

HALÁSZAT - TUDOMÁNY

8. évfolyam | 2. szám | 2022

Alapítva: 2015



› A probiotikumok szerepe a fenntartható akvakultúrában: Irodalmi áttekintés

› Csukaikra termékenyítéséhez szükséges sperma mennyiségének meghatározása keltetőházi szaporítás során

› PhD értekezések összefoglalói

HALÁSZAT – TUDOMÁNY

8. évfolyam | 2. szám | 2022

Az Agrárminisztérium tudományos folyóirata

A HALÁSZAT-TUDOMÁNY
elektronikus lap szerkesztőbizottsága

Főszerkesztő:
Dr. Váradi László

Tudományos főszerkesztő-helyettes
Dr. Urbányi Béla

Főszerkesztő-helyettes
Udvari Zsolt

Szerkesztő:
Bozáné Dr. Békefi Emese

A szerkesztőbizottság tagjai:

Dr. Bercsényi Miklós

Dr. Farkas Anna

Dr. Hancz Csaba

Dr. Harka Ákos

Hoitsy György

Dr. Jeney Zsigmond

Dr. Molnár Kálmán

Dr. Németh István

Dr. Orbán László

Patakiné Dr. Várkonyi Eszter

Dr. Székely Csaba

Dr. Szűcs István

A folyóirat megjelenését támogatja:

Magyar Akvakultúra és Halászati
Szakmaközi Szervezet

Kiadja:

Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft.
1223 Budapest, Park u. 2.
www.hermanottointezet.hu

Felelős kiadó:
Bozay Péter

HALÁSZAT-TUDOMÁNY
Megjelenik félévenként

Szerkesztőség:

Magyar Agrár- és Élettudományi Egye-
tem

Akvakultúra és Környezetbiztonsági
Intézet

Halászati Kutatóközpont (HAKI)

5540 Szarvas Anna-liget utca 35.

Telefon: 06 66 515 300

E-mail: bozanne.bekefi.emese@uni-
mate.hu

HU ISSN 0133-1922
Index: 125 372

Címlapkép: Frissen termékenyített csu-
kaikra Zuger-üvegekben
Fotó: Dr. Szabó Tamás

Tisztelt Olvasó!

Azt gondolom, nem kell magyaráznom, hogy amikor a nyomtatásban megjelenő, aktuális szakmai témákkal foglalkozó Halászat lap mellett elindítottuk az online elérhető, elsősorban lektorált tudományos közleményeket tartalmazó Halászat-Tudomány szaklapot, nem a szakmai aktualitások és a tudomány elválasztása volt a cél. Nem is lehetett, hiszen a kettő elválaszthatatlan. Ha valamikor, most különösen aktuális a tudományos munka kapcsolódása a gyakorlati munkához, amikor az ágazat korábban nem tapasztalt olyan kihívások előtt áll, mint a klímaváltozás, az energiával és a természeti erőforrásokkal való gazdálkodás minden eddiginél fokozottabb igénye, illetve az említettekben fakadó gazdasági és társadalmi feszültségek.

Örömmel állapíthatjuk meg, hogy a hazai halászati kutatóműhelyekben megvannak azok az erőforrások tudásban, technikai ellátottságban, és a nemzetközi kapcsolatrendszer tekintetében, amelyek hozzájárulhatnak a halgazdálkodás alkalmazkodó- és ellenálló képességének erősítéséhez. Ezt bizonyítják a Halászat Tudomány jelen számában megjelenő cikkek is. Nem lehet azonban elégszer ismételni annak a fontosságát, hogy az ágazat versenyképességének szükségszerű növelése, megköveteli a céltudatos, konkrét problémákra konkrét válaszokat adó innovációt.

Fontos lenne, hogy a hamarosan beinduló MAHOP Plusz által kutatásra és innovációra adott lehetőségeket az ágazat maximálisan kihasználja, hiszen a termelés-technológiák fejlesztésén, azok hatékonyságának növelésén túl igen fontos a halellátási láncok integritásának erősítése, illetve a hal értéklánc elemzéseken, a sokszínű és változó fogyasztói igények kielégítésén alapuló programok végrehajtása.

E gondolatokkal és a magyar halgazdálkodás megújulási képességébe vetett hit-
tel kívánok a Szerkesztőség nevében is Boldog Új Évet minden kedves olvasónak.

Dr. Váradi László
főszerkesztő

TARTALOM CONTENT

Hancz Csaba és Varga Dániel

A probiotikumok szerepe a fenntartható akvakultúrában: Irodalmi
áttekintés 3

Szabó Tamás, Molnár József, Müller Tamás, Nyitrai Márk, Tóth Gábor, Ugrai Zoltán, Szabó Krisztián, Urbányi Béla

Csukaikra termékenyítéséhez szükséges sperma mennyiségének meghatározása
keltetőházi szaporítás során 14

Doktori Értekezések

Keszte Szilvia

Molekuláris módszerek fejlesztése és alkalmazása közösségi és horgászati jelen-
tőségű halfajok vizsgálatához 19

Urvashi Goswami

Vadon élő és tenyésztett édesvízi halak myxozoa parazitáinak összehasonlító
vizsgálata Indiában és Magyarországon 22

A probiotikumok szerepe a fenntartható akvakultúrában: Irodalmi áttekintés*

Hancz Csaba és Varga Dániel

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, AKI, Alkalmazott Halbiológiai Tanszék, Kaposvári Campus, H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40. e-mail: hancz.csaba@uni-mate.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Az akvakultúra a világ egyik legnagyobb, gyorsan fejlődő élelmiszertermelő ágazata, amelyet sokféle intenzitással és technikával művelnek, és amely jelentősen hozzájárul világszerte a leginkább rászorulóknak megélhetéséhez. Napjainkban az ökológiai fenntarthatósággal kapcsolatos aggodalmak egyre nőnek ebben a hatalmas és rendkívül szerteágazó technológiai változatosságot mutató ágazatban is, csakúgy, mint az egész mezőgazdaságban. A probiotikumok alkalmazása az akvakultúrában már hosszú múltra tekint vissza, és kezdettől fogva a fenntarthatóbb termelés céljait szolgálta, azonban az intenzív rendszerek elterjedése a globális éghajlatváltozással együtt új kihívásokat jelent. A mikrobiom kutatás a közelmúltban elképesztő fejlődést mutatott a humán egészségügytől a környezetvédelemig számos területen, és az új technikákat sikeresen adaptálták a probiotikumok akvakultúrában történő alkalmazása terén is. A jelen munka célja, hogy a csaknem feldolgozhatatlanul nagy információhalmazból válogatva áttekintést adjon erről a területről, az alapfogalmak tisztázásától a legmodernebb technikák bemutatásáig.

Kulcsszavak: probiotikum, akvakultúra, fenntarthatóság

SUMMARY

Aquaculture is one of the world's largest, fast-growing food-producing sectors, practiced with a wide range of intensities and techniques, and making a significant contribution to the livelihoods of the world's most vulnerable people. Today, concerns about the ecological sustainability of this vast and highly diversified sector, as well as of agriculture as a whole, are growing. While the use of probiotics in aquaculture has a long history and has always been aimed at more sustainable production, the proliferation of intensive systems and global climate change poses new challenges. Microbiome science has recently shown amazing progress from human health to environmental protection, and new techniques have been successfully adapted to the use of probiotics in aquaculture. The aim of the present work is to provide an overview of

this field, selected from an almost unprocessable wealth of information, from a clarification of basic concepts to a presentation of state-of-the-art techniques.

Keywords: probiotics, aquaculture, sustainability

BEVEZETÉS

Az akvakultúra a világ egyik legnagyobb és leggyorsabban fejlődő élelmiszertermelő ágazata, amelyet sokféle intenzitással és technikával művelnek, és amelyben a növények mellett gerinces és gerinctelen fajok sokaságát nevelik tengerben és édesvízben. Jelentősen hozzájárul a világ egyre növekvő népességének megélhetéséhez és élelmezéséhez (FAO 2020). A több mint száz kutató együttműködésével létrejött Blue Food Assessment (Kék Élelmiszer Értékelés) felmérése szerint a vízből származó élelem jelentős mértékben járul hozzá a globális élelmezésbiztonsághoz, mivel több mint 3,2 milliárd ember számára biztosít fehérjét és más értékes tápanyagokat (Anonymous 2021). A „kék élelmiszer” gazdag forrása a hosszú láncú, többszörösen telítetlen omega-3 zsírsavaknak, a dokozahexaénsavnak (DHA) és az eikozapentaénsavnak (EPA), továbbá az A- és B12-vitaminoknak.

Multidiszciplináris kutatásokra van szükség az ökológiai és környezet-egészségügyi hatások tanulmányozásához (Fry és mtsai. 2016), mivel az akvakultúra fokozatosan áttért a növényi alapú takarmány-összetevőkre, amelyek alapvetően összekötötték a szárazföldi mezőgazdasággal. Az akvakultúra intenzívebbé válása azonban mind a víziállatok, mind a környezet számára fokozta a stresszt (Dossou és mtsai. 2018 a,b). Különböző vegyszereket és antibiotikumokat alkalmaztak (Carbone és Faggio 2016; Guardiola és mtsai. 2016; Aliko és mtsai. 2018), amelyek súlyos problémákat okoztak, és az antibiotikumoknak ellenálló baktériumtörzsek létrejöttének elősegítésével közvetve, sőt közvetlenül is bizonyosan hatással vannak az emberi egészségre. Az Európai Unió már régen kimondta az 1831/2003/EK rendeletben, hogy „A kokcidiosztatikumok és hisztomonosztatikumok kivételével az antibiotikumok nem engedélyezhetők takarmány-adalékanyagként”, ami arra készítette a kutatókat, hogy alternatívákat keressenek az antibiotikumokkal való visszaélés visszaszorítására, és

* Jelen cikk a „Hancz, C (2022) Application of probiotics for environmental-friendly and sustainable aquaculture”, (a Sustainable Water Management folyóirathoz benyújtott) c. kézirat anyagának újraszerkesztett, kiegészített változata.

erre az egyik ígéretes lehetőségnek a probiotikumok alkalmazása bizonyult. Az állatok jó egészségének és jólétének biztosítása továbbra is minden akvakultúra rendszer sarkköve és ennek eléréséhez a probiotikumok fenntartható és környezetbarát alternatívát kínálnak az antibiotikumok és a szintetikus vegyi anyagok helyettesítésével (Dawood és mtsai. 2018). Az ökológiai szemléletmód jegyében terjedőben van az ún. körkörös gazdálkodás lehetőségeinek felmérése. Ezt mutatja be kimerítő alapossággal az akvakultúra területére vonatkozóan Eroldoğan és mtsai. (2022) munkája. A szerzők azt is tárgyalják, hogy a tengeri baktériumok kulcsszerepet játszanak az akvakultúra rendszerekben az állatok egészségének javításával. A probiotikus hatású mikroorganizmusok pozitívan befolyásolják a gazdaszervezet teljesítményét azáltal, hogy segítik a táplálék lebomlását, növelik annak tápértékét és javítják a környezeti paraméterek minőségét.

A probiotikumok jótékony szerepe az akvakultúrában sokrétű, de talán a legismertebb hatásuk a gazdaszervezet takarmányhasznosításának javítása, ami könnyen mérhető a takarmányértékesítési arány (FCR) segítségével. Az FCR csökkentése gazdasági szempontból kulcsfontosságú, de a környezetterhelés csökkentése szempontjából is fontos. Fry és mtsai. (2018) tárgyalják a takarmányhasznosítás hatékonyságának értékelésére szolgáló egyszerű FCR alkalmazásának korlátait, és arra a következtetésre jutnak, hogy a különböző típusú takarmányok hatékonyságának összehasonlítására többféle mérőszámot célszerű használni, beleértve a tápanyag- és kalóriamegmaradást is. Figyelembe kell venni a környezeti lábnyomra vonatkozó intézkedéseket is, beleértve az erőforrás-felhasználást, az üvegházhatású gázok kibocsátását, a biológiai sokféleség csökkenését és a vízszennyezést. Avadí és mtsai. (2015) a különböző takarmányfelhasználási típusok környezeti teljesítményét hasonlította össze az életciklus-értékelés (LCA) alkalmazásával, amely az FCR egyszerű figyelembevételénél összetettebb képet nyújtott. Egy adott termelési technológia környezeti lábnyomának figyelembevétele az akvakultúrában is egyre nagyobb jelentőséggel bír (Burić és mtsai. 2020). Az Európai Unió kék növekedési stratégiája globális mozgalommá kezd válni (Európai Bizottság 2019).

A probiotikum fogalmát viszonylag egyszerű helyesen meghatározni: „olyan termék, amely olyan mennyiségben tartalmaz mikrobiótát, amely képes a feltételezett jótékony hatást kifejteni” (FAO/WHO 2001). Amint azt később tárgyaljuk, ezt a hatást elsősorban a bélrendszer mikrobiomjának befolyásolásával érik el mind a humán gyógyászatban, mind az állattenyésztésben. Tágabb meghatározást adtak Verschuere és mtsai. (2000), akik szerint: „élő mikroorganizmusokat tartalmazó mikrobiális kiegészítés, amely jótékony hatással van a gazdaszervezetre azáltal, hogy módosítja a gazdaszervezethez vagy annak termelési környezetéhez kapcsolódó mikrobiális közösséget, biztosítja a mesterséges takarmány jobb hasznosulását vagy tápértékét, fokozza a gazdaszervezet betegségek-

re adott válaszát, és általában javítja az életképességét. A probiotikumok a különböző forrásokból származó funkcionális takarmány-adalékanyagok csoportját alkotják, és ide tartoznak a prebiotikumok, probiotikumok, tengeri moszatok, gombák, mikroalgák, enzimek, szerves savak, mikotoxinkötők, fotogén vagy fitobiotikus vegyületek és élesztők is (Bharathi és mtsai. 2019).

Saadony és mtsai. (2021) szintén több, a probiotikumokat definiáló szakirodalmi munkát tekintettek át. Felis és mtsai. (2009) kiváló összefoglalót adnak a probiotikumok taxonómiájáról, amely a gombákat is tartalmazza. Ran és mtsai. (2015) megállapították, hogy mind az élő, mind a hővel inaktivált pékélesztő jótékony hatással volt a nilusi tilápiára, de az élő élesztő táplálékkiegészítőként előnyösebbnek bizonyult. Abdalkareem és mtsai. (2022) megerősítették az *Aspergillus niger* egysejtű gomba probiotikus szerepét a pontynál, mivel az javította a növekedést, az immunitást, az emésztést és a halak hematológiáját.

A probiotikumok többnyire élő mikrobajeltek, bár a hővel inaktivált változatok is bizonyítottan előnyösek a gazdaszervezet számára. Ezek a jótékony mikrobák kulcsszerepet játszanak az egészségi állapot közvetlen szabályozásában, valamint azáltal, hogy segítik az állatok immunrendszerét, növekedési teljesítményét és takarmányhasznosítását. Az a tápokban való felhasználásuk volt az első intenzív fejlesztési terület, amely a mai napig tart. A probiotikumok alkalmazása azonban hatékony új és fenntartható módszereket kínál a jó vízminőség fenntartására, sőt a természetes táplálékszervezetek biomaszájának növelésére is a különböző tavi kultúrákban (Elsayed és mtsai. 2022), amint azt a későbbiekben tárgyaljuk. Az akvakultúrában a probiotikumok alkalmazása hasonló a szárazföldi állatokéhoz, de az eltérő környezet miatt jelentős különbségek is vannak. A víziállatok és környezetük közötti közvetlenebb kapcsolat még a probiotikumok fogalmának tágabb értelmezéséhez is vezetett, beleértve a környezetet is (Verschuere és mtsai. 2000). Ez nagyobb kitétséget jelent a vízi patogén mikrobáknak (*Vibrio* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas* sp.), amelyek a legtöbb elhullást okozzák, de emberi szempontból is fontos, mivel ételmérgezést okozhatnak. Limbu és mtsai. (2020) elemezték az antibiotikumok szisztémás hatásait a tenyésztett halakban és azok potenciális humán egészségügyi kockázatát. E holisztikusabb megközelítés szellemében Infante-Villamil és mtsai. (2020) azt hangsúlyozzák, hogy az akvakultúrában termelt állatok (gerincesek és gerinctelenek) mikrobiomjának magas szintű diverzitása, annak megismerése és fenntartása elsőrendű fontosságú.

Az akvakultúrában használt probiotikumok a takarmányokban használt probiotikumok globális piacának hatalmas részét teszik ki. Ezt a piacot 2020-ban 4,4 milliárd USD-re értékelték, és a becslések szerint 2026-ra eléri a 7,3 milliárd USD-t. A kereslet az előrejelzések szerint továbbra is magas marad, mivel egyre többen ismerik előnyeiket (MarketsandMarkets 2022). Ez a szilárd háttér

minden bizonnyal a tudományos kutatást és a termékfejlesztést is elősegíti.

A mikrobiomkutatás fejlődése új határokat nyitott úgy a humán egészségügyben, mint az akvakultúrában. Az új termékek és alkalmazások számos területen jelentősen megváltoztathatják a helyes gyakorlat profilját, és ez akár a fenntartható fejlődés új korszakát is előrevetítheti.

Nehéz feladat átfogó összefoglalót adni a témában megjelent szakirodalomról, ahol az információk folytonosan növekvő tömegéről beszélhetünk, és ahol még az olyan kiváló a áttekintések is nagy számban találhatók, mint Balcázar és mtsai. 2006; Oliva-Teles 2012; Zhou és Wang 2012; Mohapatra és mtsai. 2013; Pandiyan és mtsai. 2013; Bidhan és mtsai. 2014; Pérez-Sánchez és mtsai. 2014; Hai 2015; Das és mtsai. 2017; Dawood és mtsai. 2018; Infante-Villamil és mtsai. 2020; Yukgehnaihs és mtsai. 2020; Diwan és mtsai. 2021; El-Saadony és mtsai. 2021; Wuertz és mtsai. 2021 cikkei, a korábbiakat nem is említve. Jelen munka célja mégis az, hogy erre kísérletet tegyen, a címben megfogalmazott szempontokra összpontosítva.

A VÍZIÁLLATOK MIKROBIOMJA ÉS ANNAK MŰKÖDÉSE

A természetes víztesteket és a bennük élő vízi élőlényeket mikroorganizmusok garmadája népesíti be. A környezet mikrobái és a gerinces, valamint a gerinctelen szervezetek között folyamatos a kölcsönhatás. Az állatok bélrendszerében élő mikrobafajok közötti pozitív vagy negatív hatású kölcsönhatások szintén fontos szerepet játszanak, és ezek erőteljesen befolyásolják az egészséget és a vitalitást. Az exogén mikrobák a bőrön és a kopoltyúkon keresztül is bejutnak a gazdaszervezetbe, amelyek ezután szimbiózisban élő, kommenzuális és patogén baktériumközösségeket alkotna. A nyálkahártya rezidens mikrobiomja védelmet nyújthat a káros mikrobákkal szemben (Kuebutornye és mtsai. 2020). A perzisztens mikrobiom mind immunogén, mind metabolikus integritást és funkcionalitást biztosít a gazdaszervezet számára (Wuertz és mtsai. 2021).

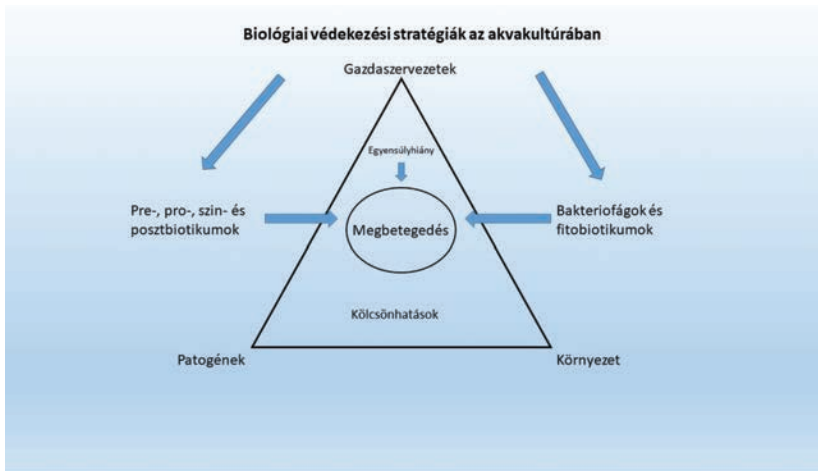
A gazda - mikrobiom interakciók fő helyszíne azonban a gasztrointesztinális traktus (GIT), amelynek kolonizációja és működése nagy jelentőséggel bír (Li és mtsai. 2017; Wuertz és mtsai. 2021). A gazda és a mikrobióta koevolúciójából eredő magmikrobiom fogalmát és szerepét Wuertz és mtsai. (2021) tárgyalják. A halak gasztrointesztinális traktusát grammonként körülbelül 108 baktériumsejt népesíti be, amelyek körülbelül 500, főként aerob vagy fakultatív anaerob mikroba fajt képviselnek (Etyemez és Balczár 2015). Ringø és mtsai. (2020) például összefoglalják a tejsavbaktériumok és bacillusok (LAB) alkalmazásával a rákfélék és halak akvakultúrájában elért eredményeket, felsorolva 14, csak 2017 és 2019 között megjelent cikket, amelyek a *Lactobacillus* és *Enterococcus* fajok jótékony hatásait tárgyalják. A halak bélrendszerének oxigéntartalma

magasabb, mint az emberi bélrendszeré, ami magyarázatot adhat az anaerob baktériumok alacsony gyakoriságára. A legtöbb hal bél-mikrobiótájának domináns részét a Bacteroidetes, Firmicutes és Proteobacteria alkotják (Wang és mtsai. 2018; Dulski és mtsai. 2020). A növényevők bélrendszere rendelkezik a legdiverzifikáltabb mikrobiommal, mivel a cellulóz emésztéséhez olyan baktériumokra van szükség, mint a *Clostridium*, a *Leptotrichia* vagy a *Citrobacter* (Liu és mtsai. 2016).

A probiotikumokat széles körben használják az akvakultúrában a betegségek elleni védekezésre, különösen a bakteriális betegségek ellen (Newaj-Fyzul és mtsai. 2014). A probiotikumok kórokozó-antagonizmusa alapvetően háromféleképpen működik:

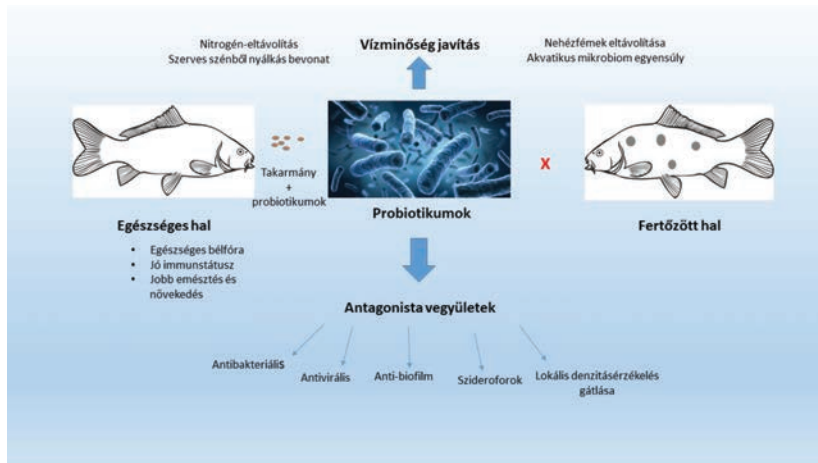
- a probiotikumok olyan anyagokat termelnek, amelyek megakadályozzák a kórokozók szaporodását, vagy közvetlenül elpusztítják azokat (Servin 2004),
- azáltal, hogy támogatják a gazdaszervezet immunrendszerét és/vagy inaktíválják a kórokozók által termelt toxinokat (Brandão et al. 1998; Ezendam és mtsai. 2006),
- azáltal, hogy a kórokozókkal versengenek a tápanyagokért és a tapadási helyekért (Servin és Coconnier 2003).

A bakteriális probiotikumok kulcsszerepet játszanak mind a gazdaállat immunválaszaiban, mind pedig a választék és a bélbaktérium-közösségek közötti kölcsönhatásban (Dawood és Koshio 2016). A probiotikum kiegészítés fokozza a takarmányhasznosítást és a súlygyarapodást a víziállatokban, valamint serkenti a gazdaszervezet étvágyát és a takarmány ízletességét azáltal, hogy lebontja az emészthetetlen összetevőket, vitaminokat termel és méregteleníti a táplálékban lévő mérgező vegyületeket. A kórokozók elleni védelem az adhéziós helyekért való kompetitív kizáráson keresztül is működik, továbbá a probiotikumok a bélmikrobióta növekedését és szelektivitását módosíthatják azáltal, hogy gátló anyagok termelésén keresztül elnyomják a káros baktériumok hatását. A legfontosabb posztbiotikum-csoport a baktericinok, amelyek a baktériumok által termelt fehérje- vagy peptidtartalmú toxinok, amelyek a hasonló vagy közeli rokon baktériumtörzs(ek) növekedését gátolják. Bár a baktericinokat eddig túlnyomórészt élelmiszer tartósítószerként használták, mostanában nagyobb figyelmet kapnak, mint potenciális klinikai antimikrobiális szerek és mint potenciális immunmoduláló szerek is (Sahoo és mtsai. 2014; Nayak és mtsai. 2021; Pereira és mtsai. 2022). A baktericinok mellett az exoenzimek termelése is fontos lehet a potenciális probiotikumok értékelése során (Mukherjee és mtsai. 2016). A probiotikumok növelik a víziállatok ellenálló képességét a környezet és technológia okozta stresszel szemben (Mohapatra és mtsai. 2013; Dawood és mtsai. 2018). Wang és mtsai. (2019) megemlíti a hasznos baktériumok egy másik fontos alkalmazását, nevezetesen az alternatív tápok alkalmazását, amelyek a makrotápanyagok mellett mikrotápanyagokat, például



1. ábra

A patogén-gazdaszervezet-környezet kölcsönhatások és betegségek viszonya az akvakultúrában (Pérez-Sánchez és mtsai. 2018 után módosítva).



2. ábra.

a vitaminokat, zsírsavakat és esszenciális aminosavakat is biztosítanak az egészséges növekedés támogatásához.

A probiotikumok hatékony működésében fontos szerepet játszanak a prebiotikumok, ezért indokolt az orvosi és állatorvosi szakirodalomban gyakran használt „szinbiotikumok” összefoglaló elnevezés használata. Montalban-Arques és mtsai. (2015) valamint Huyn és mtsai. (2017) ismertetik a megelőző és gyógyító probiotikus kezelések során fellépő kölcsönhatásokat, míg Pérez-Sánchez és mtsai. (2018) ugyanezt a témát a betegségek megelőzésére koncentrálnak tárgyalják. Utóbbi az 1. ábra szemlélteti.

Chauhan és Singh (2019) tanulmánya a probiotikumok akvakultúrában történő felhasználásának jelenlegi ismereteit, a kiválasztási kritériumokat, az akvakultúrában használt probiotikumok típusait, hatásmechanizmusukat és a probiotikumok akvakultúrában történő alkalmazásának adminisztratív módszereit mutatja be. Wuertz és mtsai. (2021) szintén mélyrehatóan tárgyalták a probiotikus

hatásmódokat, amit az alábbiakban leegyszerűsítve mutatunk be (2. ábra). Számos áttekintés részletesen tárgyalja a fent említett probiotikumok jótékony hatásaiban szerepet játszó valamennyi szempontot, felsorolva a felelős mikroorganizmusokat (Oliva-Teles (2012); Pérez-Sánchez és mtsai. (2014); Etyemez és Balcazar (2015); Ringø és mtsai. (2020); Wuertz és mtsai. (2021); Medina-Félix és mtsai. (2022).

A PROBIOTIKUMOK ALKALMAZÁSI MÓDSZEREI

Az alkalmazási mód megválasztása olyan tényezőktől függ, mint a felhasznált probiotikum, a kiegészítés formája és vektora, az adagolási szint és az alkalmazás időtartama (Ringø és mtsai. 2020). Bidhan és mtsai. (2014) azonban más logikát alkalmaztak a probiotikumok osztályozására, amely szintén indokolt lehet. A Ringø és mtsai. (2020) által alkalmazott osztályozást követve a módszereket az alábbiakban ismertetjük.

- Az étrenden keresztül történő bejuttatás a legszeleesebb körben alkalmazott módszer. A probiotikumok (valamint a para- és poszbiotikumok) a takarmányba adagolva vagy az akvárium, illetve a tó vízéhez adva biztosíthatják a fertőzés elleni védelmet. Hangsúlyozni kell, hogy bár a para- és poszbiotikumok

fogalma még nincs jól definiálva, egyelőre a Nataraj és mtsai. (2020) által adott alábbi meghatározások fogadhatók el. Szerintük a poszbiotikumok a probiotikumok által termelt anyagcsere-termékek komplex keverékei, mint például enzimek, fehérjék, rövid szénláncú zsírsavak, vitaminok, biosurfaktánsok, aminosavak, peptidok, szerves savak stb. A paraprobiotikumok a probiotikumok inaktivált mikrobiális sejtjei, amelyek olyan sejtkomponenseket tartalmaznak, mint a peptidoglikánok, felületi fehérjék stb.) Ezeknek számos előnyük van a probiotikumokkal szemben, mint például a tiszta formában való elérhetőség) a könnyű előállítás és tárolás, és még valószínűbb, hogy csak a célzott válaszokat váltják ki specifikus ligandum-receptor kölcsönhatások révén. Vargas-Albores és mtsai. (2021) áttekintik a halak bélmikrobiótájának terápiás modulációjában lehetséges módszereket, a probiotikumokra összpontosítva, de beleértve a fitogén (növényekből és kivonataiból származó) szerek használatát, amelyek szintén kedvező hatást mutattak.

- *A betegségek elleni egyéb alkalmazási módok közé tartozik a fürdetés és a probiotikumok hozzáadása a vízhez.* Austin és mtsai. (1995) megállapították, hogy a *Vibrio alginolyticus* probiotikus törzs oldataiban való fürdés hatékonyan csökkentette az *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* és *Vibrio ordalii* által okozott lazacbetegségeket. Gram és mtsai. (1999) szerint a *Vibrio anguillarum* *Pseudomonas fluorescens* AH2 általi gátlása hatásosnak bizonyult, amikor szivárványos pisztránggal tesztelték. A luminózus *Vibrio* fajok elleni védekezés sikeres volt antibiotikum-termelésre képes probiotikus *Bacillus* alkalmazásával tavakban (Moriarty 1998). Spanggaard és mtsai. (2001) a szivárványos pisztráng őshonos mikroflórájának antibakteriális tulajdonságait vizsgálták, és megállapították, hogy összesen 1018 baktérium és élesztő izolálható tryptone szója agaron (TSA) a bőrből, kopolyúból és bélből. Ezek közül negyvenöt gátolta a *Vibrio anguillarum* halpatogén baktérium növekedését diffúziós vizsgálatban. Az antagonizmus a *Pseudomonas* spp. körében volt a legkiemelkedőbb, mivel az antagonista baktériumok 66%-a ehhez a nemzetséghez tartozott, annak ellenére, hogy a teljes vizsgált flórának csak 15%-át alkották. A vibriózissal fertőzött szivárványos pisztráng túlélését 13-43%-kal javította az in vivo vizsgált kilenc antagonista törzsből hat. Arra a következtetésre jutottak, hogy az élő baktériumkultúrák hozzáadása a halnevelő vízhez javíthatja a halak túlélését, azonban az in vitro antagonizmus nem tudta teljes mértékben előre jelezni az in vivo hatást. Gram és mtsai. (2001) hasonló következtetésre jutottak, amikor a bélbaktériumok kórokozókra gyakorolt antagonista hatását vizsgálták atlanti lazacban. A *P. fluorescens* AH2 törzset használva, egy olyan törzset, amely erős in vitro gátló hatást mutat az *A. salmonicidával* szemben, de az *A. salmonicidával* való együttélő fertőzés az atlanti lazacban nem eredményezett semmilyen hatást a furunkulózissal kapcsolatos mortalitásra. Mirbakhsh és mtsai. (2021) kísérletében a *Litopenaeus vannamei* fehér garnélarák lárváit a nevelővízben *Bacillus subtilis* ISO2 probiotikummal egészítették ki a túlélési arány javítása érdekében. Az összes baktérium és a feltételezett *Vibrio* számszerűen csökkent, és a posztlárva vitalitásának jelentős növekedése volt megfigyelhető.

- *Az adagolás időzítése lehet folyamatos vagy rendszeres időközönként történő.* A legtöbb vizsgálatban a halak folyamatos etetését alkalmazták, széles időintervallumban, 15 és 94 nap között váltakozva (Hai 2015). A probiotikumok folyamatos alkalmazásával kapcsolatban nagyon kevés eredmény született, így arra a fontos kérdésre, hogy tartósan kolonizálhatóvá válhatnak-e a bélben, még nem lehet választ adni.

- *Több probiotikum kombinált adása vagy ilyen több törzset tartalmazó termékek alkalmazása azzal az előnyvel jár, hogy a betegségek és fajok szélesebb körével szemben aktívak* (Safari és mtsai. 2017; Costa és mtsai. 2021). A probiotikumok prebiotikumokkal és/vagy növényi

termékekkel való együttes alkalmazása szintén elterjedt (Akther és mtsai. 2017). Dawood és mtsai. (2017) szintén a „szinbiotikumok” kifejezést használják a probiotikumokat és prebiotikumokat egyaránt tartalmazó termékekre, és tárgyalják a prebiotikumok élő mikroorganizmusokra gyakorolt szinergikus hatását. A halak takarmányozásában a fruktooligoszacharid (FOS), a mannán oligoszacharid (MOS) és az inulin prebiotikumként való alkalmazására irányuló közelmúltbeli kísérletek hosszú távú egészségügyi előnyöket és fokozott növekedést eredményeztek (Cerezuela és mtsai. 2013; Hoseinifar és mtsai. 2014; Dawood és Koshio 2016; Ringø és Song 2016). Melo-Bolívar és munkatársai (2021) a Scopus, a Web of Science és a PubMed szakirodalmi keresésein alapuló szisztematikus áttekintést készítettek, 81 cikket értékelve a többféle gabonából álló probiotikum-kiegészítésről. A cikkek többsége különböző előnyöket mutatott ki, többek között a halak növekedési teljesítményének, immunválaszának és egyes patogén baktériumokkal szembeni ellenállóképességének fokozását, azonban csak 13 folyóiratcikk tartalmazott kontrollként monostrain probiotikumot, amely lehetővé tette volna a probiotikus baktériumkeverékkel való közvetlen összehasonlítást. Arra a következtetésre jutottak, hogy növelni kell a szigorú és fakultatív autochton anaerobok probiotikumként való potenciális felhasználásával kapcsolatos vizsgálatok számát, és mivel a vizsgált folyóiratcikkekben szereplő tanulmányok többsége laboratóriumi méretekben készült, nagy szükség van a halgazdaságokban elért eredményekre.

- *Az élő takarmány felhasználása a probiotikumok kapszulázásához hatékony módszernek bizonyult, mivel a probiotikumok még az élő takarmányon is képesek elszaporodni.* Az élő takarmányok, például Rotiferák (Gatesoupe 1997), Copepodák (Sun és mtsai. 2013), *Artemia* (Gatesoupe 1994; Hai és mtsai. 2010b; Daniels és mtsai. 2015) probiotikumokkal való dúsítása sikeresnek bizonyult. A fűrészes sügérben, az *Epinephelus coioides* lárvája Copepod (*Pseudodiaptomus annandalei*) a *Bacillus* spp. probiotikumok megfelelő vektora (Sun és mtsai. 2013).

- *A vízminőség javítása különösen a Bacillus fajokhoz köthető, mivel a gram-pozitív baktériumok jobban alakítják vissza a szerves anyagot széndioxidá, mint a gram-negatívok.* Dalmin és mtsai. (2001) megállapították, hogy a gram-pozitív baktériumok magas szintje minimálisra csökkentheti az oldott és a formált szerves szén felhalmozódását, és a *Bacillus* fajok alkalmazása javította a vízminőséget, a túlélési és növekedési arányokat, valamint a fiatal *Penaeus monodon* egészségi állapotát. Hu és mtsai. (2022) megállapítása szerint a magmikrobiom (core microbiome) részt vesz a nitrit eltávolításában a garnélás tavakban. Eredményeik azt mutatták, hogy a garnélarákok eutróf vízében a magmikrobiom, beleértve a Flavobacteriaceae és Rhodobacteraceae fajokat, valamint más denitrifikátorokat, fontos szerepet játszik a nitritcik-

lusban és az akvakultúra-rendszer egészségének fenntartásában. Bidhan és mtsai. (2014) sokkal részletesebben tárgyalják a „vízi probiotikumok” témáját, és a szakirodalomban találtakat „bioaugmentáció”, „bioremediáció” és „bioreporterek” néven csoportosítják, ez utóbbit olyan élőlénycsoportokra, amelyek viselkedése, növekedése, túlélése és szövettani változásai nyomon követhetők a környezeti változások értékelésekor. Jiang és mtsai. (2021) az amurból (*Ctenopharyngodon idella*) izoláltak erősen antagonistá Aeromonas hydrophila fajt.

TUDOMÁNYOS ÉS TECHNIKAI ÚJDONSÁGOK A PROBIOTIKUM-KUTATÁSBAN

A metagenomika fényt deríthet a mikrobiom közösség szerkezetére és annak változásaira, a különböző baktériumtörzsek elkülönítésére és működésükre, ami a legkülönbözőbb vizsgálatokban kulcsfontosságú. A génapu molekuláris eszközök, mint a 16S rRNS és a teljes genom szekvenálás, továbbá az újgenerációs szekvenálási (NGS) technológia, beleértve az amlikon és shot-gun megközelítéseket is, bioinformatikai ismeretekkel együtt lehetővé tették a komensális mikrobiom fajszintű megszámlálását és osztályozását (Diwan és mtsai. 2021). Yukgehnaish és mtsai. (2020) részletes áttekintést adnak a bélmikrobiomot befolyásoló tényezőkről és azoknak a halakban betöltött élettani szerepéről, kitérve a prebiotikumok szerepére és

az antibiotikumok használatának következményeire is. A metagenomika hatékony eszközöket kínál a mikrobiális diverzitás megértéséhez a prokarióták esetében a 16S rDNS hipervariábilis régióinak, az eukarióták esetében pedig a 18S rDNS hipervariábilis régióinak vizsgálatával (Hugerth és mtsai. 2014). A metagenomikát alkalmazó mikrobiomkutatás főbb területeit az 1. táblázatban foglaljuk össze össze.

A legmodernebb genetikai és biotechnológiai technológiák alkalmazása sürgős feladatnak tekinthető a globális akvakultúra számára a súlyos jóléti, környezeti és gazdasági problémákat okozó betegségek és parazitizmus elleni küzdelem fokozása érdekében. Robinson és mtsai. (2022) holisztikus megközelítésben tárgyalják ezt a kérdést, bemutatva a lazacfélék tengeri tetűfertőzésének és a garnélarák fehérhólyos szindrómájának esettanulmányait. Összefoglalják a lehetséges alkalmazásokkal rendelkező, olyan korszerű -omikai technológiákat, mint a GWAS /genom-széles körű asszociációs vizsgálatok/, scRNA /Single-cell RNS szekvenálás/, snRNA /Single-nuclei RNS szekvenálás/, CHIA-PET, kromatin kölcsönhatás-elemzés páros végű tag-szekvenálással; ATACseq /transzpozázal hozzáférhető kromatin vizsgálata nagy áteresztőképességű szekvenálással/, CHIPseq /kromatin immunprecipitációs szekvenálás/, WGBS /az egész génállomány biszulfitos szekvenálás/, és RRBS /csökkentett reprezentációjú biszulfitos szekvenálás/

1. táblázat

Főbb metagenomikai területek a mikrobiomkutatásban

Kutatási terület	Módszertan/eredmények	Forrás
Baktériumközösségek antibiotikum-rezisztenciájának értékelése – általános irodalmi áttekintések	Specifikus és multiplex PCR, real-time PCR, DNA szekvenálás és hibridizáció-alapú technikák. 9+6 ARG kimutatása bélben, kopoltyúlemezekon és nyálkahártyán qPCR módszerrel tengeri halnevelő telepen	<i>Schmieder and Edwards (2012); Zhang et al. (2009)</i> <i>Zhang et al. (2022)</i>
Metagenomikus módszerekkel vizsgált virológia általános és akvakultúra témakörű áttekintések	Vírusszerű részecskék (VLPs) számolása epifluoreszcens mikroszkópiás módszerek és transzmissziós electron mikrográfokon. <i>In silico</i> kutatás, BLAST program és human patogén vírus adatbázisok, Illumina Genome Analyzer. Több, mint 100 vírus genom szekvenálása és genetikai jellemzése tenyésztett víziállatokban	<i>Rosário et al. (2009)</i> <i>Bibby et al. (2011)</i> <i>Zhang and Gui (2015)</i>
Baktériumközösségek szezonális dinamikájának vizsgálata	Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of 16S rRNA gén fragmentumok denaturáló gradiens gél elektroforézise, fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció a fágterápia alkalmazásának meghatározására. 16S rDNA V4 hipervariábilis régió a mikrobiális közösség összetételének meghatározására. Az eredmények alapján évszakos változások és a szennyvízterhelés együttesen alakítják a mikrobiális közösségeket.	<i>Pereira et al. (2011)</i> <i>Wang et al. (2019)</i>
Patogén baktériumok abszolút mennyiségi meghatározása	Digitális PCR. ATaqMan® teszt alkalmazása a multiplex vizsgálati módszerek kifejlesztésére patogén baktériumok egyidejű számszerű meghatározására.	<i>Netzer et al. (2021)</i>
Probiotikus baktériumtörzsek jellemzése: biztonság, DNS ujjlenyomat, bakteriocinogén hatás	<i>Pediococcus acidilactici</i> törzsek enterobakteriális repetitív intergénikus konszenzus-PCR (ERIC-PCR) ujjlenyomatok általi csoportosítása. Két bakteriogénikus törzs azonosítása.	<i>Araújo et al. (2016)</i>

megfelelő a gazdaszervezet rezisztencia genetikai alapjainak feltárására. A génszerkesztés alkalmazását és a szemikémiai szerek alkalmazását, valamint a vakcinázást is értékeli a közel hétszáz hivatkozást idéző áttekintésükben. A halak mikrobiomjának és a gazda-mikrobák közötti kölcsönhatások jobb megértését és fejlesztését segítő biotechnológiai megközelítések jelenlegi ismeretanyagát Luna és mtsai. (2021) tárgyalják. Áttekintésük a gnotobiotikus halakkal, az in vitro és ex vivo manipulációval és a székletanyag-átültetéssel kapcsolatos kutatások fontos kérdéseit tartalmazza.

KÖVETKEZTETÉSEK

A mikrobiom fajdiverzitása nemcsak az állatok számos egészségügyi problémájával, hanem az anyagcserével, a növekedéssel és a szaporodással is összefügg. A mikrobiomkutatás fejlődése minden bizonnyal új lehetőségeket biztosít az akvakultúrában alkalmazott probiotikumok, prebiotikumok és poszbiotikumok megismerése és alkalmazása előtt. Az új termékek és módszerek jelentősen megváltoztathatják a helyes gyakorlatot számos területen, és új, „kék” korszakot nyithatnak a fenntartható fejlődésben.

A folyamatban lévő kutatások nagy része a betegségek és a mikrobafajok egyes taxonjai közötti kapcsolat megértését célozza a bélmikrobióta összetételének optimalizálása és a betegségek enyhítése érdekében. Természetesen további kutatásokra is szükség van a mikrobiom összetételével kapcsolatban, értékelve a fajgazdagság függését a technológia és a környezet különböző tényezőitől. A génalapú molekuláris eszközök, mint a DNS-szekvenálás és az NGS-technológia elérhetősége a bioinformatikai ismeretekkel együtt lehetővé teszi a kommenzuális mikrobiom osztályozását. A bélmikrobák, amelyekről kimutatták, hogy pozitív hatást gyakorolnak az egészségre, probiotikum-jelöltként használhatók.

A halak mikrobiomjának kutatása a leíró korszakból a kísérleti, manipulatívabb megközelítések felé halad. A termelés javítása és a termelési kockázatok jelentős csökkentése érdekében azonban szükség van a leíró jellegű vizsgálatok hatékony integrálására a legújabb, olyan módszereken alapuló vizsgálatokkal, mint az in vitro bélszimulátorok, a szintetikus mikrobiális közösségek, valamint a továbbfejlesztett in vitro és in vivo rendszerek. A mikrobiom összetételének és funkcionális változásainak, valamint az egészségre és biztonságra gyakorolt hatásainak teljesebb megértése továbbra is cél marad. E megközelítés jótékony hatásai minden bizonnyal javítják a gyakorlatot olyan területeken, mint az újszerű takarmánytervezés, az antibiotikum rezisztencia, valamint a kórokozók elleni kezelések. Az akvakultúrában jelentős fajok mikrobiomjának jobb megismerése hozzájárul a fenntarthatóbb, kisebb környezeti lábnyomú technológiai változatok megvalósításához.

Köszönetnyilvánítás:

Ezt a munkát az Emberi Erőforrások Minisztériuma támogatta (EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005).

társfinanszírozásával valósult meg.

*Jelen cikk a „Hancz, C (2022) Application of probiotics for environmental-friendly and sustainable aquaculture”, (a Sustainable Water Management folyóirathoz benyújtott) c. kézirat anyagának újraserkesztett, kiegészített változata.

IRODALOM

Abdalkareem S, Walid J, Abdelbasset K, Shichiyakh RA, Al-Shawi SG, Yasin G, Jalil AT, Karim YS, Mustafa YF, Norbakhsh M (2022) Probiotic effects of the fungi, *Aspergillus niger* on growth, immunity, haematology, intestine fungal load and digestive enzymes of the common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Research*, 53(10) 3828-3840. <https://doi.org/10.1111/are.15887>

Akhter N, Wu B, Memon AM, Mohsin M (2015). Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), 733–741. doi:10.1016/j.fsi.2015.05.038

Aliko V, Qirjo M, Sula E, Morina V, Faggio C (2018) Antioxidant defense system, immune response and erythron profile modulation in goldfish, *Carassius auratus*, after acute manganese treatment. *Fish & Shellfish Immunology* 76: 101–109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2018.02.042>

Anonymous (2021) Harness the world's aquatic 'blue' food systems to help end hunger. *Nature*.597(7876):303. doi:10.1038/d41586-021-02476-9.

Araújo C, Muñoz-Atienza E, Poeta P, Igrejas G, Hernández PE, Herranz C, Cintas LM (2016) Characterization of *Pediococcus acidilactici* strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed and larvae: safety, DNA fingerprinting, and bacteriocinogenicity. *Dis Aquat Organ.*;119(2):129-43. doi: 10.3354/dao02992. PMID: 27137071.

Austin B, Stuckey LF, Robertson PAW, Effendi I, Griffith DRW (1995) A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *Journal of Fish Diseases*, 18(1), 93–96. doi:10.1111/j.1365-2761.1995.tb01271.x

Avadí A, Pelletier N, Aubin J, Ralite S, Núñez J, Fréon P (2015) Comparative environmental performance of artisanal and commercial feed use in Peruvian freshwater aquaculture. *Aquaculture*, 435(0), 52–66. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.08.001

Balcázar JL, de Blas I, Ruiz-Zarzuela I, Cunningham D, Vendrell D, Múzquiz JL (2006) The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*, 114(3-4), 173–186. doi:10.1016/j.vetmic.2006.01.009

- Bharathi S, Antony, C, Rajagopalasamy CBT, Arumugam U, Ahilan B, Aanand S (2019). Functional feed additives used in fish feeds. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7(3), 44-52.
- Bibby K, Viau E, Peccia J (2011) Viral metagenome analysis to guide human pathogen monitoring in environmental samples. *Lett Appl Microbiol*. 52(4):386-92. doi: 10.1111/j.1472-765X.2011.03014.x.
- Bidhan CDe, Meena DK, Behera BK, Das BK, Pronob Das, Das Mohapatra PK, Sharma AP (2014) Probiotics in fish and shellfish culture: immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiol Biochem* 40, 921–971. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9897-0>
- Brandão RL, Castro IM, Bambirra EA, Amaral SC, Fietto LG, Tropia MJ et al. (1998) Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol* 64: 564–568.
- Burić M, Bavčević L, Grgurić S, Vresnik F, Križan J, Antonić O 2020. Modelling the environmental footprint of sea bream cage aquaculture in relation to spatial stocking design, *Journal of Environmental Management*, Volume 270, 110811, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110811>.
- Carbone D, Faggio C (2016) Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish & Shellfish Immunology* 54: 172–178. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2016.04.011>
- Cerezuela R, Fumanal M, Tapia-Paniagua ST, Meseguer J, Moriñigo MÁ, Esteban, MÁ (2013) Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(5) 1063–1070. doi:10.1016/j.fsi.2013.01.015
- Chauhan A, Singh R (2019) Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach. *Symbiosis* 77, 99–113. <https://doi.org/10.1007/s13199-018-0580-1>
- Costa L, Lima J, Siqueira A, da Silva E, Lima V, da Silva L, da Silva S, Santos T, Fugimura M, Vaz L, Marcusso P, Claudiano G (2021). Effect of multi-species probiotic administration in *Colossoma macropomum* juvenile rearing: supplementation and bioremediation. *Aquaculture Nutrition*, 0, -. doi:10.1111/anu.13309
- Council for Agricultural Science and Technology (CAST). 2007 Probiotics: Their Potential to Impact Human Health. Issue Paper 36. CAST, Ames, Iowa. <https://www.cast-science.org/new-cast-issue-paper-heralds-health-benefits-of-live-microorganisms/>
- Dalmin G, Kandasamy K, Purushothaman A (2001) Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. *Indian Journal of Experimental Biology*, 39(9):939-42.
- Daniels CL, Merrifield DL, Ringø E, Davies SJ (2015) Probiotic, prebiotic and synbiotic applications for the improvement of larval European lobster (*Homarus gammarus*) culture. *Aquaculture* 416-417, 39-6406. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.001>
- Das S, Mondal K Haque S (2017) A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable development of aquaculture. *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 5(2): 422-429. Available online at www.entomoljournal.com
- Dawood MAO, Koshio, S, Abdel-Daim MM, Van Doan H (2018) Probiotic application for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, doi:10.1111/raq.12272
- Dawood, MAO, Koshio S (2016) Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review. *Aquaculture*, 454 243–251. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.12.033
- Dawood, MAO, Koshio S, Esteban MÁ (2017) Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 0, (1-25) doi:10.1111/raq.12209
- Diwan AD, Sanjay N, Harke SN, Gopalkrishna, Panche AN (2021) Aquaculture industry prospective from gut microbiome of fish and shellfish: An overview. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*,00:1-29, doi:10.1111/jpn.13619
- Dossou S, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S, Dawood MAO, El Basuini MF, Zaineldin Amr I (2018a) Growth performance, blood health, antioxidant status and immune response in red sea bream (*Pagrus major*) fed *Aspergillus oryzae* fermented rapeseed meal (RM-Koji). *Fish & Shellfish Immunology* 75: 253– 262. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2018.01.032>
- Dossou S, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S, Dawood MAO, El Basuini MF, El-Hais, Abdelaziz Mohammed A, Adissin O (2018) Effect of partial replacement of fish meal by fermented rapeseed meal on growth, immune response and oxidative condition of red sea bream juvenile, *Pagrus major*. *Aquaculture*, S0044848617322652–. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.02.010
- Dulski T, Kozłowski K, Ciesielski S (2020) Habitat and seasonality shape the structure of tench (*Tinca tinca* L.) gut microbiome. *Sci. Rep.* 10, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61351-1>
- El-Saadony MT, Alagawany M, Patra AK et al. (2021) The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish & Shellfish Immunology* (117) 36-52. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.007>.
- Elsayed A, Abada A, ElWakeli ASK, Mohamed R, Fadl AEA (2022) Effects of probiotic (Sanolife PRO-W) application on benthic meiofauna and Nile tilapia growth performance in earthen ponds. *Aquaculture Research*, 53(7): 2708-2723. <https://doi.org/10.1111/are.15788>

- Eroldoğan OT, Glencross B, Novoveska L et al. (2022) From the sea to aquafeed: A perspective overview. *Reviews in Aquaculture*. <https://doi.org/10.1111/raq.12740>
- Etyemez M, Balcázar JL (2015) Bacterial community structure in the intestinal ecosystem of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16S rRNA genes. *Res. Veter. Sci.*, 100, 8–11. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.03.026>
- Ezendam, J. and van Loveren, H. (2006) Probiotics: immunomodulation and evaluation of safety and efficacy. *Nutrition Reviews*, Vol. 64, No. 1, pp. 1-14 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2006.tb00168.x>
- FAO/WHO (2001) Report of a joint FAO/WHO expert consultation on the evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina. URL: http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/legisl_en.htm
- FAO (2020) The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Felis GE, Dellaglio F, Torriani S (2009) Taxonomy of Probiotic Microorganisms. Ch. 15 (591-639) in *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*, Dimitris Charalampopoulos, Robert A. Rastall (Eds.) Springer Science+Business Media, Print and electronic bundle under ISBN 978-0-387-79059-6
- Fry JP, Love DC, MacDonald GK, West PC, Engstrom PM, Nachman KE, Lawrence RS (2016) Environmental health impacts of feeding crops to farmed fish. *Environment International*, Volume (91): 201-214. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.02.022>
- Fry JP, Mailloux NA, Love DC, Milli MC, Cao L (2018) Feed conversion efficiency in aquaculture: Do we measure it correctly? *Environmental Research Letters*, 13(2), [024017]. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aaa273>
- Gatesoupe F-J (1994) Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic vibrio. *Aquatic Living Resources*, 7, 277-282. <https://doi.org/10.1051/alr:1994030>
- Gatesoupe F-J, Zambonino Infante J-L, Cahu C, Quazuguel P, (1997) Early weaning of seabass larvae, *Dicentrarchus labrax*: the effect on microbiota, with particular attention to iron supply and exoenzymes, *Aquaculture*, Volume 158, 1–2: 117-127. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00179-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00179-8)
- Gram L, Løvold T, Nielsen J, Melchiorsen J, Spanggaard, B. (2001) In vitro antagonism of the probiotic *Pseudomonas fluorescens* strain AH2 against *Aeromonas salmonicida* does not confer protection of salmon against furunculosis. *Aquaculture*, 199, 1–11.
- Gram L, Melchiorsen J, Spanggaard Bettina, Huber I, Nielsen TF (1999) Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a Possible Probiotic Treatment of Fish. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 969–973. doi:10.1128/aem.65.3.969-973.1999
- Guardiola FA, Porcino C, Cerezuela R, Cuesta A, Faggio C, Esteban MA (2016) Impact of date palm fruits extracts and probiotic enriched diet on antioxidant status, innate immune response and immune-related gene expression of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish & Shellfish Immunology* 52: 298–308. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2016.03.152>
- Hai NV (2015) The use of probiotics in aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 917–935. doi:10.1111/jam.12886
- Hai NV, Buller N, Fotedar R (2010) Encapsulation capacity of *Artemia nauplii* with customised probiotics for use in the cultivation of western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). *Aquac Res* 41, 893–903.
- Hoseinifar SH, Ringø E, Shenavar Masouleh A, Esteban MA (2014) Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture* 8(1): 89–102. <https://doi.org/10.1111/raq.12082>
- Hugerth LW, Muller EE, Hu YOO, Lebrun LAM, Roume Hugo, Lundin D, Wilmes P, Andersson A F, Voolstra CR (2014) Systematic Design of 18S rRNA Gene Primers for Determining Eukaryotic Diversity in Microbial Consortia. *PLoS ONE*, 9(4), e95567– doi:10.1371/journal.pone.0095567
- Huynh T-G, Shiu Y-L, Nguyen T-P, Truong Q-P, Chen J-C, Liu C-H (2017) Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 64: 367-382. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.035>
- Infante-Villamil S, Huerlimann R, Jerry DR (2020) Microbiome diversity and dysbiosis in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. <https://doi.org/10.1111/raq.12248>
- Jiang M, Zhang W, Luo L, Tang X, Li Y, Yu X, Wu Z (2021) Effects of *Bacillus methylotrophicus* WM-1 on water quality dynamics and cultured fish in grass carp culture system. *Aquaculture Research*. doi:10.1111/are.15182
- Kuebutornye FKA, Wang ZW, Lu YS, Abarike ED, Sakyi ME, Li Y, Xie CX, Hlordzi (2020) Effects of three host-associated *Bacillus* species on mucosal immunity and gut health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and its resistance against *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish Shellfish Immunol.* 97, 83–95. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.046>
- Li X, Ringø E, Hoseinifar SH, Lauzon Hélène L, Birkbeck H, Yang, D (2018) The adherence and colonization of microorganisms in the fish gastrointestinal tract. *Reviews in Aquaculture*, doi:10.1111/raq.12248
- Limbu SM, Chen Li-Qiao, Zhang Mei-Ling, Du Zhen-Yu (2020) A global analysis on the systemic effects of antibiotics in cultured fish and their potential human health risk: a review. *Reviews in Aquaculture*, (1–45). doi:10.1111/raq.12511

- Liu H, Guo X, Gooneratne SR, Lai R, Zeng C, Zhan F, Wang W (2016) The gut microbiome and degradation enzyme activity of wild freshwater fishes influenced by their trophic levels. *Sci. Rep.* 6, 24340. <https://doi.org/10.1038/srep24340>
- Luna GM, Quero GM, Kokou F, Kormas K. (2022) Time to integrate biotechnological approaches into fish gut microbiome research. *Curr Opin Biotechnol.* 73:121-127. doi: 10.1016/j.copbio.2021.07.018.
- MarketsandMarkets, 2022 https://www.marketsandmarkets.com/Market-reports/probiotics-animal-feed-market-85832335.html?gclid=CjoKCQjwgO2XBhCaARIsANrW2XO5sm_K-syc4SgtJ3LsfMBD88VuMx4zo2rS_cAPX1IYzwl9P2tWTYAsOVEALw_wcB
- Medina-Félix D, Garibay-Valdez E, Vargas-Albores F, Marcel Martínez-Porchas M (2022) Fish disease and intestinal microbiota: A close and indivisible relationship. *Reviews in Aquaculture.* <https://doi.org/10.1111/raq.12762>
- Melo-Bolívar JF, Ruiz Pardo RY, Hume ME, Villamil Díaz LM (2021) Multistrain probiotics use in main commercially cultured freshwater fish: a systematic review of evidence. *Reviews in Aquaculture.* 1-23. doi:10.1111/raq.12543
- Mirbakhsh M, Mahjoub M, Afsharnasab M; Kakoolaki S, Sayyadi M, Hosseinzadeh S (2021) Effects of *Bacillus subtilis* on the water quality, stress tolerance, digestive enzymes, growth performance, immune gene expression, and disease resistance of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during the early hatchery period. *Aquaculture International*, doi:10.1007/s10499-021-00758-7
- Mohapatra S, Chakraborty T, Kumar V, DeBoeck G, Mohanta KN. (2013) Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 97(3):405-30. doi: 10.1111/j.1439-0396.2012.01301.x
- Montalban-Arques A, De Schryver P, Bossier P, Gorkiewicz G, Mulero V, Gatlin DM III and Galindo-Villegas J (2015) Selective manipulation of the gut microbiota improves immune status in vertebrates. *Front. Immunol.* 6:512. doi: 10.3389/immu.2015.00512
- Moriarty DJW (1998) Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164(1-4), 0–358. doi:10.1016/s0044-8486(98)00199-9
- Mukherjee A, Dutta D, Banerjee S, Ringø E, Breines EM, Hareide E, Chandra G, Ghosh K (2016) Potential probiotics from Indian major carp, *Cirrhinus mrigala*. Characterization, pathogen inhibitory activity, partial characterization of bacteriocin and production of exoenzymes, *Research in Veterinary Science*, 108: 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.08.011>.
- Nataraj, BH, Ali SA, Behare PV, Yadav, H (2020) Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microb Cell Fact* 19, 168 (2020) <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01426-w>
- Nayak SK, Mukherjee SC (2011) Screening of gastrointestinal bacteria of Indian major carps for a candidate probiotic species for aquaculture practices. *Aquaculture Research*, 42(7), 1034–1041. doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02686.x
- Netzer R, Ribičić D, Aas M, Cavé L, Dhawan T (2021) Absolute quantification of priority bacteria in aquaculture using digital PCR. *Journal of Microbiological Methods*, Volume 183, 106171, <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106171>.
- Newaj-Fyzul A, Al-Harbi AH, Austin B (2014) Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*, (431) 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.026>.
- Oliva-Teles A (2012) Nutrition and health of aquaculture fish. 35(2), 83–108. doi:10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x
- Pandiyan P, Balaraman D, Thirunavukkarasu R, George EGJ, Subaramaniyan K, Manikkam S, Balamurugan Sadayappan B (2013) Probiotics in aquaculture, *Drug Invention Today*, Volume 5, Issue 1, Pages 55-59, <https://doi.org/10.1016/j.dit.2013.03.003>
- Pereira WA, Mendonça CMN, Urquiza AV, Þór Marteinsson V, LeBlanc JG, Cotter PD, Figueroa Villalobos E, Romero J, Oliveira RPS (2022) Use of Probiotic Bacteria and Bacteriocins as an Alternative to Antibiotics in Aquaculture. *Microorganisms* 2022, 10(9), 1705; <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091705>
- Pérez-Sánchez T, Ruiz-Zarzueta I, de Blas I, Balcázar JI (2014) Probiotics in aquaculture: a current assessment. *Reviews in Aquaculture*, 6(3), 133–146. doi:10.1111/raq.12033
- Pérez-Sánchez T, Mora-Sánchez B, Balcázar JL (2018) Biological Approaches for Disease Control in Aquaculture: Advantages, Limitations and Challenges. *Trends in Microbiology*, S0966842X18301069 doi:10.1016/j.tim.2018.05.002
- Ran C, Huang L, Liu Z, Xu L, Yang Y, Tacon P, Auclair E, Zhou, Z (2015) A Comparison of the Beneficial Effects of Live and Heat-Inactivated Baker's Yeast on Nile Tilapia: Suggestions on the Role and Function of the Secretory Metabolites Released from the Yeast. *PLOS ONE*, 10(12), e0145448. doi:10.1371/journal.pone.0145448
- Ringø E, Song SK (2016) Application of dietary supplements (synbiotics and probiotics in combination with plant products and β-glucans) in aquaculture. *Aquaculture Nutrition* 22 (1): 4–24. <https://doi.org/10.1111/anu.12349>
- Ringø E, Van Doan H, Lee SH, Soltani M, Hoseinifar SH, Harikrishnan R, Song SK (2020) Probiotics, lactic acid bacteria, and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, (), jam.14628–. doi:10.1111/jam.14628
- Safari O, Paolucci M, Motlagh HA (2017) Effects of synbiotics on immunity and disease resistance of narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Fish Shellfish Immunol* 64, 392–400. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.049>

- Sahoo TK, Kumar T, Prasant Kumar J, Patel, Kumar A, Sriram S (2014) Bacteriocins and their applications for the treatment of bacterial diseases in aquaculture: a review. *Aquaculture Research*, 1-15. doi:10.1111/are.12556
- Schmieder R, Edwards R (2012) Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. *Future Microbiol.* 7(1):73-89. doi: 10.2217/fmb.11.135
- Servin, A. (2004) Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *Microbiology Reviews*, Vol. 28, pp. 405–440, ISSN 0168-6445
- Servin, L. and Coconnier, M. (2003) Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, Vol. 17, pp.741–754, ISSN 1521-6918
- Spanggaard B, Huber I, Nielsen J, Sick EB, Pipper CB, Martinussen T, Slierendrecht WJ, Gram L (2001) The probiotic potential against vibriosis of the indigenous microflora of rainbow trout. *Environmental Microbiology*, 3(12), 755–765. doi:10.1046/j.1462-2920.2001.00240.x
- Vargas-Albores F, Martínez-Córdova LR, Hernández-Mendoza A, Cicala F, Lago-Lestón A, Martínez-Porchas M (2021) Therapeutic modulation of fish gut microbiota, a feasible strategy for aquaculture? *Aquaculture*, 544. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737050>.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. & Verstraete, W. (2000) Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Review*, Vol. 64, No. 4, pp. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000>
- Wang C, Chuprom J, Wang Y, Fu L (2019) Beneficial bacteria for aquaculture: nutrition, bacteriostasis and immunoregulation. *Journal of Applied Microbiology*, *jam*.14383–. doi:10.1111/jam.14383
- Wang W, Ishikawa M, Koshio S, Yokoyama S, Dawood MAO, Zhang Y (2018) Effects of dietary astaxanthin supplementation on survival, growth and stress resistance in larval and post-larval kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture Research* 49: 2225–2232. <http://dx.doi.org/10.1111/are.13679>
- Wang Y, Liu Y, Wang J, Luo T, Zhang R, Sun J, Zheng Q, Jiao N (2019). Seasonal dynamics of bacterial communities in the surface seawater around subtropical Xiamen Island, China, as determined by 16S rRNA gene profiling. *Marine Pollution Bulletin*, 142: 135–144. doi:10.1016/j.marpolbul.2019.03.035
- Wuertz S, Schroeder A, Wanka KM (2021) Probiotics in Fish Nutrition—Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals? *Water*, doi:10.3390/w13101348
- Yukgehnaish K, Kumar P, Sivachandran P, Marimuthu K, Arshad A, Paray BA, Arockiaraj J (2020) Gut microbiota metagenomics in aquaculture: factors influencing gut microbiome and its physiological role in fish. *Reviews in Aquaculture*. doi:10.1111/raq.12416
- Zhang M, Hou L, Zhu Y, Zhang C, Li W, Lai L, Yang J, Li S, Shu H (2022) Composition and distribution of bacterial communities and antibiotic resistance genes in fish of four mariculture systems. *Environmental Pollution* 311, 119934, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119934>.
- Zhang Q, Gui JF (2015) Virus genomes and virus-host interactions in aquaculture animals. *Sci. China Life Sci.* 58, 156–169. <https://doi.org/10.1007/s11427-015-4802-y>
- Zhang XX, Zhang T, Fang HH (2009) Antibiotic resistance genes in water environment. *Appl Microbiol Biotechnol.* 82(3):397-414. doi: 10.1007/s00253-008-1829-z.
- Zhou X and Wang Y, (2012) Probiotics in Aquaculture – Benefits to the Health, Technological Applications and Safety Benefits to the Health, in Carvalho E (2012) *Health and Environment in Aquaculture*, 10.5772/2462 (Chapter 15), doi:10.5772/29037

Csukaikra termékenyítéséhez szükséges sperma mennyiségének meghatározása keltetőházi szaporítás során

Szabó Tamás, Molnár József, Müller Tamás*, Nyitrai Márk, Tóth Gábor, Ugrai Zoltán**, Szabó Krisztián***, Urbányi Béla

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő

* MATE, AKI, Természetesvízi Halökológiai Tanszék, Gödöllő

** Ráckevei Dunaági Horgász Szövetség, Ráckeve

*** Dinnyési Halgazdaság Kft., Dinnyés

Kivonat

A csukaivadék biztonságos előállításának alapja a faj keltetőházi, indukált szaporítása. A szaporítás során a tejes halakból csak kis mennyiségű sperma fejhető, ezért a termékenyítéshez szükséges tejet kioperált, szétdarabolt és sűrű szöveten átréselt heréből nyerik. A tej kinyerése a hímek feláldozását követeli, ezért fontos az eredményes termékenyítéshez minimálisan szükséges sperma mennyiségének meghatározása.

Célul tűztük ki a csukaikra termékenyítéséhez szükséges sperma mennyiségének meghatározását nagyüzemi szaporítás során. Kísérleteinket a Ráckevei Dunaági Horgász Szövetség és a Dinnyési Halgazdaság Kft. keltetőházában végeztük 2019. márciusában. Mindkét gazdaságban három – három nőténytől származó ikrát használtunk fel a kísérletekhez. A vizsgált sperma : ikra arányok a következők voltak: 10 ml, 5 ml, illetve 2,5 ml sperma : 1.000 gramm ikra. A kezeléseket két ismétlésben végeztük. Az ikra termékenyülési %-át 18 órával a szaporítást követően (szedericsíra fejlődési állapotban) határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy 1.000 g száraz állapotú csuka ikra 5 ml, illetve 10 ml spermával történő termékenyítése hasonló eredményt ad. Ha az ikrát csak 2,5 ml spermával termékenyítjük, akkor a termékenyülési % és így a szaporítás hatékonysága valamelyest csökken.

Bevezetés

A csuka Európa legelterjedtebb ragadozó hala. A kis-méretű, gazdasági szempontból kevésbé jelentős halfajok gyérítésével kedvező feltételeket teremt a természetes vizek hasznosításához. Klasszikus sporthal, horgásztavak népesítéséhez és egyéb horgászvizek halasításához kedvelt



1. ábra: A főzőpohárban összedarabolt heréből teaszűrő és porcelán törő segítségével nyerjük ki a spermát egy külön pohárba. A kiperéselt hereszövetet időnként eltávolítjuk a szűrőből (fénykép: Szabó Tamás)

Figure 1: Extraction of sperm from the crushed testicles in a beaker using a tea strainer and a porcelain pestle into a separate glass. The squeezed out testicular tissue is occasionally removed from the filter (photo: Tamás Szabó)

telepítő anyag. A csuka népesítése tógazdaságokban is indokolt. A táplálék konkurens, értéktelen halak fogyasztásával közvetve javítja a pontytenyésztés tógazdasági eredményeit. A csuka ökológiai és gazdasági jelentősége következtében egyik legkeresettebb ragadozó halunk. A különböző korosztályok előállításának alapvető feltétele a csuka szaporítása.

A csuka szaporítására több eljárást dolgoztak ki. Az elmúlt két évtizedben Magyarországon a faj keltetőházi, indukált szaporítása vált általánossá (Szabó, 2017). Eszerint a szaporítás minden lépését keltetőházban végzik tenyésztői felügyelet mellett. Az ikra mesterséges termékenyítésének, és az ezt követő műveleteknek a feltétele a száraz állapotú ivartermék kinyerése az anyahalakból. Keltetőházi környezetben, medencés tartás esetén a csuka ikrásokban a peteleválás nem következik be spontán módon. Ezért az ovuláció kiváltása, állományszintű szinkronizálása és tenyésztői igény szerinti ütemezése hormonális beavat-

A szaporítás helye:	Oltás időpontja / vízhőmérséklet	Fejés időpontja / vízhőmérséklet	Lefejt ikra mennyisége	Termékenyülés
Ráckeve	2019. március 21. / 8 °C	2019. március 25. / 12,4 °C	30 kg	75 %
Dinnyés	2019. március 24. / 12 °C	2019. március 28. / 10 °C	18 kg	71 %

1. táblázat: A csuka szaporításának adatai a ráckevei és a dinnyési halkeltetőben
Table 1: Basic data of northern pike breeding at the Ráckeve and Dinnyés Hatcheries

kozás útján történik. A tejes halakból a medencés érlelést követően csak kis mennyiségű tej fejhető. A termékenyítéshez szükséges spermát kioperált, szétdarabolt és sűrűszövési anyagon átpréselt heréből nyerik. Az eljárás a tejesek feláldozását követeli, ezért fontos az eredményes szaporításhoz feltétlenül szükséges tejesek számának meghatározása. Fentiek okán célul tűztük ki a csukaikra termékenyítéséhez szükséges sperma mennyiségének meghatározását keltetőházi körülmények között.

Anyag és módszer

Kísérleteinket a Ráckevei Dunaági Horgász Szövetség és a Dinnyési Halgazdaság Kft. keltetőházában végeztük 2019 márciusában. A kísérleteket mindkét keltetőben a csuka nagyüzemi szaporításával párhuzamosan hajtottuk végre. A szaporítás fontosabb adatait az 1. táblázat tartalmazza. A táblázatban feltüntetett adatokon kívül a szaporítás lépései és a kísérlet folyamata a két gazdaságban megegyeztek. A szaporításhoz felhasznált anyaghalakat az előző év őszen telettették be testtömegük két- háromszorosát kitevő mennyiségű takarmányhállal együtt. A jó kondícióban lévő anyaállomány egyedeinek tömege 1,0 és 5,0 kg között volt. Az anyaghalak keltetőházba szállítását egy nappal a hormonkezelés előtt végeztük el.

A tejesek hormonkezelése

Annak ellenére, hogy az ikra termékenyítéshez felhasznált spermát kioperált heréből nyertük, a tejes halak hormonkezelését is elvégeztük. A spermiáció serkentése acetonnal, kiszárított pontyhipofízissel történt 3,0 mg/kg dózisban. A 0,7 %-os NaCl-oldat felhasználásával készített homogenizátumot 0,5 ml/kg mennyiségben, egyszeri kezeléssel injektáltuk a halak testüregébe.

Az ikrások hormonkezelése

Az ikrások esetében a pontyhipofízis bejuttatásához -Szabó (2001, 2006) korábbi kísérleteit alapul véve- depó



2. ábra: 300 g-os ikratételekhez (a) 3,0 ml, 1,5 ml és 0,75 ml spermát mértünk ki fecskendő segítségével (b) (fénykép: Szabó Tamás)

Figure 2.: For 300 g batches of eggs (a), 3.0 ml, 1.5 ml and 0.75 ml of sperm were measured using a syringe (b) (photo: Tamás Szabó)

hatású vivőanyagot alkalmaztunk. Az ovuláció kiváltásához acetonnal, kiszárított pontyhipofízist használtunk 4 mg/kg dózisban. A hipofízist karbopol-hidrogélben homogenizáltuk. A 971P karbopol típus 2,5 %-os vizes diszperziója nyújtott hatóanyag-leadást biztosít a hasüregből, és ezáltal a hormon koncentrációja fokozatosan növekszik az ikrások keringési rendszerében. A csuka szaporodásbiológiai sajátosságaihoz (hidegvízi ívó) illeszkedő hormonkezelés jobb minőségű ikra ovulációját eredményezi.

Anyahalak beérlelése

Az anyahalak tartása és beérlelése zárt térben, 5 - 10 m³-es lefedett medencékben, átfolyó vízen történt. Az átfolyóvíz hőmérséklete a beérlelés alatt 8 - 12°C körül alakult (1. táblázat). A medence vizének átlagos oxigén koncentrációja az anyahalak beérlelése alatt 5 mg/l volt. Az egy medencében tartott halak száma 20 és 30 között változott. A két ivar beérlelése közös medencében történt, az ivararány hozzávetőlegesen 4 ikrás : 1 tejes volt. Az anyahalak bódítását minden „kézbevétele” (tömegmérés, hormonkezelés, fejés, tejesek leölése, stb.) megelőzően elvégeztük.

Az ivartermék kinyerése

Szaporításkor először az ikra termékenyítéséhez szükséges tejet nyertük ki a hímekből. Általában 3-4 nagyobb méretű nőtényre számoltunk egy tejest, melynek súlya kb. egy kilogramm volt. A herét a hasüregből éles olló segítségével eltávolítottuk. A kioperált lebenyekről papírtörülővel felitattuk a nedvességet, letöröltük a vért, majd főzőpohárba gyűjtöttük őket. A lebenyeket ollóval alaposan feldaraboltuk, hogy a hereszövetből minél több spermát nyerhessünk ki. A sperma kinyeréséhez nem a hagyományos eljárást alkalmaztuk (szöveten keresztül, közvetlen az ikra felszínére történő kipréselés). Tóth Gábor halászati szakmérnök javaslatára a feldarabolt heréből kis mennyiségeket fém teaszűrőbe öntöttünk, majd dörzsoszárhoz tartozó porcelán törővel a spermát finoman a szűrő alá helyezett főzőpohárba dörzsöltük (1. ábra). Miközben a haltej folyamatosan gyűlt a főzőpohárban, a kipréselt hereszövetet időnként eltávolítottuk a teaszűrőből és új, friss heredarabakkal öntöttük fel azt. Az eljárás gyors, tiszta, a mesterséges termékenyítés előtt elvégezhető, és a főzőpohárban összegyűjtött sperma mennyisége fecskendővel pontosan adagolható.

Az ikrát fejéssel nyertük a halaktól a hormonkezelést követő negyedik napon. Az ikrát minden egyes ikrástól külön tálba fejtük a nőtények altatását követően.

A termékenyítési kísérlet bemutatása

A kísérletek során a csukaikra termékenyítéséhez szükséges sperma optimális mennyiségét igyekeztünk meghatározni. Célunk volt, hogy a tesztekben „üzemi” mennyiségű ikratételeket termékenyítsünk, hogy az eredmények a keltetőházi gyakorlat számára is informatívak legyenek. Mindkét gazdaságban három – három nőténytől származó ikrát használtunk fel a kísérletekhez. A vizsgált sperma : ikra arányok a következők voltak: 10 ml, 5 ml, illetve 2,5 ml sperma : 1.000 gramm ikra. A kezeléseket két ismétlésben végeztük.

A kísérletekhez igyekeztünk olyan, viszonylag nagyobb méretű ikrásokat kiválogatni, amelyekről legalább 1.000 g ikrát tudunk fejni. Az egyes nőtényekből származó ikrából három tálba 300 g-os ikratételeket mértünk ki. Az egyes tételekhez 3,0 ml, 1,5 ml és 0,75 ml spermát mértünk ki fecskendő segítségével (2. ábra). Ez megfelelt a kísérleti tervben szereplő vizsgálni kívánt arányoknak. Ezt követően a száraz ivarterméket óvatosan összekevertük, majd 100 ml víz hozzáadásával aktiváltuk az ivarsejteket. Rövid keverés és duzzasztást követően 50 ml-es Falcon csőbe 200-300 ikraszemből álló mintát vettünk. Az ikra termékenyülési %-át 18 órával a szaporítást követően (szedercsíra fejlődési állapotban) határoztuk meg.

Statisztikai értékelés

A statisztikai értékelést SPSS for Windows 22v programcsomag segítségével végeztük el. Az ikratételek termékenyülésének (termékenyült ikraszemek száma vs. nem termékenyült ikraszemek száma) kiértékeléséhez a nem-paraméteres Kruskal-Wallis tesztet használtuk 5%-os szignifikancia szinten.

Eredmények és értékelésük

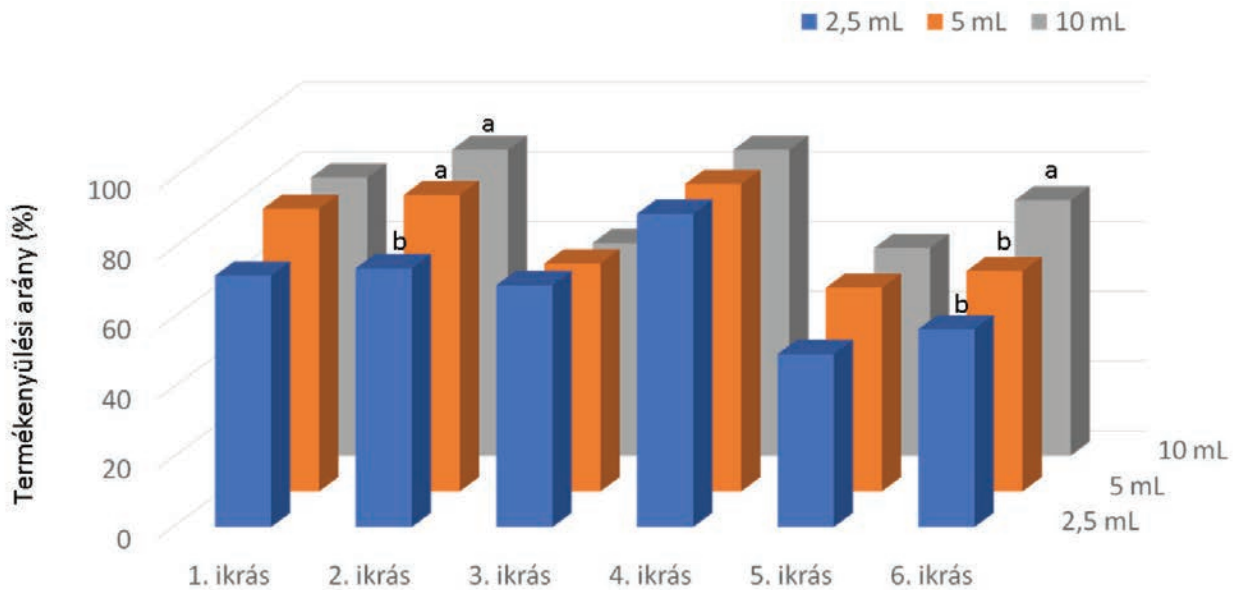
Kísérleteinkben a csukaikra termékenyítéséhez szükséges sperma optimális mennyiségét határoztuk meg. Vizsgálatainkat keltetőházi feltételek között, üzemi mennyiségű ikratételek (és spermamennyiségek) felhasználásával végeztük. A szaporítás fontosabb üzemi eredményeit az 1. táblázat tartalmazza.

Az egyes ikratételek termékenyülési százalékát a 2. táblázat tartalmazza. A kezelések ismétléseit átlagoltuk, ezért egy ikráshoz három, egy ikrátételhez (konkrét spermamennyiséghez) pedig egy érték tartozik. A 3. ábra az egyes ikrásokhoz tartozó ikratételek termékenyülési százalékának hasonlóságára, illetve különbözőségére hívja fel a figyelmet.

Ikrás száma:	Sperma ml / 1.000 g ikra	Termékenyülési százalék
1. ikrás (Ráckeve)	10 ml	79,9 %
	5 ml	81,1 %
	2,5 ml	72,2 %
2. ikrás (Ráckeve)	10 ml	87,8 %
	5 ml	85,1 %
	2,5 ml	74,3 %
3. ikrás (Ráckeve)	10 ml	61,0 %
	5 ml	65,4 %
	2,5 ml	69,4 %
4. ikrás (Dinnyés)	10 ml	87,8 %
	5 ml	88,3 %
	2,5 ml	89,9 %
5. ikrás (Dinnyés)	10 ml	59,6 %
	5 ml	58,5 %
	2,5 ml	49,7 %
6. ikrás (Dinnyés)	10 ml	73,3 %
	5 ml	63,3 %
	2,5 ml	56,8 %

2. táblázat: hat ikrástól származó három-három ikrátétel termékenyülési százaléka eltérő mennyiségű spermával történő termékenyítés után

Table 2.:Fertilization percentage of egg batches from six females. For each female three different sperm : egg ratios were used during fertilization



3. ábra: A különböző mennyiségű spermával történő termékenyítés két ikrás esetében eredményezett statisztikailag szempontból eltérőnek tekinthető termékenyülési százalékokat (Kruskal-Wallis teszt, $p < 0,05$)
 Figure 3.: Fertilization with different amounts of sperm resulted in statistically different fertilization percentages for two out of six females (Kruskal-Wallis test, $p < 0,05$)

Az adatok statisztikai értékelését követően megállapítottuk, hogy négy ikrás esetében nem volt statisztikailag igazolható különbség az eltérő mennyiségű spermával termékenyített tételek között. A 2. ikrásnál a „2,5 ml sperma : 1.000 g ikra” arány alkalmazása alacsonyabb termékenyülési százalékokat eredményezett, mint amikor a spermaarány „5,0 illetve 10 ml sperma : 1.000 g ikra” volt. A 6. ikrás tekintetében a legmagasabb sperma : ikra arány esetében magasabb volt a termékenyülési %, mint a másik két tételnél. Az eredmények alapján nagy biztonsággal kijelenthető, hogy 1.000 g száraz állapotú csuka ikra 5 ml, illetve 10 ml spermával történő termékenyítése hasonló eredményt ad. Ha az ikrát csak 2,5 ml spermával termékenyítjük, akkor a szaporítás hatékonysága valamelyest csökken. Ettől függetlenül, ha a szaporításhoz rendelkezésre álló tejesek száma korlátozott, és a kinyert tejet egyenlően kell szétosztanunk az ikratételek között, akkor 1.000 g ikra termékenyítéséhez elegendő lehet a 2,5 ml spermamennyiség is a termékenyülési százalék jelentős csökkenése nélkül.

A kísérlet beállításakor a hat nőténytől származó ikrát egymástól függetlenül „kezeltük” (termékenyítettük) és az eredményeket is külön értékeltük ki, melyhez nem-paraméteres próbát használtunk. Ennek a kísérlet beállításának több oka is volt. Egyrészt a nőtények felkészültsége az ikra minőségét, és ezáltal termékenyülését nagyban befolyásolja, ami ikrásonként viszonylag széles határok között változhat. Ezt a megállapítást egyébként a jelen kísérlet eredményei is alátámasztják. Ez az oka, hogy a hat ikrátételt külön kellett kezelnünk, termékenyítenünk és az eredményeket értékelnünk.

A csukaikra termékenyítéséhez szükséges sperma mennyiségét már többen vizsgálták és az eredményeket tudományos folyóiratokban tették közzé. Ezek a vizsgálatok azonban laboratóriumi körülmények között zajlottak, a termékenyítést Petri csészében végezték előzetesen hígított spermával (Billard és Marcel, 1980; De Montalembert et al., 1978a, b). A vizsgálatok eredményei nem alkalmazhatóak a csuka keltetőházi, nagyüzemi szaporítása során. A csukaikra üzemi méretű mesterséges termékenyítéséhez sokkal inkább támpontot adhatnak a hazai közlemények. A közlemények nem tudományos folyóiratokban jelentek meg, hanem szakkönyvekben, de biztosak lehetünk abban, hogy a közölt adatok igyenes vizsgálatokból származnak. Antalfi és Tölg (1971) 0,5 literes csukaikra adagok termékenyítéséhez 2-3 ml spermát javasol. Ez 1.000 g ikra esetében hozzávetőlegesen 4-6 ml haltejnek felel meg. Horváth és Tamás (1981) 1.000 ml ikrához néhány ml (több tejesből származó) sperma hozzáadását tanácsolja. Szabó (2017) szerint 1.000 g ikra termékenyítése 5-10 ml sperma hozzáadásával eredményes. Horváth és Tamás (1978) 1.000 g száraz ikra termékenyítéséhez 3 – 8 ml sperma felhasználását tartja optimálisnak.

Összességében megállapíthatjuk, hogy eredményeink összhangban vannak azokkal a javaslatokkal, amiket hazai szakemberek már korábban is megfogalmaztak. Munkánk abból a szempontból mutathat fel újat, hogy a korábbi javaslatok helyességét kísérletes vizsgálatokkal igazoltuk és a szakirodalomban közölt minimum és maximum értéket (3 – 10 ml) leszűkítettük. A közölt minimális 3,0 ml-es mennyiséget (1.000 g) ikrához egy kicsit kockázatosnak,

a maximális 10 ml-t pedig túlzónak érezzük. Természetesen, ha 1.000 g ikrát 3 ml spermával termékenyítünk, a szaporítás eredményes lehet. Sőt, ha a tejesek száma korlátozott, akkor ennek a sperma : ika aránynak az alkalmazása indokolt. Ha a felhasználható tejesek száma nem limitált, akkor a 10 ml sperma felhasználását sem vethetjük el. Kísérleteink alapján azt javasoljuk, hogy 1.000 g ikrához hozzávetőlegesen 5,0 ml, többtejestől származó spermát használjunk. Kísérleteink alapján ez a mennyiség a csukaikra mesterséges termékenyítése során biztonságosnak és gazdaságosnak tekinthető.

Irodalomjegyzék

Antalfi A. és Tölg I., 1971. Halgazdálkodási ABC. Mezőgazdasági Könyvkiadó Vállalat, Budapest, 216 pp.

Billard, R. és Marcel, J., 1980. Stimulation of spermiation and induction of ovulation in pike (*Esox lucius*). *Aquaculture*, 21: 181-195.

De Montalembert, G., Bry, C. és Billard, R., 1978a. Control of reproduction in northern pike. *Am. Fish. Soc. Spec. Publ.*, 11: 217-225.

De Montalembert, G., Jalabert, B. és Bry, C., 1978b. Precocious induction of maturation and ovulation in northern pike (*Esox lucius*). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 18 (4): 969-975.

Horváth L. és Tamás G., 1978. Halszaporítás - Ivadéknvelés. In: Haltenyésztés (Bakos J. szerkesztő), (Szakmérnöki jegyzet), Debrecen, pp. 141-240.

Horváth L. és Tamás G., 1981. Ivadéknvelés (Szaporító és ivadéknvelő halászmesterek könyve). Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 182 pp.

Szabó, T., 2001. Sustained release vehicle improves the quality of northern pike (*Esox lucius*) eggs obtained by hormonally induced ovulation. *North American Journal of Aquaculture* 63: 137-143.

Szabó T., 2006. Új módszer az indukált csukaszaporítás során nyert ika termékenyülésének növelésére. *Halászat*, 99 (4): 151-156.

Szabó T., 2016. A csuka keltetőházi szaporítása. In: A csuka biológiája és tenyésztése (Szabó T. szerkesztő), pp. 141-161. SzIE, MKK, Halgazdálkodási Tanszék, Szent István Egyetemi Kiadó, Gödöllő.

Determination of the quantity of sperm required for the fertilization of northern pike (*Esox lucius*) eggs during hatchery breeding

Summary

Since pike do not spawn in confinement, ovulation and spermiation is induced by hormonal treatment. Eggs can easily be stripped after ovulation, however, only a small amount of milt can be stripped from the male fish. To enhance sperm yield, the testes are surgically removed and sperm is obtained by squeezing the organs through cheesecloth. This method requires sacrificing the males, so it is important to determine the amount of milt that is necessary for successful fertilization. For the above reasons, we aimed to determine the amount of sperm required to fertilize northern pike eggs under hatchery conditions.

Experiments and routine hatchery work were conducted concurrently during the northern pike breeding season in the hatcheries of the Dinnyés Fish Farm and the Danube Anglers Association of Ráckeve in Hungary. Our goal was to fertilize large batches of eggs in the tests so that the results would be informative for hatchery practices. In both farms, three egg batches from three females were used for the experiments. The sperm : egg ratios tested were as follows: 10 ml, 5 ml, and 2.5 ml sperm for 1,000 grams of eggs, respectively. Treatments were performed in duplicate.

It was found that fertilization of 1,000 g of northern pike eggs with 5 ml and 10 ml sperm gave similar results. If the eggs were fertilized with 2.5 ml milt, the fertilization rate was somewhat reduced. However, if the number of males available for breeding is limited, a quantity of 2.5 ml of semen may be sufficient to fertilize 1000 g of eggs without a significant reduction in the fertilization rate.

Key words: *Esox lucius*, hatchery breeding, sperm : egg ratio, fertilization rate

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

A dolgozat címe: Molekuláris módszerek fejlesztése és alkalmazása közösségi és horgászati jelentőségű halfajok vizsgálatához

Szerző neve: Keszte Szilvia

A témavezetők neve: Dr. Kovács Balázs

A védés helye, ideje és Doktori Iskola neve: Gödöllő, 2022. április 29., Gödöllő, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola

A dolgozat on-line elérhetősége: <https://uni-mate.hu/esem%C3%A9ny/-/content-viewer/keszte-szilvia-phd-v%C3%A9d%C3%A9se/20123>

Összefoglalás

Doktori munkám során a következő kísérletek megvalósítását tűztem ki célul:

- Mikroszatellit markerek adaptálása populációgenetikai vizsgálatokhoz közeli rokon fajokból az őshonos kősüllő (*Sander volgensis*), valamint a közösségi jelentőségű garda (*Pelecus cultratus*) esetén.
- Mitokondriális genomi markerek (Citokróm b, Kontroll régió, Citokróm oxidáz 1) alkalmazhatóságának felmérése filogenetikai és taxonómiai vizsgálatokhoz az invazív ezüstkárász (*Carassius gibelio*) esetében.
- A Balaton és vízgyűjtő területein található idegenhonos, invazív ezüstkárász populációk genetikai diverzitásának vizsgálata.
- Magyarország nagyobb vizeiben található őshonos kősüllő populáció genetikai diverzitás vizsgálata.

1. Eredmények

1.1. Marker adaptálhatóság rokon fajok között

A kősüllő (*Sander volgensis*) esetén a marker adaptáció összességében sikeresnek bizonyult. A kiválasztott 13 süllő mikroszatellitből mindössze 2 marker (MS423, MS424) volt, melyekkel a protokollok többszöri változtatása után sem sikerült a PCR során terméket felszaporítani. Hat marker (MS 420, MS 417, MS 192, MS 384, MS 373, MS 703), melyek a fogassüllő (*Sander lucioperca*) fajban polimorfnek bizonyultak, a vizsgált kősüllő populációk esetén monomorfnek mutatkoztak, vagy csupán 2 allélt hordoztak, így nem alkalmazhatóak a fajban populációk diverzitásának mérésére. A PIC értékek alapján az 5 kellő mértékben polimorf marker (MS 701, MS 704, MS 404, MS 395, MSI-1) mindegyike alkalmasnak bizonyult a ma-



gyar kősüllő populációk vizsgálatához. Az eredmények alapján azonban elmondható, hogy a különböző fajok közötti marker adaptációkor nemcsak a polimorfitás mértéke különbözhet, de az egyes mikroszatellit markerekkel detektált allélméret is.

Átfogóbb vizsgálatokhoz a kősüllő populációk genetikai hátterét illetően további nukleáris markerek bevonása javasolt, mely többek között a rendelkezésünkre álló további süllő marker adaptációjával lehetséges.

A garda (*Pelecus cultratus*) esetében a marker adaptáció nehezebb volt, hiszen nincs olyan közeli rokona, mint a kősüllőnek a fogassüllő, mivel a garda

a *Pelecus* nemzetség egyetlen tagja. Szakirodalmi adatok alapján 11 markert került kiválasztásra 5 közel rokon, a pontyfélék családjába tartozó fajtól, melyek a sujtásos kűsz (*Alburnoides bipunctatus*), bodorka (*Rutilus rutilus*), ponty (*Cyprinus carpio*), fenékjáró küllő (*Gobio gobio*) és a vaskos csabak (*Leuciscus souffia*) voltak. A 11 kiválasztott markerből 6 marker esetén sikerült PCR terméket amplifikálni, ami bár picit több, mint 50%, de messze elmarad a kősüllőnél mért eredményességtől.

Önmagában egy marker nem elég egy populáció jellemzésére, de a jövőben, ha sikerül újabb markereket adaptálni, vagy könyvtár-készítéssel izolálni, már lehetőségünk lesz egy átfogóbb vizsgálatra. Jelen munka pedig bizonyítja, hogy az adaptáció nem lehetetlen, még olyan fajok esetében sem, melyek önálló genuszba tartoznak. Bár ennél a vizsgált populációnál a markerek többsége, melyekhez sikerült működő PCR protokollt létrehozni, monomorfnek bizonyultak, más, genetikailag változatosabb állományokon lehetnek polimorfak.

1.2. Kősüllő populációgenetikai vizsgálatok

Az 5 darab süllőből izolált polimorf mikroszatellit marker (MS 701, MS 704, MS 404, MS 395, MSI-1) és a



A doktori védés

mitokondriális genom kontroll régiója (D-loop) alkalmasnak bizonyult a Balaton, a Duna és összevonva a Tisza és Holt-Körös populációiból vett minták genetikai diverzitásvizsgálatára. A mikroszatellitek esetén érdemes lenne több markert is bevonni a későbbi vizsgálatokba, valamint a Tisza és Holt-Körös területéről több mintát begyűjteni, de ez ekkora területről nehezebb feladat. Mivel a kősüllő kiemelten kedvelt a horgászok körében, érdemes lenne a jövőben a mintázások kapcsán felvenni a kapcsolatot a környéken lévő horgászszervezetekkel.

Mind a mikroszatellit markerek esetén kimutatható egyedi allélszám, mind a mitokondriális genom D-loop régiója alapján meghatározott haplotípusokat figyelembe véve elmondható, hogy a balatoni kősüllő populáció olyan ritka genetikai háttérrel rendelkező egyedeket tartalmaz, mely alapján a populáció értékes genetikai erőforrás lehet az esetlegesen beszűkült genetikai háttérrel rendelkező kisebb állományok vérfrissítéséhez, illetve új állományok létrehozásához.

A populációk közötti genetikai távolságok a vártnál kisebbek, ám arányosak a földrajzi távolságokkal, vagyis a földrajzilag két legtávolabbi állomány között a legnagyobb a genetikai különbség. Mindez lehet horgász célú telepítések következménye, amelyet kevés, esetleg dunai, vagy balatoni eredetű tenyészállat felhasználásával végeztek.

Mivel már rendelkezésünkre állnak működő markerek és protokollok, az eredmények alapján érdemes lenne egy második mintázási és vizsgálati kört tartani, több egyed és populáció bevonásával. Ez megválaszolhatná, hogy az eddigi ellenőrizetlen telepítések milyen hatással vannak a kősüllő természetes állományaira, vagy hogy a populációkat a mintavételkor jellemző diverzifikáltság tovább romlott-e, illetve (mivel a FAO adatai között jelenleg az utolsó fogási adat 2018-as), szükséges lenne ezen adatokat is frissíteni, hogy átfogóbb véleményt lehessen mondani, a hazai állományok állapotáról.

1.3. Ezüstkárász populációgenetikai vizsgálatok

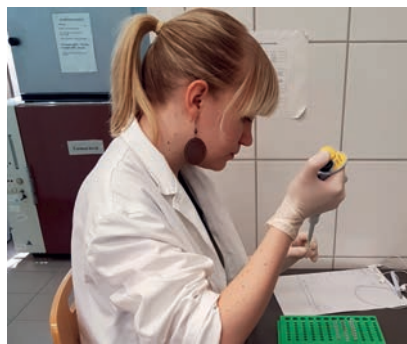
A 22 haplotípusnak, amit a mitokondriális vizsgálat során kaptunk több mint a fele csak 1 vagy 2 mintában volt jelen, ami a hazai állomány változatos származására utal. A kapott eredményekből kitűnik az Ószödi-berek populációjának teljes elkülönülése. Az innen mintázott halak mindössze két, a többi populációtól teljesen elkülönült haplotípust hordoznak. Az Ószödi-berek mára már nemcsak földrajzilag, de genetikailag is teljesen elszigetelt populáció. Annak oka, hogy a szintén többi mintavételi hellyel élő kapcsolatban nem álló Hőgyész miért hordoz vegyesen többféle haplotípust, és miért nem alakult ki ott is egy, csak arra a tóra jellemző ezüstkárász állomány, nem ismert, de nagy valószínűséggel magyarázható a tavon és vízrendszerén végzett telepítésekkel.

A többitől legeltérőbb szekvenciával rendelkező egyedek a nukleotid diverzitások alapján a Siófok-Tőreki populációban voltak. Ez a populáció volt az, mely rávilágít, hogy az ún. kárász komplex tagjai kapcsán a szakirodalomban fellelhető taxo-

nómiai kérdéseknek itthon is van létjogosultsága. Erre utal a BLAST analízis eredménye, mely kimutatta a fenotípusosan egyértelműen ezüstkárász minták között jelenlévő 5 *Carassius auratus auratus* haplotípust, illetve a *Carassius auratus buergeri* haplotípust. A Citokróm *b* marker alapján történelmi BLAST keresés a fenotípusnak megfelelően mindegyik korábbi D-loop haplotípust *Carassius gibelio*-ként azonosította.

A Citokróm oxidáz 1. régiók illesztése a BOLD rendszerben, valamint a BLAST vizsgálatok a haplotípusok egy részét szintén aranyhal eredetűnek jelezték, akárcsak a D-loop. Mindez lehet az aranyhalak és az ezüstkárász közötti hibridizáció következménye, amely jelenség jól ismert és így már hazánkban is bizonyítható. Az ilyen egyedek esetén ajánlott lenne a nukleáris DNS ilyen irányú vizsgálata is. Ugyanakkor az is feltételezhető, hogy az adatbázisokba tévesen rögzített vagy azonosított szekvencia adatok is bekerültek, ami helytelen taxonómiai azonosításhoz vezethet. Ezek alapján, az ezüstkárász vizsgálatokban a kétes fenotípusú halak esetében, illetve más markerek alapján kétes eredetű szekvenciák azonosítására javasolt több marker és adatbázis használata.

Jelen eredmények alapján nagyon valószínű, hogy a kárász komplex tagjai közötti hibridizáció lezajlott a vizsgált vízgyűjtőn, és ennek köszönhető a *Carassius auratus auratus* és a *Carassius auratus buergeri* szekvencia megjelenése a minták között.



Munka közben

1.4. Garda populációgenetika vizsgálatok

A mitokondriális genom kontroll régiójának vizsgálata a három garda populáció esetén aggasztó eredményt hozott. A közösségi jelentőségű halfajként számontartott őshonos garda populációi rendkívül alacsony diverzitást mutattak a mitokondriális D-loop marker alapján. A 125 egyed szekvenciái alapján azonosított, mindössze 5 haplotípus rendkívül kevés. A minták több mint 85%-a ugyanazt a szekvencia variációt hordozza, ami rendkívül meglepő tekintve, hogy a minták egy része a referenciaként bevont lengyel Visztula-lagúnai populációból származik, ami földrajzilag meglehetősen távol esik a többi populációtól. Ennek ellenére a lengyel minták nem különböztek el a magyartól, sőt egyetlen, a leggyakoribb haplotípusba sorolódnak. A lengyel garda populáció ugyanis mitokondriálisan teljesen homogén. Egy fokkal nagyobb diverzitást mutat ezen a szinten a fertői populáció, ahol az egyedek két külön haplotípust hordozó csoportba kerültek. Bár a kétféle haplotípus sem túl előnyös diverzitás szempontból, (arra utal, hogy mindössze két ősi anyai vonalról származik a teljes vizsgált állomány), különösképpen egy elszigetelt populáció esetén, de ki kell emelni, hogy ebből az egyik csoport (Hap_2) csak a Fertőre jellemző, ezáltal igen értékes.

A jövőben érdemes lenne még több mikroszatellit markert adaptálni vagy izolálni és egy nagyobb volumenű munka keretében további információkat begyűjteni a vizsgált területek gardapopulációiról. Új SNP vagy mikroszatellit markereket fejleszteni, és a garda állományok nukleáris genomját is megvizsgálni azokkal. Ha a nukleáris markerek esetén is ilyen alacsony diverzitás figyelhető meg, a faj érdekében érdemes lenne génmegőrzési lépéseket tenni. A garda, mint közösségi jelentőségű halfaj megőrzése a törvény által is kimondva az európai közösség kiemelt feladata. Ha az állomány genetikai homogenitása további alátámasztást nyer, az azt jelenti, hogy akár egyetlen ismeretlen betegség megjelenése az egész állományt veszélyezteti.

2. Új tudományos eredmények

• 1. A PCR protokollok optimalizálásával 11 mikroszatellit markert (MS 420, MS 417, MS 192, MS 384, MS 373, MS 703, MS 701, MS 704, MS 404, MS 395, MSL-1) sikeresen adaptáltam fogassüllő (*Sander lucioperca*) fajtól kősüllőre (*Sander volgensis*) és egy 1 mikroszatellit markert (Albi61) sujtásos küszből (*Alburnoides bipunctatus*) gardára (*Pelecus cultratus*).

• 2. Öt újonnan adaptált és polimorf mikroszatellit markerrel (MS 701, MS 704, MS 404, MS 395, MSL-



Kirándulás közben

1), valamint a mitokondriális genom kontroll régiójával elvégeztem 3 magyar kősüllő állomány (Balaton, Duna, Tisza-Holt-Körös) populációgenetika vizsgálatát. Megállapítottam, hogy a populációk eltérnek a Hardy-Weinberg egyensúlytól, és közülük a balatoni hordozza a legegységibb, ezáltal génmegőrzési szempontból a legértékesebb genetikai hátteret.

• 3. Három, a szakirodalomban már korábban jól jellemzett mitokondriális genetikai markerrel (Citokróm b, Citokróm oxidáz 1-es egység, D-loop) elvégeztem a Balaton és vízgyűjtőterületén található 5 és egy további ezüstkárász (*Carassius*

gibelio) populációjának filogenetikai analizisét. Ennek során meghatároztam a kárász komplex tagjainak taxonómiai azonosítására leginkább alkalmas markert (Cyt.B).

• 4. Bizonyítottam, hogy a magyarországi ezüstkárász állományban aranyhal eredetű mitokondriális genomot hordozó egyedek is megtalálhatóak.

• 5. A világon elsőként populációgenetikai vizsgálatot végeztem 2 magyar és 1 lengyel garda populáción. Megállapítottam, hogy mind a hazai, mind a lengyel populációk aggasztóan homogén genetikai háttérrel rendelkeznek.

Önéletrajz

Keszte Szilvia 1990. június 8-án született Keszthelyen. Gimnáziumi tanulmányai egy részét az egri Dobó István Gimnáziumban végezte, majd 2009-ben a szentendrei Móricz Zsigmond Gimnáziumban fejezte be és érettségizett.

2010-óta tanul és dolgozik Gödöllőn. 2012-ben mezőgazdasági mérnökként szakdolgozatát agrometeorológiai szaktanácsadás témában írta, majd 2013-ban mezőgazdasági biotechnológus hallgatóként került az akkori Halgazdálkodási Tanszékre. 2014-ben egy félévet töltött a szülői Dongguk Egyetemen (Dél-Korea), ahol növényi biotechnológiát, állati szövettenyésztést és koreai nyelvet tanult, majd hazaérkezése után, mint tanszéki demonstrátor kezdett el dolgozni a Halgazdálkodási Tanszéken. Diplomadolgozatát, melynek témája a magyarországi természetes vizek sebespisztráng-állományának genetikai diverzitás vizsgálata 2015-ben védte meg, kiváló eredménnyel. 2016-ban nyert felvételt az akkori Szent István Egyetem Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskolájába.

Doktori tanulmányai alatt, számos hazai konferencián vett részt tudományos poszterekkel, előadásokkal vagy, mint szervező. Első nemzetközi konferencia előadását a European Aquaculture Society berlini konferenciáján tartotta 2019-ben. Társtémavezetőként három biotechnológus hallgató diploma- és egy mezőgazdasági mérnök hallgató szakdolgozatának munkáját vezette.

Kötelező feladatai mellett aktív tagja volt a Halászati és Horgászati Szakkollégiumnak, valamint a Festetics Imre Mezőgazdasági Biotechnológus Szakkollégiumnak, melyet 2 éven át, mint szakkollégiumi elnök vezetett.

Tanulmányai mellett aktívan részt vett az egyetemi és a hazai doktori képzés érdekvédelmi tevékenységében is, mint a Szent István Egyetem Doktorandusz Önkormányzatának alelnöke, majd elnöke, valamint a Doktoranduszok Országos Szövetségének Agrártudományi Osztályának alelnöke. Az évek során nagy figyelmet szentelt továbbképzésére is, így

doktori tanulmányai alatt elvégzett egy orosz nyelvtanfolyamot, 2019-ben belső auditor végzettséget szerzett, 2020-ban pedig H2020 pályázatíró workshopon vett részt. Szintén ebben az évben bekerült a SCIndikátor Mentorprogram tudomány kommunikációs versenyébe, ahol egészen a döntőig jutott. Angol és német nyelvvizsgával rendelkezik.

Jelenleg a MATE Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézetének agárdi telephelyén a Természetesvízi Halökológia Tanszék munkatársa és párjával Móron él. Életében kiemelt szerepet játszik párja, családja és baráti közössége.

A dolgozat címe: COMPARATIVE STUDIES OF MYXOZOAN PARASITES OF WILD AND CULTURED FRESHWATER FISHES IN INDIA AND HUNGARY Vadon élő és tenyésztett édesvízi halak myxozoa parazitáinak összehasonlító vizsgálata Indiában és Magyarországon

Szerző neve: Urvashi Goswami

Témavezető neve: Dr. Székely Csaba

A védés helye (Doktori Iskola neve) és ideje: Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola, Gödöllő/Budapest, 2022. február 24.

A dolgozat hol érhető el on-line:

https://uni-mate.hu/documents/20123/336900/Urvashi_Goswami_dissertation.pdf

A Halászat lap rendszeresen beszámol magyar egyetemeken doktori iskoláiban folyó tudományos képzésről, annak eredményeiről. Öröndetes, hogy a magyarországi tudományos képzésben egyre több a külföldi résztvevő, így mostani lapszámunkban egy fiatal indiai kutató munkájáról adunk tájékoztatást. A programot és eredményeit angol nyelven közöljük, miután a tudományos munka nyelve az angol volt, azonban annak rövid összefoglalását magyar nyelven is közzéteszük az alábbiakban.



Urvashi Goswami
indiai kutató

ÖSSZEFOGLALÁS

Az utóbbi években a nyálkaspórák paraziták (Myxozoa) által tenyésztett és természetes-vízi halállományokban okozott járványos betegségek tanulmányozása egyre nagyobb figyelmet kapott a kutatók körében. Ezek a paraziták jól ismertek az indiai és a magyar édesvízi akvakultúrákban, és azok gazdaságilag jelentős halfajokban is kimutathatók mindkét országban. A tudományos munka keretében Magyarországon és Indiában végzett felmérés során több új- és ismert nyálkaspórák fajt mutattak ki a Balatonban, a Dunában és mellékfolyóiban élő halakban, közöttük pontyfélékben. A kórokozók feltárása és azonosítása mellett a tudományos munka célja volt környezetbarát kezelési eljárás kidolgozása is. Az ezirányú vizsgálatok bebizonyították, hogy a pontyfélék izomzatában élősködő *Myxobolus pseudodispar* aktinospórái ellen az Indiában őshonos „neem” fából készült kivonat volt a leghatékonyabb, szemben a kurkuma és fokhagyma készítményekkel.

Fishes are an important part of the aquatic ecosystem and basic nutritive food for half of the human population. In recent years, the outbreaks of diseases caused by Myxozoans in farmed fish have raised the attention of researchers towards this area. Some fish parasites are on rise and bringing the risk to human health and economically important fishes. Myxozoa comprise over 2,000 species of microscopic obligate parasites that use both invertebrate and vertebrate hosts as part of their life cycle. These parasites are the causative agents of some serious diseases in freshwater, estuarine and marine habitats. To work on these myxozoa parasites, I have joined the well-known fish parasitologists' research team named Fish Pathology and Parasitology team lead by Dr. Székely Csaba, as Stipendium Hungaricum PhD student at VMRI (Veterinary Medical Research Institute) in Budapest, Hungary. My concern regarding selecting this research topic to do some good science which can add prominent aspects in myxozoa related research.

In my PhD, I have worked on the phylogeny, taxonomy and systematics of these cnidarian parasites called Myxozoans. These parasites are well known and identified in Hungarian and Indian freshwater aquaculture. Myxozoans are



**With team members after the PhD defence
A kutatócsoport tagjaival a PhD védést követően**

initially grouped together with protozoans but after the scientific evidence they have similarity with the cnidarian, they are put together as the cnidarian parasites.

During the survey in Hungary, I have found significant myxozoan infection in Lake Balaton and River Danube and their tributaries. Some of the common cyprinid fishes were found infected. The common nase (*Chondrostoma nasus*) and tench (*Tinca tinca*) were infected with *Thelohanellus* species. *Thelohanellus pyriformis* was identified from the hemibranchia of the gills filaments of tench and *Thelohanellus fuhrmanni* from the snout of common nase was isolated. In histological sections, plasmodia of these parasites were clearly seen and damage of the tissue was also observed.

American myxozoan *Myxobolus dechtiari* was also isolated from pumpkinseed fish (*Lepomis gibbosus*) which is an invasive alien fish species in Europe and a threat to other fishes in freshwater bodies. The infection was collected from cartilaginous rays of the gill filaments. The histological section also proved the shifting of epithelial tissue due to their development of this parasite in cartilaginous rays. This work resolved the complex description of *M. dechtiari*.

In India, I have worked on the Indian major carps and some other freshwater food fish species. *Myxobolus* infection is more common in India comparatively with other myxozoan species. The myxozoan species were collected from two different states from India: Uttar Pradesh and West Bengal. From Uttar Pradesh, *Henneguya notopterae* from food fish *Notopterus notopterus*, *Myxobolus ompok*, a new species infection was found in *Ompok padba* (Pabda catfish). The infection was detected from gill filaments and kidney tissues respectively. The host



**Fish sampling at Lake Balaton-Balatonszemes
Halminták begyűjtése a Balatonon
Balatonszemesnél**



**Hungarian Parafishcontrol team Porto EAFP
A Parafishcontrol projekt magyar résztvevői az Európai
Halkórtani Társaság (EAFP) konferenciáján Portóban**

fishes have good market demands in India. *Myxobolus cylindricus* was isolated from gills of snake headed fish (*Channa gachua*) and *Henneguya mystasi* infection was isolated from *Mystus vittatus* from the gills. The molecular data of these species gives a solid base for further identification of these myxozoans. The pathogenicity of which probably plays an economic role at culturing the hosts.

In the framework of an Indo-Hungarian research project (DST-TÉT) from West Bengal, *Myxobolus* and *Thelohanellus* species were detected from major Indian carps (*Catla catla*, *Cirrhinus mrigala*, *Labeo rohita*). *Myxobolus dermiscalis* and *Thelohanellus caudatus* plasmodia were found on the scales and fins from *Labeo rohita*, respectively. A new species of *Myxobolus* from scales of *Labeo rohita* was also detected, which is named *Myxobolus bandyopadyayi* n. sp. Two other *Myxobolus* species were reported from the fins of *Cirrhinus mrigala* and *Gibelion catla*: *M. rewensis* and *M. chakravartyi* respectively.

Besides the phylogeny of myxozoa, to perform the herbal drugs treatment trials against the myxozoan infective stage actinospores was the one of main objectives of my PhD work. A common Myxozoan species, *Myxobolus pseudodispar* frequently found in roaches (*Rutilus rutilus*) in Hungary. This parasite was cultivated at laboratory conditions to collect their infective stage called actinospores from the annelid worms (*Oligochaetes*). The SPF oligochaetes were reared in the laboratory to perform the experiments. Several herbal drugs such as neem (bark extract), curcumin, garlic (powder) were used against the collected actinospores stages. The results of these trials proved that the neem is the most promising treatment against actinospores of *M. pseudodispar* while curcumin and garlic showed the late effect comparative to neem.