

A balatoni busapopuláció termékenységi vizsgálatának eredményei

Józsa Vilmos¹, Piotr Hliwa², Boros Gergely³, Tátrai István³, Györe Károly¹, Jacek Kozłowski²

¹ Halászati és Öntözési Kutatóintézet, H-5541 Szarvas, Anna-liget 8.

² Warmia és Mazuria Egyetem, Környezetvédelmi és Halászati Kar, Olsztyn, Lengyelország

³ MTA ÖK Balatoni Limnológiai Intézet

Kivonat

Jövőre lesz ötven éve, hogy 1963-ban megérkezett hazánkba az első 14000 fehér busa lárva (Pintér 1980). Idén lesz negyven éve, hogy 1972-ben kísérleti jelleggel fehér és pettyes busát telepítettek a Balatonba (Bíró 1976). Az elmúlt évtizedekben számos kutatási projekt foglalkozott a busák és a vízminőség, természetes táplálék készlet közötti összefüggések vizsgálatával. Mivel a faj természetes szaporodását nem tartották lehetségesnek természetes vizeinkben, ezért arra vonatkozóan nem történtek mélyreható vizsgálatok.

Már 2005-ben történt próbálkozás a gonád szövettani képe alapján az esetleges ivásra vonatkozó bizonyítékot találni. 2011-ben 26 fehér busa ikrás ivás előtti (március-május) és ivás utáni (szeptember, november) gonád mintáján megismételtük a szövettani vizsgálatot.

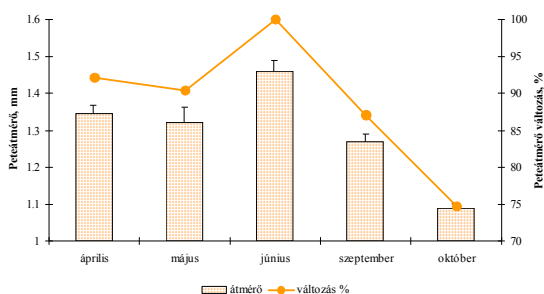
A májusi mintákban, a gonád hátsó szakaszából származó mintákban viszonylag nagyszámú posztovulációs sárgatest (Post-ovulatory corpus luteum) volt megfigyelhető. Ez utalhat az első ikrá adag ovulációjára és ürítésére az ivási időszakban. A szeptemberi minták szövettani képe alapján feltételezhető, hogy megfelelő környezeti viszonyok között az ikrások még ebben az időszakban is képesek lennének az ivásra. A novemberi minta szövettani képe egyrészt jelezheti az ikrások ivási problémáit. Ezt igazolhatja a viszonylag nagyszámú érő oocita (oocyte) és az egyenként előforduló preovulációs sárgatestek (Pre-ovulatory corpus luteum) egyidejű jelenléte. Másfelől jelentheti, hogy a stabil környezeti feltételek eredményeként már a fehér busánál is kialakulhatott a policiklikus szaporodású halakra jellemző peteérési ciklus.

Bevezetés, előzmények

Jövőre lesz ötven éve, hogy 1963-ban megérkezett hazánkba az első 14000 fehér busa lárva (Pintér 1980). A növényevő halaknak Balatonba történő telepítésének gondolata először 1968-ban merült fel részben hínárirtás és részben hozamfokozás céljából. Idén lesz negyven éve, hogy 1972-ben kísérleti jelleggel fehér és pettyes busát telepítettek a Balatonba (Bíró 1976). Az elmúlt évtizedekben számos kutatási projekt foglalkozott ezen halfajok és a vízminőség, természetes táplálék készlet közötti összefüggések vizsgálatával. Habár a hazai éghajlati és ökológiai kondíciók, az ivarérettség elérésnek időszaka hasonlóak voltak egyes kínai természetes élőhelyekéhez, a faj természetes szaporodását nem tartották lehetségesnek természetes vizeinkben. Ezért arra vonatkozóan nem történtek mélyreható vizsgálatok. A Balatonban még a telepítés követő évtizedben sem volt megfigyelhető természetes szaporulat (Pintér 1980). A Balatonba eredetileg fehér busát telepítettek (Virág 1995), de természetes szaporodás megelőzése érdekében a múlt század nyolcvanas éveitől kezdődően főként fehér és pettyes busa szülők hibrid utódai kerültek természetes vizeinkbe kitelepítésre. Morfometria vizsgálatok alapján megállapítást nyert, hogy az ezredforduló után a Balatonban élő busa populációt fenotípus szerint > 90 %-ban hibridek alkották. A halak a szűrőkészülék szerkezete, valamint morfometriai bélyegek alapján a fehér busára jellemző jegyeket

hordozzák (Tátrai és mtsai 2009.). A mai napig nem tisztázott, hogy a hibridizáció, vagy a faj akklimatizációja következtében negyedszázaddal az első telepítést követően már tömegesen figyeltek meg busa ivadékokat a Tisza vízgyűjtőjén. Ezen a vízterületen a természetes szaporodást igazolja, hogy a 2001-es cianid mérgezést követően kipusztult folyó medri busa állomány regenerálódott. Ott jelenleg 8-10 éves egyedek fogása tapasztalható. Ebben az időszakban már a Duna szerbiai szakaszán is észlelték egyéves ivadékok megjelenését (Jankovic et al. 1992).

A Balatoni Limnológia Intézet és a HAKI munkatársai a busa biológiai szerepét és hatását a Balatonban a 2002 óta vizsgálják. A 2002-2004. közötti időszakban elsősorban az oocita (ikra) átmérőjének szezonális vizsgálata alapján próbálták az ivásra vonatkozó következtetéseket levonni. A busa petefészkek legutolsó traktusából vett oociták átmérője, a biológiai törvényszerűségeknek megfelelően, április-június hónapok között nőtt, majd ezt követően rohamosan csökkent. Az egyes hónapok közötti oocita méretváltozások szignifikánsak voltak (ANOVA, hónapok között, $SS=0.166$, $df=4$, $F=34.69$, $p<0.001$). A június havi átlagos átmérőt (1.46 ± 0.03 mm) 100%-nak véve az oocita átmérő szeptemberben 86 %-ra, október közepére már 75 %-ra csökkent. Szeptemberben jóval az ivás időszak után a petefészkek ugyanannyira teltek voltak, mint júniusban. A busa tehát szeptemberben sem rakta le az ikráját, viszont megkezdődött egy lassú reszorpció, és ennek eredményeképpen az oocita átmérője (1.27 ± 0.02 mm) júniushoz képest jelentős mértékben lecsökkent (t-teszt, $df=1966$, $t=19.02$, $p>0.0001$). A felszívódási folyamata októberben intenzívebben folytatódott és az oociták folyóssá váltak. A petefészkek telítettségéből és az oocita átmérő változásából arra a következtetésre jutottak, hogy a busa nagy valószínűséggel nem ívik a Balatonban (Tátrai és mtsai 2005.) (1. ábra).



1. ábra: Az oocita átmérő szezonális változása (Tátrai és mtsai 2005.)

Mivel továbbra is hiányoztak az egyértelmű információk és tudományos bizonyítékok a balatoni busa természetes szaporodásának bekövetkezéséről, az ezt követő időszakban a gonád szövettani képe alapján próbáltunk az esetleges ivásra vonatkozó bizonyítékot találni. A 2005-ben gyűjtött gonád minták szezonális vizsgálata során megállapítást nyert, hogy az ivari sejtek fejlődése aszinkronikus. Áprilisban, a petefészkekben tartalék sejtek voltak láthatók – oogónia és protoplazmatikus oociták, valamint a trofoplazmatikus sejtek két csoportja –vakuolizáció stádiumában (a szikanyag felhalmozódásának kezdeti szakasza), valamint a vitellogenezis végső stádiumában volt. Érdeemes megemlíteni a felszívódó sárgatestek nyomainak előfordulását (nem kiürített oociták). Júniusban, a petefészkekben a tartaléksejtek mindkét csoportja megfigyelhető volt, a vitellogenezis végső stádiumában lévő trofoplazmatikus oociták, valamint a posztovulációs sárgatestek. Hasonló képet mutattak a júliusban gyűjtött busa gonád minták is, bár az oociták egy részén már látható volt a kezdődő reszorpciós folyamatok nyomai. Szeptemberben a preovulációs sárgatestek reszorpciója felerősödött (nem

kiürített oociták). Egyidejűleg némely oocita esetében már elkezdődött a citoplazma vakuolizációja. A mintázások és a minták kis száma miatt nem lehetett egyértelműen meghatározni a balatoni busa gonád fejlődésének folyamatát. Mégis biztonsággal megállapítható, hogy az oociták aszinkronikus fejlődése a halfaj porciós ívásának lehetőségét igazolja. Figyelembe véve azt a tényt, hogy az oocitákban mind az őszi, mind a tavaszi időszakban észleltük a vitellogenezis kezdetét, fel lehet tételezni, hogy az adott szaporodási szezon teljes termékenysége két fázisban fejlődik ki. Az őszi kezdésű sárgatest felhalmozású oociták adják az első ikra porciót, míg a második ikra porció tavasszal fejlődik ki. Az első ívás ideje májusban lehetséges (ezt igazolja az áprilisi gyűjtési gonád minták szövettani képe valamint a posztovulációs sárgatestek jelenléte a júniusi gonád mintákban), a másodiké viszont június és július fordulóján. A vizsgálatba vont júliusi és szeptemberi gonád minták szövettani képe azonban arra utal, hogy a második porció a vizsgált szezonban nem került lerakásra, aminek oka lehetett pl. a nem megfelelő környezeti feltételek által kiváltott stressz. Összességében a gonádokban lejátszódó erőteljes reszorpciós folyamatok jelentős mértékben csökkentették a következő szaporodási szezon eredményességét.

Annak ellenére, hogy a szövettani vizsgálatok eredményei nem adtak egyértelmű választ, több jel is utalt az esetleges természetes szaporodás időnkénti bekövetkezésére. Habár az utolsó balatoni busatelepítés 1983-ban volt, a halászati fogásokból mintázott halaknál a 10 évnél idősebb (90 %) egyedek dominanciája volt a meghatározó. A Balaton déli befolyóin (Zala-Somogy határárok) a Limnológiai Intézet munkatársainak 2009-ben sikerült busa ivadékot fogni (1 fotó).



1. fotó: A Balatonban fogott busaivadékok

Anyag és módszer

2011-ben 26 fehér busa ikrás gonádjának vizsgálata történt meg, az ívás előtti (március-május) és utáni (szeptember, november) időszakban. Márciusban a 18,8 (SD \pm 6,6) kg átlagos testtömegű ikrásokból gyűjtött minták elemzésére került sor. Ebben a hónapban az GSI értéke széles sávban ingadozott (6,2-20,7%), ami jelentős eltérést sejtetett az ikrások gonád érettségében.

A szövettani vizsgálatokhoz a gonádokból 3 mintát vettünk. A gonád éves ciklusának vizsgálatához szükséges szövettani minták előkészítése és tartósítása az alábbiak szerint történt: a petefészek mellső (fejfelőli) középső és hátsó szakaszából kiperarált minta Boulin oldatban lett tartósítva, majd 24 óra elteltével 70 %-os etilalkoholban lett tárolva. A különböző töménységű etilalkohollal végzett víztelenítést követően (70%-tól 95%-ig), majd xilénben történt derítést követően a minták paraffin blokkba lettek öntve. Az ily módon előkészített mintákból rotációs mikrotommal 5 - 6 μ m vastagságú szeletek lettek

vágva, melyek festése topografikus módszerrel történt HE (hematoxilin eozin) (Zawistowski 1986, Demska-Zakęs, modifikációjával). Az adott érési stádiumban előforduló sejtek és sejtsztruktúrák megnevezéséhez a Długosz (1986) valamint Hliwa és mtsai. (2002) nevezéktant használtuk. A busa ikrások gonádjának érettségi stádiumait a Sakun és Buck (1968) által kidolgozott hatfokozatú skála alapján határoztuk meg.

Eredmények

A vizsgálathoz szükséges gonád minták 2011. március-május és szeptember-november közötti időszakban lettek begyűjtve. A tavaszi időszakban 15, a nyári-őszi időszakban 14 halból lett minta gyűjtve. A mintázott halak testparamétereit, gonád tömegét és GSI értékét az 1. táblázatban összegeztük.

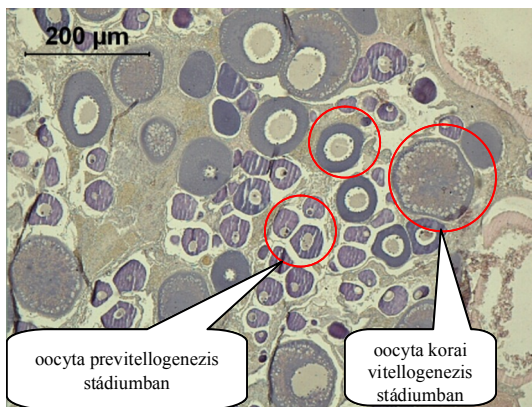
Márciusban 5 darab 22 (SD \pm 7,0) kg átlagos testtömegű ikrásokból gyűjtött minták elemzésére került sor. A gonado-szomatikus index (GSI) értéke 6,2-20,6% sávban ingadozott. Májusban 4 darab 20 (SD \pm 3,0) kg átlagos testtömegű ikrásokból gyűjtött minták elemzésére került sor. A GSI értéke 13-23 % sávban váltakozott.

Szeptemberben 4 darab 20,5 (SD \pm 1,9) kg átlagos testtömegű ikrásokból gyűjtött minták elemzésére került sor. A gonado-szomatikus index (GSI) értéke 12-25,5 % sávban ingadozott. Októberben 3 darab 19,3 (SD \pm 2,5) kg átlagos testtömegű ikrásokból gyűjtött minták elemzésére került sor. A gonado-szomatikus index (GSI) értéke 14-15,4 % sávban ingadozott. Novemberben 7 darab 18,3 (SD \pm 1,4) kg átlagos testtömegű ikrásokból gyűjtött minták elemzésére került sor. A gonado-szomatikus index (GSI) értéke 11-23,7 % sávban ingadozott.

Megállapítható, hogy mind az ún. ívási szezon előtt, mind utána a GSI értékek széles sávban ingadozta, amely jelenség jelentős eltérést sejtetett az ikrások szezonális gonád éretségében.

Két egyednél a metszeten a petefészek mellső részén a pre-vitellogenetikus stádiumban lévő sejtek dominanciája volt megállapítható, melyeken kívül még megfigyelhetők voltak a vitellogenezis korai stádiumában lévő sejtek is (2. ábra).

A szövettani vizsgálat megerősítette a természetes szaporodás elvi lehetőségét.

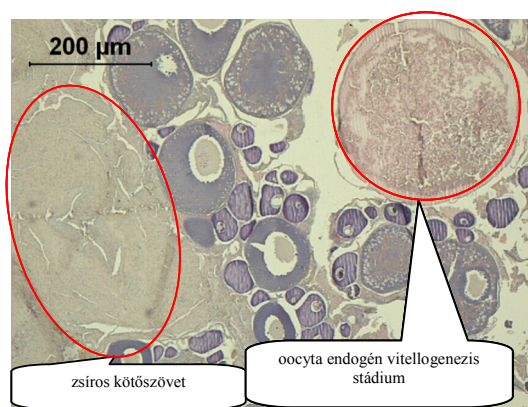


2. ábra: A petefészek első részének szövettani képe (március)

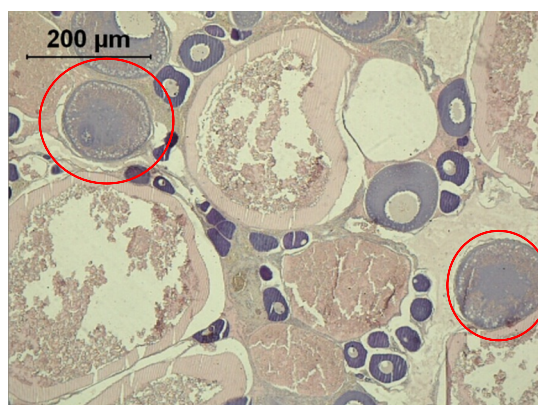
Táblázat 1: A mintázott busák főbb testparaméterei

| 2011 | Ívás előtt időszak (március-május) | | | | |
|-------|--|---------|--------|-------------|---------|
| n=15 | SL (cm) | TL (cm) | W (kg) | gonad W (g) | GSI (%) |
| átlag | 95 | 109 | 19 | 3162 | 15 |
| min | 82 | 93 | 11,5 | 810 | 6,2 |
| max | 118 | 134 | 30 | 5337 | 23,2 |
| SD | 9,3 | 10,0 | 6,0 | 1097 | 5,3 |
| n=14 | Ívás utáni időszak (szeptember-november) | | | | |
| átlag | 99 | 113 | 22 | 5088 | 23 |
| min | 85 | 98 | 15 | 3610 | 17,6 |
| max | 115 | 131 | 35 | 7000 | 27,8 |
| SD | 10,5 | 11,9 | 7,0 | 1412 | 3,7 |

Szintén megfigyelhető volt a nem vakuolizált oocytok számának növekedése a fejtől (kisszámú) a fark irányába (nagy számú). A petefészek középső traktusában viszonylag sok kötőszövet jellegű zsír felrakódás volt megfigyelhető, ami jelezheti az előző ívási szezonban az atretizálódási (degenerálódási) folyamatokban bekövetkezett anomáliákat (3. ábra).

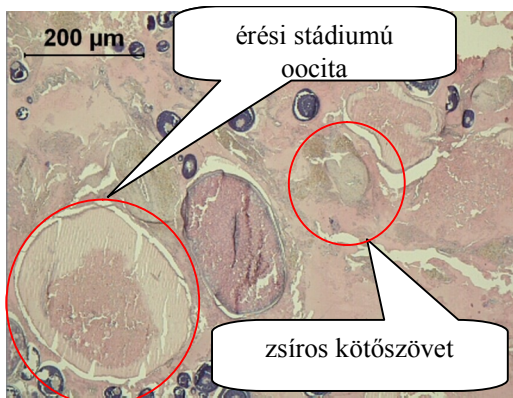


3. ábra: A petefészek középső részének szövettani képe (március)
A petefészek hátsó szakaszában, a fejtől (kisszámú) a fark irányába (nagy számú) nőtt a nem vakuolizált oocytok számának (4. ábra)

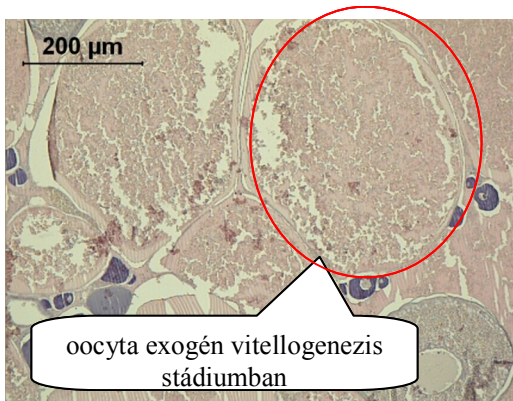


4. ábra: A petefészek hátsó részének szövettani képe (március)

Az áprilisi szövettani metszeteken az oociták érettségében hatalmas eltérés és a gonádnak aszinkronikus fejlődése volt megfigyelhető. Azok szövettani képe az egyik ikrásnál II/III, a többieknél III/IV érettségi stádiumnak felelt meg a Sakun és Buckaféle skála szerint. Összességében ez különbözőség adódhatott a mintázott egyedek méretében tapasztalt nagy szórásból, mivel azok teljes hossza 104 és 134 cm között váltakozott. Az áprilisi mintákból származó gonádok szövettani képében az összes ivari sejtek mintegy ¼-ét kitevő pre-vitellogenetikus stádiumú oociták mellett még a trofoplazmatikus oociták legalább 2-3 generációja volt megfigyelhető eltérő vakualizációjú állapotban. Fontos alkotója volt a mintáknak zsírszövetek vagy kötőszöveti lerakódások. Nagyságrenddel kevesebb volt a középső és hátsó traktusból származó mintáknál (5-6. ábra).



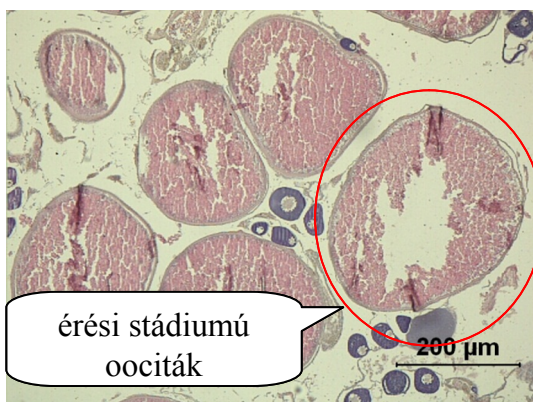
5. ábra: Kötőszöveti lerakódások a érési stádiumú oociták között



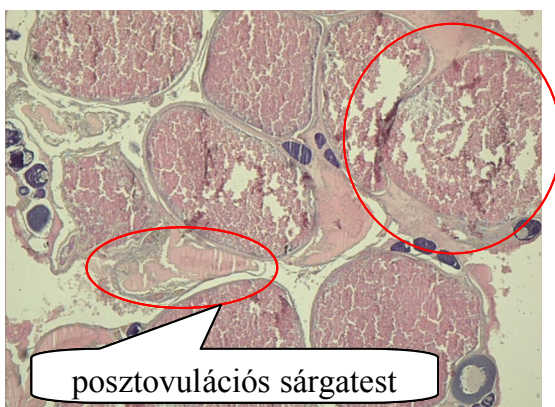
6. ábra: Vitallogenezis stádiumban lévő oocyta az ívás előtti időszakban

Az ívás előtti szezon utolsó mintája 2011. május 28-án lett gyűjtve. Az 5 mintázott egyed átlagos testhossza 106,6 (SD ± 8,2) cm, valamint átlagos testtömege 21,8 (SD ± 5,4) kg volt. A petefészek szövettani metszetein a kései vitellogenezis stádiumában lévő oociták voltak a dominánsak (7. ábra). A gonád hátsó traktusából származó mintákban viszonylag nagyszámú posztovulációs sárgatest volt megfigyelhető (8. ábra). Ez utalhat az első ikrá adag ovulációjára és ürítésére az ívasi időszakban. Ezt a megállapítást erősíti a petefészek struktúrák fellazultsága és főképpen a középső traktusban az érésben lévő

oociták között előforduló szabad területek előfordulása is. Ez utóbbi sejtek méretét átlagosan 600 μm -re becsültük



7. ábra: Kései vitellogenezis stádiumában lévő oocita

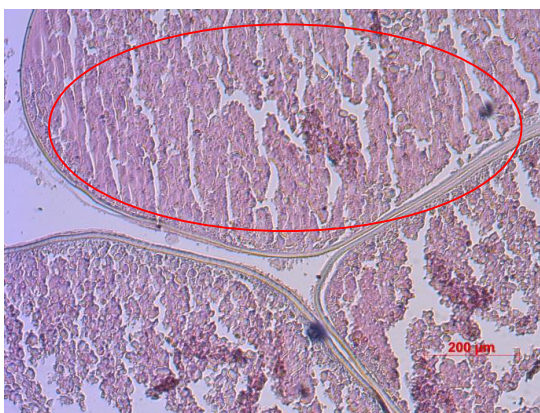


8. ábra: Posztovulációs sárgatest

Szeptemberben a 20,5 (SD \pm 1,9) kg átlagos testtömegű ikrásokból gyűjtött minták elemzésére került sor. Ebben a hónapban a GSI érték 12,2-25,5 % között váltakozott, ami kis fokú eltérést mutatott az egyes ikrások gonád érettségében. A szövettani minták értékelése során megállapítást nyert, hogy azokban a vakuolizált (endo- és egzogenikus vitellogenezis) sejtek domináltak, melyeken kívül azonban észlelhetők voltak kezdeti vitellogenezis stádiumában lévő sejtek is. A petefészkekben nem volt észlelhető mértékű a vitellogenetikus oociták mennyiségének növekedése. Mind a gonád középső és hátsó szakaszán megfigyelhetők voltak a szabályos alakzatú, 800 – 900 μm átmérőjű sejtek, melyeket szikanyag töltött ki. A szövettani kép alapján feltételezhető, hogy megfelelő környezeti viszonyok között az ikrások még ebben az időszakban is képesek lennének az ivásra (9-10. ábra).

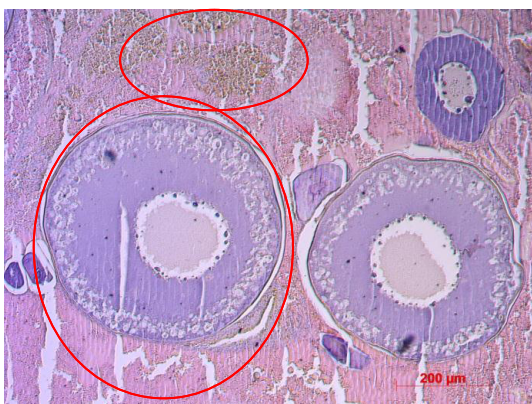


9. ábra: Az új fejlődő ikra previtellogenezis stádiumban



10. ábra Érési stádiumú oocya

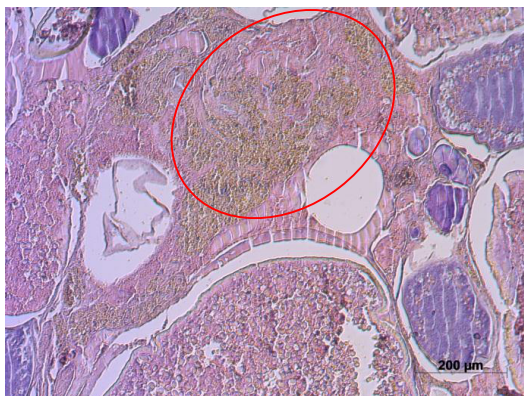
A novemberi mintáknál nem volt észlelhető nagy változás a petefészkek szövettani képében. A vizsgált ikrások átlagos testtömege $18,3 (\pm 1,4)$ kg, GSI értéke 10,9-23,7 % között volt és ezek a paraméterek a szeptemberihez hasonló értékeket mutattak



11. ábra: oocya exogén vitellogenezis stádiumban

. A petefészkek érettségi foka a hatfokozatú Sajun&Buck skála alapján az ikrásoktól függően III/IV valamint IV stádiumban volt (11. ábra).

A novemberi gonád minták szövettani képén a nem nagyszámú, kb. az összes ikra 1/5-ét kitevő pre-vitellogenitikus oociták voltak láthatók. Ezek mellett még a trofoplazmatikus oociták két generációja volt észlelhető a vakuolizáció különböző stádiumában, melyeknél a egzogenikus vitellogenezis stádiumban lévő oociták voltak a dominánsak. A metszeteken a gonád mellső és középső szakaszán nem nagy kiterjedésű területek voltak láthatók, ahol zsírszövet halmozódott fel zsíros kötőszövet formájában (12. ábra).



12. ábra: Zsíros kötőszövet a gonádban lévő szabad területeken

Összefoglalás

A májusi mintákban, a gonád hátsó szakaszából származó mintákban viszonylag nagyszámú posztovulációs sárgatest volt megfigyelhető. Ez utalhat az első ikra adag ovulációjára és ürítésére az ivási időszakban. A szeptemberi minták szövettani képe alapján feltételezhető, hogy megfelelő környezeti viszonyok között az ikrások még ebben az időszakban is képesek lennének az ivásra. A novemberi minta szövettani képe egyrészt jelezheti az ikrások ivási problémáit. Ezt igazolhatja a viszonylag nagyszámú érő oocita és az egyenként előforduló preovulációs sárgatestek egyidejű jelenléte. Másfelől jelentheti, hogy a stabil környezeti feltételek eredményeként már a fehér busánál is kialakulhatott a policiklusú szaporodású halakra jellemző Peteérési mód.

Felhasznált irodalom:

- Bíró P., 1976:** Betelepítések és az eutrofizálódás hatása a Balaton halállományára, Halászat XXII (69) 15 pp.142-143.
- Dlugosz M. 1986.** Oogenesis and the annual cycle of gonad development for selected fish species in reservoirs with different thermal conditions. Acta Acad. Agricult. ac Tech. Olstenensis, Protectio Aquarum et Piscatoria, 14 (suppl.): 1-69. (In Polish).
- Hliwa P., Demska-Zakęś K., Martyniak A. 2002.** Annual ovarian cycle of *Vimba vimba* (L.) from the Drawieński National Park in northwest Poland. Arch. Pol.Fish. 10(1): 41-50.
- Janković D 1992.** Natural reproduction of herbivorous fish (*Ctenopharyngodon idella* and *Hypophthalmichthys molitrix*) in the Djerdap accumulation. Acta Biologica Iugoslavica - Ichthyologia Belgrade 24: 57-59

- Pinter K., 1980.** Exotic Fishes in Hungarian Waters: their Importance in Fishery Utilization of Natural Water Bodies, Fish Mgmt 11 No.4 pp. 163-167
- Tátrai I, Paulovits G, Józsa V, Boros G, György Á, Héri J 2009.** Halállományok eloszlása és a betelepített halfajok állománya a Balatonban In: Bíró P, Banczerowsky J (szerk.) A Balaton-kutatások fontosabb eredményei 1999-2009, Budapest: MTA. pp. 129-141.
- Virág, Á. 1995.** A Balaton múltja és jelene. Egri Nyomda Kft, Eger, p.904,
- Zawistowski S. 1986.** Technika histologiczna, histologia i podstawy histopatologii. PZWL, Warszawa.
- Sakun O.F., Bucka N.A. 1968.** Opredelenie stadij zrelosti i izucenie polovych ciklov ryb. Izd. Min. Ryb.Choz. SSSR, Murmansk, s. 5-45.

Results of the fertility analysis of the silver carp population of the Lake Balaton

Józsa Vilmos¹, Piotr Hliwa², Boros Gergely³, Tátrai István³, Györe Károly¹, Jacek Kozłowski²

¹ *Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation, H-5541 Szarvas, Anna-liget 8.*

² *University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Faculty of Environmental Sciences, Poland*

³ *HAS CE Balaton Limnological Institute*

Abstract

Next year will be fifty years since the first 14000 silver carp larvae arrived to our country in 1963 (Pintér, 1980). This year will be forty years, since silver and bighead carps were stocked experimentally in the Lake Balaton in 1972 (Bíró, 1976). During the last decades several research projects have dealt with the analysis of correlation between silver carps and water quality, natural food stocks. As the natural reproduction of this species was not considered possible in our natural waters, no relevant in-depth investigations were made.

As far as back in 2005 attempts were made to find evidence for potential spawning based on the histological picture of the gonad. In 2011 we repeated the histological examination on gonad samples of 26 silver carps before spawning (between March and May) and after spawning (September, November).

In the samples from May, a relatively large number of post-ovulatory corpus luteum were observable in the rear section of the gonad. This may indicate the ovulation and shedding of the first dose of roe during the spawning period. Based on the histological picture of samples from September it can be assumed that under appropriate environmental conditions spawners might be able to spawn even in this period. On the one hand, the histological picture of the sample from November might indicate the spawning problems of spawners. This may prove the simultaneous presence of a relatively large number of maturing oocyte and the individually occurring pre-ovulatory corpus luteum.

On the other hand, it might indicate that as a result of stable environmental conditions even in silver carps could have had evolved an ovulatory cycle characteristic to fish with polycyclic spawning.