; Williot et al. 1991; Steffens et al. 1990). A vízhőmérséklet is figyelembe kell venni a megfelelő hormonmennyiség kiszámításához, például 10-12 °C vízhőmérsékletnél tokhipofízisből 4 mg/ttkg a beinjektálandó mennyiség, 14-16 °C vízhőmérsékletnél ez a mennyiség 3 mg. Ugyanez igaz akkor is, ha GnRH hormont

használunk, 13-15 °C hőmérsékletű vízben 5 és 40 µg/kg, a két oltás között 12 óra különbséggel, míg 15-18 °C-os víz esetén a két dózis 5 és 30 µg/kg, 8 óra különbséggel beadva (Chebanov et al. 2004).

Azonban hipofízissel történő oltásnak megvannak a hátrányai. A tokhipofízishez nehéz hozzájutni, a pontos gonadotropin mennyiség nem ismert és tartalmazhat biológiailag aktív komponenst, mely hatással lehet a halak immunrendszerére (Rónyai, 2009).

Ezen problémák kiküszöbölése érdekében ma már széles körben használnak szintetikus GnRH készítményeket, melyek közül a legismertebb a des-Gly¹⁰(D-Ala⁶)-LH-RH Ethylamid (LHRHa) valamint napjainkban a des-Gly¹⁰(D-ALA⁶)LH-RH-acetate. A GnRH analóg hormonok a hipofízis szintjén avatkoznak be a hipotalamusz-hipofízis-ivarszerv rendszerbe, endogén GtH termelést stimulálva. Ezen hormonok mesterségesen megváltoztatott irányú aminosavakat tartalmaznak, így a proteáz enzimek kevésbé tudják bontani őket, amivel megnő az élettartamuk. Ezért viszonylag kis dózis is elég belőlük az ovuláció kiváltásához (Németh, 2009). A des-Gly¹⁰(D-Ala⁶)-LH-RH Ethylamid (LHRHa) hormont már sikeresen alkalmazták több tok fajon is, különböző dózisokban. 0.15-0,6 µg/kg dózisban sikeresnek bizonyult a kecsge szaporításában is (Goncharov et al., 1991). Hím halak esetében a dózisok feleződnek (Rzemieniecki et al., 2004). Kecsege esetében des-Gly¹⁰(D-Ala⁶)-LH-RH Ethylamid hormonból ikrások esetében 40 µg/ttkg míg a hímek esetében 20 µg/ttkg a bejuttatott hormon mennyisége (Csorbai et al., 2015).

Rónyai (2009) kutatásai alapján, optimális hőmérsékleten, ami 16-17 °C, a nőstény egyedek több, mint 80%-a ovulált. A kapott eredmények alapján a szintetikus des-Gly¹⁰(D-Ala⁶)-LH-RH Ethylamid hormon ugyanolyan hatásos lehet a kecsge szaporításában, mint a tokhipofízis. A különbség csak abban mutatkozott meg, hogy a GnRH-val kezelt egyedek 23%-a csak részleges ovulációt mutatott, ezzel szemben a tokhipofízist kapott valamennyi hal teljesen ovulált.

E technika alkalmazásával a tavaszi munkacsúcs csökkenthető, a szaporítás december és június között megvalósítható abban az esetben, ha az anyaállomány megfelelően elő van készítve. Az anyahalakat a külső jellemzőik alapján választják ki.

A szintetikus hormon használatával ugyanaz a termékenyülési ráta és ovuláció érhető el, mint a tokhipofízis használatával. Mindkét anyag használatakor azt fiziológiás

sóoldatban (0,65% NaCl) oldva juttatjuk a hal hátizmába. A hal fajától, a víz hőmérséklettől és az érettségi fázis függvényében a szükséges dózist egyben, vagy két egymást követő adagban injektálják be. Abban az esetben, ha az injektálás 2 alkalommal megy végbe, az első adag a teljes dózis 10 %-a, a második a maradék 90%, 12 óra különbséggel. A hímeket elég egyszer oltani, akkor, amikor az ikrások a második adagot kapják (Rónyai, 2009).

3. Anyag és módszer

Kísérleteinket a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halászati Kutató Központ telephelyén, Szarvason, végeztük. A Halászati Kutató Központ tok génbankjából származó anyahalak a nevelő tavakból lehalászás után a recirkulációs üzem karantén rendszerébe kerültek, ahol 2 napig megfigyelés alatt tartottuk őket.

3.1 Előzetes vizsgálatok

2021 februárjában végeztünk egy megelőző kísérletet, melynek az volt a célja, hogy a tavaszi kísérletre meggyőződjünk a használt hormondózisok megfelelő mennyiségéről, ugyanis nagyon értékes halakról van szó. A két használt hormondózis 20 és 40 µg/ttkg volt. Ez alkalommal összesen 10 kecségét vizsgáltunk, ez statisztikai eredményekhez kevés minta, de már látszott, hogy a magasabb hormonmennyiség rosszabb termékenyülést eredményez (3. ábra). Ennek következtében a későbbiekben 20 és 10 µg/ttkg hormonmennyiséget alkalmaztunk.

egyedi azonosító	fejt ikra (gr)	hormondózis (µg/ttkg)	termékenyülés %	fejés előtti testtömeg (kg)
53764	718	20	85,29±3,7	2,7
526BC	592	20	1,44±0,4	3,5
4B920	502	20	34,63±8,6	2,8
520D0	454	20	72,23±4,8	3,35
5270D	1212	20	81,37±3,9	6,4
5237C	564	20	70,58±6,5	4
50D8F	502	40	2,06±1,2	2,8
52286	820	40	3,88±0,5	3,75
4DDB7	428	40	79,89±0,9	3,75
4AD4C	380	40	71,71±3,8	3,6

3. ábra, az eltérő hormondózissal oltott kísérleti csoportoktól fejt ikrák termékenyülési aránya.

3.2 Anyahalak kiválasztása

A kecsegék a telet a telelő tóban töltik. A szaporítani kívánt anyahalak kiválasztása a telelő tó lehalászásával kezdődött, mikor a víz hőmérséklete elérte a 14 °C-t. A megfelelőnek vélt halakat külső jegyeik alapján bíráltuk, mint például a has teltsége. Ezután a kecsegéket a recirkulációs üzem karantén termébe szállították, ahol a hím és nőstény egyedeket külön-külön, négy m³-es, recirkulációs rendszerű műanyag kádakba helyeztük el. Ebben a rendszerben kezdődött el a halak hőmérsékleti kezelése is úgy, hogy napi 0,5 °C-al, 14 °C-ról 15,5 °C-ra emeltük a víz hőmérsékletét, így elkerültük az ikrák túlérését. A halak oltását 15,5 °C-on végeztük el, majd a tervezett fejes előtt 1 órával 16 °C -ra emeltük a víz hőmérsékletét.

3.3 A halak oltása



4. ábra, A kecsege oltása, forrás: saját fotó

A kecsegék oltására 2021 április 4-én került sor, ekkor 11-11 db hal kapott 10 és 20 $\mu\text{g}/\text{tkg}$ mennyiségű hormont. Az injektálás a hátizomba történt, fecskendő és tű segítségével. A tűt lépcső-szerűen, váltakozó szögben szúrtuk az izomba, majd a bemeneti pontot masszírozva húztuk ki (4. ábra). Erre azért volt szükség, hogy az izom összehúzódás miatt a beinjektált hormon ne kerüljön ki a halból. Oltás után a halak visszakerültek a kádakba.

3.4 Fejés

Az oltás után 48 óra elteltével megkezdődött a nőstény halak fejése. Fejés előtt minden anyahal testtömegét meghatároztuk egy ezred kilogramm pontosságú digitális mérleggel. A műanyag kádakból a kecsegéket egy nyeles merítő szák használatával vettük ki. A halakat nedves szivacsra, a hátukra fektetve helyeztük el, a fejét és a farkát nedves ruhával takarva fogtuk le. Az ivarnyílás környékének szárazra törlése után néhány ikraszemet kifejtünk, ha az megfelelően érett volt, megkezdődött a teljes fejés. Az ikra kinyerés megkönnyítése érdekében az oviductot egy szikével átvágtuk (5. ábra).



5. ábra, Az oviduct átvágása, forrás: saját fotó

A hal fejése masszírozó mozdulatokkal a fej felől az ivarnyílás irányába történt, a kifejt ikrát műanyag edénybe gyűjtöttük (6. ábra). Minden anyahaltól származó összes száraz ikra tömegét meghatároztuk digitális mérleg segítségével. A kapott eredményeket grammban adtuk meg, egész számra kerekítve.

A hím egyedek esetében is ugyanezt az eljárást alkalmaztuk, az ivarnyíláshoz egy 2 dl-es műanyag poharat helyezve gyűjtöttük be a tejet. Ez esetben nem kellett semmilyen invazív módszert alkalmazni.



6. ábra, A kecsege fejése, forrás: saját fotó

3.5 Termékenyítés

A műanyag tálakban levő tiszta ikrához termékenyítő vízben 1:200 arányban elkevert spermát adagoltuk, hogy elkerüljük a polispermiás termékenyülést, ugyanis a tokfélék ikrájának sajátossága, hogy számos mikropile található rajta, ezen keresztül juthatnak be a hímivarsejtek a petesejbe. Ezért 1 kg száraz ikrára 10 ml tejet

számoltunk. Egy nőtény ikrájához több hím spermáját használtuk, a jobb termékenyülés érdekében. Ezután 2-3 perces keverés következett, aminek a célja az volt, hogy az aktivált ivartermékek között végbemenjen a termékenyítés. Majd talkumos vízzel felöntve folytattuk a kevergetést további 40 percig, így elvéve az ikraszemek ragadósságát, valamint az esetleg még meg nem termékenyült ikraszemekben végremerhetett a folyamat (7. ábra). Negyven perc után az ikráról a folyadékot leöntöttük, többszöri átöblítést végeztünk, ezáltal a talkumot és a meg nem termékenyített, valamint sérült ikraszemek egy részét eltávolítottuk, ezt követően minden egyed ikráját külön Zuger-üvegekbe helyeztük, ahol 16 °C-os vízben kezdetét vette a keltetés. A képen jól látható az egészséges, sötét és a sérült, vagy meg nem termékenyült, világos színű ikra (8. ábra).



7. ábra, Az ikra ragadósságának elvétele talkummal



8. ábra, A letisztított ikra a Zuger-üvegekben

3.6 Termékenyülés vizsgálat

Az ikrákból 72 óra elteltével a Zuger-üveg középső részéből vettünk ikramintát egy üvegcső segítségével. Kecsege esetében 72 óra elteltével már szabad szemmel is jól látható a gerinchúr, így jól elkülöníthetők egymástól a termékenyült és a nem termékenyült lárvák. A mintavétel során minden anyától két Petri-csészébe kivettünk 100-300 ikraszemet, melyben a termékenyült és a nem termékenyült ikrákat megszámoltuk. Az egy anyától származó két adag ikramintát két külön személy számolta meg. Az eredményekből meghatároztuk mind a relatív fejtt ikratömeget minden anyahal tekintetében, valamint a termékenyülési %-ot szintén minden anyahal esetében.

3.7 Statisztikai analízis

A statisztikai analízist R Studio (version 1.4.1106) R software programmal végeztük el. A fejés előtti testtömeg, valamint a termékenyülési % esetében a minták eloszlásának vizsgálatára F-tesztet alkalmaztunk, míg a szignifikancia vizsgálatot

Welch-féle t-próbával végeztük el. A relatív fejt ikra tömeg esetében a szignifikancia vizsgálatot normál t-tesztel végeztük el.

4. Eredmények és értékelésük

Az anyahalak közül mind a 11 hal reagált a 10 µg/ttkg hormon mennyiségre. A halak testtömege 2,45 kg és 5,2 kg közötti volt, míg a lefejt ikra mennyisége 357 gr és 1199 gr között változott. A termékenyülés tekintetében a legalacsonyabb érték 78,06±06 %, míg a legmagasabb érték 96,92±0,8 % volt (9. ábra).

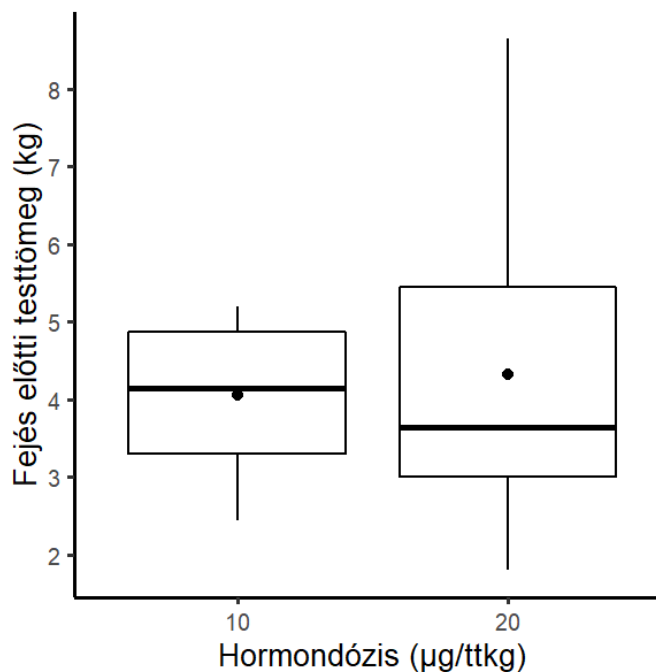
egyedi azonosít ó	fejt ikra (gr)	termékenyült ikrák száma (db)	nem termékenyült ikrák száma (db)	termékenyült ikrák száma (db)	nem termékenyült ikrák száma (db)	termékenyülés (%)	fejés előtti testtömeg (kg)
24958	1199	163,00	12,00	159,00	37,00	87,13±6,01	5,15
22E46.	1124	153,00	23,00	292,00	70,00	83,8±3,1	4,75
52455	497	198,00	25,00	290,00	33,00	89,29±0,5	3,05
521D4	730	211,00	5,00	200,00	8,00	96,92±0,8	4,15
522B4	586	202,00	54,00	242,00	27,00	84,44±5,5	3,55
4AAC2	752	223,00	21,00	300,00	65,00	86,79±4,6	4,5
51CE1	507	155,00	52,00	149,00	29,00	79,3±4,4	3,95
5175C	398	145,00	38,00	143,00	21,00	83,22±4	2,9
528E6.	357	257	76	221	59	78,06±0,9	2,45
4D4F5	1024	310,00	21,00	351,00	39,00	91,83±1,8	5
4C3FC	989	138,00	34,00	213,00	32,00	83,59±3,4	5,2

9. ábra, 10 µg/ttkg hormondózissal oltott kecsege anyák adatai

A 20 µg/ttkg hormon mennyiséggel oltott halak esetében szintén mind a 11 oltott anyahal reagált a kezelésre 40 óra elteltével. Az anyahalak fejés előtti testtömege 1,8 kg és 8,65 kg között volt, míg a lefejt ikra mennyisége 238 gr és 1505 gr között változott, 4,69±0,1% és 87,12±2,4% közötti termékenyüléssel (10. ábra).

egyedi azonos ító	fejt ikra (gr)	terméken yült ikrák száma (db)	nem terméken yült ikrák száma (db)	terméken yült ikrák száma (db)	nem terméken yült ikrák száma (db)	termékeny ülés (%)	fejés előtti testtöm eg (kg)
51F52	536	162,00	86,00	269,00	139,00	65,63±0,3	3,5
5103C	1325	20,00	200,00	24	215	9,57±0,5	6,5
51BF0	447	148,00	53,00	222,00	43,00	78,7±5,1	3,65
525C5	278	134,00	82,00	194,00	106,00	63,36±1,3	2,5
52CE2							
.	637	60,00	172,00	222,00	49,00	53,89±28	4,1
5130D	667	247,00	29,00	289,00	52,00	87,12±2,4	5,5
51E1B	380	10,00	200,00	12	248	4,69±0,1	3,45
						53,74±12,	
518EB	507	114,00	161,00	167,00	86,00	3	2,55
522A8	238	136,00	42,00	219,00	49,00	79,06±2,7	1,8
4FB6C	1505	147,00	28,00	132,00	60,00	76,38±7,6	8,65
7336A	782	156,00	88,00	150,00	51,00	69,28±5,4	5,4

10. ábra, 20 µg/ttkg hormondózissal oltott kecsge anyák adatai



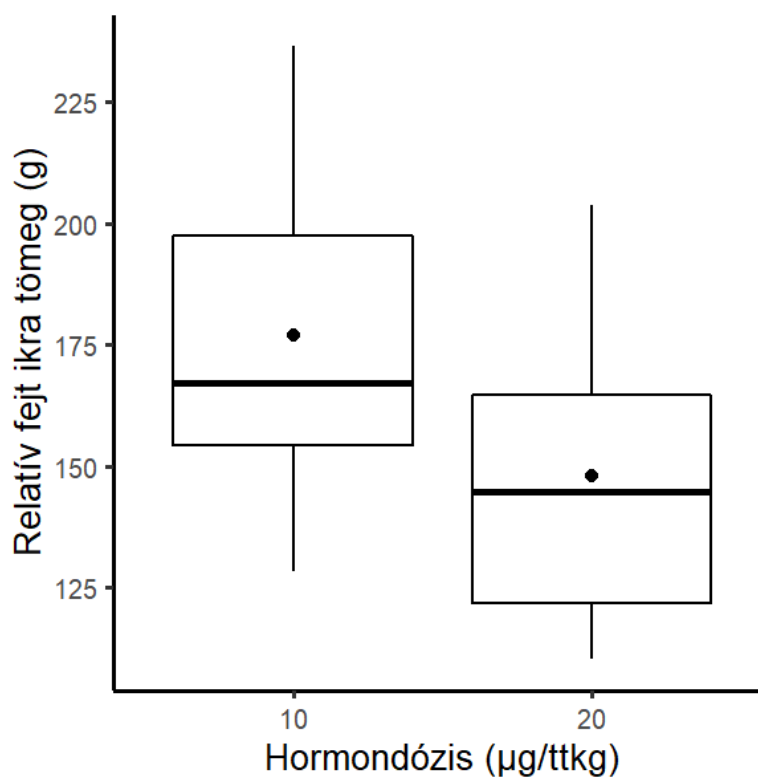
11. ábra, A fejés előtti testtömeg és a hormondózisok kapcsolata

F-teszt: p-érték = 0.02835; Welch féle t-próba: p-érték = 0.6968

A két kísérleti csoportra osztott halak között nem volt szignifikáns különbség a fejés előtti testtömegben (11. ábra).

A két kísérleti csoport független mintái normális eloszlásúak. Az F-teszt alapján különböznek a varianciák, míg a Welch-féle t-próba szerint nincs szignifikáns különbség a fejés előtti testtömegben a két csoport között.

A relatív lefejt ikramennyiség és az alkalmazott hormonmennyiség között nincs szignifikáns kapcsolat (12. ábra).

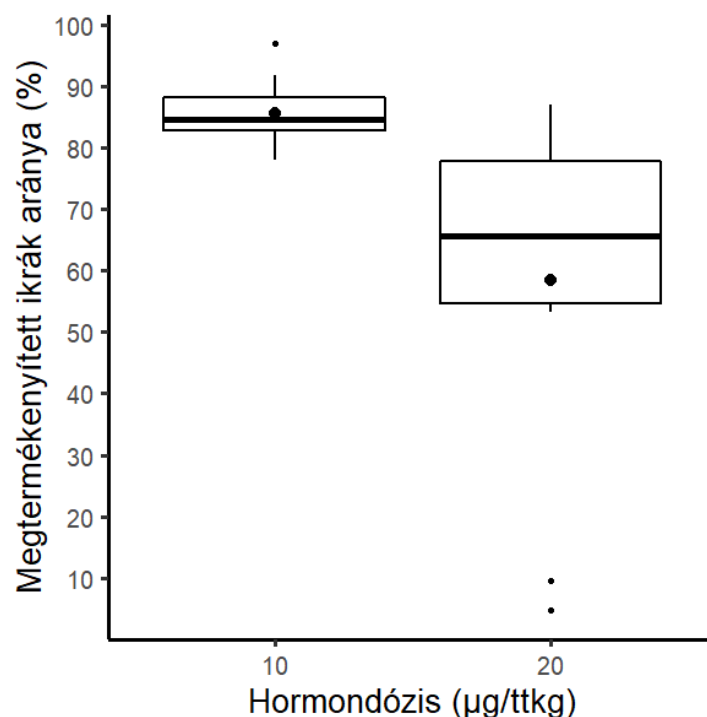


12. ábra, A hormondózisok és a relatív lefejt ikramennyiségek kapcsolata

F-teszt: p-érték = 0.7843; normál t-próba: p-érték = 0.06255

A relatív lefejt ikrá mennyiség esetében a két csoport mintái normális eloszlásúak és függetlenek. Az F-teszt alapján a varianciák nem különböznek egymástól, míg a normál t-próba nem mutatott szignifikáns különbséget a két csoport között.

Azonban szignifikáns különbséget tapasztaltunk a lefejt ikrák termékenyülése tekintetében. Szignifikánsan magasabb eredményt mértünk a 10 µg/ttkg dózissal oltott kecsék esetében, mint a 20 µg/ttkg dózissal oltott kecsék esetében (13. ábra).



13. ábra, A termékenyülési % és a hormondózisok kapcsolata

F-teszt: p-érték = 1.908×10^{-5} , Welch-féle t-próba: p-érték = 0.008293

Míg a minták normális eloszlásúak, függetlenek, valamint a varianciáik különböznek egymástól, a t-próba alapján szignifikánsan magasabb eredményt mértünk a 10 µg/ttkg dózissal oltott kecsék esetében, mint a 20 µg/ttkg dózissal oltott kecsék esetében.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az alacsonyabb hormon dózis, bár a lefejt ikra mennyiségét nem befolyásolta, azonban szignifikánsan jobb termékenyülést eredményezett. Nazari és mtsai (2010) perzsa tokon (*Acipenser persicus*) végzett kísérletet LHRH-A₂ típusú GNRH analóg hormonnal, mely az általunk használt hormon hatásával megegyezően az endogén gonadotrop hormon szekréciójára hat. Ebben a tanulmányban leírták, hogy 10 µg/ttkg dózissal oltva 8 egyed 72,0±18%-os termékenyülést eredményezett. Ez alacsonyabb az általunk mért termékenyülési eredményeknél. Azonban, Mohammadi és mtsai (2015) szintén perzsa tok esetében 8 µg/ttkg dózisban alkalmazva a LHRH-A₂ hormont 85±1,07 %-os termékenyülést érték el. Nazari és mtsai (2010) nem találtak szignifikáns különbséget a termékenyülést illetően, amennyiben az LHRH-A₂ hormont eltérő dózisban (10µg/ttkg, 8 µg/ttkg, 7µg/ttkg, 3,5µg/ttkg) alkalmazták. Mohammadi és mtsai (2015) szintén nem találtak szignifikáns különbséget a termékenyülés tekintetében a 8-6-4 µg/ttkg dózisban alkalmazott LHRH-A₂ esetében. Azonban kecsge esetében egyértelmű a különbség a 10 és a 20 µg/ttkg dózisban alkalmazott des-Gly¹⁰(D-ALA⁶) LH-RH-acetate hormonkészítmény esetében.

Összefoglalva az eredményeinket megállapítható, hogy kecsge esetében a des-Gly¹⁰(D-ALA⁶) LH-RH-acetate GNRH analóg hormon készítménnyel, 10 µg/ttkg dózisú mennyiség magasabb termékenyülést eredményez, mintha ugyanezt a hormont 20 µg/ttkg dózisban alkalmazzuk. A februárban elvégzett kísérlet további adatokkal szolgál, hogy a még tovább növelt 40 µg/ttkg mennyiségű dózisban használt hormon csökkenti a lefejt ikra termékenyülését. A februári 20 µg/ttkg mennyiségű hormonnal kezelt egyedek esetében a termékenyülés tekintetében azonos az eredmény, mint az áprilisi 20 µg/ttkg dózisú hormonnal oltott kecsgek esetében. Azonban a februárban 40 µg/ttkg hormondózissal oltott kecsgek alacsonyabb termékenyülést mutattak, mind a 20 µg/ttkg, mind a 10 µg/ttkg dózissal oltott kecsgekkel szemben.

5. Összefoglalás

A kecsege (*Acipenser ruthenus*) egy őshonos magyar halfaj, melynek száma a környezetszennyezés, a túlhalászás, az orvhalászat és az ivóhelyek eltűnése következtében az utóbbi évszázadokban folyamatosan csökken. Ez a valódi tokféle egész életét édesvízben tölti, Magyarország nagyobb folyóiban, főleg a Dunában és a Tiszában, de emellett a Drávában, a Szamosban, a Körösökben és a Marosban is megtalálható. A faj kihalásának megőrzése érdekében mesterséges szaporítást alkalmaznak, az így született halak egy részével pótolják a természetes vizek kecsege állományát. Az általunk szaporított kecsegék utódjainak is nagyobb része visszatelepítésre került.

Kísérletünket a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet Halászati Kutató Központ telephelyén, Szarvason, végeztük, ahol a tok génbankból származó kecsege anyák ovulációját vizsgáltuk a des-Gly¹⁰(D-ALA⁶) LH-RH-acetate GNRH analóg hormon készítménnyel oltva. Egy 2021 februárjában elvégzett kísérletünk alapján a következő fontos kérdésekre kerestük a választ: Az általános 40 µg/ttkg mennyiséggel szemben a 10 és 20 µg/ttkg koncentráció milyen hatással van a kecsege ovulációjára? Hogyan hat a hormon az ivartermék mennyiségére és minőségére?

2021 áprilisában, amikor a telelő tó hőmérséklete elérte a 14 °C-ot, lehalasztuk a továbbszaporításra kiválasztott anyahalakat és a kutató intézet recirkulációs üzemű karantén termébe szállítottuk, ahol a néhány napos megfigyelés mellett elkezdtük a víz hőmérsékletének szabályozott emelését, hogy a halak a szaporításhoz legmegfelelőbb körülmények között lehessenek a munkafolyamatok ideje alatt. A kezdeti 14 °C-os víz hőmérsékletét naponta 0,5 °C-kal emeltük, a halak oltásakor a víz 15,5 °C-os volt, így elkerültük az ikrák túlérését. Az oltást tüvel és fecskendővel végeztük, a halakat két csoportra osztottuk. 11 egyed 10 µg/ttkg, 11 egyed 20 µg/ttkg hormont kapott. A kecsegék fejésére 2 nappal később került sor. Minden haltól a lefejt ikrát egy ezred kilogramm pontosságú mérleggel lemértük, így meghatároztuk a relatív fejt ikra mennyiségét grammban. Miután az ikrát lemértük, elvégeztük a mesterséges megtermékenyítést, mely halfiziológiás oldatban történt, majd talkumos vízzel vettük el

az ikraszemek ragadósságát. A megtermékenyített ikrát Zuger-üvegekbe helyeztük, melyekben 16 °C-os vízben kezdetét vette a keltetés.

Az ikrák termékenyülését 72 óra elteltével, a Zuger-üvegek közepéből kivett mintákból vizsgáltuk, így meghatároztuk a termékenyülési %-ot minden anyahal esetében.

Megállapítottuk, hogy mindkét csoport hal minden egyede reagált a kezelésre. Az eredmények kiértékelésére statisztikai analízist, R software programot, F-tesztet, Welch-féle t-próbát, valamint egyszerű t-tesztet alkalmaztunk. Megállapításaink szerint az új típusú hormon jobb eredményeket mutat a korábbihoz képest, és a két dózis közül a kisebb dózis szignifikánsan jobb eredményt adott a lefejt ikra termékenyülésében. A kisebb, 10 µg/ttkg dózissal kezelt kecségék között termékenyülés tekintetében a legalacsonyabb érték $78,06 \pm 0,6\%$, míg a legmagasabb érték $96,92 \pm 0,8\%$ volt. A 20 µg/ttkg dózissal kezelt kecségék termékenyülése $4,69 \pm 0,1\%$ és $87,12 \pm 2,4\%$ -os értékek közé esett. A két csoport egyedeinek fejés előtti testtömegében nem volt szignifikáns különbség. A különböző dózisok és a relatív lefejt ikramennyiségek között nem találtunk szignifikáns különbséget.

Jelenlegi kísérletünkben még nem derült ki, hogy miért eredményesebb a kisebb dózis alkalmazása, ezért ajánlott lenne további vizsgálatok során kideríteni ennek élettani okát, és ez alapján megtalálni a tökéletes hormondózist. Az általunk kapott eredmények alapján bátran ajánljuk ennek az új típusú hormonnak a használatát a kecs egetenyésztőknek.

6. Köszönetnyilvánítás

Szeretnénk köszönetet mondani Dr. Halasi-Kovács Bélának, hogy lehetőséget biztosított a Halászati Kutató Központban a kísérleteim elvégzéséhez, valamint Dr. Lázár Bencének a statisztikai számításoknál nyújtott segítségéért. Külön köszönettel tartozom Dr. habil. Jakab Gusztávnak, aki belső konzulensként lehetőséget biztosított a dolgozat megírásához és sok éves tapasztalatával segítette munkámat. Végül, de nem utolsó sorban Dr. Káldy Jenőnek, aki külső konzulensemként, nagyon sok elméleti és gyakorlati segítséget nyújtott nekem.

7 Irodalomjegyzék

Brett D., 1983. Environmental factors and growth, Bioenergetics and growth of fish, pp: 275-345

CD (Codex Alimentarius), 2010: Standard for Sturgeon Caviar. CODEX STAN 291-2010, 4 pp.

Chebanov, M. S., Galich, E. V., & Chmyr, Y. N. (2004). Sturgeon breeding and rearing handbook. *Ministry of Agriculture of Russian Federation, Moscow*.

Chebanov, M., Rosenthal, H., Wulfstorf, N., Gessner, G. J., van Anrooy, R., Doukakis, P., ... & Williot, P. (2011). Technical guidelines on sturgeon hatchery practices and hatchery management for release. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Ankara, 2011. Mscr.

Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S. & Schmalhausen, O.I. 1993. Sturgeon fishes. Developmental biology and aquaculture. Berlin, Springer-Verlag. 300 pp.

Doroshov, S. I., & Lutes, P. B. (1984). Preliminary data on the induction of ovulation in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson). *Aquaculture*, 38(3), 221-227. Semenкова O., 2002. Adaptations for osmotic environment of sturgeon fish. Ph.D. thesis. p:38

Doroshov, S. I., & Lutes, P. B. (1984). Preliminary data on the induction of ovulation in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson). *Aquaculture*, 38(3), 221-227.

Ebeling, J. M. (2006). Biofiltration-Nitrification Design Overview. College of Agriculture.

Eding, E. H., Kamstra, A., Verreth, J. A. J., Huisman, E. A., & Klapwijk, A. (2006). Design and operation of nitrifying trickling filters in recirculating aquaculture: a review. *Aquacultural engineering*, 34(3), 234-260.

Filipiak, J., Czerniejewski, P., Sadowski, J., & Trzebiatowski, R. (1999). Comparison of The Effects of Cage-Rearing of Sterlet (*Acipenser ruthenus*) and

Russian× Siberian Sturgeon (*Acipenser gueldenstadtdi*× *A. baeri*) Hybrid Fry in Cooling Water. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, 2(2), 03.

Goncharov, B. F. (1993). Duration of oocyte maturation time in vitro as a criterion for selecting sturgeon spawners for breeding. Sturgeon Fishes, Developmental Biology and Aquaculture. Springer Verlag, 218-219.

Goncharov, B. F., Igumnova, L. V., Polupan, I. S., & Savelyeva, E. A. (1991). Comparison of the effects of synthetic gonadotropinreleasing hormone and sturgeon pituitaries on gamete maturation in sturgeons. Ontogenez, 22(5), 514-524.

Guerdat, T. C., Losordo, T. M., Classen, J. J., Osborne, J. A., & DeLong, D. P. (2010). An evaluation of commercially available biological filters for recirculating aquaculture systems. Aquacultural engineering, 42(1), 38-49.

Gutierrez-Wing, M. T., & Malone, R. F. (2006). Biological filters in aquaculture: trends and research directions for freshwater and marine applications. Aquacultural Engineering, 34(3), 163-171.

Hensel, K., & Holcík, J. (1997). Past and current status of sturgeons in the upper and middle Danube River. In Sturgeon biodiversity and conservation (pp. 185-200). Springer, Dordrecht.

Hochheimer, J. N., & Wheaton, F. (1998, July). Biological filters: trickling and RBC design. In Proceedings of the Second International Conference on Recirculating Aquaculture, Roanoke, VA (pp. 16-19).

Holcik, J., 1989. The freshwater fishes of Europe. Vol. 1, Part II. General introduction to fishes *Acipenseriformes*. AULA-Verlag Wiesbaden. p: 469

Hopkins, T. A., & Mancini, W. E. (1989). Feed conversion, waste and sustainable aquaculture, the fate of the feed. Aquaculture Magazine, 15(2), 32-36.

Kozlov V., Abramovich L., 1986. Market sturgeon farming. Moscow, Rosselkhozizdat. (pp. 117).

Malone, R. F., & Pfeiffer, T. J. (2006). Rating fixed film nitrifying biofilters used in recirculating aquaculture systems. Aquacultural engineering, 34(3), 389-402.

Mohammadi, H., Khara, H., & Kazemi, R. (2015). Effect of different doses of synthetic hormone LHRH-A2 on serum sex hormones, ovulation percent and egg hatching rates of Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Croatian Journal of Fisheries*, 73(2), 58-62.

Nazari, R. M., Modanloo, M., Ghomi, M. R., & Ovissipor, M. R. (2010). Application of synthetic hormone LHRH-A 2 on the artificial propagation of Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Aquaculture international*, 18(5), 837-841.

Németh Sz., Doktori (Ph.D.) értekezés, 2009. A kis sziklahal (*Scorpaena porcus* L., 1758) ivari jellemzői, és a faj első mesterséges szaporítása

Nyeste, K., Somogyi, D., Sallai, Z., & Antal, L. (2020). Adatok a tokfélék (*Acipenseridae*) Kárpát-medencei recens előfordulásairól= Recent occurrence data of sturgeons (*Acipenseridae*) in the Carpathian Basin. *Pisces Hungarici*, 14, 107-114.

Piedrahita, R. H. (2003). Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture*, 226(1-4), 35-44.

Pintér, K., & Pócsi, L. (2002). *Gazdasági Állataink–Fajtatán–Hal. Mezőgazda Kiadó, Bp.*

Podushka, S. B. (1986). Methods of egg obtaining in sturgeon with life preservation. Author's license 141035. Methods for obtaining eggs from fish females. Committee on Inventions and Discoveries, Council of Ministers of the USSR.

Ponomarev, C. B., Gamygin, E. A., Nikonorov, S. I., Ponomareva, E. N., Grozesku Iu, N., & Bakhareva, A. A. (2002). *Tekhnologii vyrashchivaniia i kormleniia ob" ektov akvakul'tury Iuga Rossii* [Technologies of breeding and feeding the objects of aquaculture in the South of Russia]. Astrakhan, Izd-vo AGTU.

Ponomareva, E. N., Syrbulov, D. N., & Hramova, A. V. (2005). Ispol'zovanie vitaminov dlja povysheniia effektivno, sti iskusstvennogo vosproizvodstva osetrovyyh ryb. *Akvakul'tura i integrirovannye tehnologii: problemy i vozmozhnosti: konf.: mater.* M.: VNIIR, 2, 291-295.

Rónyai A. Elements of the industrial production technology of sterlet x Siberian sturgeon hybrid (A. ruthenus x Acipenser baeri) 112 p. PhD Disszertáció 1997. Debrecen

Rónyai, A. (2009). Effect of different synthetic gonadotrop-releasing hormone analogues and their combinations with an anti-dopaminergic compound on the reproduction performance of sterlet (Acipenser ruthenus L.). *Aquaculture Research*, 40(3), 315-321.

Rusten, B., Eikebrokk, B., Ulgenes, Y., & Lygren, E. (2006). Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural engineering*, 34(3), 322-331.

Rzemieniecki, A., Domagała, J., Glogowski, J., Ciereszko, A., Trzebiatowski, R., Kouřil, J., ... & Babiak, I. (2004). Induced spermiation in 3-year-old sterlet, *Acipenser ruthenus* L. *Aquaculture Research*, 35(2), 144-151.

Sheperd, J., & Bromage, N. (1992). Farming systems and husbandry practice. *Intensive Fish Farming* (ed. J. Shepherd, N. Bromage). Blackwell Scientific Publications, 51-102.

Skjølstrup, J., Nielsen, P. H., Frier, J. O., & McLean, E. (1998). Performance characteristics of fluidised bed biofilters in a novel laboratory-scale recirculation system for rainbow trout: nitrification rates, oxygen consumption and sludge collection. *Aquacultural engineering*, 18(4), 265-276.

Smith M., 2001. Long path, Plug-flow, Submerged Biological Filters: an alternative to traditional systems. *Hathery International*, May-June. pp. 38-41.

Steffens, W., Jähnichen, H., & Fredrich, F. (1990). Possibilities of sturgeon culture in Central Europe. *Aquaculture*, 89(2), 101-122.

Suzuki, Y., Maruyama, T., Numata, H., Sato, H., & Asakawa, M. (2003). Performance of a closed recirculating system with foam separation, nitrification and denitrification units for intensive culture of eel: towards zero emission. *Aquacultural Engineering*, 29(3-4), 165-182.

Ushakova, N. A., Bastrakov, A. I., Kozlova, A. A., Ponomarev, S. V., Bakaneva, Y. M., Fedorovykh, Y. V., ... & Pavlov, D. S. (2016). Features of the effect of a

complex probiotic with *Bacillus* bacteria and the larvae of *Hermetia illucens* biomass on Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) and Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti*) fry. *Biology Bulletin*, 43(5), 450-456.

Watten, B. J., & Sibrell, P. L. (2006). Comparative performance of fixed-film biological filters: Application of reactor theory. *Aquacultural Engineering*, 34(3), 198-213.

Wedemeyer, G. (1996). *Physiology of fish in intensive culture systems*. Springer Science & Business Media.

Wheaton, F. W., Hochheimer, J. N., Kaiser, G. E., Malone, R. F., Krones, M. J., Libey, G. S., ... & Timmons, M. B. (1994). Nitrification filter design methods [aquaculture water reuse systems]. *Dev. Aquacult. fish. sci*, 27, 127-171.

Williot, P., Brun, R., Rouault, T., & Rooryck, O. (1991). Management of female spawners of the Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt: first results. In *Acipenser: actes du premier colloque international sur l'esturgeon*, Bordeaux, 3-6 octobre 1989 (pp. 365-379). Cemagref Editions..

Internetes:

FAO, 2015. FAO honlap, elérhető: www.fao.org

Ferenczi L., 2015. Vízgazdálkodás a középkorban. Internetes link: <http://gepeskonyv.btk.elte.hu/adatok/Tortenelem/83K%E1lnoki/GY%D6NGY%D6SSY%20K%D6NYV/06%20FERENCZI.pdf>

<https://www.fauna-flora.org/news/neglected-species-sturgeon-brink>

Őshonos tokhalaink alkonyában, <https://behir.hu/oshonos-tokhalaink-alkonyaban>

8. Ábrajegyzék

<u>1. ábra, Egy fiatal kecsege, forrás: https://www.fishworld.eu/hu/halak/kecsege.....</u>	7
<u>2. ábra, A körmedence és benne a víz útja, forrás: Timons és Ebeling, 2007.....</u>	11
<u>3. ábra, az eltérő hormondózissal oltott kísérleti csoportoktól fejt ikrák termékenyülési aránya.....</u>	19
<u>4. ábra, A kecsege oltása, forrás: saját fotó.....</u>	20
<u>5. ábra, Az oviduct átvágása, forrás: saját fotó.....</u>	21
<u>6. ábra, A kecsege fejése, forrás: saját fotó.....</u>	22
<u>7. ábra, Az ikra ragadósságának elvétele talkummal.....</u>	23
<u>8. ábra, A letisztított ikra a Zuger-üvegekben.....</u>	24
<u>9. ábra, 10 µg/ttkg hormondózissal oltott kecsege anyák adatai.....</u>	25
<u>10. ábra, 20 µg/ttkg hormondózissal oltott kecsege anyák adatai.....</u>	26
<u>11. ábra, A fejés előtti testtömeg és a hormondózisok kapcsolata.....</u>	26
<u>12. ábra, A hormondózisok és a relatív lefejt ikramennyiségek kapcsolata.....</u>	27
<u>13. ábra, A termékenyülési % és a hormondózisok kapcsolata.....</u>	28