

HALÁSZAT – TUDOMÁNY

3. évfolyam | 2.szám | 2017

Alapítva: 2015



› A mikotoxinok, mint halebészségügyi kockázati tényezők

› Különböző összetételű haltakarmányok hatása a halastavak vízminőségére

› Alternatív fehérje-források a hal-takarmányozás során: A rovarliszt

› Triploid süllő (*Sander lucioperca L.*) esetében észlelt apoptózis - flow citometriás megfigyelés

HALÁSZAT – TUDOMÁNY

3. évfolyam | 2. szám | 2017

Földművelésügyi Minisztérium tudományos folyóirata

A HALÁSZAT lap szerkesztőbizottsága

Főszerkesztő:
Dr. Váradi László

Főszerkesztő-helyettes
Dr. Bercsényi Miklós

Szerkesztő:
Bozánné Békefi Emese

A szerkesztőbizottság tagjai:

Dr. Béres András
Dr. Bíró Péter
Dr. Hancz Csaba
Dr. Harka Ákos
Hoitsy György
Dr. Jeney Zsigmond
Dr. Molnár Kálmán
Dr. Németh István
Dr. Orbán László
Dr. Szathmári László
Dr. Székely Csaba
Dr. Szűcs István
Udvari Zsolt
Dr. Urbányi Béla

A folyóirat megjelenését támogatja:
Magyar Akvakultúra és Halászati
Szakmaközi Szervezet

Kiadja:
Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft.
1223 Budapest, Park u. 2.
www.hermanotointezet.hu

Felelős kiadó:
BÁRÁNYNÉ ERDEI RITA

HALÁSZAT
Megjelenik félfévente.

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

HU ISSN 0133-1922
Index: 125 372

Címlapkép:
Vízminutavétel a kísérleti tavakon
Fotót: Berzi-Nagy László

Tisztelt Olvasó!

A Halászat Tudomány elektronikus lap megjelentetésének fő célja, hogy szolgálja a tudományos eredmények megismertetését és így elősegítse azok hasznosítását a hazai halgazdálkodás versenyképességének és jövődélmezőségének növelése érdekében.

Alapvető fontosságú azonban, hogy a cikkek a tudományos színvonal mellett olyan problémák megoldására irányuló kutatásokat mutassanak be, amelyek eredményeinek alkalmazása iránt gyakorlati igény mutatkozik. A haltermelők gyakorlati problémáira reflektáló kutatások, illetve a kutatási eredmények hasznosításának fontosságát jelzi az is, hogy az EU által támogatott kutatási projekteknél a gyakorlati szakemberek részvételével működő szakértői „paneleket” hoznak létre, amelyek működésének célja a kutatási eredmények gyakorlati alkalmazásának elősegítése. Az EU kutatási projektjeiben egyre fontosabb szerepet kapnak az eredmények szélesebb körű megismertetésére irányuló „dissemination” projekt elemek. Nem csak az EU-ban, de a világ régióiban is növekszik a törekvés arra, hogy az akvakultúra kutatások minél hatékonyabban szolgálják a termelők érdekeit, illetve a kutatásokra fordított összegek minél előbb megtérüljenek. A Világ Akvakultúra Társaság folyóiratának (Journal of the World Aquaculture Society) főszerkesztője Prof. Carol Engel hangsúlyozza a magas hatékonyságú kutatómunka elképzelhetetlen anélkül, hogy a kutatók ne legyenek szoros kapcsolatban a termelőkkel. Felhívja arra is figyelmet, hogy nem szabad leértékelni a gazdálkodók által a gyakorlati munka során végzett fejlesztéseket, hiszen nagyon sok az olyan sikeres akvakultúra technológia, amelynek kidolgozását és tökéletesítését maguk a farmerek végezték. Vannak azonban olyan komplex és mélyreható vizsgálatokat igénylő problémák, amelyek megoldása kutatást igényel. Ezek felismeréséhez és megoldásához van szükség a kutatók közreműködésére, amely igényli a gyakorlati szakemberek és kutatók szoros együttműködését. Reméljük, hogy az említett törekvések eredménnyel járnak és a Halászat Tudomány lapban is egyre nagyobb számban jelennek majd meg a gyakorlat és a kutatás szoros együttműködésén alapuló kutatások eredményeit bemutató közlemények.

A 2017. év végén a Halászat Tudomány lap szerkesztőinek nevében boldog és sikeres új esztendő kívánok!

Váradi László
főszerkesztő

A T A R T A L O M B Ó L

A mikotoxinok, mint haledgészségügyi kockázati tényezők (Ivánovics Bence)	3
Különböző összetételű haltakarmányok hatása a halastavak vízminőségére (Berzi-Nagy László, Jakabné Sándor Zsuzsanna, Adorján Ágnes, Tóth Flórián, Rónyai András, Gál Dénes, Dankó István, Csengeri István, Kerepeczki Éva)	7
Alternatív fehérjeforrások a haltakarmányozás során: A rovarliszt (Révész Norbert)	13
Triploid süllő (<i>Sander lucioperca L.</i>) esetében észlelt apoptózis - flow citometriás megfigyelés (Demeter Krisztián, Abdelkader Rouabah, Beliczky Gábor, Bodó Szilárd, Nagy Szabolcs)	19

A mikotoxinok, mint halegészségügyi kockázati tényezők

Ivánovics Bence

Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő

ÖSSZEFOGLALÁS

A penészgomba-toxinok az egyik legjelentősebb élelmi-szer- és takarmánybiztonsági kockázati tényezők. Biológiai hatásaik széleskörűek, és sok esetben kiemelkedően nagy akut és krónikus toxicitással bírnak. A klímaváltozás okozta hőmérsékletemelkedés és a megváltozó időjárás kedvez egyes penészgombák elterjedésének illetve toxintermelésének, növelve a mikotoxin-kitettség várható mértékét. Ezek a vegyületek más, gabona-alapú takarmányt fogyasztó gazdasági állataink mellett halainkra nézve is potenciális veszélyt jelentenek. A növényi eredetű alapanyagok és alternatív fehérjeforrások egyre nagyobb arányban való alkalmazása a haltakarmányozásban tovább növelheti ezt a kockázatot. Mindemellett a mikotoxinok az élővizek potenciális mikroszennyezőiként, társulva a vizekben már jelenlévő más xenobiotikumok (pl. peszticidek, nehézfémek) hatásaihoz, hozzájárulhatnak az ott élő halak komplex kitettségéhez, jelenleg még nem pontosan ismert következményeket vonva maguk után. A különféle halfajoknál vizsgált legjelentősebb penészgomba-mérgek többek között karcinogén, citotoxikus, immunszuppresszív, teratogén, neurotoxikus, nefrotoxikus és hormonháztartás-zavaró tulajdonságokkal rendelkeznek. Fontos és sok esetben megjelenő tünet a takarmányokkal felvett táplálóanyagok csökkent mértékű hasznosulása.

A mikotoxinok jelentős mértékben befolyásolhatják a halhús minőségét és hozamát, ezért szükséges azok hatásainak minél részletesebb megismerése, illetve további, potenciális kockázatot hordozó gomba-toxinok felderítése. Mindez előtérbe helyezi azokat a modellszervezeteket, amelyek széles spektrumú, könnyen kivitelezhető és jól értékelhető *in vivo* hatásvizsgálatokat tesznek lehetővé. Erre kiválóan alkalmas halfaj a zebradánió, amely nemcsak a fejlődésgenetika egyik legfontosabb gerincesévé, hanem a farmakológiai és toxikológiai vizsgálatok előremutató szereplőjévé is vált az elmúlt évtizedekben. A mikotoxinokról és az azokat termelő penészgombákról szerzett tudásunk tehát egyrészt további bővítésre szorul, másrészt pedig felhívja a figyelmet a fertőződés/szennyeződés felismerésének, megelőzésének és a határértékek kijelölésének fontosságára.

MYCOTOXINS AS IMPORTANT RISK FACTORS FOR FISH HEALTH AND PRODUCTION

SUMMARY

Toxic metabolites of filamentous fungi are one of the most important contaminants in feeds and foods. Mycotoxins possess a wide range of harmful effects and can cause a considerably high acute and chronic toxicity. The altered environmental conditions caused by climate change may increase the prevalence of mycotoxins, because these changes are favourable to certain mould species for growth and/or producing their toxic metabolites. Besides poultry and livestock that consume cereal-based feeds, mycotoxins pose a health risk to aquaculture fish as well. The increasing proportion of plant-derived ingredients in fish feed and the use of alternative protein sources may contribute to the problem. In addition, mycotoxins are potential micropollutants of aquatic environments and their co-occurrence with other xenobiotics (e.g. pesticides, heavy metals) can lead to a complex exposure implying unrevealed consequences. The most investigated mycotoxins on fish species have shown carcinogenic, cytotoxic, immunosuppressive, teratogenic, neurotoxic, nephrotoxic and endocrine-disrupting potentials. A remarkable and frequently appearing symptom is a lowered feed conversion ratio.

Mycotoxins can significantly influence the quality and yield of fish products, therefore the recognition of their harmful effects are needed as detailed as possible, along with the exploration of further fungus toxins that carry potential risk. All of this gives high priority to model organisms which enable those *in vivo* impact assessments that can be carried out easily, evaluated properly and has a broad spectrum. The zebrafish – that has become one of the most important model animal of evolution genetics and a quickly emerging species of pharmacological and toxicological studies – is perfectly suitable for this role. Thus, our knowledge about mycotoxins and the moulds that produce them shall be expanded and it also draws attention to the importance of the recognition and prevention of infections/contaminations, as well as to the need for designating threshold values.

Kulcsszavak:

mikotoxinok, halak, takarmány, penészgomba, kontamináció, zebradánió
mycotoxins, fish, feed, mold, contamination, zebrafish

Bevezetés

A mikotoxinok egyes penészgombák – főként *Aspergillus*, *Fusarium* és *Penicillium* fajok – által termelt másodlagos anyagcseretermékek, amelyek gyakori szennyezőként jelennek meg az élelmiszerekben és a takarmányokban (Pohland 1993). Humán- és állategészségügyi kockázatuk egyaránt kiemelkedően nagy, az általuk okozott gazdasági kár pedig sok esetben jelentős méreteket ölthet (da Rocha és mtsai. 2014). A legtöbb penészgomba-toxinnal kapcsolatos áttekintő tanulmány kiemeli azt a közel százezer pulyka pusztulásával járó nagy-britanniai eseményt (Blount 1961), amely mögött az etetett takarmány nagymértékű mikotoxin szennyezettsége állt (Sargeant és mtsai. 1961). Hasonló jelentőségű és hátterű, főként májdagában megnyilvánuló toxikózist tapasztaltak egyesült államokbeli halgazdaságokban szivárványos pisztrángnál is az ötvenes és hatvanas években (Rucker és mtsai. 1961). Ezekről a figyelemfelkeltő esetektől kezdve napjainkig megannyi kutatás látott napvilágot, ami közelebb vitt a penészgomba-toxinok káros biológiai hatásainak megismeréséhez. Több nemzetközi és Európai Unió szervezete tett ajánlást a mikotoxinok élelmiszerekben és takarmányokban való maximális irányértékére vonatkozóan, emellett számos ország rendeleti szinten szabályozza egyes mikotoxinok maximális mennyiségét (Mazumder & Sasmal 2001; 2013/165/EU). Bár a fejlődő országokban a gazdasági állapot és az emberek kitettsége általában magasabb, a kontaminált alapanyagok és termékek világszintű kereskedelmével a mikotoxinok globális problémává váltak (Schatzmayr & Streit 2013). Nem kivétel ez alól az akvakultúra-ágazat sem, hiszen az itt felhasznált takarmányok, összetételükből adódóan, potenciális forrásai lehetnek a mikotoxinoknak (Matejova és mtsai. 2016). Az elmúlt évtizedben olyan publikációk is megjelentek, amelyek egyes mikotoxinok ökotoxikológiai vonatkozású kockázatait vetik fel élővizekben. A halak vízi ökoszisztémáink kulcsszereplői, a megfelelő minőségű halhús pedig értékes részét képezi étrendünknek, ezért az életfunkcióikat potenciálisan károsító penészgomba-toxinok felismerése, és azok hatásainak feltérképezése alapvető fontosságú.

A mikotoxin-kitettséget meghatározó környezeti és antropogén tényezők

A legjelentősebb egészségügyi és agrárökonómiai károkat elsősorban a gabonaféléken és olajos magvakon megjelenő penészgombák okozzák (Marroquín-Cardona és mtsai. 2014). A szakirodalom mezőgazdasági szempontok alapján két csoportot különít el: a szántóföldi és a raktári penészeket. Az előbbiek még a termés betakarítása előtt a termőterületen, utóbbiak pedig az azt követő tárolás során szaporodnak el és termelik a sok esetben perzisztens, a terményfeldolgozási eljárásoknak ellenálló toxikus vegyületeket (Prange és mtsai. 2005; Manning & Abbas 2012). Egy adott gombafaj szaporodásához és toxintermeléséhez

szükséges ideális környezeti feltételeket alapvetően meghatározó tényezők a hőmérséklet és a vízkivátlás. Ezt főként az uralkodó klimatikus viszonyok és a betakarítás/tárolás/szállítás/feldolgozás során alkalmazott technológiák (vagy azok hiánya) határozzák meg. A túl korai vagy késői betakarítás, az elégtelen szárítás, a mechanikai sérülések és a megfelelő szellőztetés hiánya egyaránt nagymértékben hozzájárulhat a mikotoxin-szennyezettség növekedéséhez. Emellett befolyásoló szereppel bír a különféle kártevők jelenléte, a gomba-növény interakció, a növényi stressz, a gomba számára elérhető tápanyagok minősége és mennyisége, vagy akár a mikrobiális kompetíció (Diener és mtsai. 1987; Streit és mtsai. 2012; Marroquín-Cardona és mtsai. 2014).

A klímaváltozás hatására megváltozott időjárási körülmények teret adnak egyes penészgombák intenzívebb szaporodásának és/vagy toxintermelésének (Marroquín-Cardona és mtsai. 2014). Az egyes klímaváltozási scénáriók alapján a kutatók különféle predikciós modellek segítségével próbálják megbecsülni a mikotoxin-kitettségre várható mértékét és földrajzi (pl. Európán belüli) eloszlását (Medina és mtsai. 2014). Az egyik legnagyobb jelentőséggel bíró mikotoxint, az aflatoxin B₁-et termelő *Aspergillus flavus*-t, bár elsősorban raktári penészként tartják számon, a növény fertőződése a gomba életciklusából adódóan már a termesztés során bekövetkezhet és kedvező környezeti körülmények között a toxintermelés is megindulhat (Abbas és mtsai. 2009). Battilani és mtsai. (2016) az európai kukoricatáblák aflatoxin-terheltségének növekedését vetítik előre a betakarítás időszakára vonatkozóan, és hangsúlyozzák, hogy az átlaghőmérséklet emelkedésével új, ez idáig még csak kevésbé érintett közép- és dél-európai régiók válhatnak fokozottan veszélyeztetetté. Dobolyi és mtsai. (2013) magyarországi kukoricatáblák (országos szintű) mintavételezését követően az összes minta 63,5 %-ból mutattak ki *A. flavus* törzseket, amelyek 18,8 %-a képes volt az aflatoxinok termelésére.

Mikotoxinok a haltakarmányokban

Az 1950-es évektől 2012-ig a világ népessége közel háromszorosára, haltermelése pedig majdnem nyolcszorosára nőtt. Magyarországra vonatkozóan ez a kép, legalábbis a halfogyasztás tekintetében, kevésbé kecsegtető. A világon az egy főre jutó átlagos halfogyasztás 2012-ben 3,6-szorosa volt a hazainak (KSH 2013). A halhús fontos szereplője kellene, hogy legyen étrendünknek, hiszen például a benne lévő omega-3 zsírsavak hozzájárulhatnak a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának megelőzéséhez (Kris-Etherton és mtsai. 2002). A megfelelő minőségű és a lakosság nagy része számára megfizethető halhús elérhetőségének biztosításához kiemelten fontos a haltakarmányokban potenciálisan megjelenő nemkívánatos vegyületek hatásainak ismerete és azok mennyiségének bizonyos szint alatt tartása. A takarmányok mikotoxin-szennyezettsége kihatással van a

gazdasági állatok táplálékfelvételére, a táplálóanyagok hasznosulására, illetve vakcinázásának hatékonyságára is, amely jelentős mértékű hozamcsökkenést és abból adódó gazdasági károkat idézhet elő (Tolosa és mtsai. 2013). A haltakarmányok a tenyésztett halfajtól függő mennyiségben energiaforrásként gabona alapú összetevőket is tartalmaznak, (a búza mennyisége pontyféléknél 20-70 %, szivárványos pisztrángnál 15-27 %), amelyek aránya jelentős mértékben befolyásolja a halak mikotoxin-kitettsége mértékét (Pietsch és mtsai. 2013). A fő hagyományos fehérjeforrásokat, így például a hallisztet, áruk növekedése, illetve elérhetőségük és minőségük fluktuációja miatt egyre gyakrabban helyettesítik, vagy egészítik ki növényi eredetű alapanyagokkal (Glencross és mtsai. 2007). E téren nyújt alternatívát például a bioetanol gyártás során keletkező DDGS (szeszipari száraz gabonamag oldható anyagokkal) (Manning & Abbas 2012; Heincinger és mtsai. 2012). A kukorica feldolgozásakor azonban a jelen lévő mikotoxinok ellenállnak a fermentációs folyamatnak, sőt azok mennyisége a végtermékben, azaz a DDGS-ben átlagosan háromszorosára nő (Wu & Munkvold 2008). A haltakarmányozásban felhasználják továbbá a búza takarmánylisztet, mint malomipari mellékterméket, amelynek jelentős részét a maghéjtörmelék képezi (Manning & Abbas 2012). Egyes malomipari termékekben a mikotoxin tartalom csökkenése viszont éppen a szemtermés külső részének eltávolításán alapul, tehát a gabona szennyezettségétől függően az elkülönített korpa és a takarmányliszt relatíve nagyobb arányban tartalmazhatja ezeket a káros vegyületeket (Cheli és mtsai. 2013). Figyelembe kell venni emellett, hogy bizonyos gomba-toxinok, így például a deoxinivalenol számottevő mértékben képes a szemtermés belső rétegébe (az endospermiumba) is diffundálni (Thammawong és tsai. 2011; Edwards és mtsai. 2011). A kockázat csökkentésének érdekében ezért a legfontosabb szempont a feldolgozás előtti megelőzés, amelyet a megfelelő agrotechnikai és raktározás technológiai műveletek biztosíthatnak (Anater és mtsai. 2016).

Mikotoxinok az élővizekben

Bár a penészgombák által termelt mérgező anyagok egészségügyi kockázata elsősorban a kontaminálódott takarmányok és élelmiszerek fogyasztásán keresztül jut érvényre, több tanulmány kimutatta előfordulásukat az elfolyó és élővizekben is. A vízi rendszerekben esetlegesen megjelenő mikotoxinok legfőbb potenciális forrásai a szennyvíztisztító telepek, a penészgombával fertőződött ültetvények, illetve a szennyeződött takarmányt fogyasztó állatok ürülete (Kolpin és mtsai. 2014). Ebben a kontextusban elsődlegesen a *Fusarium* fajok által termelt, perzisztens és vízzoldékony karakterű fumonizinek és a deoxinivalenol (Bucheli és mtsai. 2008), továbbá a mérsékelt vízzoldékony zearalenon és annak metabolitjai kerülnek előtérbe (Schwartz és mtsai.

2010). Bucheli és mtsai. (2008) az elsők között hívták fel a figyelmet a *Fusarium* toxinokra, mint potenciális vízi mikroszennyezőkre. Svájc területén lévő folyók és a búzatabláról elfolyó esővizek mintavételezését követően 23 – 4900 ng/l, illetve n.d. – 22 ng/l koncentrációkban mutattak ki deoxinivalenolt, amely átfedést mutat számos peszticidre vonatkozó értéktartománnyal. Hasonló értékeket mértek szennyvíztisztító telepek másodlagos ülepítőiből származó vízmintákban is (Schenzel et al. 2012). Kolpin és mtsai. (2014) olyan egyesült államokbeli szennyvíztisztító telepek kifolyóit, illetve folyók mikotoxin-terheltségét monitorozták, amelyek intenzív mezőgazdasági- vagy állattenyésztési tevékenységet folytató területeket szegélyeznek. A leggyakrabban detektált mikotoxin a deoxinivalenol volt (77%), amelyet a nivalenol (59%), a bauvericin (43%) és a zearalenon (26%) követett. Bár a legtöbb esetben a mért koncentrációk nem haladták meg az 50 ng/l értéket, egyes területeken azonban 100 – 1000 ng/l-es értékeket is mértek. Különböző ipari szennyvízkifolyókból 95,5 – 220 ng/l tartományban mutatták ki az ösztrogén hatású zearalenont (Lundgren & Novak 2009), amely már µg/l-es nagyságrend alatti koncentrációban is szignifikáns mértékben befolyásolta zebradániók fekunditását (Schwartz és mtsai. 2010) és észlelhetően indukálta az ösztrogenikus hatás biomarkereként szolgáló vitellogenin kifejeződését (Bakos és mtsai. 2013).

A mikotoxinok halakra gyakorolt élettani hatásai

A legfontosabb, haltakarmányokban potenciálisan megjelenő penészgomba-mérgek az aflatoxinok, az ochratoxinok, a zearalenon, a trichotecének és a fumonizinek (Gonçalves és mtsai. 2016). A különböző *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok eredményei a mikotoxinok káros biológiai hatásainak széles skálájáról tesznek tanúbizonyságot. Számos ismeret áll rendelkezésre az általuk előidézett fenotípusos elváltozásokról, esetenként metabolizmusukról, génkifejeződést befolyásoló képességükről, feltárva hatásmechanizmusuk néhány aspektusát és toxicitásuk célpontjait. A toxikózis mértékét alapvetően a toxin típusa, annak biológiai hozzáférhetősége, mennyisége, az expozíció időtartama, az egyed életkora és fiziológiai állapota, valamint a faj és az ivar befolyásolja (Tolosa és mtsai. 2013; Anater és mtsai. 2016).

Halakban is az aflatoxin-B1 az egyik leggyakrabban vizsgált mikotoxin, amely kiemelkedően nagy akut és krónikus toxicitással bír minden gerinces állatban (Anater és mtsai. 2016). Mutagén és karcinogén potenciáljáért a szervezetben belüli metabolizmus során keletkező reaktív köztitermék a felelős, amely hatékonyan kötődik nukleinsavakhoz és fehérjékhez (Guengerich és mtsai. 1998). Szivárványos pisztrángnál májkárosodás, alacsony hematokrit érték, ödémák, gyakori bevérzések és a táplálóanyagok metabolizmusában bekövetkező zavar jelenik meg akut mérgezés esetén (Matejova és mtsai. 2016). Be-

folyásolja továbbá egyes halfajok lokomotoros aktivitását és táplálékfelvételt (Sahoo és mtsai. 2011). Szubakut és krónikus kitétség esetén is a májat érintő elváltozások a legjelentősebbek, csökken továbbá a táplálékanyagok hasznosulása, emellett immunszuppresszió, keringési és idegrendszeri zavarok, illetve tumorképződés következhet be (Ottinger & Kaattari 2000; Santacroce és mtsai. 2008).

Az ochratoxin-A által előidézett mérgezés tünetei részben hasonlóak az aflatoxin B₁-nél tapasztaltakkal. Elsődleges célpontja a vese és a máj (Fuchs és mtsai. 1986; Matejova és mtsai. 2016). Zebradánióánál kihatással volt a vese fejlődésére és csökkentette a glomeruláris filtrációs rátát (Wu és mtsai. 2016). Relatív kevés vizsgálatot végeztek azonban ezzel a mikotoxinnal halakon, ami további feltáró munkát tesz szükségessé.

A zearalenon és metabolitjai a hormonháztartást befolyásoló, ösztrogenikus tulajdonságukkal emelkednek ki a mikotoxinok közül. Nagy affinitással kötődnek az ösztrogén receptorokhoz, ami komoly következményekkel járhat az állat ivari fejlődésére és reprodukciójára nézve (Pietsch és mtsai. 2013). Zebradánióánál például befolyásolta az ivás gyakoriságát és az utódszámot, jelentős mennyiségű vitellogenin termelődést indukált, relatíve magasabb koncentrációban pedig számos külső morfológiai elváltozást idézett elő az embrionális fejlődés során (Schwartz és mtsai. 2010; Bakos és mtsai. 2013).

A trichotecének közül a T-2 toxin és a deoxinivalenol rendelkezik a legjelentősebb biológiai hatásokkal (Matejova és mtsai. 2016). A T-2 toxin fehérjeszintézis-gátló vegyület, amelynek legfőbb célpontjai a szervezetben a csontvelő és az emésztőcsatorna epithel sejtjei (Kalantari & Moosavi 2010). Halaknál leírt főbb tünetek a megváltozott hematokrit érték és hemoglobin koncentráció (Poston és mtsai. 1982), gasztrointesztinális léziók és bevérzések, illetve a csökkent tömeggyarapodás (Manning és mtsai. 2003, Balogh és mtsai. 2009). A termény feldolgozási eljárásoknak ellenálló, hőstabil deoxinivalenol, bár a T₂ toxinhoz képest kevésbé toxikus, a takarmányokban való gyakori előfordulása, illetve akut és krónikus hatásai miatt szintén nagy jelentőséggel bír (Sugita-Konishi és mtsai. 2006; Matejova és mtsai. 2016). A riboszómákhoz kötődve gátolja a fehérjeszintézist. Vomitoxin néven is megjelenik a szakirodalomban, amely kifejezés toxikózisának egyik, főképp sertésben előforduló fő tünete, a hányásra utal (Vesonder & Hesseltine 1980; Rotter 1996). Halakkal végzett vizsgálatok eredményei alapján széles körű biológiai hatásokról számoltak be. Zebradánióánál oxidatív stresszt indukált és kihatással volt a reprodukcióra valamint a lárvák viselkedésére (Sanden és mtsai. 2012). Szívárványos pisztrágnál befolyásolta a táplálékanyagok metabolizmusát, azok csökkent hasznosulását eredményezve, továbbá változásokat idézett elő a vérplazma hematológiai és biokémiai paramétereiben, a veseszövet struktúrájában, valamint növelte egyes immunspecifikus markergének kifejeződésének mértékét (Matejova és mtsai. 2014, 2015).

A fumonizinek legnagyobb jelentőséggel bíró képviselője a fumonizin B₁. Hatásmechanizmusának középpontjában a szfingolipid anyagcsere megzavarása áll, elsősorban a ceramid-szintáz enzim gátlásán keresztül. Ennek következtében megváltozik a sejtek növekedése, differenciálódása és apoptotikus sejtelhalás következik be (Desai és mtsai 2002). Pontyok szubkrónikus kitétsége esetén tömegvesztést tapasztaltak, valamint megnőtt a bakteriális eredetű fekélyes bőrgyulladás előfordulásának gyakorisága a kezelési csoportokban (Pepelnjak és mtsai. 2003). Csatornaharcsánál szintén megfigyelték egyes betegségekre való fogékonyság növekedését (Lumlerdacha és mtsai. 1995). Pontynál neurodegeneratív, illetve több halfajnál hematológiai elváltozásokat is leírtak (Kovačić és mtsai. 2009).

Ahogy az emlős- vagy madárfajoknál is tapasztalták, az egyes halfajok között is jelentős érzékenységbeli különbségek adódnak az egyes mikotoxinokra nézve. Az eddig vizsgált halfajok közül a legérzékenyebb a szívárványos pisztráng, míg a csatornaharcsa és a tilápia bizonyos mikotoxinok esetében alacsony érzékenységet mutatott (Hooft és mtsai. 2010, Anater és mtsai. 2016). Ennek hátterében többek között a biotranszformációs útvonalak különbségei, és az abban résztvevő enzimek eltérő mértékű kifejeződése állhat, de fontos figyelembe venni az egyedek egészségi állapotát, életkorát, és az aktuális környezeti paramétereket (pl. vízhőmérséklet), valamint az adott vizsgálat során alkalmazott expozíciós útvonalat is (Hooft és mtsai. 2010, Manning & Abbas 2012).

Bár kísérleti körülmények között számos kóros folyamatot leírtak, sok esetben nehéz bizonyítani, hogy egy adott tünetegyüttes megjelenésének hátterében mikotoxikózis húzódik (Anater és mtsai. 2016). A viszonylag alacsonyabb koncentrációkkal történő krónikus, vagy az egyedfejlődés korai szakaszára korlátozódó kitétség következményei egyes esetekben lassan vagy csak jóval később manifesztálódnak, amely például különböző betegségekre való fogékonyságban jutnak érvényre (Pepelnjak és mtsai. 2003, Gluckman 2008). Továbbá, a penészgombával fertőzött takarmányban egyszerre több mikotoxin is lehet jelen, amelyek adott koncentrációkon külön-külön még nem feltétlenül eredményeznének számottevő biológiai elváltozást, együttes jelenlétük azonban már problémákat okozhat (Manning & Abbas 2012, Gonçalves és mtsai. 2016). Meglehetősen hiányosak az ismereteink a mikotoxinkeverékek halakra gyakorolt hatásairól (Gonçalves és mtsai. 2016). A már középpontba helyezett vegyületek részletesebb megismerésén túl, a potenciális veszélyeket hordozó penészgomba-toxinok listájának bővítése is fontos szereppel kell, hogy bírjon. A szakirodalom kiemel néhány olyan, ma még csak kevésbé ismert, de a halak takarmányokban is megjelenő, *Fusarium* fajok által termelt vegyületeket (pl. enniatinok, bauvericin), amelyek *in vitro* körülmények között citotoxikusnak bizonyultak (Tolosa és mtsai. 2014). Hatásaik részletesebb megismerését szolgáló *in vivo* tesztek azonban jelenleg még nem állnak rendelkezésre.

kezésre. Nagyon kevés ismerettel rendelkezünk továbbá az ún. „maszkolt” vagy „rejtett” mikotoxinok toxicitásáról, amelyek a gazdanövény védekező mechanizmusa révén alakulnak ki (Berthiller és mtsai. 2013).

A zebraadánió, mint feltörekvő modellszervezet szerepe a mikotoxinok állat- és humán egészségügyi hatásainak feltérképezésében

A fentiekben tárgyalt jelenségek, illetve hiányosságok felhívják a figyelmet olyan modellrendszerek kialakításának jelentőségére, amelyek *in vivo* képesek egy komplex hatás-vizsgálat felállítására, relatíve magas mintaelem számot biztosítanak, és emellett viszonylag költséghatékonyak. Ezen szempontok és további előnyös tulajdonságai alapján a zebraadánió (*Danio rerio*) kiemelkedik a csontoshalak közül. A halfaj elsőként a fejlődésbiológia és genetika modellállataként vált világszerte ismertté és alkalmazottá, ezt követően pedig egyre gyakoribb tesztszervezete lett a farmakológiai és toxikológiai vizsgálatoknak (Detrich és mtsai. 1998; Hill és mtsai. 2005; McGrath & Li 2008). A zebraadánió rövid generációs idővel rendelkező, kisméretű csapathal. Nagy mennyiségű ikrát produkál, amelyek átlátszóak, így fejlődésük és az embrionális fejlődés során bekövetkező morfológiai rendellenességek folyamatosan és jól nyomon követhetők (Teraoka és mtsai. 2003). A könnyen kezelhető ikrák és a lárvák kis térfogatú közeget igényelnek, ami a vizsgálati anyag relatíve kis mennyiségben történő felhasználását igényli (Brittijn és mtsai. 2009). A különféle vegyületek toxicitásának embrionális szakaszban történő teszteléséhez OECD (TG236) irányelv került kidolgozásra. Az

állatok fenntartásához komplett recirkulációs rendszerek állnak rendelkezésre, amelyek nagy egyedszámú állomány befogadására képesek, és precízen szabályozható környezetet biztosítanak (Brand és mtsai. 2002). Kiemelendő, hogy napjainkra már számos olyan transzgenikus vonalat hoztak létre, amelyek lehetővé teszik a sejt, szövet, szerv, illetve szervrendszer szintű specifikus elváltozások monitorozását is (Spitsbergen & Kent 2003). Lehetőség van továbbá nagy egyedszámmal történő viselkedésvizsgálat elvégzésére is, amelynek során a lárvák mozgás-mintázata célzott szoftver segítségével kiértékelhető és összehasonlítható (Ulhaq és mtsai. 2013). A zebraadánió esetében viszonylag rövid időtávot igénylő többgenerációs tesztek pedig alapot szolgáltathatnak a szennyező anyagok utódokra gyakorolt hatásainak, és az azok mögött húzóó epigenetikai változások megismeréséhez is (Baker és mtsai. 2015).

A zebraadánió a fentiek alapján egy olyan előremutató modellrendszert képvisel, amelynek segítségével a különféle xenobiotikumok, így például a mikotoxinok, biológiai hatásai egyre specifikusabb szinten megismerhetővé válnak.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni Dr. Mézes Miklós professzor úrnak, Dr. Urbányi Béla professzor úrnak és Czimmerer Zsoltnak a kézirat figyelmes átolvasását és építő jellegű észrevételeiket!

Az irodalmjegyzék a szerzőknél és a szerkesztőségnél elérhető, valamint a HALÁSZAT-TUDOMÁNY 5. számában (elektronikus formában: www.hoi.hu) teljes terjedelemben elérhető.

Különböző összetételű haltakarmányok hatása a halastavak vízminőségére

Berzi-Nagy László^a, Jakabné Sándor Zsuzsanna^a, Adorján Ágnes^a, Tóth Flórián^a, Rónyai András^a, Gál Dénes^a, Dankó István^b, Csengeri István^a, Kerepeczki Éva^a

^aNemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Halászlati Kutatóintézet, Szarvas, Anna-liget 8, 5540

^bAranykárász Bt., Szarvas, Anna-liget 8, 5540

ÖSSZEFOGLALÁS

Tanulmányunkban háromféle takarmánytípus: egy halliszttartalmú (FB) és egy növényi alapú (PB) összetett, teljes értékű táp, valamint a búzatakarmányozás (CT) vízminőségre kifejtett hatását teszteltük, egy hároméves, félintenzív pontynevelésen alapuló vizsgálatban. Az éves

vízminőségi mutatók varianciaanalízise nem igazolt statisztikailag szignifikáns eltéréseket a különböző takarmányokkal etetett tavak között. Eredményeink alapján a magasabb fehérjetartalmú takarmányok közül a halliszt-alapúnak a növényi alapúval való kiváltása nem okozott nitrogén-, foszfor- vagy szervesanyagfelhalmozódást a víztestben, így a vizsgált takarmánytípus alkalmazása

nem járt környezeti kockázattövekedéssel. Az évek közötti különbségek azonban statisztikailag igazolható eltérések mutattak, mely magyarázható például a halak korosztályára jellemző táplálkozási sajátosságokkal, a halak méretével és az évről-évre változó környezeti tényezőkkel.

EFFECTS OF DIFFERENT FISH DIETS ON THE WATER QUALITY OF SEMI-INTENSIVE CARP PONDS

SUMMARY

A long-term feeding trial and water quality analysis were conducted between 2013 and 2015 in semi-intensive carp rearing ponds. The effects of three different types of feed on the nitrogen, phosphorus and organic matter content of the water column of the fish ponds were compared: fish meal and fish oil containing diet (FB – moderate fishmeal based), plant meal and plant oil based diet (PB - plant protein based) and cereals (CT - traditional control). The trials were carried out in 9 earthen ponds at Szarvas, Hungary. The effect of the year on the studied water quality parameters proved to be a more significant factor than the feed types under the applied pond management. From an environmental point of view the plant based feed does not seem to be less suitable than the fishmeal based feed in carp culture.

Bevezetés

Az emberi népesség növekedésével párhuzamosan emelkedik az állati fehérje iránti kereslet. Az akvakultúra szektor az állattenyésztés egyik legdinamikusabban növekvő ága, melynek termelése 2014-ben elérte és meghaladta a természetesvízi halászatból származó hozamot (FAO, 2016). Az akvakultúra ágazat jelentős intenzifikálása a legtöbb halfaj, így a ponty (*Cyprinus carpio*) esetében is megfigyelhető (Lukowicz, 1982; Pucher és Focken, 2015; Rajic et al., 2016). A hazai akvakultúrában a pontynak meghatározó szerepe van, termelése nagy múltú hagyománnyal rendelkezik az extenzív és félintenzív halastavi termelési formában is. Megfelelő adottságok mellett a fajlagosan kisebb terület- és vízigényével, valamint a rövidebb termelési periódusokkal az intenzív termelés versenyképesebb alternatívát biztosíthat a termelők számára Magyarországon is.

Az intenzifikálás azonban új környezeti kihívások elé állítja a szektort. A fenntarthatóság egyik pillére a környezettudatos termelés kialakítása és fenntartása. A nem megfelelő takarmányozási módok tápanyag-felhalmozódást okozhatnak a víztestben és ez a tápanyagtöbblet potenciális kockázatot jelent a halastó vízminőségére, illetve lecsapoláskor a befogadó víztér ökológiai viszonyaira is. A főlegben lévő tápanyagok a baktériumok és fitoplankton szervezetek gyors szaporodását eredménye-

zik, mellyel rendszerint a vízminőség romlása is együtt jár. Az oldott oxigéntartalom nagyarányú ingadozása, az anaerob rétegek és a toxinok megjelenése okozhatják a halastavak termeléseszkökkenését, valamint a természetes vizek károsodását idézhetik elő.

Környezeti szempontból a takarmány tápanyagösszetétele kiemelten fontos (Cho and Bureau, 2001), hiszen a jól emészthető takarmányok kevesebb járulékos veszteséget és szennyezőanyagot eredményeznek (Alvarado, 1997; Cho et al., 1994; White, 2013). Az ilyen takarmányok rendszerint tartalmazzak hallisztet és halolajat, amely összetevők időszakos elérhetőségük és áruk miatt egyre kevésbé fenntarthatóak, valamint kiváltásuk más összetevőkkel indokoltá vált (Naylor et al., 2009). A halliszt és halolaj növényi alapanyagokkal való helyettesítése a leggyakrabban tenyésztett halfajoknál azonban sokszor nehézségekbe ütközik, mert a hallisztalapú takarmányok emészthetősége és hasznosulása rendszerint jobb, mint a növényi alapú takarmányoké (Dabrowski et al., 1989).

Az új tápok hasznosulásának és környezeti hatásának vizsgálata elengedhetetlen, ezért vizsgálatunkban félintenzív termelési körülmények mellett két különböző eredetű fehérjeforrásból készült takarmány és a hagyományos búzatakarmányozás hatását teszteltük az évközi, illetve a lecsapoláskori vízminőségre. Célunk a különböző takarmánytípusoknak a tóvíz nitrogén-, foszfor- és szervesanyag-tartalmára kifejtett hatásának számszerű meghatározása volt.

Anyag és módszer

A vizsgálatokat a Nemzeti Agrárkutatói és Innovációs Központ Halászati Kutatóintézetében, Szarvason végeztük az Aranykárász Bt. közreműködésével, 2013 tavaszától a 2015. évi őszi lehalászásig. A vizsgálatok során háromféle takarmányt alkalmaztunk: egy a tavi termelésben kiegészítő takarmányként használható, mérsékelt halliszt (14-16%) és halolaj (1,65-2,20%) tartalmú tápot (FB - fishmeal based), egy növényi alapú – halliszt és halolajmentes – takarmányt (PB - plant protein based), illetve kontrollként a Magyarországon hagyományosan alkalmazott gabonaőrleményt (CT - Control). A használt takarmányok a halak félintenzív tartási körülményeinek megfelelően, a tavi természetes produkció figyelembevételével lettek összeállítva. A vizsgálat első két évében kezelésenként két ismétlésben, míg a harmadik évben három ismétlésben, földmedrű tavakban zajlott a halak nevelése. Egy tó területe átlagosan $1\ 754 \pm 74\ \text{m}^2$, mélysége 1,3 méter volt. A tavak vizüket a közeli Kákafoki Holt-Körösből kapták. A vizsgálatot előnevelt halakkal indítottuk és három éven keresztül a halakat ugyanazzal a takarmánytípussal etettük. A napi takarmányadagot a próbahalászatok alapján a metabolikus testtömeg alapján ($\text{MBW}=\text{BW}^{0.8}$) számoltuk ki, melynek értékét a tenyészidő folyamán 1,0-3,5% közötti tartományban határoztuk meg a halak egysúlyának,

Table 1. Contents of the three feed types (calculated for wet weight) (FB: fishmeal containing feed, PB: plant based feed, CT: grained cereals)

1. táblázat. A három takarmánytípus beltartalma (eredeti anyagra számolva) (FB: halliszt alapú, PB: növényi alapú, CT: gabona takarmány)

	2013			2014			2015		
	FB	PB	CT	FB	PB	CT	FB	PB	CT
szárazanyag %	90,95	90,65	89,32	91,84	91,71	96,36	91,86	92,50	89,80
nyersfehérje %	33,97	34,31	11,48	32,70	31,72	10,05	30,18	29,57	9,89
nyerszsír %	6,21	5,86	1,18	6,27	5,92	1,20	7,38	7,43	0,24
nyershamu %	6,92	5,67	1,68	6,13	4,23	8,24	5,96	4,21	2,11
nitrogén %	5,44	5,49	1,84	5,23	5,08	1,61	4,83	4,73	1,58
foszfor %	1,02	0,79	0,40	1,01	0,73	0,40	0,94	0,59	0,27
szerves anyag %	84,0	85,0	87,6	85,7	87,5	88,1	85,9	88,3	87,7

illetve a vízhőmérsékletnek a függvényében. A hagyományos félintenzív termelési gyakorlatnak megfelelően minden tóba azonos mennyiségű, 2013-ban és 2014-ben évenként 2 539 kg/ha, míg 2015-ben 1 710 kg/ha trágyát juttattunk ki. A tavakra jellemző átlagos telepítési sűrűség ponty monokultúrában 15 kg/ha (20 886 egyed/ha) volt 2013-ban, 316 kg/ha (5 288 egyed/ha) 2014-ben és 804 kg/ha (1 080 egyed/ha) 2015-ben. A tavak kezelése minden takarmánytípus esetében azonos módon és időben történt. Ősszel a tavakat lecsapoltuk, az egyedek telelő tavakba kerültek, tavasszal a vízfeltöltés és a telepítés után a tavak ugyanolyan kezelést (takarmányt) kaptak, mint az előző évben. A halak korának megfelelő fehérjeigény szerint, az FB és PB takarmányok fehérjetartalma évenként kis mértékben csökkent (1. táblázat).

A vízmintákat 2013-ban hetente, 2014-ben kéthetente, míg 2015-ben havonta a teljes vízoszlopából vettük. A kifolyó vízminőséget a lecsapoláskori három rétegből (felszíni, középső, alsó szint) vett minták átlagából számoltuk. A takarmányokból minden évben a tenyészedőszak elején történt mintavétel. Az összes nitrogént a Kjeldahl-nitrogén, a nitrit- és a nitrát-nitrogén összegéből, az összes foszfort a szerves és szervetlen foszforformák összegéből, míg a szerves anyagot (OM) a lebegőanyag izzítási veszteségből számoltuk. Az analitikai mérések a hatályos Magyar Szabványok szerint készültek. A statisztikai elemzéshez (Pearson korreláció és kéttényezős variancia-analízis) az IBM SPSS szoftvercsomagját vettük igénybe, a kezeléslátlagok páronkénti összehasonlításokhoz Tukey-féle post-hoc tesztet alkalmaztunk. A statisztikai valószínűséget $p < 0,05$ -nél tekintettük szignifikánsnak.

Eredmények és értékelésük

A vizsgálat mindhárom évére elmondható, hogy az FB és PB takarmányokkal etetett halak nagyobb hozamot, és egy kivétellel alacsonyabb takarmányegyüttható értékeket produkáltak, mint a kontroll csoport. A hallisztet tartalmazó (FB) takarmány a 2015-ös év kivételével jobban teljesített, mint a növényi alapú (PB) (2. táblázat).

A teljes mintavételi időszakból származó főbb vízkémiai paraméterek átlag és szórás értékei a 3. táblázatban láthatóak. Az év során a tavakból vett vízminták átlagos nitrogén-, foszfor- és szervesanyag-tartalma nem mutatott statisztikailag igazolható pozitív korrelációt a különböző takarmányokkal bekerülő nitrogén-, foszfor- és szervesanyag-tartalommal. A halliszt és a növényi alapú tápokkal többlet nitrogén és foszfor került be a tavakba, de nem okozott magasabb összes nitrogén és összes foszfor szintet. Az évek és a takarmányok vízkémiai paraméterekre gyakorolt hatását értékelő varianciaanalízis eredményeképpen az egyes mintavételi évek között szignifikáns különbség mutatkozott a víz tápanyagtartalmában, de a takarmányok között nem. Dulic et al. (2010) takarmányos kísérletükben hasonlóképpen nem találtak eltéréseket a különböző takarmánnyal etetett tavak nitrogén- és foszforkoncentrációi között. Ez azt jelzi, hogy a takarmány összetétele kevésbé volt meghatározó a vízminőségre, mint a technológiai és a környezeti adottságok eredője (4. táblázat, 1-3. ábra). Ilyen, vízminőséget jelentősen befolyásoló technológiai hatás lehetett esetünkben például az évenként változó haltömeg, illetve a beadagolt takarmány mennyisége.

A lecsapoláskori vízminták elemzése kevesebb adatra épül, és ezért a kisebb mintaszámból adódóan a korreláció statisztikai ereje is kisebb, mint a több mintából álló éves vízminőség esetén. Mindazonáltal a lecsapoló víz minőségi elemzése fontos információt szolgáltat a befogadó vízterek közvetlen terheléséről (4. ábra). Minden évet együtt kezelve, a lecsapoló víz nitrogén (N) és szerves anyag (OM) tartalma statisztikailag igazolható, pozitív korrelációt mutatott az etetett takarmányok ugyanezen változóival (N - Pearson r : 0,554, p : 0,009; OM - Pearson r : 0,567, p : 0,007). A foszfor (P) esetében nem volt ilyen pozitív összefüggés.

Statisztikailag igazolható korreláció az összes évközben vett vízminta N, P és OM koncentrációi és a takarmánnyal bejuttatott N, P és OM koncentrációk között nem volt tapasztalható, csak a szezon végén a leeresztett víznél, és akkor is csak N és OM esetében. Erre az egyik

TUDOMÁNY

Table 2. Feed conversion ratio and net yield values (average \pm standard deviation) resulted by the three feed types
2. táblázat. A különböző kezelésekhez tartozó takarmány együttható (FCR) és nettó hozam értékek (átlag \pm szórás)

	2013		2014		2015	
	FCR (g/g)	hozam (kg/ha)	FCR (g/g)	hozam (kg/ha)	FCR (g/g)	hozam (kg/ha)
FB	1,63 \pm 0,11	1138,8 \pm 25,2	2,51 \pm 0,23	2034,8 \pm 129,4	2,54 \pm 0,09	1621,5 \pm 104,2
PB	1,91 \pm 0,08	863,7 \pm 191,7	3,54 \pm 0,01	1614,5 \pm 107,5	2,58 \pm 0,02	1819,5 \pm 83,8
CT	2,12 \pm 0,22	705,5 \pm 24,2	3,51 \pm 0,50	1418,5 \pm 122,6	3,09 \pm 0,11	1265,1 \pm 108,3

Table 3. Average and standard deviation values of all water samples grouped by feed types and years
3. táblázat. Az összes vízminőség vizminta kezelés és évek szerint csoportosított átlag és szórás értékei

Takarmány	Év	Nitrogén (mg/l)	Foszfor (mg/l)	Szerves anyag (mg/l)
		Átlag \pm Szórás	Átlag \pm Szórás	Átlag \pm Szórás
FB	2013	1,54 \pm 0,75	0,20 \pm 0,07	21,83 \pm 17,27
	2014	1,04 \pm 0,60	0,13 \pm 0,06	12,51 \pm 7,36
	2015	1,18 \pm 1,11	0,13 \pm 0,07	11,30 \pm 10,55
	Összes	1,26 \pm 0,83	0,15 \pm 0,07	15,70 \pm 13,41
PB	2013	1,48 \pm 0,95	0,19 \pm 0,07	24,61 \pm 19,66
	2014	1,45 \pm 0,95	0,15 \pm 0,09	13,59 \pm 11,11
	2015	1,27 \pm 1,16	0,13 \pm 0,07	13,23 \pm 11,91
	Összes	1,42 \pm 1,00	0,16 \pm 0,08	17,56 \pm 15,80
CT	2013	1,49 \pm 0,64	0,20 \pm 0,06	21,93 \pm 16,21
	2014	1,10 \pm 0,78	0,12 \pm 0,09	10,20 \pm 9,23
	2015	1,10 \pm 1,28	0,13 \pm 0,09	13,68 \pm 11,73
	Összes	1,25 \pm 0,90	0,15 \pm 0,09	15,47 \pm 13,74
Együtt	2013	1,50 \pm 0,78	0,20 \pm 0,07	22,78 \pm 17,63
	2014	1,20 \pm 0,80	0,13 \pm 0,08	12,10 \pm 9,38
	2015	1,18 \pm 1,17	0,13 \pm 0,08	12,74 \pm 11,30
	Összes	1,31 \pm 0,91	0,16 \pm 0,08	16,24 \pm 14,33

Table 4. Results of ANOVA procedure for all three water quality parameters using all water samples as input
4. táblázat. Az összes vízminőség vizminta felhasználásával készített ANOVA eredménye az összes nitrogén, összes foszfor és a szerves anyag esetében

	Nitrogén		Foszfor		Szerves anyag	
	F érték	p	F érték	p	F érték	p
takarmány	0,966	0,382	0,173	0,841	0,608	0,545
év	4,047	0,019	24,026	<0,001	19,993	<0,001
takarmány * év	0,688	0,600	1,289	0,274	0,273	0,895

lehetséges magyarázat, hogy az FB és PB takarmányokból származó többlettápanyag egy része az üledékbe került, és a tápanyagok a lecsapoláskori vízmozgás miatt újra beléptek a víztestbe és így a leeresztés időpontjában kimutathatóvá váltak. Ugyanakkor az eredmények nem zárják ki azt sem, hogy a lecsapoló víz minősége a termelési technológiától független, komplexebb okokra vezethető vissza.

A lecsapoló víz esetében, a tóvízhez hasonlóan, nem tapasztaltunk a takarmánytípusokhoz köthető, éveken

át fennálló vízminőségbeli különbségeket. A nitrogénkoncentráció a második évben megnőtt mindhárom takarmány esetén, majd a harmadik évben egységesen lecsökkent. A foszforkoncentráció a vizsgálat évei alatt folyamatos kismértékű csökkenést mutatott a leeresztett vízben. A szerves lebegőanyag-tartalom az évek során minden kezelés esetében nőtt.

A varianciaanalízis eredményei alapján a növényi alapanyagból készített takarmány a vízminőség szempontjából, az alkalmazott népesítési sűrűség esetén

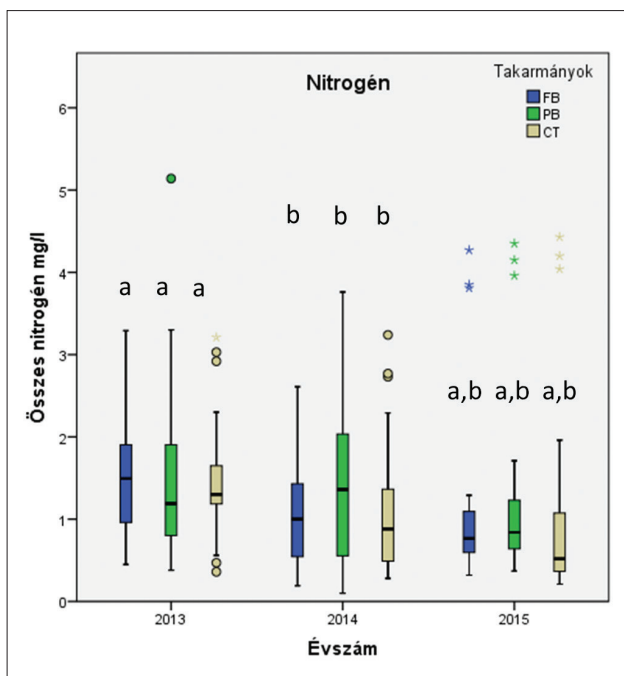


Figure 1. Changes in total nitrogen concentration by different treatments and years. Statistically significant differences are marked by letters (a, b). Marginal outliers are marked with circles and strong outliers as stars. The boxplot presents minimum, first quartile, median, third quartile and maximum values.

1. ábra. A különböző takarmányokhoz tartozó átlagos összes nitrogén koncentráció alakulása a tavakban a vizsgálat során. A szignifikáns eltéréseket a különböző betűk jelölik, a körök enyhén, a csillagok jelentősen kiugró adatpontokat jelölnek. A boxplot a minimum és a maximum értékeken kívül az első kvartilis, a medián és a harmadik kvartilis értékeit ábrázolja.

nem fejtett ki nagyobb környezeti terhelést, mint a halisztalapú takarmány, vagy akár a hagyományos gabona alapú kiegészítő takarmányozás. A takarmányoknak nem volt kimutatható szignifikáns hatása a vízminőségre. Hasonló eredményre jutottak Čirić et al. (2015) is, ahol a mintavétel dátuma szignifikáns, de a takarmánytípusok nem mutattak statisztikailag igazolható hatást a vízminőségre. Fontos azonban kiemelni, hogy habár jelen munkánkban nem volt statisztikailag igazolható hatása a takarmány összetételének az éves átlagos vízminőségre, a beadott tápanyagok mennyisége és az intenzifikálás több szerző szerint potenciális kockázatot jelent a vízminőségre (Kolasa-Jamińska, 2002; Marković et al., 2016).

Vizsgálataink alapján nem bizonyítható, hogy a félintenzív termelési technológiában a különböző tápok, összetételükből adódóan nagyobb terhelést jelentenek a befogadókra, mint a hagyományos abraktakarmány.

A lecsapolással távozó tápanyagok mennyisége – a természetes folyamatokon túl – az alkalmazott akvakultúra-technológiától és a termelési körülményektől is függ (Verdegem, 2013), ezért is fontos a jó halastavi gyakorlat kialakítása során az etetés rendszeressége, a takarmány hasznosításának folyamatos ellenőrzése és a csapolások

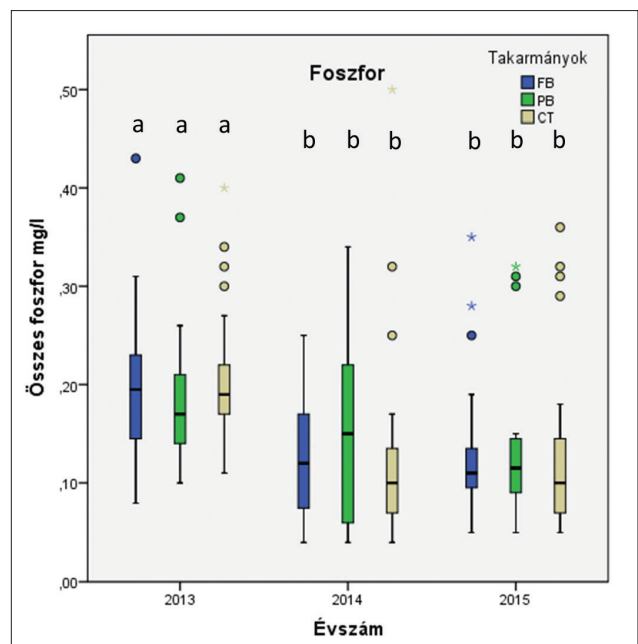


Figure 2. Changes in total phosphorus concentration by different treatments and years. Statistically significant differences are marked by letters (a, b). Marginal outliers are marked with circles and strong outliers as stars. The boxplot presents minimum, first quartile, median, third quartile and maximum values.

2. ábra. A különböző takarmányokhoz tartozó átlagos összes foszfor koncentráció alakulása a tavakban a vizsgálat során. A szignifikáns eltéréseket a különböző betűk jelölik, a körök enyhén, a csillagok jelentősen kiugró adatpontokat jelölnek. A boxplot a minimum és a maximum értékeken kívül az első kvartilis, a medián és a harmadik kvartilis értékeit ábrázolja.

megtervezése. A félintenzív technológiában alkalmazott kiegészítő takarmányetetés esetében, a fentiek betartásával nagy eséllyel minimalizálható a tápanyagokból származó környezeti terhelés.

Összegzésül elmondható, hogy a természetes folyamatok és a technológiai elemek együttesen határozzák meg a lecsapolt víz minőségét. A technológiából adódó tápanyagnövelés összefüggésben lehet a kibocsátott vízminőséggel, de ennek pontosabb meghatározása további vizsgálatokat igényel. A tesztelt takarmánytípusok intenzív termelésben történő alkalmazásának környezeti terhelését szintén fontos lenne vizsgálni, különös tekintettel a termelési intenzitásra.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A vizsgálatok az ARRINA (Haladó kutatási kezdeményezés a táplálkozásért és az akvakultúráért) és EU FP7 projekt (No: 288925) támogatásával valósultak meg. Köszönjük a NAIK Öntözési és Vízgazdálkodási Önálló Kutatási Osztály, Környezetanalitikai Központ Vizsgáló Laboratóriumának a vízminták elemzését, valamint a NAIK Halászati Kutatóintézet munkatársainak a vizsgálatok során végzett színvonalas munkáját. Köszönettel tartozunk továbbá az Aranykárász Bt.-nek a tenyésztésben

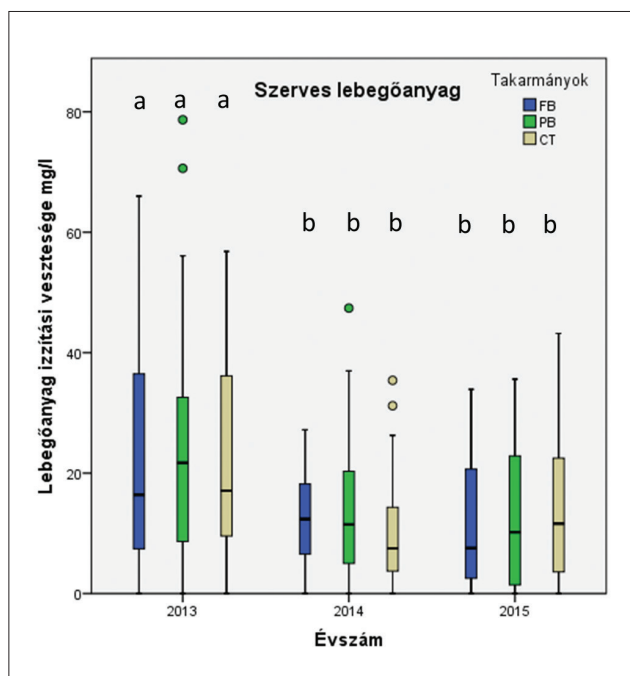


Figure 3. Changes in organic material (volatile suspended solids) concentration by different treatments and years. Statistically significant differences are marked by letters (a, b). Marginal outliers are marked with circles and strong outliers as stars. The boxplot presents minimum, first quartile, median, third quartile and maximum values.

3. ábra. A különböző takarmányokhoz tartozó átlagos szervesanyag-koncentráció alakulása a tavakban a vizsgálat során. A szignifikáns eltéréseket a különböző betűk jelölik, a körök enyhén, a csillagok jelentősen kiugró adatpontokat jelölnek. A boxplot a minimum és a maximum értékeken kívül az első kvartilis, a medián és a harmadik kvartilis értékeit ábrázolja.

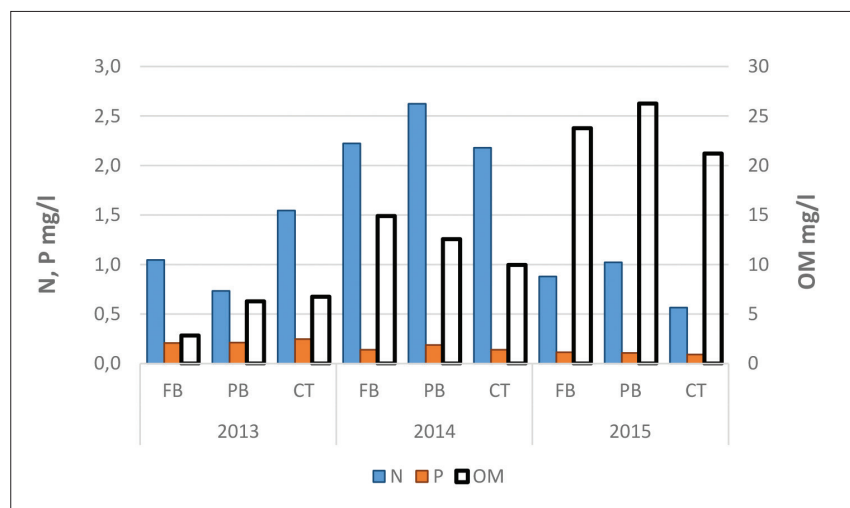


Figure 4. Total nitrogen (N), total phosphorus (P) (1st axis) and organic material (OM) (2nd axis) content of the discharged pond water

4. ábra. A lecsapolt víz összes nitrogén (N), összes foszfor (P) (1. tengely) és szervesanyagtartalma (OM) (2. tengely)

végzett több éves munkáért, Dr. Hancz Csabának a jobbitó szándékú kritikai megjegyzéseiről és véleményéért, valamint Halasi-Kovács Béla segítő javaslatairól.

Irodalomjegyzék

Alvarado, J. L. (1997). Aquafeeds and the environment. *Feeding tomorrow's fish*, 275, 289.

Cho, C. Y., Hynes, J. D., Wood, K. R., Yoshida, H. K. (1994). Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture wastes using biological approaches. *Aquaculture*, 124(1-4), 293-305.

Cho, C. Y., Bureau, D. P. (2001). A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquaculture research*, 32(s1), 349-360.

Čirić, M., Subakov-Simić, G., Dulić, Z., Bjelanović, K., Čičovački, S., Marković, Z. (2015). Effect of supplemental feed type on water quality, plankton and benthos availability and carp (*Cyprinus carpio* L.) growth in semi-intensive monoculture ponds. *Aquaculture Research*, 46(4), 777-788.

Dabrowski, K., Poczyczynski, P., Köck, G., Berger, B. (1989). Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). New in vivo test for exocrine pancreatic secretion. *Aquaculture*, 77(1), 29-49.

Dulic, Z., Subakov-Simic, G., Ciric, M., Relic, R., Lacic, N., Stankovic, M., Markovic, Z. (2010). Water quality in semi-intensive carp production system using three different feeds. *Bulg J Agric Sci*, 16(3), 266-274.

FAO. (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp.

Kolasa-Jamińska B. (2002) The intensification of pond fish production and the magnitude of the waste load discharged during autumn harvesting. *Arch Pol Fish*, 10, 187-205.

Lukowicz, M. V. (1982). Intensive carp *Cyprinus carpio* (L.) rearing in a farm pond in southern Germany and its effects on water quality. *Aquacultural Engineering*, 1(2), 121-137.

Marković, Z., Stanković, M., Rašković, B., Dulić, Z., Živić, I., Poleksić, V. (2016). Comparative analysis of using cereal grains and compound feed in semi-intensive common carp pond production. *Aquaculture International*, 24(6), 1699-1723.

Naylor, R. L., Hardy, R. W., Bureau, D. P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A.

P., Nichols, P. D. (2009). Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), 15103-15110.

Pucher, J., Focken, U. (2013). Intensification of common carp culture in rural areas of northern Vietnam by plant-based feeds with protein sources of different qualities. In: Poleksic V. (ed.) *6th International Conference "Water & Fish"*. 12-14 June, University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade-Zemun, Serbia, pp. 44-49.

Rajic, Z., Vignjevic-Đorđević, N., Canak, S. (2016).

Production and economic results of intensive carp (*Cyprinus carpio*) farming in Serbia. *Ekonomika Poljoprivrede*, 63(4), 1445.

Verdegem, M. C. (2013). Nutrient discharge from aquaculture operations in function of system design and production environment. *Reviews in Aquaculture*, 5(3), 158-171.

White, P. (2013). Environmental consequences of poor feed quality and feed management. *On-farm feeding and feed management in aquaculture, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, (583).

Alternatív fehérjeforrások a haltakarmányozás során: A rovarliszt

Révész Norbert

Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Halászati Kutatóintézet, Szarvas

ÖSSZEFOGLALÁS

A rovarlisztek ígéretes alapanyagoknak bizonyulnak a halliszt kiváltására a haltakarmányokban. Ez köszönhető a magas fehérje tartalmuknak és halliszthez közeli esszenciális aminosav összetételüknek. Aminosav kiegészítés mellett vagy több fehérje forrás alkalmazása mellett csökkenthető a rovarliszt alkalmazásának hátránya. A lipidoxidáció és a hátrányos zsírsav összetétel a legnagyobb limitáló tényező a haltakarmányok halliszt és/vagy halolaj kiváltásakor. A zsírcsökkentett rovarlisztek jobb eredményekkel bírnak, azonban még több vizsgálat elvégzése szükséges. Az áruhal méret elérése előtti szakaszban a rovarliszten nevelt halakat hallisztben/halolajban gazdag tápon szükséges nevelni, megnövelve a halfilé ω -3 zsírsav tartalmát. Alternatívaként szóba jöhet a vízi rovarok alkalmazása is a haltápokban, azonban ezek tömegtermelése még nem megoldott. Ragadozó tengeri halfajoknál a halliszt teljes kiváltása rovarliszttel negatív hatások nélkül még sikertelen, csupán a részleges kiváltás lehetséges. Növényevő vagy mindenevő fajok esetén a rovarliszt rendkívül jó teljesítményt produkált, mindemellett az emészthetőségük is megfelelő.

A megfelelő mértékű halliszt kiváltás eléréséhez – növekedés lassulás, negatív egészségre gyakorolt hatások nélkül – különböző technológiákat vethetünk be, úgymint szárítás, zsírtalanítás, szubsztrát manipulálás, termelési technológiák fejlesztése, antioxidáns kiegészítés. Ezáltal javíthatjuk a tápanyag összetételt, az emészthetőséget és csökkenthető a potenciális toxinnal való szennyeződés.

SUMMARY

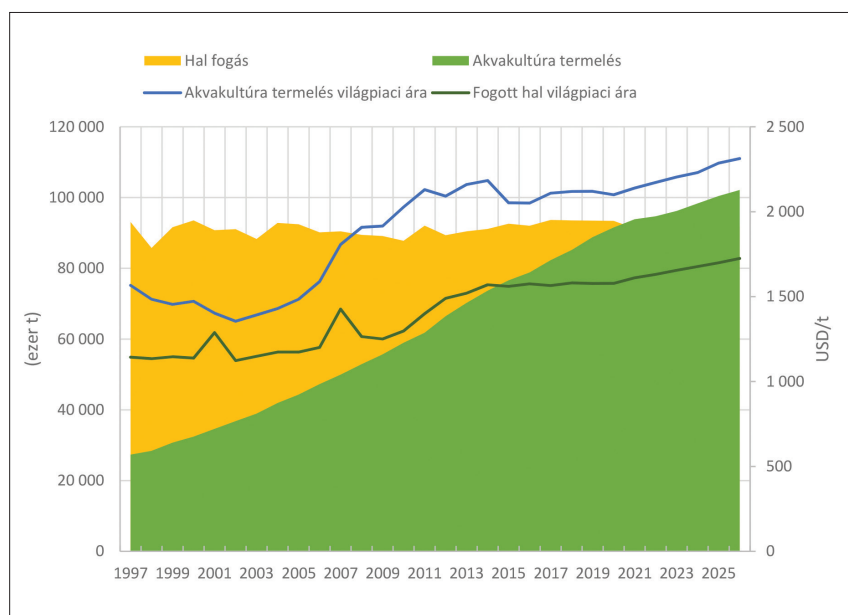
ALTERNATIVE PROTEIN SOURCES IN FISH FEEDS: THE INSECT MEAL

Norbert Révész

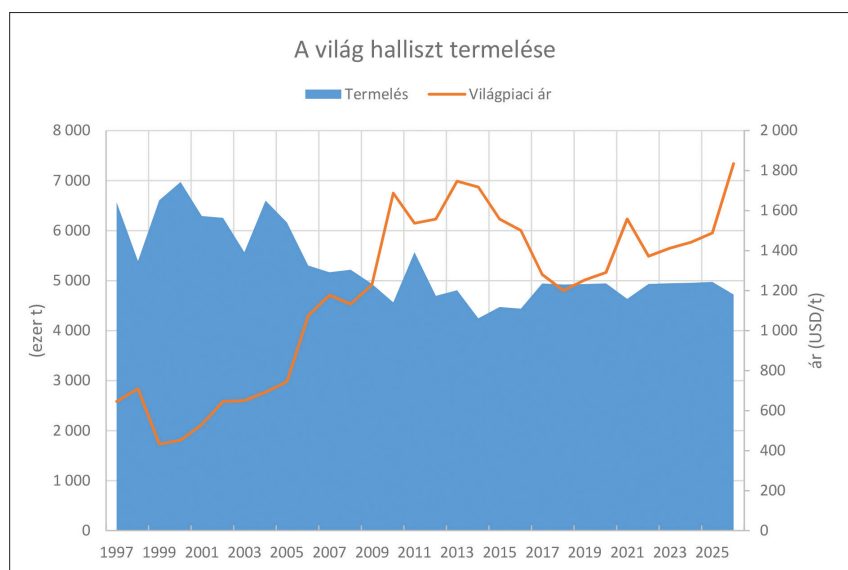
National Agricultural Research and Innovation Centre, Research Institute for Fisheries and Aquaculture, Szarvas, Hungary

To replace fish meal, insect meals are promising fish feed ingredients, thanks to their high protein and valuable essential amino acid content. The limitations of insect meal can be reduced by amino acid supplements. The main problems in replacing the fish meal and fish oil in fish feeds with insect meal is their fatty acid composition and the lipidperoxidation. Defatted insect meals showed better results, but require further research. Before reaching the market size, the fish have to be fed with fish meal/fish oil based diet to achieve the fish flesh's ideal ω -3 fatty acid content. To produce the insects safely in industrial quantity is still a challenge. The full fish meal replacement in case of carnivorous seawater fish species is not accomplished without negative effects. Only the partial replacement is successful. In case of omni- and carnivorous fish species, feeding with insect meal based artificial diets showed promising performance and good digestibility.

To achieve adequate fish meal replacement in fish feeds without negative effects - such as worse growth performance and health problems - there is a range of



1. ábra: A halfogás és az akvakultúra termelés kapcsolata világviszonylatban (OECD/FAO, 2017) / Worldwide relation of fish capture and aquaculture production



2. ábra: A világ halliszt termelésének alakulása és becslése (OECD/FAO, 2017) / Worldwide fish meal production data with future estimation

technological procedures (drying, defatting, substrate manipulating, development of production technologies, antioxidant supplementation) to make this goal. Hereby, we can enhance the nutrient composition, digestibility and reduce the risk of potential toxic contamination.

BEVEZETÉS

Az akvakultúra világviszonylatban a leggyorsabban fejlődő mezőgazdasági szektor. A legnagyobb növekedést Kína produkálta, ahol éves szinten 16%-kal nőtt a terme-

lés az elmúlt 20 évben. Amennyiben Kínát kihagyjuk a statisztikai számításokból, úgy a világ akvakultúrából származó termelése évi 6,3 %-kal emelkedett az elmúlt 30 év során (OECD/FAO, 2017). A becslések a humán populáció növekedését jósolják, amelyek ha helytállóak, úgy 2030-ra - a jelenlegi fogyasztási normákkal számolva - az emberiségnek további 40 millió tonna akvakultúra termékre lesz szüksége. Az egyre növekvő szükséglet kielégítése miatt nagyobb nyomás nehezedik az akvakultúra szektorra is, hatékonyabb termelői rendszerek fejlesztését eredményezve. Az intenzív termelésre nagy hatással van a takarmányok minősége, és annak ára, amelyek optimalizálása folyamatos kihívást jelent a kutatók számára. Ehhez járul még, ha a tengeri fogásokat nem sikerül növelni, vagy ha azok mennyisége csökken. Az 1. ábrán látható a halfogásból és az akvakultúra termelésből származó számszerűsített adatok, valamint azok világpiaci ára 1997-től kezdődően és 2026-ig jósolva (OECD/FAO, 2017). Az igények kielégítéséhez elengedhetetlen az akvakultúrából származó árucikkek előállításának felgyorsítása, a termelés intenzifikálása. A takarmányok előállításának költségét leginkább a benne található fehérje forrása szabja meg. A minőség mellett fontos, hogy a fehérjetartalom megfelelő mennyiségben legyen jelen. Az akvakultúra termékek - amellet, hogy étrendünk értékes alkotóelemét képezik - többnyire helyi termelőktől származnak, így szerepük van a helyi gazdaság fellendítésében is.

A haltakarmányok alapanyagai manapság rendkívül széles körből kerülnek kiválasztásra. Mindegyiknek más a fizikai tulajdonsága és táplálóanyag összetétele. A tápgyártás során a fizikai és funkcionális jellegzetességek jelentős különbségeket okoznak a tápok között. A fenntartható haltakarmányok gyártásának feltétele a tudományos alapok figyelembe vétele és a megbízható alapanyag forrás megléte. Mindez hatékony, környezetbarát, haljóléti szempontból is megfelelő haltakarmányok gyártásához vezet, ami által gazdag táplálóanyag tartalommal rendelkező, minőségi élelmiszerforráshoz juthatunk.

A jó minőségű haltakarmányok előállítása a jó minősé-

gű alapanyagok kiválasztásával kezdődik, mindazonáltal fontos megérteni, mit foglal magába a minőség a gyártás során. A minőségi összetevő a megfelelő mennyiségű és minőségű táplálóanyagokat (aminosavak, zsírsavak, vitaminok, ásványi anyagok, azok emészthetőségét, élvezeti értékét, melyek kihatnak a takarmány hatékonyságára) tartalmazza, valamint biztosítja a tápok fizikai integritását (a pellet keménysége, tartóssága, kötöttsége, keményítő zselatinizációja, sűrűsége, olaj abszorpciós kapacitása és vízdékonysága).

A mezőgazdaság más ágazataihoz hasonlóan az akvakultúra esetében is a legfontosabb szempont az, hogy a környezet védelme és az állatok jóllétének biztosítása mellett egészséges élelmiszereket állítson elő. A víziállat-tenyésztéshez elsősorban tiszta vízre és higiénikus termelési feltételekre van szükség. Sok esetben a tenyésztett hal vagy kagyló megtalálja a számára szükséges táplálóanyagokat a környezetében, de bizonyos esetekben a termelők gondoskodnak a kiegyensúlyozott és egészséges étrendet biztosító, takarmányról. Mindez a szigorú környezet- és fogyasztóvédelmi előírásokkal összhangban valósul meg.

1. A halliszt

A világ nagy részén a tenyésztett halak takarmányai hagyományosan halliszten és halolajon alapulnak, amelyek a tengerek, óceánok halfogásából származnak. Ezekre az alapanyagokra egyre növekszik a kereslet, ugyanis nem csak a növekvő akvakultúra szektor követel több takarmány alapanyagot, hanem a humán egészségpiac is „kivetette rá a hálóját” (pl.: halolaj tartalmú étrend kiegészítők). Ennélfogva a fenntarthatóság és a versenyképesség megtartása érdekében csökkenteni kell az akvakultúra halliszt, halolaj függését alternatív források segítségével.

A tengeri eredetű halliszt a mai napig a legfontosabb és legtöbbször használt alapanyaga az akvakultúrában alkalmazott keverék takarmányoknak. Mindezt a kiemelkedő minőségű, mennyiségű és megfelelő összetételű esszenciális aminosav tartalmának, ω -3 többszörösen telítetlen zsírsav tartalmának, ásványi anyag tartalmának és magas élvezeti értékének köszönheti. A hallisztet főképp a tengerekből, óceánokból fogott kisméretű halakból (pl.: szardella, makréla, stb.) állítják elő, melyek közvetlen emberi fogyasztásra alkalmatlanok.

A megnövekedett igények és az egyre szűkülő hozzáférhetőség miatt a halliszt és halolaj egyre költségesebb alapanyaggá vált, ezért szükség van megfelelő zsír- és fehérjeforrás-alternatívák keresésére, melyek hatékonyan helyettesítik a tengeri fogásokon alapuló alapanyagokat (2. ábra). A helyettesítés igénye nem csak gazdasági, hanem fenntarthatósági kérdés is. A népesség rohamos növekedése mellett nagyon gyorsan nő a fehérje iránti igény, a források ugyanakkor korlátozottak, a korábbi termelési gyakorlatok már nem fenntarthatók, törekedni kell az

állati fehérjeforrások helyett, növényi takarmányalkotók használatára.

2. Alternatív fehérjeforrások

A haltakarmányok egyik legfontosabb és legdrágább összetevője a fehérje, különösen ragadozó halfajok esetében. A halliszt kiváltásának alternatívái lehetnek az egyéb állati és növényi eredetű fehérjék, mezőgazdasági és élelmiszeripari melléktermékek, illetve a tápgyártási technológiák továbbfejlesztése. Ezen fehérjeforrások felhasználásánál azonban figyelembe kell venni azok már ismert tulajdonságait, úgymint pl. a rosszabb emészthetőséget, a csontliszt, baromfi-melléktermék liszt magas nyershamu tartalmát, a vér- és húslisztek alacsony esszenciális aminosav tartalmát, amely elmarad a halak szükségletétől. Ugyanakkor ezek a hátrányok a tápgyártási technológia fejlesztésével, új tápreceptúrák kidolgozásával, valamint aminosav- (pl. lizin, metionin és izoleucin), vitamin-, és mikroelem-kiegészítésekkel, emésztést segítő enzimek alkalmazásával jelentősen csökkenthetőek.

2.1. Feldolgozott állati fehérjeforrások

A feldolgozott állati eredetű fehérjék (Processed Animal Proteins - PAPs) azok az összetevők, amelyek az emberi fogyasztásra alkalmas állatokból származnak (EU 3-as kategória alapján), származásuk nyomon követhető és megfelelő minőségűek. Ezen alapanyagok gyártása speciális létesítményekben, teljes körű felügyelet mellett történik.

A feldolgozott állati fehérjék magas fehérjetartalmuk miatt a halliszt és az olajos magvak megfelelő alternatívái lehetnek. A metionin kivételével a legtöbb esszenciális aminosavat nagy mennyiségben tartalmazzák (Kumar et al., 2016). A baromfi liszt (poultry by-product meal) és a toll-liszt hidrolizátum jóval kevesebb metionint, lizint, hisztidint és triptofánt tartalmaz a halliszténél. Nyomás alatt történő főzés során a toll liszt termékek esszenciális aminosavainak emészthetősége drasztikusan romolhat, ez kellő odafigyelést igényel. A vérliszt magas lizin és metionin tartalma miatt megfelelő kiegészítő fehérjeforrás a növényi eredetű fehérjeforrások mellett. Mindazonáltal a vérliszt izoleucin tartalma rendkívül alacsony, így oda kell figyelni a tápok megfelelő aminosav tartalmára. Ezen felül a szárítás során nagyon fontos az alkalmazott hőmérséklet, ami kölcsönhatásban van a fehérje emészthetőségével. Különösen a lizin tartalom és biológiai hozzáférhetőség csökken a hőmérséklet emelésével. A baromfi liszt és tollfehérje hidrolizátum alkalmas foszforforrás lehet a haltakarmányokban. A vérliszt nagyon magas vas koncentrációja a tápok pro-oxidatív állapotára gyakorolt hatása miatt érdemel figyelmet (NRC, 2011).

2.2 Növényi fehérjeforrások

Az olajos magvak, a hüvelyesek és a gabonafehérjék manapság fontos alapanyagok a haltakarmányoknak. Összehasonlítva az állati eredetű fehérjékkel, a növényi eredetűek kisebb biológiai értékkel rendelkeznek a halak számára (esszenciális aminosav hiány, nehezen hozzáférhető foszfor tartalom, antinutritív anyagok jelenléte, nagyobb szénhidrát tartalom). A legtöbb növényi fehérje nem tartalmaz elegendő kéntartalmú aminosavat (metionin, cisztein), a teljes foszfor tartalom megközelítőleg 2/3-a fitát formájában van jelen, amit a hal részlegesen vagy egyáltalán nem képes hasznosítani. Mindazonáltal növényi fehérje alapanyagokat alkalmazva - a feldolgozás magas szintű technológiájának köszönhetően és a halak igényeinek ismeretére építve – előremutató eredményeket érünk el a növekedésben, a jólétben és a húsminőségben (Cheng et al., 2003).

A növények természetes védekezési mechanizmusok során számos metabolitot termelnek, melyeket gyakran antinutritív anyagokként említünk. Ezek jelenléte a növényi alapanyagokban csökkentheti a táplálóanyag hasznosulást és/vagy a halak tápanyag felvételét. Néhány antinutritív anyag elbomlik az extrudálás során (pl.: proteáz inhibitorok, hemagglutininok, anti-vitaminok), mások viszont ellenállnak a magas hőmérsékleti körülményeknek is (pl.: fitátok, szaponinok, nem keményítő poliszacharidok, antigén fehérjék, fitoösztrogének, fenolos vegyületek, glükozinolatok) (Tacon et al., 2009).

3. A rovarliszt

A rovarok nagyszerű minőséget képviselnek, melyet misem mutat másképp, mint az hogy számos állat fogyasztja őket. A rovarok zsákmányként szolgálnak a madaraknak, hüllőknek, kétélűeknek, halaknak és az emlősöknek is (ebbe beleértve az embert). Ezenkívül néhány ragadozó növény is fogyaszt rovar. Néhány halfaj, így például a pisztráng és a lazac képes a vízből kiugrani és elkapni a repülő rovarokat. A FAO jelentés szerint pedig a rovarok 2 milliárd ember természetes táplálékaként is szolgálnak. Az evolúció során a rovarok is kénytelenek voltak védekező mechanizmusokat fejleszteni: egyesek toxikus vegyületeket bocsátanak ki, mások ultra intenzív reprodukciós ciklussal rendelkeznek, mások pedig fejlett immunrendszert alakítottak ki (van Huis., 2013).

Az állatok közül a rovaroknak a legnagyobb a biodiverzitása a Földön. Több rovarfaj ismert, mint növény vagy gombafaj. A rovarok szinte minden kontinensen jelen vannak, egyesek bámulatos képességekkel bírnak.

A fosszilis energiák kimerülőben vannak, emiatt a modern társadalomnak mértékletesnek kell lennie, valamint a természeti erőforrásokat hatékonyan kell kihasználni. A fehérjeforrások esetében is ugyanez a helyzet. A művelhető termőterület alig növelhető (növelése esetén további

komoly károkat okozva), a természetben előforduló halálomány is csökkenőben van. Ugyanakkor pedig a globális húsfigyaszttás emelkedik.

A rovarliszt felvevő piaca megegyezik a hallisztével. Elsősorban az akvakultúra és a haszonállat takarmányozás során alkalmazzák ezeket az alapanyagokat, de gyakran előfordulnak a társállatok számára gyártott tápokban is. 2017. július 1-je történelmi pillanat, ugyanis ettől kezdve engedélyezett a rovarliszt (engedélyezett fajlista a rendeletben) alkalmazása a vízi élőlények takarmányozásában (2017/893 EK rendelet).

A rovarliszt takarmányozási célú alkalmazásának legfőbb feltétele a megfelelő mennyiségben történő előállítás. A rovarok gyorsan kifejlődnek és szaporodnak, és mivel változó testhőmérsékletűek és biológiai hulladékokon eltarthatók, ezért magas a takarmányhasznosítási rátájuk. Egy kilogramm rovar biomassza előállításához körülbelül 2 kilogramm hulladékra van szükség. A tömegtermelésben rejlő legfőbb veszélyek az inszekticidek, nehézfémek, toxinok bioakkumulációja, amelyek a szubsztrátok által kerülhetnek be, emiatt fontos, hogy azok ellenőrzött körülményekből származzanak (Henry et al., 2015).

3.1. A rovarliszt beltartalmi összetétele

A rovarok potenciális élelmiszer és takarmány alapanyagok tekinthetőek, ugyanis ideális tápanyag összetétellel rendelkeznek (Rumpold és Schlüter., 2013).

A legtöbb rovar nyers fehérje tartalma 40-60 % közé esik. A legalacsonyabb fehérje tartalommal a pálmafűró ormányosbogár (*Rhynchophorus ferrugineus*) (35 %) és a fekete katonalégy lárva (*Hermetia illucens*) (36-42 %) rendelkezik. Az egyenesszárnyúak (*Orthoptera*), a mediterrán szöcske (*Heteracris littoralis*) és a házi tücsök (*Acheta domestica*) nyers fehérje tartalma közel megegyező szinten van a halliszthez képest (73-74 %). A rovarok aminosav összetétele fajoként igen változó. A kétszárnyúak (*Diptera*) aminosav profilja hasonlít legjobban a halliszthez, az egyenesszárnyúaké (*Orthoptera*) és a bogaraké (*Coleoptera*) kevésbé, azonban még így is kedvezőbb a szójaliszthoz képest (Looy et al., 2014).

A rovarok nyerszsír tartalma a jóval magasabb (20 %), mint a halliszt (8,2 %) vagy a szójaliszt (3,0 %). A legmagasabb értékeket a keleti vándorszöcskénél (*Locusta migratoria*), a házilégy lárvánál (*Musca domestica*), és a közönséges lisztbogár (*Tenebrio molitor*) esetében mérték (30-30 %). Előfordul azonban még ennél is magasabb zsírtartalommal rendelkező (38 %) faj, a gyászogár lárva (*Zophoba morio*).

A rovarok nagyobb mennyiségben tartalmaznak ω -6 többszörösen telítetlen zsírsavat, mint a halliszt, azonban kevesebbet, mint a szójaliszt (Makkar et al., 2014). Az ω -3 többszörösen telítetlen zsírsavak esetében a rovarok, úgy mint a szójaliszt kevesebbet tartalmaznak a hallisztnél. Az eikozapentaénsav (EPA) és a dokozahexaénsav (DHA) a szárazföldi rovarok közül csupán a latrina dongólégy-

ben (*Chrysomya megacephala*) és a kék dongólégyben (*Calliphora vicina*) található meg 1,3 és 1,5 %-ban, mely messze alulmarad a hallisztban található mennyiségtől (Barroso et al., 2014).

A rovarok 5-20 % nitrogénmentes kivonható anyagot (NMKA) tartalmaznak.

3.2. Kulcsfajok alkalmazásának lehetőségei a haltakarmányozásban

Kulcsfajnak szokták nevezni tágabb értelmezésben az ökológiai rendszerek működésében különösen fontos szerepet játszó fajokat. Szűkebben, a szakirodalomban azokra a fajokra tartják fenn a fogalmat, melyek a biomasszájukhoz képest meglepően nagy hatással vannak a velük együtt élő fajokra, a közösség többi tagjára (Paine., 1966) limiting, requisite. In the marine rocky intertidal this requisite usually is space. Where predators capable of preventing monopolies are missing, or are experimentally removed, the systems become less diverse. On a local scale, no relationship between latitude (10° to 49° N..

3.3. Fekete katonalégy

A fekete katonalégy lárva (FKL) a rovarfajok közül az egyik legjobban tanulmányozott haltakarmány alapanyag. Előállítás ipari szinten is megoldott. Beltartalmi minőségét tekintve rendkívül ígéretesnek tekinthető, amely befolyásolható azzal, hogy milyen szubsztráton nevelkedett (Oonincx et al., 2015). A haltápokba történt alkalmazásuk során a takarmány hasznosítás egy esetben sem volt kedvezőbb, mint a hallisztben gazdag takarmány használata. Mindazonáltal néhány esetben a kísérleti eredmények azonos növekedést (WG) mutattak a halliszt-csoporthoz képest: 6 % FKL tartalom pettyes harcsánál (Newton et al., 2005), 18-36 % szívárványos pisztráng esetében (Sealey et al., 2011), valamint 5-25 % (lizin és metionin kiegészítés mellett) atlanti lazacnál (Lock et al., 2014). Pettyes harcsán, szívárványos pisztrágon, nagy rombuszhalon végzett kísérletek során magasabb (12-30 %) FKL tartalmú tápok etetésekor statisztikailag szignifikánsan csökkent a halak növekedése (St-Hilaire et al., 2007b; Kroeckel et al., 2012). Növendék nagy rombuszhalon végzett kísérletek során 33 % zsírtalanított FKL tartalmú tápok etetése során nem volt szignifikáns különbség a tápfelvétel és a takarmányhasznosulás tekintetében, ugyanakkor a specifikus növekedési ráta gyengébb eredményeket mutatott. 33 %-nál magasabb FKL tartalom esetén a tesztelt tápok élvezhetősége és a fehérje emészthetősége is csökkent, ami tápfelvétel csökkenéshez és a növekedési ütem visszaeséséhez vezetett (Kroeckel et al., 2012).

Mindezekkel szemben atlanti lazac esetében a fehérje és zsír emészthetősége biztató eredményekkel szolgált (Lock et al., 2014). Farkassüger (Dicentrarchus labrax)

növendékeken végzett, halliszt kiváltására irányuló kísérletek eredményei azt mutatták, hogy a 19,5 % FKL tartalmú összetett takarmány a takarmányhasznosulás és növekedési teljesítmény tekintetében nem volt különbség a kontrollhoz képest. A tápanyagok látszólagos emészthetőségi értékei is magasak voltak, azonban az arginin, hisztidin, valin értékei az FKL tartalmú tápok esetében jobbnak bizonyultak (Magalhaes et al., 2017). Ponty (Jiani fajta) esetén 10,6 % zsírtalanított FKL tartalmú táp - a kontrollhoz képest a teljes halliszt kiváltásra került - eredményei nem mutattak statisztikai különbséget a tápanyag hasznosulás és a növekedés tekintetében. A hepatopancreas hisztológiai elemzése károsodást mutatott, így a ponty számára javasolt halliszt kiváltás maximális mértéke FKL esetében 50 % (Li et al., 2017).

3.4. Közönséges lisztbogár lárva

A felnőtt lisztbogarak kinon tartalmuk miatt nem alkalmasak takarmányozási célra, azonban a lárvák fehérjében és zsírban gazdagok, hamu tartalmuk alacsony. A sárga lisztbogár lárva (SLL) etethető nyersen is, de takarmány összetevőként is használják. Kínában igen nagy mennyiségben állítják elő (Veldkamp et al., 2012). Afrikai harcsa esetében 9 % SLL mutatkozott optimálisnak, ami 1/5-ös halliszt kiváltást jelent. A szívárványos pisztrággal végzett kísérletek azt mutatták, hogy a SLL növekedésre gyakorolt negatív hatás nélkül a halliszt 50 %-ban kiváltható, míg ez az érték más tengeri ragadozó halfajoknál, úgymint farkassüger, aranydurbincs, nagy szemű vörösdurbincs 25 % (Gasco et al., 2014; Piccolo et al., 2017; Iaconisi et al., 2017).

Irodalomjegyzék

- Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A., Pérez-Bañón, C., 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423, 193–201. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.12.024
- Cheng, Z.J., Hardy, R.W., Usry, J.L., 2003. Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. *Aquaculture* 215, 255–265. doi:10.1016/S0044-8486(02)00166-7
- Gasco, L., Henry, M., Piccolo, G., Marono, S., Gai, F., Renna, M., Lussiana, C., Antonopoulou, E., Mola, P., Chatzifotis, S., 2016. Tenebrio molitor meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: Growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. *Anim. Feed Sci. Technol.* 220, 34–45. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.07.003
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., & Fountoulaki, E. (2015). Review on the use of insects in the diet of

- farmed fish: Past and future. *Animal Feed Science and Technology*, 203(1), 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>
- Iaconisi, V., Marono, S., Parisi, G., Gasco, L., Genovese, L., Maricchiolo, G., Bovera, F., Piccolo, G., 2017. Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* larvae meal: Effects on growth performance and final quality traits of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). *Aquaculture* 476, 49–58. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.04.007
- Kroeckel, S., Harjes, A.G.E., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., Schulz, C., 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 364–365, 345–352. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.08.041
- Kumar, S., Sándor Zs, J., Nagy, Z., Fazekas, G., Havasi, M., Sinha, A.K., De Boeck, G., Gál, D., 2016. Potential of processed animal protein versus soybean meal to replace fish meal in practical diets for European catfish (*Silurus glanis*): growth response and liver gene expression. *Aquac. Nutr.* 1–11. doi:10.1111/anu.12487
- Li, S., Ji, H., Zhang, B., Zhou, J., Yu, H., 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477, 62–70. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.04.015
- Lock, E.J., Arsiwalla, T., Waggabo, R., 2012. Insect meal: a promising source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*), in: Vantomme, P., Münke, van Huis, A., Itterbeeck, J., Hakman, A. (Eds.), *Insects to Feed the World Conference*. Wageningen UR, Wageningen, p. 67. doi:ISSN 1570 - 8616
- Looy, H., Dunkel, F. V., Wood, J.R., 2013. How then shall we eat? Insect-eating attitudes and sustainable foodways. *Agric. Human Values* 1–11. doi:10.1007/s10460-013-9450-x
- Magalhães, R., Sánchez-López, A., Leal, R.S., Martínez-Llorens, S., Oliva-Teles, A., Peres, H., 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 476, 79–85. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.04.021
- Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P., 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197, 1–33. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008
- NRC - Committee on the Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, 2011. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*, National Academies Press. doi:10.17226/13039
- OECD/FAO, 2017. *OECDFAO Agricultural Outlook 2017/2026*. OECD Publishing, Paris. doi:http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-en
- Oonincx, D.G.A.B., Van Broekhoven, S., Van Huis, A., Van Loon, J.J.A., 2015. Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *PLoS One* 10, 1–20. doi:10.1371/journal.pone.0144601
- Paine, R.T., 1966. Food Web Complexity and Species Diversity. *Am. Nat.* 100, 65–75. doi:10.1086/282400
- Piccolo, G., Iaconisi, V., Marono, S., Gasco, L., Loponte, R., Nizza, S., Bovera, F., Parisi, G., 2017. Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Anim. Feed Sci. Technol.* 226, 12–20. doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.02.007
- Rumpold, B. A., & Schlüter, O. K. (2013). Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.11.005>
- Sealey, W.M., Gaylord, T.G., Barrows, F.T., Tomberlin, J.K., McGuire, M.A., Ross, C., St-Hilaire, S., 2011. Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. *J. World Aquac. Soc.* 42, 34–45. doi:10.1111/j.1749-7345.2010.00441.x
- St-Hilaire, S., Sheppard, C., Tomberlin, J.K., Irving, S., Newton, L., McGuire, M.A., Mosley, E.E., Hardy, R.W., Sealey, W., 2007. Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. World Aquac. Soc.* 38, 59–67. doi:10.1111/j.1749-7345.2006.00073.x
- Tacon, a G.J., Metian, M., Hasan, M.R., 2009. Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals: Sources and composition, *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*.
- van Huis, A., 2013. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563–583. doi:10.1146/annurev-ento-120811-153704
- Veldkamp, T., van Duinkerken, G., van Huis, A., Lakemond, C.M.M., Ottevanger, E., G., B., van Boekel, M. a. J.S., 2012. Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets - a feasibility study. *Wageningen UR Livest. Res.* (report 63, 62. doi:ISSN 1570 - 8616

Rendelet

A Bizottság (EU) 2017/893 rendelete (2017. május 24.) a 999/2001/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet I. és IV. mellékletének, valamint a 142/2011/EU bizottsági rendelet X., XIV. és XV. mellékletének a feldolgozott állati fehérjére vonatkozó rendelkezések tekintetében történő módosításáról (EGT-vonatkozású szöveg.)

Rövid közlemény

Triploid süllő (*Sander lucioperca* L.) esetében észlelt apoptózis - flow citometriás megfigyelés.

Demeter Krisztián^{1a}, Abdelkader Rouabah^{2a}, Beliczky Gábor^{1*}, Bodó Szilárd³, Nagy Szabolcs¹

¹ Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Állattudományi Tanszék, 8360 Keszthely, Deák F. u. 16.

² Université de Khemis-Miliana, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département d' Agro-sciences, 44225 Algerie

³ Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, 2100 Gödöllő, Szent-Györgyi A. u. 4.

*Kapcsolattartó: Beliczky G., gbeliczky@georgikon.hu

Demeter K. és Abdelkader R. megosztott első szerzők

KIVONAT

Kutatásunk célja az volt, hogy a korábban előállított triploid (3n) süllő (*Sander lucioperca* L.) állományunkon alkalmazzunk egy flowcitometriás tesztet a ploidia-szint ellenőrzésére. A kontrollhoz (2n) képest a triploid lárvák sejtjei magasabb százalékban mutattak a fő csúcsnál alacsonyabb fluoreszcenciaintenzitást. A programozott sejt-halál (apoptózis) egyik általános jelzése lehet az észlelt jelenség, mely a triploid egyedek csökkent életképességében meghatározó tényező lehet.

Kulcsszavak: süllő (*Sander lucioperca* L.), triploid, apoptózis, flow citometria, DNS kimutatás (mennyiségi)

ABSTRACT

The present study aimed to observe the success in triploidisation of pike perch (*Sander lucioperca* L.) larvae by flow cytometry and propidium iodide (PI) staining. Triploid larvae contained larger percentage of cells showing lower fluorescence intensity than the main peak as compared to the diploid larvae. The interpretation of such sub-main peak events in DNA histograms is usually a sign of apoptosis.

Key words: pike perch (*Sander lucioperca* L.), triploid, apoptosis, flow cytometry, DNA quantity

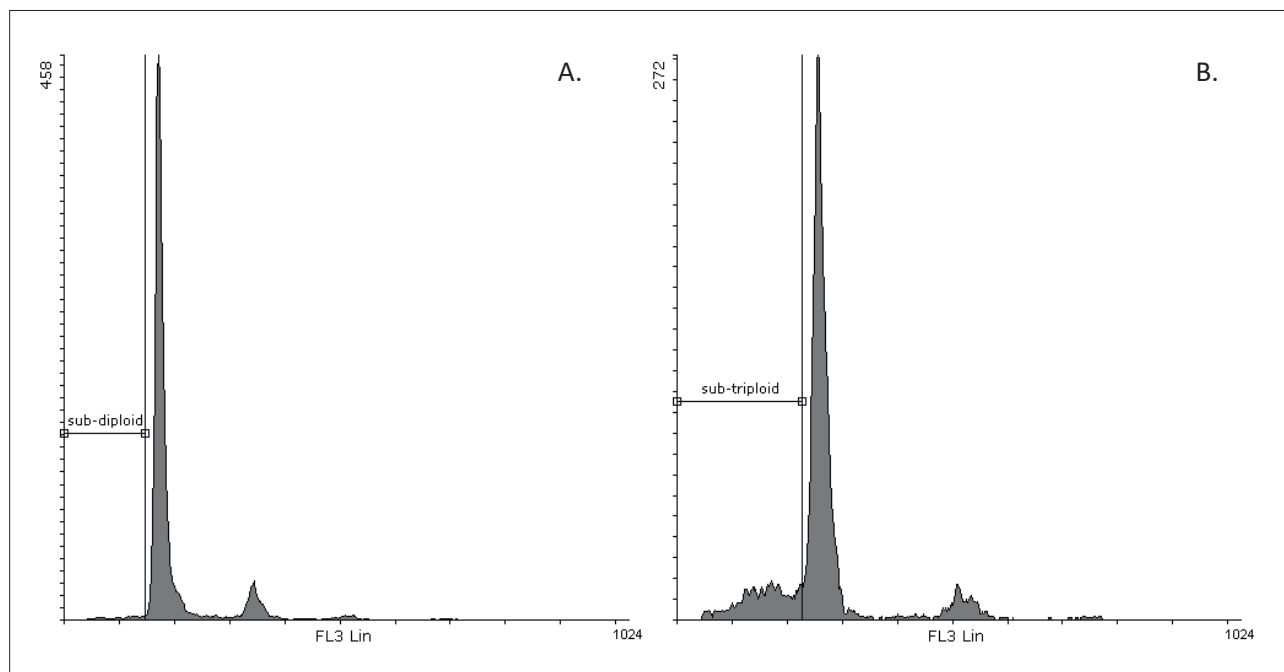
A triploid egyedek alkalmazásának több évtizedes múltja van a haltenyésztésben. Többnyire akkor telepítenek ilyen állományokat, mikor a jövőbeli állományszabályozás fontos szempont és nem előnyös a szaporulat. Van, hogy gyes, elsősorban tájidegen fajok esetében kifejezetten tiltott szaporodóképes állományok kihelyezése élő- és azokba elfolyással rendelkező mesterséges vizekbe. A triploidizáció számos esetben befolyásolhatja az

adott halfaj termelési mutatóit úgy, mint a növekedést, ivaréret, életképességet, stb. A változások iránya (előny vagy hátrány) mindig az adott fajtól függ és nem mindig egyértelműen determinált (Allen and Wattendorf, 1987; Bonnet et al., 1999; Bonar et al., 2002; O'Flynn et al., 1997; Pradeep et al., 2012).

A ploidia-fok gyors és hatékony megállapítására jól alkalmazható az áramlásos (flow) citometria (Ewing et al., 1991; Lecommandeur et al., 1994; Zhang and Arai, 1996; Bonnet et al., 1999; Lamatsch et al., 2000), mely technológia alkalmazásakor egy specifikus DNS fluoreszcens festési eljárást követően automatizált módon, rövid időn belül, nagy számú sejt DNS-mennyisége mérhető meg a sejtek fluoreszcencia-intenzitása alapján.

Számos, korábbi kutatásban közöltek már sikeres triploidizációt süllő (*Sander lucioperca* L.) és észak-amerikai rokona, a walleye (*Sander vitreus* M.) esetében (Malison et al., 2001; Blecha et al., 2016; Fetherman et al., 2015). A módszerek között egyaránt szerepelt hő, vagy nyomás sokk alkalmazása is.

Kísérletünkben standard keltetőházi körülmények között hormonindukció eredményeként két ikrás egyedről származó, egyenként 150g ikrátételt termékenyítettünk két tejes egyed spermájával. Két perccel megtermékenyítés után ragadósság mentesítés céljából agyagport alkalmaztunk 100g/liter víz dózisban, 16,5°C vízhőmérséklet mellett. Négy perccel a megtermékenyítés után az ikrát 36°C-os vízfürdőbe merítettük két perc időtartamig (sokkolás), és ezzel megakadályoztuk a második poláros test kilökődését. Kontrollként a hagyományos eljárásban tovább fejlődő ikrákat használtuk, melyek nem estek át hősokkon. 40 perces lassú, kíméletes agyagporos keverés (16,5°C) után, a ragadósságukat elvesztett ikrák Zugerüvegekbe kerültek további inkubáció céljából. A kelési százalékot 200-200 ikrára vetítve számoltuk, a két kezelés kelési sikeressége igen közeli értéknek adódott (74% kontroll, 68% kezelt). A frissen kikelt lárvák átfolyásos vízellátású lárvatartókba kerültek (5 nap), míg a tartalék szikanyaguk teljesen fel nem szívódott (kelés utáni 4. nap,



A propidium-jodidos festési eljárást követően mért fluoreszcencia-intenzitási értékek: (A) diploid, (B) triploid süllő lárva. A fő csúchoz képest alacsonyabb intenzitást mutató események szub-diploidok és szub-triploidok.

17°C-on) és át nem tértek horizontális mozgásra.

A ploidia állapot meghatározásához az éppen még nem táplálkozó lárvákat használtuk, így a testi sejtek könnyen előkészíthetők voltak a flow citometriás kiértékelésre. A Ewing et al. (1991) által kifejlesztett protokollt követtük kisebb módosítással. Az eljárás folyamán a vizsgált egyedek testi sejtjei fecskendőben kerültek szétválasztásra (5 diploid / kontroll és 15 feltételezett triploid lárva, 0,7% NaCl oldatban). Az önálló sejtekre disszociált mintákat fixálás céljából 70%-os etanolba, illetve olvadó jégre tettük, majd ezt követően szállítottuk a sejtanalitikai laboratóriumba. A sejtek DNS tartalmának jelölésére FXcycle PI/RNase kit-et használtunk a gyártó előírásainak megfelelően (F10797, Molecular Probes). A kit propidium jodidot (PI) tartalmaz DNS-specifikus fluoreszcens festékként. A konzerváló oldat eltávolítására 400 x g, 10 perces centrifugálást alkalmaztunk, majd a kb. 1×10^6 mL⁻¹ sűrűségű önálló sejtuszpenzióhoz 500 µL FXCycle oldatot adtunk. Azonnali keverés után 30 percig inkubáltuk a szuszpenziókat szobahőmérsékleten, sötétben a gyártó előírása szerint. A DNS-mennyiség detektálására Beckman Coulter FC-500 flow citométert használtunk, mely a DNS-hez kötött propidium jodid fluoreszcencia-intenzitását mérte, 488 nm-es, 20 mW argon-ion lézert alkalmazva gerjesztő fényforrásként. A PI fluoreszcenciát az FL3 detektoron, lineáris módban mértük (655 nm LP). A citométert naponta kalibráltuk FlowCheck fluoreszcens mikrogyöngyökkel (6605359, Beckman Coulter) adatgyűjtés előtt. Az összetapadt sejtek, kettős események kiszűrése a gyártó által javasolt beállításokat alkalmaztuk. A futtatást mintánként 5 perc után,

illetve 5000 esemény elérését követően állítottuk meg, majd az adatokat a pontos beállításokkal együtt mentettük LMD fájlformátumban. A tárolt LMD fájlokat a szabad hozzáférésű Flowing 2.5.1. programmal (www.flowing.com) dolgoztuk fel. A detektált fluoreszcencia-intenzitási értékeket hisztogramokon jelenítettük meg (1. ábra) és a medián intenzitási értékek feljegyzésre kerültek. Feltűnő a fő fluoreszcencia csúcsok alatti események jelenléte, melyek szub-diploid és szub-triploid eseményeknek tekinthetők (1. ábra). A statisztikai analízist R-Commander (Rcmdr) segítségével végeztük (v. 2.2-5).

A hisztogramon a diploid lárvák csúcsa $183,2 \pm 13,6$ (átlag±szórás) értéknek adódott (az átlagban a 2-es számú egyed eredménye nem szerepelt, mivel a minta nem tartalmazott elég sejtet elemet a méréshez), míg a feltételezett triploidoké $270,5 \pm 10,6$ (átlag±szórás) volt. Az eredmények arra engednek következtetni, hogy a teoretikus triploid csoport egyedei valóban sikeres triploidizáció termékei voltak, mivel a 3n kromoszómakészlet nagysága elméletileg $1,5 \times 2n$, azaz $1,5 \times 183,2 = 274,8$. Mindazonáltal az 1. ábrán jól megfigyelhető a triploid egyedek esetében mért fluoreszcencia tartomány alatti jelentős eseményszám, mely a diploid egyedek esetében nem jelentős mértékű. A medián értékekhez viszonyított alacsonyabb intenzitású események százalékos aránya a szub-diploid régió esetében 1,55%, a szub-triploid régió esetében 15,25% volt. A különbség erősen szignifikáns ($p < 0,001$, Wilcoxon teszt) (1. ábra).

A DNS hisztogramon kirajzolódó, a fő csúcsnál alacsonyabb intenzitású események, fluoreszcencia-intenzitási csúcsok gyakran az apoptózis jelenségére utalnak.

Programozott sejthal beindulásakor az endonukleáz aktivitás fokozódik, hasítja a DNS-t, majd a fragmentált DNS a minta-előkészítés alkalmával kiszabadul a sejtből (kimosódik). A sejtmagbanmaradó kisebb mennyiségű DNS alacsonyabb intenzitású csúcsot eredményezhet (Darzynkiewicz et al., 2010).

Aneuploid embriókban az apoptózis jelensége nem meglepő. Bárminemű DNS károsodás, vagy genetikai hiba súlyos következményekkel járna a fejlődő embrióra nézve. Külső környezeti faktor, pl: hypoxia könnyen hátrányosan befolyásolhatja az embrió genetikai fejlődését. A gyors sejtosztódási folyamatok időben nem teszik lehetővé a DNS javítási mechanizmusok megvalósulását, így inkább programozott módon, apoptotikusan távolítja el a szervezet a sérült sejteket (Desmarais et al., 2012). Már pluripotens állapotú (bármilyen testi sejt kialakítására képes) sejt hibája esetén is képes a p53-fehérje függő szabályozás közbelépni és megakadályozni a sejtciklus továbblépését, vagy programozott módon eliminálni a sejtet (Tichy, 2011). Azonban zebradánió (*Danio rerio*) embrió fejlődésénél megfigyelhető, hogy hólyagsíra (midblastula) állapotig a sérült sejt osztódása tovább folytatódhat, mivel az S-fázis ellenőrző pontja nem aktiválódik még eddig a stádiumig (Verduzco & Amatruda, 2011).

A szignifikánsan magasabb alacsony-intenzitású eseményszám a triploid csoport esetén minden jel szerint az apoptózisra, mint védelmi mechanizmusra utal, ami leginkább a normális ploidia-foktól való eltérés - közvetve a hősokk - miatt következett be. Korábban haploid / diploid parthenogenetikus sertés embrió esetében írták le, hogy a haploid formánál jelentősen magasabb százalékban jelentkezik irányított sejtelimináció. Diploid embrióknál az arány nem különbözik a normál IVF (*in vitro* termékenyített) embriók értékeitől (Hao et al., 2004). Ezek alapján kijelenthető, hogy nem a parthenogenetikus termékenyítési mód, hanem a genetikai defekt aktiválta a programozott sejthalál kaszkád rendszerét.

Kutatásunk eredeti célja nem e folyamatok igazolása lett volna, de véleményünk szerint a megfigyelésünk segíthet jobban megérteni az apoptotikus folyamatokat poliploid hal embriók / lárvák esetében.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki Bognár Attila úrnak a kísérleti halállomány biztosításáért és a szaporításnál nyújtott segítségéért és tanácsaiért. Továbbá szíves észrevételeiért Anders Johannison úrnak (Sveriges Lantbruksuniversitet, Svédország) is köszönetünket fejezzük ki.

Kutatásunkat az EU és a Magyar Állam társfinanszírozásában megvalósult HOP_3_COLL_1 (ref. szám: 1699279607, Dunántúli Halászati Technológiai és Szелеkciós Laboratóriumi Oktatási Központ Kialakítása) pályázat támogatta.

Irodalomjegyzék

- Allen Jr. S.K. & Wattendorf R.J. (1987). Triploid grass carp: status and management implications. *Fisheries* 12, 20–24. doi: 10.1577/1548-8446-12-4
- Blecha M., Flajshans M., Lebeda I., Kristan J., Svčina P. & Polcar T. (2016). Triploidisation of pikeperch (*Sander lucioperca*), first success. *Aquaculture* 462, 115–117. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.05.016
- Bonar S.A., Holding B. & Divens M. (2002). Effects of triploid grass carp on aquatic plants, water quality and public satisfaction in Washington State. *North American Journal of Fisheries Management* 22, 96–105. doi: 10.1577/1548-8675(2002)022<0096:EOTGCO>2.0.CO;2
- Bonnet S., Haffray P., Blanc J.M., Vallee F., Vauchez C., Faure A. & Fauconneau B. (1999). Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and seawater brown trout *Salmo trutta*. *Aquaculture* 173, 359–375. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00460-8
- Darzynkiewicz Z., Halicka H.D. & Zhao H. (2010). Analysis of cellular DNA content by flow and laser scanning cytometry. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 676, 137–147. doi: 10.1002/0471142735.im0507s60
- Desmarais J.A., Hoffmann M.J., Bingham G., Gagou M.E., Meuth M. & Andrews P.W. (2012). Human embryonic stem cells fail to activate CHK1 and commit to apoptosis in response to DNA replication stress. *Stem Cells* 30, 1385–1393. doi: 10.1002/stem.1117
- Ewing R., Scalet C. G. & Evenson D.P. (1991). Flow cytometric identification of larval triploid walleyes. *The Progressive Fish-Culturist* 53, 177–180. doi: 10.1577/1548-8640(1991)053<0177:FCIOLT>2.3.CO;2
- Fetherman E.R., Lepak J.M. & Harris D.J. (2015). Optimizing time of initiation for triploid walleye production using pressure shock treatment. *North American Journal of Aquaculture* 77, 471–477. doi: 10.1080/15222055.2015.1040568
- Hao Y., Lai L., Mao J., Im G.S., Bonk A. & Prather R.S. (2004). Apoptosis in parthenogenetic preimplantation porcine embryos. *Biology of Reproduction* 70, 1644–1649. doi: 10.1095/biolreprod.103.026005
- Lamatsch D.K., Steinlein C., Schmid M. & Scharlt M. (2000). Noninvasive determination of genome size and ploidy level in fishes by flow cytometry: detection of triploid *Poecilia formosa*. *Cytometry* 39, 91–95.
- Lecommandeur D., Haffray P. & Philippe L. (1994). Rapid flow cytometry method for ploidy determination in salmonid eggs. *Aquaculture and Fisheries Management* 25, 345–350. doi: 10.1111/j.1365-2109.1994.tb00698.x
- Malison J. A., Held J. A., Weil L. S., Kayes T. B. & Thorgaard G. H. (2001). Manipulation of ploidy in walleyes by heat shock and hydrostatic pressure shock. *North American Journal of Aquaculture* 63, 17–24. doi: 10.1577/1548-8454(2001)063<0017:MOPIWB>2.0.CO;2

O'Flynn F.M., McGeachy S.A., Friars, G.W., Benfey J., & Bailey J. K. (1997). Comparisons of cultured triploid and diploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *ICES Journal of Marine Science*, 54, 1160-1165. doi: 10.1016/S1054-3139(97)80022-7

Pradeep P.J., Srijayaa T.C., Papinic A. & Chatterjia A.K. (2012). Effects of triploidy induction on growth and masculinization of red tilapia [*Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) × *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)]. *Aquaculture* 344-349, 181–187. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.03.006

Tichy E.D. (2011). Mechanisms maintaining genomic integrity in embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *Experimental Biology and Medicine* 236, 987-996. doi: 10.1258/ebm.2011.011107

Verduzco D. & Amatruda J.F. (2011). Analysis of cell proliferation, senescence and cell death in zebrafish embryos. *Methods In Cell Biology* 101, 19-38. doi: 10.1016/B978-0-12-387036-0.00002-5

Zhang Q. & Arai K. (1996). Flow cytometry for DNA contents of somatic cells and spermatozoa in the progeny of natural tetraploid loach. *Fisheries Science* 62, 870-877. doi: 10.2331/fishsci.62.870