

INSZEMINÁCIÓ MÓDSZERŰ AFRIKAI HARCSEA (*CLARIAS GARIEPINUS*) SZAPORÍTÁS ALTERNATÍV HORMONKEZELÉSSSEL (ELŐZETES EREDMÉNYEK)

HORVÁTH József¹, TÓTH András¹, VARGA Ádám¹,
IVÁNOVICS Bence², KALOCSAI Levente¹, URBÁNYI Béla³,
MÜLLER Tamás¹

¹Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Természetesvízi Halökológiai Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter Károly utca 1., e-mail: Horvath.Jozsef.Istvan@uni-mate.hu

²Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Környezettoxikológiai Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter Károly utca 1.

³Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter Károly utca 1.

Kivonat

Afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) halfajban indukált halszaporítási kísérletben vizsgáltuk a frissen gyűjtött afrikai harcsa hipofízis hormonkezelés hatásait az ikrások ovulációjára. Előzetes eredményeink alapján a frissen gyűjtött hipofízissel kezelt csoport nem különbözött a kontroll csoporttól a legfőbb mutatók (termékenyülési és kelési értékek) tekintetében.

Kulcsszavak: indukált szaporítás, petefészekmosás, hipofízis kivonat

Abstract

In our present study, the effects of freshly collected pituitary extract treatment of African catfish (*Clarias gariepinus*) on ovulation were investigated. Our preliminary results showed that the freshly collected hypophysis-treated group did not differ from the control group in terms of the main indicators (fertilization and hatching values).

Keywords: induced breeding, ovarian lavage, pituitary extract

Bevezetés

A *Clarias* nembe tartozó halfajok – beleértve az afrikai harcsát (*Clarias gariepinus*) is - a világ szárazföldi haltermelésének jelentős hányadát adják (1,249 millió tonna, FAO, 2022). Az Európai Unióban Magyarország piacvezető szerepet tölt be az afrikai harcsa termelésben, hazánkban az intenzív rendszerben előállított halhús 93,6%-át adja a faj (Lukácsik és mtsai., 2021, Kiss, 2023). Ezen kedvező pozíció megtartásának fontos eleme a fajjal kapcsolatos intenzív K+F munka.

Az afrikai harcsa indukált szaporításával kapcsolatban számos hazai vonatkozású munka született, a magyar szakemberek élen járnak a fajjal kapcsolatos kutatómunkában. Hazánkban engedélyezett a hipofízissel (agyalapi mirigy) történő hormonkezelés (hipofizálás) alkalmazása az indukált halszaporítás során (Horváth és mtsai., 2014). A faj szaporítási technológiájának alapvető részét képezi, hogy a száraz termékenyítéshez (*in vitro* fertilizáció) a spermagyűjtés a here műtéti úton történő eltávolításával történik (anatómiai okok miatt nem fejhető), ami az egyed elpusztításával jár (Péteri és mtsai., 1989; Péteri és mtsai., 2015). Elgondolásunk alapján érdemes lenne a spermagyűjtéssel egyidejűleg a hím hipofízisét is eltávolítani, amelyet ezután fel lehetne használni az ikrások hormonkezelésére. Ennek az egyik módja az inszeminációs szaporítás lenne, ahol lehetőség van a beérési idő alatt (10-12h) a sperma petefészekbeli tárolására (Müller és mtsai., 2018b; Müller és mtsai., 2020a,b). Korábban bizonyították, hogy a spermiumok a petefészek ozmokonform környezetében akár 36 órán keresztül is képesek megőrizni aktivitásukat külső megtermékenyítésű halfajok esetében (Müller és mtsai., 2020b).

Célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a frissen gyűjtött natív afrikai harcsa hipofízis szuszpenzió hormonkezelés hatását az ikrások ovulációjára, valamint a hormonpreparátum alkalmazhatóságát az inszeminációs szaporítás során.

Anyag és módszer

A kísérlethez használt ikrások ($n = 12, 249 \pm 32,1$ g) saját szaporításból származtak, míg a hím egyed (n = 1, 3402 g) a megfelelő hipofízis-, és spermamennyiség miatt a Bajcsfalvi Kft.-től szereztük be. Az ikrás anyahalakat a kísérlet során a tartásukat szolgáló recirkulációs rendszerben ($200 \times 45 \times 145$ cm, szűrőkáddal kiegészített teljes térfogat kb. 1300 l) egyenként keltető ketrecekben (Fyllen szennyestartó kosár, magasság: 50 cm, átmérő: 45 cm, térfogat: 79 l, szembőség: 0,75 mm) helyeztük el. A kísérlet előtt a vízhőmérsékletet az addigi 26°C -ról 27°C -ra emeltük.

Két csoportot hoztunk létre: *in vitro* fertilizáció (kontroll, $n = 6$) és inszemináció csoportok ($n = 6$). A kontroll csoport ikrásait 1 Ovopel (GnRH-a és metoklopramid, Interfish Kft.) pellet/testtömeg kg intramuszkulárisan hormonkezeltek a spermagyűjtést 12 órával megelőzően. A teljes egyed ($n = 1$) túlaltatását követően műtéti úton eltávolítottuk a herét, majd ebből nyertük ki a spermát. A kontroll csoport minden ikrásától fejt ikratételből Petri-csészénként 0,1 ml ikrát ($83,11 \pm 12,74$ ikraszem) adagoltunk ki anyahalanként 3 normál méretű Petri-csészébe (átmérő \times magasság: $90 \times 14,2$ mm), amelyeket 1 csepp spermával (kb. 5 mm^3) *in vitro* termékenyítettünk. Ezt követően az alsó állkapocs eltávolításával, valamint a koponya felnyitásával eltávolítottuk az agyalapi mirigyet is, amelyet Petri-csészébe helyeztünk (1. ábra, felső képek). A frissen gyűjtött afrikai harcsa hipofízisből 0,9% NaCl oldat segítségével szuszpenziót készítettünk. Az inszemináció csoport ikrásait az intramuszkuláris natív hipofízis hormonkezeléssel egyidejűleg 1 ml sperma/testtömeg kg mennyiségben inszemináltuk mindkét petefészeklebe nybe egyenlően elosztva a Müller és mtsai. (2018a) bemutatott módon (1. ábra, alsó kép). A katétert (hossz: 400 mm, külső átmérő: 1,3 mm, belső átmérő: 1 mm (GALMED Wytwórnia Sprzętu Medycznego®), Lengyelország) a petefészeklebe nyek belső csúcsáig vezettük, majd az injektálást ezt követően egy pontba végeztük. A 12 órás beérési időt követően a halakat lefejtük, és a

kontroll csoporthoz hasonlóan a kevert gamétaadagokat (0,1 ml/csésze) anyahalanként 3 normál méretű Petri-csészébe helyeztük, majd minden egyes csészéhez állott csapvizet adtunk (vízaktiváció). A Petri-csészékben 12 óránként vizet cseréltünk az elhalt embriók és a nem termékenyült ikrák eltávolításával egyidejűleg. A kísérlet során meghatároztuk a termékenyülési és kelési értékeket, amelyeket a következő képletek segítségével végeztünk:

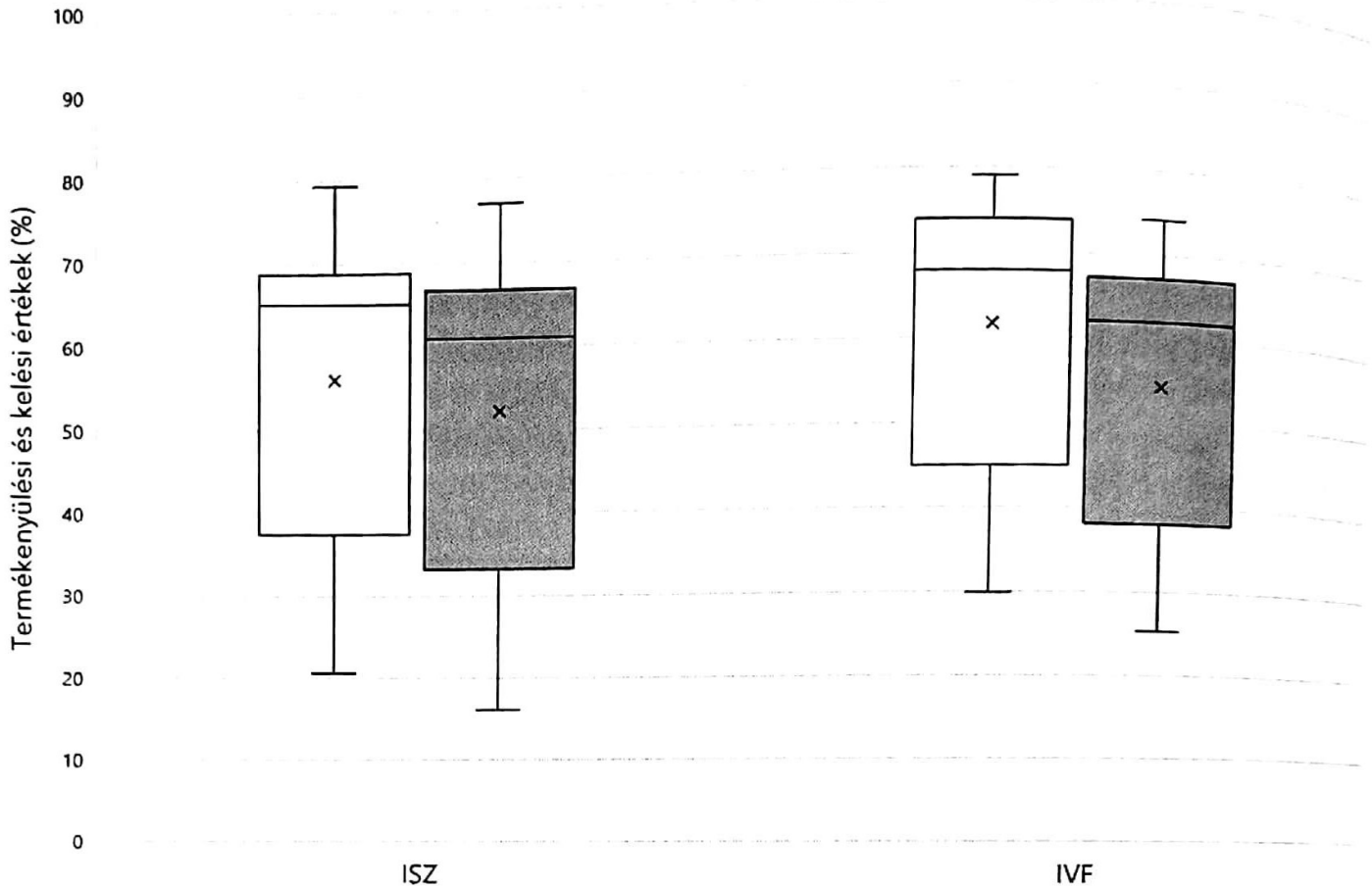
- ovulációs ráta = $(\text{ovulált ikrások száma} / \text{összes ikrás száma}) \times 100$
- termékenyülési arány = $(\text{élő embriókat tartalmazó ikraszemek 12 órával a termékenyítést követően} / \text{összes ikraszem}) \times 100$
- kelési arány = $(\text{kelt lárvák száma 24 órával a termékenyítést követően} / \text{összes ikraszem}) \times 100$



1. ábra. Balra fent: Az agyalapi mirigy elhelyezkedése, jobbra fent: kioperált agyalapi mirigy, lent: inszemináláshoz a katéter felhelyezése az urogenitális papillán keresztül.

Eredmények és következtetések

A kísérlet során az összes hal ovulált, a fejt ikratételek termékenyültek mindkét csoportban. Az *in vitro* fertilizáció csoport termékenyülési és kelési értékei statisztikailag igazolható mértékben nem különböztek az inszemináció csoport értékeitől (kétmintás t-próba, $p < 0,05$). A vizsgált értékek mindkét csoportban nagy egyedi különbségeket mutattak (2. ábra).



2. ábra. Termékenyülési (fehér) és kelési (szürke) értékek (ISZ – inszemináció, IVF – *in vitro* fertilizáció).

Összefoglalás

Kutatásunk során afrikai harcsa halfajban összevetettünk egy alternatív szaporítási módszert (egy tejesből származó spermaadagok inszeminálása és belőle származó friss hipofízis kezelés) a hagyományos kezelési eljárással (kereskedelemben kapható hormonkészítménnyel történő kezelés és *in vitro* fertilizáció). Előzetes eredményeink alapján szaporodásbiológiai mutatókat tekintve (termékenyülési és kelési arányok) nem tapasztaltunk különbséget.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat a következő pályázati munkák támogatták: NKFI Alap (NKFI_K_135824), 2020-1.2.4 TÉT Ipari TR (2021-00015). A kutatás a Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-23-4 kódszámú (ÚNKP-23-4-II-MATE-4), ÚNKP-23-2 kódszámú (ÚNKP-23-2-I-MATE-6), ÚNKP-23-3 kódszámú (ÚNKP-23-3-I-MATE/22) Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs alaphoz finanszírozott szakmai támogatásával készült.

Irodalom

- FAO 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. FAO, Rome.
- Horváth, L., Csorbai, B., Szabó, T., Urbányi, B., Müller, T. 2014. *A hormonális halszaporítás túlélte a szigorú vizsgálatot*. Halászat 107(4), 22-25.
- Kiss, G. 2023. Statisztikai jelentések – Lehalászás jelentés, NAIK Agrárgazdasági Kutatóintézet, Budapest.
- Lukácsik, B. M., Kiss, G., György, Á. I., Lengyel, P., Csörgits, G. 2021. Magyarország tógazdasági és intenzív üzemi haltermelése 2020-ban. Halászat 114, 87–96.
- Müller, T., Ács, E., Beliczky, G., Makk, J., Földi, A., Kucska, B., Horváth, L., Ittész, Á., Hegyi, Á., Szabó, T., Urbányi, B., Quyén, N. N., Orbán, L., Havasi, M. 2020b. New observations about the fertilisation capacity and latency time of sperm inseminated into the ovary of African catfish (*Clarias gariepinus*), an oviparous model fish. Aquaculture 522, 735109.
- 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., Kucska, B., Szabó, T., Horváth, L., Horváth, Á., Ittész, I., Havasi, M., Urbányi, B. 2020a. A magyar halszaporítás technológiai kutatások sarokkövei és egy új indukált szaporítási mód bemutatása. Állattenyésztés és takarmányozás 69(3), 305-316.
- Péteri, A., Horváth, L., Radics, F., Puppáné, B. F. 1989. Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) tenyésztése. Halászat 82(3), 86-91.
- Péteri, A., Mouth-Poulsen, T., Kovács, É., Tóth, I., Woynarovich, A. 2015. African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) production with special reference to temperate zones, FAO, Budapest.