



GAZDASÁGI JELENTŐSÉGGEL BÍRÓ ARANYHAL VÁLTOZATOK SZAPORODÁSBIOLOGIAI VIZSGÁLATA

Doktori értekezés tézisei

Nagy Borbála

Gödöllő

2026.

A doktori iskola

megnevezése: Agrár- és Élelmiszertudományok Doktori Iskola

tudományága: Állattenyésztés-tudomány

vezetője: Prof. Dr. Kovács Melinda
egyetemi tanár, az MTA rendes tagja
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és
Takarmányozástani Intézet

Témavezetők: Dr. Bernáth Gergely
kutatóprofesszor
Széchenyi István Egyetem, Albert Kázmér Mosonmagyaróvári
Kar, Állattudományi Tanszék

Dr. Bokor Zoltán
ügyvezető-helyettes
The Fishmarket Halkereskedelmi Kft.

.....
.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
.....
A témavezetők jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

A *Cyprinidae* családba tartozó aranyhal (*Carassius auratus*) a világ egyik legismertebb és legszélesebb körben tenyésztett díszhalfaja. Több mint ezer éve tartó domesztikációja és mesterséges szelekciója során rendkívüli fenotípusos változatosság alakult ki, amely a testalak, a színezet, a pikkelyzet, valamint az úszók, a szemek és a fej morfológiájának széles körű módosulásában nyilvánul meg (Smartt, 2001; Omori & Kon, 2019; Chen et al., 2022). Napjainkra több mint 180 aranyhalváltozat ismert (Omori & Kon, 2019), és a tenyésztők folyamatosan újabbakat hoznak létre. A faj nem kizárólag gazdasági és kulturális jelentőséggel bír, hanem fontos modellorganizmusa a mesterséges szelekció és a fejlődésbiológia tanulmányozásának is (Smartt, 2001; Komiyama et al., 2009; Tsai et al., 2013; Ota & Abe, 2016; Chen et al., 2019).

Az aranyhal tenyésztésében a kívánt fenotípusos tulajdonságok fenntartásának alapfeltétele a hatékony szaporítás (Glenn et al., 2011). A reprodukció sikerességét számos tényező befolyásolja, köztük az anyaállomány kondíciója, az ivartermékek minősége, az ivarszervek fejlettségi állapota, a környezeti feltételek, valamint az alkalmazott hormonális kezelés (Mañanos et al., 2009). A szaporítás eredményességének növelése érdekében elengedhetetlen az ivartermékek mennyiségi és minőségi tulajdonságainak vizsgálata, valamint az ivarszervek fejlődési állapotának értékelése (Fauvel et al., 2010). A gonadoszomatikus index, az ivarszervek szövettani elemzése, illetve az ivartermék minőségi és mennyiségi paramétereinek meghatározása fontos információkat szolgáltatnak az ivari érettségről és a reprodukciós képességről (Kagawa et al., 1983; Kowalski & Cejko, 2019).

Az ikra és a sperma minősége alapvetően meghatározza az embriók és lárvák fejlődését. A korai fejlődési szakaszok vizsgálata lehetőséget biztosít a fejlődési rendellenességekre, a túlélés és a kelési eredmények értékelésére, ezáltal közvetett információt nyújt a felhasznált ivartermékek minőségéről is (Bonnet et al., 2007; Bobe & Labbé, 2010). Annak ellenére, hogy az aranyhal egyes változatait számos tanulmány vizsgálta morfológiai és genetikai szempontból (Li et al., 2019; Ota, 2021), a változatok közötti szaporodásbiológiai különbségek, valamint a mesterséges szelekció reprodukciós folyamatokra gyakorolt hatásait eddig nem vizsgálták átfogóan.

Az akvakultúrában az ivartermékek rövid és hosszú távú tárolása kiemelt jelentőséggel bír, mivel hozzájárul a tenyésztési programok hatékonyságának növeléséhez és a genetikai állomány megőrzéséhez (Contreras et al., 2019). Ugyanakkor a tárolás során végbemenő mikrobiális változások jelentős mértékben befolyásolhatják a szaporítás során felhasználni kívánt ivartermék minőségét. Bár az elmúlt években nagymértékű előrehaladás történt a mikrobiom kutatás területén (Foo et al., 2017), halak esetén korlátozott számú tanulmány áll rendelkezésre az ivarsejtek, azon belül is a hímvivartermék mikrobiális közösségéről, valamint annak változásairól. Aranyhal esetén jelenleg nem ismert

a sperma baktérium- és gombaközössége, aminek vizsgálata mind állatjóléti, mind szaporodásbiológiai szempontból indokolt.

Feltételezésem szerint a különböző szelekciós célok mentén kialakult fenotípusos sajátosságok nemcsak a külső megjelenésben, hanem a reprodukciós mutatókban, a korai fejlődési folyamatokban, valamint egyes mikrobiológiai és molekuláris jellemzőkben is megnyilvánulhatnak. Kutatásom célja ezért különböző aranyhalváltozatok szaporodásbiológiai, fejlődésbiológiai, mikrobiológiai és molekuláris sajátosságainak összehasonlító vizsgálata volt, valamint annak feltárása, hogy a több évszázados mesterséges szelekció milyen hatást gyakorolt ezen tulajdonságokra.

Célkitűzések

Munkám célja a fenotípusukban jelentősen eltérő aranyhal változatok, azon belül a közönséges aranyhal, a shubunkin, a fekete teleszkópszemű és az oranda szaporodásbiológiai sajátosságainak átfogó vizsgálata volt.

1. Az alapvető szaporodásbiológiai mutatók mennyiségi és minőségi értékelése, valamint szaporítás során a termékenyülési és kelési arányok meghatározása és összehasonlítása a változatok között.
2. Lárwanevelés során a növekedés, a fejlődési rendellenességek arányának, valamint a megmaradási arányok meghatározása és összehasonlítása.
3. A hímivartermék mikrobiotájának feltérképezése, valamint összetételének vizsgálata rövid távú hűtött és mélyhűtött tárolás során.
4. A végső ivarsejtérés egyes érési stádiumainak megoszlásának és arányának meghatározása, valamint összehasonlítása a változatok között az ivarszervek szövettani elemzésével a spermiáció és ovuláció indukálását követően.
5. A spermatogenezisben kulcsszerepet játszó *rln3a* gén kifejeződésének vizsgálata és összehasonlítása a változatok között agy- és hereszövetben, a molekuláris szinten megjelenő különbségek feltárása érdekében.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatok a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézetének (AKI) létesítményeiben kerültek kivitelezésre. A Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Szent István Campus Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága kijelentette, hogy a kísérleteket a 2010/63/EU irányelvnek megfelelően, és engedélyükkel hajtottam végre (iktatószám: MATE-SZIC/1742-1/2022 és MATE-SZIC/1745-1/2022).

2.1. A kísérleti állomány tartása és kezelése

A vizsgálatokhoz használt F2 generációjú aranyhal anyaállomány hazai tenyésztőtől származott. Az ivarérett egyedeket ivaronként elkülönítve, 3 m³-es recirkulációs akvakultúra-rendszerben tartottam, kéthetes karantént követően. A rendszer mechanikai, biológiai és UV-szűréssel, valamint PLC vezérléssel működött. A vizsgálatok során a folyamatosan monitorozott paraméterek értékei a következők voltak: hőmérséklet: 18–19 °C, oldott oxigén: 7–8 mg/l, pH: 7,8–8,1, alacsony ammónium- és nitrítartalom. A halak naponta egyszer 2% testtömeg-kg száraz takarmányt kaptak.

A vizsgálatok elvégzéséhez az anyaállomány szaporításra történő felkészítése a tenyésztő által alkalmazott módszertan szerint zajlott. A víz hőmérsékletét a kísérleteket megelőzően egy héttel 21–22 °C-ra emeltem, illetve etetésüket két napra felfüggesztettem. A vizsgálatok során az egyedek bódítása 0,4 ml/l 2-fenoxietanollal történt. A spermiációt és az ovulációt fiziológias sóoldatban oldott ponty-hipofízissel indukáltam. Az ikrásokat két részletben, 4 mg/ttkg hormonnal kezeltem 24 órával (10% előadag) és 12 órával (90% döntőadag) a várható ovulációt megelőzően. Tejesek esetén egy adagban (2 mg/ttkg) történt a kezelés, a fejest megelőzően 12 órával. Az ivarterméket a hagyományos módszer szerint a hasfal masszírozásával nyertem ki.

2.2. Statisztikai elemzés

Az adatok feldolgozását Microsoft Excel, Word, IBM SPSS 25, GraphPad Prism 8, Statistica és R programokkal végeztem. A normalitást Shapiro–Wilk és szükség szerint Kolmogorov–Smirnov próbával ellenőriztem. A nem normális eloszlású adatokat arcszínusz vagy logaritmikus függvényekkel transzformáltam. A csoportok összehasonlítására varianciaanalízist (ANOVA), Kruskal–Wallis-próbát, valamint a megfelelő post hoc tesztek szolgáltak. Emellett egyes vizsgálatoknál esélyhányados- (Odds ratio), lineáris diszkriminancia-analízist (LDA), permutációs többváltozós varianciaanalízist (PERMANOVA) és Pearson-féle korrelációelemzést végeztem.

2.3. Kísérleti terv

A kutatómunka során végzett vizsgálatok két egymást követő kísérleti szakaszban valósultak meg. Az első periódusban (2021) végeztem a spermaminőségi, ikraminőségi, szaporítási és lárvanevelési vizsgálatokat. A második periódusban (2023) a mikrobiológiai, szövettani és génexpressziós vizsgálatok történtek.

2.4. Ivarsejtminőség vizsgálat és lárvanevelés

2.4.1. Spermaminőség meghatározás

A sperma minőségének értékelése változatonként 8 egyed összehasonlításával történt. A kísérlet során meghatároztam a sperma teljes (ml) és a testtömeghez viszonyított mennyiségét (ml/ttkg). A minták milliliterenkénti sejtszámát (N , spz/ml) a Bürker-kamrában megszámlált sejtek átlagos számából számítottam. A spermaminták motilitási (pMOT, %) és kinetikai paramétereit (VCL, $\mu\text{m/s}$; VAP, $\mu\text{m/s}$; LIN, %; ALH, μm ; BCF, Hz) (Cabrita et al., 2008; Gallego & Asturiano, 2018) CASA rendszerhez csatlakoztatott digitális kamerával rögzítettem és értékeltem.

2.4.2. Ikraminőség meghatározása és szaporítási vizsgálat

Ikrások (közönséges aranyhal $N = 8$, shubunkin $N = 9$, fekete teleszkópszemű $N = 7$, oranda $N = 8$) esetében meghatároztam a pseudo-gonadoszomatikus index (PGSI, %) értékét, valamint az ikraszemek grammonkénti számát.

A szaporítási kísérlet során meghatároztam a szaporítás hatékonyságát és összehasonlítottam a vizsgált változatok (ikrás; teljes egyedek száma: közönséges aranyhal $N = 8$; 7, shubunkin $N = 9$; 9, fekete teleszkópszemű $N = 7$; 7, oranda $N = 8$; 7) között a következőkben ismertetett mutatók alapján. A termékenyítést megelőzően a sperma mozgási és kinetikai paramétereit CASA segítségével vizsgáltam. A minőségi értékelést követően az öt legmagasabb pMOT (%) értékkel rendelkező mintát kevertem össze és használtam fel a szaporítás során. Az egyedi ikratételeket változatonként összevontam (40 g ikra/változat), majd a spermamintával (330 μl sperma/változat) alaposan elkevertem, ezt követően rendszervízzel aktiváltam [arány: $\sim 10:100:1$ (víz:ikra:sperma) Horváth et al., 1992]. A termékenyítést változatonként elkülönítve végeztem. A termékenyülési arányt a termékenyítést követő 24. órában (szegmentációs szakasz végén) határoztam meg. A kelési arányt szinkronizált keltetés során a kelés pillanatában állapítottam meg.

2.4.3. Lárvafejlődési vizsgálat

A szaporítási vizsgálatból származó lárvák PLC vezérelt recirkulációs Rack rendszerbe kerültek. A nevelést 21–22 °C-on, literenként 50 egyed sűrűséggel végeztem. A véletlenszerű mintavételezés három alkalommal, a kelést követő 0., 3. és 10. napon (days post-hatching, dph) történt, alkalmanként 60 lárva bevonásával. A vizsgálatok előtt a lárvákat 168 mg/l MS222-vel (tricain-metán-szulfonát) bódítottam. Ezt követően a fényképek elkészítéséhez az egyedeket 3%-os metilcellulóz-oldatba helyezve rögzítettem. A vizsgálat során meghatároztam és összehasonlítottam a változatok között a lárvák fejlődési rendellenességének (szomiták, notochord, farok, uszonyok, szív, feji régió, agy, állkapocs, bél) arányát, az átlagos teljes testhosszt (mm) és a testtömeget (g). A megmaradási arányt a nevelési kísérlet végén, 10 dph-nál határoztam meg (Bokor et al., 2015).

2.5. A sperma mikrobiótájának vizsgálata

A mikrobiológiai vizsgálatokhoz használt tejes állomány (egyedek száma vizsgálatonként: közönséges aranyhal $N = 3$; 3, shubunkin $N = 3$; 3, fekete teleszkópszemű $N = 3$; 3 és oranda $N = 3$; 3) mintavételt megelőző hormon kezelése, valamint fejése a korábbi, 2.1. fejezetben leírtakkal azonos módon történt, kiegészítve a mintavételt megelőző urogenitális nyílás alkoholos (70%-os etanol) fertőtlenítésével.

2.5.1. Rövidtávú tárolás

Rövid távú tárolás során a spermát 4 °C-on 96 óráig tároltam. A friss és tárolt minták baktérium telepképző egységeinek számát (CFU/ml) *Aeromonas* agar (AER) és tripton-szója agar (TSA) táptalajokon határoztam meg. A potenciálisan antibiotikum-rezisztens baktériumok kimutatása céljából szelektív tenyésztést végeztem gentamicinnel dúsított Mueller–Hinton (MH) táptalajon. A gombák tenyésztéséhez sztreptomomicinnel (SZ) dúsított burgonya dextróz agar (PDA) táptalajt alkalmaztam. A típusos baktérium- és gombatelepeket Sanger-szekvenálással identifikáltam a mikrobiális közösség összetételének meghatározása céljából.

2.5.2. Hosszútávú tárolás

A spermát, egy korábban fejes domolykó (*Squalius cephalus*) esetében sikeresen alkalmazott hígítóban: 205 mM glükóz, 75 mM NaCl, 30 mM KCl, 1 mM Na₂HPO₄ × 12 H₂O, 1 mM MgCl₂ × 6 H₂O, 1 mM CaCl₂ × 2 H₂O, 20 mM Tris, és 0,5% BSA, pH: 8,0±0,02 (Bernáth et al. 2025), 0,25 ml-es műszalmába töltve mélyhűtöttem 1:9-es hígítási arány és 10% metanol (védőanyag) hozzáadása mellett. A fagyasztott ivartermék tárolása 5 hónapig tartott folyékony nitrogént tartalmazó kanniszteres kannában, -196 °C-on. A minták felolvasztását 40 °C-os keringetős vízfürdőben végeztem (Bernáth, 2016). A fagyasztást

megelőzően és a felolvasztást követően rögzítettem a sperma mozgási paramétereit, meghatároztam a minták baktérium telepkepző egységeinek számát (CFU/ml) és a mikrobiális közösségének összetételét. A tenyésztést nem szelektív TSA és PDA+SZ táptalajokra végeztem. A mélyhűtés során alkalmazott hígítóból és a minták olvasztásához használt vízből szintén elvégeztem a tenyésztést a fent említett táptalajokra az esetleges kontaminációk vizsgálata céljából. A típusos baktérium és gombatelepeket Sanger-szekvenálással identifikáltam.

2.5.3. Izolált törzsek identifikációja

A baktériumok fajszintű azonosítását részleges 16S rRNS szekvenálással végeztem. A vizsgálataim során használt 27f (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') és 1492r (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') a leggyakrabban alkalmazott primer pár a baktériumok faj szintű identifikációjára (Frank et al., 2008; Hou et al., 2018). A DNS izolálását, PCR-amplifikációját és Sanger-szekvenálását követően a 700-1490 bázispár hosszú szekvenciákat az EZBioCloud adatbázis segítségével azonosítottam.

A tenyésztett gombák azonosítását a sejtmagi riboszomális DNS (nrDNA) Internal Transcribed Spacer (ITS) régiójának szekvenálásával végeztem. A vizsgálat során ITS1F (5'-CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA-3') és ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') gomba specifikus primereket használtam faj vagy nemzetség szintű identifikációra. A szekvenciák azonosítását az NCBI BLAST rendszerében, a Nucleotide BLAST (BLASTn) alkalmazásával végeztem.

2.6. Szövetteni elemzés

Az anyaállomány (ikrás; tejes egyedek száma: közönséges aranyhal $N = 6$; 5, shubunkin $N = 5$; 5, fekete teleszkópszemű $N = 5$; 5 és oranda $N = 5$; 5) tartása és kezelése a 2.1. fejezetben leírt módon zajlott. A halak leölése az egyedek fenoxietanollal (0,6 ml/l) történő túlaltatásával történt. A vizsgálathoz a here és a petefészek egészét gyűjtöttem be, majd mérést követően meghatároztam a GSI értékét az ivarszerv tömegének testtömeghez viszonyított arányából. Az ivarszerveket feldolgozásig 8%-os pufferolt formaldehid oldatban tároltam. A herékben a spermatogenezis különböző érési szakaszaiban lévő sejtek és szövetek arányát (spermatogónium A, spermatogónium B, spermatocita, spermatida, spermium, üres lumen, kötőszövet) határoztam meg. A petefészekben az oogenezis érési szakaszaiban lévő sejtek (perinukleoláris, kortikális alvelus, vitellogenikus, érett, valamint atretikus állapot) arányának meghatározását végeztem.

2.7. Génexpresszó meghatározás RT-qPCR segítségével

A kísérleti egyedek számának minimalizálása érdekében a vizsgálati állomány ($N = 5/\text{változat}$) megegyezett a szövettani vizsgálathoz használttal. Az agy és here szövetekből RNS-t izoláltam, melynek a koncentrációját és minőségét spektrofotométerrel mértem. Az RNS-ből reverz transzkripcióval cDNS-t állítottam elő. A háztartási, illetve a vizsgált génhez alkalmazott primerek saját tervezésűek voltak. A kvantitatív valós idejű PCR (RT-qPCR) reakciót 5X Hot FIREPol EvaGreen qPCR Mix Plus felhasználásával, StepOne v2.3 szoftverrel végeztem. A vizsgált *rln3a* gén kifejeződését a *beta-actin* háztartási gén (Maruyama et al. 2006) kifejeződéséhez viszonyítva, normalizált mRNS szintben fejeztem ki (Ivánovics, 2023).

3. EREDMÉNYEK

3.1. Az ivarsejtminőség és lárvafejlődés vizsgálat eredményei

3.1.1. Spermaminőség meghatározás eredményei

A négy változat alap spermatológiai paramétereinek összehasonlítása során, a sperma mennyisége, a testtömeg-kilogrammonkénti sperma mennyisége és a sejtsűrűség között nem volt statisztikailag igazolható különbség.

A CASA rendszerrel mért motilitási paraméter, azaz a pMOT esetén szignifikánsan magasabb érték volt megfigyelhető a shubunkin ($89\pm 7\%$) és az oranda ($91\pm 2\%$) csoportokban, mint a fekete teleszkópszemű változatnál ($79\pm 13\%$). A fekete teleszkópszemű és a közönséges aranyhal ($87\pm 7\%$) között azonban nem volt statisztikailag igazolható különbség ebben a minőségi mutatóban. A sperma kinetikai paramétereinek, a VCL, VAP, LIN, ALH és BCF értékeiben nem volt jelentős mértékű eltérés a változatok között.

A lineáris diszkriminancia-analízis (LDA) alapján a közönséges aranyhal és a fekete teleszkópszemű változat egyértelműen elkülönül a shubunkin és oranda változatoktól a vizsgált spermaminőségi és mennyiségi paraméterek tekintetében. Az elkülönülést elsősorban a pMOT, az ALH és az SV/BW paraméterek határozták meg, amelyek magasabb értékei elsősorban a shubunkin és az oranda változatokhoz kapcsolódtak.

A szaporítás során használt sperma CASA rendszerrel mért motilitási mutatójában statisztikailag igazolható különbség volt megfigyelhető a változatok között. Az oranda ($78\pm 11\%$) esetén szignifikánsan alacsonyabb progresszív motilitás értéket rögzítettem, mint a közönséges aranyhal ($92\pm 3\%$) és a fekete teleszkópszemű ($91\pm 2\%$) változatoknál. A shubunkin ($84\pm 11\%$) ugyanazon paramétere a többi változattal összevetve nem mutatott szignifikáns különbséget. A változatok spermamintáinak kinetikai paraméterei között nem találtam jelentős mértékű eltérést.

3.1.2. Ikraminőség meghatározás és szaporítási vizsgálat eredményei

Ikraminőség meghatározás

Az ikrás egyedek alap szaporodásbiológiai paramétereiben jelentős eltéréseket rögzítettem a változatok között. Az oranda ($18\pm 4\%$) esetén szignifikánsan magasabb PGSI értékek voltak megfigyelhetők, mint a közönséges aranyhal ($9\pm 5\%$) és a shubunkin ($10\pm 4\%$) változatokban. Emellett a fekete teleszkópszemű aranyhálnál ($16\pm 3\%$) szignifikánsan magasabb volt ugyan ez a mutató, mint a közönséges aranyhálnál. A grammonkénti ikraszám a fekete teleszkópszemű változatban (1091 ± 69) szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a közönséges aranyhal esetében (1733 ± 606), míg a shubunkin (1633 ± 387) és az oranda (1431 ± 435) változat egyik vizsgált csoporttól sem tért el szignifikánsan.

Szaporítási vizsgálat

A szaporítási kísérlet során mind a termékenyülési, mind a kelési arányban eltéréseket találtam a változatok között. Az oranda (93%) esetében szignifikánsan magasabb termékenyülési arányt határoztam meg a közönséges aranyhal (71%), a shubunkin (79%) és a fekete teleszkópszemű (79%) változatokhoz képest. A fekete teleszkópszeműnél (44%) szignifikánsan alacsonyabb kelési arányt rögzítettem, mint a másik három változatnál [közönséges aranyhal (63%), shubunkin (69%), oranda (71%)].

Lárvafejlődési vizsgálat eredményei

A lárvavizsgálat során a négy változat egyedeinek fejlődése a vizsgált stádiumokban viszonylag homogénnek bizonyult.

A frissen kelt (0 dph) lárvák teljes testhossz mérése során szignifikánsan alacsonyabb értéket rögzítettem a közönséges aranyhalnál ($3,9 \pm 0,2$ mm), a shubunkin ($4,7 \pm 0,2$ mm) változathoz képest. A fekete teleszkópszemű ($4,2 \pm 0,3$ mm) és oranda ($4,5 \pm 1,0$ mm) változatoknál azonban nem mértem jelentős eltérést a többi változathoz képest. Ugyanazon fejlődési stádium testtömeg mérésénél nem találtam különbséget a változatok között (közönséges aranyhal $0,35 \pm 0,06$ mg; shubunkin $0,47 \pm 0,1$ mg; fekete teleszkópszemű $0,49 \pm 0,07$ mg; oranda $0,5 \pm 0,6$ mg).

A kelést követő harmadik napon (3 dph) a shubunkin ($5,3 \pm 0,3$ mm) teljes testhossza szignifikánsan alacsonyabb volt az orandáénál ($5,6 \pm 0,3$ mm), míg a közönséges ($5,4 \pm 0,4$ mm) és fekete teleszkópszemű aranyhalnál ($5,5 \pm 0,4$ mm) nem volt jelentős eltérés a többi változathoz képest. A lárvák testtömege (közönséges aranyhal $1,1 \pm 0,2$ mg; shubunkin $1,1 \pm 0,2$ mg; fekete teleszkópszemű $1,4 \pm 0,3$ mg; oranda $1,4 \pm 0,3$ mg) között nem mutatkozott jelentős különbség.

A 10. napon (10 dph) hasonló teljes testhossz értéket rögzítettem a közönséges aranyhal ($8,0 \pm 0,8$ mm) a shubunkin ($7,9 \pm 0,7$ mm), a fekete teleszkópszemű ($8,2 \pm 0,8$ mm) és az oranda ($8,2 \pm 0,9$ mm) esetén is. A nyújtott testalakú közönséges aranyhal ($4,3 \pm 1,35$ mg) és shubunkin ($3,9 \pm 1,2$ mg) változatok testtömege azonban szignifikánsan alacsonyabb volt ebben a szakaszban, mint a gömbölyű testalakú fekete teleszkópszemű ($5,4 \pm 1,4$ mg) és oranda aranyhalaké ($5,1 \pm 1,6$ mg).

A lárvák morfológiai elemzése során több esetben egyedenként egynél több rendellenességet figyeltem meg. Kelés után a shubunkin (70%) és a fekete teleszkópszemű aranyhalnál (75%) szignifikánsan nagyobb arányban rögzítettem morfológiai rendellenességet, mint a közönséges aranyhal (35%) és oranda (40%) változatoknál. A kelést követő harmadik napon nem volt kimutatható szignifikáns különbség a vizsgált változatoknál előforduló deformitások arányában (közönséges aranyhal 40%; shubunkin 25%; fekete teleszkópszemű 45%; oranda 25%). A 10. napon a rendellenességek előfordulása szignifikánsan alacsonyabb arányban volt megfigyelhető a közönséges aranyhalban (5%), mint a többi

változat esetén (shubunkin 25%, fekete teleszkópszemű 60%, oranda 35%). A fekete teleszkópszemű aranyhalnál ugyanakkor jelentősen magasabb arányban rögzítettem deform lárvát a közönséges aranyhal és shubunkin változatoknál.

Az LDA alapján a közönséges aranyhal a lárvadeformitások mintázata alapján egyértelműen elkülönült a többi változattól, és esetében összességében alacsonyabb deformitási arány volt megfigyelhető. A shubunkin változat elkülönülését elsősorban az állkapocsdeformitások magasabb előfordulása magyarázta, míg a fekete teleszkópszemű aranyhal esetében az uszonydeformitások és az összes deformitás nagyobb aránya volt meghatározó. Az oranda változat kevésbé markáns elkülönülést mutatott.

A 10 napos lárvanevelés végén a megmaradási arány szignifikánsan magasabb volt a közönséges aranyhal (95%) esetén, mint a shubunkin (91%) és oranda (92%) változatoknál. A fekete teleszkópszemű (93%) nem mutatott szignifikáns eltérést a többi változathoz képest.

3.2. A sperma mikrobióta vizsgálatának eredményei

3.2.1. Rövid távú tárolás eredményei

A telepszám vonatkozásában az *Aeromonas* táptalajon a friss mintákban a telepszám $2,2 \times 10^3$ és $1,1 \times 10^5$ CFU/ml, míg 96 óra elteltével $6,7 \times 10^7$ és $2,8 \times 10^8$ CFU/ml között alakult. Habár nem volt szignifikáns különbség sem a változatok között adott vizsgálati időpontban, sem az adott változat mintái között 0 és 96 óránál, egyértelmű növekedés volt megfigyelhető a telepszámokban a tárolás végére.

A TSA táptalajon a friss minták $1,7 \times 10^4$ és $3,4 \times 10^6$ CFU/ml közötti értéket mutattak, míg 96 óra elteltével valamivel egyöntetűbb, $1,1 \times 10^8 - 2 \times 10^8$ milliliterenkénti telepszámot rögzítettem a változatok mintáiban. A 96 órás tárolás végére egyértelmű növekedés volt megfigyelhető a kezdeti (0 h) állapothoz képest, azonban nem mutatkozott szignifikáns különbség sem a változatok, sem az időpontok között.

A friss (0 h) minták esetén a közönséges aranyhal 15, az oranda változatokban 13 baktérium faj, míg a shubunkin és a fekete teleszkópszemű aranyhalak mintáiból, valamivel alacsonyabb számú, 10–10 faj került azonosításra. *Aeromonas veronii*, valamint a *Microbacterium*, *Chryseobacterium* és *Stenotrophomonas* nemzetségek több képviselője minden változatban megtalálható volt. A *Brevundimonas* (1) és *Sphingomonas* (1) nemzetség tagjait csak a közönséges aranyhal egy-egy egyedénél, az *Acinetobacter* (1), *Micrococcus* (1), és *Rhodococcus* (1) fajait a shubunkin szintén egy-egy egyedénél, míg *Glutamicibacter* (1) két egyedénél izoláltam. *Serratia* (1) fajt a fekete teleszkópszemű, *Exiguobacterium* (1) és *Comamonas* (1) fajokat pedig az oranda egy-egy egyedéből azonosítottam.

A tárolás végén (96 h) a változatok mindegyikében a *Pseudomonas* (6), *Aeromonas* (6) és a *Stenotrophomonas* (2) nemzetség tagjai voltak többségében

megtalálhatóak. *Shewanella* (1) fajt csak a közönséges aranyhal, *Morganella* (1) fajt a shubunkin változat mintáiból azonosítottam. *Serratia* (1) faj kizárólag a fekete teleszkópszemű változat esetén volt azonosítható. A friss mintákból, valamint a tárolást követően a *Rhodococcus*, *Chryseobacterium*, *Pseudomonas*, *Morganella* nemzetségbe tartozó fajok fenotípusos rezisztenciát mutattak a sztreptomomicinnel szemben, míg a *Comamonas* nemzetség képviselőjénél gentamicin rezisztenciát rögzítettem. A vizsgálat során több nemzetségnél (*Sphingobacterium*, *Delftia*, *Stenotrophomonas*) figyeltem meg a két alkalmazott antibiotikummal szembeni rezisztenciát.

A gombatelepek vizsgálata során a rövid távú tárolás kezdeti időpontjában (0 h) a *Penicillium* nemzetség legalább egy tagját minden aranyhal változathoz izoláltam. Ezen felül a fekete teleszkópszemű és az oranda esetén *Cladosporium halotolerans*, a közönséges aranyhal és a shubunkin mintáiból *Aspergillus versicolor*-t azonosítottam. A tárolás végén, 96 óra elteltével, a vizsgált változatok mintáiban kizárólag *Penicillium* fajokat azonosítottam. A *Penicillium chrysogenum* minden változatnál izolálható volt, míg a fekete teleszkópszemű, valamint az oranda változatok mintáiból további két fajt is azonosítottam.

3.2.2. Hosszútávú tárolás eredményei

A hosszú távú tárolást követően a spermiumok mozgási és kinetikai paraméterei enyhén csökkentek a friss mintákhoz képest, azonban sem a friss és felolvasztott minták között az egyes változatokon belül, sem az azonos időpontban összehasonlított változatok között nem mutatkozott szignifikáns különbség.

A milliliterenkénti telepszámok a friss mintákban $2,6 \times 10^6$ és $1,1 \times 10^7$, míg a fagyasztott mintákban $4,1 \times 10^6$ és $2,1 \times 10^7$ között alakultak. Az elemzés alapján sem a változatok, sem a friss és felolvasztott minták között nem volt szignifikáns különbség. Míg a felolvasztást követően a telepszámok nem mutattak számottevő növekedést, a fajösszetétel jelentősen változatosabbá vált.

A hosszútávú tárolás kezdeti időpontjában változatanként 3–5 fajt azonosítottam a friss spermamintákból. *Aeromonas veronii*, valamint a *Vibrio* nemzetség tagjai minden változatban megtalálhatóak voltak. *Pseudomonas putida* pedig jelen volt a közönséges aranyhal, valamint a shubunkin spermamintáiban. Ezen felül a közönséges aranyhal mintából *Microbacterium tenebrionis*-t, shubunkinból *Micrococcus luteus*-t, fekete teleszkópszeműből *Paracoccus yeii*-t, valamint oranda-ból a *Staphylococcus* és *Kocuria* nemzetségek egy-egy képviselőjét azonosítottam.

A minták öt hónapos, -196°C -on történő tárolását követően a négy változat mintáiban 18 nemzetség képviselőjét azonosítottam. Legnagyobb számban a *Pseudomonas* fajok voltak izolálhatóak, illetve az *Agromyces* egyes fajtái és a *Shewanella xiamenensis* is előfordultak minden változat esetén. A felolvasztást követően minden mintából ismételtelen azonosítható volt az *Aeromonas veronii*, valamint a shubunkin mintákból izolált *Micrococcus luteus*. Az azonosított fajok

nem voltak változatspecifikusak. A mélyhűtés során alkalmazott hígítóból négy fajt izoláltam, amelyek közül kettő, a *Pseudomonas juntendi* és a *Stutzerimonas kunmingensis*, ugyanakkor a minták fajdiverzitásában bekövetkezett változás ennek ellenére is számottevőnek bizonyult. A felolvasztás során használt vízből izolált fajok nem voltak visszanyerhetőek a mintákból.

A gombafaj összetételének vizsgálata során friss állapotban a közönséges aranyhal mintáiból egy *Penicillium* fajt azonosítottam, a shubunkin esetén azonban nem izoláltam gombafajt. A fekete teleszkópszemű változat spermamintáiból *Penicillium* (1), *Aspergillus* (2), valamint *Trichosporon* (1) fajokat, az orandáéból *Penicillium* (3), *Aspergillus* (1), és *Cladosporium* (1) fajokat azonosítottam. Olvasztást követően a fekete teleszkópszemű aranyhal mintáiból egy *Aspergillus*, az orandáéból pedig egy *Penicillium* fajt izoláltam.

3.3. A szövettani vizsgálat eredményei

A szövettani és génexpressziós vizsgálatokhoz felhasznált egyedek gonadoszomatikus indexe (GSI) mindkét ivar esetében jelentős eltéréseket mutatott a vizsgált aranyhalváltozatok között. Az ikrás egyedek esetében a shubunkin ($16,1 \pm 4,6\%$) és a fekete teleszkópszemű ($14,1 \pm 4,5\%$) változatok szignifikánsan magasabb GSI-értékkel rendelkeztek, mint az oranda ($6,0 \pm 1,9\%$) és a közönséges aranyhal ($1,8 \pm 0,9\%$). A tejes egyedek esetében szintén a shubunkin ($7,2 \pm 2,4\%$) és a fekete teleszkópszemű ($6,0 \pm 1,9\%$) változatok mutatták a legmagasabb GSI-értékeket, amelyek szignifikánsan meghaladták a közönséges aranyhal ($2,5 \pm 1,3\%$) és az oranda ($2,9 \pm 1,2\%$) egyedeinél mért értékeket. Utóbbi két változat között viszont nem mutatkozott statisztikailag igazolható különbség.

A petefészek, hormonkezelést követő, vizsgálata során mind a négy aranyhal változatban az ivarsejtek túlnyomó többsége az elsődleges növekedés I. szakaszában, a perinukleoláris stádiumban, volt. Ennek aránya azonban jelentős variabilitást mutatott a változatok között: a közönséges aranyhalnál ($96,9 \pm 3,1\%$), az orandánál ($82,4 \pm 10,1\%$) magasabb, míg a shubunkinnál ($39,2 \pm 7,3\%$) és a fekete teleszkópszeműnél ($59,9 \pm 7,4\%$) lényegesen alacsonyabb értékeket mértem. Az említett stádiumban mind a négy változat között szignifikáns különbség volt megfigyelhető. Az elsődleges növekedés II. szakaszában, a kortikális alveolus stádiumban lévő sejtek aránya a közönséges aranyhal ($1,8 \pm 2,2\%$) esetén szignifikánsan alacsonyabb értéket mutatott, mint a shubunkin ($17,2 \pm 4\%$), a fekete teleszkópszemű ($13,5 \pm 3,6\%$), valamint az oranda ($8,3 \pm 2\%$) változatoknál. A másodlagos növekedési szakasz, vitellogenikus stádiumában lévő sejtek aránya a shubunkin ($32,1 \pm 13,3\%$) és a fekete teleszkópszemű változatok ($25,2 \pm 10,4\%$) esetén volt a legmagasabb arányban. Ezek az értékek szignifikánsan meghaladták a közönséges aranyhal ($0,6 \pm 1,4\%$) és az oranda ($5,3 \pm 3,2\%$) értékeit. Vizsgálatom során a sejtek érési fázisát tekintve az érett és az atretikus oociták voltak a legkisebb arányban rögzíthetőek, melyek értékeiben nem volt különbség a változatok között.

A here szövettani vizsgálata során, a hormonális kezelés utáni 12. órában mind a négy aranyhal változatnál a spermiumok fordultak elő legnagyobb

arányban. A változatok között nem volt kimutatható szignifikáns különbség (közönséges aranyhal: $74,5 \pm 0,8\%$; shubunkin: $74 \pm 5,1\%$; fekete teleszkópszemű: $60,3 \pm 7,2\%$; oranda: $58,4 \pm 20,7\%$). A spermatogenezis korai szakaszaiban (spermatogónium, spermatocita, spermatida) szintén nem volt kimutatható szignifikáns eltérés a változatok között.

3.4. A génexpresszió meghatározás eredményei

A *rln3a* gén agyszövetben mért kifejeződésében nem volt szignifikáns különbség a változatok között.

Az agyszövettől eltérően a *rln3a* gén hereszövetben mért kifejeződésének mértékében statisztikailag igazolható különbség mutatkozott. A here normalizált mRNS szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a közönséges aranyhalban, mint a shubunkin esetén. A fekete teleszkópszemű és az oranda értékei nem mutattak jelentős eltérést a többi változathoz képest.

A négy változat egyedeit együttesen vizsgálva ($N = 20$) szignifikáns, közepes erősségű pozitív korreláció volt kimutatható a GSI-értékek és a hereszövetben mért *rln3a* mRNS-szint között (Pearson-féle korreláció, $R = 0,5112$).

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS A JAVASLATOK

4.1. Következtetések

A fellelhető szakirodalmi adatok alapján elmondható, hogy az aranyhal szaporodásbiológiai mutatóiban megfigyelhető különbségeket számos tényező befolyásolhatja. A reprodukciós teljesítményre az egyedi tulajdonságok mellett, mint a testméret, kor és kondíció, nagy mértékben hatással vannak a külső tényezők. A környezet fizikai és kémiai paraméterei, a rendelkezésre álló tér és táplálék, valamint az ivararány mind befolyásolják a halak szaporodásbiológiáját. Munkám során az azonos korú, azonos populációból származó és egységes környezeti feltételek mellett tartott és kezelt aranyhal változatok vizsgálata lehetőséget biztosított, hogy a megfigyelt szaporodásbiológiai különbségek a változatokra jellemző fenotípusos sajátosságokkal és azok feltételezhető genetikai hátterével összefüggésbe hozhatók legyenek.

Eredményeim alapján egyértelmű különbség mutatkozik a négy változat alap szaporodási mutatóiban és a lárvák korai fejlődésében. Ikrások esetén jelentős eltérések mutatkoztak az ivarsejtek minőségi és mennyiségi paramétereiben, míg a tejesek esetén nem volt markáns különbség az egyes változatok között. Az ikrások testalakja és reprodukciós paraméterei között tendencia volt megfigyelhető. A gömbölyű testalakkal rendelkező változatok (fekete teleszkópszemű, oranda) esetén magasabb pseudo-gonado-szomatikus indexet, azonban alacsonyabb grammonkénti ikraszámot rögzítettem, mint az elnyújtott testformájú változatoknál (közönséges aranyhal, shubunkin). Ez arra utal, hogy a testforma és az ahhoz kapcsolódó élettani sajátosságok befolyásolhatják az ikrás egyedek relatív ivartermék-mennyiségét és potenciális reprodukciós kapacitását. Ugyanakkor a változatok ikrás egyedei nem mutattak jelentős eltérést a pontyfélék családjában korábban vizsgált fajokétól az ivarszerv testtömeghez viszonyított arányában. Eredményeim alapján a változatokra jellemző fenotípusos sajátosságok, és feltételezhetően azok genetikai háttere, hatással lehetnek a vizsgált reprodukciós paraméterekre, a két ivar szaporodásbiológiai tulajdonságait eltérő módon befolyásolva.

A lárvanevelési vizsgálat során a növekedés és fejlődés előrehaladtával csökkent a morfológiai rendellenességekkel rendelkező egyedek aránya. Ebben feltételezhető a természetes szelekció szerepe, ugyanakkor az eredmények alapján nem igazolható egyértelműen, hogy kizárólag ez állna a deformitási arány változásának hátterében. A fejlődési rendellenességek jellege változatspecifikus mintázatot mutatott, a szimplafarkú, elnyújtott testalakú változatoknál a feji régió deformációja nagyobb arányban fordult elő. Az ikerfarkú, gömbölyű egyedeknél ugyanakkor az uszonyok deformációja volt gyakrabban megfigyelhető. A fejlődési ütemben szintén testalakhoz köthető mintázatot rögzítettem. A kelést követő tizedik nap végére jelentős testtömeggyarapodásbeli lemaradás volt tapasztalható az elnyújtott testformával rendelkező változatoknál. A fekete teleszkópszemű aranyhalnál megfigyelhető alacsony kelési arány és a fejlődési

rendellenességek magasabb aránya feltehetően a gyengébb minőségű ikratételeknek, valamint a sajátos fenotípusos jegyeknek volt köszönhető. A szakirodalmi adatok, valamint eredményeim egyértelműen azt mutatják, hogy a mesterséges szelekció során kialakult fenotípusos sajátosságok már embrionális kortól eltéréseket eredményeznek a különböző változatok között. Ez hatással van a kelésre, a lárvafejlődésre és a megmaradásra egyaránt.

Az aranyhalak sperma mikrobiotájának vizsgálata során változatos baktérium- és gombaközösséget azonosítottam. Változatspecifikus összetétel nem volt megfigyelhető, ugyanakkor számos faj átfedést mutatott az egyedek mintái között. Ebből megállapítható, hogy az aranyhal sperma mikrobiotáját a környezet és a gazdaszervezet biológiai sajátosságai együttesen befolyásolják. A sperma tenyésztető mikrobiális közössége jelentős változáson ment keresztül a tárolási folyamatok során, ugyanakkor a baktériumflóra összetételének változását a mintákban található összcsíraszám nem reprezentálta. A rövid távú hűtve történő tárolás során pszichrofil és pszichrotoleráns, gyakran fakultatív- vagy opportunistá patogén baktériumok váltak dominánssá. A gombák esetében a friss mintákban valamivel nagyobb diverzitás volt megfigyelhető (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*), míg 96 óra elteltével, kizárólag *Penicillium* fajok voltak izolálhatók. Ebből arra lehet következtetni, hogy az alkalmazott tárolási körülmény szelektív nyomást gyakorolt a sperma mikrobiális közösségére, elősegítve olyan fajok felszaporodását, amelyek potenciálisan negatív hatással lehetnek a sperma minőségére, ezáltal annak termékenyítőképességére és a szaporítás sikerességére. A *Penicillium* nemzetség fajai az eredmények alapján kompetitív előnnyel rendelkeztek a vizsgált körülmények között. Szakirodalmi adatok és a mélyhűtés során rögzített megnövekedett baktérium fajdiverzitás együttesen arra utal, hogy a folyékony nitrogénben, nyitott műszalmában történő, mintatárolás azok kontaminációját eredményezi. Ez nem kizárólag a spermaminták minőségi romlásához vezethet, de a minták felhasználása lehetőséget teremt a fakultatív- és opportunistá patogén baktériumok továbbvitelére az utódállományba. Ugyanakkor a gombafajok számának és diverzitásának csökkenéséből következtethető, hogy a spermamélyhűtés, az extrém hidegben történő tárolás, valamint a felolvasztás erős szelekciós nyomást gyakorol a gombaközösségre. Csak bizonyos, stressztoleranciát mutató fajok képesek fennmaradni az említett környezeti feltételek mellett.

Az azonos körülmények és kezelési protokoll ellenére az egyes változatok ivarszervének relatív méretében, valamint a végső ivarsejt érésben eltérés volt megfigyelhető. Ikrások esetén a különböző érési stádiumok arányaiban rögzített különbségek azt mutatják, hogy a változatok eltérő hatékonysággal reagáltak a hormonkezelésre. Emellett általánosan megállapítható, hogy a hormonkezelést követő 24 óra nem volt elegendő az érett oocita állapot eléréséhez. A spermiumok magas aránya ugyanakkor minden változatnál azt jelzi, hogy a hímek hasonló mértékben reagáltak a hormonális kezelésre, és az ivarérett egyedek az ivásra való felkészültség előrehaladott állapotában voltak. Az eredmények arra utalnak, hogy a vizsgált aranyhalváltozatok hormonális indukcióra adott válasza eltérő lehet,

ami különbségeket eredményezhet az ivarszervek fejlettségében és a végső ivarsejtérés előrehaladásában. Ezek a különbségek összefüggésben állhatnak a változatok eltérő genetikai hátterével és a fenotípusukhoz kapcsolódó élettani sajátosságokkal.

A molekuláris vizsgálat eredményei alapján a változatok az agyszövetben rögzített *rln3a* expresszió mértékének hasonlósága, a szakirodalommal összhangban, a neuroendokrin funkciók konzerváltságát tükrözi. Ezzel szemben, a hereszövetben mért eltérések a spermatogenezis változatfüggő szabályozására utalhatnak.

A GSI értékeket, a szövettani eredményeket, valamint az *rln3a* kifejeződését együttesen értékelve az állapítható meg, hogy az egyes változatok eltérő mértékben reagálnak a hormonális indukcióra. Eredményeim alapján a spermatogenezis végső érési folyamatát befolyásoló mechanizmusok változatfüggő eltéréseket mutatnak.

A többezer éves mesterséges szelekció hatása egyértelmű nyomot hagyott a vizsgált aranyhal változatok szaporodási képességén és lárvafejlődésén. Eredményeim hozzájárulhatnak a mesterséges szelekció reprodukciós folyamatokra gyakorolt hatásának jobb megértéséhez.

4.2. Javaslatok

A doktori munkám eredményei alapján a következő javaslatokat fogalmaztam meg:

- a) Változatonként szisztematikus ivarsejt minőségi és mennyiségi vizsgálaton átesett anyaállományok kialakítása:
 - javaslom a szaporítását megelőzően egyedenként legalább a sperma motilitásának vizsgálatát, de célszerű további minőségi paraméterek rögzítése is;
 - javaslom a változatoként megfelelő sperma-ikra arány meghatározását.
- b) Ikrások esetén javaslom a ponty hipofízissel történő kezelés és a fejés közötti 24 órás időintervallum meghosszabbítását és változatonként történő pontos meghatározását a minél nagyobb arányú érett oocita elérése érdekében.
- c) Javaslom az alkalmazandó hormon dózis változatonkénti meghatározását, valamint összehangolni a két ivar kezelésének időzítését a szaporítás hatékonyságának növelése érdekében.
- d) Javasolt a mintavételi és tárolási protokollok finomítása a spermaminták begyűjtése és tárolása során fellépő mikrobiális kontamináció minimalizálása érdekében. A minták esetleges keresztszennyeződésének megelőzése céljából indokolt a zárható mintatároló edények alkalmazása, valamint a folyékony nitrogén mikrobiológiai tisztaságának fenntartása. Továbbá a tárolni kívánt

minták antibiotikus kezelése helyett alternatív (pl.: probiotikum alapú) módszerek kidolgozását javaslom.

- e) Gazdaságilag jelentős halfajok esetében indokolt az ivartermékek termékenyítő képessége és azok mikrobiomja közötti összefüggések feltérképezése. Továbbá, szükséges az izolált baktériumok és gombák által termelt bioaktív vagy toxikus metabolitok ivartermékminőségre és embriófejlődésre gyakorolt hatásának vizsgálata.
- f) Javasolt az *rln3a* gén kifejeződésének vizsgálata az ivari ciklus különböző szakaszaiban.
- g) Javaslom az *rln3a* gén alkalmazhatóságának vizsgálatát, mint a here működésének molekuláris markere.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Megállapítottam, hogy az azonos korú és körülmények között tartott aranyhal változatok egyedeinek (közönséges aranyhal, a shubunkin, a fekete teleszkópszemű, oranda) az ivartermék minőségi és mennyiségi paramétereiben jelentős eltérések mutatkoznak. Elsőként határoztam meg az aranyhal, azon belül is a négy változat grammonkénti ikraszámát. Továbbá, standardizált körülmények között először hasonlítottam össze a négy változat termékenyülési (közönséges aranyhal: 71%; shubunkin: 79%; fekete teleszkópszemű: 79%; oranda: 93%) és kelési arányait (közönséges aranyhal: 63%; shubunkin: 69%; fekete teleszkópszemű: 44%; oranda: 71%) és igazoltam jelentős eltéréseket közöttük. Ikrás aranyhalak esetén megállapítottam, hogy azonos hormonális kezelés hatására a végső ivarsejtérés eltérő, míg tejeselek esetén azonos ütemben zajlik le a vizsgált változatokban.

2. Megállapítottam, hogy az általam vizsgált négy változat fejlődési rendellenességeinek aránya a kelést követően (közönséges aranyhal: 35%; shubunkin: 70%; fekete teleszkópszemű: 75%; oranda: 40%), illetve a 10. napon (közönséges aranyhal: 5%; shubunkin: 25%; fekete teleszkópszemű: 60%; oranda: 35%), valamint a lárvanevelést követő megmaradása (közönséges aranyhal: 95%; shubunkin: 91%; fekete teleszkópszemű: 93%; oranda: 92%) jelentős mértékben eltér. Továbbá, megfigyeltem, hogy a változatok lárváinak növekedési üteme és a deformitásba érintett testrészek összefüggést mutatnak a változatra jellemző testalakokkal.

3. Négy változat bevonásával elsőként írtam le az aranyhal hímvartermékének tenyésztethető mikrobiális közösségét friss mintákban, rövid távú hűtött (4 °C), valamint hosszú távú mélyhűtve (-196 °C) történő tárolás során. Eredményeim igazolják, hogy az aranyhal sperma mikrobiális közösségének diverzitása, valamint faj- és nemzetség szintű összetétele jelentősen megváltozik úgy a rövid távú hűtött, mint a hosszú távú mélyhűtött tárolás során.

4. Elsőként hasonlítottam össze a *rln3a* gén kifejeződésének mértékét eltérő fenotípusú aranyhal változatok agy- és hereszöveiteiben. Vizsgálataim igazolták, hogy az agyszövetekben az expresszió konzervált, míg a hereszövetben eltérés figyelhető meg a változatok között, mely a here működésének változatok közötti különbségeire utal.

6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

6.1. Nemzetközi folyóiratban megjelent közlemények

Bernáth, G., **Nagy, B.**, Bartucz, T., Csókás, E., Petényi, R., Bartos, I., Hegyi, Á., Csorbai, B., Ivánovics, B., Molnár, J., Urbányi, B., Bokor, Z. (2025). Large-scale cryopreservation affects sperm characteristics and hatching rate but not growth, malformation and survival rate in chub (*Squalius cephalus*) larvae. *Aquaculture*, 602, 742362.

DOI: [10.1016/j.aquaculture.2025.742362](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.742362)

Nagy, B., Csorbai, B., Várkonyi, L., Staszny, Á., Molnár, J., Láng, Z. L., Bartucz, T., Ittész, I., Urbányi, B., Bokor, Z., Bernáth, G. (2024). Comparative study on the gamete quality, artificial propagation and larval development of common goldfish, shubunkin, black moor, and oranda variants of goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture*, 582, 740502.

DOI: [10.1016/j.aquaculture.2023.740502](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740502)

Bokor, Z., Fodor, F., Várkonyi, L., **Nagy, B.**, Láng, Z. L., Ferincz, Á., Staszny, Á., Molnár, J., Lefler, K. K., Csorbai, B., Vancsura, Z., Szári, Zs., Urbányi, B., Bernáth, G. (2024). Biological parameters and spermatogenesis in razorfish (*Pelecus cultratus*) population inhabiting the largest shallow lake of Central Europe (Lake Balaton): studies for in vitro conservation purposes. *Aquaculture Research*, 2024(1), 6695280.

DOI: [10.1155/2024/6695280](https://doi.org/10.1155/2024/6695280)

Bokor, Z., Láng, Z. L., Várkonyi, L., Fodor, F., **Nagy, B.**, Csókás, E., Molnár, J., Csorbai, B., Csenki-Bakos, Zs., Ivánovics, B., Griffiths, J. D., Urbányi, B., Bernáth, G. (2024). The growth performance of pond-reared common carp (*Cyprinus carpio*) larvae propagated using cryopreserved sperm. *Fish Physiology and Biochemistry*, 50(5), 2001–2012.

DOI: [10.1007/s10695-023-01245-x](https://doi.org/10.1007/s10695-023-01245-x)

Bernáth, G., Csorbai, B., **Nagy, B.**, Csókás, E., Molnár, J., Bartucz, T., Láng, Z. L., Gyurcsák, M., Hegyi, Á., Kobolák, J., Griffiths, J. D., Ferincz, Á., Bokor, Z. (2023). The investigation of post-thaw chilled storage and the applicability of large-scale cryopreservation in chub (*Squalius cephalus*) sperm. *Cryobiology*, 113, 104588. DOI: [10.1016/j.cryobiol.2023.104588](https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2023.104588)

6.2. Hazai folyóiratban megjelent közlemények

Bernáth, G., Csorbai, B., **Nagy, B.**, Kaszab, E., Suhajda, Á., Farkas, M., Urbányi, B., Bokor, Z. (2023). A mikrobiom kutatás szerepe az akvakultúrában. *Acta Agronomica Óváriensis*, 64(2), 164–178. 15 p.

Nagy, B., Bernáth, G., Várkonyi, L., Molnár, J., Láng, L.Z., Izsák, T., Bartucz, T., Ittész, I., Ittész, Á., Urbányi, B., Bokor, Z. (2022). The comparison of sperm motility and density in four different goldfish (*Carassius auratus*) types. *Acta Agraria Debreceniensis*, (1), 135–140.

Láng, L.Z., Bernáth, G., Bokor, Z., Csorbai, B., Fodor, F., Szári, Zs., Molnár, J., **Nagy, B.**, Csenki-Bakos, Zs., Urbányi, B., Várkonyi, L. (2022). A balatoni sudár ponty (*Cyprinus carpio morpha accuminatus*) indukált szaporítása és intenzív rendszerben történő lárvanevelésének vizsgálata. *Állattenyésztés és takarmányozás* 71: 1 pp. 36–43., 8 p.

6.3. Nemzetközi konferencia kiadványban megjelent közlemények

Előadás

Várkonyi, D., Kaszab, E., **Nagy, B.**, Csorbai, B., Farkas, M., Bartucz, T., Kathi, L., Bartos, I., Ádám, R., Radóczy, J., Bokor, Z., Dzsudzsák, E., Harkai, P., Urbányi, B., Kobolák, J., Bernáth, G. (2025). Investigation on the relationship between reproductive biology and the microbial community in common carp (*Cyprinus carpio*). In: Book of Abstracts of Aquaculture for Everyone – Aquaculture Europe 2025, Valencia, Spain. 2025.09.22-25. pp. 1844–1845.

Kaszab, E., Farkas, M., Várkonyi, D., Csorbai, B., **Nagy, B.**, Harkai, P., Radóczy, J., Ekici, A., Demircan Akyasan, M. D., Çanak, Ö., Kobolák, J., Bernáth, G. (2025). The analysis and identification of potential probiotic candidates from common carp (*Cyprinus carpio*) gut and gametes. In Abstracts of the 7th Central European Forum for Microbiology, Siófok, Hungary, 2025.10.6-8. pp. 32–33.

Nagy, B., Bokor, Z., Kaszab, E., Suhajda, Á., Farkas, M., Bartucz, T., Csorbai, B., Urbányi, B., Bernáth, G. (2024). Detailed analysis of bacterial and fungal communities of sperm isolated from four different goldfish lines during chilled storage. In Book of Abstracts of 9th International Workshop on the Biology of Fish Gametes. p. 32. León, Spain. 2024.07.15–18.

Nagy, B., Bokor, Z., Csorbai, B., Várkonyi, L., Molnár, J., Bartucz, T., Láng, L.Z., Ittész, Á., Ittész, I., Urbányi, B., Bernáth, G. (2022). The investigation of the differences in artificial propagation and larvae development by four different goldfish types (*Carassius auratus*). In: Andrzej, Ciereszko; Daniel, Żarski 8th International Workshop on the Biology of Fish Gametes, Book of Abstracts pp. 39–39., 1 p. Gdansk, Poland, September 22–23, 2022.

Poszter

- Nagy B.**, Bernáth, G., Várkonyi, L., Molnár, J., Láng, L. Z., Izsák, T., Bartucz, T., Ittész, I., Ittész, Á., Urbányi, B., Bokor, Z. (2021). The comparison of sperm motility and density in four different goldfish (*Carassius carassius*) types. In: European, Aquaculture Society (eds.) Aquaculture Europe 21: Abstracts p. 859. Madeira, Portugal, October 4–7, 2021.
- Bernáth, G., Várkonyi, L., Csorbai, B., Láng, L. Z., Molnár, J., Bartucz, T., **Nagy, B.**, Lehoczky, I., Szabó, G., Urbányi, B., Bokor, Z. (2021). The improvement of sperm cryopreservation methods in the endemic tench (*Tinca tinca*) and crucian carp (*Carassius carassius*) for conservation purposes. In: European, Aquaculture Society (eds.) Aquaculture Europe 21: Abstracts pp. 140–141.
- Láng, L.Z., Bokor, Z., Bernáth, G., Csorbai, B., **Nagy, B.**, Bartucz, T., Izsák, T., Csenki-Bakos, Zs., Fodor, F., Szári, Z., Urbányi, B., Várkonyi, L. (2021). Artificial propagation and larvae rearing in recirculation aquaculture system (RAS) of the Hungarian carp landrace (*Cyprinus carpio morpha accuminatus*). In: European, Aquaculture Society (eds.) Aquaculture Europe 21: Abstracts Madeira, Portugal, October 4–7, 2021.

6.4. Hazai konferencia kiadványban megjelent közlemények

Előadás

- Várkonyi D., Kaszab E., Csorbai B., Farkas M., **Nagy B.**, Bokor Z., Urbányi B., Harkai P., Bartucz T., Kirchner M., Kathi, L., Bartos, I., Radóczy J., Bernáth G., (2025). A szaporodásbiológiai mutatók és az azt befolyásoló mikrobiális közösség kapcsolatának feltárása ponty (*Cyprinus carpio*) fajban. *A XLIX. Halászati Tudományos Tanácskozás kiadványa*, pp. 75–80.
- Nagy B.**, Bokor Z., Solymosi E., Zsáky T., Koós Á., Pásztor V., Sztanó J., Ladányi J., Lódi Gy., Antal P., Szabó T., Bajári Zs., Urbányi B., Bernáth G. (2025). Algával dúsított takarmány hatása a ponty (*Cyprinus carpio*) hímivarsejt minőségére. *A XLIX. Halászati Tudományos Tanácskozás kiadványa*, pp. 40–47.
- Várkonyi, D., Farkas, M., **Nagy, B.**, Bartucz, T., Petényi, R., Csorbai, B., Kobolák, J., Urbányi, B., Bokor, Z., Bernáth, G., et al. (2024). Ponty (*Cyprinus carpio*) bél és ivartermék mintákból izolált mikrobaközösségek identifikációja. In Molnár, D., Molnár, D., Nagy, A.Sz. (Eds.), XXVII. Tavaszi Szél Konferencia 2024: Tanulmánykötet I. [Spring Wind Conference 2024] (pp. 33–43). Budapest: Doktoranduszok Országos Szövetsége (DOSZ).

- Nagy B.**, Bokor Z., Kaszab E., Suhajda Á., Bartucz T., Csókás E., Molnár J., Csorbai B., Urbányi B., Bernáth G. (2023). Különböző aranyhal (*Carassius auratus*) változatok hímivartermékének mikrobiom vizsgálata rövid távú tárolás során (előzetes eredmények). 28. Szaporodásbiológiai találkozó, Szarvas, 2023.11.10–11.
- Nagy B.**, Bernáth G., Csorbai B., Várkonyi L., Molnár J., Bartucz T., Láng L.Z., Ittész I., Ittész Á., Urbányi B., Bokor Z. (2022). Az aranyhal (*Carassius auratus*) különböző változatainak szaporítási és fejlődéstani vizsgálata. *A XLVI. Halászati Tudományos Tanácskozás kiadványa*, pp. 68–72.
- Nagy B.**, Bernáth G., Csorbai B., Várkonyi L., Bartucz T., Láng L.Z., Ittész I., Ittész Á. (2022). Különböző aranyhal (*Carassius auratus*) változatok spermatológiai vizsgálata. 25. Tavaszi Szél Konferencia, Pécsi Tudományegyetem. 2022. május 6–8.
- Nagy B.**, Bernáth G., Várkonyi L., Molnár J., Láng L.Z., Izsák T., Bartucz T., Ittész I., Ittész Á., Urbányi B., Bokor Z. (2021). A sperma motilitásának és -sűrűségének összehasonlítása négy különböző aranyhal (*Carassius auratus*) változatban. A jövő tudósai, a vidék jövője, Debreceni Egyetem. 2021. december 1.

Poszter

- Nagy, B.**, Bernáth, G., Kaszab, E., Suhajda, Á., Bartucz, T., Várkonyi, D., Csorbai, B., Urbányi, B., Bokor, Z. (2024). Effect of long-term storage on the microbial community of sperm in four different variants of goldfish (*Carassius auratus*). In Magyar Mikrobiológiai Társaság 2024. évi Nagygyűlése: Absztraktok [Hungarian Society for Microbiology General Meeting 2024: Abstracts] (p. 18). Siófok, Magyar Mikrobiológiai Társaság. 2024.10.16–18.
- Várkonyi, D., Bernáth, G., **Nagy, B.**, Farkas, M., Csorbai, B., Kirchner, M., Bartos, I., Bokor, Z., Urbányi, B., Kobolák, J., Harkai, P., Kaszab, E. (2024). Investigation of bacterial strains isolated from carp (*Cyprinus carpio*) gut and gamete samples to develop a probiotic feed supplement. In Magyar Mikrobiológiai Társaság 2024. évi Nagygyűlése: Absztraktok [Hungarian Society for Microbiology General Meeting 2024: Abstracts] (pp. 21–22). Siófok: Magyar Mikrobiológiai Társaság. 2024.10.16–18.
- Nagy, B.**, Bernáth, G., Lefler, K.K., Csorbai, B., Bartucz, T., Petényi, R., Bartos, I., Ittész, I., Urbányi, B., Bokor, Z. (2024). Gazdasági jelentőségű aranyhal változatok ivarsejt érésének vizsgálata. *A XLVIII. Halászati Tudományos Tanácskozás kiadványa* [Proceedings of the 48th Scientific Conference on Fisheries & Aquaculture] (pp. 197–202). Szarvas: Magyar Agrár- és

Élettudományi Egyetem, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet
Halászati Kutatóközpont

Nagy B., Bokor Z., Csorbai B., Molnár J., Bartucz T., Gyurcsák M., Láng L. Z., Csókás E., Hegyi Á., Urbányi B., Bernáth G. (2023). A fejes domolykó (*Squalius cephalus*) indukált szaporítási technológiájának optimalizálása. *A XLVII. Halászati Tudományos Tanácskozás kiadványa*, pp. 14–24.

Bernáth G., **Nagy B.**, Hegyi Á., Csorbai B., Várkonyi L., Müller T., Urbányi B., Bokor Z. (2022). A mélyhűtött széles kárász (*Carassius carassius*) sperma felolvasztást követő tárolhatóságának és mozgási képességének vizsgálata. *A XLVI. Halászati Tudományos Tanácskozás kiadványa*, pp. 123–127.