

Szendőfi B., Bérces S., Csányi B., Gábris V., Gál B., Gönye Zs., Répás E., Seprős R., Tóth B., A. Kouba, J. Patoka, Weiperth A. (2018): Egzotikus halfajok és decapodák a Barát- és Dera-patakban, valamint a torkolatuk dunai élőhelyein. *Pisces Hungarici* 12: 47–52.

Thuránszky Z. (1960): A ráktelepítésről se feledkezzünk meg! *Halászat* 7: 37.

Thuránszky M., Forró L. (1987): Data on distribution of freshwater crayfish (Decapoda: Astacidae) in Hungary in the late 1950s. *Miscellanea Zoologica Hungarica* 4: 65–69.

Weber S., Traunspurger W. (2016): Influence of the ornamental red cherry shrimp *Neocaridina davidi* (Bouvier, 1904) on freshwater meiofaunal assemblages. *Limnologia* 59: 155–161.

Weiperth A., Csányi B., Gál B., György Á.I., Szalóky Z., Szekeres J., Tóth B., Puky M.† (2015): Egzotikus rák-

hal- és kétéltűfajok a Budapest környéki víztestekben. *Pisces Hungarici* 9: 65–70.

Weiperth A., Gál B., Kuříková P., Bláha M., Kouba A., Patoka J. (2017): *Cambarellus patzcuarensis* in Hungary: The first dwarf crayfish established outside of North America. *Biologia* 72(11): 1529–1532.

Weiperth A., Gál B., Kuříková P., Langorova, I., Kouba, A., Patoka, J. (2019a): Risk assessment of pet-traded decapod crustaceans in Hungary with evidence of *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) in the wild. *North-Western Journal of Zoology* 15(1): 42–47.

Weiperth A., Gábris V., Danyik T., Farkas A., Kuříková P., Kouba A., Patoka J. (2019b): Occurrence of non-native red cherry shrimp in European temperate waterbodies: a case study from Hungary. *Knowledge and Management for Aquatic Ecosystems*, 420, 9, pp: 7.

[http1. www.invasive.org/species/crustaceans.cfm](http1.www.invasive.org/species/crustaceans.cfm)

Áttekintés az indukált halszaporításban alkalmazott hormonbejuttatási módszerekről

Müller Tamás, Urbányi Béla, Horváth László

Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Természeti Erőforrások Megőrzése Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő

Összefoglaló

A szerzők áttekintést adnak a hormonálisan indukált ivarérelés és szaporítás során alkalmazott hormonbejuttatási módszerekről. Kitérnek a gyakorlatban még el nem terjedt, kísérleti szintű legfrissebb kutatásokra is. Ismertetik a különféle hormonkezelések alkalmazását, kategóriába sorolását, alkalmazásuk előnyeit és hátrányait. Végül beszámolnak egy új, kimondottan magyar kutatók által kifejlesztett kezeléstről.

Overview on hormone administration methods in fish propagation

Tamás Müller, Béla Urbányi, László Horváth

Summary

In their literature review, the authors provide an overview of hormone administration methods used in artificial induction of sexual maturation and induced propagation. The description also covers the latest researches at experimental level, which have not yet applied in practice. The application and categorization of various hormone administration methods are described

indicating the advantages and disadvantages of their usage. Finally, a new treatment developed is reported which has been developed by Hungarian researchers.

Keywords: *hormone injection, hormone implants, ovarian lavage, topical gill method, per os, sperm-ovarian lavage*

Bevezetés

A XXI. századi társadalmi igények között kiemelt szerep jut annak, hogy a Föld folyamatosan növekvő lakossága megfelelő ételmiszer-ellátásban részesüljön. Ebben a témakörben a vizek megújuló természeti erőforrása, a halállományok hasznosítása fontos szerepet játszik. Az elmúlt évtizedekben a tengerek és óceánok túlhalászata aggasztó mértéket ért el, ezért a növekvő igények kielégítésében a vízi szervezetek tenyésztése, az akvakultúra egyre nagyobb szerephez jut. Vannak régiók, ahol az akvakultúra-termelés szinte kizárólag a csontoshalak tenyésztésére korlátozódik. A tervezhető haltenyésztés egyik alapkritériuma a biztonságos állománypótlás. A programozható halszaporítás napjainkban egyre inkább a halak hatékony hormonális indukálására támaszkodik. Ez a gyorsan fejlődő tudományterület hatalmas szak-

irodalommal rendelkezik, különböző részterületeiből nagyszámú összefoglaló cikk és könyv született (pl. Lee et al., 2001; Yoshida és Asturiano, 2020, stb.). Hiányos azonban a hormon, illetve a hormonhatású készítmények bejuttatási módszereinek összefoglaló áttekintése.

Amikor az indukált halszaporítás keretén belül hormonkezelési módszerekről beszélünk, akkor általában (a gyakorlatban) hormoninjektálást értünk alatta, ami elsősorban izom- (intramuszkuláris), vagy hasüregi (intraperitoneális) kezelést jelent. Kísérleti szinten már többféle kezelést is kipróbáltak. Ezek egy részéhez már nem is szükséges invazív beavatkozás, tehát a hormonpreparátumot sérülés nélkül lehet az anyajelöltek szisztémás vérkeringésébe juttatni. Az alábbiakban vázlatosan bemutatjuk a jelenleg ismert hormonkezelési módszereket. Szeretnénk hangsúlyozni, hogy most kimondottan a kezeléstechnikai módszereket vesszük át és nem a különféle hormonfajtákat mutatjuk be.

Bevezetés, a téma bemutatásához szükséges alapok vázlatosan

A halak ellenőrzött körülmények közötti szaporítását három fő csoportra lehet osztani:

(1) *Természetes ivatás*: alapja, hogy az ivási körülmények megfelelő mértékű mesterséges másolatára az ivásra felkészült halak reagálnak.

(2) *Félmesterséges ivatás*: az ivás időzítésére, a szaporodást kiváltó tényezők részbeni helyettesítésére különféle hormonkezeléseket alkalmaznak, majd az anyahalakat

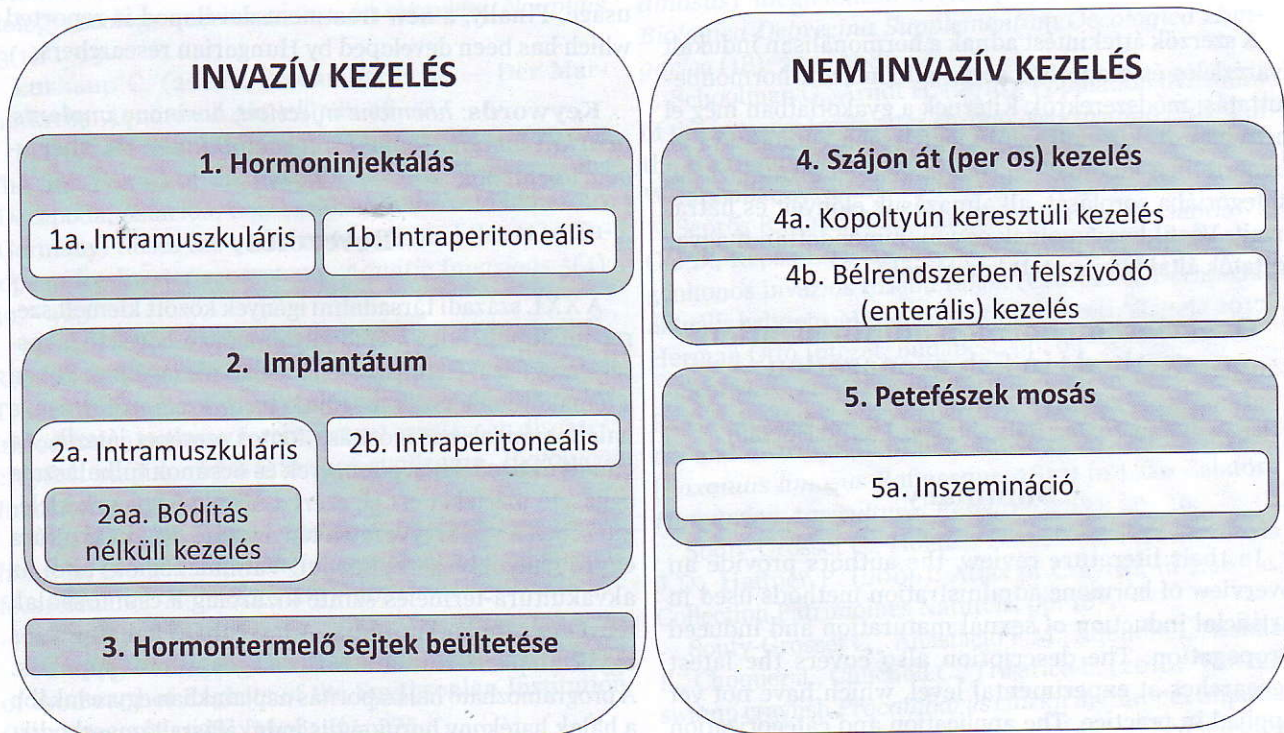
visszahelyezik a természetes ivóhelyeiket modellező környezetbe,

(3) *Indukált keltetőházi/mesterséges szaporítás*: a szaporodásra felkészült halakban hormonkezeléssel helyettesítik a szaporodást kiváltó környezeti tényezőket. A halakból mesterséges úton kinyert ivartermékekkel termékenyítenek, majd az ikrát ellenőrzött körülmények között keltetik. Az egyik sajátos halszaporítási al módster is ide tartozik, a *hormonálisan indukált ivarérlelés és szaporítás*. A módszer alkalmazása során az ivásra felkészült állapot eléréséhez egy ellenőrzött körülmények között történő, hosszantartó hormonális kezelés is szükséges (gametogenezis-indukció) (Fontaine et al., 1964). A különböző szaporítási módszerek összefoglalásáról részletesebb magyar és angol nyelvű anyagok találhatóak Horváth et al. (1984, 1985, 2000, 2015) műveiben.

A természetes ivatás során a környezet befolyásolása mellett nincs szükség hormonkezelésre. A félmesterséges és mesterséges szaporítás során a hipotalamusz-hipofízis-gonád képzeletbeli tengely mentén különböző szinteken lehet beleavatkozni a neuroendokrin szabályozásba az ivásra/szaporodásra felkészült halban, hogy az ivarsejtek végső érését (elsősorban az ovulációt) elérjük:

(1) gonadotrop releasing hormon (GnRH)/szintetikus GnRH-A készítmények használata (Lam, 1982), gyakran dopamin receptor antagonistá vegyületekkel kombinálva (Peter et al., 1988; Horváth et al., 1997),

(2) természetes eredetű gonadotrop hormonok alkalmazása (különféle halak agyalapi mirigy-, illetve hipo-



1. ábra: Halak hormonkezelési módszereinek csoportosítása

fízis-kivonatai (Von Ihering, 1937; Janczó, 1953, 1955; Woynárovich, 1954), humán chorion gonadotropin (hCG, Sneed et al., 1959) stb.

(3) szintetikus szex-szteroid kezelés (pl. 17 alpha, 20 beta-dihydroxy-4-pregnen-3-one) (Nagahama, 1997; Müller et al., 2012).

A halzaporításban alkalmazott különböző hormonok részletesebb jellemzéséről angol nyelvű összefoglaló anyagok találhatóak Zohar és Mylonas (2001), Yaron et al. (2009) és Mylonas et al. (2010; 2017) munkáikban.

Hormonkezelési módszerek áttekintése

A halfajok szaporítására kiválasztott hormonokat és hormonhatású anyagokat exogén úton két módon lehet bejuttatni a halakba: *invazív*

és *nem invazív módon*. *Invazív módszereknek* a sebészi módszerekhez képest kisebb beavatkozással járó eljárásokat nevezünk, amelyek révén kisebb-nagyobb mértékben, de meg kell sértenünk valamely szövetféleséget a beavatkozás során (injekció, kapszula-beültetés). A *nem invazív* módszerek esetén nem okozunk sebést, e helyett alternatív hormonbejuttatási eljárásokat, kezeléseket alkalmazunk.

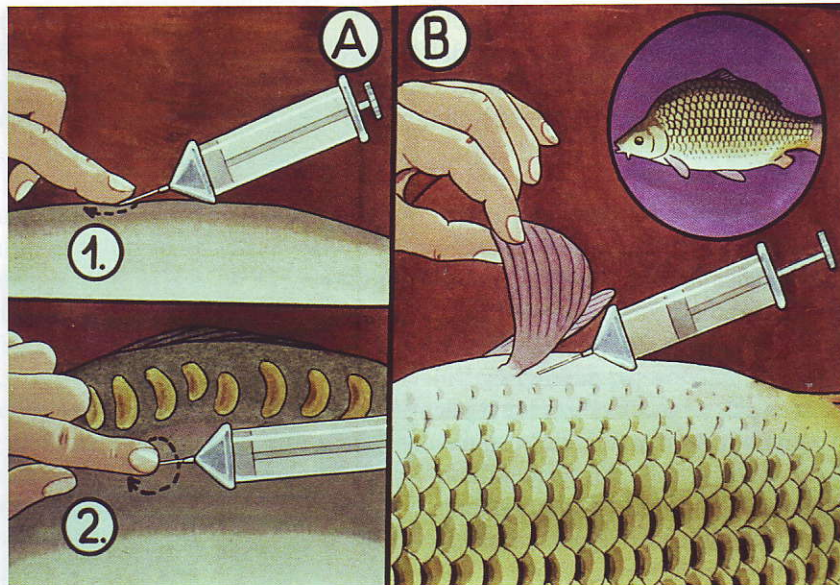
Az 1. ábrán szemléltetjük az általunk ismert, halakban alkalmazott hormonkezelési módszereket.

1. Hormoninjektálás

A cél az ovulációt kiváltó hormonpreparátumok bejuttatása injekciós tű segítségével. Az injekcióban a vivőanyag mindig folyadék, ami leggyakrabban halfiziológiás (0,65%-os) nátriumklorid (NaCl) oldat vagy humánfiziológiás sóoldat (0,9% NaCl). Halzaporítás esetén a hormoninjekciónak alapvetően két formája ismert, a bejuttatási helytől függően:

1/a intraperitoneális: Injekció a hashártyán keresztül a hasüregbe, leggyakrabban a hasúszók tövénél (lásd 2-3. ábra).

1/b intramuszkuláris: Injekció az izomba, leggyakrabban a faroknyélbe, vagy a hátúszók magasságában a hátizomba (2-3. ábra). A hormonkészítmény egy része a tömör izomszövetek nyomása miatt visszafolyhat, ezért az injekciós tű bemeneti helyét ujjal le kell nyomni és a bejuttatott oldatot lassan el kell masszírozni (2. ábra), vagy a hosszú, de kis átmérőjű tűt „cikk-cakk alakban” vezetik be, hogy a visszafolyást megakadályozzák.



2. ábra: (A) Tükörpontyok intramuszkuláris injekciója. Általában a hátúszó magasságában, a hátúszó alatti izmokba, 45 fokos szögben adják be. Mivel fennáll a veszély, hogy az injektált oldat egy része elvész (visszafolyás), a tű bemeneti helyét ujjal le kell szorítani és a bejuttatott hormont el kell masszírozni (1, 2). (B) Pikkelyes pontyok intraperitoneális injekciója a hasúszóalapon/tövéen keresztül (Horváth et al., 1985).

A vizsgálatok alapján általában nincs hatékonyság különbség a kétféle beadási mód között (Harvey és Carolsfeld, 1993). Azonban érdekességként megemlíthető, hogy amíg GnRHa + domperidom-kezelés esetén hatékonyságban valóban nem volt különbség a hasüregi és izomközi bejuttatási mód között, addig azonos hipofízis-mennyiségű (csatornaharcsa- és pontyhipofízis) kezeléskor az intramuszkuláris beadási mód jelentősen jobb eredményeket hozott, mint az intraperitoneális injekcióval történő, a cápaharcsa (*Balantiocheilos melanopterus*) szaporítása esetében (Lipscomb et al., 2018).

Az intramuszkuláris injekció egyik előnye, hogy a beadási módszer sokkal könnyebben standardizálható: beadási hely, beadási mélység. Viszont a kezelés időigényesebb, mert az izomszövet nyomása nagyobb, mint a hasüregi kezelés során, így a hormonoldat/szuszpenzió eloszlatása (elmaszírozás) időt vesz igénybe, hogy a visszafolyást meggátoljuk. Másfelől a hormonadagok lényegesen kisebb mennyiségben adhatók be, mint az intraperitoneális injekció esetében. Általában a beadandó mennyiség 0,5 ml/testtömeg kg, vagy kevesebb. Ha nagyobb adagot szükséges beinjektálni, akkor érdemes több helyen kezelni a halakat.

Az intraperitoneális injekcióval a kezelés sokkal gyorsabb, nem annyira érzékeny a térfogatra (2-3 ml/kg), mint az intramuszkuláris kezelés (Harvey és Carolsfeld, 1993). A hátránya, hogy rossz helyen beszűrve és/vagy nem megfelelő mélységig bevezetett túvel a számított hormonadag a bélbe is bekerülhet. A kockázatot csökkentve, általában a mellúszó vagy a hasúszók pikkelymentes tövében kezelik a halakat.

A fiziológias sóoldatban történő feloldás után injektált hormonok néhány perc alatt bejutnak a vérkeringésbe, majd metabolizálódnak, lebomlanak és kiürülnek. Például a GnRHa felezési ideje kevesebb, mint 30 perc (Gothilf és Zohar, 1991).

2. Implantátum

Az eljárás lényege, hogy a hormonkészítményeket olyan vivőanyagba oldva viszik be a halak testébe, amelyből a hormonok kis dózisban, de hosszú idő (akár több hét) alatt oldódnak ki. Előnye, hogy nagymértékben csökken a halakra ható stressz mennyisége, mert egyre csökken a kezelések száma. További előnyt jelent, hogy az egyenletesen a véráramba jutó kis hormonadagokkal a természetes élettani működés szimulálható (nincs fiziológias sóoldattal bejuttatott hormon okozta „hormoncsúcs” a vérplazmában), ezáltal jobb minőségű ivartermék nyerhető. A retard hatású vivőanyagoknak köszönhetően a hormonindukció időzítésére kevésbé érzékenyek a kezelt halak, elsősorban az ikrások.

Az indukált ivarérelés esetében a heti kezelést több hónapig kell folytatni, itt még jelentősebb az implantátumok előnye. Hátránya, hogy nem áll még rendelkezésre üzemi szintű gyártásuk, valamint a bejuttatást is egyedileg kell megoldani. Amennyiben izomba ültetik, akkor a kezelt halaknak egy minimális méretet el kell érniük ahhoz, hogy a pellet méretéből adódóan a beültetés ne okozzon élettani problémákat. Ezentúl a beavatkozást követően mindenképpen szükség van antibiotikus helyi kezelésre (sebbevarrást követő fertőtlenítés), hogy a fertőzés esélyét lecsökkentsék. Az implantátumok/pelletek egy részét injekciós tűvel, hormonimplantátum-tűvel vagy trokárral juttatják be a hasüregbe, vagy az izomszövetbe, a másik részét altatásban kell sebészeti úton beültetni.

Az elsőnek alkalmazott elnyújtott hatóanyag leadású vivőanyag a koleszterin volt (*Salmo salar* – Weil és Crim, 1983), illetve a koleszterin és cellulóz keveréke (*Clupea harengus* – Carolsfeld et al., 1988). A módszer hátránya, hogy a hormonfelszabadulás mértéke pelletenként változott, valamint a koleszterin, mint aktív biomolekula és a szteroid hormonok prekurzora, befolyásolta az ivarszervek működését (Mylonas és Zohar, 2000). Azóta tökéletesítették a módszert és ma már többféle vivőanyaggal végeztek sikeres szaporítást/ivarérelést különféle halfajokban. Ilyenek a szilikongumi vagy silastic (*Chanos chanos* – Lee et al., 1986a,b), „water-in-oil-in water” típusú emulzió - lipofilizált zselatin és gyapotmag-olaj keverék (*Anguilla japonica* – Sato et al., 1997), karbopol (*Esox lucius* – Szabó, 2008), etilénvinil-acetát kopolimer (Mylonas és Zohar, 2000, *Mugil cephalus* – Aizen et al., 2005), biológiailag lebontható mikroszemcsék (potenciális alkalmazási terület a díshal-szaporítás* – Mylonas és Zohar, 2000), ozmotikus pumpák (*C. chanos* – Marte et al., 1987) és nem lebont-

ható implantátumok, mint például metakrilát kopolimer (*Plecoglossus altivelis* – Hirose et al., 1990).

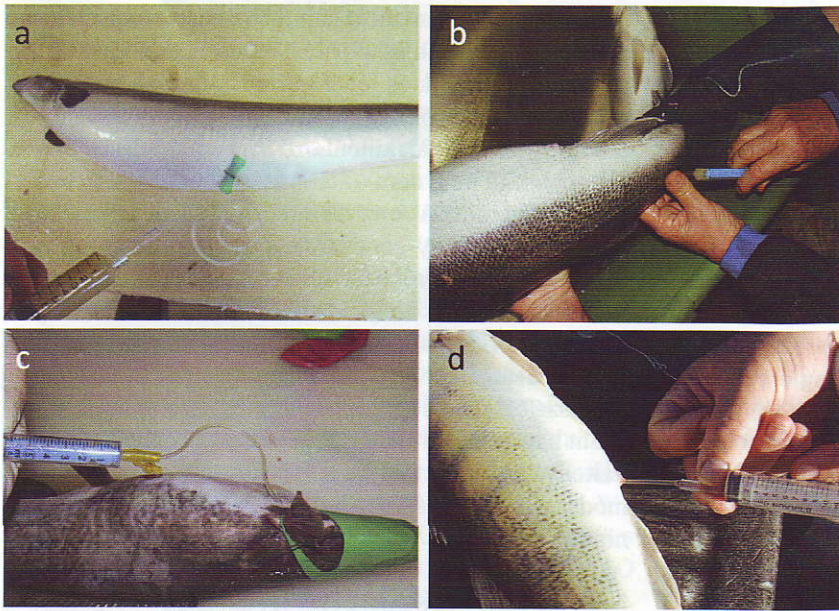
A vivőanyag típusától és vízhőmérséklettől függően a hormonfelszabadulás időtartama 1-5 hét (Mylonas és Zohar, 2000).

*A biológiailag lebontható mikrorészecskék (például a poli(tejsav) és a poli(tej-ko-glikolsav)) felhasználása jelenleg terjedő módszer a humán gyógyászatban, így várható, hogy hamarosan a haltenyésztésben is alkalmazni fogják. A mikrorészecske átmérője 1–1000 µm. A kapszulázott anyag az enzimes lebontás ellen hathatós védelmet biztosít, a hormonleadási idő meghatározott és nem véletlenszerű (néhány órától néhány hétig terjedő időtartam), egyszerűbb a hormonbejuttatási mód és egyszerű az adagolás az implantátumokhoz viszonyítva. A biológiailag lebontható polimerek nagy része hidrolízissel bomlik tejsavra és glikolsavra, amelyek végül belépnek a Krebs-ciklusba (glikolízis), ahol tovább bomlanak széndioxidáá és vízzé (Matejkova és Podhorec, 2019).

2a. Bódítás nélküli kezelés: A nyíltvízi életformát élő, ketrecekben nevelődő és folyamatosan úszó tonhalfajok különösképpen stresszérzékenyek bármilyen manipulációra (megfogás, altatás stb.), így hagyományos módon nem nyílik lehetőség hormonkezelésükre. Esetükben a hormontartalmú implantátumot a ketrecbe, a halak közé lemerülő búvárok egy speciális szigony segítségével „lövik be” a hátizom mögé. Az implantátum kialakítása nemcsak a hormon bejuttatását hivatott biztosítani, hanem azt is, hogy a hormon az izomszövet meghatározott mélységében szabaduljon fel, valamint a retard vivőanyag ne essen ki a halakból idő előtt (Mylonas et al., 2007).

3. Hormontermelő sejtek beültetése

A holland Leiden Egyetemen projekt indult abból a célból, hogy az európai angolna hormonálisan indukált ivarérelésére egy olyan módszert dolgozzanak ki, amelyhez nincs szükség heti hormonkezelésre több hónapra keresztül. Az elgondolás alapja az volt, hogy olyan embrionális sejtvonalakat vonjanak ki és ültessenek át zebra-dánióból (*Danio rerio*) angolna (*A. anguilla*) ikrásokba, amelyek kimondottan az FSH-LH (GtH I., GtH II.) termeléséért felelősek. Ezáltal egy megemelt és folyamatos vérplazma FSH szint biztosítja a vitellogenézis végbementét, bármilyen egyéb kezelés nélkül. Az átültetett sejtek jelenlétét hetente ellenőrizték, egy hónapos időtartam alatt. Ez idő alatt morfológiai jelek alapján (szem- és mellúszóindex) sikerült bizonyítani az angolna kezdeti ivarérelését, valamint kimutatták, hogy a kezelés hatására a vitellogenin-expressziót növelő gének – qRT-PCR koncentráció – aktivizálódtak (Schnabel et al., 2007). Amennyiben a módszert sikerül tökéletesíteni, úgy a hal-szaporítás speciális területein (indukált ivaréreléssel szaporítható fajok) lehet ezzel a módszerrel áttörést elérni.



3. ábra: Különböző hormonbejuttatási módok
 (a): intraperitoneális/hasüregi kezelés angolna ivarérelési kísérletben (fotó: Horváth László),
 (b): intramuszkuláris/izom közé injektálás süllő szaporításkor (fotó: Horváth),
 (c): kopoltyúkezelés afrikai harcsában, fejmaszkban (fotó: Hegyi Árpád),
 (d): petefészek-mosás süllőszaporításkor (fotó: Horváth).

4. Szájon keresztüli (*per os*) kezelés

A szájon keresztüli hormonkezelések jelenleg még nem kiforrott módszerek. Alapvetően két részre bonthatók, a hormonzívódás helye alapján.

4a. *Kopoltyún keresztüli felszívódás:* Az intraperitoneális vagy intramuszkuláris kezelés kisméretű halakban jelentős mellékhatásokat okozhat. A kopoltyún keresztüli kezelés nem okoz mechanikai problémát a kopoltyúlemezekre (nem sérülnek és nem hegesednek), így különböző kis molekulájú vegyületek oldatban fel tudnak szívódni. A kopoltyúlemezek az élettani sajátosságoknak köszönhetően (külső légzés – oldott gázok cseréje) alkotják a legkisebb távolságot a külső környezet és a vérkeringés között (1-5 μm). A módszer alapja, hogy oldatban hormont oldanak fel, a szájrégbe juttatják, majd a szájníllást és a kopoltyúfedőket befogják/lezárják egy ideig, hogy a bejutott hormon fel tudjon szívódni.

Ezzel a módszerrel Hill et al. (2005) dimetil-szulfoxidban oldott lazac GnRH analóggal és domperidonnal (dopamin receptor antagonist) sikeresen szaporítottak vörös rojtosszájú halat (*Epalzeorhynchus erythrurus*). Az eljárás igazolhatóan hatott a spermatermelés mennyiségének növelésére és a spermaminőség javítására ezüst razbórában (*Rasbora argyrotaenia*) is (Adawiyah et al., 2019). Ezt a módszert kimondottan kisméretű halak szaporítására fejlesztették ki, a halak egyedi kezelése viszonylag sok időt vesz igénybe, kis méretük miatt gondosabb előkészítést és kezelést igényelnek.

4b. *Bélrendszerben felszívódó (enterális) kezelés.* A halakban a szerves makromolekulák (fehérjetermészetű hormonok) valamint a szintetikus, aminosavakból felépülő hormonhatású, rövid szénláncú vegyületek enzimikus lebontása fajtánként változik. Sok halfaj (például pontyalakúak) „agarikus” („gyomor nélküli”) emésztőszerv-rendszerrel rendelkezik, és ezekben a fajokban nincs sósavas-pepszines emésztő szakasz (a ragadozó halak gyomor pH-ja, alacsonyabb). A gyomor helyett csak béltagulat található, amely csak szövettanilag tér el némiképp a bél további szakaszaitól. A bélnyálkahártya és a hasnyálmirigy enzimeit 6,7- 7,7-es pH-érték mellett bontják a fehérjéket (tripszin, erepszin), a zsírokat (lipáz) és a szénhidrátokat (amiláz, maltáz).

Tengeri, úgynevezett szénhalak (*Anoplopoma fimbria*) szaporításával foglalkozó kutatóknak akadályt jelentett, hogy a faj nagyon érzékenyen

reagált a hagyományos indukált szaporítás műveleteire, így a kezelési stresszt csökkentő eljárásokon gondolkodtak. Solar et al. (1990) egy vékony cső segítségével szájon keresztül (*per os*) GnRH analóg kezelést végeztek, aminek hatására a halak leívtak. Pöttyös tengeri pisztrángban (*Cynoscion nebulosus*) bizonyították a bélén keresztül GnRHa felszívódást (nem történt emésztés), ami sikeres ivást váltott ki. Azonban az intramuszkuláris kezeléshez képest tízszeres hormonadagra volt szükség (Thomas és Boyd, 1989). Habár az első sikeres szaporítási munkák óta már 30 év eltelt, mégis nagyon kevés helyen alkalmazzák állományszinten ezt a kezelést (Tajvanon van egy termelő, aki takarmányba kevert hormonnal sikeresen szaporít tejhalat (*C. chanos* – Harvey és Carolsfeld, 1993)). Sok kísérletet igényel még halfajonként megtalálni azt a hormondózis-küszöböt, amely ovulációt indukál. Szintén szükséges a hormonzívódás hatékonyságát növelő „védett forma” kialakítása is.

5. Petefészek-mosás

Ezt a kifejezést a hormonkezelés katéteren keresztüli petefészekbe juttatására alkalmazzuk. Lényege, hogy katéter, biopszia-mintavevő és etetőszonda segítségével a genitális nyíláson, majd a petevezetékön keresztül közvetlenül a petefészek-üregbe juttatják be a hormonoldatot/szuspenziót. Egyes halfajok túlzott érzékenységet mutatnak az invazív hormonbejuttatási módszerek iránt, vagy kis testméretükből adódóan technikailag nehezebb az injekció alkalmazása. Watson et al. (2009 a, b) egy katéter segítségével juttatott fel oldott hCG-t zöld-pettyes gömb-

hal (*Tetraodon nigroviridis*) és vörössávos tűzangolna (*Mastacembelus erythrotaenia*) petefészkelebenyébe a petevezetőn keresztül. A hCG a petefészek falán keresztül felszívódott és a szisztémás vérkeringésbe bejutva ovulációt indukált a petefészekben. A halak egy részét sikeresen leszaportították. Hazai halfajok közül ezzel a módszerrel, de pontyhipofízis-szuszpenzióval sikeresen szaporítottak süllőt (Németh et al., 2012). A legfőbb eredmény, hogy a szaporítás során nyert reprodukciós paramétereket tekintve (PGSI, termékenyülési %) a kétféle módon kezelt halak (intramuszkuláris és petefészekmosással kezelt csoportok) között nem volt statisztikailag értékelhető különbség.

Ezek az eredmények felvetik annak a lehetőségét, hogy a keltetőházi szaporítás során gyakran nem haszonhalaink „hasüregébe” sikerül juttatni a hormont, hanem valójában az ovuláció előtt álló ikrások petefészkelebenyébe. Ezen feltételezés vezetett a katéteres hormonbejuttatás módszerének üzemi alkalmazásához, mivel feltételezhető volt (és később bebizonyosodott), hogy a petefészekből a hormon ugyanúgy felszívódik és kifejti hatását, mint az izomba vagy hasüregbe injektálás esetén.

5/a. *Inszemináció:* A petefészek szöveteinek idegen anyagok iránti toleranciája jelentősnek bizonyult (nem következett be gyors immunválasz a kezelést követően, illetve még a makromolekulák közé sorolt mucopoliszacharid típusú gonadotróp hormonok is lebomlás és hatásvesztés nélkül felszívódtak). Ezt a felismerést továbbgondolva az elmúlt három évben egy új halszaportítási eljárást fejlesztettünk ki. Ennek az az élettani alapja, hogy a külső megtermékenyítésű ikrások petefészkébe katéteren keresztül feljuttatott spermiumsejtek hosszú ideig (~40 óra) megtartják életképességüket és ovulációkor az ikrával együtt ürülve, a vízaktiváció hatására képesek megtermékenyíteni azokat (Müller et al., 2018 a,b; Ittész et al., 2020). Kísérleteink során sikerült afrikai harcsát (*Clarias gariepinus*) és jundiát/dél-amerikai ezüst harcsát (*Rhamdia quelen*) olyképpen szaporítani, hogy a porított pontyhipofízist spermával kevertük össze és együttesen juttattuk fel a petefészek üregébe. A sperma szeménális plazmája (mint hormon-vivőanyag) a petefészek szeptumain keresztül felszívódott, a porított pontyhipofízisből felszabaduló GtH ovulációt indukált, és a petefészek-üregben visszamaradt inaktív spermiumsejtek az ovuláció során vizes közegben aktiválódtak és megtermékenyíteni tudták a frissen ovulált ikrákat (külső megtermékenyítés!). A megtermékenyítési eredmények nem tértek el a hagyományos szaporítással (hormonkezelés, *in vitro* fertilizáció) nyert adatokhoz képest. Ennek az új módszernek alkalmazása elsősorban olyan halfajok szaporításában lehetséges, amelyek esetében élettani és/vagy technológiai akadályai vannak az *in vitro* fertilizációnak (száraz megtermékenyítés eljárásnak), de az indukált ivatásos módszert eredményesen lehet alkalmazni (elsősorban tengeri halfajok).

Összefoglalásként megállapítható, hogy a folyamatosan fejlődő hatékony halszaportítási módszerek nagy változatoságot mutatnak és jól alkalmazkodnak a különböző tenyésztett halfajok szaporodásbiológiai adottságaihoz. A fentiekben tárgyalt különböző hormonkezelési módszerek többsége még nem alkalmas gyakorlati, keltetőházi szaporítás során nagyszámú anyahal kezelésére. Mindamellettt úgy gondoljuk, hogy fontos bemutatni a jelenlegi tudásunk szerinti összes alternatív kezelési módszert, mert a közeljövőben ebben a témában is olyan előrelépések várhatóak, amelyek egyes halfajok specifikus szaporítását jelentősen megkönnyítik.

Összefoglalónkat gondolatébresztőnek is szánjuk, mivel a fent bemutatott változatos módszerek mellett a kreatív haltenyésztők előtt egyre szélesebb tér nyílik innovatív módszerek fejlesztésére a halszaportítás hatékonyságának növelése céljából.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az Európai Halászati Alap, Halászati Operatív Program III. tengelye („Európai Halászati Alap: a megújuló halászatért” - az Európai Unió és Magyarország támogatásával), a MAHOP-2.1.1-2016-2017-00002 (RESEARCHFISH) és az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projektek támogatták. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg. Béres Tibornak köszönjük a nyelvi lektorálást.

Irodalomjegyzék

- Adawiyah, L.A.L., Sulmartiwi, L., Bodur, T., Budi, D.S. (2019). Induction of spermiation using Ovaprim™ with topical gill method in the silver rasbora (*Rasbora argyrotaenia*). *Theriogenology* 126,172–176.
- Aizen, J., Meiri, I., Tzchori, I., Levavi-Sivan, B., Rosenfeld, H. (2005). Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. *General and Comparative Endocrinology* 142, 212–221.
- Carolsfeld, J., Sherwood, N.M., Kreiberg, H., Sower, S.A. (1988). Induced sexual maturation of herring using GnRHα ‘quick-release’ cholesterol pellets. *Aquaculture* 70, 169–181.
- Fontaine, M., Bertrand, E., Lopez, E., Callamand, O. (1964). Sur la maturation des organes génitaux de l’anguille femelle (*Anguilla anguilla* L.) et l’émission spontanée des œufs en aquarium. *Comptes Rendus de l’Académie des Sciences Paris* 259, 2907–2910.
- Gothilf, Y., Zohar, Y. (1991). Clearance of different forms of GnRH from the circulation of the gilthead seabream, *Sparus aurata*, in relation to their degradation and bioactivities. *Reproductive physiology of fish. Fish Symposium* 91, 35–37.

Harvey, B., J. Carolsfeld (1993). Induced Breeding in Tropical Fish Culture. International Development Research Ore., Ottawa, 144 p.

Hill, J.E., Baldwin, J.D., Graves, J.S., Leonard, R., Powell, J.F.F., Watson, C.A. (2005). Preliminary observations of topical gill application of reproductive hormones for induced spawning of a tropical ornamental fish. *North American Journal of Aquaculture* 67(1), 7-9.

Hirose, K., Kagawa, H., Yoshida, M., Kumakura, M. and Yamanaka, H. (1990). Application of LHRH copolymer pellet for induction of final oocyte maturation and ovulation in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish* 56, 1731–1734.

Horváth, L., Tamás, G., Tölg, I. (1984). Special method in pond fish husbandry. Budapest, Akadémia Kiadó; Seattle, Halver Corporation. 147 pp.

Horváth, L., Tamás, G., Coche, A.G. (1985). Common carp, part 1: mass production of eggs and early fry. FAO Training Series No. 8, 87 pp. Rome, FAO.

Horváth L., Szabó, T., Burke J. (1997). Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. *Polskie Archiwum Hydrobiologii* 44, 221-226.

Horváth, L., Szabó T., Urbányi, B. (2000). Általános szaporodásbiológia. In: Halbiológia és haltenyésztés (egyetemi tankönyv). Szerkesztő: Horváth László. Mezőgazda Kiadó, Budapest 197-211 p.

Horváth, L., Tamás, G., Coche, A.G., Kovács, E., Moth-Poulsen, T., Woynarovich, 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 pp.

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. *Aquaculture Reports* 16, 100275. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100275>.

Jaczó, I. (1953). Kísérletek a kecsge mesterséges szaporítására a Dunán. *Hidrológiai közlöny* 1953 (3-4), 149-152.

Jaczó, I. (1955). A pontyok hipofízálása. *Halászat* 2 (7), 126-127.

Lam, T. (1982). Applications of endocrinology to fish culture. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 39, 111–137.

Lee, C.S., Tamaru, C.S., Kelley, C.D. (1986a). Technique for making chronic-release LHRH-a and 17 α -methyltestosterone pellets for intramuscular implantation in fishes. *Aquaculture* 59, 161-168.

Lee, C.S., Tamaru, C.S., Banno, J.E., Kelley, C.D., Bocek, A., Wyban, J.A. (1986b). Induced maturation and spawning of milkfish, *Chanos chanos* Forsskal, by hormone implantation. *Aquaculture* 52, 199-205.

Lee, C.H., Donaldson, E.M. (2001). Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture. Elsevier Science. 1-328.

Lipscomb, T.N., Wood, A.L., DiMaggio, M.A., Tuckett, Q.M., Lawson, L.L., Watson, C.A. (2018). Evaluation of spawning aids and administration routes on ovulation success in an ornamental cyprinid. *Aquaculture Research* 49, 3926-3929.

Marte, C.L., Sherwood, N.M., Crim, L.W. and Harvey, B. (1987). Induced spawning of maturing milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analogues administered in various ways. *Aquaculture* 60, 303-310.

Matejkova, J., Podhorec, P. (2019). Sustained drug delivery system in fish and the potential for use of PLGA microparticles: a review. *Veterinarni Medicina* 64 (7), 287-293.

Müller, T., Horváth, Á., Takahashi, E., Kolics, B., Decsi, K., Bakos, K., Kovács, B., Taller, J., Bercsényi, M., Horváth, L., Urbányi, B., Adachi, S., Katsutoshi, A., Yamaha E. (2012). Artificial hybridization of Japanese and European eel (*Anguilla japonica* \times *A. anguilla*) by using cryopreserved sperm from freshwater reared males. *Aquaculture* 350-353, 130-133.

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.

Mylonas, C.C., Bridges, C., Gordón, H., Belmonte Rios, A., Garcia, A., De la Gandara, F., Fauvel, C., Suquet, M., Medina, A., Papadaki, M., Heinisch, G., De Metrio, G., Corriero, A., Vassallo-Agius, R., Guzman, J. M., Mananos, E., Zohar, Y. (2007). Preparation and administration of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) implants for the artificial control of reproductive maturation in captive-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*). *Reviews in Fisheries Science* 15, 183-210.

Mylonas, C.C., Duncan, N.J., Asturiano, J.F. (2017). Hormonal manipulations for 781 the enhancement of sperm production in cultured fish and evaluation of sperm 782 quality. *Aquaculture* 472, 21-44.

Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S. (2010). Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology* 165, 516- 534.

Mylonas, C.C., Zohar, Y. (2000). Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10, 463-491.

TUDOMÁNY

Nagahama Y.M. (1997). 17 alpha,20 beta-dihydroxy-4-pregnen-3-one, a maturation-inducing hormone in fish oocytes: mechanisms of synthesis and action. *Steroids* 62(1), 190-196.

Németh, Á., Orbán, K., Faidt, P., Horváth, Á., Müller, T., Szathmári, L., Urbányi, B., Horváth, L. (2012). Induction of ovulation in the Pikeperch (*Sander lucioperca* L.) by ovarian lavage. *Journal of Applied Ichthyology* 28(6), 914-915.

Peter, R.E., Lin, H.R., van der Kraak, G. (1988). Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China: Advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. *Aquaculture* 74(1-2), 1-10.

Sato, N., Kawazoe, I., Suzuki, Y., Aida, K. (1997). Development of an emulsion prepared with lipophilized gelatin and its application for hormone administration in the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fish Physiology and Biochemistry* 17, 171-178.

Schnabel, D., Palstra, A., Van den Thillart, G., Spaink, H.P. (2007). Induced sexual maturation in eel with embryonic zebrafish cell lines that constitutive produce LH and FSH. *Developmental Biology* 306, 384.

Sneed, K.E., Clemens, H.P. (1959). The use of human chorionic gonadotrophin to spawn warmwater fishes. *Progressive fish-culturist* 21(3), 117-120.

Solar, I., Mclean, E., Baker, I.J., Sherwood, N., Donaldson, E.M. (1990). Induced ovulation of sablefish (*Anoplopoma fimbria*) following oral administration of des Gly(10)-(D-Ala (6))LH-RH ethylamide. *Fish Physiology and Biochemistry* 8(6), 497-499.

Szabó, T., (2008). Use of Carbopol resin for carp pituitary administration improves the fertilization percentage of northern pike (*Esox lucius* Linnaeus) eggs in commercial hatcheries. *Hydrobiologia* 601, 91-97.

Thomas, P., Boyd, N. (1989). Dietary administration of LHRH analogue induces spawning in spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). *Aquaculture* 80(3-4), 363-370.

Von Ihering, R. (1937). A method for inducing fish to spawn. *The Progressive Fish-Culturist* 4(34), 15-16.

Watson, C., Wood, A., Graves, J.S. (2009a). New technique for administration of human chorionic gonadotropin – Ovarian lavage. *Aquaculture America* 2009, Seattle, 15-18.02.2009. Book of abstracts, pp. 394.

Watson, C., Hill, J.E., Graves, J.S., Amy, L., Wood, A., Kilgore, K.H. (2009b). Use of a novel induced spawning technique for the first reported captive spawning of *Tetraodon nigroviridis*. *Marine Genomics* 2, 143-146.

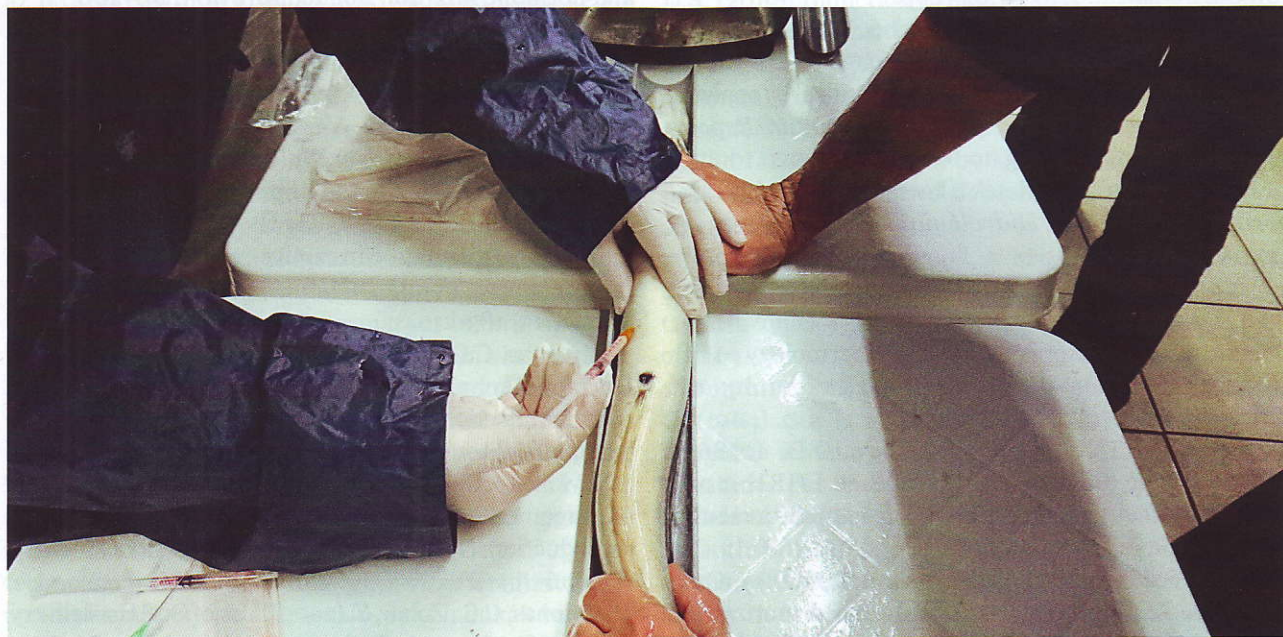
Weil, C., Crim, L.W. (1983). Administration of LH-RH analogues in various ways: effect on the advancement of spermiation in pre-spawning landlocked salmon, *Salmon salar*. *Aquaculture* 35, 103-115.

Woynárovich, E. (1954). A ponty mesterséges szaporítása. *Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Osztályának Közleményei* 3(2), 227-242.

Yaron, Z., Bogomolnaya, A., Drori, S., Biton, I., Aizen, J., Kulikovskiy, Z., Levavi-Sivan, B. (2009). Spawning induction in the carp. Past experience and future prospects – a review. *The Israeli journal of aquaculture – Bamidgeh* 61(1), 5-26.

Yoshida, M., Asturiano, J.F. (2020). Reproduction in aquatic animals: from basic biology to aquaculture technology. Springer Singapore VIII, 1-379.

Zohar, Y., Mylonas, C.C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture* 197, 99-136.



4. ábra: Egyes hosszú hengeres testű halak hormonkezelését nagyban megkönnyíti a félszó-haltartó (angolna hasüregi kezelése, fotó: Müller Tamás)