



Szent István Egyetem

**EGY A HALTENYÉSZTÉS SZÁMÁRA ÍGÉRETES HALFAJ,
A JUNDIÁ (*RHAMDIA QUELEN*) SZAPORODÁSBIOLOGIAI
JELLEMZŐI**

Doktori értekezés tézisei

Ittzés István

GÖDÖLLŐ

2018

A doktori iskola

megnevezése: Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

tudományága: Mezőgazdaság-tudomány

alprogram: Halbiológia és halgazdálkodás

vezetője: Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, MTA rendes tagja
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Állattudományi Alapok Intézet
Takarmányozástani Tanszék

Témavezető: Dr. Urbányi Béla, D.Sc.
egyetemi tanár
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet
Halgazdálkodási Tanszék

Társ-témavezető: Dr. Bokor Zoltán, Ph.D.
tudományos főmunkatárs
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet
Halgazdálkodási Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

.....
A társ-témavezető jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, KITŰZÖTT CÉLOK

1.1. A munka előzményei

A jundiá (*Rhamdia quelen*) egy Dél-Amerikában őshonos, harsaalakúak rendjébe (*Siluriformes*) tartozó halfaj. A munkám alapötletét az adta, hogy ez a faj kiváló tenyészértékének köszönhetően gazdaságosan nevelhető, így gazdagíthatja a brazíliai szubtrópusi területek haltenyésztését. 2004 óta a brazil akvakultúra termelésének éves növekedése (elsősorban tilápia *Oreochromis niloticus*) 14,2 %. A munkámat Brazília legdélebbi államában, Rio Grande do Sul (RS) államban végeztem. RS hasonlóan az ország nagy részéhez, bőséges csapadékkal, nagy kiterjedésű édesvízi és brakkvízi tavakkal rendelkezik. A köztudottan gazdag brazíliai halfauna nagy kínálatot nyújt a gazdaságosan tenyészthető halfajok kiválasztására. A brazíliai halfaunán belül, egyes fajok tenyésztését növekvő érdeklődés kíséri a gyors növekedési erélyük és kiváló húsminőségüknek köszönhetően. A további gazdasági fejlődéshez nélkülözhetetlen ezen fajok élettani sajátosságainak folyamatos vizsgálata.

1.2. Célkitűzések

A célkitűzéseimet a következő öt pontban fogalmaztam meg:

- A ikrások szaporodásbiológiai állapotát befolyásoló hormonok vérplazma-koncentrációjának nyomonkövetése havi mintavételekkel.
- A tejesek szaporodásbiológiai állapotát befolyásoló hormonok vérplazma-koncentrációjának nyomonkövetése havi mintavételekkel.
- Technológiai stressz hatására megváltozó vérplazma kortizol- és glükózkoncentráció vizsgálata.
- A jundiá indukált szaporításához és üzemi szintű ivadékneveléséhez szükséges szaporodásbiológiai adatok rögzítése:
 - Pszeudo-gonadoszomatikus index (PGSI%) megállapítása.
 - Az ikrások beéréséhez szükséges idő meghatározása.

- Egységnyi tömegű száraz ikrában lévő ikraszemek száma.
 - Az embrió és lárva fejlődési sebessége és a fejlődés szakaszainak vizsgálata, a vízhőmérséklet függvényében.
 - A PGSI változásának nyomonkövetése az ivási/szaporítási időszak során.
 - Egyazon egyedek szaporíthatósági gyakoriságának vizsgálata egy tenyészedényen belül.
- A jundiá szaporítási mutatóinak alakulása különböző, a gyakorlatban használatos hormonkezelések hatására.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

Kísérleteimet Brazíliában, RS államban a Passo Fundo-i (PF) Egyetem halászati oktató- és kutatóközpontjában végeztem 1998 július és 1999 júliusa közötti időszakban, illetve 2013 októberében 687 m tengerszint feletti magasságon (2815' S/5224" W).

2.1. Az időjárási feltételek

A kísérleti halak tavának a vizét és a levegő minimum-maximum hőmérsékletét naponta mértem. A nappalok hosszúságát, ami a természetes fényszakaszosságot jelentette, a PF-i napfelkelte és napnyugta ismeretében állapítottam meg.

2.2. A kísérlet során felhasznált halak

A mintavételekre hathónapos jundiá ikrásokat és tejeseket használtam. A halak testtömege 165 g és 1.330 g között változott. A halakat 100 m²-es tavakban tartottam, melyek átlagos vízmélysége 1 m volt. A vízátfolyás 6 l/perc, az oldott oxigén tartalom 5,0 és 7,0 mg/l között mozgott, míg a víz kémhatása pedig 7,0-7,2 pH volt.

2.3. Szteroid hormonok koncentrációjának változása a tenyésztett nőivarú és hímivarú jundiá első ivari ciklusa során

2.3.1. A mintavételezés módja

Hat ikrást és hat tejest vizsgáltam minden hónapban. A teljesen elbódított halak farki vénájából 1-2 ml vérmintát vettem. A halak petefészket kioperáltam, és feljegyeztem a tömegüket ($\pm 0,001$ g).

Az ismert test- és petefészektömeg, illetve heretömeg alapján kiszámítottam a halak GSI-ét.

2.3.2. A szteroidok radioimmuno-assay vizsgálata

A tejes egyedeknél vizsgáltam a plazma T, 11-KT, 17,20 β -P és a 17-P koncentrációját. Ezen kívül megvizsgáltam a T és a 11-KT *in vitro* termelését. Az ikrások esetében a vérmintából mértem a plazma T, 11-KT, 17,20 β -P és a 17-P, valamint az E₂ koncentrációját.

2.4. A jundiá kortizol és glükóz koncentrációjának változása a vérplazmában a tenyésztéstechnikai beavatkozások következtében kialakuló stressz hatására

A mintavételekre egyéves jundiá tejeseket és ikrásokat használtam, melyeknek a testtömege egyenként 400 \pm 50 g volt. Az alap kortizolszint mérésére (kontrol csoport) nyolc tejest és nyolc ikrást fogtam ki a többől egy héttel a tervezett kísérlet elvégzése előtt. A tejeseket és ikrásokat azonnal, illetve, 4, 12 és 24 órával a kifogás után vizsgáltam. A kortizol mennyiségének megállapítására kivonatlan plazma mintákat vizsgáltam. A vizsgálathoz a [¹²⁵I] DPC- kortizol RIA tesztet (Coat-H-Count®, DPC Los Angeles, CA) használtam. A nyert eredményeket a vizsgálati készlet standard görbéjével hasonlítottam össze.

2.5. A jundiá indukált szaporításához és üzemi szintű ivadékneveléséhez szükséges szaporodásbiológiai adatok rögzítése

2.5.1. Pseudo-gonadoszomatikus index (PGSI%)

A PGSI megállapításakor 109 db 2-4 év közötti ikrás ivartermékét mértem meg. A megmért ikrásokat 100 g-os különbséggel csoportokba osztottam és csoportonként kiszámítottam a PGSI% átlagát. A tejesek ivartermékének mennyiségét is megmértem. Kiszámítottam a tejesek átlagtömegét (g) és a hozzátartozó ivartermék átlagmennyiségét (ml).

2.5.2. A jundiá ovulációs idejének meghatározása

Ebben a pontban meghatároztam a jundiá ovulációs idejét óra-fokban, ami a hormonkezeléstől az első ikraszemek megjelenéséig eltelt időt jelenti. A kísérletben 109 ikrás vett részt. Az ikrások egy része egy dózisban kapta a pontyhipofízis injekciót, míg a másik része megosztva. A kísérletet 19-26 °C hőmérsékleti tartományban végeztem. Az eredményekből, kiszámoltam az ovulációs időt órafokban és összehasonlítottam az egy adagban és a két adagban kezelt halak ovulációs ideje közötti különbséget.

2.5.3. Ikraszám egy kg száraz ikrában

Az ikra kinyerése után 1 g száraz ikrát mértem le analitikai mérlegen ($\pm 0,01$). Összesen 10 hal ivartermékét számoltam meg és minden haltól három mintát vettem. Az ikrások testtömege 300-800 g között volt. Az ikramintákat termékenyítettem, majd 10 perc hidratáció után Petri-csészékben megszámláltam őket és a középértéket 1 kg ikra tömegre vetítettem.

2.5.4. Az embrió és a lárva fejlődése

Ebben a vizsgálatban az embrió fejlődésének az ikrában eltöltött szakaszát mértem. A méréseket 17 és 26 °C vízhőmérsékleti tartományban végeztem. Az embrió fejlődését 23-24 °C-on vizsgáltam. A kelést követően a jundiá lárvákat 30 cm vízmélységű műanyag medencébe helyeztem 20.000 db/100 l sűrűségben.

2.5.5. A Pszeudo-gonadoszomatikus index (PGSI%) összehasonlítása az ivási időszak egyes hónapjaiban

A kísérletekben 1996 szeptembertől 1997 februárig elvégzett szaporítások során mért PGSI% értékeit havonta átlagoltam.

2.5.6. A jundiá szaporíthatóságának gyakorisága

Ebben a vizsgálatban arra kerestem a választ, hogy ugyanazon ikrás egyed esetében, a tenyésztési időszak során, hormonindukcióval, hány alkalommal lehet

ovulációt kiváltani. Négy szaporítást végeztem 6 hetes szüneteket beiktatva a tavaszi-nyári hónapokban, majd egy szaporítást áprilisban, az ősz második hónapjában.

Három kísérleti csoportot alakítottam ki. Az egyes csoportok tíz ikrás egyedből álltak. Az ovuláció sikerességének értékeléséhez három számított értéket használtam. Az egyik a beérési arány (az ovulált ikrások száma/az oltott ikrások számával), a másik érték az ikra termékenyülése százalékban, valamint az ikrából kikelt lárva aránya százalékban kifejezve.

2.6. A jundiá szaporítási mutatói különböző hormonkezelések hatására

Az ovuláció kiváltására két különböző hormont (sGnRha, ponty hipofízis) és kétféle DA antagonistát (domperidon, metoklopramid) használtam. Ezek kombinációjával alakítottam ki az öt kísérleti csoportot úgy, hogy ezek közül az egyik, a kontroll csoport, kizárólag fiziológiás sóoldatot kapott. Vizsgálni akartam az sGnRha kizárólagos hatását, ezért egy csoportot kizárólag ezzel a hatóanyaggal kezeltem. A DA gátlás vizsgálatára két DA antagonistát kombináltam ugyanazzal az sGnRh analóggal.

Az első kísérleti csoport ikrás halait szárított ponty hipofízissel oltottam, $4,0 \text{ mg kg}^{-1}$ testtömegre számítva. Az oltóanyagot 0,7% -os sóoldatban (NaCl) feloldva juttattam a halakba. A következő csoport ikrásait Ovaprim-mel kezeltem. Folyékony formában az Ovaprim $20 \text{ } \mu\text{g}$ sGnRHa-t és 10 mg domperidont tartalmaz milliliterenként. Ennek a kísérleti csoportnak az egyedei $0,5 \text{ mL kg}^{-1}$ Ovaprim oldatot kaptak. A következő két csoport egyedei pedig $10 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ sGnRHa-t kaptak kezelésként. Az egyik csoport a kettő közül 20 mg kg^{-1} metoklopramid dopamin receptor antagonistával együtt kapta a GnRH-t, míg a másik dopamin receptor antagonista nélkül. Az ötödik kontroll csoportban az ikrás egyedekbe kizárólag fiziológiás sóoldatot fecskendeztem, ami a többi kísérleti csoportban a különböző hormontartalmú készítmények vivőanyaga volt.

Az oltástól az ovulációig az érlelővíz hőmérséklete $26,0 \pm 1,0$ °C volt. Az ovuláció sikerességének értékeléséhez három számított értéket használtam. Az egyik a beérési arány, a másik érték a PGSI. A termékenyülési arányt a termékenyítés utáni 24. órában számoltam.

3. AZ EREDMÉNYEK

3.1. Szteroid hormonok koncentrációjának változása a tenyésztett ikrás jundiá első ivari ciklusa során

3.1.1. Időjárási viszonyok

A vízhőmérséklet a téli időszakban (július) a leghidegebb ($8\text{ }^{\circ}\text{C}$) és a nyári időszakban (január) legmelegebb ($31\text{ }^{\circ}\text{C}$). A leghosszabb nappalt decemberben (13 óra 45 perc), a legrövidebbet pedig júliusban (10 óra 14 perc) mérték. Az egyéves kísérleti időszak alatt (1998. július-1999. július) folyamatosan figyeltem a vad ívásokat egy olyan tóban, ahol ikrásokat és tejeseket (a mintapéldányokkal azonos korosztály) egyenlő arányban tartottam. Két ívási időszakot állapítottam meg, az elsőt novemberben (egy nappal az esedékes mintavételezés előtt), a másodikat pedig januárban (7 nappal az akkori mintavétel után).

3.1.2. Pszeudo-gonadoszomatikus index (GSI)

A GSI értékek alacsonyok voltak a vitellogenezis kezdetéig (1998. július). Kora tavasszal (szeptember) gyors növekedést figyeltem meg és a GSI értékek tavasz közepén (október) érték el a csúcst, $12,28\pm 0,76\%$ -al. Novemberben az ovárium tömege csökkent, amit egy újabb növekedés követett. Ez a növekedés egy nyári (december) csúcserőknél ($9,1\pm 1,22\%$) megállt és két hónapon keresztül (december-január) magas értékeket mutatott ($7,48\pm 0,61\%$). A februári és márciusi újabb GSI% csökkenést egy harmadik csúcs követte ($8,63\pm 2,12\%$) áprilisban, de ezzel nem esett egybe vad ívás. Ezután az ovárium tömege hirtelen csökkenést mutatott, a GSI% értéke lezuhant $2,13\pm 0,55\%$ -ra májusban.

3.1.3. Az ikrások ivari hormonszint változásai

A plazma E_2 koncentrációja alacsony volt ($0,15\pm 0,056\text{ ng/ml}$) 1998 júliusában, a kísérlet kezdetén, de ezután erősen emelkedett egészen

novemberig. A novemberi csúcs ($9,1 \pm 1,21$ ng/ml) után, decembertől az E_2 értéke csökkenni kezdett és alacsony maradt januártól 1999 júliusáig. A T koncentrációja 15 ng/ml alatt maradt 1998 júliusa és szeptembere között, de októberben hirtelen felszökött az értéke $53,5 \pm 0,8$ ng/ml-re (tavasz). A 17-P koncentrációja progresszíven emelkedett július és szeptember között. Két csúcsot figyelhetünk meg. Az elsőt októberben, $0,97 \pm 0,13$ ng/ml értéken, a másodikat pedig januárban $0,94 \pm 0,22$ ng/ml értéken.

A plazma 17,20 β -P koncentrációja augusztusban kezdett el növekedni, vagyis az utolsó téli hónapban, egy mérhetetlenül alacsony értékről ($0,2$ ng/ml). Szeptemberben már $0,7 \pm 0,2$ ng/ml koncentrációt mértem, míg a második csúcsot a következő hónapban, októberben érte el ($1,29 \pm 0,18$ ng/ml) és ez egybeesett az első megfigyelt spontán ívással. 1999 januárjában a második vad ívás időszakában csak szerény emelkedést észleltem a plazma 17,20 β -P koncentrációjában. A 20 β -S hasonló görbét mutatott, mint a 17,20 β -P értékei, de magasabb volt a koncentrációja az első vad ívás (1998. október) és a második vad ívás (1999. január) idején is. A plazma 11-KT koncentrációja augusztusban (1998) nem érte el az alkalmazott módszerrel mérhető értéket, majd hirtelen növekedés után szeptemberben elérte az első csúcsot ($91,2 \pm 5,61$ ng/ml). A második csúcsértéket 1999. januárban mutatta. Ekkor a 11-KT értéke a plazmában $94,37 \pm 22,9$ ng/ml volt. Februárban ennek a szteroidnak a mennyisége alig mérhető értékre csökkent és ezen a szinten maradt a szaporodási ciklus további részében.

3.2. A tejesek plazma szteroid koncentrációja az ivari ciklus során

3.2.1. Pseudo-gonadoszomatikus index (GSI %)

A téli időszakban (július-augusztus) a GSI% alacsony volt. Kora tavasszal (szeptember) a gonádok mérete növekedett és az első csúcsot tavasz közepén érte el (október $8,03 \pm 0,64\%$), a második csúcsot ezután három hónappal, nyáron (január: $8,25 \pm 0,82\%$). Februárban és márciusban a GSI% csökkent és májusban

érte el a minimumot ($0,81 \pm 0,34$ %). Júniusban és júliusban lassú növekedés jellemzi a gonádokat, $1,18 \pm 0,34$ % és $1,6 \pm 0,25$ % a hónapok sorrendjének megfelelően.

3.2.2. A tejesek ivari hormonszint változásai

A plazma T koncentrációja növekedni kezdett az utolsó téli hónapban (augusztus) és késő tavaszra (november) érte el a legmagasabb értéket ($55,7 \pm 7,0$ ng/ml, $P < 0,01$). Később a T szintje csökkent egészen őszig. A második ivari ciklusban a plazma T szintje szeptemberre már egy magasabb értéket ért el, majd a legnagyobb koncentrációt októberben mértem ($58,8 \pm 5,7$ ng/ml, tavasz). Novemberben ennek a hormonnak a mennyisége csökkenni kezdett, de 2000 áprilisában (ősz) egy szerény emelkedést mutatott. A 11-KT koncentrációja a vérplazmában alacsony volt 1998 júliusban, augusztusban és szeptemberben, majd ezek az érték októberben (tavasz második hónapja) növekedni kezdett és különösen magas szintet ért el decemberben (1998) ($1243,42 \pm 337,32$ ng/ml). A 11-KT termelése a második ivari ciklusban 100-250 ng/ml körül ingadozott. A here a legnagyobb T termelését novemberben érte el. Ugyanakkor a vérplazmában is a legnagyobb koncentrációját mértem ugyanennek a hormonnak. Decemberben a T koncentráció még magas volt, majd az ezt követő hónapban határozottan csökkent a mennyisége. Az inkubációs médiumban a szöveti 11-KT mennyiségének csúcsát decemberben mértem ($0,48 \pm 0,19$ ng/ml), ami a T-hoz hasonlóan, időben egybeesett a vérplazmában mért legnagyobb 11-KT mennyiségével. Mind a szöveti, mind a vérben mért 11-KT értékei ez előtt a csúcs előtt és után is alacsonyak maradtak. A plazma 17-P koncentrációja magas értéket mutatott az egész spermatogenezis során, de tisztán észlelhető csúcsot nem tapasztaltam. A spermiáció megszűntével a 17-P koncentrációja 0,2 ng/ml koncentrációra zuhant. Télen a 17,20 β -P (1998. augusztus) mennyisége nem érte el az alkalmazott módszerrel mérhető értéket ($< 0,2$ ng/ml). Szeptemberben a hormon mennyisége $0,31 \pm 0,07$ ng/ml volt (tavasz) a legnagyobb értéket pedig $0,81 \pm 0,14$ ng/ml-t októberre érte el (1998) az első ivari ciklusban. A második

ciklusban ennek a hormonnak a mennyiségei alacsonyak voltak, ellentétben az első ciklussal, de a legmagasabb értéket szintén októberben mértem.

3.3. A jundiá kortizol és glükóz koncentrációjának változása a vérplazmában a tenyésztéstechnikai beavatkozások következtében kialakuló stressz hatására

A tejesek és az ikrások vérplazmájának a kortizol koncentrációja az egy órás vizsgálatkor volt a legmagasabb, majd a kortizol szintje csökkent, de még 24 óra múlva sem érte el az alapminta szintjét. A plazma kortizol szintjének az alapértéke a hímeknél $15,8 \pm 3,12$ ng/ml volt és $29,6 \pm 5,45$ ng/ml volt ugyanez az ikrásoknál. A kortizol szintjének változásához hasonlóan a plazma glükóz koncentrációja a hímek és ikrások viszonylatában hasonló görbét mutatott az egy órás mintavételkor észlelt görbéhez viszonyítva. A vércukor alapértéke a hímeknél $61,3 \pm 5,8$ mg/dl volt. Az ikrások esetében a glükóz szintjének alapértéke $68,7 \pm 9,3$ mg/dl. Négy óra múlva a hímek glikémiája erős csökkenést mutatott, csaknem elérte az eredeti, stresszelés előtti glükóz szintet. Az ikrások hosszabb ideig megőrizték a plazma magas glükóz koncentrációját. Minden mintavételkor megfigyelhető, hogy a tejesek esetében a vér kortizol szintje alacsonyabb az ikrásokhoz képest. Ehhez hasonlóan alakul a két ivar glükóz szintje is.

3.4. A jundiá indukált szaporításához és üzemi szintű ivadékneveléséhez szükséges szaporodásbiológiai adatok rögzítése

3.4.1. Pseudo-gonadoszomatikus index (PGSI%)

A megmért ikrások átlagtömege 654,87 g (max. 1.330 g, min. 165 g). Az ivartermék átlagos tömege 76,12 g (max. 205 g, min. 10 g). A PGSI% értékeinek átlaga 11,552% (max. 20,095%, min. 4,872%). A 41 tejes jundiá ivartermékének a mennyisége átlag 21,512 ml (max. 42 ml, min. 10 ml), a tejesek átlagtömege pedig 375,097 g (max. 655 g, min. 148 g) volt. A fent leírt

mennyiség kifejeése után 1 órával a tejesek újra fejhetőek és megközelítőleg az eredeti mennyiség felét adják.

3.4.2. A jundiá ovulációs ideje

A 19 és 26 °C közötti hőmérsékleti tartományban előadaggal is kezelt anyaállatok ovulációs ideje 285 és 198 órafok között mozgott, míg ugyanez az érték az egyszer kezelt állomány esetében 330 és 192 órafok volt.

3.4.3. Ikraszám egy kg száraz ikrában

Az egy g-os adagokban számolt szárazikra mennyiség átlaga 810,466 db volt (max. 937,00 min. 758,00), ami azt jelenti, hogy 1 kg szárazikrában átlagosan 810.000 ikraszem van.

3.4.4. Az embrió és a lárva fejlődése

A 17-26 °C-os hőmérsékleti tartományban, az embrió kifejlődése a hőmérséklettől függően 1-4 nap között következett be. A szaporítási időszakban nagyrészt 24 °C-os a víz hőmérséklete. Ezen a hőmérsékleten 30 óra, azaz 720 órafok szükséges a lárva keléséhez. A táplálkozást a keléstől számítva 23-24 °C-os vízhőmérsékleten megközelítőleg 2 nap után kezdi meg a lárva.

3.4.5. Az ikrások ivartermékének érési üteme

A három kísérleti csoport esetében a hat hetes regenerációs időszakokat követően hasonló szaporítási mutatókat mértem, mint az első alkalommal. A csoportok beérési százaléka nem különbözött statisztikai szempontból egymástól (Chi2-teszt, $p < 0,05$). A termékenyülési és kelési százalék szintén hasonló volt a csoportok között.

3.5. A jundiá ovulációs mutatói különböző hormonkezelések hatására

Ebben a vizsgálatban összehasonlítottam a szárított pontyhipofízis és a különböző sGnRHa kezelések hatását a jundiá ovulációjára. A kontroll csoport fiziológiás sóoldat oltása és a másik csoport sGnRHa kezelése nem

eredményezett ovulációt. Nyolc oltott jundiá ikrás közül hét ovulált (87,5% ovulációs arány) a pontyhipofízissel, illetve az Ovaprim-mel kezelt csoportokban. A sGnRHa + MET oltás hatékonysága pedig 37,5% volt.

3.6. Új tudományos eredmények

A disszertációban bemutatott kutatómunkám során végzett kísérleteimben tapasztaltak alapján az alábbi új tudományos eredményeket és megállapításokat teszem:

- A gyakorlatban is hatékonyan alkalmazható mesterséges szaporítási és lárwanevelési technológia kidolgozása és ennek elterjesztése a dél-brazíliai Rio Grande do Sul állam haltenyésztésében.
- Jellemeztem szubtrópusi környezetben, természetes hőmérséklet- és napszakosságnak kitett jundiá populáció mindkét nemének ivari érését (ivari hormonok, gonádok mérésén keresztül), annak ritmusát és szaporíthatósági gyakoriságát.
- Meghatároztam jundiá mindkét ivarának stresszválaszát a halgazdasági munkafolyamatok hatására (halászat, szákolás, rövid távú, telephelyen belüli szállítás) a kortizolszint mérésén keresztül.
- Megvizsgáltam a jundiá ovulációs mutatóit különböző, a halszaporításban általánosan alkalmazott hormonkezelések hatására és meghatároztam a hatékony módszereket. A leghatékonyabbnak az Ovaprim-mel történt kezelés bizonyult.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

4.1. Szteroid hormonok koncentrációjának változása a tenyésztett jundiá ikrások első ivari ciklusa során

Bemutatom, hogy ugyanaz az ikrás egy ivari ciklus alatt, pontyhipofízis indukcióval legalább négyszer készíthető ovulációra, melynek alkalmával jó minőségű, termékenyíthető ikrát termel. A kísérletek során megfigyeltem, hogy az egy tóban lévő vegyes ivarú halak a tenézszi időszak során kétszer ívnak. Az ívás mindig csoportosan történik. A két ívás között két hónap telik el. A faj a jellemző maximális GSI értéke alapján is az egy ívási időszakban többször ívó halak csoportjába sorolható. A jundiá ikrások GSI értéke az ívási időszak elején $12,3 \pm 0,8$ %. A jundiá ikrások esetében megfigyelhető egy viszonylag gyors GSI növekedés az ívási időszakot megelőzően. A kísérletben észleltem, hogy az E_2 szint a plazmában jelentősen emelkedett az ívási időszakot megelőző hónapokban, elérve a $2,6 \pm 0,6$ ng/ml értéket, ami 10-szer volt magasabb, mint amit júliusban, vagy augusztusban mértem. Különös, hogy a novemberi első vad ívás után egy nappal az E_2 szintje elérte a legmagasabb szintet a vérplazmában ($9,1 \pm 1,2$ ng/ml). Másrészt az E_2 a felelős az ovuláció után következő vitellogenezis beindításáért, amely során egy újabb petesejt állomány éri el az ovulációra alkalmas állapotot a januári második íváásra. A pozitív korreláció a T és a GSI között arra enged következtetni, hogy a T erős indikátora az oocitákérésnek. Ezen hormonok szerepe az oociták fejlődésével párhuzamosan csökken, majd az érési szakaszban a progeszteronok termelése volt a meghatározó. A 17-P legmagasabb értéke időben egybe esett a két spontán ívással. Az ívásokkal egybevetve a 17,20 β -P koncentrációját, arra kell gondolnunk, hogy ez a hormon is felelős az oociták végsőéréséért. A 17,20 β -P viszonylag alacsony koncentrációja a jundiá plazmájában (1,5 ng/ml), ellentétben a lazacfélékkel (500 ng/ml), tipikusan a többször ívó halak jellemzője. A 20 β -S szintén kimutatható az ivarérett jundiá vérplazmájában. Ez a szteroid, a jundiánál is lehetséges, hogy rendelkezik MIS funkcióval. Ezt

támasztja alá a vizsgálatomban észlelt 20β -S termelés hullámzó alakulása. Az ikrások vérplazmájában a 11-KT értéke nagyon magas az ívási időszak alatt, az értéke eléri a 95 ng/ml-t. Az a tény, hogy a 11-KT termelése a jundiában kizárólag az ívási időszakra korlátozódik, erősen valószínűsíti ennek a hormonnak a petesejtek érését segítő szerepét. Végso következtetésként az E2, T, 17-P, $17,20\beta$ -P és a 20β -S az ikrások ivari ciklusa különböző szakaszainak irányításában vesznek részt, hasonlóan az egyéb eddig vizsgált csontos halakhoz. A kiemelkedően magas 11-KT termelésének okai a nem ivarérett jundiában ikrásokban még tisztázatlanok.

4.2. Szteroid hormonok koncentrációjának változása a tenyésztett jundiá tejesek első ivari ciklusa során

Az ivarérett tejesek esetében az ivarszervek elérik a testtömeg $8,25\pm 0,82\%$ -át. Hasonlóan a többi szezonálisan ívó csontos halhoz, az ivarszervek mérete jelentős változást mutat az ivari ciklus folyamán. Az ivarszervek gyorsan fejlődnek a tavaszi hónapokban és a fejlett állapotukat csaknem az egész nyáron megőrzik. A vérplazma T koncentrációja párhuzamosan növekedett a GSI növekedésével és a legmagasabb értéket a spermiáció kezdetekor, vagyis a tavasz második felében érte el. Ezután gyorsan csökkent a termelése, annak ellenére, hogy a sperma termelése még emelkedett. A kísérleti eredményeim azt mutatják, hogy *in vitro* a here által termelt T csúcs egybeesik a plazmában mért T csúcsával, majd csökkenni kezd. A jundiá esetében a T termelés csúcsát egy hónappal előbb mértem, mint ugyanezt a 11-KT esetében. A tejes jundiá plazmájában mért különösen magas 11-KT koncentráció (1,0 μ g/ml) arra enged következtetni, hogy ennek a fajnak a hímvivarszervei nagyon nagy 11-KT bioszintézisre képesek. A 11-KT értéke sokkal magasabb volt az első szaporodási időszakban (azaz az első ivarérett évben), mint a másodikban. Ez azt a feltételezést támasztja alá, hogy e hormonnak kiemelt szerepe van az ivarérett során. Következésképpen levonható, hogy a T, 11-KT, 17-P és a $17,20\beta$ -P hasonló módon vesznek részt az ivari

ciklus különböző szakaszainak szabályozásában, mint ahogy ezt a legtöbb csontos halfajban leírták.

4.3. A jundiá kortizol és glükóz koncentrációjának változása a vérplazmában a tenyésztéstechnikai beavatkozások következtében kialakuló stressz hatására

A vizsgálatomban a jundiá plazma kortizol szintjének az alapértéke a hímeknél $15,8 \pm 3,12$ ng/ml volt, az ikrásoknál pedig $29,6 \pm 5,45$ ng/ml. Egy órával a halászat és szállítás után mértem a kortizolszint maximális értékét $158,12$ ng/ml-t a hímek plazmájában, míg az ikrások esetében $207,95$ ng/ml-t.

Az eredményeim azt mutatják, hogy 24 óra sem a tejesek, sem az ikrások esetében nem elegendő, hogy a plazma kortizol szintje a stresszelés előtti állapotot visszanyerje.

Egy lehetséges magyarázata az ikrások magasabb kortizol értékének és a glükóz szintén nagymértékű koncentrációnövekedésének 12 órával a stresszelés után, hogy ezek az ikrások az exogén vitellogenézis állapotában voltak. A vitellogenézis e szakaszában az energiaigény igen magas.

Következésképpen levonható, hogy a halászatra és a szállítás következtében beálló stresszes állapotra a jundiá élettani reakciója hasonló a többi csontos halnál már leírtakéhoz.

4.4. A jundiá indukált szaporításához és üzemi szintű ivadékneveléséhez szükséges szaporodásbiológiai adatok rögzítése

A dolgozatomban leírt szaporítási és lárvanevelési technológiát az üzemi gyakorlatban eltöltött 15 év során is kipróbáltam. A közölt szaporodásbiológiai adatok jól alkalmazhatók nagy mennyiségű ivadék előállítására, mert megkönnyítik az éves termelés tervezhetőségét, ezen belül a szaporítások ütemezését, az anyahal állomány megfelelő mennyiségének megállapítását. A PGSI értékének ismerete, különösen az egy kg száraz ikrában lévő ikraszemek

ismeretével együtt biztos támpont a tervezett szaporítás és a tavak előkészítése szempontjából.

Mivel nem végeztem vadvízi befogásból származó halakon vizsgálatot, nincs adatom arra, hogy a mesterséges tavi tartás milyen befolyásoló hatással van erre az értékre. Jelen vizsgálatban az ikraszám egységnyi ivartermékben 810.000 db/kg „száraz” ikra.

A sperma könnyen és nagy mennyiségben fejhető. Ez megkönnyíti a hímekkel való tervezést a gazdasági munka műveletek során. A GSI értéke pedig magas a tavaszi-nyári hónapokban és ezt a méretét megőrzi az ősz utolsó hónapjáig (4-5%). Közben két kiugró 8%-os értéket is elér. Feltehetően ez az oka a bő ivartermék jelenlétének ennél a fajnál. Csaknem 400 g-os tejesektől 21 ml ivartermék fejhető, majd egy óra múlva megismételhető. Ez a harcsaféléknél szokatlanul bő ivartermék a *Rhamdia* nemzetségre jellemző soklebenyes here működésének és tárolóképességének köszönhető.

A hormonkezeléstől az ovulációig eltelt idő szintén fontos adat a jól kivitelezett szaporítás érdekében. A 19 és 26 °C közötti hőmérsékleti tartományban előadaggal is kezelt anyaállatok ovulációs ideje 285 és 198 órafok között mozgott, míg ugyanez az érték az egyszer kezelt állomány esetében 330 és 192 órafok volt. Látható, hogy a jundiá nagyon tág hőmérsékleti határok között szaporítható hal, 26 °C-os vízhőmérsékletnél hasonló eredményeket kaptam a kétféle kezelésnél. Az embrió, majd a lárva fejlődése is hőmérsékletfüggő. Az embrió kifejlődését a kelési idő meghatározásával számszerűsítettem, a lárva kifejlődését pedig a táplálkozás megkezdéséhez szükséges idő meghatározásával. A szaporítási időszakban nagyrészt 24 °C-os a víz hőmérséklete. Ezen a hőmérsékleten 30 óra, azaz 720 órafok szükséges a lárva keléséhez. A táplálkozást 23-24 °C-os vízhőmérsékleten 2 nap után kezdi meg a lárva. A legalacsonyabb hőmérsékleten (17 °C) augusztusban, a legmagasabb hőmérsékleten (27 °C) februárban végeztem sikeres szaporítást. Bár februárban még lehet sikeres szaporítást végezni, az embriófejlődése is

zavartalan, a szaporítási mutatók (anyák beérése, termékenyülés) nagyfokú romlást mutatnak.

Szeptembertől februárig a lefejhető ikra (PGSI) mennyisége havonkénti bontásban 10% körül alakul (min. 8,43%; max. 12,13%). Ezekből az eredményekből megállapítható, hogy a gyakorlati haltenyésztés számára biztonságos és kiszámítható tenyésztési időtáv öt hónap (szeptember-január), ami tág teret biztosít a gazdaságoknak a termelésre és biztonságot az esetleges kiesések pótlására. Ezt a következtetést alátámasztja a jundiá szaporítási gyakoriságára vonatkozó kísérletem is. Ennek eredményei azt mutatják, hogy az általam tenyésztési időszaknak meghatározott hónapokban legalább négyszer szaporítható ugyanaz az egyed.

4.5. A jundiá szaporítási mutatói különböző hormonkezelések hatására

Az Ovaprim-mel végzett kezelés magas beérési %-ot feltételezi, hogy ez a módszer alkalmas a jundiá mesterséges szaporítására. Ha összehasonlítjuk a hipofízálást, illetve az Ovaprim kezeléseket a sGnRH + metoklopramid kezelésekkel, akkor egy alacsonyabb beérési %-ot figyelhetünk meg. Az sGnRH egymagában való oltása eredménytelen volt, ami az alacsony gonadotropin szint következménye lehet, ez pedig az erős dopaminerg gátlás eredménye.

A vizsgálatunk eredményeképpen megállapíthatjuk, hogy a jundiá esetében a DA gátolja a GnRHa által serkentett gonadotropin termelést. A GnRHa képtelen volt az ovuláció kiváltására, amennyiben önmagában vett részt a kezelésben. Az Ovaprim sGnRHa-t tartalmaz, valamint DA receptor antagonistát, domperidon, jó eredménnyel indukált ovulációt a kísérleti állatokban. Összehasonlítva az Ovaprim kezelést az sGnRHa + metoklopramid kezeléssel, az utóbbi alacsonyabb arányban váltott ki ovulációt. A beoltott sGnRHa mennyisége mindkét csoport esetében azonos volt ($10 \mu\text{g kg}^{-1}$). A hozzájuk társított domperidon, illetve metoklopramid koncentrációja 5, illetve

20 mg kg⁻¹ volt. Ezért levonhatjuk a következtetést, hogy a domperidon (az Ovaprim aktív hatóanyaga) határozottan jobban erősíti a sGnRHa hatását a jundiá ovulációjának kiváltásában. A hipofizált csoport a kezelés után 9 órával ovulált. Az Ovaprim-mel és a sGnRHa+metoklopramiddal kezelt csoport esetében az ovuláció 13-16, illetve 16-18 óra múlva következett be. Az Ovaprim-mel és a GnRHa+metoklopramid kezelés hatására bekövetkező hosszabb ovulációs idő két egymást követő folyamat eredménye (gonadotropin kibocsátás a kezelt halak hipofizisából, majd a petefészek válasza a gonadotropin serkentésre). Ez a reakció természetesen jellemzi a GnRH kezelést. Míg a rövidebb ovulációs idejű hipofizált csoport esetében egy lépésben zajlik le az ovuláció kiváltása (a petefészek válasza a külső gonadotropinra). A másik figyelemreméltó különbség, hogy a hipofizált csoport egyedei között az ovuláció szinkronizált volt, míg az Ovaprim-mel, illetve GnRHa+metoklopramiddal kezelt csoportok egyedei nem egy időben ovuláltak. A legtöbb PGSI érték magas volt és hasonló a hipofizált, Ovaprim-mel és GnRHa+metoclopramid-dal kezelt csoportok között. A kísérletben termékenyülési arány magas volt és hasonló értéket mutatott mind a hipofizált, mind az ovaprim-mel és GnRHa+metoclopramiddal kezelt csoportban.

Összefoglalva, ez a vizsgálat világosan mutatja, hogy mind a hipofizálás, mind a GnRHa analóg alkalmazása (Ovaprim formájában) hatékony módja az ovuláció kiváltásának, megemlítve, hogy az utóbbi elhúzódó és nem szinkronizált ovulációt vált ki a kezelt állományban.

4.6. Javaslatok

- Javaslom a szaporíthatóság gyakoriságát rövidebb intervallumokkal is megvizsgálni és megállapítani a minimális felkészülési időt a szaporítások között.
- Javaslom a kortizol, jundiá szaporodásában betöltött pontos szerepét tisztázni.
- A három progesztagén közül a 17-P mutatta a legszorosabb kapcsolatot a végső éréssel és az ivással. Sűrűbb mintavételezéssel a másik két progesztagén pontosabb szerepét is tisztázni lehetne a jundiá szaporodásában.
- A 11-KT jelenléte az ikrásokban a tenyésztidőszak során jelzi, hogy ez a hormon részt vesz a jundiá ikrások szaporodási folyamataiban. A pontos szerepe még ismeretlen.
- Javaslom a napszakosság és a hőmérséklet ivari tevékenységre gyakorolt hatását egymástól függetlenül is megvizsgálni.
- Javaslom a jundiá feminizációjának, illetve maszkulinizációjának lehetőségét és módját megvizsgálni.
- Javaslom az elpusztult illetve kikelés után visszamaradt ragadós ikrahéj anyagát meghatározni és annak esetleges enzimes úton való eltávolítását kidolgozni.

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

5.1. Tudományos folyóiratban megjelent közlemények

ITTZÉS I., SZABÓ T., KRONBAUER E. C., URBÁNYI B. 2015.: Ovulation induction in jundia (*Rhamdia quelen*, *Heptapteridae*) using carp pituitary extract or salmon GnRH analogue combined with dopamine receptor antagonists. *Aquaculture Research*, 46, 2924-2928.

BARCELLOS, L.J.G; WOEHL, V.M.; WASSERMANN, G.F.; QUEVEDO, R.M.; ITTZÉS, I; KRIEGER, M.H. 2001: Plasma levels of cortisol and glucose in the response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, Pisces, Teleostei), a South American catfish. *Aquaculture Research*, 32, 121-123.

BARCELLOS, L.J.G.; WASSERMANN GF.; SCOTT,A.P.; WOEHL, V.M.; QUEVED, R.M.; ITTZÉS, I.; KRIEGER, M.H.; LULHIER, F.L. 2001: Steroid profiles in cultured female jundiá, the *Siluridae Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pisces Teleostei), during the first reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology* 121, 325-332.

BARCELLOS, L.J.G; WASSERMANN, G.F.; SCOTT, A.P.; WOEHL, V.M.; QUEVEDO, R.M.; ITTZÉS, I; KRIEGER, M.H.; LULHIER, F. 2002: Plasma steroid concentrations in relation to the reproductive cycle of cultured male *Rhamdia quelen*. *Journal of Fish Biology*,61 (3), 751-763.

5.2. Idegen nyelvű szakfolyóiratban megjelent közlemények

ITTZÉS, I.; MEZZALIRA, R.; FIORESE, I. 1997: Jundiá: uma espécie nativa com tecnologia dominada. *Revista Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, 20-23.

5.3. Idegen nyelvű könyvrészlet

FIGLIANO, I.; FIGLIANO, I.: 2012: Instalações para policultivo. In: LEONARDO JOSÉ GIL BARCELLOS, MICHELE FAGUNDES. *Policultivo de jundiás, tilápiás e carpas*. Uma alternativa de produção para a piscicultura rio-grandense Capítulo 3, UPF Editora, 69-94 p.

5.4. Konferencia kiadványban megjelent publikációk

BARCELLOS, L.J.G.; WASSERMANN, G.F.; PORAWSKI, M.; WOHEL, V.M.; ITTZÉS, I.; QUEVEDO, R.M.; KRIEGER, M.H. 1999: Determinação do ciclo gonadal e dos esteróides sexuais durante o ciclo reprodutivo do macho do jundiá, *Rhamdia quelen*. 51^a Reunião Anual da SBPC, 11 a 16 de julho de 1999. Porto Alegre, RS. CD Rom

BARCELLOS, L.J.G.; WASSERMANN, G.F.; WOHEL, V.M.; ITTZÉS, I.; QUEVEDO, R.M.; KRIEGER, M.H. 1999: Determinação do ciclo gonadal e dos esteróides sexuais durante o ciclo reprodutivo da fêmea do jundiá, *Rhamdia quelen*. 51^a Reunião Anual da SBPC, 11 a 16 de julho de 1999. Porto Alegre, RS. CD Rom

ITTZÉS, I.; QUEVEDO, R.M.; BARCELLOS, L.J.G.; WOHEL, V.M. 1999: Incubação de ovos de jundiá (*Rhamdia quelen*) em três faixas de temperatura. Tempo para a eclosão, viabilidade e tempo para a primeira alimentação das pós-larvas. 51^a Reunião Anual da SBPC, 11 a 16 de julho de 1999. Porto Alegre, RS. CD Rom

ITTZÉS, I.; QUEVEDO, R.M.; BARCELLOS, L.J.G.; WOHEL, V.M. 1999: Uso de hipófise de carpa húngara (*Cyprinus carpio*) na indução á reprodução de fêmeas e machos de jundiá (*Rhamdia quelen*). Efeito de diferentes faixas de peso. 51^a Reunião Anual da SBPC, 11 a 16 de julho de 1999. Porto Alegre, RS. CD Rom

QUEVEDO, R.M.; ITTZÉS, I.; BARCELLOS, L.J.G.; WOHEL, V.M. 1999: Sobrevivência e crescimento de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) em alevinagem 1 em tanques escavados, mantido em três diferentes densidades. 51^a Reunião Anual da SBPC, 11 a 16 de julho de 1999. Porto Alegre, RS. CD Rom

QUEVEDO, R.M.; ITTZÉS, I.; WOHEL, V.M.; BARCELLOS, L.J.G.; WASSERMANN, G.F.; PORAWSKI, M.; KRIEGER, M.H. 1999: Estudo morfológico da gônada masculina de jundiá (*Rhamdia quelen*) durante o ciclo reprodutivo. 51^a Reunião Anual da SBPC, 11 a 16 de julho de 1999. Porto Alegre, RS. CD Rom

QUEVEDO, R.M.; ITTZÉS, I.; BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G. 2003: Effects of artificial saline solutions on the motility time of jundiá (*Rhamdia quelen*) semen. In IX World Conference On Animal Production, Porto Alegre, vol. 1. pp. 184-184.

WOHEL, V.M.; BARCELLOS, L.J.G.; WASSERMANN, G.F.; ITTZÉS, I.; QUEVEDO, R.M.; KRIEGER, M.H. 1999: Estudo morfológico da adenohipófise de fêmea de jundiá (*Rhamdia quelen*) no estágio de maturação avançada do ciclo reprodutivo. 51^a Reunião Anual da SBPC, 11 a 16 de julho de 1999. Porto Alegre, RS. CD Rom

WOHEL, V.M.; BARCELLOS, L.J.G.; WASSERMANN, G.F.; ITTZÉS, I.; QUEVEDO, R.M.; KRIEGER, M.H. 1999: Estudo morfológico da gônada de fêmea de jundiá (*Rhamdia quelen*) durante o ciclo reprodutivo. 51^a Reunião Anual da SBPC, 11 a 16 de julho de 1999. Porto Alegre, RS. CD Rom