HERMAN OTTÓ INTÉZET

HALÁSZAT – TUDOMÁNY

Hungarian Journal of Aquaculture and Fisheries

1. évfolyam | 2.szám | 2015

› Kecsege (*Acipenser ruthenus Linnaeus,* 1758) az Év hala Magyarországon 2015-ben 3. oldal

› Veszélyeztetett tokfélék mélyhűtött spermájának felolvasztás utáni minőség-ellenőrzése 9. oldal

› A „száraz” ikraszállítás módszerének továbbfejlesztése a ponty (*Cyprinus carpio L.*) megtermék enyített ik rájának hosszú időtartamú szállítására 24. oldal

HALÁSZAT – TUDOMÁNY

1. évfolyam | 2.szám | 2015

Földművelésügyi Minisztérium tudományos folyóirata

A HALÁSZAT-TUDOMÁNY lap szerkesztőbizottsága

Főszerkesztő:
Dr. Váradi László

Főszerkesztő helyettes
Dr. Bercsényi Miklós

Szerkesztő:
Bozánné Békefi Emese

A szerkesztőbizottság tagjai:
Dr. Bíró Péter
Dr. Harka Ákos
Hoitsy György
Dr. Jeney Zsigmond
Dr. Mezőszentgyörgyi Dávid
Dr. Molnár Kálmán
Dr. Németh István
Dr. Orbán László
Dr. Szathmári László
Dr. Szűcs István
Udvari Zsolt
Dr. Urbányi Béla

A folyóirat megjelenését támogatja:
Magyar Akvakultúra Szövetség

Kiadja:
Herman Ottó Intézet
1223 Budapest, Park u. 2.
www.nakvi.hu

Felelős kiadó:
Dr. MEZŐSZENTGYÖRGYI DÁVID

HALÁSZAT
Megjelenik negyedévenként.

Szerkesztőség:
Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ
Halászati Kutatóintézet
5540 Szarvas Anna-liget 8.
Telefon: 06 66 515 300
E-mail: info@haki.hu

Előfizetés
A folyóiratokra előfizethet az ország bármely
postáján, valamint a kiadványokat kézbesítőknél,
e-mailen: hirlapelofizetes@posta.hu
További információ: 06-1/362-8137,
06-1/362-8114
E-mail: info@agrarlapok.hu

Címlapkép: Dobóhálós halfogás
Fotó: Hoitsy György

Tisztelt Olvasó!

A Halászat-Tudomány elektronikus lap 2. számának megjelenésével már megindult egy folyamat, amely reméljük, ugyanolyan hosszú lesz, mint a Halászat nyomtatott kiadásának immár több mint száz éves időszaka. A terveink szerint a Halászat-Tudomány minden második száma a nyomtatott kiadásban megjelent lektorált tudományos közleményeket tartalmazza elektronikus formában. Így a Halászat-Tudomány lap 2015 évtől kezdődően a halgazdálkodás témakörében megjelent lektorált tudományos közlemények „tárháza" lesz. Így az itt megjelentetett cikkek bekerülhetnek a Magyar Tudományos Művek Tárába (MTMT) is.
A Halászat-Tudomány 2. számában megjelent tudományos közlemények jól reprezentálják a halgazdálkodás területén működő hazai tudományos műhelyek tevékenységét. A 2015. évben öt hazai intézmény nyolc közleménye jelent meg a Halászat lapban, 2 természetes vízi halászattal, 6 akvakultúrával kapcsolatos témában. A 42 szerző közül 6 külföldi intézmény kutatója volt (Kínából, Lengyelországból, Szerbiából és Romániából). **Örvendetes, hogy s**zerepelnek a szerzők között magyar vállalkozások szakemberei is. A közlemények a kecsege és a kaukázusi törpegéb természetes vízi állományainak helyzetével, illetve a csapó sügér, a tokfélék és a ponty termelés-technológiája egyes specifikus aspektusaival foglalkoznak.
Remélve, hogy a Halászat-Tudomány elektronikus lap megjelenése lendületet ad a halgazdálkodással kapcsolatos kutatómunka eredményeinek szélesebb körű megismertetésének, a szerkesztőség várja a kéziratokat, illetve segíti azok színvonalas megjelentetését.

Dr. Váradi László
főszerkesztő

A TARTALOM

Kecsege (Acipenser ruthenus linnaeus, 1758) Az év hala magyarországon 2015-ben (Guti Gábor) 3
Veszélyeztetett tokfélék mélyhűtött spermájának felolvasztás utáni minőség-ellenőrzése (Bernáth Gergely, Bokor Zoltán, Urbányi Béla, Horváth Ákos) 9
A korai fejlődési szakaszban alkalmazott hőkezelés hatása csapó sügerek (Perca fl uvatilis Linné, 1758) ivararányára (Demeter Krisztián, Balikó Tímea, Merth János, Marton Csaba, Ruibin Yang, Polgár J. Péter, Bene Szabolcs). 14
Két különböző populációból (Baja, Szarvas) származó sügérlárvák (Perca fluviatilis l.) termelési mutatóinak összehasonlítása recirkulációs rendszerben történő nevelésnél (Lengyel Szvetlana, Uros Ljubobratovic, Péter Géza, Rónyai András) 18
Két spermamélyhűtési eljárás alkalmazhatóságának összehasonlítása csapósügér (Perca fluviatilis) fajban (Bokor Zoltán, Bernáth Gergely, Kása Eszter, Várkonyi Levente, Hegyi Árpád, Kollár Tímea, Urbányi Béla, Daniel Żarski, Ifj. Radóczi János, Horváth Ákos) 20
A „száraz" ikraszállítás módszerének továbbfejlesztése a ponty(Cyprinus carpio L.) megtermékenyített ikrájának hosszú időtartamú szállítására (Kovács Gyula, Szelei Zoltán, Fazekas Gyöngyvér, Ardó László, Wéber Csaba, Nagy Gábor és Jeney Zsigmond) 24
Egy új faj Szerbia halfaunájában: a kaukázusi törpegéb –Knipowitschia caucasica (Berg, 1916) (Harka Ákos, Szepesi Zsolt, Alelsandar Bajić, Sipos Sándor) 28
Élő táplálék (Artemia salina nauplius) előkészítése különböző vitaminok dúsításával pontylárvák (Cyprinus carpio L.) neveléséhez intenzív körülmények között (Borné Papp Zsuzsanna, Nagyné Biró Janka, Adorján Ágnes, Bogárné Csávás Katalin és Jakabné Sándor Zsuzsanna) 31

KECSEGE (*ACIPENSER RUTHENUS LINNAEUS*, 1758) AZ ÉV HALA MAGYARORSZÁGON 2015-BEN

Guti Gábor

MTA ÖK Duna-kutató Intézet

Összefoglalás

A Magyar Haltani Társaság honlapján lezajlott közönségszavazás alapján a kecsege (*Acipenser ruthenus*) lett az Év hala 2015-ben, 60 %-os támogatottsággal (http://haltanitarsasag.hu/azevhala_hu.php). Az elmúlt években a kecsege, illetve a veszélyeztetett dunai tokfélék a közvélemény érdeklődésének előterébe kerültek számos európai országban. Ez részben a Sturgeon 2020 program megindításának köszönhető, amelynek akcióterve a tokfélék védelmét elősegítő legsürgősebb intézkedéseket foglalja magában az EU Duna Régió Stratégia feladataihoz illeszkedően. Az Év hala megválasztásának egyik fontos célja, a magyarországi halfauna természetesen honos elemeinek népszerűsítésén keresztül a természetvédelmi tudatformálás és a környezetért felelős életvitel elősegítése. Cikkünk ehhez kíván tudományos adatokat és ismereteket szolgáltatni a vizeinkben megritkult, ma már nem halászható, ugyanakkor az emberi tevékenység kedvezőtlen hatásainak leginkább ellenálló tokfélénk bemutatásával.

Summary

Sterlet (*Acipenser ruthenus Linnaeus*, 1758) – the Fish of the Year in Hungary in 2015

Gábor Guti

The sterlet became the Fish of the Year in Hungary in the public vote on the website of the Hungarian Ichthyological Society in 2015 (http://haltanitarsasag.hu/azevhala_eng.php). The sterlet and the endangered sturgeons have been at the forefront of the public interest in several European countries since a few years. This is partly due to the initiation of the Sturgeon 2020 program. Its action plan includes the most urgent measures promoting the sturgeon conservation in the frame of the Strategy for Danube Region. One of the important aims of the election of the Fish of the Year is the raising of public awareness and the promoting of the lifestyle responsible for nature conservation by popularization of the native elements of the Hungarian fish fauna. This article intends to provide some scientific data and knowledge about a rare and not freely fished sturgeon, which was resistant against the negative impacts of human activities for a long time.

Szóelemzés (Etimológia)

A kecsege szó több évszázados múltra tekint vissza. A 14. századi Besztercei Szójegyzékben már felbukkan a 'kechege' szó. A magyar halnév rokonságban áll a cseremisz (*súga*) és csuvas (*súgn*) elnevezéssel, amely alapján feltételezhető, hogy a magyarok juttatták el ezt a szót a vándorlásuk során az ukrán szteppékre. A magyar, az ukrán (*kečéga, čečuha*) és az orosz (*čečúga*) halnév összekapcsolható. A magyar halnevet vette át a szlovák (*kečega*), a szlovén (*kečiga*) és a szerb-horvát (*kečiga, kèčega*) nyelv is. A kecsege szó magyar népnyelvi változatai: kecseg, kecsige, kecsöge, köcsög(e), kecsigetok, gedzsge stb. (RÁCZ 1996).

A faj tudományos nevében a '*ruthenus*' Oroszország középkori latin nevéből, a *Ruthenia* szóból ered.

Rendszertan

A kecsege rendszertanilag a porcos-vérteshalak (*Chondrostei*) alosztályon belül a tokalakúak rendjébe (*Acipenseriformes*) tartozik. A tokalakúak kövületei a jura időszaktól ismertek. Elnyújtott, orsó formájú testüket általában zománccal bevont csontlemezek, ún. vértek védik, amelyek öt hosszanti sorban helyezkednek el. A vértek között elszórtan apró bőrcsontok láthatóak. Belső vázuk tökéletlenül csontosodott el, a gerinchúr majdnem teljes egészében megmaradt, a csigolyatestek nem, csak a felső és alsó gyűrűt alkotó ívszárak fejlődtek ki, amelyek a gerincvelőt és az aortát ölelik körül. Elődeik erősen csontosodott belső vázzal rendelkeztek, ezért a régebben őskorinak tartott vázuk hiányos elcsontosodása másodlagos jelenség, ún. *paedomorfózis*. A kültakarón végigvonuló vértsorok a pikkelyek visszafejlődésével alakultak ki. A fej hasoldalán nyíló szájukat csökevényes állkapcsok határolják, orruk ormányszerűen előrenyúló (*rosztrum*), farokúszójuk részaránytalan (*heterocerk*). Belső szerveik felépítését több kezdetleges tulajdonság jellemzi, mint például a bél csavaros billentyűje, a nagyméretű és osztatlan úszóhólyag stb. A tokalakúak két családja a tokfélék (*Acipenseridae*) és a kanalastokfélék (*Polyodontidae*).

A tokfélék családjának legrégebbi képviselői viszonylag későn, mintegy 100 millió évvel ezelőtt, a felső kréta időszakban jelentek meg, amikor a szárazföldeket dinoszauruszok uralták, de már megindult a madarak

és az emlősök kialakulása. A ma élő fajok elterjedése kizárólag az északi féltekére korlátozódik. Anadrom vándorlásúak, azaz életük nagyobbik részét a tengerekben töltik, de a szaporodásuk kizárólag kontinentális vizekben, általában a folyókban történik. Több fajuk, mint például a kecsege, másodlagosan teljesen édesvízi életmódra tért át. A tokfélék családjának 27 faja négy nemzetségbe (*Scaphirhynchus, Pseudoscaphirhynchus, Huso, Acipenser*) sorolható, amelyek közül az utóbbi fajszáma a legnagyobb.

Leírás

A kecsege viszonylag könnyen felismerhető tokféle (*1. ábra*). A háti vértek száma 12-17, az oldalvérteké 56-71, a hasvérteké 12-18. A kopoltyútüskék száma az első íven 16-21. Orra elvékonyodó, hosszú, enyhén fölfelé hajló. Az orr vagy hosszabb és hegyes, vagy rövidebb és tompa. Egyes vélemények szerint a tompa orrú változat gyorsabban nő, és egy-két évvel hamarabb éri el az ivarérettségét, más vizsgálatok viszont nem támasztották alá ezt a megállapítást, és ezért azt állítják, hogy az orr hossza egy rendkívüli egyedi változatosságot mutató bélyeg a kecsege esetében (Sokolov és Vasilev 1989). Hasoldalon nyíló szája kicsi, alsó ajka középen megszakított, amely alapján jól megkülönböztethető a simatoktól. Bajuszszálai rojtozottak, hátrasimítva elérik a felső ajkat. A lénai tok bajuszszálai hasonlóan hosszúak, de nem rojtozottak, hanem simák. A kecsege szeme viszonylag kicsi, nem játszik jelentős szerepet a tájékozódásban.

Színe többnyire sötét szürkésbarna, enyhe zöldes árnyalattal, a hasa sárgásfehér. Úszóinak alapszíne sötétszürke, a hasúszók és a farokalatti úszó enyhén vörhenyesek. Az úszókat keskeny fehéres sáv szegélyezi. Ritkán előfordulnak teljesen fehér (var. *albinea*) vagy rózsaszínes-sárga (var. *erythraea*) színváltozatú példányai is.

A kecsege növekedése lassabb, mint a rokonaié. Legnagyobb példányai 100-125 cm hosszúak, súlyuk elérheti a 16 kg-ot. Az eddig kimutatott legidősebb példány életkora 27 év volt (Lukin és társai 1981).

Elterjedés

Az euro-szibériai elterjedésű kecsege megtalálható a Kaszpi-, a Fekete- és az Azovi-tenger északi felén beömlő folyókban, továbbá Nyugat-Szibériában, az Ob és a Jenyiszej vízrendszerében (Berg 1948). Eredményesen telepítették többek között a Barents-tengerbe ömlő Pecsora folyó vízrendszerébe, a Balti-tengerbe torkolló Daugavába, a Ladoga-tóba stb. (Pintér 1989, Kottelat és Freyhof 2007)

A Kárpát-medence nagyobb folyóiban állományai jelentősek, a kisebb folyókban csak alkalmilag jelenik meg. Előfordulása ismert: a Duna és a Dráva teljes hazai szakaszán, a Mosoni-Dunában, a Rába és az Ipoly alsó szakaszán, a Murában, a Tisza teljes hazai szakaszán, a Szamosban, a Bodrogban, a Hármas-Körösön, a Kettős-Körösön és a Sebes-Körösön, a Berettyóban és a Marosban (Harka és Sallai 2004).

1. ábra. Mesterséges szaporításból származó kecsege-ivadék kihelyezés előtt

Élőhely

A kecsege folyami hal, amely a nagy folyók síkvidéki tájékának (*potamális régió*) teljes szakaszán megtalálható, azaz a viszonylag gyors folyású, többszörösen szétágazó, zátonyos medrű és kavicsos aljzatú márna szinttájtól (*2. ábra*) a kisebb esésű, lassabban áramló, meanderező dévér szinttájig (*3. ábra*). Kis rajokban csoportosulva általában a folyómeder mélyebb területeinek gödreiben tartóz-

2. ábra. Márnazóna a Dráván

3. ábra. A Duna dévérzónája (Guti Gábor felvételei)

kodik, sziklás, kavicsos, homokos vagy kemény, agyagos aljzaton. A folyó áradásakor az elöntött ártereken keres táplálékot. A fiatal példányok életük első nyarán néha a sekély, homokos aljzatú mederrészekre tömörülnek. A víztározókban többnyire a felső szakaszon fordul elő, ahol a hidraulikai paraméterek kevésbé térnek el a nem duzzasztott folyómederre jellemző viszonyoktól. Tavakban igen ritkán bukkan fel. Például a nagyobb dunai árvizek idején egy-egy példánya a Fertőbe is eljutott (Faludi 1973).

Ősszel, a víz hőmérsékletének csökkenésével nagyobb csapatokba verődik, és a folyómeder legmélyebb szakaszainak gödreibe húzódik, ahol táplálkozás nélkül vészeli át a téli hónapokat (Berg 1948). A tavaszi árhullámok megérkezésekor csapatosan vonul a felsőbb szakaszokon elhelyezkedő ívóhelyek felé. A megfelelő ívóhely kiválasztását befolyásolhatja az árhullámok hevessége, illetve elhúzódása. A szaporodást követően visszatér a mérsékelt vízáramlású élőhelyekre, ahol gazdagabb a táplálékkínálat. A vándorlások során megtett távolság általában nem haladja meg a 200 km-t és csak kivételes esetekben éri el a 300 km-t. Jelölés-visszafogásos felmérések eredményei szerint, az egyedek többsége 7-23 km-t vándorol naponta lefelé a folyókon (Unger 1953, Ristič 1970).

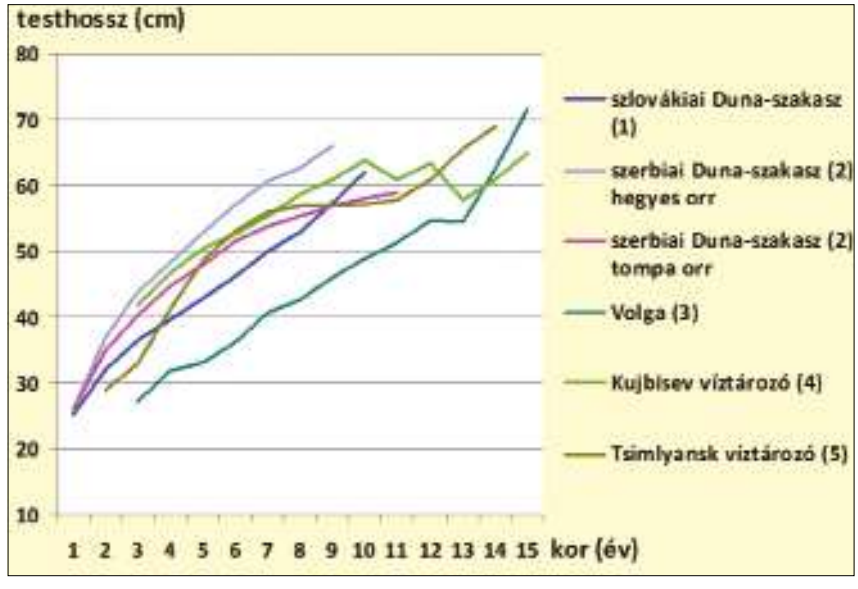
Táplálkozás

A kecsege táplálékát elsősorban az aljzaton, illetve annak közelében előforduló bentikus szervezetek alkotják. Ezek közül a vízi rovarlárvák a legfontosabbak, mint az árvaszúnyogok (*Chironomidae*), tegzesek (*Trichoptera*), kérészek (*Ephemeroptera*), púposszúnyogok (*Simulidae*), álkérészek (*Plecoptera*), továbbá a kisebb puhatestűek (*Spherium, Pisidium, Viviparus* stb.), gyűrűsférgek (*Oligochaeta, Polycheaeta, Hirudinea*) és egyéb gerinctelenek (Sokolov és Vasilev 1989). A kérészek és álkérészek tömeges rajzásakor megfigyelhető, hogy a kecsege a vízből kiugorva, a levegőben kapja el a kirepülő rovarokat. Számottevő mennyiségben találtak planktonikus ágascsápú rákokat (*Cladocera*) és evezőlábú rákokat (*Copepoda*) a Volga nagyobb víztározóiban megtelepedő kecsegék gyomrában (Lukin és társai 1981). Bolharákok (*Gammaridae*) dominanciáját mutattak ki a fiatal egyedek táplálékszervezetei között a Volga-delta térségében (Polyaninova 1972). Alkalmanként nagyobb mennyiségben fogyaszthat halikrát, beleértve a tokfélék ikráját is (Khoroskho 1967). A nagyobb (45 cm-nél hosszabb) példányok táplálékában néha kisebb halak is előfordulnak (Aristovskaya 1954).

Populációdinamika

A kecsege testhossznövekedésének alakulását különböző európai vizeken az *4. ábra* szemlélteti, amely alapján a Duna szerbiai szakaszán (Janković 1958) viszonylag gyors, a Volga középső szakszán (Lukin 1937) viszont lényegesen lassúbb növekedés jellemzi a populációkat. Megfigyelhető, hogy a szerbiai Duna-szakaszon a hegyes és a tompaorrú forma növekedése eltérő, és az előbbinek gyorsabb a testhosszgyarapodása. A volgai adatok szerint a nagyobb víztározókból származó kecsegék jobban növekedtek, mint a duzzasztás által nem érintett folyószakaszon élő példányok (Lukin 1937, Lukin és társai 1981, Gurov 1966).

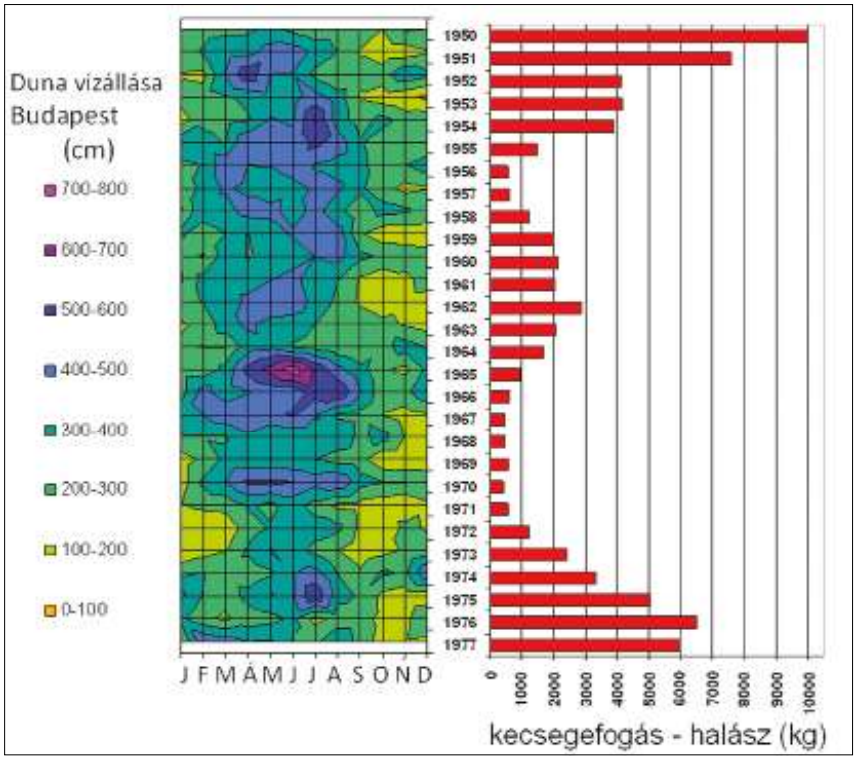
A szerbiai Duna-szakaszon gyűjtött kecsegék (n=1246) koreloszlására vonatkozó adatok (Janković 1958) alapján a 3+ és 11+ közötti korcsoportokra jellemző átlagos éves



4. ábra. A kecsege növekedése különböző vízterületeken: (1) Kovrižnych 1988, (2) Janković 1958, (3) Lukin 1937, (4) Lukin és társai 1981, (5) Gurov 1966

túlélési ráta 54% (Guti 2008). Ismerve a dunai kecsege testhossz-testtömeg összefüggését (Kovrižnych 1988) és a korcsoportok éves túlélését, megbecsülhető a populáció utánpótlásának várható biomasszája. Például, 10.000 példány 0+ korú kecsegeivadék várható biomasszája öt év múlva (5+) mintegy 150 kg lehet (Guti 2008).

A hagyományos halászat évenkénti fogási eredményeiben jelentős mennyiségi ingadozás figyelhető meg, amely összefüggést mutat a korábbi évek vízállásának alakulásával (*5. ábra*). Mindez arra enged következtetni, hogy a vízjárás döntő tényező a kecsegeállomány természetes utánpótlásának évenkénti változásában (Guti 2008).



5. ábra. Az átlagos havi vízállások és az éves kecsegefogások alakulása a Duna magyarországi szakaszán (1950-1977) (Guti 2008)

Szaporodás

A kecsege viszonylag korán válik ivaréretté az európai tokfélék többi fajához képest. A 3-5 nyaras hímek és a 4-7 nyaras nőstények már szaporodóképesek a Dunában. Megfigyelték, hogy a hímek és a fiatalabb nőstények évente, de a nagyobb nőstények kétévente csak egyszer ívnak (Janković 1958). Feltételezhető, hogy az ívás periodicitását a földrajzi szélesség is befolyásolja. Az északi területeken később válnak ivaréretté az egyedek, és jelentős részük nem szaporodik évente.

Az ívás megszakításokkal április elejétől május végéig, néha június közepéig tart, többnyire a magasabb vízállású periódusokban, 12-17 °C vízhőfok mellett. Ha a hőmérséklet 20-21 °C fölé emelkedik vagy 9,4 °C alá süllyed, az ívás megszakad (Janković 1958, Pintér 1989). Az ívás a folyómederben zajlik a finom hordaléktól mentes, 1-7 cm-es szemcseméretű kavicsos aljzaton, 7-15 m-es mélységben. Ritkán azonban előfordul, hogy kavicsos-homokos aljzatra helyezi ikráit. Ismertek olyan folyószakaszok, ahol évről évre rendszeresen megjelennek az íváshoz készülődő kecsegerajok. Más helyszíneken viszont csak bizonyos években tűnnek fel a szaporodási időszakban, többnyire a vízállástól függően, esetleg a folyómeder geomorfológiai viszonyainak megváltozása következtében.

A kecsege ívási viselkedése csak részben ismert. A hímek korábban érkeznek az ívóhelyhez, amikor a vízhőfok eléri a 9-11 °C-ot, míg a nőstények 12-13 °C-nál jelennek csak meg. A csoportos ívás után az erősen ragadós, szürkésfekete megtermékenyült ikrák az aljzathoz tapadnak. Egy-egy ikrás 10.000-60.000 szem, 1,85-2,85 mm átmérőjű ikrát érlel, a testméretétől és életkorától függően. A spermiumok viszonylag hosszú ideig, 5-6 órán keresztül életképesek a vízben. Az ívást követően a nőstények azonnal elhagyják a helyszínt, viszont a hímek tovább maradnak, és több nőstény ikráját is megtermékenyíthetik. A szaporodási időszakban nem táplálkoznak az egyedek.

Az ikra általában 5-7 nap után kel ki, fejlődéséhez 60-90 napfok szükséges. A fény felé törekvő (pozitív fototropizmus), ún. gyertyázó úszó mozgást végző 6-8 mm-es lárvák a lassú vízáramlású mederszakaszokra sodródnak, ahol 5-7 nap után kezdik meg önálló táplálkozásukat. Ezt követően viszonylag gyors növekedésnek indulnak (Pintér 1989), és egyhónapos korban elérik a 3-4 cm-es hosszúságot. A nyárvégi-koraőszi időszakban hosszuk 8-18 cm, de kivételesen akár a 25 cm is lehet (Sokolov és Vasilev 1989).

Gazdasági jelentőség

A kecsegét mint ízletes húsú halat nagyra becsült eledelnek tartották már a középkorban is (Herman 1887), és a mai napig jelentős a piaci kereslete (Horváth és munkatársai 1991). Az emberi tevékenység környezetterhelő hatásait jobban tolerálták populációi, mint a tokfélék többi faja, ennélfogva a 20. század végéig viszonylag jelentős mennyiségben fogták a halászok és

horgászok a Közép-Duna vízrendszerében. Az átlagos évenkénti kecsegefogás 1958 és 1981 között a Dunában 63,5 t volt, amelynek 57,5%-át a korábbi jugoszláv, 28,0%-át a bolgár, 10,5%-át a román, 3,5%-át a magyar és 0,5%-át a korábbi csehszlovák szakaszon zsákmányolták (Hensel és Holčik 1997). A magyarországi kecsegefogások az állomány csökkenését jelezték az 1960-as években (Jaczó 1974, Tóth 1979), de az 1970-es évek kezdetétől az 1990-es évek végéig egy látványos javulás volt megfigyelhető. Az országos fogás közel harmadát a horgászok zsákmányolták az 1955 és 2004 közötti időszakban. A halászok és a horgászok halfogási adatsorai között nem figyelhető meg jelentős összefüggés (r = 0.445). A hivatásos halászok fogása 2,2 t (1966) és 30,4 t (1999) között ingadozott, átlagosan 10,3 t volt. A horgászok zsákmánya 2,3 t (1974) és 10,2 t (1986) között változott, átlagosan 5,6 t volt.

A kecsege szaporításával már a 19. század közepén próbálkoztak Oroszországban (Oszjannikov 1870). Az 1930-as években orosz haltenyésztők dolgozták ki a hal hipofíziskivonatát felhasználó indukált szaporítást (hipofizálás) a tokfélék üzemi méretű tenyésztésére, ami az 1940-es évektől terjedt el a gyakorlatban (Szabó 2000). Magyarországon az 1940-es évek végén szaporítottak először kecsegét, és a néhány napos lárvákat a Duna paksi szakaszán telepítették vissza (Jaczó 1953). Az 1970-es és 1980-as években a százhalombattai TEHAG és a szarvasi HAKI tökéletesítette a hormonindukció, valamint az ikrainkubáció eljárásait, és tömegesen kezdték előállítani a kecsegelárvát.

A Dunába kihelyezett kecsegeivadék telepítése nem volt szisztematikus, és hiányos a dokumentációja is (Guti 2008). A rendelkezésre álló adatok szerint 1988-ban 80.000 db., 1991-ben 3.000 db., 1992-ben 5.000 db., 1992-ben és 1996-ban 20.000 db, 1999-ben és 2000-ben ugyancsak 20.000 db, 2002-ben pedig 60.000 db. ivadékot telepítettek a Duna hazai szakaszán. A halászati hasznosítók véleménye szerint a mesterséges állománypótlás hozzájárult a magyarországi kecsegefogások növekedéséhez az 1970-es évektől (Horváth és társai 1991), a populációdinamikai elemzések ezzel szemben a hidrológiai tényezők jelentőségét igazolták (Guti 2008).

Az utóbbi években néhány hazai cég sikerrel próbálkozott piaci méretű kecsege recirkulációs rendszerben, illetve átfolyóvizes medencékben történő nevelésével, évente több tonnás mennyiséget termelve. A kecsege hasznosításának további területe az akvarisztika. Jelentős mennyiségű ivadék értékesíthető a nemzetközi díszhalkereskedelemben, ahol a sárga és a fehér színváltozatok különösen keresettek.

Természetvédelmi státusz

A dunai, illetve a hazai kecsegeállomány mennyiségi alakulására célirányos felmérések hiányában a halászok és horgászok halfogási adatsorai alapján következtethetünk, amelyek csökkenő trendje a populációk hanyatlását jelzi az utóbbi évtizedekben, az 1970-es és 1980-as évek átmeneti javulását követően (Guti és Gaebele 2009, Suciu és Guti 2012). A faj teljes elterjedési területén lokális populációk maradtak fenn, és az állományok nagyarányú csökkenése általános jelenséggé vált (Kottelat és Freyhof 2007). Ez elsősorban a folyami vízrendszerek hasznosítására irányuló társadalmi és gazdasági igények növekedésével halmozódó antropogén terhelésekre (folyamszabályozás, vízenergia-hasznosítás, hajózás, szennyvízbevezetés, halászat, rekreáció stb.) vezethető vissza. A fokozódó terhelések következtében megváltoztak a folyami ökoszisztémák természetes dinamikáját meghatározó hidrológiai, hidromorfológiai és ökológiai folyamatok (Guti és Berczik 2014), ezért a kecsege fennmaradását biztosító élőhelyek ökológiai állapota is degradálódott, ami a populációk csökkenését, lokális kipusztulását eredményezte. Folyóink kecsegeállományát közvetlenül érintő további terhelés a halászati és horgászati tevékenység, valamint az 1980-as évektől látványosan gyarapodó kormoránállomány halfogyasztása, amelyek tényleges hatására vonatkozóan hiányosak az ismereteink.

A kecsege természetvédelmi szempontból nem minősül védett fajnak Magyarországon, annak ellenére, hogy az IUCN (Természetvédelmi Világszövetség) által összeállított nemzetközi vörös lista (http://www.iucnredlist.org) veszélyeztetett fajként tünteti fel. A veszélyeztetett státusz értelmében a faj állománya jelentősen megfogyatkozott a 19. század óta, és a vadon élő populációk kipusztulásának valószínűsége igen nagy. A kecsege szerepel továbbá a veszélyeztetett fajok kereskedelmét korlátozó Washingtoni Egyezmény (CITES) II. és az Európai Unió természetvédelmi politikáját megalapozó Élőhelyvédelmi Irányelv (Natura 2000) V. függelékeiben is. Magyarországon a kecsege 1974-től 1982-ig minősült védett fajnak, azaz fogása tiltott volt, ennek ellenére a halászati gazdálkodók folyamatosan publikálták fogási adatait ebben az időszakban is. Az 1980-as évek óta méretkorlátozás (legkisebb kifogható méret 45 cm), március 1-től május 31-ig tartó tilalmi időszak és a horgászok esetében mennyiségi korlátozás (3 db/nap) védi a hazai állományokat. Az 1980-as évek óta a halászati gazdálkodók és a horgászati hasznosítók alkalmi telepítésekkel igyekeztek a populációk utánpótlását növelni, de ezekkel sem sikerült folyóink kecsegeállományainak mennyiségi csökkenését megállítani. A kedvezőtlen folyamat megállítását célozza *a halgazdálkodás és a halvédelem egyes szabályainak megállapításáról szóló 133/2013. (XII. 29.)* VM rendelet, amely a kecsegét 2014-től a „nem fogható" halfajok közé sorolta, azaz csak az illetékes halászati hatóság hozzájárulásával halászható, illetve hasznosítható.

Folyóink kecsegeállományának megőrzése és fejlesz-

tése érdekében további intézkedésekre is szükség lesz. Ezzel kapcsolatban fontos megemlíteni *Sturgeon 2020* programot, amit a tokfélék védelme iránt elkötelezett szakembereket tömörítő *Danube Sturgeon Task Force* elnevezésű szervezet készített el 2013-ban. A program az EU Duna Régió Stratégia feladataihoz illeszkedően ismerteti a tokfélék védelmét biztosító legsürgősebb intézkedéseket, amelyek a folyami élőhelyek védelmére, a vándorlási útvonalak helyreállítására, a populációk utánpótlásának javítására és az orvhalászat visszaszorítására irányulnak. Az intézkedési javaslatok az ökológiai és a társadalmi-gazdasági szempontokat integratív módon egyesítve kapcsolódnak a Duna Régió Stratégia valamennyi prioritási területéhez. A Sturgeon 2020 program hazai feladatainak részletes kidolgozása a közelmúltban megkezdődött, amelyek között a kecsege védelme hangsúlyosan jelenik meg.

Irodalom

Aristovskaya, G. V. (1954): Pitanie ryb – bentofagov Srednei Volgi i ikh pishchevye vzaimootnosheniya. Trudy Tatarskogo otdeleniya VNIORKH 7: 76-133.

Berg, L. S. (1948): Ryby presnykh vos SSSR i sopredel nykh stran 1. Izd. Akademii Nauk SSSR, Moskva-Leningrad.

Faludi, J. (1974): Die Fischfauna wom Neusiedler See. Die wirtschaftliche Bedeutung von Aal und Zander. Diplomarbeit, Sopron.

Gurov, M. I. (1966): Promyslovoe ispolzovanie sterlyadi Tsimlyanskogo vodokhranilishcha. Rybnoe khozyaistvo 8: 13-15.

Guti, G. (2008): Past and present status of sturgeons in Hungary and problems involving their conservation. Fundam. Appl. Limnol./Arch. Hydrobiol., Suppl. 162., Large Rivers Vol. 18. No.1-2: 61-79.

Guti, G., Gaebele T. (2009): Long-term changes of sterlet (Acipenser ruthenus) population in the Hungarian section of the Danube. Opusc. Zool. Budapest, 40/2: 17-25.

Guti, G., Á. Berczik (2014): Criteria of sustainable management of large river systems – ecological aspects and challenges of the 21st century. Opusc. Zool. Budapest, 45 (1): 95-99.

Harka Á., Sallai Z. (2004): Magyarország halfaunája. - Nimfea Természetvédelmi Egyesület, Szarvas, pp. 1-269.

Heckel, J., R. Kner (1858): Die Süsswasserfische der Östreichischen Monarchie mit Rücksicht auf die angrenzenden Länder. W. Engelmann, Leipzig, pp. 1–388.

Hensel, K., Holčik, J. (1997): Past and current status of sturgeons in the upper and middle Danube River. Env. Biol. Fish. 48: 185-200.

Herman O. (1887): A magyar halászat könyve I-II. – A K. M. Természettud. Társulat, Budapest. 860 pp.

Horváth L., Rideg Á., Tamás G. (1991): Ősi halfajunk: a kecsege. Halászat, 84: 169-170.

Jaczó I. (1953): Kísérletek a kecsege mesterséges szaporítására. Hidrológiai Közlöny 33: 149-152.

Jaczó, I. (1974): A kecsege mennyiségének változása folyóinkban az 1947-1970. évi fogások és vizsgálatok alapján. Halászat 20: 12.

Janković, D. (1958): Ekologija Dunavske kečige. – Institute Biologique Beograd, Monographies 2: 131 pp.

Khoroshko, P. N. (1967): Sterlyad Nizhnei Volgi. Trudy TSNIORKH 1: 103-107.

Kottelat, M., J. Freyhof (2007): Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany. 646 pp.

Kovrižnych, J. A. (1988): Age and growth of the sterlet (Acipenser ruthenus Linnaeus, 1758) in the Czechoslovak stretch of the Danube. - Prace Ust. Ryb. Hydrobiol. (Bratislava) 6: 101-114.

Lukin, A. V. (1937): Nablyudeniya nad biologiei sterlyadi na Tetyushskom nerestilische „Cheremsha" letom 1934 goda. Trudy Obsschestva estestvoispytatelei pri Kazanskom univ. 55: 143-170.

Lukin, A. V., V. A. Kuznetsov, N. K. Khalitov, N. N. Danilov, K. P. Tikhonov, R. R. Melenteva (1981): Sterlyad Kuibyshevskogo vodokhranilishcha i puti ee prisposobleniya k novomu sushchestvovaniyu. Izd. Kazanskogo univ., Kazan.

Oszjannikov, F. V. (1870): Ob iszkusztvennom razvedenii szterljadej. Trudü II. szezda russzk. Eszteszтvoiszp. po otd. Zool., anat. I fiziol., 191-200 p.

Pintér K. (1989): Magyarország halai. Akadémiai Kiadó, Budapest. 202 pp.

Polyaninova, A. A. (1972): Sutochnye ratsiony molodi osetrovykh v r. Volge i Severom Kaspi. In: Thezisy Otchetnoi sessi TSNIORKH, Astrakhan. p. 137-138.

Rácz J. (1996): A magyar nyelv halnevei. Magyar Nyelvtudományi Társaság, Budapest. 212 pp.

Ristič, M. D. (1970): Migracija riba u reci Dunav i njegovim pritokama, njen uticai na stanke i dinamiku populacija ekonomskih vaznih riba kao i na ribolov. Ribarstvo Jugoslavije 25: 1–15.

Sokolov, L. I., V. P. Vasiliev, V.P (1989): Acipenser ruthenus Linnaeus, 1758. - In: Holčik, J. (ed.): The Freshwater Fishes of Europe - AULA-Verlag, Wiesbaden, 1 (2): 227-262.

Suciu, R., Guti G. (2012): Have sturgeons a future in the Danube River? IAD Limnological Reports, 39: 19-30.

Szabó T. (2000): Az indukált halszaporítás módszerei. In: Horváth L. (szerk.) Halbiológia és haltenyésztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 440 pp.

Tóth, J. (1979): Changes in the catching data of sturgeon Acipenser ruthenus L. in the Hungarian sector of the Danube. Annal. Univ. Sci. Budapest. 20-21: 265-269.

Unger, E. (1953): Die Fischmarkierung in den freinen Gewässern Ungarns und die mit Gummiringen markierten Donau-Fische. Verh. Int. Ver. Limnol 7: 388–397.

Veszélyeztetett tokfélék mélyhűtött spermájának felolvasztás utáni minőség-ellenőrzése

Bernáth Gergely, Bokor Zoltán, Urbányi Béla, Horváth Ákos

Szent István Egyetem,
MKK,
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter Károly u. 1.

Összefoglalás

Kutatásunk során a veszélyeztetett természeti státuszba tartozó lénai tok(*Acipenser baerii*), és a súlyosan veszélyeztetett vágó tok (*Acipenser gueldenstaedtii*) spermájának felolvasztás utáni tárolhatóságát vizsgáltuk 12 órán keresztül CASA (Computer Assisted Sperm Analysis – számítógépes spermavizsgálat) és úgynevezett élő/halott sejtfestés segítségével (sejtmembrán épségének mérése). A vizsgált fajok felolvasztott spermájának motilitását és életképességét 1,illetve 3 órás intervallumban rögzítettük. A mélyhűtés során szacharóz alapú hígítót és 10% metanol védőanyagot alkalmaztunk. Tizenkét óra elteltével az átlagos motilitása vizsgálatkezdetekormért50%-ról 5%-racsökkent a lénai tok esetében. A sejtek életképessége 12 óraelteltével 72%-ról 61%-ramérséklődött.A vágó tok esetében az átlagos motilitás 12 óra tárolás után a kiindulásnál mért 32%-ról 2%-racsökkent. A sejtek életképessége a 12 órás tárolási idő hatására nem változott. A kétvizsgáltt okfajfelolvasztottspermájánaktárolásasoránbekövetkezett drasztikusmotilitás-csökkenésnemhozhatóösszefüggésbe a spermiumok életképességének változásával.

Summary

Post-thawquality of cryop reserved sperm intwoen danger edacipenseriform species

G. Bernáth, Z. Bokor, B. Urbányi, Á. Horváth

Post thaw sperm quality in the endangered Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) and the critically endangered Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) was investigated for 12 hours following thawing using a CASA (Computer assisted sperm analysis) system and a viability (live/dead staining – cell membrane integrity) assay. Motility was analyzed in 1-hour, while viability in 3-hour intervals. A sucrose-based extender and 10 % methanol was used for sperm cryopreservation. Motility of Siberian sturgeon sperm decreased from 50 % at the moment of thawing to 5% at 12 hours post-thaw, whereas the viability showed a more moderate decrease from 72% at thawing to 61% at 12 hours. In case of Russian sturgeon, we found the same results, whereas the motility decreased from 32 % to 2 % without any decrease of viability during 12 hours. Drastic reduction of motility during post-thaw storage was not accompanied with decrease of viability of sturgeon spermatozoa.

Bevezetés

A spermamélyhűtés egy olyan biotechnológiai módszer, amely lehetővé teszi a tejes halak ivarsejtjeinek hosszú távú, akár több száz vagy ezer éves tartósítását (Ashwood-Smith, 1980; Witthingham, 1980; Stoss, 1983). Az eljárás számtalan lehetőséget hordoz magában a piaci haltermelés és fajmegőrzés számára egyaránt. A sperma cseppfolyós nitrogén segítségével végzett mélyhűtésével, valamint a fagyasztott minták tárolásával kiküszöbölhetjük a szaporítási szezonban gyakran előforduló és időben eltolódott spermiáció és ovuláció okozta nehézségeket. A sperma fagyasztásával egyfajta szelekciós munkára van lehetőség, hiszen évről évre a legkiválóbb tenyészállományokból származó mintákat célzottan használhatjuk fel a keltetőházi szaporítás során. A tejes halak esetében bekövetkező, esetleges tömeges pusztulás, termeléskiesést okozhat, ám egy fagyasztott spermabank segítségével az ilyen időszakban is lehetőség nyílik a szaporításra. Veszélyeztetett, és természetvédelmi oltalom alatt álló fajok, illetve izolált populációk számára a túlélést jelentheti egy mélyhűtött génbank felállítása (Cabrita et al., 2010).

A tokalakúak (*Acipenseriformes*) rendjébe tartozó lénai tok (*Acipenserbaerii*) és a hazánkban is őshonos vágótok (*Acipensergueldenstaedtii*) egyaránt nagy gazdasági és természetvédelmi jelentőséggel bíró halfaj. A lénai tok világszintű termelése 2000 és 2010 között 5 tonnáról 193 tonnára emelkedett. A vágótok termelésének növekedése még jelentősebb volt a fent említett időszakban (0-393 tonna) (FAO 2014, www.fao.org). Nem elhanyagolható azonban a két faj világméretű kaviártermelésben betöltött szerepe sem. Hazánkban is számos vállalkozás foglalkozik a tokfélék tartásával, illetve tenyésztésével, amelynek fő célja a hús- és kaviártermelés. Nem szabad elfeledkeznünk azonban arról a tényről, hogy az általunk vizsgált két faj populációi vészesen lecsökkentek a túlhalászat hatására. A Vörös Könyv listáján a lénai tokot a veszélyeztetett, míg a vágó-

tokot a kritikusan veszélyeztetett természeti státuszba sorolták be (IUCN Red List, 2014).

A tokfélék spermájának mélyhűtése az egész világon széles körben kutatott terület (Burtsev és Serebryakova, 1969; Ciereszko et al., 1996; Horváth és Urbányi 2000; Glogowski et al. 2002; Horváth et al., 2005; Osipova et al., 2014 stb.). A felolvasztott toksperma termékenyítő képességét, azaz a mélyhűtés sikerét, számos tényező befolyásolhatja (a minta hűtés előtti tárolása, a mélyhűtéshez használt hígító összetétele, a védőanyag fajtája, a hígítási arány, hűtési sebesség stb.), melyek az évtizedes kutatások alapját képezték (Billard et al., 2004). Az eljárás fejlesztése során egyre nagyobb hangsúlyt fektettek a módszer gyakorlati alkalmazhatóságának kialakítására. A felsorolt faktorok mellett a mélyhűtött sperma felolvasztás utáni tárolhatóságáról is születtek tanulmányok (Dzyuba et al.,1999; Aramli et al., 2014, stb.). A sperma felolvasztás utáni termékenyítő képessége folyamatosan csökken, ugyanakkor nem mindegy, hogy milyen ütemben. A tenyésztő számára lényeges információt jelenthet, hogy a sperma felolvasztása után mennyi idő áll rendelkezésre a termékenyítéshez.

Kutatásunk fő célja a mélyhűtött lénai tok-, illetve vágótok-sperma felolvasztás utáni eltarthatóságának vizsgálata volt. Munkánk során arra kerestük a választ, hogy a 12 órás tárolási idő hogyan befolyásolja a sperma motilitását, valamint a spermiumok életképességét.

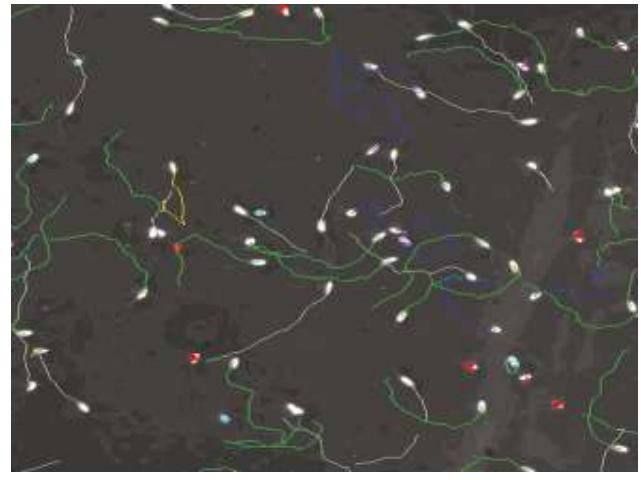
Anyag és módszer

Mintavétel

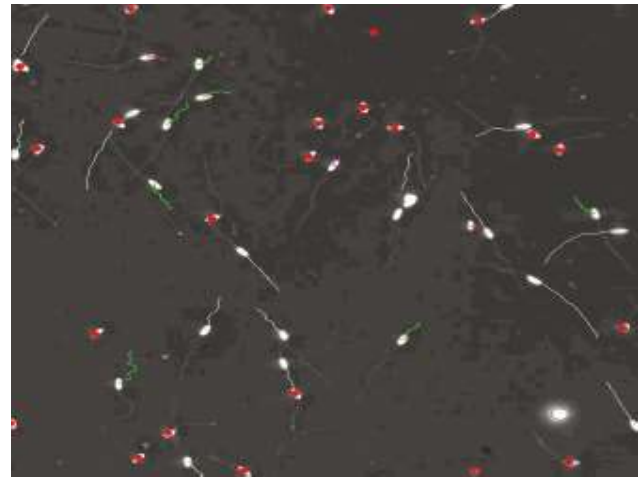
A spermamintákat a Neptun Bt. Ercsiben található telephelyén vettük. Fajonként két-két tejestől sikerült mintát vennünk. A halakat a telep munkatársai a fejés előtt szegfűszegolaj oldatával bódították. Az ivarnyílás szárazra törlése után, a hasfal erőteljes masszázsával a fehér színű, enyhén opálos tejet 50 ml-es fecskendőkbe fejték. A mintákat fejés után a Szent István Egyetem Halgazdálkodási Tanszékére szállítottuk.

Motilitás vizsgálat

A frissen lefejt sperma motilitását ZeissTechnival fénymikroszkóp segítségével határoztuk meg. A mozgó sejtek arányát vizuálisan becsültük meg. A minták aktiválásához állott csapvizet alkalmaztunk. A mélyhűtött, majd felolvasztott minták motilitását CASA (Computer-assisted Sperm Analysis– számítógépes spermavizsgálat) berendezés és a SpermVision szoftver segítségével határoztuk meg (1-2.ábra). Az sperma aktivációjához 5 mMNaCl, 10 mMTris, (pH 8,0) összetételű sóoldatot alkalmaztuk. Az aktiváló oldatban BSA-t (szarvasmarha szérum albumin) oldottunk fel 0.01g/mL arányban, hogy elkerüljük a sejtek letapadását a vizsgálat során.



1. ábra. A lénai tok motilitás vizsgálata CASA berendezéssel. A különböző színű vonalak a mozgó sejteket, a piros pontok a mozdulatlan sejteket jelölik.



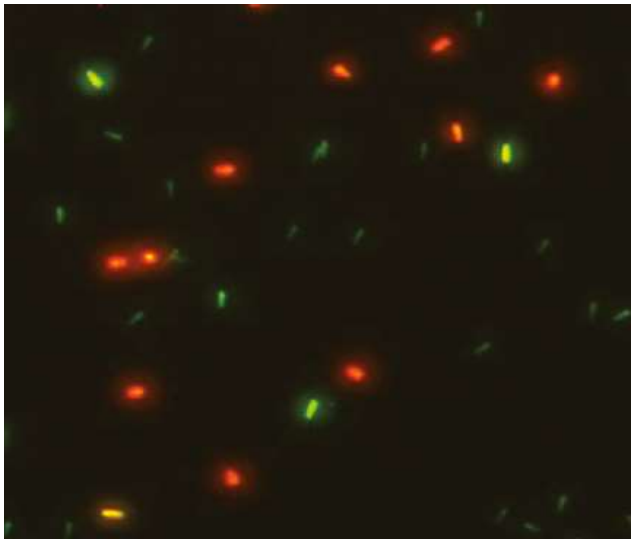
2. ábra. A vágótok motilitás vizsgálata CASA berendezéssel. A különböző színű vonalak a mozgó sejteket, a piros pontok a mozdulatlan sejteket jelölik.

Mélyhűtés és felolvasztás

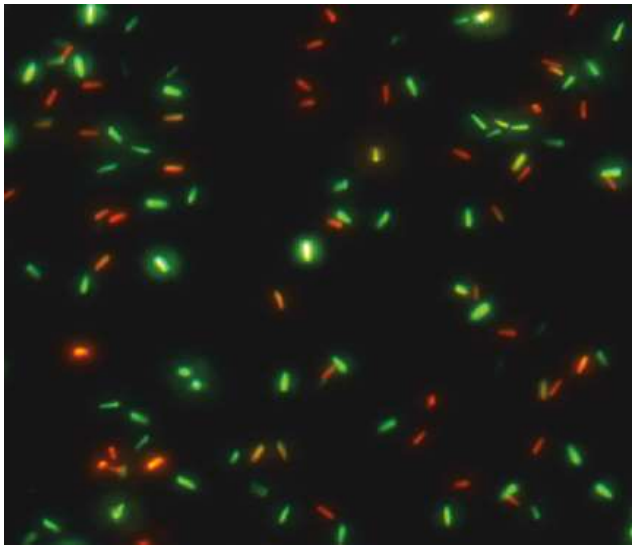
A lénai tok- és vágótok-sperma mélyhűtésénél úgynevezett módosított Tsvetkova féle hígítót használtunk(23.4 mM szacharóz, 0.25 mMKCl,30 mMTris, pH 8.0, Horváth et al, 2005). Védőanyagként 10% metanolt alkalmaztunk. A hígított mintákat 0.5 mL-es műszalmákba töltöttük, amelyeket azután egy a folyékony nitrogén felszínén úszó 3 cm vastag, úgynevezett hűtőkeretre helyeztünk. A hűtés ideje 3 perc volt. A hűtés befejeztével a szalmákat belehelyeztük a cseppfolyós nitrogénbe, majd 10 perc elteltével a minták átkerültek egy hosszú távú tárolására alkalmas Bio 20 típusú úgynevezett kaniszteres kannába. Vizsgálataink előtt, a műszalmákat 40 °C-on, 13 másodperc alatt olvasztottuk fel egy Thermo Haake P5 típusú vízfürdő segítségével.

A sejtek életképesség-vizsgálata

A sejtek membránszerkezetének állapotát kétféle sejtfestékkel határoztuk meg (3-4.ábra). A sejtek detektálásához egy Nikon Eclipse E600-as mikroszkópot, a fényképek rögzítéséhez a Q Capture Pro szoftvert használtuk. A két festék közül a SYBR green az élő sejtek membránján áthatolva és a magban működő a DNS-hez kötődve, zöld fluoreszcens fényt bocsát ki. Apropídium-jodid behatolva a sérült membránnal rendelkező (azaz halott) spermiumokba megfesti a maganyagot és vörös fluoreszcens fényt bocsát ki. A minták életképességét a zöld és vörös sejtek arányával jellemeztük.



3. ábra. A lénai tok-spermiumok életképesség-vizsgálata fluoreszcens mikroszkóppal.
Az ép membránnal rendelkező sejtek zöld, a sérült membránnal rendelkező sejtek vörös fluoreszcens fénnyel világítanak.



4. ábra. A vágó tok-spermiumok életképesség-vizsgálata fluoreszcens mikroszkóppal.
Az ép membránnal rendelkező sejtek zölden, a sérült membránnal rendelkező sejtek pirosan világítanak.

Kísérleti beállítások

1. Mélyhűtött toksperma felolvasztás utáni motilitás-vizsgálata
Tíz-tíz mélyhűtött lénai tok- és vágótok-spermamintát a felolvasztás után 12 órán keresztül tároltunk nyitott eppendorf-csövekben, hűtőszekrényben (4°C). A spermiumok motilitását óránként rögzítettük.

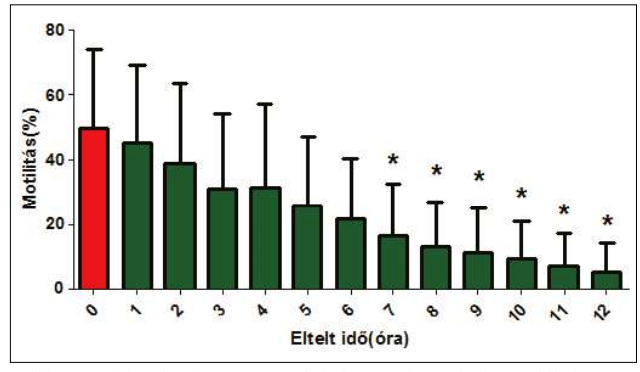
2. Mélyhűtött toksperma felolvasztás utáni életképesség-vizsgálata
A két faj 10-10 felolvasztott, ugyancsak hűtőszekrényben 12 órán át tárolt mintáit 3 óránként festettük meg a fent említett sejtfestékekkel, fluoreszcens mikroszkóp alatt vizsgáltuk, majd a zöld és vörös fluoreszcens fényt kibocsátó sejtek arányát meghatároztuk.

Statisztikai elemzés

A mérések eredményeit mindkét faj esetében a vizsgálattól függően 1, illetve 3 órás időintervallumonként átlagoltuk. Az adatsorokban a normalitást Kolmogorov-Szmirnov, illetve Shapiro-Wilk tesztek segítségével vizsgáltuk (szignifikancia szint:$P \leq 0.05$). Az egyes csoportok összehasonlításánál egy szempontos varianciaanalízist (ANOVA), Kruskal-Wallis nem paraméteres tesztet, valamint Tukey, Dunett T3 és Dunn féle post-hoc teszteket alkalmaztunk (szignifikancia szint:$P \leq 0.05$).

Eredmények

A lénai tok mélyhűtött spermájának motilitása az idő előrehaladtával egyenesen arányosan csökkent (5.ábra). Felolvasztás után átlagosan a sejtek fele mozgott (50±24%). Hat órával a felolvasztás után még 22±19% átlagos motilitást mértünk. A 6 és 12 két óra között mért motilitás értékek staisztikailag szignifikáns különbséget

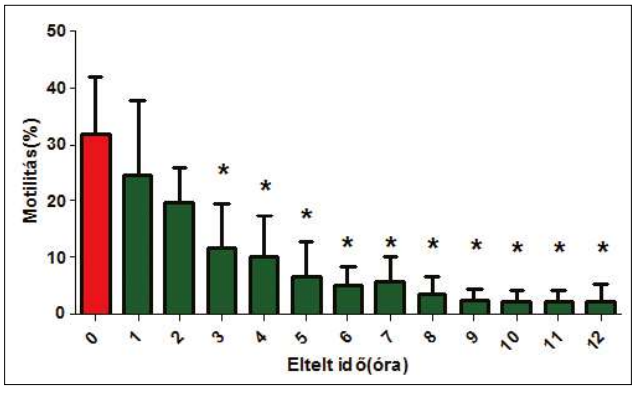


5. ábra. A lénai tok sperma felolvasztás utáni motilitása az eltelt idő függvényében (*N*=10). Az ábrán átlag értékek és a hozzájuk tartozó szórások láthatóak. A „*"-al jelölt időpontok szignifikánsan különböztek a 0 órától (*P*≤0.05).

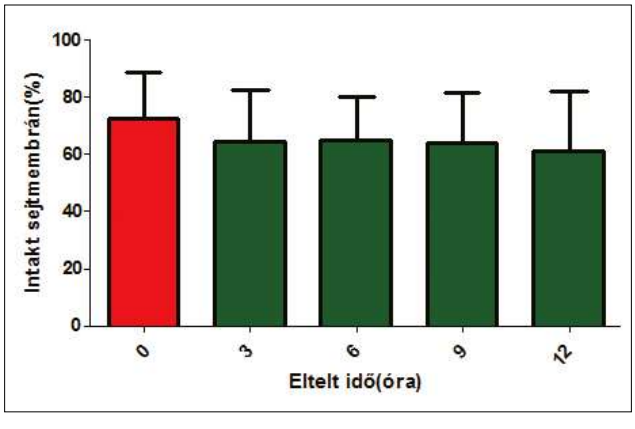
mutattak a közvetlenül a felolvasztás után mért átlagos motilitáshoz képest. Tizenkét óra után a spermiumok 5±9%-a még aktív mozgást mutatott.

A mélyhűtött vágótok sperma felolvasztás utáni tárolása során a lénai tokhoz hasonló tendenciát tapasztaltunk (6.ábra). Közvetlenül, a felolvasztás után csupán 32±10%-os motilitást mértünk. Az átlagos motilitási értékek 2, illetve 12 óra tárolási idő között már szignifikánsan alacsonyabbak voltak, a közvetlenül felolvasztás után mért eredményhez képest. Három óra elteltével sejtek 12±8%-a végzett aktív mozgást, mely a kiindulási érték kevesebb, mint felét jelentette. Hat órás tárolási idő után a sejtek 5±3%-a még mozgásra képes volt. Vizsgálatunk végén, azaz 12 óra elteltével már csupán 2±3%-os átlagos motilitás volt megfigyelhető a vágótok esetében

Tizenkét óra hűtve tárolás alatt, a felolvasztott lénai tok spermiumok életképessége jelentősen nem változott (7.ábra). Felolvasztás után a sejtek 72±17% rendelkezett ép membránnal. Három, illetve hat órás tárolás mellett az életképesség kis mértékben csökkent (3 óra: 65±18%, 6 óra: 65±15%). A további tárolás sem volt számottevő hatással a sejthártya szerkezeti struktúrájára, hiszen a minták életképessége9 óránál 64 ±18, 12 óránál 61±21-os volt.

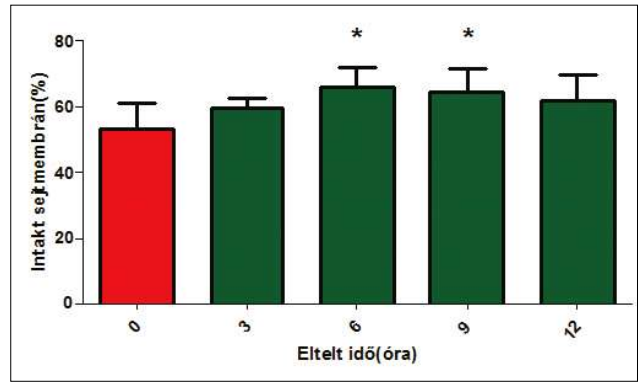


6. ábra. A vágótok sperma felolvasztás utáni motilitása az eltelt idő függvényében (*N*=10). Az ábrán átlag értékek és a hozzájuk tartozó szórások láthatóak. A „*”-al jelölt időpontok szignifikánsan különböztek a 0 órától (*P*≤0.05).



7. ábra. A lénai tok sperma felolvasztás utáni membránintegritása (életképesség) az eltelt idő függvényében (*N*=10). Az ábrán átlag értékek és a hozzájuk tartozó szórások láthatóak.

A hosszú tárolás nem volt negatív hatással a vágótok mélyhűtött spermiumainak membránszerkezetére (8.ábra). A mérések, közvetlenül a felolvasztás után azt mutatták, hogy a spermiumok 53±8%-a rendelkezett ép sejthártyával. Az idő előrehaladtával a sejtek életképességek is mértékben ugyan, de növekedő tendenciát mutatott. A hat, illetve kilenc óra elteltével mért értékek szignifikánsan magasabbak voltak a kiindulásnál mértekhez képest (6 óra: 66±6%, 9 óra: 64±7%). Tizenkét órával a felolvasztás után sejtek 62±8%-a rendelkezett ép membránnal.



8. ábra. A vágótok sperma felolvasztás utáni membránintegritása (életképesség) az eltelt idő függvényében (*N*=10). Az ábrán átlag értékek és a hozzájuk tartozó szórások láthatóak. A „*”-al jelölt időpontok szignifikánsan különböztek a 0 órától (*P*≤0.05).

Eredmények értékelése

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy mindkét általunk vizsgált tokféle spermája felolvasztás után hosszú ideig eltárolható. A lénai tok (*Acipenser baerii*) esetében 6, a vágótoknál (*Acipenser gueldenstaedtii*) 2 órás tárolási idő után tapasztaltunk szignifikáns csökkenést, ami tág szállítási vagy felhasználási időintervallumot tesz lehetővé. Dzyuba et. al., (1999) mélyhűtött vágótok-,viza- (*Husohuso*), sőregtok- (*Acipenser stel1atus*), kecsege- (*Acipenser ruthenus*), valamint simatok- (*Acipenser nudiventris*)spermával folytatott kutatásaik alapján azt javasolták, hogy a felhasználó a felolvasztás után azonnal végezze el a termékenyítést. A szaporítás esetleges elhalasztása esetén a felsorolt fajok felolvasztott spermáját érdemes nagy felületen tárolni. A tárolás során biztosítani kell a 0 °C körüli hőmérsékletet és a sejtek oxigénellátását. Aramli et al., 2014-es vizsgálatukban a perzsa tok(*Acipenser persicus*) mélyhűtött spermájának tárolhatóságát vizsgálták felolvasztás után, 30 és 60 percen keresztül. Az eredmények azt mutatták, hogy a minták motilitása, termékenyítő képessége nem csökkent szignifikánsan 30 perc tárolás után a kontroll friss, valamint a felolvasztás után azonnal mért értékekhez képest.

Hatvan perc elteltével azonban, releváns csökkenés volt kimutatható a fent említett két vizsgált paraméterben. Eredményeinket összevetve az irodalomban leírt adatokkal elmondhatjuk, hogy a lénai tok spermája valószínűsíthetően jól, más eddig vizsgált tokféle spermájához képest talán jobban tolerálja a felolvasztás utáni tárolást. A vágótok-sperma méréseink alapján kevésbé tűnik ellenállónak.

A sperma életképesség-vizsgálata (sejtmembrán épségének mérése) során eredményeink azt mutatták, hogy a tárolási idő nem volt hatással a spermiumok sejthártyájának szerkezetére. Horváth et al., 2008-as kutatásukban 3 észak-amerikai tokféle, a lapátorrú tok (*Polyodonspathula*), a rövidorrú tok (*Acipenser brevirostrum*) és az ásóorrú tok (*Scaphirhynchus albus*) felolvasztott spermájának motilitását, termékenyítő képességét és membránintegritását vizsgálták a mélyhűtés során alkalmazott különböző hígítók és védőanyag koncentrációk függvényében. Eredményeik azt mutatták, hogy a különböző kezelésektől függetlenül, az ép membránszerkezetű sejtek aránya igen alacsony volt a rövidorrú tok esetében. Az ép membránnal rendelkező spermiumok aránya lényegesen magasabb volt az ásóorrú tok és a lapátorrú tok fajokban. A motilitás a legtöbb esetben korrelált a sejtek életképességével. Az általunk kapott és az irodalomban talált eredmény is azt mutatja, hogy a különböző tokfélék spermája, eltérő módon tudja megőrizni membránja épségét (életképességét) a mélyhűtés során. A membrán integritása létfontosságú a termékenyítés során (Horváth et al., 2008). Vizsgálatunkban, a felolvasztott sperma motilitása, az idő előrehaladtával folyamatos csökkenést mutatott. A sejtek életképességének vizsgálatánál nem tapasztaltunk hasonló tendenciát.

Kutatásunk során értékes információkhoz jutottunk a lénai és vágótok felolvasztott spermájának eltarthatóságáról. További motilitás és életképesség-vizsgálatokra, valamint termékenyítési tesztekre van szükség, hogy a módszer a gyakorlatban is eredményesen alkalmazhatóvá váljon.

Köszönetnyilvánítás

A munka a TÁMOP-4.2.2.B-10/1-2010-0011 projekt, az Emberi Erőforrások Minisztériuma (8526-5/2014/TUDPOL iktatószámú támogatási szerződés), és a Neptun Bt. segítségével valósult meg.

Irodalomjegyzék

Ashwood-Smith M. J. 1980: Low temperature preservation of cells, tissues and organs. In: Ashwood-Smith M. J. & Farrant J. (eds.). Low Temperature Preservationin Medicine and Biology. Pitman Medical Ltd., Tunbridge Wells, Kent, England, p. 19.

Aramli, M.S., Nazari, R.M., and Ciereszko, A. Motility and fertility of cryopreserved semenin Persiansturgeon, Acipenser persicus, stored for 30–60 min after thawing. Cryobiology. In Press.

Billard, R., Cosson, J., Noveiri, S.B., Pourkazemi, M. 2004: Cryopreservation and short-term storage of sturgeon sperm, a review. Aquaculture.236, 1–9.

Burtsev, I.A., Serebryakova, A.V. 1969: First results of sturgeon sperm cryopreservation. In: Vladimirskaya, E.V. (Ed.), Works of Young Scientists. VNIRO, Moscow, Russia, pp. 94– 100. In Russian.

Cabrita, E., Sararsquete, C., Martínez-Páramo, S., Robles, V., Beirao, J., Rérez-Cerezales, S., Herráez, M.P. 2010: Cryopeservation of fish sperm: applications and perspectives. Journal of Applied Ichtiology. 26, 623-635.

Ciereszko, A.,Toth, G.P., Christ, S.A., Dabrowski, K. 1996: Effect of cryopreservation and theophyllineon motility characteristics of lake sturgeon (Acipenser fulvescens) spermatozoa. Theriogenology.45, 665–672.

Dzuba, B.B., Kopeika, F.F., Cherepanov, V.V., Drokin, S.I. 1999: Sturgeon sperm quality after 6 years of cryopreservation. Journal of Applied Ichthyology. 15, 12.

Glogowski, J.,Kolman, R., Szczepkowski, M., Horváth, Á., Urbányi, B., Scieczynski, P., Rzemieniecki, A., Domagala, J., Demianowicz, W., Kowalski, R., Ciereszko, A. 2002: Fertilising rate of Siberian sturgeon (Acipenser baerii, Brandt) milt cryopreserved with methanol. Aquaculture. 211, 367– 373.

Horváth, Á., Urbányi, B. 2000: Cryopreservation of sterlet (Acipenser ruthenus) sperm. In Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Bergen, p. 441.

Horváth, Á., Wayman, W.R., Urbányi, B., Ware, K.M., Dean, J.C., Tiersch, T.R. 2005: The relationship of the cryoprotectants methanol and dimethyl sulfoxide and hyperosmotic extenders on spermcryo preservation of two North-American sturgeon species. Aquaculture.247, 243–251.

Horváth, Á., Wayman, W.R., Dean, J.C., Urbányi, B., Tiersch, T.R., Mims, S.D., Johnson, D., Jenkins, J.A. 2008: Viability and fertilizing capacity of cryopreserved sperm from three North American acipenseriform species: a retrospective study. Journal of AppliedIchthyology.24, 443–449.

Osipova, V.P., Kolyada, M.N., Berberova, N.T., Milaeva, E.R., Ponomareva, E.N., Belaya, M.M. Cryoprotective effect of phosphorous-containing phenolicanti-oxidant for the cryopreservation of beluga sperm. Cryobiology. In Press.

Urbányi, B., Horváth, Á., Bercsényi, M., Horváth, L. 1999: Androgenesis on sterlet (Acipenser ruthenus) using fresh and cryopreserved sperm. In Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. Bergen, p. 410.

Stoss J. 1983: Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. In: Hoar W. S., Randall D. J. &Donaldson E. M. (eds.). Fish Physiology. Academic Press, New York, New York, USA, 9: 305.

The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. www.iucnredlist.org. Downloadedon06 November 2014.

Whittingham D. G. 1980: Principles of embryo preservation. In: Ashwood-Smith M. J. & Farrant J. (eds.). Low Temperature Preservationin Medicine and Biology. Pitman Medical Ltd., Tunbridge Wells, Kent, England, p. 65.

Vol. 1/2. (2015) pp. 14-17.

A KORAI FEJLŐDÉSI SZAKASZBAN ALKALMAZOTT HŐKEZELÉS HATÁSA CSAPÓ SÜGEREK (*Perca fluviatilis* Linné, 1758) IVARARÁNYÁRA

Demeter Krisztián[1, 2], Balikó Tímea[1], Merth János[1], Marton Csaba[1], Ruibin Yang[3], Polgár J. Péter[1], Bene Szabolcs[1]

[1]Pannon Egyetem Georgikon Kar, Keszthely; [2]Dalmand ZRt., Dalmand,
[3]Huazhong Agricultural University, Wuhan, China

ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgáltuk a környezeti hőmérséklet hatását a korai fejlődési állapotokban a csapó sügér (*Perca fluviatilis* Linné, 1758) ivararányának alakulására. Termékenyített ikraszalagokat gyűjtöttünk a termékenyítést követő első napon. Azok közül az azonos napon jól termékenyülteket közös akváriumokba helyeztük. Itt a hőmérséklet nagyjából megfelelt a közeli tó hőmérsékletének. A kontroll halak végig ilyen hőmérsékleten növekedtek, a hőkezeltek szintén, kivéve a hőkezelés idejét, amikor a nevelővizük hőmérsékletét 26°C-ra állítottuk be. Hét féle hőkezelést végeztünk a termékenyítéstől számított 4-24. napig tartó időszakban, különböző kezdési és hosszúsági kezeléseket alkalmazva 26°C-on. A kezeléseket követően az ivadékot négy hónapos koráig neveltük, amikor ivarukat gonádjaik mikroszkópos vizsgálatával állapítottuk meg. A kontroll csoportokból származó egyedeknél a feltételezett 50%-hoz képest kisebb, 36,23±0.81%(p≤ 0.01) volt a hímek részaránya. Két korai kezdésű időszakban (4-6; 6-20 dpf) kezelt csoportban a hímek részaránya szignifikáns növekedést (63,3 valamint 59,5%; p≤ 0.05) mutatott a kontrollhoz képest.

SUMMARY

Effect of heat treatment applied in the early stage of development on the sex ratio of perch (Perca fluvatilis Linné, 1758)

Krisztián Demeter, Tímea Balikó, János Merth, Csaba Marton, Ruibin Yang, Péter Polgár J., Szabolcs Bene

The effect of ambient temperature in the early developmental stages on the sex ratio of the Eurasian perch *(Perca fluviatilis* L. *)*was studied. Fertilized egg ribbons of this species were collected on the first day of spawning. The ribbons collected on the same day and showing good fertilization were pooled and transferred into aquaria. Here the temperature basically followed the temperature of a nearby pond. Controls were raised at this temperature regime throughout their life. Heat treated groups were kept also at this temperature regime except their heat treatments when temperature was set at 26°C. The fish was raised for 4 months, whentheir gender was determined by microscopic observation of their gonads.

In case of controls the sex ratio of males was 36.23±0.81%, significantly (p≤ 0.01) different from the theoretically expected 50%. Two early heat treatments (4-6 and 6-20 dpf) resulted in masculinization of the treated groups (63.3 and 59.5%; p≤ 0.05).

BEVEZETÉS

Bár a csapó sügér *(Perca fluviatilis* L.*)* tenyésztése nem játszik meghatározó szerepet az európai haltermelésben, jelenléte színesítheti a piaci palettát, ezért az utóbbi két évtizedben jelentős előrelépések történtek a faj mesterséges szaporításának és intenzív nevelésének területén (Kouřil J. és Stejskal, 2010; Toner D. és Rougeot, 2008). A csapó sügér populációk ivararányának bármilyen módszerrel történő befolyásolása nemcsak ökológiai, de gazdasági szempontból is érdekes felvetés, mivel e fajnál már egyéves korban jelentős méretbeli különbségek jelentkeznek a nemek között.

A klímaváltozás az ökoszisztémákra gyakorolt hatásával segítheti egyes fajok túlszaporodását és hozzájárulhat mások visszaszorulásához (Figueirido et al. 2011). A szélsőséges hőmérsékleti behatások oly módon is befolyásolhatják az élettani folyamatokat, hogy megváltozhat egy-egy populáció ivari egyensúlya, ami gyorsuló evolúciós folyamatokhoz és az adott élőhely fajösszetételének változásához vezethet.

Ismeretes, hogy az egyedfejlődés korai szakaszában a hőmérsékleti átlagtól való jelentős eltérése bizonyos halak, kétéltűek és hüllők fajainál befolyásolja a populáció ivararányának alakulását(Jansen, 1994; Wallace et al., 1999; Warner és Shine, 2008). Az egyedek ivarának ily módon megvalósuló kialakulására a TSD (Temperature Dependent Sex Determination) rövidítést alkalmazza a szakirodalom (Shen és Wang, 2014).

Számos vizsgálat alapján kijelenthető, hogy a halak ivari fejlődése olyan komplex folyamatokon alapszik,

1. kép. Méretbeli ivari kétalakúság 12 hónapos csapó sügéreken. (fent:♀ lent:♂)
Picture 1.Sexual dimorphism in body size of 12 month old perch, (upper ♀, lower ♂)

melyeknél a környezeti hőmérsékletnek fontos szerep jut (Ospina-Álvarez és Piferrer, 2008; Devlin és Nagahama, 2002; Wessels és Hörstgen-Schwark, 2011;Liew és Orbán, 2013; Shen és Wang, 2014).

Elsőként 1981-ben végzett kutatások igazolták, hogy az atlanti ezüstösoldalú hal (*Menidia menidia* L.) lárvafejlődésének egy meghatározott szakaszában (8-25 mm) végzett hőkezeléssel a genetikailag meghatározott ivar átfordítható ellenkező neművé (Conover, 2004; Conover és Kynard, 1981). Azoknál a termelésbe vont fajoknál, ahol az ivari dimorfizmus méretbeli különbségben jelentkezik, gazdasági cél a nagyobb növekedési eréllyel bíró nem arányának növelése az állományban. Miután a nemek átfordítására alkalmas hormonkezelések közvetlen alkalmazása az étkezési célra termelt állományokban nem engedélyezett, vagy komplex genetikai módszerek (pl. „szuperhímek" létrehozása), vagy hatékony hőmérsékleti tartományokkal való kezelés alkalmazásával juthatunk előre a kívánt ivar kialakításának területén.

A csapó sügérnél az ikrás egyedek gyorsabban és nagyobbra nőnek a hímeknél (Sirakov et al., 2012), ebből adódóan termelésbe vonásuk esetén a nőstények számának maximalizálása az elérendő cél. Kísérletünkben a magas hőmérséklet ivar kialakulásra gyakorolt hatását vizsgáltuk az előbb említett fajnál.

ANYAG ÉS MÓDSZER

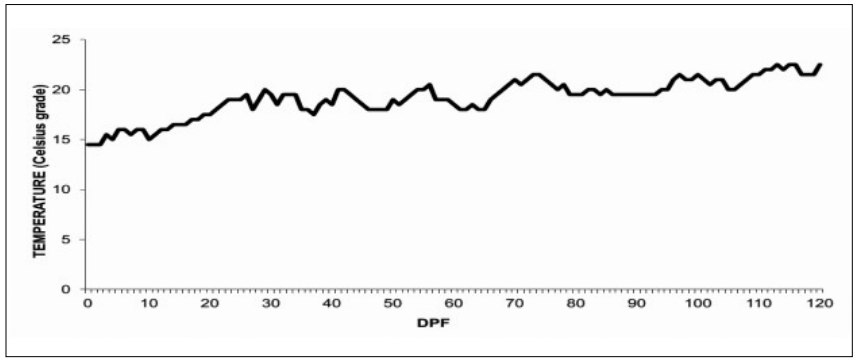
Vizsgálatainkat a Pannon Egyetem Georgikon Kar, keszthelyi hal-laboratóriumában végeztük, az ivartermékeket biztosító anyahalak a Balatonból és a Dalmand ZRt. halastavaiból származtak, mindkét helyről húsz ikrás és húsz tejes került 2013. novemberében a labor teleltető tavaiba.

Szaporítás

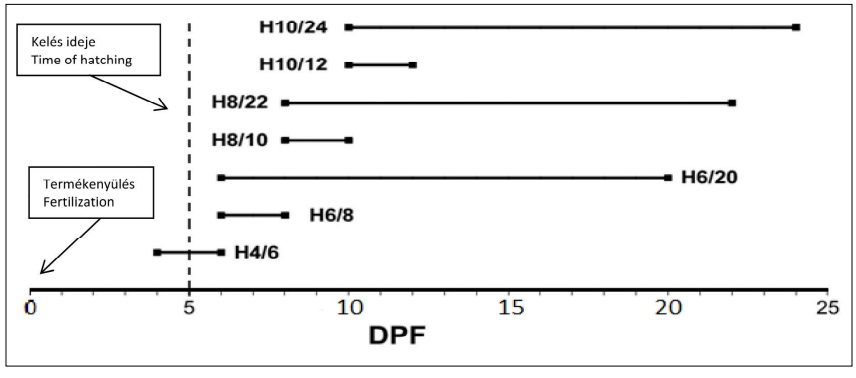
2014. február végén a halakat a teleltető tavakból egy 65 m³-es medencébe helyeztük át. Amikor a vízhőfok elérte a 10°C-ot, ívási környezet kialakítása céljából tuja ágakat helyeztünk bele. A „fészkeket" minden reggel ellenőriztük. Az első ikraszalagot 14 °C vízhőmérsékletnél találtuk, ezt követően a teljes állomány ívása 11 napon belül lezajlott. Minden friss ikraszalag a külső medencével azonos hő-

1. táblázat. A kezelések eredményei
Table 1. The results of the treatments

Kezelés Treatment	ikratétel egg stock	Kezelés időtartama (napok, tól-ig) (termékenyülés után) Duration of treatment (days from-to) (dpf)	Végső vizsgált egyedszám final observed number of individuals	Hímek aránya (%) ratio of males (%)	Eltérés valószínűsége a kontrolltól probability of difference from the control
C-1	1	N/A	82	*36.6*	N/A
H4/6	**1**	**4-6**	**30**	**63.3**	**p<0.05**
H6/8	1	6-8	49	44.8	NS
H6/20	**1**	**6-20**	**74**	**59.5**	**p<0.05**
C-2	2	N/A	57	*36.8*	N/A
H8/10	2	8-10	46	52.1	NS
H8/22	2	8-22	82	45.1	NS
C-3	3	N/A	34	*35.3*	N/A
H10/12	3	10-12	49	40.8	NS
H10/24	3	10-24	72	41.7	NS



1. ábra.A „hideg kamra" vízhőmérsékleti görbéje.
Figure 1. Water temperatures in the „cold room".



2. ábra. A hőkezelések időzítése
Figure 2. Timing of heat treatments

mérsékletű vizet tartalmazó akváriumba került, a „hideg kamrába". Ebben a helyiségben a kísérlet ideje alatt végig a külső környezettel azonos hőmérsékletet tartottunk. Az ikraszalagok korát a termékenyüléstől számított napokban (day post-fertilization „dpf") adtuk meg. A legintenzívebb ívási időszakban három egymást követő napon gyűjtött 5-5 szalagot használtuk fel a vizsgálatok elvégzéséhez. Az azonos korú szalagokból egyenlő számú ikraszemmel/lárvával indítottuk a hőkezeléseket, három tételt kialakítva (1. táblázat). Minden tétel megközelítőleg 1000 ikraszemet tartalmazott.

Hőkezelés

A kísérlet négy hónapos időtartama alatt az ikraérlelés és az ivadéknevelés -a hőkezelések kivételével- végig a hideg kamrában, csoportonként elosztva 10-10 literes akváriumokban zajlott. A kamra hőmérséklete a vizsgált időszak alatt 15 °C-ról 22 °C-ra emelkedett (1. ábra).

A kezeléseknél tételenként kb. 500 egyedet/ikraszemet kiválasztva, 10 literes tartályban a meleg kamrába (26 °C) helyeztünk, ahol nagyjából négy órán belül temperálódtak. A kezelések indítása a termékenyítéstől számított 4. és 10. nap között történt, 2-től 14 napig tartó időtartammal. A kezelések végeztével a csoportok visszakerültek a hideg kamrába, ahol vizük hőmérséklete fokozatosan lehűlt a kamra aktuális hőmérsékletére. Az első tételből három kezelt csoport (H4/6; H6/8; H6/20) és azok kontrollja (C-1), a másodikból két kezelés (H8/10; H8/22) és kontrolljuk (C-2), a harmadik tételből két hőkezelés (H10/12; H10/24) és azok kontrollja (C-3) származott. Az ivadéknevelés időszaka 16 hétig tartott.

Mivel a lárvák kelése minden estben az ötödik napon történt, így a „H4/6" csoport hőkezelése értelemszerűen még az ikraszemek kezelésével kezdődött, a többi csoportnál már a kikelt lárvákat érte a hőhatás (2. ábra).

Ivadéknevelés

A nevelés során az akváriumok vize kb. háromnaponként cserélődött. Az oxigénpótlást a légkörből kompresszorral, a vízminőség fenntartását belső szivacsszűrőkkel biztosítottuk. A lárvák táplálását kerekesférgekkel indítottuk, amit egy hét múlva frissen keltetett artémia váltott. Három hét elteltével az azonos kezelésű csoportokat kettéválasztva, száz literes akváriumokba áthelyezve 50-50 egyedes állományokat hoztunk létre. Ettől kezdve a nevelés végéig vegyes táplálékot, kornak megfelelő méretű ágascsápú rákokat, fagyasztott szúnyoglárvát, hallárvát kaptak. A nevelési időszak végéig az állományok elhelyezésében, megosztásában további változás nem történt.

Ivar vizsgálat és tömegmérés

A termékenyülést követő 16. hét végén a halakat MS222 használatával túlaltattuk, majd ivarszerveiket sztereo mikroszkóp alatt vizsgáltuk. Az egyedi testtömeg mérése 0,1 g pontossággal történt.

Statisztikai elemzés

A kezelt és kezeletlen állományok ivararányainak elemzésénél Chi² próbát alkalmaztunk, MS Excel használatával (Microsoft Office 2010.)

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Kimutattuk, hogy sügér fajon a hőmérsékletnek fontos szerepe van az ivar meghatározásában.

Megállapítottuk, hogy a sügér érzékeny fejlődési szakasza, ahol a hőmérséklet az ivar kialakulását befolyásolja a korai, a kelés körüli napokra esik.

Megállapítottuk, hogy az ivar-meghatározásra érzékeny fejlődési állapotban alkalmazott 26°C hőkezelés jelentősen befolyásolja a sügér ivararányait.

A kontroll állományok ivararánya az alkalmazott nevelési hőmérsékleten jelentősen eltért az általunk feltételezett 50-50%-tól. A hímek aránya ezeknél 35,3-36,8% között alakult.

Kísérletünkben a hímek aránya minden hőkezelt (26°C) csoportnál magasabb volt, mint a kontroll csoportokban (1. táblázat), de szignifikáns eltérést csak két korai indítású (H4/6 és H6/20) kezelésnél tapasztaltunk (Chi2 p≤ 0.05).

Fajtól függően változó, hogy miként kell a hőkezelést alkalmazni a kívánt eredmények eléréséhez. Az európai tengeri sügér *(Dicentrarchus labrax L.)* jól reagál a termikus befolyásolásra (Saillant, 2002.), amennyiben az már a termékenyítéstől számított 0. naptól a 17-18 mm-es testhossz kialakulásáig tart, és 13 °C-on történik. Ekkor a populáció 72-74%-a nőstény lesz (Piferrer et al, 2005), magasabb hőmérsékleten azonban megnő a hímek részaránya a populáción belül (Selim et al., 2009).

Esetünkben kívánatos lenne a tenyésztett csapó sügér állományokban a nőstények arányának növelése, e célból valószínűleg a hőmérséklet csökkentésével kell próbálkozni a korai fejlődési stádiumokban. Bár az ikrás sügérek már egyéves korukban számottevően nagyobb méretűek a hímeknél (1.kép), a négyhónapos állományokban a különböző ivarok egyedi testtömegei között jelentős eltérést még nem tapasztaltunk.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munka a Pannon Egyetem Tudományos Műhelyeinek Támogatása című TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0004 sz. projekt támogatásával készült. A szerzők köszönetüket fejezik ki Bercsényi Miklós és Orbán László értékes tanácsaiért.

IRODALOMJEGYZÉK

Conover DO, Kynard BE (1981) Environmental sex determination: interaction of temperature and genotype in a fish**. Science**, 213:577–579.

Conover DO (2004) Temperature-dependent sex determination in fishes. In **Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates**. Edited by Valenzuela N, Lance V. Washington DC: Smithsonian Books; 11–20.

Devlin RH, Nagahama Y (2002) Sex determination and sex differentiation in fish. **Aquaculture**. 208(3-4): 191–364, doi:10.1016/S0044-8486(02)00057-1

Figueirido B, Janis C.M, Pérez-Claros J.A, Renzi M.D, and Palmqvist P. (2011) Cenozoic climate change influences mammalian evolutionary dynamics. **PNAS**, Vol. 109(3) pp722-727, DOI: 10.1073/pnas.1110246108

Janzen F. J. (1994) Climate change and temperature-dependent sex determination inreptiles. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**. 91: 7487-7490

Kouřil J. & Stejskal, V. (2010) Intensive Rearing of Eurasian perch (*Perca fluviatilis L.*)

http://www.agrowebcee.net/fileadmin/content/nacee/files/documents/Szarvas_workshop_2010/Kouril_Perch_2010_Szarvas.pdf

Liew W, Ch & Orbán L. (2013) Zebrafish sex: a complicated affair. **Briefings in Functional Genomics**, 3(2):172-187. http://bfg.oxfordjournals.org/content/13/2/172

Ospina-Álvarez N, Piferrer F (2008) Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. **PLoS ONE**, DOI: 10.1371/journal.pone.0002837

Piferrer F, Mercedes Blázquez, Laia Navarro, Alicia González (2005) Genetic, endocrine, and environmental components of sex determination and differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*), **General and Comparative Endocrinology** 142: 102–110

Saillant E., Fostier A, Haffray P, Menu B, Thimonier J, Chatain B (2002) Temperature effects and genotype-temperature interactions on sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*), **J Exp Zool**.292(5):494-505.

Selim K.M., Ai Shinomiya, Hiroyuki Otake, Satoshi Hamaguchi, Mitsuru Sakaizumi (2009) Effects of high temperature on sex differentiation and germ cell population in medaka, (*Oryzias latipes*), **Aquaculture,** 289: 340–349

Shen Zh.G & Wang H.P. (2014) Molecular players involved in temperature-dependent sex determination and sex differentiation in Teleost fi sh. **Genetics Selection Evolution**, 46:26, doi:10.1186/1297-9686-46-26

Sirakov I., Staykov Y., Ivancheva E., Nikolov G., Atanasov A. (2012) Morphometric characteristic of European perch (*Perca fluviatilis*) related to sex dimorphism. **Agriculture Science and Technology**, 4(3): 203-207

Toner D. & Rougeot C. (Editors) (2008) Farming of Eurasian Perch. **Aquaculture Explained**. No. 24, pp. 1-78.http://www.bim.ie/media/bim/content/publications/corporate-otherpublications/thumbnails/bimno_24_Farming_of_Eurasian_Perch_Volume_1_Juvenile_production.pdf

Wallace H., Badawy G., M., I. Wallace B. M. N. (1999) Amphibian sex determination and sex reversal. CMLS, **Cell. Mol. Life Sci**. 55: 901–909 Birkhäuser Verlag, Basel

Warner D., A. & Shine R. (2008) The adaptive significance of temperature-dependent sex determination in a reptile **Nature,**451, 566-568, doi:10.1038/nature06519

Wessels S., Gabriele Hörstgen-Schwark (2011) Temperature dependent sex ratios in selected lines and crosses with a YY-male in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), **Aquaculture**,Vol. 318,(1–2): 79–84

Vol. 1/2. (2015) pp. 18-20.

KÉT KÜLÖNBÖZŐ POPULÁCIÓBÓL (BAJA, SZARVAS) SZÁRMAZÓ SÜGÉRLÁRVÁK (*PERCA FLUVIATILIS* L.) TERMELÉSI MUTATÓINAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA RECIRKULÁCIÓS RENDSZERBEN TÖRTÉNŐ NEVELÉSNÉL

Lengyel Szvetlana, Uros Ljubobratovic, Péter Géza, Rónyai András

NAIK Halászati Kutatóintézet (HAKI), Szarvas

ÖSSZEFOGLALÁS

A kísérletben két magyar populációból (Baja, Szarvas) származó sügérlárvák termelési mutatóit vizsgáltuk. A lárvákat 28 napos korig azonos körülmények között neveltük három különböző takarmányozási stratégia mellett. A nevelési időszak végén méretbeli különbségeket nem tapasztaltunk, függetlenül a takarmányozás módjától. Ugyanakkor a bajai populációban szignifikánsan magasabb volt a kannibalizmus gyakorisága (16,6%), mint a szarvasiban (7,7%). A bajai populáció méretbeli heterogenitása csekély mértékben magasabb volt. A témában további vizsgálatokra van szükség, többek között populációgenetikai módszerek felhasználásával.

SUMMARY

COMPARISON OF PRODUCTION PARAMETERS OF PERCH (Perca fluviatilis L.) LARVAE FROM TWO HUNGARIAN POPULATIONS (BAJA AND SZARVAS) UNDER RAS CONDITIONS

Szvetlana Lengyel, Ljubobratovic Uros, Géza Péter, András Rónyai
NARIC Research Institute for Fisheries and Aquaculture, Szarvas, Hungary

Production parameters of perch larvae from two Hungarian populations (Baja and Szarvas) were studied in the experiment. The larvae were reared until the age of 28 days under identical conditions with three different feeding strategies. At the end of the period, no size differences were found irrespective of the feeding strategies. Yet, the Baja population had a significantly higher occurrence of cannibalism (16,6%) than that of Szarvas (7,7%), and a higher size heterogeneity. Further studies are needed in this field, including population genetic methods.

BEVEZETÉS

Számos, a csapó sügér recirkulációs rendszerben történő intenzív nevelésével kapcsolatos kutatás ellenére (Kestemont et al, 1996; Baras, 2003; Kestemont et al, 2003; Kestemont et al., 2008; Watson, 2008) a faj előnevelt ivadékának biztonságos előállítása továbbra is nehézségekbe ütközik. A főbb problémák között szokták említeni az alacsony megmaradást a korai fejlődési szakaszokban, a lassú növekedést, a betegségek és az abiotikus környezeti tényezők iránti érzékenységet, valamint az állomány nagy méret- és súlybeli heterogenitását.

Az utóbbi években Európában többfelé elvégzett kutatások azt mutatják, hogy e problémák, legalábbis részben a különböző populációkból származó halak genetikai sajátosságaival lehetnek összefüggésben (Nesbø et al., 1998; Mandiki et al., 2004; Bergek and Bjorklund, 2009; Xinxin et al., 2012; Shatunovskii and Ruban, 2013). Így az északibb régiókból származó sügéreket lárvakorban gyorsabb növekedés és jobb megmaradás jellemzi (Mandiki et al., 2004; Fedorovykh, 2012). Ennek tükrében perspektivikus lehetőségnek tűnik a magyarországi helyi populációk vizsgálata olyan termelésbiológiai jellegek azonosítása céljából, amelyek jobban kihasználhatók lehetnének a sügér folyamatos és biztonságos intenzív termelésének érdekében.

A jelen kutatás célja két magyarországi populációból származó sügérlárvák főbb haltermelési mutatóinak értékelése volt recirkulációs rendszerben történő nevelésnél.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgálati anyagként egy szarvasi és egy bajai tavi eredetű csapósügér-populációt (Megafish Kft.) használtunk. A kísérletet a HAKI kísérleti recirkulációs üzemében végeztük. A kelés utáni 7. napon a lárvákat megszámoltuk és elosztottuk 12 db 20-literes vödörbe 1000 db/vödör sűrűség mellett. Így mindkét populációból hat-hat csoportunk volt. Az etetéseket 20 napon keresztül folytattuk, a lárvák 28 napos koráig. A vödrök kifolyója középen helyezkedett el, hálóval védve. A vízellátás a vödör falánál történt a víz felszínénél mélyebben, sugárban, ami gyenge körkörös áramlást biztosított, a vízcsere nem volt több 0,6 L/percnél.

Az úszóhólyag-gyulladás elkerülése érdekében sötét falú vödrökben tartottuk a halakat (Tamazouzt et al., 2000;

Strand et al., 2007). Betegségmegelőzési célból állandó 2,0-2,5 ppt sótartalmat tartottunk fenn, amit napjában kétszer ellenőriztünk és korrigáltunk a vezetőképesség alapján. A vízhőmérséklet 19,0-19,7°C között változott, az oxigéntartalom meghaladta a 95%-ot.

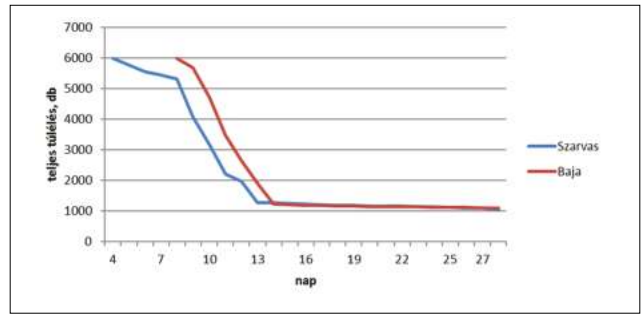
A kelés utáni harmadik naptól után kezdve minden lárvát *Artemia sp.* naupliusszal (Ocean Nutrition Micro Artemia 430) etettünk, napjában többszöri alkalommal, természetes fényviszonyok között. A továbbiakban 3 különböző etetési stratégiát alkalmaztunk, amelyek az Artemia-etetés időtartamában különböztek. A stratégiától függően a 14., 17. vagy 20. napon kezdődött a vegyes (Artemia+táp) táplálás időszaka, amely 6 napig tartott, majd ezután minden lárvát kizárólag mesterséges táppal etettünk. A takarmányozáshoz japán Otohime B1 és B2 tápot használtunk 250-360 µm és 360-650 µm szemcsenagysággal (fehérjetartalom 56,3%, zsírtartalom 15,9%). Az etetés kézzel történt, óránként a világos napszak folyamán. A tápszemcsék néhány percig a víz felszínén lebegtek. Ez, valamint az etetés gyakorisága biztosították a tápszemcsék folyamatos jelenlétét a vízoszlopban. Az etetett tápmennyiséget vizuális megfigyelés alapján korrigáltuk, úgy, hogy az kismértékben feleslegben legyen jelen.

A kísérlet végén az alábbi mutatókat határoztuk meg: testtömeg, testhossz, variációs koefficiens és a kannibalizmus mértéke, amelyet a számolt mortalitás és a kísérlet végén tapasztalt tényleges egyedszám különbözeteként határoztunk meg. Minden adatot standard statisztikai módszerekkel értékeltünk.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Növekedés és megmaradás szempontjából a két populáció lárvái hasonló eredményeket mutattak. Aktívak voltak, jól növekedtek, és a minden sügérfélére jellemző aktív predációs viselkedést mutatták. Átlagos testtömegük 28 napos korban 43,8±8,9 mg (Baja) és 45,3±7,1 mg (Szarvas), átlagos testhosszuk 16,3±1,6 mm és 16,8±1,6 mm volt.

A populációk túlélési görbéi is hasonlóak voltak (1. ábra). A 8-13. napokon tapasztalt mortalitási csúcs az aktív táplálkozásra áttérni nem képes lárvák tömeges elhullásával függ össze, ami jellemző az adott fajra. A testtömeg és a túlélés értékei összhangban vannak a Kestemont et al. (2008) és Fedorovykh (2012) által publikáltakkal.



1. ábra. A csapó sügér lárváinak túlélési görbéje
Figure 1. A survival curve of perch larvae

Ugyanakkor a populációk között bizonyos viselkedésbeli különbségek voltak megfigyelhetők. A szarvasi populáció lárvái kevésbé voltak agresszívek, nyugodtan reagáltak a mindennapi takarítási és karbantartási munkákra. Ezzel szemben a bajai lárvákat nagyobb mozgékonyság és ingerlékenység jellemezte. A viselkedésbeli különbségeket a kannibalizmus mértéke is alátámasztja. A kísérlet folyamán a szarvasi populáció esetében a kannibalizmus a teljes mortalitás 7,7%-át tette ki, míg a bajai populációnál ez az érték kétszer magasabb, 16,6% volt.

Különbözött a populációk testtömegbeli heterogenitása is, amelyet a variációs koefficiens (CV) értéke jellemzett, ugyanakkor a testhossz variációs koefficiensében nem tapasztaltunk eltérést. A kelés utáni 28. napon ez az érték szignifikánsan különbözött a két populáció között. A szarvasi lárvák állományának testtömege homogénebb volt, míg a bajaiak testhossza és testtömege jobban szórt (1. táblázat). Ez a különbség az etetési stratégiától és az *Artemia spp.* naupliuszokkal történő etetés időtartamától függetlenül fennmaradt.

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a földrajzi közelség ellenére a csapó sügér magyarországi populációi között néhány termelési mutatóban létezik mérhető változatosság. A kannibalizmus mértékének csökkentése, valamint az állomány testhossz- és testtömegbeli

1. táblázat. A két populációból származó sügérlárvák főbb termelésbiológiai mutatói
Table 1. Fish production parameters of perch larvae from two populations

Állomány eredete	Baja	Szarvas	Publikált[1]
Átlagos tömeg, mg	43,8±8,9	45,3±7,1	45-50
Átlagos hossz, mm	16,3±1,6	16,8±1,6	14-19
Variációs koefficiens (tömeg)	0,2033*	0,1563*	
Variációs koefficiens (testhossz)	0,0948	0,0987	
Túlélés, %	18,2	17,6	5-20
Kannibalizmus, %	16,6*	7,7*	

* Az eltérés szignifikáns különbözik (P≤0,05)

[1] Kestemont et al., 2008; Fedorovykh, 2012.

homogenitása fontos tényezők lehetnek a sügér sikeres és folyamatos intenzív nevelésében. Egy olyan populáció azonosítása, amely rendszeresen biztosíthat egészséges, jó növekedési képességű és a zárt neveléshez jól alkalmazkodó népesítőanyagot, kulcsa lehet a faj további sikeres magyarországi nevelésének.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS: A vizsgálatokat az FM „A gazdaságilag fontos hazai sügérfélék intenzív termelés-technológiájának fejlesztése különös tekintettel a geográfiai származásra" c. projektje keretében támogatta.

IRODALOMJEGYZÉK

Baras E. 2003: Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. Aquaculture. 227, 333-356.

Bergek S., Bjorklund M. 2009: Genetic and morphological divergence reveals local subdivision of perch (*Perca fluviatilis L.*). Biol. J. Linn. Soc. 96, 746–758.

Fedorovykh Yu. 2012: The technology of rearing of the fast-growing form of Eurasian perch under industrial conditions. PhD thesis. Krasnodar, 2012. [in Russian]

Kestemont P., Mélard C., Fiogbe E., Vlavonou R., Massou G. 1996:Nutritional and animal husbandry aspects of rearing early life stages of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Journal of Applied Ichthyology. 12, 157– 165.

Kestemont P., Jourdan S., Houbart M., Mélard C., Paspatis M., Fontaine P., Cuvier A., Kentouri M., Baras E. 2003: Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. Aquaculture. 227, 333-356.

Kestemont P., Rougeot C., Musil J. and Toner D. 2008: Larval and juvenile production.// In: C. Rougeot and D. Torner (Eds.), Farming of Eurasian Perch, Special Publication BI, 2008. - №24 - p. 30-41.

Mandiki S.N.M., Blanchara G., Mélard C., Koskela J., Kucharczyk D., Fontaine, P., Kestemont P. 2004: Effects of geographic origin on growth and food intake in Eurasian perch (*Perca fluviatilis L.*) juveniles under intensive culture conditions. Aquaculture. 229, 117-128.

Nesbø C.B., Magnhagen C., Jakobsen K.S. 1998: Genetic differentiation among stationary and anadromous perch *(Perca fluviatilis*) in Baltic Sea. Hereditas. 129, 241- 249.

Shatunovskii M. I. and Ruban G. I. 2013:Intraspecies Variation of Reproductive Strategies in Perch (*Perca fluviatilis*). Biology Bulletin. 40, №1, pp.70–77.

Strand Å, Alanärä A., Staffan F., Magnhagen C. 2007: Effects of tank colour and light intensity on feed intake, growth rate and energy expenditure of juvenile Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. Aquaculture. 272, 312-318

Tamazouzt L., Chatain B., Fontaine P. 2000: Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae (*Perca fluviatilis*). Aquaculture. 182, 85-90

Watson L. 2008: The European market for perch (*Perca fluviatilis*) //Fontaine P., Kestemont P., Telechea F, Wang N. (eds.) Percid Fish Culture, from research to production. 23-24 January 2008, Namur, Belgium. - pp.10-14

Xinxin Yang, Long Qian, Huixian Wu, Zhenming Fan, Chenghui Wang. 2012: Population differentiation, bottleneck and selection of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) at the Asian edge of its natural range. Biochemical Systematics and Ecology. 40, 6-12.

KÉT SPERMAMÉLYHŰTÉSI ELJÁRÁS ALKALMAZHATÓSÁGÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA CSAPÓSÜGÉR (*PERCA FLUVIATILIS*) FAJBAN

Bokor Zoltán[1], Bernáth Gergely[1], Kása Eszter[1], Várkonyi Levente[1]., Hegyi Árpád[1], Kollár Tímea[1], Urbányi Béla[1], Daniel Żarski[1,2], Ifj. Radóczi János[3], Horváth Ákos[1]

[1]Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter K. u. 1.

[2] Katedra Rybactwa Jeziorowego i Rzecznego, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, Polska.

[3]Szabolcsi Halászati Kft., 4400 Nyíregyháza, Csillag u. 16.

ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során 2 spermamélyhűtési eljárást hasonlítottunk össze a csapósügér fajban. Kísérleteinkben meghatároztuk a programozható fagyasztó berendezés (CRF, controlled-rate freezer) használata során legjobban alkalmazható hígítási arányt (sperma : hígító + védőanyag). A CRF-fel mélyhűtött sperma progesszív

motilitása (pMot, 72±15%) és sebessége (curvilinear velocity-VCL, 146±11 µm/s) nem csökkent szignifikánsan a fagyasztás hatására a kiindulási friss spermához viszonyítva [pMot (90±4%), VCL (173±24 µm/s)]. A polisztirol hűtőkereten mélyhűtött minták [pMot (62±15%) és VCL (120±21 µm/s)] értékei azonban már lényegesen különböztek a kontroll csoporttól. A spermium-mozgás egyenessége (straightness-STR) meglepő módon mindkét mélyhűtött csoportban [CRF (84±4%), keret (84±2%)] magasabb volt, mint a friss kontrollban (68±4%). Az 1:20-as hígítási aránnyal és CRF berendezés alkalmazásával mélyhűtött sperma esetében a pMot (49±6%) szignifikánsan magasabb volt az 1:5 aránynál (39±6%), valamint jelentősen magasabb VCL értékeket mértünk 1:20 aránynál (129±11 µm/s), mint 1:5 (115±9 µm/s) és 1:10 esetében (112±17 µm/s).

The effectiveness of two different methods in the cryopreservation of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) sperm

Zoltán Bokor[1], Gergely Bernáth[1], Eszter Kása[1], Levente Várkonyi[1], Árpád Hegyi[1], Tímea Kollár[1], Béla Urbányi[1], Daniel Żarski[1,2], János Radóczi Ifj.[3], Ákos Horváth[1]

[1]Department of Aquaculture, Szent István University, Páter Károly u. 1., H-2100 Gödöllő, Hungary
[2] Department of Lake and River Fisheries, University of Warmia and Mazury, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, Poland
[3]Szabolcsi Halászati Kft., Csillag u. 16., H-4400 Nyíregyháza, Hungary

SUMMARY

Two different cryopreservation methods were compared and an optimal dilution ratio for the use of controlled-rate freezer (CRF) was established for Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) sperm. Progressive motility (72±15%) and curvilinear velocity (146±11 µm/s) of sperm cryopreserved with CRF did not (reduce)decrease significantly compared to fresh sperm [progressive motility (90±4%), VCL (173±24 µm/s)]. On the other hand, progressive motility (62±15%) and VCL (120±21 µm/s) of sperm cryopreserved with the conventional floating frame technique were significantly lower when compared to the fresh control. Sperm in both cryopreserved groups showed significantly higher straightness [CRF (84±4%), frame (84±2%)] than in the fresh control group (68±4%). Perch sperm cryopreserved with CRF at a dilution ratio of 1:20 showed significantly higher progressive motility (49±6%) than at a ratio of 1:5 (39±6%) and showed significantly higher VCL (129±11 µm/s) than at dilution ratios of 1:10 (112±17 µm/s) and 1:5 (115±9 µm/s).

BEVEZETÉS

A spermamélyhűtés mint kisegítő reprodukciós eljárás nagyban elősegítheti a haltermelést, valamint a veszélyeztett fajok védelmét, genetikai állományának megőrzését. Számos rendszertani csoportban már kidolgozásra kerültek laboratóriumokban, kísérleti körülmények között jól működő módszerek (Cabrita et al., 2010). Ezen eljárások azonban nagyban függnek az adott hely laborkörülményeitől, sok esetben nem megismételhető eredményt adnak (vagy nagy a variancia az eredményekben), valamint korlátozott a módszer kapacitása (pl. 5-10 műszalma mélyhűtése egyszerre) (Hu et. al., 2013). A kereskedelmi forgalomban már évtizedek óta fellelhetők különböző programozható fagyasztó berendezések [Cryomed™ (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), IceCube (Sy-Lab, Neupurkersdorf, Austria), Asymptote EF600 (Asymptote Ltd., St John's Innovation Centre, Cambridge, UK) stb.]. A programozható mélyhűtők előnye, hogy a fagyasztás során a minták felolvasztás utáni minőségét befolyásoló tényezők (hűtési sebesség, hűtési közeg a műszalmák vagy kriocsövek körül stb.) kontrolláltak és változatlanok a teljes folyamat alatt. A programozható fagyasztók segítségével fajspecifikus módszerek dolgozhatók ki változó hűtéstolerancia, különböző hígítók, védőanyagok és hígítási arányoktól függően (Butler & Pegg, 2012). A berendezés továbbá lehetővé teszi nagy mennyiségű minta mélyhűtését egységes felolvasztás utáni minőség mellett (Babiak et al., 1999).

A csapósügér egy új, széles körben termelt halfaj az európai akvakultúrában. Az átlagos évenkénti termelés 2011 és 2012 között 204-ről 435 tonnára emelkedett (FAO, 2014). A faj szaporodásbiológiájáról és keltetőházi szaporításáról azonban ismereteink még hiányosak (Bernáth et al., 2013). A spermamélyhűtés segítségével csökkenthetjük a termelés költségeit és kiküszöbölhetjük az asszinkron sperma-, valamint ikratermelésből gyakran adódó nehézségeket (Cabrita et al., 2010). Az irodalomban fellelhető ismeretek a sügérsperma mélyhűtéséről meglehetősen korlátozottak (Rodina et al., 2008, Dzyuba et al., 2010, Bernáth et al., 2013).

Kutatásunk fő célja az volt, hogy az általunk korábban kidolgozott eljárást átültessük egy sztenderd fagyasztó berendezésre, növelve a mélyhűtés ismételhetőségét, hatékonyságát, kapacitását (gyakorlati alkalmazás megalapozása). Kerestük továbbá a programozható mélyhűtővel leghatékonyabban működő hígítási arányt.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Halak tartása és mintavétel

Kísérleteink elvégzéséhez a Szent István Egyetem Halgazdálkodási Tanszékén egy sügér tejesekből álló vadon befogott állományt tartottunk fenn. Az egye-

dek spermációját 250 NE/ttkg hCG (human chorionic gonadotropin, Ferring, Saint Prex, Switzerland) készítmény felhasználásával indukáltuk. A halakat 24 órával az oltás után fejtük le. A tejesek altatásához 2-fenoxietanolt (99,5%) alkalmaztunk (4 mL/10 L víz). A mintákat felhasználásig 4 °C-on tároltuk.

SPERMA MINŐSÉG-ELLENŐRZÉSE

A spermiumok mozgását leíró paramétereket [progresszív motilitás (pMOT), sebesség (curvilinear velocity-VCL), mozgás egyenessége (straightness-STR), WHO, 2010] számítógépes spermavizsgáló rendszer (CASA, Computer-assisted Sperm Analysis, Sperm VisionTM v. 3.7.4., Minitube of America, Venture Court Verona, USA) alkalmazásával rögzítettük. A sejtmozgást módosított Lahnsteiner-féle aktiváló oldat (75 mM NaCl, 2 mM KCl, 1 mM $MgSO_4 \times 7\ H_2O$, 1 mM $CaCl_2 \times 2\ H_2O$, 20 mM Tris, pH 8, Lahnsteiner 2011) és 0,01 g/mL BSA (Bovine Serum Albumin, Szarvasmarha Szérum Albumin) segítségével indukáltuk (Bernáth et al., 2013). A motilitást mélyhűtés előtt és után egyaránt megmértük.

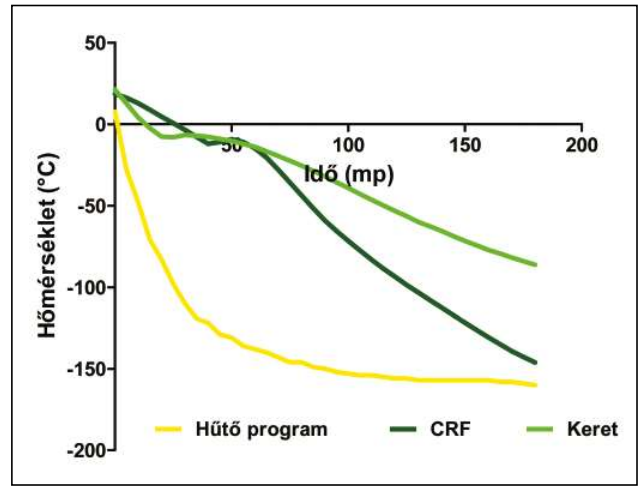
MÉLYHŰTÉS ÉS FELOLVASZTÁS

A sperma mélyhűtése során módosított Tanaka hígítót és 10% metanolt (védőanyag) alkalmaztunk (137 mM NaCl, 76,2 mM $NaHCO_3$, Szabó et al., 2005). A kihígított mintákat minden esetben 0,5 mL-es műszalmákba töltöttük (Minitube GmbH, Tiefenbach, Germany). A mintaelemszám, hígítási arány és a mélyhűtés módszer a kísérleti beállítástól függően változó volt (Bernáth et al., 2013). A lefagyasztott mintákat 10 L-es hordozható nitrogénes kannákban tároltuk. A mintákat vízfürdőben (Thermo Haake P5, Thermo Electron Corp, Waltham, Massachusetts, USA) 40 °C-on, 13 másodperc alatt olvasztottuk fel.

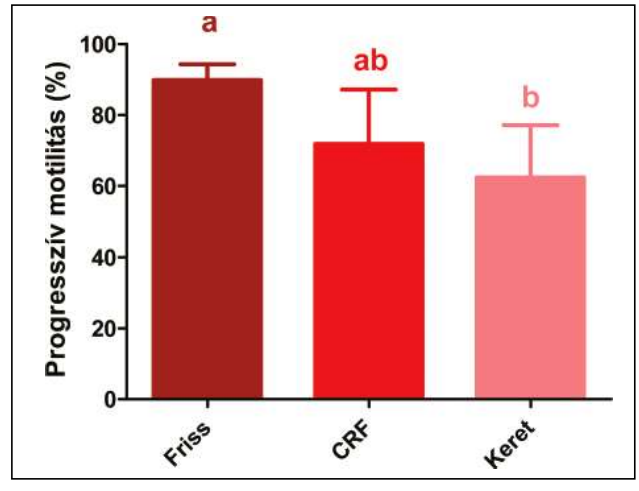
KÍSÉRLETI BEÁLLÍTÁSOK

1. Kísérlet: A vizsgálat során 5 egyedi mintát mélyhűtöttünk le 2 módszer alkalmazásával. A hűtőkeretes módszerben a mintákat egy úszó polisztirol kereten fagyasztottuk le 3 cm-rel a nitrogén felszíne felett 3 perc alatt. A másik módszer használata során digitális hőmérő (Digi-Sense DualLogR®, Eutech Instruments Pte Ltd, Singapore) segítségével megmértük a hőmérsékletváltozást a fentebb említett keretes rendszerben, mely később a fagyasztó berendezés (CRF, controlled-rate freezer) hűtési programjának alapjául szolgált (hűtés kezdete: 7,5 °C hűtés befejezése: -160 °C, hűtési sebesség: 56 °C/perc) (1. ábra.). Ellenőriztük mindkét rendszerben a minták hűtési görbéjét digitális hőszenzor felhasználásával.

2. Kísérlet: Négy egyed kevert mintáját 10-10 ismétlésben hűtöttük le. A fagyasztást CRF berendezéssel 1:5, 1:10 és 1:20-as hígítási arányokban végeztük el.



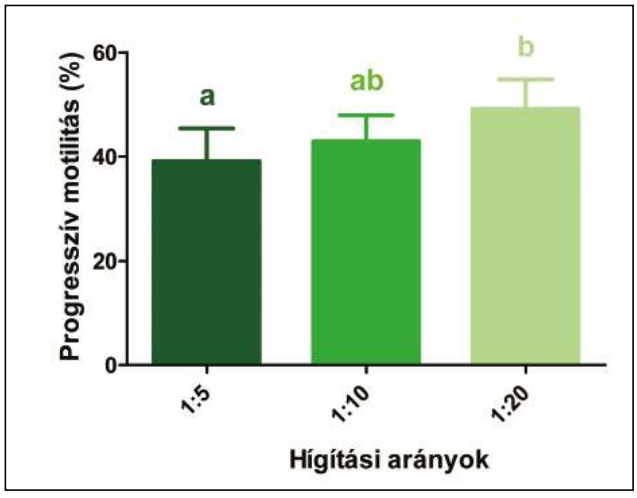
1. ábra. A fagyasztó berendezés hűtőprogramjának, a fagyasztó berendezéssel mélyhűtött sperma, valamint a polisztirol kereten mélyhűtött sperma hűtési görbéje.
Freezing curves of the cooling program, the sperm sample (freezd) freezed with CRF and freezed (with) on (polistirol) polystyrene frame.



2. ábra: Programozható fagyasztó készülékkel (CRF) és hagyományos polisztirol hűtőkereten (Keret) mélyhűtött sügérsperma-minták motilitás értékei (*N*=5).
Az ábrán átlag értékek és a hozzájuk tartozó szórások láthatóak.
A különböző betűk szignifikáns különbséget jelölnek (*P*≤0.05).
Progressive motility of fresh sperm, cryopreserved sperm using CRF and polystyrene frame (*N*=5). The graph represent mean and SD (standard deviation) values.
Different letters indicate significant difference between groups (*P*≤0.05).

ADATOK ELEMZÉSE

A mért adatokat SPSS 14.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) és GraphPad Prism 5.0 for Windows (GraphPad Software, La Jolla, California, USA) statisztikai programokkal elemeztük ki. Az adatsorok normál eloszlását Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük. A csoportokat egyszempontos variancia-analízissel és Tukey post hoc teszttel hasonlítottuk össze $P \leq 0{,}05$ szignifikancia szinten.



3. ábra: Különböző hígítási aránnyal mélyhűtött sügér-sperma-minták felolvasztás utáni motilitás értékei (*N*=10). Az ábrán átlag értékek és a hozzájuk tartozó szórások láthatóak.
A különböző betűk szignifikáns különbséget jelölnek (*P*≤0.05).
Progressive motility of cryopreserved sperm using different dilution ratios (*N*=10).
The graph represent mean and SD (standard deviation) values.
Different letters indicate significant difference between groups (*P*≤0.05).

EREDMÉNYEK

Az első kísérletben hasonló hűtési görbéket rögzítettünk mindkét mélyhűtési módszer esetében (1. ábra). A CRF-fel mélyhűtött sperma progesszív motilitása (pMot, 72±15%) és VCL értéke (146±11 µm/s) nem csökkent szignifikánsan a fagyasztás hatására a friss spermához viszonyítva [pMot (90±4%), VCL (173±24 µm/s)]. A polisztirol hűtőkereten mélyhűtött minták [pMot (62±15%), VCL (120±21 µm/s)] értékei azonban már szignifikánsan különböztek a kontroll csoporttól. Az STR érték meglepő módon mindkét mélyhűtött csoportban [CRF (84±4%), keret (84±2%)] magasabb volt, mint a friss kontrollban (68±4%) (2.ábra). Egy CRF-fel fagyasztott minta esetében kiugróan magas, 90%-os progresszív motilitást rögzítettünk. A második kísérletben az 1:20-as hígítási aránnyal és CRF berendezés alkalmazásával mélyhűtött sperma esetében a pMot (49±6%) szignifikánsan magasabb volt 1:5-nél (39±6%), mint a másik két vizsgált hígítási aránynál. Ezenkívül jelentősen magasabb VCL értékeket mértünk 1:20 arányú hígításnál (129±11 µm/s), mint 1:5 (115±9 µm/s) és 1:10 esetében (112±17 µm/s) (3.ábra).

EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

A sügér (*Perca fluviatilis*) spermáját eredményesen mélyhűtöttük a CRF és a hűtőkeret segítségével egyaránt. Az átlagos pMot mindkét esetben 50% felett volt. Hasonló eredményt kaptunk korábbi vizsgálatunkban, ahol a hűtőkeretes módszer kidolgozásakor a pMot (58±24%) közel 60% volt (Bernáth et al., 2013). A gyors hűtési program kiugróan eredményes volt a CRF esetében (hűtés kezdete: 7,5 °C, hűtés befejezése: -160 °C, hűtési sebesség: 56 °C/perc). Frankel et al. (2013) hasonlóan magas feolvasztás utáni pMOT-ot és életképességet mértek 40 °C/perc hűtési sebesség mellett a csíkos sügér (*Morone saxatilis*) fajban. A CRF alkalmazása során a pMOT értékek nem különböztek szignifikánsan a kontroll csoporttól. Hu et al. (2014) kutatásukban szintén azt tapasztalták, hogy a CRF-fel mélyhűtött csatorna harcsa (*Ictalurus punctatus*) spermájának termékenyítő képessége nem különbözött a kontrolltól, amikor kék harcsa (*Ictalurus furcatus*) ikrával hibrid harcsát állítottak elő. A legmagasabb motilitást az 1:20-as hígítási arány mellett tapasztaltuk, mely megegyezik a korábbi vizsgálataink eredményével. Az 1:10 és 1:20-as pMot között nem volt jelentős különbség, így a termékenyítésre szánt mintákat ajánlatos 1:10-es hígítási arányban mélyhűteni a magasabb sejtkoncentráció elérése érdekében (Bernáth et al., 2013).

Kutatásunk során a csapósügér fajban lefektettük egy, a gyakorlatban is jól alkalmazható spermamélyhűtési módszer alapjait.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS:

A munka az EUREKA_HU_12-1-2012-0056 (PERCAHATCH), Kutató Kari Kiválósági Támogatás - Research Centre of Excellence-9878/2015/FEKUT, COST Action FA1205 AQUAGAMETE, GOP-1.1.1-11.2012-0306 pályázatok támogatásával és a Szabolcsi Halászati Kft. valamint Deli Zsolt segítségével valósult meg.

IRODALOMJEGYZÉK

Babiak I., Fraser L., Dobosz S., Goryczko K., Kuzminski H., Strzezek J. 1999:Computer–controlled freezing of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) spermatozoa for routine programmes. Aquaculture research. 30 (9), 707-710.

Bernáth G., Żarski D., Krejszeff S., Palińska-Żarska K., Kollár T., Bokor Z., Kucharczyk D., Urbányi B., Horváth Á., Systematic optimization of conditions for the cryopreservation of Eurasian perch (*Perca Fluviatilis*) sperm, 4thInternational Workshop on the Biology of Fish Gametes, Albufeira, Portugal, September 17-20, 2013, p. 128-129.

Butler S., Pegg D., Precision in cryopreservation-Equipment and Control, in: I. Katkov (ed), Current Frontiers in Cryobiology, InTech, Rijeka, Croatia, 2012, pp. 505-547.

Cabrita E., Sarasquete C., Martínez-Páramo S., Robles V., Beirão J., Pérez–Cerezales S., Herráez M.P. 2010: Cryopreservation of fish sperm: applications and perspectives. Journal of Applied Ichthyology.26, 623–635.

Computer-aided Sperm Analysis, In: WHO laboratory

manual for the Examination and processing of human semen, World Health Organization 2010.

Dzyuba B., Boryshpolets S., Rodina M., Gela D., Linhart O. 2010: Spontaneous activation of spermatozoa motility by routine freeze-thawing in different fish species, Journal of Applied Ichthyology. 26, 720–725.

Frankel T.E., Theisen D.D., Guthrie H.D., Welch G.R., Woods L.C. III, 2013: The effect of freezing rate on the quality of striped bass sperm. Theriogenology.79, 940–945.

Hu E., Liao T.W., Tiersch T.R.2013: A quality assurance initiative for commercial-scale production in high-throughput cryopreservation of blue catfish sperm. Cryobiology.67, 214–224.

Hu E., Bosworth B., Baxter J., Tiersch T.R..2014: On-site evaluation of commercial-scale hybrid catfish production using cryopreserved blue catfish sperm. Aquaculture.426–427, 88–95.

Lahnsteiner F.2011: Spermatozoa of the teleost fish *Perca fluviatilis* (perch) have the ability to swim for more than two hours in saline solutions.Aquaculture.314, 221–224.

Rodina M., Policar T., Linhart O., Rougeot C.2008: Sperm motility and fertilizing ability of frozen spermatozoa of males (XY) and neomales (XX) of perch (*Perca fluviatilis*). Journal of Applied Ichthyology.24, 438–442.

Szabó G., Müller T., Bercsényi M., Urbányi B., Kucska B., Horváth Á.2005: Cryopreservation of European eel (*Anguilla anguilla*) sperm using different extenders and cryoprotectants. Acta Biologica Hungarica.56, 173–175.

A „SZÁRAZ" IKRASZÁLLÍTÁS MÓDSZERÉNEK TOVÁBBFEJLESZTÉSE A PONTY (*CYPRINUS CARPIO* L.) MEGTERMÉKENYÍTETT IKRÁJÁNAK HOSSZÚ IDŐTARTAMÚ SZÁLLÍTÁSÁRA

Kovács Gyula, Szelei Zoltán, Fazekas Gyöngyvér, Ardó László, Wéber Csaba, Nagy Gábor[1] és Jeney Zsigmond

NAIK-HAKI, Szarvas, Aranyponty ZRt, Rétimajor[1]

Kulcsszavak: ponty megtermékenyített ikra, hosszú időtartamú szállítás
Keywords: common carp fertilized eggs, long term transport

ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgáltuk a ponty (*Cyprinus carpio* L.) megtermékenyített ikrájának hosszú időtartamú szállítását. A 24 órás embrionális fejlődési állapotban lévő ikrákat 24, 36, 42 és 48 órás szállításnak tettük ki, majd az inkubáció folytatásával vizsgáltuk a kikelő lárvák mennyiségét.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a megtermékenyített pontyikra szállításának ún. „száraz" módszere nagy biztonsággal alkalmazható 36 órás időtartamig. A szállítás időtartama 42 és 48 óráig is növelhető, azonban ezen esetekben a kikelt lárvák száma alacsonyabb. Szükség esetén gazdaságossági számításokkal eldönthető ezek célszerűsége.

Improvement of the „dry" method of transportation for long-term transport of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fertilized eggs

Gyula Kovács, Zoltán Szelei, Gyöngyvér Fazekas, László Ardó, Csaba Wéber, Gábor Nagy [1] and Zsigmond Jeney
NARIC-HAKI, Szarvas, Aranyponty ZRt, Rétimajor[1]

SUMMARY

Long term transport of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fertilized eggs was studied. Developing eggs at the age of 24 hours were transported for 24, 36, 42 and 48 hours, upon which they were returned to Zuger jars for completing the incubation. Number of hatching larvae was counted. Based on our results it can be stated that the „dry" method of transportation of common carp fertilized eggs can be applied securely for 36 hours period. The period of transportation can be increased up to 42 and 48 hours, however the number of hatching larvae will be lower. Feasibility of these conditions can be decided by economic considerations.

BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az Aranyponty Halászati Zrt. 2013-tól 3 sikeres ikraszállítást hajtott végre Oroszországba és Dél-Kelet Ázsiába. A nagy távolságok miatt a szállítás légi úton történt. A 24 órát elérő és meghaladó szállítási időtartam

miatt és a magas szállítási költségek okán kidolgoztak egy költséghatékony, tömegcsökkentett szállítási módszert. Ennek lényege az volt, hogy a 24 órás fejlődő ikrát 17°C-ra lehűtve víz nélkül, nedves körülmények közé csomagolták műanyag dobozokba és meghatározott módon hungarocell dobozban szállították. A 24 órás szállítás két esetben is sikeres volt, a 28 órás szállítás 70 %-os lárvakinyerést eredményezett (Nagy G., 2015, nem publikált adat).

Több halfaj (ponty, amur, süllő, csuka) esetében a poszt-embrionális fejlődés utáni különböző korosztályú halak szállításának feltételeivel, speciális technikai megoldásaival már számos szakirodalom foglalkozott és az eljárást a gyakorlatban is rutinszerűen alkalmazzák (Berka, 1986).

Az élő hal szállítása speciális eszközöket és feltételeket kíván: szállításra alkalmas műanyag zsák, tartály, megfelelő térfogatú víz, megfelelő oldottoxigén-tartalom. Kulcsfontosságú szerepe van a szállítóközegként használt víz minőségének, kiemelten: hőmérséklet, oldott oxigén, széndioxid-és ammónia-koncentráció, pH (Colt, 2013, Berka 1986).

Hosszabb időtartamú szállítás esetén előnyösebb és kevesebb kockázattal jár a megtermékenyített ikrát szállítani, szemben a táplálkozó lárvával vagy növendékkel. Mind technológiai, mind gazdaságossági okok miatt több halfajnál (lazac, csuka, süllő, kecsege) általánosan elfogadott az ikra szállítása (Coche, 1987). A pisztrángfélék és süllő ikrájának szállítási módszere már múlt század 80-as éveiben is bevált gyakorlat volt.

Pontyikra szállításával kapcsolatos kísérletet magyar kutatók irodalmi adatok alapján, először az 1960-as években végeztek, azonban nagy gondot jelentett a *Saprolegnia* fertőzés, amely veszélyeztette a szállítás sikerességét.

Az 1980-as években Woynarovich egy olyan eljárást írt le, amellyel már lehetővé vált a hosszabb idejű (6-8 órás) szállítás. A következő irányelveket határozta meg a szállítás körülményeire vonatkozóan:

- A pontyikrák csak akkor szállíthatóak sikeresen, ha a szállítás az embrionális fejlődés előrehaladtával kezdődik, amikor elérte minimum a szedercsíra állapotot;
- az inkubációs hőmérséklet az embrionális fejlődés idejét jelentősen befolyásolja, így ezt figyelembe kell venni a szállítás kezdő időpontjának meghatározásakor. Minél magasabb az inkubációs hőmérséklet, annál gyorsabban zajlik le az embrionális fejlődés is;
- Fontos az ikrahéj nedvesen tartása, hogy az ikrák a megfelelő mennyiségű oxigént fel tudják venni;
- Az ikrákat kezelni kell a *Saprolegnia* fertőzés megelőzése érdekében (Woynarovich, 1984).

A pontyikra párás térben történő keltetésére László és mtsai. 1991-ben dolgoztak ki eljárást.

A szállítandó ikra mennyiségére, a kelési százalékokra, valamint hosszabb szállítási időtartamra vonatkozóan nem álltak rendelkezésre publikált adatok. Ezt alapul véve, kísérletünk célja az volt, hogy az ún. „száraz ikra" szállítás módszerét pontosítsuk, különös tekintettel a szállítási időtartam hosszára.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérletet a NAIK Halászati Kutatóintézetben végeztük, mesterséges szaporításból származó megtermékenyített ponty ikrákkal. A megtermékenyített ikra ragadósságának elvételére az ún. Woynarovich-módszert alkalmaztuk. A megtermékenyített pontyikrákat 24 órán keresztül Zuger-üvegekben 22 °C-os vízben keltettük, ezt követően előkészítettük őket a szállításra.

A megtermékenyített pontyikrák szállításának modellezését hungarocell dobozban (33x23x32 cm) végeztük, ahol jégakkukat, hungarocell lapokat (1 cm vastag) és az ikrát tartalmazó műanyag dobozokat rétegeztünk egymásra (1. ábra). A hungarocell dobozba alulról fölfelé a következő sorrendben helyeztük el a rétegeket: 2 jégakku (-20 °C-on lefagyasztva) +3 db hungarocell lemez + 3 db műanyag doboz a megtermékenyített ikrával + 3 db hungarocell lemez + 2 db jégakku+ 3 db hungarocell lemez + 3 db műanyag doboz a megtermékenyített ikrával + 3 db hungarocell lemez + 2 db jégakku.

Száz gramm „száraz ikrát" termékenyítettünk meg. A megtermékenyített és ragadósságtól mentesített ikra 333 g-ra duzzadt. Ennek az 1/3-át sztenderd körülmények között keltettük Zuger edényben, kontrollként. A „maradék" 2/3-ad mennyiséget pedig a 4 különböző szállítási idő tesztelésére 4 dobozba osztottuk el a következő mennyiségekben: 1. doboz 76,4 g, 48 óra; 2. doboz 71,4 g, 42 óra; 3. doboz 76,8 g, 36 óra; 4. doboz 55,2 g, 24 óra.

Az ikraszállítás modellezéséhez a csomagolást a következőképpen végeztük: a megtermékenyítéstől eltelt 24 óra múlva az ikraszemeket óvatosan áthelyeztük a Zuger-üvegből kisméretű műanyag dobozokba (15x8x15 cm), amelynek az alján nedves szivacsréteget helyeztünk el (a fölösleges vizet eltávolítottuk),

1. ábra: A szállító doboz és tartozékai csomagolás előtt. (Fotó: Ardó László)
Figure 1. The transportation box and its accessories before packaging

2. ábra: A megtermékenyített pontyikraszemek átrakása a műanyag dobozokba, majd azok elrendezése a hungarocell szállító dobozban. (Fotó: Ardó László)
Figure 2. Transferring fertilized common carp eggs into plastic boxes, and placing the boxes intothe polystyrene transportation box

erre rétegeztük műanyagkanál segítségével 1-2 cm vastagságban az ikraszemeket. Az ikra tömegének megmérése után a műanyag dobozokat lezártuk, és a fentebb leírt sorrendben a hungarocell dobozba pakoltuk (1. és 2. ábra).

Csomagolás után, a szállítást modellezendő, a hungarocell dobozt 15 °C-os hűtött helyiségben helyeztük el.

A megtermékenyített ikraszemeket tartalmazó dobozokat 24, 36, 42, és 48 óra múlva bontottuk fel. A hungarocell dobozban a hőmérséklet az összes időpontban 17 °C volt. Az említett időpontokban a dobozok kibontása után egy 15 perces hőmérséklet-kiegyenlítést követően az ikrákat külön Zuger-üvegekbe helyeztük vissza, ahol folytatódott az embriók inkubációja 22°C-on. A kísérleti csoportokat az utolsó csoport (48 óra szállítás) kikelése után még 24 óráig figyeltük meg, amikor is megszámoltuk a kikelt lárvákat.

Az embrionális fejlődés alatt, kelés előtt és után mintát vettünk további vizsgálatokhoz: mikroszkópos vizsgálat, kelési százalék megállapítása és lárva deformitás megfigyelése. Az embrionális fejlődés ideje alatt naponta háromszor (reggel, délben és este) lefényképeztük az ikrákat és/vagy a lárvákat.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

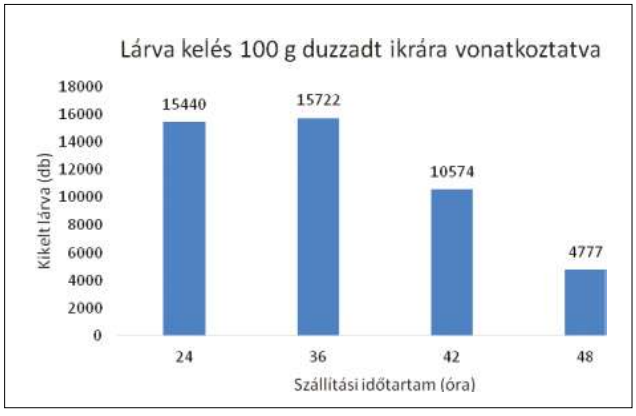
Az eredmények kiértékelésénél a kezeléseknél (szállítási idő: 24, 36, 42 és 48 óra) használt duzzadt ikra tömegét hasonlítottuk össze a kelés után számolt kikelt lárvák számával. Mivel kezelésenként nem azonos tömegű termékenyített ikrával dolgoztunk, így az összehasonlíthatóság érdekében az eredményeket átszámoltuk 100 g duzzadt ikrára, és azt hasonlítottuk össze.

Az eredmények azt mutatják, hogy a 24 és 36 óráig szállított ikrából kikelt lárvák mennyiségében nincs számottevő különbség (15440 és 15722 db lárva). A 42 és 48 óráig szállított ikrából kikelt lárva mennyisége kevesebb volt: a 42 óráig szállított ikra esetében (10574 db lárva) 32 %-kal, míg a 48 órás szállításnál (4777 db lárva) 70 %-kal kevesebb,

1. táblázat: A szállítási időtartamokhoz tartozó mért (táblázat bal oldala) és becsült adatok (táblázat jobb oldala) és a belőlük számolt kelési eredmények.
Table 1: Measured (left side of table) and appraised (right side of table) data belonging to transportation periods and hatching results calculated from them.

Szállítási idő (óra)	Duzzadt ikra tömege (g)	Kikelt lárvák száma (db)	Kikelt lárva 100 g duzzadt ikrára vetítve (db)	Ikraszemek száma (db)*	Kelési százalék (%)*
24	55,2	8523	15440	12432	68,55
36	76,8	12075	15722	17297	69,81
42	71,4	7550	10574	16081	46,95
48	76,4	3650	4777	17207	21,21

* Becsült értékek Horváth és mtsai. 1984, illetve előzetes méréseink alapján.



3. ábra A szállítási teszt kelési eredményei 100g duzzadt ikrára vonatkoztatva
Figure 3. Hatching results of the transportation test, related to 100g of swollen eggs

mint a 24 és 36 órás csoportoknál (1. táblázat, 3. ábra).Az ikraszemre történő átszámítás hasonló arányokat mutat.

A különböző ideig szállított ikrák keléséhez szükséges időtartamot is összehasonlítottuk.Ezt a megtermékenyítéstől számoltuk, amely azonos időpontban történt. Mivel a szállítás hűtött közegben történt (kb. 17 °C-on), így a szállítási idő alatt az embriók fejlődése lelassult, ezt a kelések elhúzódó ideje is alátámasztja. Tapasztalati adatok szerint 22-24°C-os vízhőmérsékletnél Zuger-üvegben a termékenyítéstől a kelésig kb. 72 óra szükséges (Horváth, 2000). Kísérletünkben a 22°C-os vízben, végig Zuger-üvegben fejlődő kontroll csoport „normális" ütemben fejlődött. A különböző ideig szállított csoportoknál a kelési idő megközelítőleg időarányosan eltolódott.

A lelassult embriófejlődést a mikroszkópos vizsgálatok is alátámasztották (4. ábra).

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a megtermékenyített pontyikra szállításának ún. „száraz" módszere nagy biztonsággal alkalmazható 36 órás időtartamig. A szállítás időtartama 42 és 48 óráig is növelhető, azonban ezen esetekben a kikelt lárvák száma alacsonyabb. Szükség esetén gazdaságossági számításokkal eldönthető ezek célszerűsége.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetet mondanak Lévai Ferencnek az Aranyponty ZRt elnök-vezérigazgatójának, mint ötletgazdának, továbbá az előkíséreltek lefolytatásáért és a technológiai segítségnyújtásért. Köszönjük Benkő Lászlónénak, Bogár Katának, Demeter Editnek és Péteri Andrásnak a kísérletek végrehajtásában nyújtott segítséget.

Vizsgálataink elvégzéséhez hozzájárult az Európai Bizottság által finanszírozott AQUAREDPOT projekt is (FP7-316266).

IRODALOMJEGYZÉK

Berka, R. (1986): The transport of live fish. A review. EIFAC Tech. Pap., (48):1-7 p.

Colt, J., Kroeger, E., (2013):Impact of aeration and alkalinity on the water quality and product quality of transported tilapia - A simulation study. Aquacultural Engineering, Vol.55:46-58.

Horváth, L., Tamás, G., (1984): Propagation and intensive larval rearing of Common Carp and asian herbivorous fishes and tench In: Halver J.E. (szerk.) Special Methods in Pond Fish Husbandry. Akadémiai Kiadó, Budapest. 148 p.

Horváth, L. (2000): Halbiológia és haltenyésztés. 440 p.

László L.-Bercsényi M.-Nagy A. (1991): Method and apparatus for breeding roes or eggs of aquatic animals. Date of Patent: Sep/10, 1991. US Patent No: 5,046,452

Nagy G. (2015): nem publikált adat

Swann, L., (2007): Transportation of Fish in Bags. Illinois-Indiana Sea Grant Program

Varga, I., (1987): Transport of live fish, In: Coche, A., Edwards, D., (szerk.) Selected aspects of warmwater fish culture.

Woynarovich, E., (1980) Transport of the Common Carp eggs, In: Technical assistance for inland fish culture and fishery improvement. Inland Fisheries and Aquaculture development project UNDP-FAO-MAG/76/002

4. ábra: A kontroll és kísérleti csoportok fejlődése. A megtermékenyítés után 78 órával, egy időben készült mikroszkópos felvételeken (16x-os nagyítás) látható az embrionális fejlődés lelassulása az emelkedő időtartamú szállítás alatti alacsonyabb hőmérséklet következtében (Fotó: Ardó László).
Figure 4: Development of the control and treated groups. Pictures were taken 78 hours after fertilization (with a magnification of 16x). It is visible that the embryonic development has slowed down because of the lower temperature during longer-term transportation

Vol. 1/2. (2015) pp. 28-31.

EGY ÚJ FAJ SZERBIA HALFAUNÁJÁBAN: A KAUKÁZUSI TÖRPEGÉB – *KNIPOWITSCHIA CAUCASICA* (BERG, 1916)

Harka Ákos[1], Szepesi Zsolt[1], Aleksandar Bajić[2], Sipos Sándor[2]

[1]Magyar Haltani Társaság, Tiszafüred
[2]University of Novi Sad, Serbia

Kulcsszavak: invazív halfaj, terjeszkedés, azonosítás, Tisza

Keywords: invasive fish species, spreading, identification, Tisa

ÖSSZEFOGLALÁS

A kaukázusi törpegéb (*Knipowitschia caucasica*) eredetileg a tengerek partközeli vizeiben és a betorkolló folyók alsó szakaszain él. Ezt a fajt a Kárpát-medencében először Magyarországon mutatták ki 2009-ben a Szamosban, majd 2012-ben tömegesen elszaporodott a Tisza középső szakaszán lévő Tisza-tó víztározóban. Innen gyorsan terjedt lefelé, 2015 elején már a Tisza alsó szakaszán, a szerb-magyar határnál is előkerült. Szerbiában 2015 márciusában Zentánál és Magyarkanizsánál gyűjtöttük az első példányokat. A Tisza vajdasági szakaszán folytatott gyűjtéseink eredményeként megállapítható, hogy egy új invazív gébfaj honosodott meg Szerbiában, amelynek további terjedése várható.

A NEW SPECIES IN FISH FAUNA OF SERBIA: THE CAUCASIAN DWARF GOBY – *KNIPOWITSCHIA CAUCASICA* (BERG, 1916)

Á. Harka, Zs. Szepesi, A. Bajić, S. Sipos

SUMMARY

The original distribution of Caucasian dwarf goby (*Knipowitschia caucasica*) is the marine and brackish water habitat types of coastal areas, but also common in the lower, estuarine reaches of rivers. The first record of the species in the Carpathian Basin was in the Hungarian section of the River Szamos in 2009. The Caucasian dwarf goby had become a species of mass occurrence in the Lake Tisza reservoir located at the middle section of the River Tisza in 2012. The fast downward spread had been detected, so it was occurred from the the lower section of the River Tisza at the Serbian border. We collected the first specimens in the Serbian river sections at Senta and Kanjiža in March 2015. As a result of our collection at the Vojvodinan reach of the River Tisza can be stated that a new invasive goby species had naturalized in Serbia and its further spreading can be expected.

BEVEZETÉS

Halfaunisztikai szempontból az utóbbi évtizedek egyik jellemző folyamata a ponto-kaszpikus gébek európai terjeszkedése (Harka & Bíró 2007). E fajok többsége a Duna alsóbb szakaszáról felhatolva jutott Szerbia területére. A folyami géb (*Neogobius fluviatilis*) az 1960-as évek elején a Dunában még csupán a Porečka folyó torkolatától lefelé, Szerbia keleti részén fordult elő, míg a Kessler-géb (*Ponticola kessleri*) a Dunában a Tisza torkolatáig hatolt fel (Ristić, 1977). A folyami gébet a Tisza-torkolat fölötti Dunából 1986-ban mutatták ki, de ekkor még csak az Újvidék (Novi Sad) szomszédságában fekvő Begécs (Begeč) határában (Janković et al. 1987). A magyar határtól pár kilométerre eső Bezdánnál (Bezdan) csupán 1996-ban észlelték (Simonović et al. 2001). A Tisza szerbiai szakaszán 1994-ben azonosították (Guelmino 1994). Még két gébfaj jelenlétét igazolták Szerbia vizeiben a kilencvenes években. A csupasztorkú géb (*Babka gymnotrachelus*) 1991-ben (Hegediš et al. 1991), a Duna-deltában élő *N. melanostomus* 1997-ben került elő Szerbia területén, amikor Prahovo település fölött észlelték (Simonović et al. 1998). Mára ezek a gébfélék elterjedtek Szerbia folyóvizeiben és jelen vannak a Dunában, Tiszában, Szávában és a Velika Moravában is (Lenhardt et al. 2010).

Jelen dolgozatunk – a kaukázusi törpegéb (*Knipowitschia caucasica*) megjelenése kapcsán – egy olyan terjedési folyamatról számol be, melynek során az új faj nem a Duna alsóbb, hanem a Tisza felsőbb szakaszáról érkezett Szerbia területére.

A SZERBIAI MEGJELENÉS ELŐZMÉNYEI

Miller és munkatársai (2004) szerint a kaukázusi törpegéb a Kaszpi-, a Fekete-, az Azovi- és az Égei-tenger, továbbá a Görögországot övező tengerek partközeli sós és félsós vizeiben, illetve az oda torkolló folyók alsó sza-

kaszainak édesvizében él. Utóbb leírták az Adriai-tenger keleti partvidékéről is (Kovačić & Pallaoro 2003), ahonnan korábban csak az adriai törpegéb (*Knipowitschia panizzae*) volt ismert.

Az utóbbi két faj nagyon hasonló, és a faji azonosításuk problémás lehet, mivel a *K. caucasica* és a *K. panizzae* között még ma is fontos megkülönböztető bélyegként tartják számon az egyik feji érzékcsatorna, a hátsó szemöldökcsatorna (*canalis oculoscapularis posterior*) meglétét vagy hiányát. Pedig a kaukázusi törpegébnek ismertek olyan populációi, amelyeknél a két végén nyitott csőszerű csatorna helyén csak egy árok húzódik (Ahnelt et al. 1995, Kovačić & Pallaoro 2003). A bécsi természettudományi múzeumban őrzött adriai törpegébek vizsgálata azt is kimutatta, hogy ez a bélyeg a *K. panizzae* fajnál is bizonytalan. Közöttük még olyan példány is akadt, amelynél a fej egyik oldalán jelen van ez a csatorna, míg a másikon hiányzik, a fajok elkülönítésére tehát teljesen alkalmatlan (Harka & Halasi-Kovács 2014).

A kaukázusi törpegéb az utóbbi időkben az említett tengerek parti régiójától távol eső folyószakaszokon is felbukkant. Ukrajnában például 2007-ben a Dnyeper torkolatától 380 kilométerrel följebb fekvő Zaporizzsja közelében fogták ki egy példányát, 2009-ben pedig az Északi-Donyec folyó Azovi-tengertől 1000 folyamkilométerre lévő felső folyásáról került elő (Shandikov et al. 2009).

A Kárpát-medencében elsőként 2009-ben, a Szamos magyarországi szakaszán, a román határ közelében észlelték a fajt (Halasi-Kovács et al. 2011). A folyóból akkor csupán egyetlen példány került elő, és onnan többet azóta sem sikerült kimutatni. 2012-ben azonban tömeges elszaporodására figyeltek föl Tiszafüreden, a Tisza középső szakaszán fekvő Tisza-tó víztározóban (Harka et al. 2012). Az előkerült példányoknál hiányzott a hátsó okuloszkapuláris csatorna, a genetikai vizsgálat azonban igazolta, hogy a populáció a kaukázusi törpegéb fajhoz tartozik, és legközelebbi rokonságban a fekete-tengeri állományokkal áll (Harka et al. 2013).

A Tisza-tavi állomány 2012-ben olyan eredményesen szaporodott, hogy 2013-ra a víztározó alsó részét mintegy 15 km hosszan teljesen benépesítette, a tározó fölső részén azonban csak a 2014-ben észlelték (Papp et. al 2014). Ugyancsak 2014-ben rendszeres vizsgálat kezdődött a faj Tisza menti terjedésének föltérképezésére. Ennek eredményeként megállapítást nyert, hogy a kaukázusi törpegéb sem a Szamosban, sem a Tisza-tó tározó fölötti folyószakaszon nem terjedt el, és nem hatolt be a Tiszatóba torkolló és a tározó alatt beömlő mellékvízfolyásokba se (Eger-patak, Laskó, Zagyva). Folyással szemben tehát rendkívül lassan terjed, folyásirányban lefelé haladva viszont – minimum 85 km/év sebességgel – 2015 márciusáig egészen a szerb-magyar határig jutott (Harka et al. 2015), és ezen a 233 km-es Tisza-szakaszon a jelenléte folyamatos.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Az előzményekből szinte biztosra lehetett venni, hogy a kaukázusi törpegéb már a Tisza szerbiai szakaszára is átkerült. Ennek bizonyítására 2015. március 22-én egy 5x5 mm szembőségű, 1x1 méteres csalihalfogó hálóval mintát vettünk Zentánál (Senta, 123.5 fkm, GPS-koordináták: N 45°55'53,5", E 020°05'48,9"), a Tisza bal partján lévő strandon, valamint Magyarkanizsánál (Kanjiža, 149 fkm, GPS-koordináták: N 46°04'09,7", E 020°03'58,5") a Tisza jobb oldali partszegélyének a sekély, 1 méternél nem mélyebb vízéből. Zentánál a mintavételezési ponttól lefelé egy 132 méteres, míg Magyarkanizsánál a mintavételezési ponttól lefelé egy 52 méteres partszakaszt vizsgáltunk meg. A mintavételezés során mindkét helyszínen két-két kaukázusi törpegébet fogtunk. Ezek a halak az Újvidéki Egyetem Természettudományi és Matematikai Kara Biológia és Ökológia Tanszékének Hidrobiológiai laboratóriumába kerültek, ahol fényképezés és mérés után 96%-os alkoholban lettek konzerválva.

A faj azonosítása a magyarországi tapasztalatok fölhasználásával történt. A kaukázusi törpegéb és a folyami géb ivadékának mintázata ugyanis nagyon hasonló, ráadásul a folyami gébek nyári szaporulata méretben azonos lehet a törpegébek tavaszi ivadékával. Érdemes ezért azokról a jellegzetességekről szólni, amelyek segíthetik biztos elkülönítésüket.

Oldalról vizsgálva a folyami géb testének a középvonala alatt eléggé szabályos, hosszanti téglalap alakú foltok találhatók, a kaukázusi törpegéb esetében viszont a test középvonalában inkább függőleges irányú, szabálytalan mintázat látható. Érdemes azonban felülről is szemügyre venni a két fajt. A folyami géb ivadékának hát- és farokúszója között 5-7 db jól látható X alakú folt van (valójában négy-négy pont, köztük világos vonal), míg a kaukázusi törpegébnél a hát közepén egy hosszanti sötét vonal húzódik (*1. ábra*).

1. ábra. Balra a folyami géb, jobbra a kaukázusi törpegéb ivadéka felülnézetben

Teljesen különböző a két faj menekülési stratégiája is. A folyami géb kézben tartva maximum egyet kettőt csapkod és utána hosszabb időn át mozdulatlanul elfekszik. Ellenben a kaukázusi törpegéb pattog, egymás után többször is 4–5 cm-re fölfelé és oldalra veti magát. Elektromos eszközzel történő fogás esetén ez a jelenség nyilván nem tapasztalható.

Eredmények és értékelés

A Tisza szerbiai szakaszán folytatott mintavételezés során Zentánál és Magyarkanizsánál is 2-2 kaukázusi törpegébet gyűjtöttünk. A négy pédányból három hím volt, egy nős-

1. táblázat. A merisztikus jellemzők Harka et al. (2013) nyomán

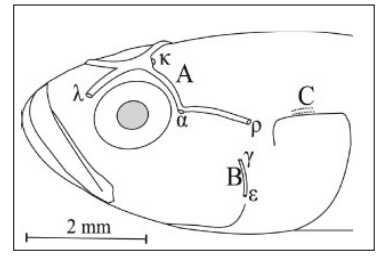
Merisztikus jellemzők	Minimum	Maximum	Átlag	Szórás
Első hátúszó sugárszáma (D1)	6	7	6,1	0,3162
Második hátúszó sugárszáma (D2) (D2)	8	10	8,9	0,5676
Anális úszó sugárszáma (A)	8	9	8,7	0,4830
Mellúszó sugárszáma (P)	14	15	14,8	0,4216
Hosszanti pikkelyszám (LL)	32	36	33,1	1,2867
Harántpikkelyek száma (TR)	7	9	7,7	0,6749

tény. A halak teljes testhossza 32,1 és 34,2 mm, a standard testhossza pedig 26,8 és 29,5 mm között változott. A halak testtömege 0,3 gramm volt, merisztikus jellemzőik megegyeztek az *1. táblázatban* feltüntetett adatokkal.

A Tiszában élő kaukázusi törpegébek a következőképpen jellemezhetők. Oldalukat a mellúszó tövétől a farokúszó kezdetéig pikkelyek borítják, a tarkójuk és a hátuk azonban egészen a második hátúszó alapjának kb. az első harmadáig csupasz. Halványszürkés alapszínük a fejtájékon sárgás, a hátúszók alatt zöldes árnyalatú. A halak hátát sötétszürke hálózatszerű mintázat, az oldalát kisebb-nagyobb, elmosódó határú fekete foltok díszítik. Utóbbiak a hímeken kifejezettebbek, és egy részük bizonytalan kontúrú, fölül és alul elkeskenyedő, rövid harántsávként jelenik meg (*2. ábra*).

A sötét pigmentáció a tartósított példányokon minden esetben kifejezettebb, mint az élőkön. A hímek első hátúszójának a végén egy sötét, olykor sárgásan vagy kékesen irizáló folt látható. A példányok hátúszóin élő állapotban is sötét harántsávok látszanak. Az elülső hátúszón a sötét sávok száma többnyire 3–4, míg a hátulsón 3–5 között változik. A farokúszón legalább öt jól kivehető pontsor húzódik végig hát-hasi irányban. A mellúszók, az összenőtt hasúszó és a farokalatti úszó a nőstényeknél nem, a hímeknél gyengén pigmentált. A tejesek hasi oldala az állcsúcstól a tapadókorong elülső lebenyéig szürke, az ikrásokon ellenben csak az állcsúcs tövén található egy kisebb pigmentált terület. Az ikrával telt nőstényeknél a mell tájéka és a has hátsó része élő állapotban narancssárga, ám konzerválás során ez a szín eltűnik. A kopoltyúfedő hátsó szélének a torok felé eső része mindkét nemnél ezüstszínű. A hímeknél ez a folt általában nagyobb, és hasonló csillogású lehet a mellúszó környéke is.

2. ábra. Kaukázusi törpegéb (♂, TL: 32,56 mm) a Tisza szerbiai szakaszáról (Fotó: Sipos Sándor)



3. ábra. A fej érzékelőcsatornái

A gébfélék fontos jellemzői közt tartják számon a feji oldalvonalrendszer csatornáit és pórusait. A tiszai példányokon a *3. ábrának* megfelelő lefutású az elülső okuloszkapuláris vagy szemöldökcsatorna (*3. ábra A*: *canalis oculoscapularis anterior* a *λ, κ, α* és *ρ* pórusokkal), valamint a preoperkuláris vagy előfedél-csatorna (*3. ábra B*: *canalis preopercularis* a *γ* és *ε* pórusokkal). A hátulsó okuloszkapuláris vagy szemöldökcsatorna azonban hiányzik, helyén minden példányon egy nyitott árok van (*3. ábra C*).

A Tisza vajdasági szakaszán folytatott gyűjtéseink eredményeként megállapítható, hogy egy új invazív gébfaj honosodott meg Szerbiában, amelynek további terjedése bizonyosra vehető.

Irodalom

Ahnelt, H., P. G. Bianco, H. Schwammer (1995): Systematics and zoogeoraphy of *Knipowitschia caucasica* (Teleostei: Gobiidae) based on new records from the Aegean Anatolian area. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 6/1: 49–60.

Guelmino, J. (1994): Gébfajok a Tisza alsó szakaszán. *Halászat* 87/3: 133.

Halasi-Kovács B., Antal L., Nagy S. A. (2011): First record of a Ponto-Caspian *Knipowitschia* species (Gobiidae) in the Carpathian basin, Hungary. *Cybium* 35/3: 257–258.

Harka, Á., Bíró, P. (2007): New patterns in Danubian distribution of Ponto-Caspian gobies – a result of global climatic change and/or canalization? *Electric Journal of Ichthyology* 1: 1–14. *http://ichthyology.tau.ac.il*

Harka Á., Halasi-Kovács B. (2014): Is a suitable character the presence or absence of the posterior oculoscapular canal for distinguishing between *Knipowitschia caucasica* and *K. panizzae* species (Pisces, Gobiidae)? *Pisces Hungarici* 8: 107–109.

Harka Á., Papp G., Nyeste K. (2012): A Tisza új hala egy törpegébfaj (*Knipowitschia* sp.) *Halászat* 105/2: 17.

Harka Á., R. Šanda, Halasi-Kovács B. (2013): Appearance of a new invasive gobiid species in the Tisza river: the Caucasian dwarf goby [*Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916)], and first results of morphological and genetic study of the population (in Hungarian). *Pisces Hungarici* 7: 5-11.

Harka Á., Szepesi Zs., Sallai Z. (2015): A tarka géb (*Proterorhinus semilunaris*), a folyami géb (*Neogobius fluviatilis*) és a kaukázusi törpegéb (*Knipowitschia caucasica*) terjedése a Tisza vízrendszerében. *Pisces Hungarici* 9: 89–92.

Hegediš, A., Nikčević, M., Mićković, B., Janković, D., Andjus, R. K. (1991): Discovery of the Goby *Neogobius gymnotrachelus* in Yugoslav fresh waters. *Arh. biol. nauka*, Beograd, 43/3–4: 39–40.

Janković, D., Hegediš, A., Krpo, J. (1987): Taxonomische und ökologische Charakteristiken des *Gobius* (*Neogobius*) *fluviatilis* Pallas (1811) im jugoslawischen Donauteil (Vorlaufige Mitteilung). In: *26. Arbeitstagung der IAD, Passau/Deutschland, 1987, Wissenschaftliche Kurzreferate*, 266–269.

Kovačić, M., Pallaoro, A. (2003): Is *Knipowitschia caucasica*-like form from the Adriatic Sea a new goby species? Evidence from a morphological approach int he Eastern Adriatic Sea. *Cybium* 27/2: 131–136.

Lenhardt, M., Markovic, G., Hegedis, A., Maletin, S., Cirkovic, M., Markovic, Z., (2011): Non-native and translocated fish species in Serbia and their impact on the native ichthyofauna. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 21, 407–421.

Miller, P. J., E. V. Vasil'eva, A. N. Economou (2004): *Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916). In Miller, P. J. (ed): *The Freshwater Fishes of Europe 8. Gobiidae 2*. AULA-Verlag, Wiesbaden, pp. 342–364.

Papp G., Péter G., Halasi-Kovács B. (2014): A halközösség struktúrájának sajátosságai a Tisza-tó különböző élőhelyein. *Pisces Hungarici* 8: 51–60.

Ristić, M. (1977): Fishes and fishery in freshwater (In Serbian). Nolit, Beograd, p 330

Shandikov, G. A.; Kryvokhyzha, D. V.; Slipko, I. V. (2009): A first record of the Caucasian dwarf goby, *Knipowitschia caucasica* (Teleostei, Perciformes, Gobiidae), in the Siverskiy Donets River drainage, Ukraine. Vestnik Zoologii 43/4: 368–377.

Simonović, P., Valković, B., Paunović, M. (1998): Round goby *Neogobius melanostomus*, a new Ponto-Caspian element for Yugoslavia. *Folio zoologica* 47. 4. 305–312.

Simonović, P., Paunović, M., Popović, S. (2001): Morphology, Feeding, and Reproduction of the Round Goby, *Neogobius melanostomus* (Pallas), in the Danube River Basin, Yugoslavia. *J. Great Lakes Res.* 27/3: 281-289.

ÉLŐ TÁPLÁLÉK (*ARTEMIA SALINA* NAUPLIUS) ELŐKÉSZÍTÉSE KÜLÖNBÖZŐ VITAMINOK DÚSÍTÁSÁVAL PONTYLÁRVÁK (*CYPRINUS CARPIO* L.) NEVELÉSÉHEZ INTENZÍV KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT

Borné Papp Zsuzsanna, Nagyné Biró Janka, Adorján Ágnes, Bogárné Csávás Katalin és Jakabné Sándor Zsuzsanna

Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Halászati Kutatóintézet, Szarvas

ÖSSZEFOGLALÁS

A különböző mikro-tápanyagokkal dúsított élő táplálék használata intenzív rendszerekben a jelenleg alkalmazott, a tavi termeléshez kialakított takarmányozási technológia alternatívája lehet a ponty (*Cyprinus carpio* L.) lárvanevelésben is. A rendszerint monokultúrában alkalmazott élő táplálékok gyakran nem biztosítják a megfelelő tápanyag összetételt a rendkívül érzékeny lárvák számára. Ezért vitamindúsítási kísérleteket végeztünk az egyik leggyakrabban használt táplálékkal, az *Artemiá*-val (*Artemia salina* nauplius: sórák). Hat órás *Artemiá*-t (INSTAR II Nauplius) dúsítottunk öt csoportban, különböző vitaminokkal egy órán keresztül. Kontrollnak dúsítás mentes Artemia-t használtunk, majd az egyes kezeléseknél a C vitaminos algaszuszpenziót használtuk és kiegészítettük emulzióban oldott B1+B2 vitaminnal, emulzióban oldott E vitaminnal, valamint együttes alkalmazását elvégeztük. A dúsított *Artemiá*-t két héten át etettük pontylárvák különböző csoportjaival. Eredményeink szerint az *Artemiá*-ba valamennyi vizsgált vitamin beépült. A C-vitamin átlagosan 2-3,5 szeresre dúsult a kontroll csoporthoz képest. A B_6-vitamin koncentrációja is kétszeres volt azokban a csoportokban, amelyek ilyen kiegészítést kaptak. A B_1-vitamin kisebb mértékben, mintegy másfél-kétszeresére dúsult szemben az E-vitaminnal. A pontylárvákban a B_1-vitamin halmozódott fel a legnagyobb, mintegy 5-9-szeres mértékben, de

a B_6-vitamin is jelentős, maximálisan 3,73-szoros mértékben akkumulálódott. A C-vitamin esetében 1,2-2,5-szeres dúsulást mértünk, míg az E-vitamin koncentrációja a pontylárváknál nem mutatott szignifikáns különbséget ($P<0,05$). Eredményeink szerint az *Artemia* megfelelő vektornak tűnik vitamin bevitelre a pontylárvák számára.

SUMMARY

Preparation of live food with vitamin supplementations for rearing of carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae in intensive conditions

Zsuzsanna B. Papp, Janka N. Biró, Ágnes Adorján, Katalin B. Csávás and Zsuzsanna J. Sándor

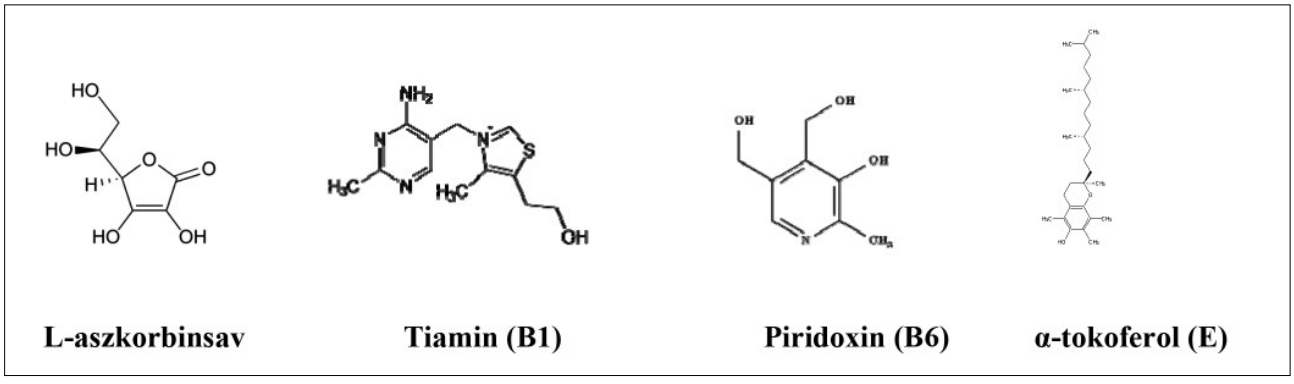
Enriched live food with different micronutrients like vitamins might be an alternative option compared to current technology for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae reared in intensive system. Live foods reared usually in monoculture often do not provide the proper nutritional composition for the very sensitive larvae. Therefore vitamin enrichment experiments were carried out with one of the most common used live food *Artemia* (*Artemia salina* nauplius). *Artemia* (INSTAR II Nauplius 6 hours after hatching) was enriched in five different groups with different vitamins (control group without any enrichment; group enriched with vitamin C solved in algae suspension; group enriched with vitamin C in algae suspension and with B_1 and B_6 solved in emulsion; group enriched with vitamin C in algae suspension and with vitamin E solved in emulsion; group enriched with vitamin C in algae suspension and with B_1+B_6 and E solved in emulsion). After that, the freshly enriched *Artemia* were offered for different groups of carp larvae over the course of two weeks. According to our results, *Artemia* was well from 2 to 3.5 times enriched with vitamin C in all groups except Ø-control. Concentrations of vitamin B_6 were increased about twice in both groups fed with vitamin B_1+B_6 supplementations. Vitamin B_1 was enriched with lesser extent (1.5-2 times) in the same groups, while 1.2 folds significant ($P>0.05$) accumulations were detected for vitamin E only in groups fed with vitamin C in algae suspension and with vitamin E solved in emulsion. In contrast, excessive accumulations were found for both vitamins B (5-9 times for B1 and 3-4 times for B6) in the carp larvae groups which were fed with these supplementations. Concentrations of vitamin C were 1.2-2.5 times higher than it they were in the Ø-control groups, while accumulation of vitamin E was not detected. According to these results the *Artemia* might be a proper vector of vitamin transfer for carp larvae.

BEVEZETÉS

A ponty tenyésztése során hazánkban kisebb nagyobb változtatásokkal a jól bevált módszert (H. Tamás és mts-i, 1982) alkalmazzák széleskörűen a pontylárvák nevelésében, melynek során a már táplálkozó lárvák néhány, általában főtt tojással történő etetést követően előnevelő tavakba kerülnek. A jövőben azonban előtérbe kerülhet a zártrendszerben történő lárva-előállítás a ponty termelése során is, ami a jelenlegitől különböző takarmányozási technológiát és technikát igényel. Köztudott, hogy a jó minőségű táplálék és a megbízható takarmányozás az egyik legfontosabb tényező a halak intenzív tartása során is, ami különösen érvényes a rendkívül érzékeny frissen kelt és nagyon gyorsan növekvő lárvákra (Hamre és mts-i, 2013). A különböző halfajok lárváinak zárt rendszerben történő nevelésére még ma is többnyire különböző helyben keltetett zooplanktont, kerekesférgeket (pl. *Brachionus plicatilis*), vagy sórákot (*Artemia salina*) használnak, monokultúrában. A természetes körülmények között élő, vagy halastavakban tenyésztett halak környezetükből viszonylag könnyen hozzájutnak a számukra szükséges mennyiségű és összetételű tápanyaghoz, a monokultúrában alkalmazott élő táplálékok (pl. *Artemia* nauplii) gyakran nem biztosítják a megfelelő tápanyag összetételt a rendkívül érzékeny lárvák számára. Léger és mts-i (1987) összefoglaló munkája szerint pl. az *Artemia nauplii* HUFA hiányos zsírsav profiljának esszenciális zsírsavakkal történő dúsításával nagyobb mértékű növekedést, megmaradást, stressz tűrést, stb. érhetünk el különböző halfajok lárváinál.

Az eredetileg zsírsavak bevitelére kifejlesztett emulziókat más fontos tápalkotók, mint pl. a vitaminok bevitelére is lehet alkalmazni (Merchie és mts-i, 1995; Treece, 2000; Teeranachaideekul és mts-i., 2007, 2008). A vitaminok közül legtöbben az élő táplálékok C-vitaminnal történő dúsításával foglakoztak, mivel ez a vitamin esszenciális a csontos halak, így a ponty számára is, bár ez utóbbi sokáig vitatott volt (Dabrowski és mts-i, 1987; Gouillou-Coustant és mts-i, 1998). Általában a halak, így a ponty vitamin szükségletével sokan foglalkoztak, tekintettel a kísérletek közvetlen céljaira ebben a cikkben erre nem térünk ki részletesen, az eredmények értékelésekor az NRC (2011) „Nutrient requirements of fish" pontyra vonatkozó vitamin szükséglet táblázatát használjuk.

A tengeri, valamint az édesvízi akvakultúrában a lárvanevelés hatékonyságának elősegítésére az elmúlt évtizedekben számos dúsítási technológiát fejlesztettek ki világszerte az élő táplálékszervezetek tápanyagtartalmának növelésére (algakészítmények, emulziók, mikrokapszulázott táplálékok, stb.), amelyek igen változatosan variálhatók. Sikeresen dúsították C-vitaminnal pl. az *Artemiá*-t aszkorbát-palmitát emulzióban való oldásával a tengeri sügér (*Dicentrarchus labrax*) vagy az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) lárvák neveléséhez (Merchie és mts-i, 1995), a tubifexet vízfürdőben alkalmazott L-aszkorbinsavval az európai harcsa (*Silurus glanis*) etetéséhez (Gy. Papp és



1. ábra. Az alkalmazott vitaminok képlete
Figure 1. Structure of the used vitamins

mts-i, 1995) illetve a rotiférát kereskedelemben kapható mikro kapszulázott táp (Culture Selco, Inve Aquaculture, Belgium) aszkorbát palmitáttal történő kiegészítésével a „milkfish" *(Chanos chanos)* lárváinak neveléséhez (Gapasin, és mts-i, (1998). Használnak L-aszkorbil-2-foszfátot is az *Artemia* C-vitaminnal történő kiegészítéséhez (Wang és mts-i, 2006). Dúsítottak Artemia-t B és E vitamin tartalmú emulzióval is(Treece, 2000) és mikroalgákkal (Vismara és mts-i, 2003).

CÉLKITŰZÉSEK

A bevezetőben leírtak figyelembevételével kísérleteink célja az volt, hogy a pontylárvák nevelésében alkalmazható mesterségesen keltetett sórák lárva (*Artemia salina* nauplius) tápanyagban, jelesen különböző vitaminokban (C-, B_1+B_6-, valamint E-vitamin) történő dúsítására hatékony módszert dolgozzunk ki az ismert módszerek kombinálásával. Kísérleteinkben kipróbáltuk a C-vitamin algapasztában, a B_1-,B_6-, valamint az E-vitamin emulzióban történő alkalmazását és ezek kombinálását. Ezt követően vizsgáltuk az 1. ábrán bemutatott szerkezeti képletű L-aszkorbinsav, a kétféle B-vitamin (B_1=tiamin és B_6=piridoxin), valamint az E-vitamin (α-tokoferol) bevitelének hatékonyságát az *Artemiá*-ban, majd a vitaminok akkumulálódását frissen kelt pontylárva.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Artemia dúsítása L-aszkorbinsavat tartalmazó algával, valamint B-vitaminokat és E-vitamint tartalmazó emulzió készítménnyel

Dúsításkor az emulzóba bevitt vitaminokat és az L aszkorbinsavval dúsított algapasztát (Rotigrow Nano) együtt adtuk a már táplálkozó sórák lárvának és egy órán keresztül etettük állandó levegőztetés mellett (1 L *Artemiá*-hoz 1 mL emulziót és 100 mL dúsított algát adtunk).

A dúsításhoz használt oldatok, illetve emulziók az alábbiak voltak:

C-vitamin kiegészítéshez:

L-aszkorbinsavval dúsított alga oldat: a RotigrowNanno (tartósított *Nannochloropsis* sp.) algapasztából alkalmanként 4 mL algát dúsítottunk 400 ml 10 g/L L-aszkorbinsav tartalmú oldattal levegőztetés nélkül 15-30 percig.

L-aszkorbinsav oldat: 10 g/L-aszkorbinsav 25‰-es sós vízben.

B_1-, B_6- és E-vitamin kiegészítéshez:

Három - különböző vitamin-összetételű - emulziót készítettünk Teeranachaideekul és mts-i. 2007; 2008, valamint Treece, 2000 eljárása alapján: valamennyi emulzió 0,5 g zselatint, 8 mL szójaolajat, 0,4 g (1 kapszula) szójalecitint (gyógyszertárban beszerezhető alapanyagok) és 0,05 g bétakarotint (Sigma Aldrich), valamint 40 mL desztillált vizet tartalmazott. Három különböző vitaminokkal kiegészített emulziót készítettünk. A *B jelű* csak B-vitaminokat (20 mg/mL B_1- és B_6 vitamin); *az E jelű* csak E-vitamint (4 mg/mL E-vitamin); *a B+E jelű* B vitaminokat és E-vitamint is (20 mg/mL B_1-, B_6- és 4 mg/mL E-vitamin) tartalmazott.

Az emulziók készítéséhez a B-vitaminokat 40 mL desztillált vízben feloldottuk, majd a zselatint ebben az oldatban áztattuk 15-30 percig, a csak E-vitamint tartalmazó emulzió esetében a zselatint 40 mL desztillált vízben áztattuk. Ezt követően a zselatinos keveréket 80°C-os vízfürdőn feloldottuk és visszahűtöttük 40°C-ra. Elkészítettük az olaj emulziót. Ehhez 8 mL szójaolajat kevertünk 80°C-on bétakarotinnal 30 mp-ig, majd szójalecitinnel és E vitaminnal (gyógyszertári) további 30-60 mp-ig. Majd hozzáadtuk a zselatin oldatot, és Ultra-Turrax-szal diszpergáltuk 1 percig. Az emulziókat felhasználásig +5°C-on hűtőben tároltuk.

Artemia lárvák előkészítése dúsításhoz

A 10 mg petéből kikelt és leszűrt 6 órás INSTAR II Nauplius lárvákat 5 egyenlő részre osztottuk. A szétosztott *Artemia* mennyiséget 1 L térfogatig töltöttük 25‰ sótartalmú vízzel, majd a 6 órás *Artemia* lárvákat 1 órán át etettük az 1. számú képen látható rendszerben, állandó

levegőztetés mellett 28°C-on az alább felsorolt készítményekkel:

1. kép. Az *Artemia* dúsításához használt rendszer (Fotó Adorján Ágnes)
Picture 1. System for the enrichment of *Artemia*

Ø kezelés: Ø kontroll (táplálékmentes);

K kezelés: kontroll (1 mL 100 mL L-aszkorbinsavval dúsított alga);

B kezelés: B-vitaminos (1 mL B_1+B_6 vitaminos emulzió, + 1 mL 100 mL L-aszkorbinsavval dúsított alga);

E kezelés: E-vitaminos (1 mL E-vitaminnal kiegészített emulzió, 1 ml 100 mL L-aszkorbinsavval dúsított alga);

B+E kezelés: B+E vitaminos (1 mL B_1+B_6+E vitaminnal készített emulzió, 1 mL 100 mL L-aszkorbinsavval dúsított alga).

Az etetés-fürdetés végén minden alkalommal ellenőriztük az oxigéntartalmat és a hőmérsékletet. Az *Artemia* lárvák vitalitását mikroszkóp alatt vizsgáltuk.

A dúsított *Artemia* lárvákat Zuger-üvegbe töltöttük és megvártuk, míg a keletlentől, illetve a héjtól elváltak az élő *sórák lárvák*. Pipetta segítségével óvatosan másik edénybe szedtük és átmostuk őket, majd az így nyert *Artemiá*-t etettük meg a pontylárvákkal. A dúsítás hatékonyságának vizsgálatára az *Artemiá*-ból az etetési kísérletek előtt háromszor vettünk 0,5-0,5 g mintát vitamin meghatározásra.

Dúsított *Artemia* etetése pontylárvával

Kísérleteinket a NAIK HAKI recirkulációs rendszerében végeztük a 2. képen látható átfolyó vizes rendszerben, melynek vízparaméterei állandónak tekinthetők. Az éppen a táplálkozás kezdetén lévő pontylárvákat adaptációként három napig 30 órás dúsítatlan *Artemiá*-ával etettük (24 óra alatt négy alkalommal), majd kezelésenként és ismétlésenként (3 párhuzam) 700-700, átlagosan 5,5±0,6 mg tömegű lárvát helyeztünk ki a. A rendszer vízhőfoka 23-24°C; térfogata 12 liter óránként ötszörös vízcserével; pH 8,5; az oxigéntartalom 7-8 mg/L volt.

A pontylárvákat napi négy alkalommal etettük, kétszer kb. 10 mg dúsított *Artemiá*-val, két alkalommal pedig 30 órás dúsítatlan *Artemiá*-val. Az elhullást naponta számoltuk, a növekedést pedig az élő táplálék etetési kísérlet végén (14 nap) csoportonként és egyedenként is mértük. Az egyedek átlagtömegét 30-30 lárva egyedenkénti tömegmérésével határoztuk meg.

Mintavételek: kihelyezés előtt 2 g, majd a kísérlet befejezésekor a 14. napon 2-2 g halmintát gyűjtöttünk csoportonként.

2. kép. Lárvanevelő rendszer (Fotó Adorján Ágnes)
Picture 2. Rearing system for carp larvae

Vitamin meghatározások:

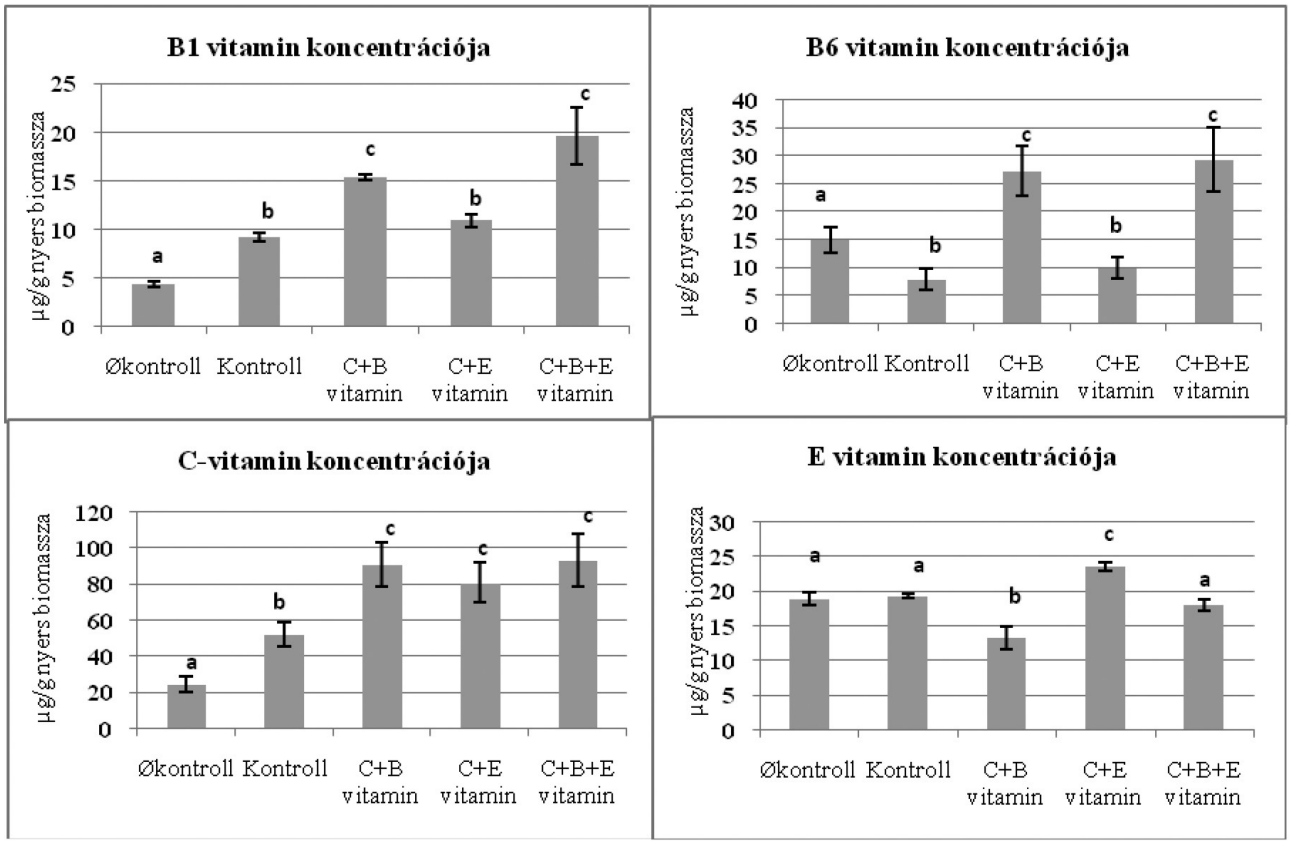
A vízoldható vitaminokat (C, B_1 és B_6) Gy. Papp és mts-i 1998-ban leírt fordított fázisú HPLC módszerével, az E-vitamint pedig α-tocoferol formában Bai és Gatlin (1993) HPLC módszerével mértük, mintánként három parallelben.

Statisztikai értékelések

A mérési átlagokat és a szórásokat az Excel 2007 szoftverrel számoltuk. A vitamin koncentrációkat egyszempontú ANOVA teszttel hasonlítottuk össze SigmaStat szoftverrel.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Mivel a vizsgált vitaminok közül a C-vitamin az egyetlen esszenciális, így talán a legfontosabb mikro-tápanyag a pontylárvák számára, ezért ezeket az eredményeket mutatjuk be először. Annak ellenére, hogy ez a vitamin is alkalmazható zsíroldékony, azaz aszkorbát-palmitát formában, bevitelére a természetben leggyakrabban előforduló L-aszkorbinsav formát alkalmaztuk mikoralga dúsításán keresztül. A dúsítás eredményeként a nyers *Artemia* (átlagos víztartalma 90%) valamennyi vitaminból tartalmazta a ponty igényének megfelelő, a nemzetközi irodalomból ismert mennyiséget (2. ábra). Ezek az értékek az irodalom szerint C-vitaminra 45 µg/g, B_1-vitaminra 0,5 µg/g, B_6-vitaminra 6 µg/g és E-vitaminra 100 µg/g szárazanyagra vonatkoztatva (NRC, 2011). Érdekes módon a C-vitamin dúsulás mértéke közel kétszeres volt azokban a csoportokban, amelyeket bármilyen vitaminnal kiegészített emulziót is tartalmazó tápoldatban dúsítottunk a kontroll (algapaszta+L-aszkorbinsav) tápoldatban dúsított *Artemia-hoz* képest annak ellenére, hogy valamennyi tápoldatában állandó volt a C-vitamin koncentráció. A C-vitaminnal ki nem egészített *Artemia* koncentrációjához képest pedig a dúsulás mértéke több, mint háromszoros volt. Az emulziót is tartalmazó tápoldatokban nevelt *Artemia* nauplii csoportok C-vitamin koncentrációja nagyságrendileg megfelelt a szakirodalomban található adatoknak. Merchie és mts-i (1997) pl. 1400 µg/g L-aszkorbinsav koncentrációt értek el szárazanyagra vonatkoztatva 10% aszkorbát-palmitátot tartalmazó emulzióval, amely átlagosan kétszerese volt a kiegészítés nélkül nevelteknek. Ez a mi esetünkben is hasonló értéket mutat, a kezeletlen kontroll *Artemia* átlagosan 248±45,0 µg/g összes C-vita-



2. ábra. Különböző vitaminokkal kezelt *Artemia salina* nauplius vitamintartalma a dúsítást követően a nyers biomasszára vonatkozóan
Figure 2. Vitamin concentrations in crude biomass of *Artemia salina* nauplius enriched with different vitamins

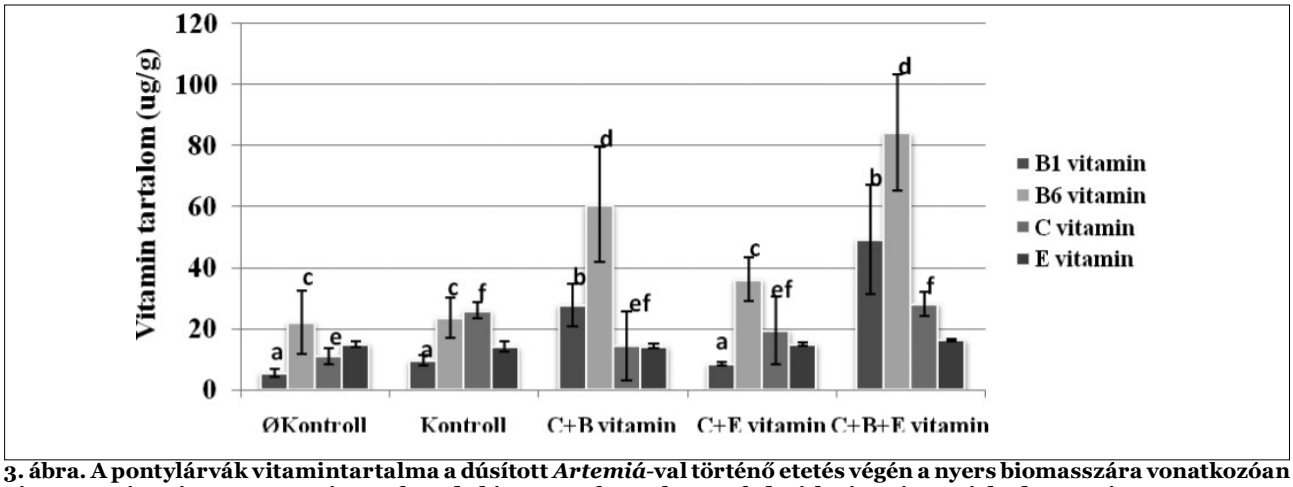
min koncentrációjával szemben 933±143 µg/g C-vitamin tartalmat mértünk a C+B+E vitamint is tartalmazó tápoldatban nevelt sórákoknál.

A B_1+B_6-vitaminnal kiegészített tápoldatban nevelt *Artemiák*-ban mind a két esetben szignifikáns (P>0,05) B_1- és B_6-vitamin dúsulást tapasztaltunk a kontroll, illetve a B-vitaminokat nem tartalmazó tápoldattal etetett csoportokhoz képest. A B_1-vitamin koncentrációja pl. 1,67-, illetve 2,13-szor magasabb volt a B-vitaminokkal nem dúsított, de algapasztával és C-vitaminnal kiegészített csoportokban mértnél. A B_6-vitamin koncentrációja a dúsítást követően pl. a C+B vitaminnal etetett csoportokban 3,47, illetve a C+B+E vitaminokkal etetettekben 3,73-szoros volt ugyanezen kontroll csoporthoz képest. Az *Artemia* E-vitamin koncentrációja kizárólag a C-vitamin mellett csak E-vitamin kiegészítés kapó csoportnál emelkedett szignifikánsan (P>0,05) kis mértékben, ~1,20-szeresére a két kontroll csoporthoz képest. *Artemia* B-vitaminokkal történő dúsításáról nem találtunk adatokat, annak ellenére, hogy pl. a Treece (2000) által leírt emulzió tartalmaz B-vitamin komplexet, az E-vitaminnál mért értékeink azonban összehasonlítható mértékűek a Vismara és mts-i (2003) által közöltekkel. Ők pl. *Dunaliella* algát is használtak vektorként az *Artemia nauplii* α-tocoferol bevitelére, ezzel 31,2±2,86 µg/g vitamin koncentrációt értek el, ami nagyságrendileg összehasonlítható mértékű az általunk mért 23,59±0,68 µg/g E-vitamin tartalommal.

Összességében elmondható, hogy kisebb-nagyobb mértékben valamennyi vizsgált vitamint sikerült bevinni az *Artemia-ba*. Az irodalomból ismert adatokhoz képest a C- és az E-vitamin koncentrációja is alacsonyabb volt, de az idézett értékeket tengervízben nevelt *sórákkal* érték el, mi pedig mesterségesen állítottuk elő a sós vizet. A különbségek adódhattak azonban pl. az *Artémia* származása miatt is.

Az *Artemia* vitaminokkal történő kiegészítésének hatását az etetési kísérlet során vett lárvaminták mortalitásának, növekedésének és vitamintartalmának elemzésével vizsgáltuk. A kéthetes kísérleti periódus alatt a pontylárvák növekedésében (5,5±0,6 mg/id-ről 36,13±0,94 mg/id-re) és elhullásában (98,06 ±1,31%) sem volt szignifikáns (p>0,05) különbség a csoportok között. Eredményeink összehasonlíthatók más közleményekben szereplő adatokkal, Dabrowski és mts-i, 1987-ben pl. 32,2±1,7 mg/egyed átlagtömeget ért el 11 nap alatt.

Eredményeink szerint az *Artemia* megfelelő vektornak tűnik vitamin bevitelre a pontylárvák számára. A vitamin kiegészítések hatása már két hét alatt is tükröződik a pontylárvákban, különös tekintettel a B-vitaminokra (3. ábra). Irodalmi adatot arra vonatkozóan, hogy milyen testvitamin koncentráció elegendő a pontylárvák normális



3. ábra. A pontylárvák vitamintartalma a dúsított *Artemiá*-val történő etetés végén a nyers biomasszára vonatkozóan
Figure 3. Vitamin concentrations of crude biomass of carp larvae fed with vitamin enriched *Artemia*

fejlődéséhez, csak a C-vitamin (legalább 15 µg/g nedves tömegre vonatkozóan) esetében találtunk (Dabrowski és mts-i, 1987). Ennek megfelelően elmondható, hogy a csak sós vízben nevelt Økontroll csoport (11,04±2,6 µg/g) és a C+B vitaminnal kiegészített *Artemia*-val táplált csoport 14,41±11,40 µg/g nedves tömegre vonatkozó C-vitamin koncentrációja kivételével a halak C-vitamin koncentrációja megfelelő volt a normális fejlődéshez. A két B-vitaminos csoportnál kiemelkedő volt a B_6-vitamin abszolút koncentrációja (60,65±18,90 µg/g, illetve 84,16±19,03 µg/g nedves tömegre vonatkozóan). Valamint a B_1-vitamin is jelentősen feldúsult a Økontroll csoporthoz (5,54±1,30 µg/g) képest ebben a két csoportban: 27,82±6,90, illetve 49,21±17,80 µg/g volt nedves tömegre vonatkozóan. Az E-vitamin koncentráció nem különbözött szignifikánsan (P>0,05) egyik csoportban sem a kontroll csoporthoz képest. A B_1-, a B_6- és az E-vitamin pontylárvákban történő feldúsulása összhangban van az *Artemia-k*-nál mért értékekkel. A C-vitamin esetében azonban úgy tűnik, hogy a lárvák felhasználták a rendelkezésre álló C-vitamin nagy részét - valószínűleg a jelentős növekedéshez szükséges kollagén szintézishez - és maximum a kezeletlen kontroll kétszeresét (28,21±4,01 µg/g) érték el a C+B+E vitaminnal is kiegészített *Artemiá*-val táplált csoportban.

Az etetési kísérletek ezzel azonban nem értek véget, hiszen a különböző vitaminok hatásai ebből nem mérhetők le. Azok vizsgálatához szükséges pl. az etetés száraztakarmánnyal történő folytatása, a stresszhatások vizsgálata, stb. Ezekről az eredményekről egy későbbi közleményünkben számolunk be.

KÖVETKEZTETÉSEK

Vizsgálataink alapján elmondható, hogy az *Artemia* C-vitaminnal történő kiegészítése még vízoldható vitaminok esetében is hatékonyabb lehet, ha az egyéb, pl. zsíroldékony vitaminokat emulzióban oldva adjuk az *Artemia-t* nevelő tápoldathoz.

A C-vitamin dúsulásának vizsgálata alapján levonható az a következtetés is, hogy az *Artemia* vitamin kiegészítését komplexen kell kezelni, mivel a különböző vitaminok, de akár más tápanyagok is kölcsönhatásban vannak egymással. Ennek vizsgálatára azonban további kísérletekre van szükség.

A B-vitaminok jelentős mértékben akkumulálódtak a lárvák testében, ennek okait és hatásait célszerű lenne tovább vizsgálni.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A vizsgálatok az ARRAINA (GA 288925), valamint az EU_BONUS_12-1-2013-0006 projektek anyagi támogatásával valósultak meg. Köszönjük ezen kívül a munkaigényes kísérletek kivitelezését valamennyi résztvevő munkatársunknak.

IRODALOM

Bai SC, Gatlin DM, 1993. Dietary vitamin E concentration and duration of feeding affect tissue ·α-tocopherol concentrationsof channel catfish (Ictalurus punctatus). Aquaculture,113, 129-135.

Dabrowski, K., Hinterleitner, S., Sturmbauer, C. El-Fiky, N. and Wieser, W. 1987. Do carp larvae require vitamin C? Aquaculture, 72, 295-306.

Gapasin, R.S.J., Bombeo, R., Lavens, P., Sorgeloos, P. and Nelis, H. 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. Aquaculture 162, 269-286.

Gouillou-Coustant, M.F., Bergot, P. and Kaushik S.J., 1998. Dietary ascorbic acid needs of cammon carp (*Cyprinus carpio*) larvae. Aquaculture 161, 453-461.

Gy. Papp, Zs., Kovács, Gy. and Radics, F. 1995/ Az európai harcsa (*Silurus glanis* L.) C-vitamin státuszának alakulása az embrionális fejlődés során, valamint az L-asz-

korbinsav kiegészítés hatása első, élő táplálékkal etetett lárvákra. In: XIX. Halászati Tudományos Tanácskozás Összefoglaló Gyűjtemény. 20. p.

Gy. Papp, Zs., Saroglia, M. and Terova, G. 1998. An improved method for assay of vitamin C in sample series of fish feed and tissues. Chromatographia, 48/1/2, 43-47.

Hamre, K., Yufera, M., Rønnestad, I., Conceição, L. E. C., Izquierdo, M. 2013. Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. Reviews in Aquaculture 5 (suppl.), 526-558.

H. Tamás, G., Horváth, L.,. és Tölg, I. 1982. Tógazdasági tenyészanyag termelés. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1-259.

Léger, Ph., Bengston, D.A., Sorgeloos , P., Simpson, K.L. and Beck, A.D. 1987. The nutritional value of *Artemia*: a review. In: Sorgeloos , P., Bengston, D.A., Decleir, W., Jaspers, E., (Eds) *Artemia* research and its applications, Vol. 3. Universal Press, Wettern Belgium, 357-372.

Merchie, G., Lavens, P., Dhert, P. H., Pector, R., Mai-Sony, A.F. Nelis, H., Ollivier, F. De Leenheer, A. and Sorgeloos, P. 1995. Life food mediated vitamin C transfer to *Dicentrarchus labrax* and *Clarias gariepinus*. J. Appl. Ichthyol. 11, 336-341.

Merchie, G., Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1997. Optimalization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review. Aquaculture, 155. 165-181.

NRC. 2011. Nutrient requirements of fish. Washington, DC, National Academies Press, 327-328.

Teeranachaideekul, V., Junyaprasert, V.B., Souto, E.B., and Müller, R.H. 2008. Development of ascorbyl palmitate nanocrystals applying the nanosuspension technology. Int. J. Pharmaceutics 354, 227-234.

Teeranachaideekul, V., Müller, R.H., and Junyaprasert, V.B., 2007. Encapsulation of ascorbyl palmitate in nanostructured lipid carriers (NLC) – Effects of formulation parameters on physicochemical stability. 2007 Int. J. Pharmaceutics 340, 198-206.

Treece, G.D. 2000. Artemia Production for Marine Larval Fish Culture. SRAC (Southern Regional Aquaculture Center) Publication No. 702, Stoneville, Mississippi 38776, USA, p. No.702.

Vismara, R. Vestri, S. Kusmic, C., Barsanti, L. and Gualtieri, P., 2003. Natural vitamin E enrichment of *Artemia salina* fed freshwater and marine microalgae. J. Appl. Phycol. 15, 75-80.

Wang, W.N., Wang, A.L. and Wang, Y. 2006. Effect of supplemental L-ascorbyl-2-polyphosphate in enriched live food on the antioxidant defense system of *Penaeus vannamei* of different sizes exposed to ammonia-N. Aquaculture Nutrition 12(5), 348-352.

MASZ

MAGYAR AKVAKULTÚRA SZÖVETSÉG

„A HALÁSZATI ÁGAZATFEJLESZTÉS LENDÜLETVÉTELÉÉRT”

Elnök: Dr. Váradi László
Cím: 5540 Szarvas, Anna-liget 8. • Tel: 06-66/515 405; Fax: 06-66/312 142
E-mail: info@masz.org, weblap: http://www.masz.org