

A SÜLLŐ OVULÁCIÓJÁNAK PONTY HIPOFÍZISSEL TÖRTÉNŐ INDUKÁLÁSÁVAL KAPCSOLATOS MEGFIGYELÉSEINK, VALAMINT AZ INSZEMINÁLT IKRÁSOK IKRASZÓRÁSA ÉS TERMÉKENYÜLÉSE

VARGA Ádám¹, KUCSKA Balázs², HORVÁTH József¹, BOROS Attila⁴, VARJUKATONA Milán⁵, SZABÓ Tamás³, LJUBOBRATOVIC Uros⁶, URBÁNYI Béla³,
MÜLLER Tamás¹

¹Magyar és Agrár- és Élettudomány Egyetem, Szent István Campus agárdi telephely, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Természetesvízi Halökológiai Tanszék, Gödöllő

²Magyar és Agrár- és Élettudomány Egyetem, Kaposvár Campus, Alkalmazott Halbiológiai Tanszék

³Magyar és Agrár- és Élettudomány Egyetem, Szent István Campus, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő

⁴V-95 Kft 7500 Nagyatád Halastópuszta

⁵Győri ELŐRE HTSZ, 9062, Kisbajcs

⁶Magyar és Agrár- és Élettudomány Egyetem, Halászati Kutató Központ, Szarvas

Bevezetés

A süllő (*Sander lucioperca*) termelés fejlesztése az utóbbi 20 évben felgyorsult, köszönhetően annak, hogy a tógazdasági termelés mellett az intenzív rendszerű nevelése irányába is nagy kutatói-termelői erőfeszítéseket tesznek. Az első lépcsőfok a termelési alapanyag előállítása, a süllő ellenőrzött-, programozott szaporításának fejlesztése. Jelenleg az *in vitro* fertilizációs (az ivartermékek fejéssel történő kinyerése és száraz termékenyítése) módszerével végzett keltetőházi szaporítási eljárás a legjobban kutatott terület. Ezen belül nagyszámú publikáció született különféle hormon preparátumok gaméta-, ikra- és lárvaminóségre gyakorolt hatásvizsgálatokról (például: Ljubobratović et al. 2017; 2019; 2020; 2021; 2022a,b). A süllő pontyhipofízis szuszpenzióval történő keltetőházi szaporításáról korábban Csorbai et al. (2015) közöltek információkat.

A korábbi tanulmányainkban bizonyítottuk, hogy a külső megtermékenyítésű halak petefészekbe feljutatott sperma több órával a programozottan kiváltott ovuláció előtt megtartja termékenyítő képességét (Müller et al. 2018a). Hormonkezeléssel együtt alkalmazva (Müller et al. 2018a,b), vagy hormonkezelés nélkül (Gazsi et al. 2021) spontán ikraszórás kiváltását eredményezheti, és a petefészekben tárolódó spermiumok termékenyítik meg a vízbe kerülő ikraszemeket.

Célul tűztük ki, hogy nyomon kövessük pontyhipofízis szuszpenzió kezelés hatását ívás előtt álló süllő ikrásokban (az oociták végső beérésének és az ovuláció időpontját), valamint vizsgáltuk, hogy tejes jelenléte nélkül a hormonkezelés hatására elszórt ikratételeket az előzőleg petefészeklebensbe feljutatott sperma milyen hatékonysággal termékenyíti meg.

Anyag és módszer

A V95 Kft Nagyatádi üzemegységéből származó süllő anyákat a MATE Kaposvári Campus Hallaboratóriumába szállítottuk. A halakat ivar szerint szétválogattuk (11 ikrás, 4 tejes). A halak kondíciója alapján 10 ikrás került kiválasztásra a kísérlethez, melyeket egyenként 250 l-es medencékbe, a tejeseket pedig kettesével 300 l-es medencébe helyeztük. A medencék azonos

víz körön voltak, a víz hőmérsékletet 13,2-14,7 °C között tartottuk vízhűtő berendezés segítségével (2x Teco T 2000 Chiller). A megfelelő oldott oxigén szintet léghorlással biztosítottuk, mely a kísérlet során végig közel 100%-os telítettségi érték közelében volt. A kísérlet során a megfelelő vízminőséget rendszeres vízcsérével biztosítottuk 10-15%/nap. A pH, ammónia, nitrit és nitrát értékeket PF-12-es fotométerrel (Macherey-Nagel) vizsgáltuk két alkalommal - pH 7,5; $\text{NH}_4^+ < 0,1 \text{ mg/l}$ $\text{NO}_2^- < 0,1 \text{ mg/l}$ és $\text{NO}_3^- < 10 \text{ mg/l}$. Az iváshoz 60x70 cm alapterületű lesúlyozott műfüvet helyeztünk be a halak sperma injektálását követően. Hormonkezelés: 7 mg pontyhipofízis szuszpenzió / testtömeg kg, intraperitoneális injekcióval történt. A halak ivari állapotát, az ivarsejtek végső beérésének állomásait 3 alkalommal (hormonkezeléssel egyidőben (0 h), 48 h és 70 h múlva) biopsziás mintavétellel ellenőriztük, a felvilágosító oldatban (60% etil-alkohol, 30% formalin, 10% ecetsav – sejtmag helyzet detektálás) lévő oocitákról fényképek készültek, valamint ikraátmérőket mértünk. A sperma injektálás (1 ml sperma/testtömeg kg két petefészkelebe egyenlően elosztva, a hormonkezeléstől számított 75. órában) módszer megegyezett Müller és mtsai. (2020) által leírtakkal. A sperma felinjektálás időpontját az előző tanulmányok alapján úgy határoztuk meg, hogy a spermiumok „petefészki tárolási” ideje ne haladja meg a 40 órát, amikor is a termékenyítőképességük nagymértékben csökken (Müller et al., 2020).



1. ábra Balra: süllő petefészke biopsziás mintavételezés. Jobbra: az egyik inszeminált süllő ikrás által elszórt és termékenyült ikrafészkek részlet. (termékenyülés arány 84%). Kis kép: süllő embriók ún. 60%-os epibólia stádiumban.

Eredmények és következtetések

A 10 kezelt halból 9 hal ovulált és szórta le az ikratételeit. Az egy nem ovulált hal első biopsziás mintavételkor is zavart oocita képet mutatott (kevert fejlődésű oociták). A 9 ikrás beérési ideje nagy individuális különbségeket mutatott; 83h (n = 1), 88h (n = 1), 95h (n = 5), 99h (n = 1), 154 h (n = 1). A halak egy része nem részesítette előnyben az ikrafészkeket és mellé, egy adagba szórta le az ikráit (n = 4). A 72 óra alatt mért termékenyülési értékek nagy különbségeket mutattak (0-84%).

Összefoglalás

A süllők pontyhipofízis szuszpenzió kezelése során nyomon követtük az oociták végső beérését (beérési időtartam, oocita fejlettségi állapotok és átmérő). A biopszia mintavételből kapott adatok alapján határoztuk meg a sperma feljuttatás idejét az ikrások petefészkelebe (8 ikrás esetben 13-25 órával az ikraszórás előtt). A 10 hormonkezelt ikrásból 9 ovulált és szórta el az ikratételeit a hormonkezelést követő 83-154 óra között. A petefészkebe feljuttatott sperma 0-84%-ban termékenyítette az ikratételeket.

Kulcsszavak: *Sander lucioperca*, ívás tejes nélkül, petefészekmosás

Köszönetnyilvánítás

Munkák az NKFI Alap (NKFI_K_135824) és a 2020-1.2.4 TÉT Ipari TR (2021-00015) EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008, az Európai Regionális Fejlesztési Alap és Magyarország Kormánya, valamint a TKP2020-IKA-12 Tématerületi Kiválósági Program 2020, Intézményi Kiválóság Alprogram támogatta.

Irodalomjegyzék

- Csorbai, B.; Szabó, T.; Tamás, G.H.; Kovács, É.; Béres, B.; Németh, Á.; Horváth, L. **2015**. Results and Outcomes of Induced Breeding and Fry Rearing of Zander (*Sander lucioperca* L.). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15, 489-493.
- Gazsi, Gy.; Butts, I.A.; Zadmajid, V.; Ruffili, L.; Urbányi, B.; Csenki, Zs.; Müller, T. **2021**. Ovarian inseminated sperm impacts spawning success in zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822) even in the absence of a male stimulus. Theriogenology 172, 315-321.
- Ljubobratović, U.; Péter, G.; Horváth, Z.; Żarski, D.; Ristović, T.; Percze, V., Sándor, Zs.; Lengyel, S.; Rónyai, A. **2017**. Reproductive performance of indoor-reared pikeperch (*Sander lucioperca*) females after wintering in outdoor earthen ponds. Aquac. Res. 48, 4851-4863.
- Ljubobratović, U.; Péter, G.; Sándor, Z.; Kugyela, N.; Rónyai, A. **2019**. The effect of hormonal preparation (gonadotropins vs. gonadoliberinins) on pre-seasonally obtained eggs and larvae quality in pikeperch (*Sander lucioperca* L.). Aquac. Int. 27, 1009-1024.
- Ljubobratović, U.; Péter, G.; Demény, F.; Kugyela, N.; Horváth, Á.; Pataki, B.; Horváth, Z.; Sándor, Zs..J.; Rónyai, A. **2020**. Reproductive performance in virgin pikeperch (*Sander lucioperca* L.) females fed different dietary levels of arachidonic acid with respect to the duration of spawning induction. Aquacult. Rep. 18, 100430.
- Ljubobratović, U.; Kwiatkowski, M.; Tóth, F.; Demény, F. **2021**. Effects of hormonal treatment before water warming on synchronisation of spawning time, oocyte size, and egg quality in pikeperch (*Sander lucioperca*). Anim. Reprod. Sci. 226, 106712.
- Ljubobratović, U.; Fazekas, G.; Nagy, Z.; Kovács, G.; Tóth, F.; Dániel, F.; Żarski, D. **2022**. Fish with larger pre-seasonal oocytes yields lower egg quality in season—A case study of outdoor-cultured domesticated pikeperch (*Sander lucioperca*). Anim. Reprod. Sci. 238, 106936.
- Ljubobratović, U.; Demény, F.; Peter, G.; Malinovskyi, O.; Kwiatkowski, M.; Pataki, B.; Horváth, Á. **2022**. Can artificial reproduction strategies (hormonal type and dose/thermal regime) affect gamete quality in indoor-reared pikeperch (*Sander lucioperca*)? Aquaculture Reports 23, 101032.
- Müller, T.; Horváth, L.; Szabó, T.; Ittész, I.; Bognár, A.; Faidt, P.; Ittész, Á.; Urbányi, B.; Kucska, B. **2018a**. Novel method for induced propagation of fish: sperm injection in oviducts and ovary / ovarian lavage with sperm. Aquaculture 482, 124-129.
- Müller, T.; Kucska, B.; Horváth, L.; Ittész, Á.; Urbányi, B.; Blake, C.; Guti, Cs.; Csorbai, B.; Kovács, B.; Szabó, T. **2018b**. Successful, induced propagation of African catfish (*Clarias gariepinus*) by ovarian lavage with sperm and hormone mixture. Aquaculture 485, 197-200.
- Müller, T.; Ács, É.; Beliczky, G.; Makk, J.; Földi, A.; Kucska, B.; Horváth, L.; Ittész, Á.; Hegyi, Á.; Szabó, T.; Urbányi, B.; Nguyen, N.G.; Orbán, L.; Havasi, M. **2020**. New observations about fertilization capacity and latency time of sperm inseminated into ovary in African catfish (*Clarias gariepinus*) as an oviparous model fish. Aquaculture 522, 735109.