

## Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) indukált szaporítás-technológiájának magyar vonatkozású kutatási eredményei

### Hungarian research results of the technology of induced propagation of African catfish (*Clarias gariepinus*)

VARGA Ádám – TÓTH András – NYABUTO NGOGE Kevin – HORVÁTH József

#### ÖSSZEFOGLALÁS

Magyarországon az afrikai harcsa a hazai haltermelés második legnagyobb volumenű tenyésztett halfajának számít. A halfaj esetében a gyors növekedési erélye, technológiai tűrőképessége, korai ivarérése és egyéb kedvező biológiai tulajdonságai jelentős előnynek számítanak. A Szerzők a halak kontrollált körülmények között történő szaporításának általános bemutatása mellett az afrikai harcsa szaporításának alapjaiba is betekintést nyújtanak. Ezt követően ismertetésre kerülnek a pontyhipofízis kivonattal, mint természetes eredetű gonadotróp hormonokkal, valamint a különböző GnRH készítményekkel indukált szaporítás-technológiák. Az áttekintés második részében bemutatásra kerül egy új halszaporítási módszer, melynek alapja, hogy a spermium sejtek biológiai aktivitásukat megtartva hosszabb ideig „tárolhatóak” petefészekben indukált szaporítás (szaporodás) előtt. Végül felvázolják a mélyhűtött sperma felhasználásának hazai ismereteit afrikai harcsánál. A Szerzők áttekintő képet adnak a faj szaporítás-kutatási eredményeiről, amelyek kizárólag magyar szerzőségi forrásmunkákon alapulnak. Emellett részletesen foglalkoznak olyan kísérleti szintű vizsgálatokkal is, amelyek jelenleg még nem terjedtek el a gyakorlatban.

**Kulcsszavak:** afrikai harcsa, halszaporítás, pontyhipofízis, GnRH, mélyhűtött sperma

#### SUMMARY

**Objective:** Hungary has an important role of African catfish breeding in the EU. African catfish farming is the second largest volume of fish production in Hungary which gives the largest part of intensive fish culture. The advantages of this species include their rapid growth rate, technological resilience, early sexual maturity, and other favorable biological characteristics. Besides the African catfish is well-suited as a model fish in research and multidisciplinary studies. The traditional *in vitro* fertilisation (dry fertilisation method) is the most widely used method of African catfish breeding.

**Methods:** In addition to providing a general overview of fish propagation under controlled conditions, the authors give an introduction to the basics of African catfish breeding. Following this, the use of carp pituitary extract as a natural source of gonadotropic hormones, as well as the application of various GnRH preparations for fish propagation technologies are shown. In the second part of the review, the authors provide an insight into a new method of fish propagation (reproduction), which is based on maintaining the biological activity of spermatozoa for a longer time among ovarian condition under induced reproduction (or spawning). Finally, the domestic knowledge of using cryopreserved sperm in African catfish is outlined.

**Results:** The literature table is summarized by examining the following parameters: hormone, carrier material, method, dosage, water temperature, latency time, ovulation rate and fertility. The follow different hormone preparations have been used in African catfish based on the author's research: carp pituitary extract (PH), african catfish pituitary (AhH), pituitary extract (HK), hCG, DOCA, LHRH-A, Ovopel, mGnRH, cGnRH, cGnRH-II, sGnRH, mGnRHa, cGnRH-IIa, sGnRHa and Biogonadyl 500.

**Conclusions:** The authors of the article provide a comprehensive overview of the results of breeding research of this species. The review based exclusively on Hungarian authorship sources. They also present details of experimental-level studies that are not yet widespread in practice.

**Keywords:** African catfish, fish propagation, carp pituitary, GnRH, cryopreserved sperm

## 1. Bevezetés és célkitűzések

A Föld lakossága 2022-ben elérte a 8 milliárd főt, és az előrejelzések szerint 2037-ben eléri a 9 milliárdot is (Zeifman és mtsai, 2022). Az egyre növekvő számú emberiség élelmiszerének biztosítása a 21. század egyik legfontosabb kihívása. Az állati eredetű termékek előállításában az édesvízi és tengeri akvakultúra a legdinamikusabban fejlődő ágazat a világon (FAO, 2022). Az emberi halfogyasztás több mint felét az akvakultúra biztosítja, és ez az arány 2030-ra tovább nőhet, elérve akár a 60%-ot is (FAO, 2018; Mehar és mtsai, 2019). A globális akvakultúra termelés az elkövetkező 13 évben kétszeresére nőhet a meglévő állományok intenzív szelektálásával és genetikai vonalak fejlesztésével, beleértve a hibridizációt, a keresztezést, a genommanipulációt és a szelekciós tenyésztést is (Lind és mtsai, 2012; Gjedrem és Rye, 2018). A fenntartható és tervezhető haltenyésztés egyik alapkritériuma a biztonságos és megfelelő minőségű állomány-utánpótlás, amely a halfajokra kidolgozott szaporítási technológiákon alapszik (Müller és mtsai, 2020b; Müller, 2022). Ebben a munkában a magyar kutatók és ágazati szakemberek jelentős, nemzetközileg is elismert szerepet játszottak, és játszanak napjainkban is.

Az akvakultúrában történő haltermelés az EU-ban stagnál, vagy kismértékben csökken, mely jelentős részben köszönhető a relatíve magas termelési költségeknek, és az emiatt előálló gyenge versenyképességnek az ázsiai akvakultúrával szemben (FAO, 2022). A tengerrel nem rendelkező EU tagállamok, illetve azok, ahol hagyományosan nagy szerepe van az édesvízi akvakultúrának, mindinkább a túlhalászott tengeri halállományok kiváltásának lehetőségeként pozicionálják az ágazatot, amelyhez egyéb fontos mezőgazdasági szektorok is kapcsolódnak. Az édesvízi akvakultúra szerepe környezetvédelmi és vidékfejlesztési szempontból is meghatározó.

Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) fontos szerepet játszik az édesvízi akvakultúra- termelésben, a *Clarias* nembe tartozó fajok globális össztermelése 1,249 millió tonna, amivel a 10. helyet foglalják el a szárazföldi haltermelésben (FAO, 2022). A halfaj termelési potenciáljának kimagasló előnye számos halfajjal szemben a gyors növekedési erély (~ 1,5-2 kg-os piaci méretet 10 hónapon belül), sajátos biológiai tulajdonságainak köszönhetően (pl.: légköri oxigén hasznosítása) nagyfokú technológiai tűrőképességgel rendelkezik. Hazánkba a faj pusztai véletlenségből került be, azonban felismerve a halfaj kedvező tulajdonságait, gyorsan bekerült a termelésbe (Woynárovich, 1999). Magyarország Hollandiát megelőzve vezető szerepet tölt be az afrikai harcsa termelésében az Európai Unióban (2023-ban 5303 tonna) (Kiss, 2024), hazánkban ez a faj adja az intenzív rendszerű haltermelés gerincét (a részaránya az összes halfajhoz viszonyítva 94%). Ezt a kedvező pozíciót csak folyamatos innovációval lehet fenntartani. Az afrikai harcsával kapcsolatos kutatások kiemelkedő fontosságúak a hazai kutatás-fejlesztési tevékenységekben a szektoron belül.

Dolgozatunkban igyekszünk összefoglalni az afrikai harcsa halfaj szaporításával kapcsolatos mindazon eredményeket, amelyek magyar kutatók forrásmunkáin alapulnak. Ezek az eredmények részben vagy egészben integrálódtak a halszaporítási gyakorlatba, helyenként a kidolgozott szaporítási technológia alapvető elemeivé váltak. Továbbá részletezzük azokat a kutatásokat is, amelyekben az afrikai harcsa

indukált szaporítási modell-halfajként szerepelt. Említést teszünk olyan kísérleti munkákról is, amelyek alapjául szolgáltak több jelenleg is folyó kutatási iránynak.

## 2. Az afrikai harcsa szaporításának szabályozása

A halak (és ebbe az afrikai harcsa is értendő) kontrollált körülmények között történő szaporítását három fő csoportra lehet osztani:

1. *Természetes ívatás* alapja, hogy az íváásra felkészült halaknak olyan környezeti feltételeket biztosítanak, amik nagyban hasonlítanak a természetes ívóhelyeikre (Müller és mtsai, 2020c). Ebben a környezetben a halak neurohormonális folyamatai természetes módon reagálnak, és végbe megy a jellegzetes szaporodási viselkedés, az ívás. A természetszerű szaporítást kis méretű tavakban vagy medencékben végzik. A módszer lényege az, hogy a sekély, néhány cm-es vízbe kihelyezett halakon a nappali időszakban 0,5 m-rel emelik a vízszintet, ami az éjszakai, illetve hajnali órákra általában kiváltja az ívást. 100 m<sup>2</sup>-enként 1-2 pár anyahalat helyeznek ki. A természetszerű szaporítás medencés változatának alkalmazásakor az ívatómedencébe egy vékony kavicsréteget raknak, és az ikraszemek erre tapadnak. Az ívás után a szülőket célszerű eltávolítani a tavakból, illetve a medencékből. Afrikai harcsa esetében jelenleg nincs szükség ezzel a szaporítási módszerrel foglalkozni, mert a természetes fényváltakozások hiánya, a mesterséges takarmány és a mesterséges tartástechnológiák miatt az anyahalak szezonális ivari ciklusa megszűnik (Péteri és mtsai, 1989).

2. *Félmesterséges ívatás*: az ívás időzítésének és a szaporodást elősegítő tényezők részleges helyettesítésére különböző hormonkezeléseket alkalmaznak, majd az anyahalakat visszahelyezik olyan környezetbe, amely hasonlít a természetes ívóhelyeikre (Müller és mtsai, 2020c). A gyakorlati, iparszerű afrikai harcsa termelésben nem alkalmazzák ezt a módszert. Kutatói módszertanban, ahol a fajt modell-halfajként alkalmazzák, ott laborkörülmények között már van létjogosultsága (Quyén és mtsai, 2022; Nguyen és mtsai, 2020).

3. *Indukált keltetőházi / mesterséges szaporítás*: a szaporodásra előkészített halakban a szaporodást kiváltó környezeti tényezőket nagy részben hormonkezeléssel helyettesítik (Müller és mtsai, 2020c). Ennek következtében már nem szükséges reprodukálni az ívási környezetet, ami egyes halfajok mesterséges tartása esetén egyáltalán nem, vagy csak nehezen valósítható meg (Horváth és Magyary, 2007). A halakból kinyert ivartermékekkel termékenyítenek, majd a megtermékenyített ikratételeket ellenőrzött körülmények között keltetik (Müller és mtsai, 2020c). A széles körben alkalmazott és hatékony szaporítási módszer sikeres gyakorlásához nem csupán speciális technikai feltételekre (például keltetőház a szükséges berendezésekkel) van szükség, hanem pontos előírások szerint működő, szakaszokra tagolt szaporítási technológiára is (Horváth és Urbányi, 2000). A különböző szaporítási módszerek összefoglalásáról részletes magyar és angol nyelvű leírások találhatók Horváth és mtsai (1984, 1985a,b, 2000, 2015) műveiben. Az afrikai harcsa szaporítás - keltetőházi és laborkörülmények között - döntő többségében ide tartozik (lásd következő fejezetek).

A természetes ívatás során a környezeti tényezők befolyásolása miatt nincs szükség hormonkezelésre. A félmesterséges és mesterséges szaporítás folyamán a neuroendokrin szabályozásba az íváásra/szaporodásra felkészült halak esetében

a hipotalamusz-hipofízis-gonád tengelyen különböző szinteken lehet beavatkozni. Ennek célja az ivarsejtek végső érésének, elsősorban az ovulációnak elérése (Müller és mtsai, 2020c).

1. *Hipotalamusz szint:* gonadotrop releasing hormon (GnRH/szintetikus GnRH-a) készítmények használata, gyakran dopamin receptor antagonistá vegyületekkel kombinálva (Horváth és mtsai, 1997).

2. *Hipofízis szint:* természetes eredetű gonadotrop hormonok alkalmazása (különböző halak agyalapi mirigyei, illetve hipofízis-kivonatai (Jaczó, 1953, 1955; Woynárovich, 1954; Szabó és mtsai, 2023), humán chorion gonadotropin (hCG) (Sneed és Clemens, 1959).

3. *Gonád szint:* szintetikus szex-szteroid kezelés (pl. 17 alpha, 20 beta-dihydroxy-4-pregnen-3-one) (Müller és mtsai, 2012).

### 3. Az afrikai harcsa szaporításának alapjai

Az afrikai harcsa általában 6-18 hónapos kor között válik ivaréretté, amelynek kialakulása jelentősen függ az élőhely táplálékellátottságától, és a hőmérséklet ingadozásaitól. Az ivarérett halak testtömege széles határokon belül mozog, de általában a 200 grammos egyedek már ivarérették (Quyén és mtsai, 2023). A fajra jellemző az ivari dimorfizmus, az ivarok már 2-3 hónapos kortól könnyen megkülönböztethetők egymástól az ivari papilla alapján. A hímek hosszú és csúcsos ivari papillával rendelkeznek, míg a nőstényeké enyhén kiemelkedő és szemölcszerű. A hímek szögletes feje is megfigyelhető, ami relatíve nagyobb, mint az ikrásoké (Péteri és mtsai, 1989). A faj természetes élőhelyén - különösen ott, ahol az infrastruktúra alacsony szintű - a természetes szaporítást kis tavakban és medencékben végzik, ahol általában a vízszint éjszakai emelésével indukálják az ívást, azonban napjainkra világszerte a mesterséges indukált szaporítási eljárás vált meghatározóvá. Az intenzív rendszerben tartott anyahalak elvesztik ivari ciklusuk szezonálisát, így a legoptimálisabb tartási körülmények mellett akár havonta is szaporíthatóak. Ivari működésének jellemzésére kifejlesztették az ultrahangos vizsgálati módszert is (Kotrik és mtsai, 2008).

Ez a faj a kutatásokban kedvelt modell, elsősorban a száraz termékenyítési (*in vitro* fertilizáció) eljárás révén, de multidiszciplináris munkákban is gyakran használják (Müller és mtsai, 1992). Ebben a folyamatban az ikrás anyahalakat hormonkezeléssel serkentik az ovulációra. A keltetőházi halszaporítási gyakorlatban – szemben a laborkísérletekkel – a hímeket általában nem hormonkezelik (Szarvas-Fish Kft., Bajcsihal Kft., V-95 Kft. MATE AKI HAKI termelési célú szaporítás szóbeli közlések). Az ikrásokból, a programozott ovuláció bekövetkezésekor a hasfal masszírozásával (fejés) nyerik ki az ikrát. Érdekességgént megemlíthető, hogy napjainkban kidolgozták az afrikai harcsa *in vitro* történő oocita érlelését is (Kitanovic és mtsai, 2024). A spermát a hímek leölése után a here műtéti eltávolításával gyűjtik, hiszen a harcsaalakúak rendjére jellemzően a here és az ondóvezeték között elhelyezkedő szeminális vezikulum jelenléte miatt a sperma fejéssel történő kinyerése keltetőházi körülmények között nem kivitelezhető. A lefejt ikratételeket ezután a heréből kinyert spermával termékenyítik (Péteri és mtsai, 2015). Az ikrások relatív ikraprodukciója 7-32 testtömeg % között változik. A legkedvezőbb hőmérséklet az anyahalak tartására a 25°C (Péteri és mtsai, 1989).

1. táblázat: Különböző hormonkészítmények alkalmazása afrikai harcra ikrásokban (magyar és társ-magyar szerzőséggel készült publikációk)

| Hormon (1)        | Mód (2) | Vivőanyag (3)     | Dózis/ttkg (4)                              | Víz hő (°C) (5) | Beérési idő (óra) (6) | Óvulációs ráta (%) (7) | Termékenyülési arány (%) (8) | Irodalom (9)            |
|-------------------|---------|-------------------|---------------------------------------------|-----------------|-----------------------|------------------------|------------------------------|-------------------------|
| PH                | IP/IM   | 0,65 % NaCl oldat | 4 mg                                        | -               | -                     | -                      | -                            | Péteri és mtsai (1989)  |
| AnH               | IP/IM   | 0,65 % NaCl oldat | 1 db                                        | -               | -                     | -                      | -                            |                         |
| hCG               | IP/IM   | 0,65 % NaCl oldat | 0,004 mg/g                                  | -               | -                     | -                      | -                            |                         |
| DOCA              | IP/IM   | 0,7 % NaCl oldat  | 50 mg                                       | -               | -                     | -                      | -                            |                         |
| PH                | -       | -                 | 10-30 mg                                    | 25              | 8-13                  | -                      | 70-90                        |                         |
| LHRH-A, GnRH, hCG |         |                   | nincs adat, csak felsorolás szerűen megadva |                 |                       |                        |                              | Radics (1990)           |
| PH                | -       | -                 | 4-5 mg                                      | -               | -                     | -                      | -                            | Radics és mtsai (1994)  |
| mGnRHa+MET        | IP      | 0,7% NaCl oldat   | 0,05 mg + 10 mg                             | 24-25           | 12                    | 100                    | 96,51 ± 1,45                 | Akpadja és mtsai (1996) |
| cGnRH-II+MET      | IP      |                   | 0,05 mg + 10 mg                             | 24-25           | 12                    | 100                    | 98,26 ± 1,76                 |                         |
| cGnRH-I+MET       | IP      |                   | 0,05 mg + 10 mg                             | 24-25           | 12                    | 0                      | 0                            |                         |
| sGnRH+MET         | IP      |                   | 0,05 mg + 10 mg                             | 24-25           | 12                    | 80                     | 90,29 ± 1,05                 |                         |
| mGnRH+MET         | IP      |                   | 0,05 mg + 10 mg                             | 24-25           | 12                    | 35                     | 81,28 ± 5,98                 |                         |
| PH                | IP      |                   | 4 mg                                        | 24-25           | 12                    | 100                    | 96,7 ± 2,91                  |                         |
| GnRHa+pimozid     | IP      | NaCl oldat        | 0,05 mg + 0,005 mg                          | 24-25           | 10                    | 100                    | 81,6*                        |                         |
| GnRHa+pimozid     | IP      | NaCl oldat        | 0,02 mg + 0,005 mg                          | 24-25           | 10                    | 100                    | 77,8*                        | Bizuska és mtsai (1999) |
| GnRHa+pimozid     | IP      | NaCl oldat        | 0,02 mg + 0,001 mg                          | 24-25           | 10                    | 100                    | 79,3*                        |                         |
| PH                | IM      | NaCl oldat        | 4 mg                                        | 24-25           | 11                    | 100                    | 78,5*                        |                         |
| Biogonadyl 500    | IP      | NaCl oldat        | 800 IU                                      | 24-25           | 12-15                 | 100                    | 87,9*                        |                         |
| mGnRHa + MET      | IP      | 0,7% NaCl oldat   | 0,05 mg + 10 mg                             | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            | Szabó és mtsai (2007)   |
| PH                | IP      | 0,7% NaCl oldat   | 4 mg                                        | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                         |
| cGnRH-II + MET    | IP      | 0,7% NaCl oldat   | 0,05 mg + 10 mg                             | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                         |
| sGnRH + MET       | IP      | 0,7% NaCl oldat   | 0,05 mg + 10 mg                             | 25 ± 1          | 12                    | 80                     | -                            |                         |
| mGnRH + MET       | IP      | 0,7% NaCl oldat   | 0,05 mg + 10 mg                             | 25 ± 1          | 12                    | 30                     | -                            |                         |
| cGnRH-I + MET     | IP      | 0,7% NaCl oldat   | 0,05 mg + 10 mg                             | 25 ± 1          | 12                    | 0                      | -                            |                         |

| Hormon (1)      | Mód (2) | Vivőanyag (3)                              | Dózis/ittkg (4) | Víz hő (°C) (5) | Beérési idő (óra) (6) | Ovulációs ráta (%) (7) | Termékenyülési arány (%) (8) | Irodalom (9)           |
|-----------------|---------|--------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------------|------------------------|------------------------------|------------------------|
| mGnRHa + MET    | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,05 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            | Szabó és mtsai (2007)  |
| PH              |         |                                            |                 |                 |                       |                        |                              |                        |
| PH              | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 4 mg            | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                        |
| cGnRH-II + MET  | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,05 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                        |
| sGnRH + MET     | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,05 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 75                     | -                            |                        |
| mGnRH + MET     | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,05 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 0                      | -                            |                        |
| cGnRH-I + MET   | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,05 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 0                      | -                            | Szabó és mtsai (2007)  |
| mGnRHa + PIM    | IP      | 0,7% NaCl oldat (PIM – DMSO)               | 0,05 mg + 5 mg  | 28 ± 1          | 12                    | 87,5                   | -                            |                        |
| sGnRHa + PIM    | IP      | 0,7% NaCl oldat (PIM – DMSO)               | 0,05 mg + 5 mg  | 28 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                        |
| mGnRHa + MET    | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,05 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                        |
| cGnRH-IIa + MET | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,05 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                        |
| sGnRHa + MET    | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,05 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                        |
| mGnRHa + MET    | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,01 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            | Rónyai és mtsai (2008) |
| cGnRH-IIa + MET | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,01 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                        |
| sGnRHa + MET    | IP      | 0,7% NaCl oldat                            | 0,01 mg + 10 mg | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | -                            |                        |
| GnRHa (Gonazon) | IM      | gyártó által mellékelt oldatban felhígítva | 20 µg           | 25,8-26,0       | 14,3                  | 100                    | 16,0 ± 35,8                  |                        |
|                 | IM      |                                            | 40 µg           | 25,8-26,0       | 13,2                  | 100                    | 36,0 ± 25,1                  |                        |
|                 | IM      |                                            | 80 µg           | 25,8-26,0       | 13,6                  | 100                    | 34,0 ± 29,7                  |                        |
| PH              | IM      | 0,65 % NaCl oldat                          | 4 mg            | 25,8-26,0       | 12,1                  | 100                    | 68,0 ± 38,3                  |                        |

| Hormon (1) | Mód (2) | Vivőanyag (3)    | Dózis/ttkg (4) | Víz hő (°C) (5) | Beérési idő (óra) (6) | Ovulációs ráta (%) (7) | Termékenyülési arány (%) (8)  | Irodalom (9)            |
|------------|---------|------------------|----------------|-----------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| PH         | -       | 0,7 % NaCl oldat | 4 mg           | 25 ± 1          | 12                    | 100                    | kontroll (0-60 perc)          | Szabó és mtsai (2010)   |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | AH OF (0-60 perc)             |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | SZP OF (0-5 perc)             |                         |
| PH         | PM      | sperma           | 5 mg           | 26,9 ± 0,7      | 10                    | 100                    | G1                            | Müller és mtsai (2018b) |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | G1                            |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | G2 (hozzáadott sperma nélkül) |                         |
| PH         | IP      | 0.9% NaCl oldat  | 5 mg           | 27 ± 0,5        | 10                    | 100                    | 5 h tárolási idő              | Müller és mtsai (2020b) |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 10 h tárolási idő             |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 15 h tárolási idő             |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 20 h tárolási idő             |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 25 h tárolási idő             |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 36 h tárolási idő             |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 48 h tárolási idő             |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | kontroll                      |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 0,5 ml sperma                 |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 1 ml sperma                   |                         |
|            |         |                  |                |                 |                       |                        | 2 ml sperma                   |                         |

| Hormon (1)            | Mód (2) | Vivőanyag (3)   |                 |                               | Dózis/ttkg (4) | Víz hő (°C) (5) | Beérési idő (óra) (6) | Ovulációs ráta (%) (7)      | Termékenyülési arány (%) (8) |                       | rodalom (9)            |
|-----------------------|---------|-----------------|-----------------|-------------------------------|----------------|-----------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------|
| mGnRHα + MET (Ovopel) | 1.      | IP              | 0,65 NaCl oldat |                               | 20 μg + 10 mg  | 28 ± 0,5        | 10                    | 100                         | 55,1 ± 16,1**                |                       | Kucska és mtsai (2022) |
|                       |         | IM              |                 |                               |                |                 |                       |                             | 66,7 ± 9,3**                 |                       |                        |
|                       |         | PM              |                 |                               |                |                 |                       |                             | 63,4 ± 9,0**                 |                       |                        |
|                       |         | PM              | sperma          | 39,1 ± 18,3**                 |                |                 |                       |                             |                              |                       |                        |
|                       | 2.      | IM              | 0,65 NaCl oldat |                               |                | 10              |                       | 61,9 ± 12,0**               |                              |                       |                        |
|                       |         | IM              |                 |                               |                |                 |                       | 46,0 ± 9,2**                |                              |                       |                        |
| PH                    | IM      | 0,9% NaCl oldat |                 | 3 mg – teljes<br>5 mg – ikrás | 25-26          | 11              | 100                   | AH×AH<br>HL×AH              | 81,35<br>74,92 ± 6,6         | Quyen és mtsai (2022) |                        |
|                       | IP      | 0,7% NaCl oldat |                 | 4 mg                          | 25 ± 1         | 12              | 100                   | 84,38 ± 7,76<br>77,5 ± 9,26 |                              | Szabó és mtsai (2023) |                        |
| mGnRHα + MET (Ovopel) | IP      | 0,9 NaCl oldat  |                 | 20 μg + 10 mg                 | 26             | -               | 100                   | 85,6 ± 6,1                  |                              | Quyen és mtsai (2022) |                        |
|                       | R       |                 |                 | 5×(20 μg + 10 mg)             |                |                 |                       | 68,2 ± 18,5                 |                              |                       |                        |

PH = pontyhipofízis (10); AhH = afrikai harcsa hipofízis (11); HK = hipofízis kivonat (12); Ovopel = [18-20  $\mu$ g (D-Ala6,Pro9NEt) mGnRH $\alpha$ ]+10  $\mu$ g MET (13); MET = metoklopramid (14); mGnRH = emlős GnRH (15); cGnRH-I = csirke GnRH-I (16); cGnRH-II = csirke GnRH-II (17); sGnRH = lazac GnRH (18); mGnRH $\alpha$  = emlős GnRH analóg (19); cGnRH-IIa = csirke GnRH-II analóg (20); sGnRH $\alpha$  = lazac GnRH analóg (21); IM = intramuszkuláris (22); IP = intraperitoneális (23); PM = petefészekmosás (24); R = rektális (25); OF = ovariális folyadék (26); SZP = szivárványos pisztráng (27); HL = vundu (Heterobranchus longifilis) (28); \* = ábráról leolvasva (29); \*\* = keletési arány (30); \*\*\* = ivatás (31)

Table 1: Application of different hormone preparations in african catfish (Hungarian and co-Hungarian authorship)

hormone (1); method (2); carrier material (3); dosage (4); water temp. (5); latency time (6); ovulation rate (7); fertility (8); literature (9); carp pituitary (10); african catfish pituitary (11); pituitary extract (12); 18-20  $\mu$ g (D-Ala6,Pro9NEt) mGnRH $\alpha$ +10  $\mu$ g MET (13); metoclopramide (14); mammalian GnRH (15); chicken GnRH-I (16); chicken GnRH-II (17); salmon GnRH (18); mammalian GnRH analogue (19); chicken GnRH-II analogue (20); salmon GnRH analogue (21); intramuscular (22); intraperitoneal (23); ovarian lavage (24); rectal (25); ovarian fluid (26); rainbow trout (27); Heterobranchus longifilis (28); figure reading (29); hatching rate (30); fish spawning (31)

A szaporításkor alkalmazott leggyakoribb hormonok, amiket magyar kutatók is használtak: különböző hipofízis kivonatok, DOCA (deoxikortikoszteroid-acetát), hCG (humán chorion gonadotropin), GnRH analógok, GnRH analóg és dopamin receptor antagonisták kombinációja (Péteri és mtsai, 1989; Woynárovich, 1994; Horváth és mtsai, 1997; Rónyai és mtsai, 2008). A különböző magyar és társ-magyar szerzők által alkalmazott különböző hormonkészítményeket az 1. táblázat mutatja.

### 3.1. Az afrikai harcsa pontyhipofízissel indukált ovulációja

Radics (1990) összefoglaló cikkben ismertette a hazai afrikai harcsa szaporítás eredményeit. Az afrikai harcsa különböző szintetikus hormonkészítményekkel (LHRH-A; GnRH; hCG) jól szaporítható, azonban saját gyakorlatára alapozva a más halfajoknál is bevált pontyhipofízist javasolta használni, viszont a későbbi kísérletekben leírt dózis sokszorosával szaporított (10-30 mg, átlag 12-20 mg/testtömeg kg).

A hazai afrikai harcsa tenyésztés eredményeit Radics és mtsai (1994) munkájukban összefoglalták. A faj tenyésztési technológiájánál az indukált szaporítás esetén 4-5 mg/ttkg pontyhipofízis hormonkezelést alkalmaztak, 25°C-on történő 26-28 órás inkubációs idő mellett, 7-32%-os PGSI értéket eredményezve. Száritott pontyhipofízis NaCl oldattal képzett szuszpenziójával végeztek összehasonlító kísérleteket különböző gonadotrop releasing hormon kombinációkkal összehasonlítva. Az afrikai harcsa ikrásokban 100%-os beérési arány mellett a legmagasabb termékenyülési értéket érték el (Akpadja és mtsai, 1996). Brzuska és mtsai (1999) kísérleteiben pontyhipofízis kezelés reprodukciós tulajdonságait vetette össze GnRH analóg kezelésekkel. Kísérleti eredmények alapján az ovuláció a pontyhipofízis esetében a hormonkezelés után 11 órával következett be, a GnRHa-nál pedig - függetlenül az analóg és a pimozid dózisától - 10 órával a hormonkezelés után. A kezeléssel elért PGSI és termékenyülési értékek nem különböztek a GnRH kezelt csoportoktól (kivéve Biogonadyl-lal kezelt nőstényeket, amelyek alacsonyabb értékeket értek el). Lesőharcsa (*Silurus glanis*) és afrikai harcsa hibrideket hoztak létre genommanipulációs hibridizációs kísérletben. A kísérlet során lesőharcsa tejesekeket, és afrikai harcsa ikrásokat használtak. Az afrikai harcsák hormonális indukciója 3,5 mg pontyhipofízis/ttkg-al történt az ovuláció várható időpontját 12 órával megelőzően (Váradi és mtsai, 2002).

Rónyai és mtsai (2008) vizsgálták a Gonazon (azagly-nafarelinacetát) melegvízi halfajok indukált szaporítására való alkalmasságát pontynál és afrikai harcsánál, ahol a szintetikus hormonkezelés kontrolljaként mindkét esetben a hipofízissel kezelt csoportok szolgáltak. A pontyhipofízis kontroll kezeléssel rövidebb beérési idő mellett statisztikailag igazolható mértékben magasabb PGSI értéket lehetett elérni. Habár a termékenyülési értékben is átlagban magasabb értékeket értek el, azonban a nagy egyedi különbségek miatt (magas szórás értékek) nem volt kimutatható statisztikai különbség. Szabó és mtsai (2010) munkájuk során az ikra rövid idejű eltarthatóságát vizsgálták ponty és afrikai harcsa halfajok esetében afrikai harcsa és szívárványos pisztráng (*Onchorhynchus mykiss*) ovariális folyadékának felhasználásával. A kísérletbe vont afrikai harcsa anyahalakat ivartól függetlenül 4 mg/ttkg pontyhipofízis szuszpenzióval hormonkezelték. Az ikrát 25 °C-os beérési hőmérséklet mellett 12 órával a hormonkezelést követően fejték, míg a termékenyítéshez használt spermát a here műtéti úton történő eltávolításával nyerték. Ezt

követően az azonos mennyiségű ikratételeket petricsészékbe helyezték, majd 0, 5, 10, 30, és 60 percig inkubálták őket. Termékenyítés előtt közvetlenül az ovariális folyadék döntő többségét Pasteur pipetta segítségével eltávolították. A szivárványos pisztráng ovariális folyadékba helyezett ikratételek termékenyítőképessége statisztikailag igazolhatóan alulmaradt a kontroll és az afrikai harcsa ovariális folyadékba helyezett ikratételekhez képest. Eredményeik alapján feltételezhető, hogy az ovariális folyadék ikra aktiváció gátló faktora fajspecifikus. Szabó és mtsai (2023) kísérletük során összehasonlították az extrém hosszú ideig tárolt (1967-ben gyűjtött), valamint az „új” (2019-ben gyűjtött) pontyhipofízis hatékonyságát. A 25 °C-on tartott anyahalakat a hormonkezelést (4 mg/ttkg) követő 12. órában fejték le. Az ikrások 100%-a ovulált. A legfontosabb reprodukciós mutatók tekintetében a két vizsgált csoport között nem volt statisztikailag igazolható különbség.

### 3.2. GnRH, GnRH analóg, és GnRH + dopamine receptor antagonistá vegyületekkel végzett kísérletek

Péteri és mtsai (1989) az afrikai harcsa szaporításhoz 4 µg/g hCG-vel és 5 mg/100 g vízben oldott DOCA-val végzett szaporítási adagokat írt le, azonban ehhez termékenyülési és beérési arányokat nem közölt. Akpadja és mtsai (1996) vizsgálatai alapján az azonos mennyiségű metoklopramid-kezeléssel és azonos mennyiségű, de különböző GnRH-analógok alkalmazásánál a kezelt halak beérésében jelentős különbségek adódtak (lásd 1. táblázat). A GnRH-peptidek természetes alakjainak enzimatis lebonthatása jóval gyorsabb, mint egyes szintetizált analógjaiké, azonban kísérletük eredményei ezt csak részben erősítik meg. A cGnRH-II és az sGnRH is indukálta az ovulációt, azonban a pontyhipofízissel, mGnRH-a-val és cGnRH-II-vel kezelt csoportok szignifikánsan magasabb termékenyülési és kelési %-okat mutattak (Brzuska és mtsai, 1999). A Biogonadyl-lal kezelt nőstények 11 óráig beérési idő alatt nem ovuláltak, két egyed a hormonkezelés után 12 órával, három egyed pedig további három óra múlva adott ikrát. Az ovuláció kiváltása az egyes csoportok valamennyi egyedénél sikeres volt. A vázolt kísérleti eredmények arra utalnak, hogy az afrikai harcsa ovulációjának kiváltása az irodalomban ajánlott 50 µg/kg GnRH-a + 5mg/kg pimoizid dóziskombináció mellett csökkentett GnRH-a adaggal (20 µg/kg + 5 mg/kg pimoizid) is lehetséges. A Biogonadyl a tesztelt dózisban (800 NE/kg) szintén alkalmazható a vizsgált faj indukált szaporításánál, bár használatakor a latens periódus hosszában mutatkozó nagyobb egyedi különbségek megnehezíthetik a szinkronizálást. Szabó és mtsai (2007) kísérleteik során különböző natív GnRH vegyületek (mGnRH, sGnRH, cGnRH-II és cGnRH-I) és GnRH analógok (mGnRH-a, [D-Orn6]-cGnRH-II(cGnRH-IIa) és [D-Orn6]-sGnRH (sGnRH-a)) ovulációra gyakorolt hatásait vizsgálták metoklopramid és pimoizid dopamin receptor antagonistá vegyületek egyikével kombinálva. Eredményeik alapján a cGnRH-II és az sGnRH javasolható különböző indukált halszaporítási protokollok fejlesztésében. Az afrikai harcsa szaporodásbiológiai mutatói alapján a Gonazon – anti-dopaminista szer használata nélkül is – alkalmas a faj indukált szaporítására, bár a hatékonysága elmarad a hipofízisétől. Az eredmények alapján az ikrások 40 µg/kg-al történő kezelése javasolható, amely nagyságrendileg megfelel a legtöbb faj esetében alkalmazott egyéb GnRH-analógok 10–50 µg/kg-os tartományának (Rónyai és mtsai, 2008).

## 4. Kísérletek az afrikai harcsa szaporodásbiológiai potenciáljának kihasználásra

### 4.1. Inszemináció

A csontos halak (*Osteichthyes*) döntő többsége külső megtermékenyítésű. Ezeknek a fajoknak a spermiumai a herecsatornában és az ondóvezetőben inaktív állapotban találhatók. Az édesvízi halfajoknál a hímivarsejtek aktivációját általában a környező folyadék ozmolalitásának csökkenése váltja ki. Korábbi megfigyelések alapján azt tapasztalták ponty fajban (*Cyprinus carpio*), hogy az izoozmotikus ovariális folyadék önmagában nem képes aktiválni a spermiumokat, viszont vízzel hígítva nemcsak aktiválja, hanem a motilitásukat hosszú ideig igen magas értéken is fenntartja (Horváth és mtsai, 2010).

Magyar kutatók úgy gondolják, hogy a kísérletes úton, előzetesen (katéteres módszerrel) petefészekbe juttatott, szemínális folyadékban lévő mozdulatlan spermiumsejtek a petefészek ozmokomform környezetében sem aktiválódnak, így hosszabb ideig megőrizhetik biológiai aktivitásukat. Ovulációkor a follikuláris tokból felszabaduló oocitákra tapadnak a (még inaktív) spermiumsejtek, majd együtt ürülnek a genitális nyíláson keresztül a külvilágba. Vízzel való érintkezéskor ezek a spermiumok aktiválódnak és képesek megtermékenyíteni a szintén aktivált petesejteket. A fenti elgondolás alapján kidolgozott petefészek inszemináció módszere a következő: a programozott ívársra felkészített és bódított ikrások petefészek lebenyébe fecskendően rögzített szonda vagy katéter segítségével juttatjuk az előzőleg gyűjtött és minőségellenőrzésen átesett, egy-vagy több hím-től származó, kevert spermaadagot/spermaadagokat (Müller és mtsai, 2018a; Müller és mtsai, 2020a, Gazsi és mtsai, 2021ab). Afrikai harcsa fajban végzett kísérletek eredményei szerint 5-36 órával az ovuláció előtt a petefészekbe juttatott spermiumok még megtartják termékenyítő-képességüket, de 48 óra elteltével a termékenyülési és kelési értékek már jelentős mértékben csökkennek (Müller és mtsai, 2020a). A vizsgálatok eredményei alapján nem volt megfigyelhető különbség a petefészek lebenybe juttatott 2 ml, 1 ml és 0,5 ml sperma/testtömeg kg kezelések között elért termékenyítési és kelési eredményekben (Müller és mtsai, 2020a). A keltetőházi, *in vitro* termékenyítési gyakorlat szerint a kívánt sperma:víz:ikra tömegarány 1:10:100. A 0,5 ml sperma/testtömeg kg kezelés esetén, amikor a lefejt ikratömeget a testtömegre számoljuk, ez az arány 1:10:200, ami a termékenyülés valószínűségének szempontjából kedvezőbb arálynak tekinthető, mint az üzemi javaslat.

Afrikai harcsa és azonos rendbe (*Siluriformes*) tartozó dél-amerikai ezüstharc ( *Rhamdia quelen* ) fajokban a porított pontyhipofízist frissen fejt spermával keverték össze, majd ezt a keveréket juttatták fel az ikrások petefészek-lebenyébe. Mindkét faj esetében a szemínális plazma felszívódásával a gonadotrop hormon is átjutott a petefészek szisztémás keringésébe, és indukálta az oociták végső beérését 10-11 óra alatt. Ezen időszak alatt a spermiumsejtek nem károsodtak a petefészek körülmények közötti tárolás során, és vízaktivációt követően nagy hatékonysággal termékenyíteni tudták az ovulált ikraszemeket (termékenyülési arány: 41-94%), (Müller és mtsai, 2018b; Ittész és mtsai, 2020). Ennek a módszernek köszönhetően a hormonkezelést és a sperma bejuttatást egy időben, egy kezeléssel, nem invazív (szövetet nem sértő módon) lehet megoldani.

Afrikai harcsa indukált szaporítás módszerénél vizsgálták, hogy a hormon bejuttatási módszerek milyen mértékben hatnak a termékenyülési értékekre. Fiziológias sóoldatú (0,9% NaCl) kezelések között függetlenül az alkalmazott eljárástól (injektálás hasüregbe, vagy izom közé, petefészekmosás) nem volt szignifikáns hatása a különböző hormonbejuttatási módszereknek a termékenyülésre, míg a sperma vivőanyag és sperma inszeminált halak értékei statisztikailag igazolható módon elmaradtak a többi csoporttól. Fontos kihangsúlyozni, hogy ebben a kísérletsorozatban már nem pontyhipofízis szuszpenziót használtak az ovuláció kiváltására, hanem egy magyar készítményt [Ovopel pellet 20 µg emlős GnRH a-t (D Ala6, Pro9Net mGnRH) és 10 mg metaklopramidot (dopamin antagonistá vegyület) tartalmaz; Interfish Kft.] (Kucska és mtsai, 2022).

Egy hibridizációs kísérlet során az inszemináció módszerét alkalmazták a hagyományos ívatással kombinálva. A vundu (*Heterobranchus longifilis*) gyűjtött spermáját intramuszkuláris hormonkezelés mellett inszeminálták afrikai harcsa ikrásokba. Ezt követően a kezelt afrikai harcsa ikrásokat afrikai harcsa tejesekkel párosították. Az ívás után 28 napos nevelés után az utódok genotípusát morfológiai jegyek alapján vizsgálták. Az eredmények szerint a vizsgált utódok 98%-a hibrid volt, így az ívásban résztvevő afrikai harcsa tejesek mindössze 2%-ban járultak hozzá az utódgeneráció kialakításához. A modellkísérlet azt mutatta, hogy az inszemináció módszere segítséget nyújthat olyan esetekben, ahol a szülőfajok méretbeli vagy ívási viselkedésbeli különbségei miatt [például pettyes harcsa (*Ictalurus punctatus*) × kék csatornaharcsa (*I. furcatus*) vagy sügéralakúak (Perciformes)] a hibrid előállítása ívatásos módszerrel nem vagy nehezen megvalósítható (Quyen és mtsai, 2022). Afrikai harcsa fajokban megfigyeltük, hogy szaporítás előtt az ikrások petefészek lebenyébe feljuttatott sperma termékenyítette a spontán elszórt ikratételeket is (Müller és mtsai, 2018b).

## 4.2. Mélyhűtött sperma felhasználása afrikai harcsa esetében

A spermamélyhűtés módszere (2. táblázat) lehetővé teszi az értékes genetikai állomány rövid és hosszú távú tárolását különböző szelekciós programokhoz, a biodiverzitás növeléséhez, valamint indukált szaporítás esetén mellőzhetővé teheti az együttes ivar-szinkronizációt. A spermamélyhűtésnek gazdag irodalma van, és számos összefoglaló tanulmány foglalkozik a halsperma fagyasztásának történeti áttekintésével, fejlődésével és alkalmazási területeivel (Cabrita és mtsai, 2010; Asturiano és mtsai, 2017; Martínez-Páramo és mtsai, 2017; Betsy és mtsai, 2020).

Gyakorlati felhasználását korlátozza, hogy jelenleg a jellegéből adódóan valódi külső megtermékenyítésű halfajok esetében csak *in vitro* termékenyítési módszerrel lehet sikeresen használni. Ez a sajátosság az ivarsejtek mélyhűtésének fiziológiai jellegéből adódik. A spermiumok mélyhűtése során el kell kerülni az intracelluláris kristályképződést, amit fagyásvédő adalékokkal akadályoznak meg. A leggyakrabban alkalmazott védőanyagok, mint például a metanol vagy a DMSO, szobahőmérsékleten toxikusak (elősegítik a celluláris dehidratációt, destabilizálják a membránokat és fehérjéket), így a spermát felolvasztást követően rövid időn belül fel kell használni, valamint termékenyítést követően lehetőleg el kell távolítani a főlösleget (kihígítás). Amennyiben a felolvasztott spermamintákból (sperma, hígító és védőanyag elegye) ki lehetne vonni a toxikus védőanyagot, úgy

2. táblázat: Magyar vonatkozású sperma mélyhűtési munkák

| Hormon (1)           | Mód (2) | Vivőanyag (3)    | Dózis/ttkg (4)                                                                                       | Víz hő (°C) (5) | Beérési idő (óra) (6) | Ovulációs ráta (%) (7) | Termékenyülési arány (%) (8)            |                           | Irodalom (9)              |
|----------------------|---------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------|------------------------|-----------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| GnRH                 | IP      | 0,65% NaCl oldat | 2 golyó tejeseknél, 1 golyó ikrásoknál                                                               | 28              | 12                    | 100                    | kontroll                                | 92                        | Urbányi és mtsai (1997)   |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 10 % DMSO                               | száraz 82-82<br>nedves 83 |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 10 % DMA                                | száraz 85-92<br>nedves 92 |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | kontroll<br>glükóz<br>fruktóz           | 96-98<br>54-96<br>33-96   |                           |
| GnRHa + MET          | IP      | 0,65% NaCl       | 10-15 mg + 2,5-3 mg                                                                                  | 26              | 12                    | 100                    |                                         |                           | Urbányi és mtsai (1999)   |
| mGnRHa+ MET (Ovopel) | -       | 0,65 % NaCl      | 1 pellet kg <sup>-1</sup> (ikrás)<br>2 pellet kg <sup>-1</sup> (tejes)<br>(20 µg + 2,5-3 mg/ pellet) | 20-22           | 12                    | -                      | 10% DMSO (száraz term., 200 µl sperma)  | 82,2 ± 6,9                | Horváth és Urbányi (2000) |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 10% DMA (száraz term., 200 µl sperma)   | 84,9 ± 3,0                |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 10% DMSO (nedves term., 200 µl sper.)   | 84,3 ± 9,4                |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 10% DMA (nedves term., 200 µl sperma)   | 86,8 ± 3,1                |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 10% DMSO (száraz term., 100 µl sper.)   | 85,1 ± 4,2                |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 10% DMA (száraz term., 100 µl sperma)   | 83,9 ± 8,4                |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | kontroll (száraz term., 100 µl, sperma) | 93,2 ± 2,1                |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 10% DMSO (nedves term., 100 µl sper.)   | 86,7 ± 5,7                |                           |
| mGnRHa+ MET (Ovopel) | -       | 0,65 % NaCl      | 1 pellet/ tt kg                                                                                      | 20-22           | 12                    | -                      | 10% DMA (nedves term., 100 µl sperma)   | 83,3 ± 10,7               | Miskolczi és mtsai (2005) |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 0,25 ml műszalma (metanol)              | 82,9 ± 15,2               |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 0,25 ml műszalma (DMSO)                 | 77,9 ± 14,6               |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 0,5 ml műszalma (metanol)               | 62 ± 10,8                 |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 0,5 ml műszalma (DMSO)                  | 64,7 ± 11,6               |                           |
|                      |         |                  |                                                                                                      |                 |                       |                        | 1,2 ml műszalma (metanol)               | 81,7 ± 2,6                |                           |

| Hormon (1)                   | Mód (2) | Vivőanyag (3)    | Dózis/ttkg (4)                               | Víz hő (°C) (5) | Beérési idő (óra) (6) | Ovulációs ráta (%) (7) | Termékenyülési arány (%) (8)         |                 | Irodalom (9)              |
|------------------------------|---------|------------------|----------------------------------------------|-----------------|-----------------------|------------------------|--------------------------------------|-----------------|---------------------------|
| mGnRH $\alpha$ +MET (Ovopel) | -       | 0.65 % NaCl      | 1 pellet/ttkg (20 $\mu$ g + 2,5-3 mg/pellet) | 20-22           | 12                    | -                      | 1,2 ml műszalma (DMSO)               | 72,3 $\pm$ 11,3 | Miskolczi és mtsai (2005) |
|                              |         |                  |                                              |                 |                       |                        | kontroll                             | 83,6 $\pm$ 12,3 |                           |
| PH                           |         | 0.65% NaCl oldat | 4 mg                                         | 26              | 12                    | 100                    | 24 h tárolás                         | max.37 $\pm$ 9  | Kovács és mtsai (2010)    |
|                              |         |                  |                                              |                 |                       |                        | 20 mp aktiválási idő                 | max.72 $\pm$ 12 |                           |
| PH                           | IP      | 0.9% NaCl oldat  | 5 mg                                         | 25,3-25,4       | 10-11                 | 100                    | kontroll                             | 71 $\pm$ 14,4   | Müller és mtsai (2019)    |
|                              |         |                  |                                              |                 |                       |                        | ISZ mélyhűtött sperma                | 23,5 $\pm$ 16,1 |                           |
|                              |         |                  |                                              |                 |                       |                        | ISZ mélyhűtött sperma + friss sperma | 17,6 $\pm$ 13,7 |                           |

DMA = dimetil-amin (10); DMSO = dimetil-szulfoxid (11); GnRH = gonadotrop releasing hormone (12); mGnRH $\alpha$  = emlős GnRH analóg (13); MET = metoklopramid (14); PH = pontyhipofízis kivonat (15); Ovopel = [18-20  $\mu$ g (D-Ala6,Pro9NEt) mGnRH $\alpha$ ]+10  $\mu$ g MET (16); ISZ = inszeminált (17)

Table 2: Fish sperm cryopreservation results of Hungarian researchers

hormone (1); method (2); carrier material (3); dosage (4); water temperature (5); latency time (6); ovulation rate (7); fertility (8); literature (9); dimethylamine (10); dimethyl sulfoxide (11); gonadotropin-releasing hormone (12); mammalian GnRH analogue (13); metoclopramide (14); carp pituitary (15); 18-20  $\mu$ g (D-Ala6,Pro9NEt) mGnRH $\alpha$ ]+10  $\mu$ g MET (16); inseminated (17)

lehetőség nyílna ívatásos módszer esetében is alkalmazni a módszert, megtartva a spermamélyhűtés előnyeit (génmegőrzés, nagy genetikai értékű hímek irányított keresztezése stb.). Müller és mtsai (2019) egy már meglévő protokoll alapján mélyhűtöttek afrikai harcsa spermát (Kovács és mtsai, 2010). Munkájuk során natív pontyspermából származó szeminális plazmával helyettesítették az afrikai harcsa sperma védőanyagokkal rendelkező szeminális plazmáját felolvasztást követően. Centrifugálást követően az Eppendorf-csövek alján összegyűlt sejtpogácsára helyezték a ponty fajból származó szeminális folyadékot, amelyet ezt követően afrikai harcsa ikrások petefészkebe injektáltak a hormonkezelésükkel egyidejűleg. A 10 órás beérési időt követően az ikrásokat lefejték. Minden injektált ikrás esetében sikerült termékenyülést kimutatni, a kelési értékek (18 %) elmaradtak a kontroll csoport értékeitől (61%). A bemutatott modellkísérlet képezheti a mélyhűtött spermával történő ívatásos kísérletek alapját.

Különböző hígító anyagokat vizsgáltak Urbányi és mtsai (1999) mélyhűtés alkalmazása során. A legjobb eredményt (kiolvasztás utáni 25 %-os motilitás) fruktóz oldathoz adott nátrium-hidrogénkarbonát puffer oldat használatával érték el. Egy korábbi vizsgálat afrikai harcsa spermával végzett termékenyülési eredményei bizonyították, hogy a 10% DMSO és a 10 % DMA krioprotektáns anyagok sikeresen alkalmazhatóak mélyhűtés esetében (Urbányi és mtsai, 1997; Horváth és Urbányi, 2000). Miskolczi és mtsai (2005) bizonyították kísérletükben, hogy a mélyhűtött spermából származó utódok haploiditása a krioprezerváció során alakult ki. A kísérletükben fejlődött torz lárvák számában és a kromoszóma szám alapján értékelt ploiditás szintek között nem volt összefüggés. Emellett a triploid és tetraploid egyedek megtalálhatóak voltak mind a mélyhűtött és friss spermából származó utódokban, ami azt mutatja, hogy ezeknél az utódoknál nem a krioprezerváció során változott meg a ploiditás szint. Afrikai harcsa mélyhűtött sperma termékenyítő-, és életképességét vizsgálták 4 °C-on történő felengedés utáni tárolás és vízaktiváció alkalmazását követően Kovács és mtsai (2010). A 24-26 órán át tárolt spermaminták termékenyítő képessége bizonyult a legjobbnak. A 20 másodpercig tartó vízaktiváció adta a legjobb termékenyülési értéket, azonban a 120 másodpercig tartó vízaktiváció után is volt termékenyülés, de alacsony arányban. Magyary és mtsai (1996) alkalmaztak először afrikai harcsa (*C. gariepinus*) fajt hal petesejt és embrió hűtés vizsgálata során, amiben kimutatták, hogy a mélyhűtésben használt petesejtek áteresztőképessége nagyobb a különböző krioprotektáns anyagokkal szemben, mint a termékenyült ikrák áteresztőképessége.

## 5. Köszönetnyilvánítás

A dolgozatban bemutatott munkát a következő pályázati munkák támogatták: NKFI Alap (NKFI\_K\_135824), 2020-1.2.4 TÉT Ipari TR (2021-00015) és MATE (POC-2024-09). A kutatás a Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-MATE/2024/25/M, EKÖP-MATE/2024/25/D kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs alaphól finanszírozott szakmai támogatásával készült.

## 6. Felhasznált irodalom

- Akpadja, C. R. – Szabó, T. – Radics, F. – Barth, T. – Horváth, L. (1996): Különböző GnRH-vegyületek hatása az afrikai harcsa, *Clarias gariepinus* (Burchell) ovulációjára és a lefejt ikra minőségére. Halászat, 89. 169–172.
- Asturiano, J. F. – Cabrera, E. – Horváth, Á. (2017): Progress, challenges and perspectives on fish gamete cryopreservation: a mini-review. Gen. Comp. Endocrinol., 245. 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.06.019>
- Betsy, J. – Kumar, S. (2020): Cryopreservation of fish gametes. Springer, Singapore, 135–149. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-4025-7>
- Brzuska, E. R. – Ráczkevi, J. – Adamek, J. – Radics, F. (1999): Különböző hormonkezelések hatásának előzetes vizsgálata az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus* (Burchell)) ovulációjára, a termékenyülésre, illetve az embriók és a lárvák életképességére. Halászat, 92. 88–92.
- Cabrera, E. – Sarasquete, C. – Martínez-Páramo, S. – Robles, V. – Beirão, J. – Pérez-Cerezales, S. – Herráez, M. P. (2010): Cryopreservation of fish sperm: applications and perspectives. J. Appl. Ichthyol., 26. 623–635. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01556.x>
- FAO (2018): The State of the World Fisheries and Aquaculture. FAO (Food and Agriculture Organisation), Rome.
- FAO (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO (Food and Agriculture Organisation), Rome.
- Gazsi, Gy. – Butts, I. A. – Zadmajid, V. – Ivánovics, B. – Ruffili, L. – Urbányi, B. – Csenki, Zs. – Müller, T. (2021b): Ovarian inseminated sperm impacts spawning success in zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822) even in the absence of a male stimulus. Theriogenology, 172. 315–321. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.07.012>
- Gazsi, Gy. – Ivánovics, B. – Berta, I. – Szabó, T. – Zarski, D. – Kucska, B. – Urbányi, B. – Horváth, L. – Müller, F. – Müller, T. (2021a): Artificial sperm insemination in external fertilised fish as a novel tool for ex situ and in situ conservation of valuable populations. Endanger. Species Res., 45. 169–179. <https://doi.org/10.3354/esr01124>
- Gjedrem, T., – Rye, M. (2018): Selection response in fish and shellfish: a review. Rev. Aquacult., 10. 168–179. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/raq.12154>
- Horváth, Á. – Páramo, S. M. – Kovács, Á. I. – Urbányi, B. – Paz, H. (2010): Effect of ovarian fluid on the motility of fresh and cryopreserved sperm of the common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus). Állattani Közlemények, 95. 1. 25–33.
- Horváth, Á. – Urbányi, B. (2000): The effect of cryoprotectants on the motility and fertilizing capacity of cryopreserved African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) sperm. Aquac. Res., 31. 317–324. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00444.x>
- Horváth, L. – Magyary, I. (2007): A haszonhalak szaporítása. In: Hancz, Cs. (szerk.): Haltenyésztés (egyetemi jegyzet). Kaposvári Egyetem, Kaposvár, 80–113.
- Horváth, L. – Szabó, T. – Burke, J. (1997): Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation four cyprinid species. Polish Arch. Hydrobiol., 44. 219–224.
- Horváth, L. – Tamás, G. – Coche, A. G. – Kovács, E. – Moth-Poulsen, T. – Woynárovich, A. (2015): Training manual on the artificial propagation of carps. A handout for on-farm training workshops on artificial propagation of common carp and Chinese major carps in Central and Eastern Europe, the Caucasus and Central Asia. Second revised edition. Budapest, FAO REU. 31.
- Horváth, L. – Tamás, G. – Coche, A. G. (1985a): Common carp, part 1: mass production of eggs and early fry. FAO Training Series No. 8. FAO, Rome
- Horváth, L. – Tamás, G. – Coche, A. G. (1985b): Common carp 2: Mass production of advanced fry and fingerlings in ponds. FAO Training Series. No. 9. FAO, Rome
- Horváth, L. – Tamás, G. – Tölg, I. (1984): Special method in pond fish husbandry. Akadémia Kiadó, Budapest; Halver Corporation, Seattle, 147.

- Horváth, L. – Urbányi, B. (2000): A haltenyésztés története, hazai történet. In: Horváth, L. (szerk.): Halbiológia és Haltenyésztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 218–222.
- Ittész, I. – Kronbauer, E. C. – Szabó, T. – Horváth, L. – Urbányi, B. – Müller, T. (2020): Propagation of *jundia Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) by applying the ovarian sperm injection method. *Aquac. Rep.*, 16. 100275. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100275>
- Jaczó, I. (1953): Kísérletek a kecsege mesterséges szaporítására a Dunán. *Hidrológiai közlöny*, 3–4. 149–152.
- Jaczó, I. (1955): A pontyok hipofizálása. *Halászat*, 2. 126–127.
- Kiss, G. (2024): Lehalászás jelentés 2007-2023. Agrárközgazdasági Intézet, 29. 1.
- Kitanović, N. – Marinović, Z. – Quyén, N. N. – Kovács, B. – Müller, T. – Urbányi, B. – Horváth, Á. (2024): *In vitro* maturation of African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) oocytes results in viable larvae. *Aquaculture*, 583. 740617. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.740617>
- Kotrik, L. – Hetyey, Cs. – Hegyi, Á. – Gál, J. – Urbányi, B. – Lefler, K. K. (2008): Az ultrahangvizsgálat az afrikai harcsa ivari működésének jellemzésében. *Magy. Állatorv. L.*, 130. 475–480.
- Kovács, É. – Müller, T. – Márián, T. – Krasznai, B. – Urbányi, B. – Horváth, Á. (2010): Quality of cryopreserved African catfish sperm following post-thaw storage. *J. Appl. Ichthyol.*, 26. 737–741. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01561.x>
- Kucska, B. – Quyen, N. N. – Szabó, T. – Gebremichael, A. – Alebachew, G. W. – Bógó, B. – Horváth, L. – Csorbai, B. – Urbányi, B. – Kucharczyk, D. – Keszte, Sz. – Müller, T. (2022): The effects of different hormone administration methods on propagation successes in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquac. Rep.*, 26. 101311. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101311>
- Lind, C. E., – Ponzoni, R. W., – Nguyen, N. H., – Khaw, H. L. (2012): Selective breeding in fish and conservation of genetic resources for aquaculture. *Reprod. Domest. Anim.*, 47. 255–263. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02084.x>
- Magyary, I. – Dinnyés, A. – Várkonyi, E. – Szabó, R. – Váradi, L. (1996): Cryopreservation of fish embryos and embryonic cells, *Aquaculture*, 137. 103–108.
- Martínez-Páramo, S. – Horváth, Á. – Labbé, C. – Zhang, T. – Robles, V. – Herráez, P. – Suquet, M. – Adams, S. – Viveiros, A. – Tiersch, T. R. – Cabrita, E. (2017): Cryobanking of aquatic species. *Aquaculture*, 472. 156–177. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00251>
- Mehar, M. – Mekhaw, W. – McDougall, C. – Benzle, J. A. H. (2019): Fish trait preferences: a review of existing knowledge and implications for breeding programmes. *Rev. Aquacult.*, 1–24. <https://doi.org/10.1111/raq.12382>
- Miskolczi, E. – Mihálffy, S. – Várkonyi, E. P. – Urbányi, B. – Horváth, Á. (2005): Examination of larval malformations in African catfish *Clarias gariepinus* following fertilization with cryopreserved sperm. *Aquaculture*, 247. 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.043>
- Müller, F. – Ivics, Z. – Erdélyi, F. – Papp, T. – Váradi, L. – Horváth, L. – Maclean, N. – Orbán, L. (1992): Introducing foreign genes into fish eggs with electroporated sperm as a carrier. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 1. 276–281.
- Müller, T. – Ács, E., – Beliczky, G. – Makk, J. – Földi, A. – Kucska, B. – Horváth, L. – Ittész, A. – Hegyi, A. – Szabó, T. – Urbányi, B. – Quyén, N. N. – Orbán, L. – Havasi, M. (2020a): New observations about the fertilisation capacity and latency time of sperm inseminated into the ovary of African catfish (*Clarias gariepinus*), an oviparous modelfish. *Aquaculture*, 522. 735109. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735109>
- Müller, T. – Horváth, Á. – Takahashi, E. – Kolics, B. – Bakos, K. – Decsi, K. – Kovács, B. – Taller, J. – Urbányi, B. – Bercsényi, M. – Horváth, L. – Adachi, S. – Arai, K. – Yamaha, E. (2012): Artificial hybridization of Japanese and European eel (*Anguilla japonica* × *A. anguilla*) by using cryopreserved sperm from freshwater reared males. *Aquaculture*, 350. 130–133. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.007>

- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.025>
- Müller, T. – Kucska, B. – Horváth, L. – Ittész, Á. – Urbányi, B. – Blake, C. – Gutí, 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.051>
- Müller, T. – Kucska, B. – Szabó, T. – Horváth, L. – Horváth, Á., – Ittész, I. – Havasi, M. – Urbányi, B. (2020c): A magyar halszaporítás technológiai kutatások sarokkövei és egy új indukált szaporítási mód bemutatása. *Állatteny. Tak.*, 69. 305–316.
- Müller, T. – Szabó, T. – Kollár, T. – Csorbai, B. – Marinović, Z. – Horváth, L. – Kucska, B. – Bodnár, Á. – Urbányi, B. – Horváth, Á. (2019): Artificial insemination of African catfish (*Clarias gariepinus*) using cryopreserved sperm. *Theriogenology*, 123. 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.09.034>
- Müller, T. – Urbányi, B. – Horváth, L. (2020b): Áttekintés az indukált halszaporításban alkalmazott hormonbejuttatási módszerekről. *Halászat*, 113. 69–76.
- Müller, T. (2022): Keltetőházi halszaporítási gyakorlatról eltérő új-és újszerű módszertani eljárások. Doktori Értekezés, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem.
- Nguyen, Q. – Pataki, B. – Nevena, K. – Horváth, Á. – Havasi, M. – Keszte, Sz., – Urbányi, B. – Hartmut, G., – Müller, T. (2020): Kísérletek az afrikai harcsa természetes ivási viselkedésének részletes feltárására. *Halászatfejlesztés*, 37. 53–54.
- Péteri, A. – Horváth, L. – Radics, F. – Pupánné, B. F. (1989): Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) tenyésztése. *Halászat*, 82. 86–91.
- Péteri, A. – Moth-Poulsen, T. – Kovács, É. – Tóth, I. – Woynárovich, A. (2015): African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) production with special reference to temperate zones. A manual. FAO, Budapest.
- Quyén, N. N. – Alebachew, G. W. – Kucska, B. – Kovács, G. – Halasi-Kovács, B. – Ferincz, Á. – Staszny, Á. – Horváth, L. – Urbányi, B. – Müller, T. (2022): Model experiment for practical application of inseminated sperm method for production of interspecific hybrids (*Clarias gariepinus* × *Heterobranchus longifilis*). *Aquac. Rep.*, 27. 101418. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101418>
- Quyén, N. N. – Varga, Á. – Tãm, N. T. – Horváth, J. – Urbányi, B. – Müller, T. (2023): Afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) indukált szaporítása alternatív hormonkezeléssel (előzetes eredmények). *Halászatfejlesztés*, 38. 157–160.
- Radics, F. – Kovács, Gy. – Kepenyes, J. (1994): Az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) tenyésztése Magyarországon. *Halászatfejlesztés*, 17. 69–73.
- Radics, F. (1990): Az afrikai harcsa szaporításának és nevelésének hazai tapasztalatai. *Halászat*, 83. 125–128.
- Rónyai, A. – Kakuk, Cs. – Kondacs, J. (2008): Egy újabb szintetikus gonadotrop-releasing hormon, a Gonazon alkalmazhatósága a ponty (*Cyprinus carpio* L.) és az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus* Burchell) szaporításában. *Halászat*, 101. 78–82.
- Sneed, K. E. – Clemens, H. P. (1959): The use of human chorionic gonadotrophin to spawn warm-water fishes. *Prog. Fish. Cult.*, 21. 117–120.
- Szabó, T. – Erdei, B. – Urbányi, B. (2010): Delayed *in vitro* fertilization of African catfish (*Clarias gariepinus*) and common carp (*Cyprinus carpio*) eggs in ovarian fluid of African catfish and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *J. Appl. Ichthyol.*, 26. 823–825. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01559.x>
- Szabó, T. – Radics, F. – Barth, T. – Horváth, L. (2007): *In vivo* activity of native GnRHs and their analogues on ovulation in the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *Aquacult. Res.*, 38. 140–146. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01634.x>

- Szabó, T. – Radics, F. – Borsos, Á. – Fodor, B. – Müller, T. – Urbányi, B. – Horváth, L. (2023): Evaluation of the efficacy of acetone-dried common carp pituitary during induced breeding of African catfish (*Clarias gariepinus*) after an extremely long-term storage. *Aquac. Rep.*, 33. 101762. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101762>
- Urbányi, B. – Horváth, Á. – Varga, Z. – Horváth, L. – Magyary, I. – Radics, F. (1999): Effect of extenders on sperm cryopreservation of African catfish. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Aquacult. Res.*, 30. 145–151. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1999.00313.x>
- Urbányi, B. – Horváth, Á. – Varga, Zs. – Magyary, I. – Horváth, I. (1997): Kísérletek az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) spermájának mélyhűtésére. *Halászatfejlesztés*, 20. 39–48.
- Várad, L. – Hegyi, Á. – Szentés, K. (2002): A lesőharcsa és az afrikai harcsa sikeres hibridizációja. *Halászatfejlesztés*, 27. 116–126.
- Woynárovich, E. (1954): A ponty mesterséges szaporítása. *Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Osztályának Közleményei*, 3. 227–242.
- Woynárovich, E. (1994): A gonadotrop releasing hormon analógok (GtRH/A) gyakorlati alkalmazása a haltenyésztésben. *Halászat*, 4. 152–155.
- Woynárovich, E. (1999): Hogyan került az afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) Magyarországra? *Halászat*, 89. 30.
- Zeifman, L. – Hertog, S. – Kantorova, V. – Wilmoth, J. (2022): A World of 8 Billion; Policy Brief No140; UN DESA: New York City, NY, USA

Érkezett: 2024. május

Szerzők címe: Varga, Á.\* – Tóth, A. – Nyabuto Ngoge, K. – Horváth, J.  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus,  
Természetesvízi Halökológiai Tanszék

Authors' address: Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Szent István Campus,  
Department of Freshwater Fish Ecology  
H-2100 Gödöllő, Páter Károly utca 1.  
\*levelező szerző, e-mail: [varga.adam@uni-mate.hu](mailto:varga.adam@uni-mate.hu)