



**A BALATONI SUDÁR PONTY (*CYPRINUS CARPIO MORPHA ACCUMINATUS*) ÉS A HÉVÍZI
TÖRPENÖVÉSŰ MAGYAR VADPONTY
(*CYPRINUS CARPIO MORPHA HUNGARICUS*)
SPERMAMÉLYHŰTÉSÉNEK ÉS INTENZÍV
RENDSZERBEN TÖRTÉNŐ SZAPORÍTÁSÁNAK
VIZSGÁLATA, VALAMINT *IN VITRO*
SPERMABANKJÁNAK MEGALAPOZÁSA**

Doktori értekezés tézisei

VÁRKONYI LEVENTE

Gödöllő

2021

A doktori iskola

megnevezése: Állatbiotechnológiai és Állattudományi
Doktori Iskola

tudományága: Mezőgazdaság-tudomány

alprogram: Halbiológia és halgazdálkodás

vezetője: Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, az MTA rendes tagja
Magyar Agrár- és Élettudományi
Egyetem
Élettani és Takarmányozástani Intézet
Takarmánybiztonsági Tanszék

Témavezető: Dr. Bernáth Gergely
tudományos munkatárs, PhD
Magyar Agrár- és Élettudományi
Egyetem
Akvakultúra és Környezetbiztonsági
Intézet
Halgazdálkodási Tanszék

Társ-témavezető: Dr. Urbányi Béla
egyetemi tanár, MTA doktora
Magyar Agrár- és Élettudományi
Egyetem
Akvakultúra és Környezetbiztonsági
Intézet
Halgazdálkodási Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

.....
A társ-témavezető jóváhagyása

Jelölések, rövidítések jegyzéke

1. táblázat. A doktori munkában megtalálható rövidítések jegyzéke.

Szövegben használt rövidítés	Teljes elnevezés
°C	Celsius-fok
CASA	Computer-assisted Sperm Analysis (számítógépes spermavizsgáló berendezés)
CRF	Controlled-rate Freezer (programozható fagyasztó berendezés)
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Élelmiszerügyi és Mezőgazdasági Világszervezet)
IUCN	International Union for Conservation on Nature and Natural Resources (Nemzetközi Természetvédelmi Unió)
LIN	Linearity (az útvonal egyenestől számított eltérése)
MA-HAL	Magyar Akvakultúra és Halászati Szakmaközi Szervezet
mg	milligramm
ml	milliliter
mm	milliméter
mp	másodperc
N. A.	Nincs adat
pMOT	Progressive motility (progresszív motilitás)
RAS	Recirculating Aquaculture Systems (Recirkulációs akvakultúra rendszerek)
ttkg	testtömeg kilogramm
VCL	Curvilinear velocity (a megtett, teljes mozgási útvonalra számolt sebesség)

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

1.1. A munka előzményei

A ponty (*Cyprinus carpio*) a világ és hazánk egyik legfontosabb édesvízi tenyésztett halfaja (ALIKHUNI 1966; FAO 1996, 2020). A Földön 89 ország tenyészt, illetve állít elő pontyot, 39 országnál pedig kimagasló jelentőséggel bír. Hazánkban a 17 ezer tonna a volumene, ami a piaci haltermelésünk 79,5 %-át jelenti. Magyarország, Lengyelországgal és Csehországgal közösen az éves Európai Unió termelés közel 68 %-át teszi ki (FAO 2020; MA-HAL 2019; URBÁNYI & STASZNY 2018). A gazdasági haltermeléssel szemben az élőhelyek folyamatos beszűkülése és a nemesített pontyfajtákkal való hibridizáció következménye, hogy a vadponty (*Cyprinus carpio carpio*) populációk lassú, de folyamatos csökkenése mutatkozik. Napjainkra a jelenség oly méretet öltött, hogy az IUCN Vörös Listáján is szerepel a dunai alpopuláció, mint "critically endangered" (fokozottan védett) állomány (KOTTELAT 1996). Az említett természetvédelmi szempont miatt, rendkívül fontos a genetikailag tiszta állományok felkutatása és megóvása. Az egy vízgyűjtő területen élő sudár és a hévízi vadponty genetikai háttere mind gazdasági, mind pedig természetvédelmi vonatkozásban kiemelkedő jelentőséggel bír hazánkban (UDVARI 2017).

A Hévízi-tó Európa legnagyobb természetes medrű, gyógyhatású tőzegtava (KÖRMENDI et al. 2008). A számos idegenhonos halfaj mellett, mindössze egy őshonos található benne. Az említett hal egy specializálódott pontyfajta, mely rendkívül jól alkalmazkodott a nagyon sajátos tavi körülményekhez (SPECIÁR 2004). Az említett morfológiailag elkülönülő változat kizárólag itt fordul elő és önfenntartó állományt alkot. Alkalmazkodásának következménye, hogy a populáció törpenövésű egyedekből áll és nagyon sajátos, egyedi genetikai tulajdonságokkal rendelkezik. Elviseli a tartósan magas hőmérsékletet, melyet más hazai ponty tájfajtáink nem tolerálnak (HORVÁTH & URBÁNYI 2004). Származását tekintve a dunai vadpontyból eredeztethető, melyet genetikai vizsgálatok is alátámasztanak, azonban az IUCN Vörös Listáján nem szerepel. Ezen oknál fogva természetvédelmileg sebezhető állományt alkot (KOTTELAT 1996; LEHOCZKY et al. 2005a, b; 2007).

A sudár ponty gazdasági szempontból képvisel nagy értéket hazánkban. Az államilag hivatalosan elismert tájfajta tulajdonosa és fenntartója a Balatoni Halgazdálkodási Nonprofit Zrt. (UDVARI 2017). Az állami szervezet célja a balatoni halállomány megőrzése és növelése. A társaság fő feladata a természetes populációk fenntartása, illetve az évről évre történő szaporítás és telepítés. A sudár ponty

horgászturisztikai értéket is képvisel, hiszen igen közkedvelt (első számú) zsákmányhal a tóban és vízgyűjtőjén. Genetikai állományának megőrzése mind gazdasági, mind pedig ökológiai szempontból lényeges (NEBIH 2011).

A ponty, mint más gazdasági halfajaink, hímvartermékének mélyhűtése évről évre növekvő jelentőséggel bír. Számos mélyhűtési módszer született már gazdasági, valamint a természetvédelmi szempontból jelentős halfajok esetében (BLAXTER 1953; CABRITA et al. 2010; MOCZARSKI 1977). Ökonómiai jelentőségén túl a mélyhűtött sperma szerepet játszhat a génmegőrzésben, hiszen a konzervációbiológiai akciótervek nélkülözhetetlen része (CABRITA et al. 2010). A pontysperma fagyasztási módszerének kidolgozása több évtizedes múltra tekint vissza (MOCZARSKI 1977). Az eljárásnak köszönhetően a fagyasztott minták ellenőrzött minőségűek és a szaporítás során pontosan adagolhatók, akár nagy mennyiségű ikra termékenyítéséhez. Az eljárások haltermelési gyakorlatba történő bevonása azonban nem valósult meg (URBÁNYI 2011). A pontyféléknél a felolvasztás után jelentkező agglutináció miatt fontos lenne egy egységes és fajspecifikus módszer teljes körű kidolgozása, amely megbízhatóan alkalmazható keltetőházi körülmények között (MARTÍNEZ-PASTOR et al. 2017).

1.2. Célkitűzések

Doktori munkám során a következő kísérletek megvalósítását tűztem ki célul:

Balatoni sudár ponty

1. Az ökonómiai jelentőséggel bíró sudár ponty esetében a pontyfélékre kidolgozott spermamélyhűtési eljárás gazdaságosabbá tétele. A nagy mennyiségű spermamélyhűtési eljárás kidolgozása (5 ml-es műszalma és az 5-10 ml-es kriocső), polisztirol doboz és programozható mélyhűtő berendezése alkalmazása során.
2. A ponty ivartermékére jellemző, a felolvasztás után jelentkező agglutináció megszüntetése egy újonnan alkalmazott csuka hígító alkalmazásával.
3. Az 5 és 10 ml-es kriocső vízfürdőben végzett felolvasztási idejének optimalizálása pér és csuka hígító használatát követően.
4. Zárt intenzív recirkulációs rendszerben történő szaporítás natív és mélyhűtött ivartermék felhasználásával.
5. Zárt intenzív recirkulációs rendszerben történő ponty szaporítás és lárwanevelés elvégzése, nyomon követve az egyedek növekedését, megmaradását és morfológiai elváltozásait.
6. A gazdasági jelentőséggel bíró tájfajta *in vitro* spermabankjának megalapozásával, hozzájárulhatok az állomány genetikai értékének megőrzéséhez, valamint a tó természetes populációjának megóvásához.

Hévízi törpenövésű magyar vadponty

1. Vadon befogott tejesek közvetlenül a tóparton történő, illetve zárt intenzív recirkulációs rendszerben tartott egyedek spermiációjának hormonális indukálása.
2. A sebezhető természetvédelmi besorolású pontyféle ivartermékének polisztirol dobozban és programozható mélyhűtő berendezésben történő fagyasztása pér és csuka hígító használata során (agglutináció kiküszöbölése).
3. Zárt intenzív recirkulációs rendszerben történő szaporítását natív ivartermékkel, nyomon követve az egyedek növekedését, megmaradását és morfológiai elváltozásait.
4. A hévízi vadponty *in vitro* spermabankjának megalapozása, hozzájárulva a faj konzervációbiológiai értékének megőrzéséhez.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. A szaporodásbiológiai és ivarsejtmélyhűtési vizsgálatok általános bemutatása

A sudár ponty egyedeket a fajtafenntartó Balatoni Halgazdálkodási Nonprofit Zrt. irmapusztai állományából szereztem be. A hévízi vadpontyokat ezzel szemben az üzemeltető által fenntartott Hévízi-tórol fogtam be. A kísérleti anyaghalakat a Halgazdálkodási Tanszék infrastruktúrájához tartozó zárt intenzív recirkulációs akvakultúra rendszerében (RAS) tartottam. Tartásukhoz egy 3 m³-es és egy 1 m³-es egységet használtam. Az anyaállományt minden esetben a ponty keltetőházi szaporításával megegyező módon kezeltem. Az oltást követően a sudár pontyok esetében 24 órával, míg a hévízi pontyok esetében 12 órával a halak ivartermékét lefejttem. A tejesek esetében a spermációt 2 mg/ttkg porított ponty hipofizissal indukáltam. Az ikrások ovulációját 4 mg/ttkg ponty hipofizissal váltottam ki. A friss és felolvasztott spermaminták motilitását számítógépes spermavizsgáló berendezéssel (CASA) rögzítettem. A sejtek aktivációjához, egy a ponty fajra korábban kidolgozott oldatot használtam. A sejtek pMOT (egyenes vonal távolsága > 5 µm, pixel/µm arány: 151–100), VCL, és LIN értékeit rögzítettem. A mélyhűtés során pér [200 mM glükóz, 40 mM KCl, 30 mM Tris, pH: 8,0±0,2 (HORVÁTH et al. 2012; BERNÁTH et al. 2016a)], valamint csuka [150 mM glükóz, 75 mM NaCl, 30 mM KCl, 1 mM Na₂HPO₄ * 12H₂O, 1 mM MgCl₂ * 6H₂O, 1 mM CaCl₂ * 2H₂O, 20 mM Tris, és 0,5% BSA, pH: 8,0±0,2 (MOLNÁR et al. 2020)] hígítót alkalmaztam. Kísérleti beállítástól függően 1:1, 1:4 és 1:9 hígítási arányokat használtam. A fagyasztás során védőanyagként 10% metanolt alkalmaztam. Kutatásomban 0,5 és 5 ml kapacitású műszalmába, valamint 5 és 10 ml-es kriocsövekbe töltöttem az ivarterméket (2. táblázat).

2. táblázat. Különböző mélyhűtési módszereknél használt hígítási arányok összegzése.

Mélyhűtési kapacitás	Hígítási arányok (ml)		
	1:1	1:4	1:9
0,5 ml-es műszalma	N. A.	N. A.	metanol: 0,05 sperma: 0,05 hígító: 0,4
5 ml-es műszalma	N. A.	N. A.	metanol: 0,4 sperma: 0,4 hígító: 3,2
5 ml-es kriocső	N. A.	N. A.	metanol: 0,4 sperma: 0,4 hígító: 3,2
10 ml-es kriocső	metanol: 0,8 sperma: 4 hígító: 3,2	metanol: 0,8 sperma: 1,6 hígító: 5,6	metanol: 0,8 sperma: 0,8 hígító: 6,4

A fagyasztást a vizsgálatoktól függően polisztirol dobozban, illetve programozható fagyasztó berendezésben végeztem (CRF). A hűtési program a műszalmák vagy a kriocsövek kapacitásától függően eltérő volt (3. táblázat).

3. táblázat. Különbéféle mélyhűtési programok összefoglalása.

Mélyhűtési kapacitás	Mélyhűtési módszer és program leírása
0,5 ml-es műszalma	polisztirol doboz- 3 cm-en, 3 perc (HORVÁTH et al. 2012)
0,5 ml-es műszalma	CRF-kiindulási hőmérséklet: 7,5 °C, végpont: -160 °C, hűtési sebesség: 56 °C/perc, (BERNÁTH et al. 2015)
5 ml-es műszalma	polisztirol doboz-3 cm-en, 7 perc (BOKOR et al. 2010)
5 ml-es műszalma	CRF-kiindulási hőmérséklet: 4 °C, végpont: -160 °C, hűtési sebesség: 15 °C/perc (BOKOR et al. 2019)
5 ml-es kriocső	polisztirol doboz- 3 cm-en, 7 perc (BOKOR et al. 2010 nyomán)
5 ml-es kriocső	CRF-kiindulási hőmérséklet: 4 °C, végpont: -160°C, hűtési sebesség: 15 °C/perc (BOKOR et al. 2019 nyomán)
10 ml-es kriocső	CRF-kiindulási hőmérséklet: 4 °C, végpont: -160°C, hűtési sebesség: 15 °C/perc (BOKOR et al. 2019)

A mélyhűtött mintákat egy 10 l kapacitású szállítható, és egy 48 l térfogatú tároló kaniszteres kannában őriztem meg. A tárolt minták felolvasztása vízfürdőben történt, minden minta esetében 40 °C-on. A felolvasztás időtartama a minta kapacitásától függően módosult (4. táblázat).

4. táblázat. Különbéféle felolvasztási időtartamok összefoglalása.

Felolvasztási kapacitás	Felolvasztás időtartama
0,5 ml műszalma	40 °C-on 13 mp (BOZKURT 2017; HORVÁTH et al. 2012)
5 ml műszalma	40 °C-on 35 mp (BOKOR et al. 2010; CABRITA 2001b)
5 ml kriocső	Kísérletek során meghatározásra került.
10 ml kriocső	Kísérletek során meghatározásra került.

A sejtszám meghatározásához Bürker kamrát alkalmaztam. A sejtszuszpenzió hígítási aránya a kísérletem során 5-szörös és 1000-szeres között változott, a minták sűrűségétől függően. A termékenyítést rendszervízzel végeztem el (30 mp). Az ikratételek duzzasztása Woynárovich-féle oldattal történt síkágvas rázóasztalon. Az ikratételek végső ragadóságának csökkentése három ismétlésben (20 mp, 15 mp, 10 mp) csersavas kezeléssel történt. A vizsgálatok során kísérleti

beállítástól függően termékenyülési és kelési arányt is meghatároztam. A kelési arányt (kikelő lárva/nem termékenyült ikraszemek egymáshoz viszonyított aránya) közvetlenül a lárvák kelésének pillanatában meghatároztam.

2.2. A balatoni sudár ponty állományon elvégzett vizsgálatok

A 5. táblázat mutatja be a kísérleti állományon elvégzett vizsgálatokat.

5. táblázat. Balatoni sudár pontyon elvégzett vizsgálatok összesítése.

Fejezet száma	Mélyhűtési kapacitás	Hígító	Mélyhűtési módszer	Vizsgálat tárgya	Vizsgálat egyedszáma
3.5.1.	5 ml-es műszalma 10 ml-es kriocső	pér	polisztirol doboz, CRF berendezés	mélyhűthetőség, motilitás	N=6
3.5.1.	10 ml-es kriocső	pér	CRF berendezés	hígítási arány, motilitás	N=3
3.5.2.	5 ml-es műszalma 10 ml-es kriocső	pér, csuka	polisztirol doboz, CRF berendezés	motilitás	N=7
3.5.3.	5 ml-es műszalma 10 ml-es kriocső	pér, csuka	polisztirol doboz, CRF berendezés	sejtkoncentráció	N=5
3.5.4.	10 ml-es kriocső	pér, csuka	CRF berendezés	felolvasztási idő	N=5
3.5.5.	5 ml-es kriocső	pér, csuka	polisztirol doboz, CRF berendezés	felolvasztási idő	N=5
3.5.6.	10 ml-es kriocső	pér, csuka	CRF berendezés	motilitás, termékenyítés	♀: N=2 ♂: N=5
3.5.7.	N. A.	N. A.	N. A.	lárvanevelés	♀: N=1 ♂: N=5

2.2.1. Az 5 ml-es műszalma és a 10 ml kriocső mélyhűtésének összehasonlítása, illetve a 10 ml-es kriocső optimális hígítási arányának kidolgozása

Kísérletembe hat egyedtől (N=6) származó spermamintát mélyhűtöttem 5 ml-es műszalmában és a 10 ml-es kriocsőben polisztirol dobozban és programozható mélyhűtő berendezésben (lásd: 2.1. fejezet, 3. táblázat). Munkám második fázisában vizsgáltam a 10 ml-es kriocsőben történő mélyhűtés (N=3) során alkalmazható különböző hígítási arányokat (lásd: 2.1. fejezet, 2. táblázat). A fagyasztáshoz CRF berendezést használtam (lásd: 2.1. fejezet, 3. táblázat).

2.2.2. Kétféle hígító és különböző mélyhűtési módszerek összehasonlítása (motilitás vizsgálat)

Hét egyedtől ($N=7$) nyert hím ivartermékének mélyhűthetőségét vizsgáltam 5 ml-es műszalma esetén polisztirol dobozban, valamint CRF berendezésben, valamint a 10 ml-es kriocső használata során programozható mélyhűtő berendezésben (lásd: 2.1. fejezet, 3. táblázat). Kísérletben összehasonlítottam a két eltérő összetételű hígítót [pér és csuka, (lásd: 2.1. fejezet)].

2.2.3. Kétféle hígító és különböző mélyhűtési módszerek összehasonlítása (sejtkoncentráció vizsgálata)

Vizsgáltam a frissen fejt ivartermék, valamint az 5 ml műszalma és a 10 ml kriocső polisztirol dobozban, valamint CRF berendezésben történő mélyhűtés hatását a sejtsűrűség változására ($N=5$) (lásd: 2.1. fejezet, 3. táblázat). Összehasonlítottam a már korábban bemutatott pér, valamint csuka hígító hatását (lásd: 2.1. fejezet).

2.2.4. Egységes felolvasztási időtartam meghatározása a 10 ml-es kriocső, pér és csuka hígítók, valamint CRF alkalmazása esetén

Kutatásomban öt egyedtől ($N=5$) származó ivarterméket mélyhűtöttem 10 ml kapacitású kriocső felhasználásával. A mélyhűtés során csuka és pér hígítót (lásd: 2.1. fejezet) alkalmaztam. A fagyasztást CRF berendezésben végeztem el (lásd: 2.1. fejezet, 3. táblázat). Három különböző felolvasztási idő hatását hasonlítottam össze (3 perc 30 másodperc, 3 perc 45 másodperc, valamint 4 perc).

2.2.5. Az 5 ml-es kriocső egységes felolvasztási idejének meghatározása 2 hígító és 2 fagyasztási módszer alkalmazása során

Öt egyedtől ($N=5$) származó spermát mélyhűtöttem. A fagyasztást követően a felolvasztási idő egységesítését végeztem el az 5 ml kapacitású kriocső esetében. Vizsgálatomat polisztirol dobozban, valamint CRF berendezésben hajtottam végre a két korábban bemutatott hígító használatával (lásd: 2.1. fejezet; 2.1. fejezet, 3. táblázat). Összehasonlítottam pér hígító esetében a 2 perc 45 másodperces, a 3 perces, valamint a 3 perc 15 másodperces, míg csuka hígító esetében a 2 perc 15 másodperces, a 2 perc 30 másodperces, illetve a 2 perc 45 másodperces felolvasztási időintervallumokat.

2.2.6. A nagy mennyiségű (10 ml-es kriocső) mélyhűtött sperma keltetőházi szaporítás során történő alkalmazása

A ponty intenzív keltetőházi gyakorlat számára kívántam a leggazdaságosabb mélyhűtési módszert (10 ml-es kriocső) kidolgozni. Vizsgálatomban pér (lásd: 2.1. fejezet), valamint módosított csuka hígítót alkalmaztam (205 mM glükóz, 20 mM NaCl, 25 mM KCl, 1 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 1 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 20 mM Tris, és 0,5% BSA, pH: $8,0 \pm 0,2$). A fagyasztást öt tejestől ($N=5$) lefejt

ivartermékkel végeztem el CRF berendezésben (lásd: 2.1. fejezet, 3. táblázat). A vizsgálatot a kontroll és két kezelt csoportok esetében mind az 5 tejes friss és felolvasztott spermájával elvégeztem. Egységenként 10 g ikrát mértem ki, majd a termékenyítést egy előre meghatározott arány alapján (100 g ikrá; 10 ml rendszervíz; 1 ml sperma) végeztem el. Az ikrainkubáció során a tételeket egyedi recirkulációs Rack rendszerbe helyeztem ki. A kelési arányt közvetlenül a kelés pillanatában határoztam meg.

2.2.7. Intenzív lárvanevelés friss spermával történő szaporítást követően

Vizsgálatomban egy ikrástól ($N=1$) származó 332 g ivarterméket kevertem össze öt tejestől ($N=5$) származó összesen 7,5 ml spermával. Az ikratételek inkubációja, majd a keltetés folyamata zárt recirkulációs Zuger rendszerben történt. A kikelt lárvák Rack rendszerbe kerültek kihelyezésre. A haltartó medencékbe literenként 50 egyedet helyeztem ki. A táplálkozó lárvákat napi négy alkalommal étvágy szerinti (*ad libitum*) mennyiségben frissen kelt sórák (*Artemia salina*) lárvával ettettem. A kutatás során három fejlődési szakasz időpontjában (kelés, szikzacskó felszívódása, egy hetes táplálkozó lárva) rögzítettem a kiválasztott egyedek általános testparamétereit (átlagos testhossz és testtömeg) és alaktani elváltozásait. A fejlődésük során a szabályos fejlődéstől eltérő rendellenességeket rögzítettem (görbült test, torz farokfejlődés, szikdeformitás, fejdeformitás, ödéma, úszóhólyag torzulás, aneurizmás bevezés).

2.3. A hévízi törpenövésű magyar vadponty állományon elvégzett vizsgálatok

A 6. táblázat mutatja be a kísérleti állományon elvégzett vizsgálatokat.

6. táblázat. Hévízi vadponton elvégzett vizsgálatok összefoglalása.

Fejezet száma	Mélyhűtési kapacitás	Hígító	Mélyhűtési módszer	Vizsgálat tárgya	Vizsgálat egyedszáma
3.8.1.	N. A.	N. A.	N. A.	spermiáció, motilitás	$N=8$ $N=8$
3.8.2.	N. A.	N. A.	N. A.	spermiáció, motilitás	$N=7$ $N=7$
3.8.3.	0,5 ml-es műszalma	pér	polisztirol doboz	motilitás	$N=16$
3.8.4.	0,5 ml-es műszalma	pér, csuka	polisztirol doboz, CRF berendezés	motilitás	$N=5$
3.5.5.	N. A.	N. A.	N. A.	lárvanevelés	♀: $N=4$ ♂: $N=5$

2.3.1. A spermiáció terepi körülmények között történő indukciója

Vizsgálatomban a spermiáció kiváltását terepi körülmények között végeztem el vadon befogott egyedekkel. Az állományból két csoportot alakítottam ki. Az egyik csoportot hormonálisan indukáltam ($N=8$), míg a másikat kizárólag 0,65%-os halfiziológiás sóoldattal (kontroll csoport) kezeltem ($N=8$).

2.3.2. A spermiáció növekvő hormonadagú intenzív rendszerben történő indukciója

A tejeseket közvetlenül a kísérlet előtt fogtam be és helyeztem el a zárt intenzív recirkulációs rendszerben. Két csoportot alakítottam ki ($N=7-7$). Az egyik csoportban növekvő hormondózisú, egy hetes időtartamú oltási sorozatot alkalmaztam (1. kezelés: 1 mg/ttkg, 2. kezelés: 2 mg/ttkg, 3. kezelés: 2 mg/ttkg, 4. kezelés: 4 mg/ttkg) 2 napos időintervallumokban. A másik csoport kizárólag 0,65%-os halfiziológiás sóoldatot kapott (kontroll csoport) a fent említett időrend szerint.

2.3.3. Intenzív recirkulációs rendszerben tartott tejes egyedek spermiációjának hormonális indukciója és a kinyert ivartermék mélyhűtése

Kutatásomban a zárt intenzív recirkulációs rendszerben hosszabb ideje tartott egyedek ($N=16$) spermiációjának hormonális indukálását végeztem el. Az előző fejezetben (2.3.2. fejezet) leírt oltási módszert alkalmaztam. A mélyhűtés során 1:9 hígítási arányt (lásd 2.1. fejezet, 2. táblázat) használtam 0,5 ml-es műszalma esetében. A fagyasztást polisztirol dobozban végeztem (lásd: 2.1. fejezet, 3. táblázat).

2.3.4. Két féle hígító (pér, csuka) az agglutináció kiküszöbölésének érdekében történő összehasonlítása a fagyasztás során

Vizsgálatomban összehasonlítottam a hévízi vadponty ($N=5$) ivartermékének fagyasztás utáni minőségét a korábban bemutatott pér és csuka hígító (lásd: 2.1. fejezet) használatát követően. A 0,5 ml-es műszalma fagyasztása során 1:9 hígítási arányt (lásd: 2.1. fejezet; 2. táblázat) használtam. A mélyhűtést polisztirol dobozban, valamint CRF berendezésben végeztem (lásd 2.1. fejezet; 3. táblázat).

2.3.5. Intenzív rendszerben történő szaporítás

Az egyedeket ($N=24$; 12 ikrás, 12 tejes) megfogásukat követően a tóparton hormonálisan indukáltam, majd ezt követően a Halgazdálkodási Tanszék infrastruktúrájához tartozó zárt intenzív recirkulációs rendszerbe szállítottam. Vizsgálatomban négy ikrástól ($N=4$) származó 14,63 g ivarterméket kevertem össze öt tejestől ($N=5$) származó összesen 1,5 ml spermával. A termékenyített ikrátételt egy 7 liter kapacitású Zuger üvegbe helyeztem. A kelési arányt a termékenyítéstől számított 3. napon határoztam meg.

3. EREDMÉNYEK

3.1. A balatoni sudár pontyon elvégzett vizsgálatok eredményei

Eredményeim alapján elmondható, hogy munkámban a mélyhűtést követően a pér hígító használatánál minden esetben közel 50 %-os agglutinációt tapasztaltam. A csuka hígítónál azonban egyöntetű, homológ sejtszuspenzió volt megfigyelhető. Továbbá a legtöbb alkalommal a friss ivartermékhez viszonyítva a kezelt csoportok minden esetben szignifikánsan alacsonyabb pMOT és VCL paramétereket rögzítettem. A vizsgálataim során a tárolókannába elhelyezett és fel nem olvasztott minták alapozták meg a tájfajta spermabankját.

3.1.1. Az 5 ml-es műszalma és a 10 ml kriocső mélyhűtésének összehasonlítása, illetve a 10 ml-es kriocső optimális hígítási arányának kidolgozása

A friss kontrollhoz képest szignifikánsan alacsonyabb motilitási értékeket rögzítettem mind a műszalma, mind pedig a kriocső esetében. Továbbá a műszalma igazolhatóan alacsonyabb értéket mutatott a kriocsővel összevetve. A 10 ml-es kriocső használata után azonban szignifikánsan magasabb LIN értéket rögzítettem, összehasonlítva mind a natívval, mind a kisebb térfogatú eljárással. A hígítási arány meghatározása esetében a friss spermával való összehasonlítás során a kezelés hatására igazolhatóan alacsonyabb pMOT értéket mértem. A friss ivartermék statisztikailag igazolhatóan magasabb VCL eredményt mutatott összevetve a kezelési csoportokkal. Az 1:1-es, valamint az 1:9-es hígítási arány igazolhatóan alacsonyabb értéket mutatott összehasonlítva a friss minta értékével a LIN paraméter esetében.

3.1.2. Kétféle hígító és különböző mélyhűtési módszerek összehasonlítása (motilitás vizsgálat)

Az 5 ml-es műszalmával polisztirol dobozban végzett vizsgálatomban a friss ivartermékhez viszonyítva mind a pér, mind pedig a csuka hígító statisztikailag igazolhatóan alacsonyabb értéket mutatott a sejtek progresszív motilitásának vizsgálata során. A VCL paraméterek mérése során hasonló tendenciát figyeltem meg.

Az 5 ml-es műszalma CRF berendezésben történő mélyhűtését követően a sejtek progresszív motilitás mérése során a friss ivartermékhez viszonyítva mindkét hígító igazolhatóan alacsonyabb értéket mutatott. Továbbá a csuka hígító esetében alacsonyabb eredményt mértem összevetve a pér hígítóval. A VCL értékek vizsgálata alkalmával a friss mintához képest mindkét mélyhűtési csoport szignifikánsan alacsonyabb értéket mutatott.

A 10 ml-es kriocső programozható fagyasztó berendezésben történő mélyhűtést követően a sejtek pMOT, illetve VCL paraméterek

mérésénél igazolható eltérést mértem a pér és a csuka hígító használata során, a friss ivartermékkel összehasonlítva.

3.1.3. Kétféle hígító és különböző mélyhűtési módszerek összehasonlítása (sejtkoncentráció vizsgálata)

A friss ivartermék sejtkoncentrációjához viszonyítva alacsonyabb volt a mélyhűtés utáni sejtsűrűség mindkét hígító esetében.

Pér hígító alkalmazásával mindhárom mélyhűtési módszer (5 ml-es műszalma polisztírol doboz, 5 ml-es műszalma CRF, 10 ml-es kriocsó programozható fagyasztó berendezés) esetében alacsonyabb sejtszámot rögzítettem, összehasonlítva a csuka hígító használatával.

3.1.4. Egységes felolvasztási időtartam meghatározása a 10 ml-es kriocsó, pér és csuka hígítók, valamint CRF alkalmazása esetén

A 10 ml-es kriocsó mélyhűtését követően összehasonlítottam három különböző felolvasztási időpontot (3 perc 30 másodperc, 3 perc 45 másodperc, 4 perc) pér és csuka hígítóval esetén egyaránt. A vízfürdővel történő felolvasztást követően a pér hígító esetében a progresszív motilitás mérés esetében a friss ivartermékhez képest statisztikailag alacsonyabb értékeket rögzítettem mindhárom vizsgált időpontnál. Hasonló eredményeket kaptam a VCL paraméterek esetében is. Hasonló tendenciát tapasztaltam a csuka hígító használatát követően is. A legrövidebb felolvasztási időtartam esetében a pér hígítónál $30 \pm 12\%$ -os pMOT, $48 \pm 8 \mu\text{m/s-s}$ VCL, $86 \pm 3\%$ -os LIN; míg a csuka hígítónál $26 \pm 14\%$ -os pMOT, $41 \pm 7 \mu\text{m/s-s}$ VCL, $81 \pm 4\%$ -os LIN értékeket rögzítettem.

3.1.5. Az 5 ml-es kriocsó felolvasztási idejének meghatározása 2 hígító és 2 fagyasztási módszer alkalmazása során

Az 5 ml-es kriocsó felolvasztási idejének meghatározása során a polisztírol dobozban történő mélyhűtést, valamint a pér hígító használatát követően a friss ivartermékhez viszonyítva igazolhatóan csökkent a minták progresszív motilitása. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a VCL értékek mérése során. A leggyorsabb felolvasztási időtartam esetében $30 \pm 4\%$ -os pMOT, $56 \pm 7 \mu\text{m/s-s}$ VCL és $84 \pm 2\%$ -os LIN értékeket írtam le.

A CRF berendezésben az 5 ml-es kriocsó pér hígító felhasználásával történő mélyhűtést követően a friss ivartermékhez viszonyítva igazolhatóan csökkent a minták progresszív motilitása. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a VCL értékekben is. A LIN paraméterek esetében azonban igazolhatóan magasabb értékeket rögzítettem a kezelések hatására. A legrövidebb felolvasztási idő alatt $37 \pm 6\%$ -os pMOT, $58 \pm 8 \mu\text{m/s-s}$ VCL és $87 \pm 1\%$ -os LIN eredményeket rögzítettem.

Az 5 ml-es kriocsó felolvasztási idejének meghatározása során a

polisztirol dobozban történő mélyhűtést, valamint a csuka hígító használatát követően a friss ivartermékhez viszonyítva igazolhatóan csökkent a minták progresszív motilitása. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a VCL értékek mérése során. A leggyorsabb felolvasztási időtartam esetében $19\pm 5\%$ -os pMOT, 55 ± 3 $\mu\text{m/s}$ -s VCL és $84\pm 5\%$ -os LIN értékeket találtam.

A CRF berendezésben az 5 ml-es kriocsőben a csuka hígító használatát követően a friss ivartermékhez viszonyítva igazolhatóan csökkent a minták progresszív motilitása. A VCL értékek mérése során is hasonló tendenciát írtam le. A legrövidebb felolvasztási idő alatt $27\pm 4\%$ -os pMOT, 47 ± 5 $\mu\text{m/s}$ -s VCL és $81\pm 2\%$ -os LIN eredményeket rögzítettem.

3.1.6. A nagy mennyiségű (10 ml-es kriocső) mélyhűtött sperma keltetőházi szaporítás során történő alkalmazása

Kísérletemben a fejest követően és közvetlenül a termékenyítés pillanatában is ellenőriztem a natív ivartermék minőségét. A mélyhűtések hatására csökkent a minták motilitása, azonban a pér hígító igazolhatóan jobb eredményt mutatott a módosított csuka hígítóval összehasonlítva. Összevetve a friss, illetve a termékenyítés pillanatában visszamért ivartermék értékével mindkét kezelés esetén igazolható csökkenést mértem a VCL paraméternél. A LIN értékek esetében a pér hígítónál szignifikánsan magasabb eredményt rögzítettem a friss spermával összehasonlítva. A termékenyítés pillanatában mért friss sperma LIN paramétere szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a csuka hígítónál. A csuka hígító használatát követően igazolhatóan kisebb értéket írtam le a pér hígítóval összehasonlítva. A szaporítást követően a kelési arány meghatározása során a pér és a csuka hígító hatására statisztikailag igazolható csökkenést tapasztaltam összehasonlítva a natív spermával. Továbbá a csuka hígító igazolhatóan alacsonyabb értéket mutatott a pér hígítóval összevetve.

3.1.7. Intenzív lárvanevelés friss spermával történő szaporítást követően

Eredményeim alapján a frissen kelt balatoni sudár ponty lárvák testhossza $4,4\pm 1$ mm, a testtömegük pedig $1,0\pm 0,3$ mg volt. A szikzacskó felszívódását követően az átlagos testhossz $5,5\pm 0,5$ mm-re, az átlagos testtömeg pedig $1,5\pm 0,1$ mg-ra növekedett. Az egy hetes táplálkozó lárvák átlagos testhossza $10,5\pm 0,7$ mm, míg testtömege $12,1\pm 1,7$ mg volt. A vizsgálat befejeztével a lárvák átlagos megmaradásának aránya $94\pm 2\%$ volt. A lárvamorfológiai vizsgálatok során nem tapasztaltam számottevő elváltozást a vizsgált egyedeknél.

3.2. A hévízi törpenövésű magyar vadponton elvégzett vizsgálatok eredményei

A vizsgálataim során a tárolókannába elhelyezett és fel nem olvasztott minták alapozták meg a sebezhető természetvédelmi értékű halfaj spermabankját.

3.2.1. A spermiáció terepi körülmények között történő indukciója

A vizsgálatomban kialakított két kezelési csoport fejését követően az oltott egyedek szignifikáns magasabb progresszív motilitási eredményt mutattak összehasonlítva a kontroll csoporttal.

3.2.2. A spermiáció növekvő hormonadagú zárt intenzív recirkulációs rendszerben történő indukciója

Kísérletemben a halfiziológiás oldattal (kontroll) oltott egyedek nem adtak értékelhető mennyiségű ivarterméket. A növekvő hormondózissal oltott csoport hat egyedétől sikeresen fejtem spermát. A sperma minőségének ellenőrzése során magas pMOT ($72\pm 8\%$), mérsékelt VCL ($93\pm 12 \mu\text{m/s}$), illetve szintén magas LIN értékeket ($88\pm 2\%$) rögzítettem.

3.2.3. Zárt intenzív recirkulációs rendszerben tartott egyedek spermiációjának hormonális indukciója és a kinyert ivartermék mélyhűtése

A kinyert ivartermék pMOT és VCL értéke szignifikánsan csökkent a mélyhűtés hatására. A LIN paraméter esetében azonban a friss spermához viszonyítva szignifikánsan magasabb értéket rögzítettem.

3.2.4. Két féle hígító (pér, csuka) alkalmazásának összehasonlítása az agglutináció kiküszöbölésének érdekében a fagyasztás során

Vizsgálatomban a programozható mélyhűtő berendezés használatát követően a pér hígító esetében szignifikáns magasabb eredményt rögzítettem összehasonlítva a csuka hígítóval. A mért VCL értékek között a polisztírol dobozban statisztikailag igazolhatóan magasabb eredményt rögzítettem a pér hígító használatát követően összehasonlítva a csuka hígítónál mért értékekkel szemben. Hasonló eredményt rögzítettem a CRF berendezés használata után a minták mért VCL értékeiben. A LIN paraméterek összehasonlítása során a CRF berendezés használatakor a pér hígító esetében statisztikailag igazolhatóan magasabb eredményt mértem összehasonlítva a csuka hígítóval.

3.2.5. Zárt intenzív rendszerben történő szaporítás

Vizsgálatomban a Zuger-üvegbe kihelyezett termékenyített ikratétel fejlődése az inkubáció során megállt. Mindösszesen egyetlen lárva kelt ki.

3.3. Új tudományos eredmények

1. Sikeresen mélyhűtöttem ponty ivarterméket a korábban csukára kidolgozott hígító használatával, amelynek révén a felolvasztást követően jelentkező agglutinációt megszüntettem, ezáltal lehetővé vált a mélyhűtött sudár ponty ivartermék keltetőházi felhasználása során egy jövőbeni pontos termékenyítési egység meghatározása.
2. Elsőként adaptáltam kísérletesen egy hatékony mélyhűtési módszert, az 5 és 10 ml-es kriocső fagyasztása esetén mind a pér, mind pedig a csuka hígító használata során CRF berendezésben (kiindulási hőmérséklet: 4 °C, végpont: -160 °C, hűtési sebesség: 15 °C/perc), valamint az 5 ml-es kriocső esetében polisztirol dobozban (3 cm-en, 7 perc).
3. Meghatároztam a 10 ml-es kriocső esetén a pér, illetve csuka hígító használatát követően a 3 perc 30 másodperc felolvasztási időtartamot 40 °C-on. Megállapítottam továbbá az 5 ml kriocső alkalmazása után a pér hígító esetében 2 perc 45 másodperces, a csuka hígító használatát követően pedig a 2 perc 15 másodperces felolvasztási időtartamot 40 °C-os vízfürdővel.
4. Sikeresen vizsgáltam a sudár ponty esetében a frissen kikelt lárvák átlagos testhossz és testtömeg adatait eredményes keltetőházi szaporítást követően zárt intenzív recirkulációs rendszerben. A tájfajta esetében elsőként mutattam be eredményes lárvanevelési eljárást magas megmaradási aránnyal és megfelelő morfológiai tulajdonságokkal rendelkező egyedek esetében zárt intenzív recirkulációs rendszerben.
5. Nagy hatásfokkal indukáltam a rendkívül stressz érzékeny hévízi vadponty spermiációját terepi körülmények között közvetlenül tóparton végzett oltással. Továbbá zárt intenzív recirkulációs rendszerben történő tartást követően elnyújtott hormondózisú oltási eljárással (1. kezelés: 1 mg/ttkg, 2. kezelés: 2 mg/ttkg, 3. kezelés: 2 mg/ttkg, 4. kezelés: 4 mg/ttkg, 2 napos időintervallumokban) eredményesen fokoztam a hévízi vadponty hím ivartermék termelését.
6. Sikeresen mélyhűtöttem a hévízi vadponty hím ivartermékét polisztirol dobozban és CRF berendezésben a korábban pontyféléknél már eredményesen használt pér, valamint az újonnan alkalmazott csuka hígító használatát követően 0,5 ml-es műszalmában 1:9-es hígítás mellett.
7. Sikeresen alapoztam meg in vitro spermabankot a gazdasági értéket képviselő sudár ponty, illetve a természetvédelmi szempontból sebezhető hévízi vadponty eltárolt ivartermékéből.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS A JAVASLATOK

4.1. Következtetések

4.1.1. A balatoni sudár pontynál elért eredmények következtetései

Kísérleteimben minden esetben hozzávetőlegesen 50%-os agglutinációt tapasztaltam a minták felolvasztását követően a pér hígító esetében. A tájfajtnál elsőként alkalmaztam nagy kapacitású mélyhűtést polisztirol dobozban és CRF berendezésben. Előkísérletemben sikeresen mélyhűtöttem sudár ponty spermát 5 ml-es műszalmában polisztirol dobozban. A vizsgálatban pér hígítót alkalmaztam, amely korábban már több pontyféle esetében is eredményesnek bizonyult (BERNÁTH et al. 2016a; BERNÁTH et al. 2017; BERNÁTH et al. 2018). Kísérletemben sikerrel alkalmaztam továbbá a 10 ml kapacitású kriocsővet a sudár pontynál CRF berendezés használatával. Irodalmi adatok alapján (HORVÁTH et al. 2003) ponty esetében a legmegfelelőbb az 1:9 hígítási arány, amelyet vizsgálataim eredményei is igazoltak. Ki kell emelnem azonban, hogy a két eltérő összetételű hígító használata során nem volt szignifikáns különbség az 5 ml-es műszalma polisztirol dobozban és a programozható mélyhűtő berendezésben 10 ml-es kriocső esetében. Igazolható volt azonban az eltérés a CRF berendezés használatát követően 5 ml-es műszalmánál. Eredményeim alapján elmondható, hogy mind a pér, mind a csuka hígító egyaránt alkalmas nagy mennyiségű mélyhűtés elvégzéséhez a tájfajta esetében. Vizsgálataim eredményeinek következtetéseként a csuka hígítóval való mélyhűtés hatására minden általam használt mélyhűtési módszernél szignifikánsan magasabb sejtkoncentráció tapasztalható összehasonlítva a pér hígítóval. Emellett, a csuka hígító minden esetben egységes sejtszuspenziót eredményezett. A 10 ml-es kriocső használata után összehasonlított három különböző felolvasztási időtartam esetében pér és csuka hígítót alkalmazva nem mutatkozott különbség az eltérő intervallumok között. Ezen oknál fogva a leggyorsabb felolvasztás a legmegfelelőbb a gyakorlat számára. Az 5 ml-es kriocső polisztirol doboz és CRF berendezésben történő mélyhűtését követő felolvasztás egységesítése során szintén nem mutatkozott igazolható különbség az eltérő időtartamok között a már leírt hígítók esetében. A leggyorsabb felolvasztási időpont alkalmazása a keltetőházi gyakorlatba kiválóan beilleszthető, ezáltal a fagyasztott ivartermék egyszerű felhasználását teszi lehetővé szaporítás során. Vizsgálatom révén elsőként alkalmaztam az 5 ml-es kriocső mélyhűtését programozható mélyhűtő berendezésben. Továbbá a szakirodalomban fellelt publikációk alapján szintén elsőként alkalmaztam az eljárást egy hazai ponty tájfajta esetében (HORVÁTH et al. 2007). A mélyhűtési módszerek eredményességét szaporítás során kívántam igazolni. A 10 ml-es kriocsőben történő mélyhűtés során a mozgási paraméterekre negatív

hatással volt a fagyasztás folyamata. Kísérletemben alacsony kelési arányt rögzítettem továbbá mind a friss sperma, mind a pér, mind pedig a módosított csuka hígító használatát követően. Az alacsony kelési arány valószínűsíthető oka a Rack rendszerbe helyezett termékenyített ikratételek nem megfelelő eloszlása lehetett az aljzaton. Feltételezhető továbbá, hogy a rossz ikraminőség is hatással lehetett az alacsony értékekre. A pér hígító esetében magasabb progresszív motilitási és kelési eredményt rögzítettem összehasonlítva a módosított csuka hígítóval. Hipotézisem szerint ezek a véletlenszerűen előforduló különbségek az egyes motilitási paraméterekben a minták egyedi variációjával, valamint a fagyasztási folyamat során a spermiumok alpopulációira gyakorolt erős szelekciós hatással magyarázhatók (KRÓL et al. 2018). Az újonnan tesztelt csuka hígító azonban lehetővé teszi egy pontos, jól működő egységes sperma-ikra arány, valamint termékenyítési egység kidolgozását (HU et al. 2011). Intenzív nevelési vizsgálataim során elsőként írtam le a tájfajta kelő lárvájának átlagos testhossz és testtömeg paramétereit. A lárvanevelés során magas növekedési értékeket rögzítettem. Vizsgálatomban $94\pm 2\%$ -os megmaradási arányt mértem, amely jóval meghaladja a szakirodalomban fellelhető, azonban tavi kihelyezésnél leírt ($45\pm 21\%$) értéket (HORVÁTH 2018). Lárvamorfológiai vizsgálataim során a vizsgált torzulások mértéke elmaradt más pontyféléknél leírtakhoz képest (BERNÁTH et al. 2018; MARTINS et al. 2009), illetve megfelelt a más vadponty típusnál felvételzett aránynak (ŁUGOWSKA & SARNOWSKI 2011; MARTINS et al. 2009).

4.1.2. A hévízi törpenövésű magyar vadponton elért eredmények következtetései

Tavi környezetben végzett oltási kísérleteim eredményeiből jól látható, hogy sikeresen indukáltam a sebezhető természetvédelmi értékű és rendkívül stresszérzékeny vadponty spermiációját. Az oltásra az egyedek jól reagáltak és elhullás nélkül sikerült a beoltott tejeseket lefejtnem. Az egyedek közvetlen zárt recirkulációs rendszerbe történő helyezését követően egy növekvő hormonadagú oltási sorozatot alkalmazva a lefejt sperma minősítése során magas pMOT, mérsékelt VCL, illetve megfelelő LIN értékeket rögzítettem. A kontroll csoportnál kapott negatív eredményekből (nem nyertem értékelhető ivarterméket) látható, hogy a tavi körülményekhez hasonlóan a magas hőmérséklet önmagában nem elegendő a halak spermiációjának indukálásához. Keltetőházi körülmények között szükség van az elnyújtott idejű hormonkezelésre a sebezhető természetvédelmi értékű hévízi ponty esetében is. Az előzőekben bemutatott oltási sorozatot alkalmaztam egy hosszan tartó zárt recirkulációs rendszerben történő tartást követően. Sikeres sperma termelés indukálását követően eredményesen fejtem le

az oltott egyedeket, és magas progresszív motilitási értékeket rögzítettem. A mélyhűtés során sikerrel alkalmaztam az eredetileg csuka fajra kidolgozott hígítót, valamint a korábban pontyféléknél már sikeresen alkalmazott pér hígítót. Eredményeim alapján, hasonlóan a sudár ponty tájfajtaához, a csuka hígító alkalmazása során a felolvasztott ivarterméknél nem tapasztaltam agglutinációt. A hévízi ponty esetében elsőként alkalmaztam sikerrel programozható fagyasztó berendezést. Termékenyítési kísérletem során, a vadon befogott állomány hormonális indukálást követően sikeresen fejtem ivarterméket. Az embriók fejlődése azonban az inkubáció során megállt. A jelenség oka a petesejtek aszinkron fejlettségi állapota lehetett. Számos halfaj esetében jegyezték fel, hogy a szaporítás során problémát okoz az ivarsejtek nem szinkronizált érése (ASTURIANO et al. 2004; CABRITA et al. 2006). A sikertelen szaporítás további esetleges problémája lehetett a zárt intenzív recirkulációs rendszerben biztosított, a természetestől eltérő, szaporítási környezet (WOYNÁROVICH & HORVÁTH 1980). A sperma minőségét kísérlemben nem vizsgáltam (túl kevés ivartermék állt rendelkezésre). Nem kizárható ezen oknál fogva, hogy a sperma minősége szintén befolyásolta a termékenyülést és az ikrainkubációt (KHOLODNYI et al. 2019).

4.2. Javaslatok

Eredményeim alapján a gazdasági szempontból fontos sudár ponty, illetve a természetvédelmi értéket képviselő hévízi vadponty esetében a következő javaslatokat szeretném tenni:

Balatoni sudár ponty:

1. Ajánlom a polisztirol doboz használata során az 5 ml-es műszalma és az 5 ml-es kriocső esetében a 3 cm magasságban, 7 perc időtartamú mélyhűtést. Programozható mélyhűtő berendezés esetén az 5 ml-es műszalma, valamint 5, illetve a 10 ml-es kriocső esetében a 4 °C-os kiindulási és -160 °C végponti hőmérsékletre történő mélyhűtési protokollját 15 °C/perc hűtési sebességgel javaslom alkalmazni. Mindkét eljárás jól használható nagy mennyiségű sudár ponty sperma fagyasztása során, illetve a módszerek kiválóan átültethetőek a keltetőházi szaporítási gyakorlat számára.
2. Sudár ponty esetén javallom az 1:9-es hígítási arányt alkalmazni üzemi mennyiségű sperma mélyhűtése során.
3. Nagy mennyiségű (CRF berendezés) 10 ml-es kriocső felolvasztása során javaslom a 3 perc 30 másodpercig tartó felolvasztást a pér és a csuka hígító használatát követően, az 5 ml-es kriocső (polisztirol doboz, CRF berendezés) felolvasztásánál pedig a pér hígító esetében 2 perc 45 másodperc, míg a csuka hígítónál a 2 perc 15 másodperc felolvasztási időtartam alkalmazását 40 °C-os vízfürdőben.

4. A sudár ponty ivartermékének mélyhűtése, illetve a szaporítási eljárásnál történő felhasználás során egyaránt javaslom a korábban pontyféléken sikeresen alkalmazott pér, illetve az újonnan alkalmazott csuka hígító használatát. A pontosabb termékenyítési egység meghatározásához a csuka hígító alkalmazását ajánlom.
5. Eredményeim alapján javaslom a gazdasági szempontból fontos ponty tájfajta zárt intenzív recirkulációs rendszerben, vagy keltetőházi körülmények között a keléstől számított hosszabb távú előnevelését (10 nap).

Hévízi törpenövésű magyar vadponty:

1. Terepi körülmények között javaslom a vadon befogott állomány parton történő hormonális indukcióját a megfelelő minőségű ivartermék kinyeréséhez. Zárt intenzív recirkulációs rendszerben tartott egyedek esetében azonban az elnyújtott idejű növekvő hormondózisú egy hetes oltási protokollt (1. kezelés: 1 mg/ttkg, 2. kezelés: 2 mg/ttkg, 3. kezelés: 2 mg/ttkg, 4. kezelés: 4 mg/ttkg, 2 napos időintervallumokban) ajánlom alkalmazni.
2. Génmegőrzés céljából ivarsejtmélyhűtés során a 0,5 ml-es műszalma polisztirol doboz és CRF berendezésben történő mélyhűtése során egyaránt ajánlom a pér és a csuka hígítók alkalmazását.

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK

5.1. Angol nyelvű referált folyóiratban megjelent közlemények

1. VÁRKONYI, L., BOKOR, Z., MOLNÁR, J., FODOR, F., SZÁRI, ZS., FERINCZ, Á., STASZNY, Á., LÁNG, L. Z., CSORBAI, B., URBÁNYI, B., BERNÁTH, G. (2019): The comparison of two different extenders for the improvement of large-scale sperm cryopreservation in common carp (*Cyprinus carpio*). *Reprod Dom. Anim.* 2019. 54 (3):639–645. p.
2. MOLNÁR, J., CSORBAI, B., BERNÁTH, G., VÁRKONYI, L., URBÁNYI, B., BOKOR, Z. (2019): Optimizing fish structure in angling ponds focusing on white fish. *Acta Agraria Debreceniensis Journal of Agricultural Sciences* 2019 (1) 33-36. p.
3. VÁRKONYI, L., BOKOR, Z., FERINCZ, Á., STASZNY, Á., FODOR, F., SZÁRI, ZS., URBÁNYI, B., MOLNÁR, J., BERNÁTH G. (2018): The applicability of 10 ml cryotubes for sperm cryopreservation in a Hungarian carp landrace (*Cyprinus carpio carpio morpha accuminatus*), *Acta Agraria Debreceniensis Journal of Agricultural Sciences* 2018 (75) 93-97. p.
4. BERNÁTH, G., CSENKI-BAKOS, ZS. I., BOKOR, Z., VÁRKONYI, L., MOLNÁR, J., SZABÓ, T., STASZNY, Á., FERINCZ, Á., SZABÓ, K., URBÁNYI, B., PAP, L. O., CSORBAI, B. (2018): The effects of different preservation methods on ide (*Leuciscus idus*) sperm and the longevity of sperm movement. *Cryobiology* 81, p. 125–131. p.
5. BERNÁTH, G., ITTZÉS, I., SZABÓ, Z., HORVÁTH, Á., KREJSZEFF, S., LUJIC, J., VÁRKONYI, L., URBÁNYI, B., BOKOR, Z. (2017): Chilled and post-thaw storage of sperm in different goldfish types. *Reproduction In Domestic Animals*. Volume 52, Issue 4, p. 680-686. p.
6. BERNÁTH, G., ZARSKI, D., KÁSA, E., STASZNY, Á., VÁRKONYI, L., KOLLÁR, T., HEGYI, Á., BOKOR, Z., URBÁNYI, B., HORVÁTH Á. (2016): Improvement of Common Carp (*Cyprinus Carpio*) Sperm Cryopreservation using a Programable Freezer. *General and Comparative Endocrinology* 237. 78-88. p.

5.2. Magyar nyelvű referált folyóiratban megjelent közlemények

1. CSORBAI, B., URBÁNYI, B., BERNÁTH, G., SZABÓ, T., VÁRKONYI, L., MOLNÁR, J., CSENKI-BAKOS, ZS. I., BOKOR, Z. (2020) Kisméretű recirkulációs keltetők felhasználásának lehetősége Magyarországon *Halászat Tudomány* 6 /1 8-13. p.
2. SZABÓ, T., BOKOR, Z., BERNÁTH, G., VÁRKONYI, L., CSENKI-BAKOS, ZS. I., MÜLLER, T., MOLNÁR, J., SZABÓ, K., URBÁNYI, B., CSORBAI, B. (2019): A népesítési sűrűség növekedésre és megmaradásra gyakorolt hatásának vizsgálata a jászkeszeg (*Leuciscus idus*) intenzív rendszerben történő előnevelése során. *Halászat-Tudomány* 5/1. (2019) 3-6. p.
3. VÁRKONYI, L., MÜLLER, T., SPECIÁR, A., URBÁNYI, B., BERNÁTH, G. (2018): A Hévízi-tó környezeti sajátosságai és az ott élő „törpenövésű” vadponty bemutatása. *Halászat* 111. (1) 29-30. p.

4. **VÁRKONYI, L.** (2017): Farok nélküli vadponta a Hévízi-tóból. *Halászat* 110 (1) 15. p.
5. **BERNÁTH, G., ŽARSKI, D., KÁSA, E., STASZNY, Á., VÁRKONYI, L., KOLLÁR, T., HEGYI, Á., BOKOR, Z., URBÁNYI, B., HORVÁTH, Á.** (2016): A pontysperma mélyhűtés módszertani fejlesztése. *Halászat Tudomány* 2 (2) 18–26. p.

5.3. Magyar nyelvű könyvrészlet

1. **BARTUCZ, T., BOKOR, Z., IZSÁK, T., LÁNG, L. Z., MOLNÁR, J., NAGY, B., BERNÁTH, G., VÁRKONYI, L., CSENKI-BAKOS, ZS. I., FERINCZ, Á., STASZNY, Á., CSORBAI, B.** (2020): A domolykó (*Squalius cephalus*) ivadéknevelése recirkulációs rendszerben. In: **GYÖRE P.** (szerk): Szakkollégiumi és a Tudományos Diákköri Hallgatók Kutatásai. Debreceni Egyetem. 10-16. p. ISBN: 978-963-490-218-8. p.

5.4. Konferencia kiadványban megjelent közlemények

5.4.1. Angol nyelvű előadás

1. **VÁRKONYI, L., BOKOR, Z., MOLNÁR, J., FODOR, F., SZÁRI, ZS., FERINCZ, Á., STASZNY, Á., BIRKO-SULYOK, Z., LÁNG, L. Z., CSORBAI, B., URBÁNYI, B., BERNÁTH, G.** (2018): The comparison of two different extenders and the improvement of large-scale sperm cryopreservation in common carp (*Cyprinus carpio*). Seventh International Young Researchers' Conference of NACEE, Gorki, Belarus, December 11-14, 2018. Abstract book. 24-25. p.
2. **BERNÁTH, G., CSENKI-BAKOS, ZS. I., BOKOR, Z., VÁRKONYI, L., MOLNÁR, J., KAJTÁR, A., SZABÓ, T., STASZNY, Á., FERINCZ, Á., SZABÓ, K., URBÁNYI, B., CSORBAI, B.** (2017): The effects of different preservation methods on Ide (*Leuciscus idus*) sperm and the longevity of sperm movement. 6th International Workshop on the Biology of Fish Gametes, Czech Republic, České Budějovice, 2017. September 4-7. Abstract book 81. p.

5.4.2. Magyar nyelvű előadás

1. **VÁRKONYI, L., BOKOR, Z., CSORBAI, B., MOLNÁR, J., NAGY, B., LÁNG, L. Z., IZSÁK, T., BARTUCZ, T., FEKETE, Á., FODOR, F., SZÁRI, ZS., URBÁNYI, B., BERNÁTH, G.** (2020): A balatoni sudár ponty (*Cyprinus carpio carpio morpha accuminatus*) keltetőházi szaporítása, valamint intenzív recirkulációs rendszerben történő lárvanevelése. *Halászatfejlesztés* 37., 116-118. p.
2. **MOLNÁR, J., BÉKÉSI, R., VÁRKONYI, L., CSORBAI, B., CSENKI-BAKOS, ZS. I., MÜLLER, T., URBÁNYI, B., SZABÓ, T.** (2020): Különböző népesítési sűrűségben történő márna (*Barbus barbus*) előnevelés növekedésre és megmaradásra gyakorolt hatásának vizsgálata intenzív körülmények között. *Halászatfejlesztés* 37., 21-23. p.
3. **VÁRKONYI, L., BOKOR, Z., FERINCZ, Á., STASZNY, Á., MOLNÁR, J., BIRKÓ-SULYOK, Z., LÁNG, L. Z., JUHÁSZ, V., FODOR, F., SZÁRI, ZS., URBÁNYI, B., BERNÁTH, G.** (2018): A hévízi törpenövésű magyar vadponta (*Cyprinus carpio morpha hungaricus*), valamint a balatoni sudár ponty (*Cyprinus carpio morpha accuminatus*) szaporodásbiológiájának

vizsgálata és *in vitro* spermabankjának létrehozása. XXXVII. Óvári Tudományos Nap, Mosonmagyaróvár, 2018. november 9-10. Kivonat 154. p.

4. **VÁRKONYI, L.** (2017): A hévízi törpenövésű magyar vadponty (*Cyprinus carpio morpha hungaricus*), valamint a balatoni sudár ponty (*Cyprinus carpio morpha accuminatus*) szaporodásbiológiájának vizsgálata és *in vitro* spermabankjának létrehozása. Jövő tudósai, a vidék jövője doktoranduszok konferenciája. Debrecen, 2017. november 24. Kivonat 6. p.

5.4.3. Angol nyelvű poszter

1. **VÁRKONYI, L., BOKOR, Z., FERINCZ, Á., STASZNY, Á., MOLNÁR, J., BIRKÓ-SULYOK, Z., LÁNG, L. Z., IZSÁK, T., NÉMETH, F., URBÁNYI, B., BERNÁTH, G.** (2019): The investigation of the reproductive biology of Hévíz dwarf carp (*Cyprinus carpio morpha hungaricus*) Aquaculture Europe 2019. Berlin-Germany, October 7-10, 2019, Abstract book 1569-1570. p.
2. **VÁRKONYI, L., MOLNÁR, J., LÁNG, L. Z., FERINCZ, Á., STASZNY, Á., FODOR, F., SZÁRI, ZS., URBÁNYI, B., BOKOR, Z., BERNÁTH, G.** (2018): Methodical improvement of sperm cryopreservation in a Hungarian common carp landrace (*Cyprinus carpio carpio morpha accuminatus*). Aqua 2018, Montpellier, France August 25 - 29, 2018. Abstract book 774. p.
3. **VÁRKONYI, L., JÓZSEF, M., STASZNY, Á., FERINCZ, Á., BOKOR, Z., URBÁNYI, B., NÉMETH, G., BERNÁTH, G.** (2018): The comparison of two hormonal induction method in the Heviz carp (*Cyprinus carpio carpio morpha hungaricus*). 8th International Water and Fish Conference, Belgrade, Serbia, June 13-15, 2018. Abstract book 272-275. p.
4. **VÁRKONYI, L., BERNÁTH, G., FERINCZ, Á., STASZNY, Á., FODOR, F., SZÁRI, ZS., URBÁNYI, B., BOKOR, Z.** (2017): The establishment of sperm banks in Sichel (*Pelecus cultratus*), Volga pikeperch (*Sander volgensis*) and the wild Common carp (*Cyprinus carpio morpha hungaricus*) focused on the population management at Lake Balaton. Aquaculture Europe '17 Dubrovnik, Croatia, October 16-20, 2017. Abstract book 1228. p.

5.4.4. Magyar nyelvű poszter

1. **VÁRKONYI, L., BOKOR, Z., CSENKI-BAKOS ZS. I., CSORBAI, B., MOLNÁR, J., NAGY, B., LÁNG, L. Z., IZSÁK, T., BARTUCZ, T., FEKETE, Á., FODOR, F., SZÁRI, ZS., URBÁNYI, B., BERNÁTH, G.** (2020): A balatoni sudár ponty (*Cyprinus carpio morpha accuminatus*) keltetőházi szaporítása, valamint intenzív recirkulációs rendszerben történő lárvanevelése. XLIV. Halászati Tudományos Tanácskozás, Szarvas 2020. szeptember 23-24. Kivonat 116-118. p.
2. **VÁRKONYI, L., SPECZIÁR, A., HORVÁTH, L., URBÁNYI, B., MÜLLERNÉ TRENOVSZKI, M., MÜLLER, T.** (2016): Hévízi törpenövésű vadponty indukált szaporítása az élőhelyén. LVIII. Georgikon Napok, Keszthely, 2016. szeptember 29-30. Kivonat 157. p.