

HALÁSZAT – TUDOMÁNY

3. évfolyam | 1.szám | 2017

Alapítva: 2015



➤ Széles kárász (*Carassius carassius* L.) egynyaras ivadék halastavi nevelése monokultúrában

3. oldal

➤ *Aeromonas* spp. okozta bőrfekélyesedés kezelési lehetőségei a gyakorlatban

10. oldal

➤ A pikkelyalak ontogenetikus fejlődése ezüstkárász esetén (*Carassius gibelio*)

18. oldal

➤ Triploidisation of pike perch (*Sander lucioperca* L.) may be associated with apoptosis in larvae

23. oldal

HALÁSZAT – TUDOMÁNY

3. évfolyam | 1.szám | 2017

Földművelésügyi Minisztérium tudományos folyóirata

A HALÁSZAT lap szerkesztőbizottsága

Főszerkesztő:
Dr. Váradi László

Főszerkesztő-helyettes
Dr. Bercsényi Miklós

Szerkesztő:
Bozánné Békefi Emese

A szerkesztőbizottság tagjai:

Dr. Béres András
Dr. Bíró Péter
Dr. Hancz Csaba
Dr. Harka Ákos
Hoitsy György
Dr. Jeney Zsigmond
Dr. Molnár Kálmán
Dr. Németh István
Dr. Orbán László
Dr. Szathmári László
Dr. Székely Csaba
Dr. Szűcs István
Udvari Zsolt
Dr. Urbányi Béla

A folyóirat megjelenését támogatja:
Magyar Akvakultúra és Halászati
Szakmaközi Szervezet

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

Felelős kiadó:
BÁRÁNYNÉ ERDEI RITA

HALÁSZAT
Megjelenik félévente.

Szerkesztőség:
Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs
Központ
Halászati Kutatóintézet
5540 Szarvas, Anna-liget 8.
Telefon: 06 66 515 300
E-mail: info@haki.hu

HU ISSN 0133-1922
Index: 125 372

Címlapkép:
Tenyésztett Széles kárász telepítése
Fotó: Dr. Józsa Vilmos

Tisztelt Olvasó!

A Halászat lap elektronikus formában megjelenő Halászat Tudomány társlapjának megjelentetésére azért került sor, hogy az elektronikus lap „tárháza” legyen a halászat tudományos műhelyei, halászzal foglalkozó kutatók tudományos alapnormáknak megfelelő, lektorált közleményeinek. A szerkesztőbizottság törekszik arra, hogy a Halászat Tudomány elektronikus lap minél hatékonyabban szolgálja a tudományos eredmények megismerését és hasznosítását. Így az olvasók és a potenciális szerzők figyelmébe ajánlom Dr. Bercsényi Miklós főszerkesztő-helyettes alábbi üzenetét.

Váradi László
főszerkesztő

Kedves Kutatók, kutatási eredményeket Hasznosítók, Olvasóink!

Az elektronikus HALÁSZAT-TUDOMÁNY-ba a papír alapú újságba terjedelmi, vagy tematikai okokból kevéssé beilleszthető, magyar, vagy angol nyelvű kéziratokat várunk. Az elektronikus lap szélesebb, nemzetközi olvasótáborhoz is eljut. A kéziratok kiválasztását, megfelelő bírálati rendszer segíti. Elvárjuk, hogy az itteni közlemények alapvetően ugyanolyan tudományos kritériumoknak feleljenek meg, mint amit a világ vezető tudományos lapjai is megkövetelnek. Ezek egyszerű dolgok. A kézirat témája kapcsolódjon az olvasók szakmai érdeklődési területéhez. Másutt nem közölt új tudományos eredményeket mutasson be (kivétel lehet egy-egy tematikus irodalmi áttekintés, review). Röviden ismertesse a tudomány/szakma állását a vizsgált területen. A kísérletek anyagát, módszerét és elrendezését úgy írja le, hogy az egyértelmű és bárki által megismételhető legyen. Külön hangsúlyt fektessen a kontrollokra. Ha csak lehet, alkalmazzon ide illő statisztikai értékelés(ek)e)t. Foglalja össze, hogy milyen következtetés(ek) vonhatók le a kísérletekből. Biztosak vagyunk abban, hogy az itt megjelenő színvonalas szaktudományos cikkek sokat segítenek a hazai hal és halászzatudomány fejlődésében épp úgy, mint halászati ágazat eredményességében. A továbbiakban is örömmel várjuk az értékes kéziratokat.

Bercsényi Miklós
főszerkesztő-helyettes

A T A R T A L O M B Ó L

Széles kárász (<i>Carassius carassius</i> L.) egynyaras ivadék halastavi nevelése monokultúrában (Józsa Vilmos, Fazekas Gyöngyvér, Mozsár Attila, Kovács Balázs)	3
Aeromonas spp. okozta bőrfekélyesedés kezelési lehetőségei a gyakorlatban (Zsigmond Gergely, Rónai Zsuzsanna, Rigler Eszter, Sipos Dóra, Balog Attila, Katics Máté, Hoitsy György, Eszterbauer Edit)	10
A pikkelyalak ontogenetikus fejlődése ezüstkárász esetén (<i>Carassius gibelio</i>) (Staszny Ádám, Paulovits Gábor, Urbányi Béla, Ferincz Árpád)	18
Triploidisation of pike perch (<i>Sander lucioperca</i> L.) may be associated with apoptosis in larvae (Demeter, K., Abdelkader, R., Beliczky, G., Bodó, S. and Nagy, S.)	23

Széles kárász (*Carassius carassius* L.) egynyaras ivadék halastavi nevelése monokultúrában

Józsa Vilmos^{1*}, Fazekas Gyöngyvér,¹ Mozsár Attila¹, Kovács Balázs²

¹ NAIK Halászati Kutatóintézet, 5540 Szarvas, Anna liget u. 8.

² Szent István Egyetem, MKK, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter K. u. 1.

*e-mail: jozsav@haki.hu

Kulcsszavak: őshonos faj, állomány utánpótlás, ivadéknevelés, tógazdaság

Keywords: native species, stock enhancement, juvenile rearing, pond culture

ÖSSZEFOGLALÁS

Az élőhelyek leromlása és a terjedő inváziós fajok jelenlétének köszönhetően Magyarországon szükségessé vált a széles kárász (*Carassius carassius* L.) természetes populációik egyedszámának növelése. Ennek elősegítésére egy széles kárász fajmegőrzési program indult, melynek központi célja öfenntartó széles kárász állományok kialakítása.

Az eddigi ivadéknevelési kísérletek során alacsony testtömeget (1-1,5 g) értek el, ami nehezen éli túl a téli időszakot. Technológiai kísérletünk elsődleges célja volt nagyobb, legalább 25 grammos ivadék felnevelését lehetővé tevő optimális népesítési sűrűség megtalálása.

Az előnevelést követően hét különböző méretű utónevelő tóba (0,15 ha, 0,18 ha, 0,34 ha) helyeztük ki a halakat három állomány sűrűség (50.000, 60.000 és 75.000 db/ha) mellett. Kihelyezésekor a halak egyedtömege ~1,5 g volt.

A halak növekedésének intenzitására elsősorban nem a tavak mérete és a népesítési sűrűség volt hatással, hanem azok egészségi állapota. A legjobb takarmányegyütthatót (1,06 kg/kg) a legmagasabb népesítésnél (75.000 db/ha) értük el, ahol a lehalászott ivadék átlagos egyedsúlya 20,6 gramm volt. Ennél nagyobb ivadékokat (30-33 g) az alacsonyabb népesítésű (60.000 db/ha) tavakban sikerült felnevelni, nagyobb takarmányfelhasználás mellett (1,73-2,47 kg/kg). Ezt a súlyt és a közel 120 mm-es testhosszt a széles kárász természetes körülmények között a harmadik életévében éri csak el. A ráfordított többlettakarmány költség ellenére, de a várható jobb megmaradási mutatók miatt egy eredményes visszatelepítési program érdekében ezt az utóbbi technológiai megoldást lenne célszerű alkalmazni.

REARING OF LARGE WEIGHT CRUCIAN CARP (*CARASSIUS CARASSIUS* L.) JUVENILES IN MONOCULTURE

Vilmos Józsa, Gyöngyvér Fazekas, Attila Mozsár, Balázs Kovács

SUMMARY

Due to the habitat degradation and presence and spread of invasive fish species, the strengthening of natural crucian carp populations become necessary in Hungary. Within the frame of a crucian carp conservation program, the establishment of self-sustaining populations of this native fish species was aimed.

The formerly applied juvenile rearing methods produced small sized (average weight 1-1.5 g) crucian carp specimens, which questioned the overwintering survival of stocked specimens. The central aim of this study was to reveal an optimal stocking density for rearing larger (at least 25 g) specimens.

To assess the effect of stocking density on body size, crucian carp juveniles (average weight 1.5 g) were stocked in three different densities (50.000 ind./ha, 60.000 ind./ha and 75.000 ind./ha). Three different pond size (0.15 ha, 0.18 ha, 0.34 ha) were applied in this study.

The growth rate was primarily influenced by the health condition of fish, while the effect of stocking density and size of rearing ponds proved to be marginal. The lowest (1.06) food conversion ratio was observed in the highest stocking density treatment, where the average body weight of crucian carps was 20.6 g. The average body weight was higher in lower stocking treatments (30-33 g), but with higher food conversion ratio (1.73-2.47). This body size can be observed only in the third year in natural populations.

In spite of the higher food conversion ratio, and thus higher rearing costs, the lower stocking density is recommended for crucian carp rearing in order to increase the overwintering survival.



A széles kárász több országban védeltséget élvez, mivel populációi sajnos erősen megfogyatkoztak. Az IUCN vörös listáján Least Concern = „legkevésbé érintett” kategóriában szerepel, azonban populációi világviszonylatban is csökkenő tendenciát mutatnak. A széles kárász hazai veszélyeztetettségi státusza „R” azaz rare = ritka (Guti 1993). Sallai (1999) javaslatot tett több hazai halfaj védeltségi státuszának átértékelésére. A biodiverzitás fenntartása érdekében védett kategóriába javasolta a széles kárászt, mint ritkuló, mocsári faunaelemet. 2014-ben hatályba lépett új halgazdálkodási törvény két fajt, a kecsegét és a széles kárászt „nem fogható” kategóriába helyezte. Ez alól csak szakvélemény alapján adható helyi felmentés, amennyiben igazolást nyer, hogy az érintett faj helyi állománya elbírja a hasznosítást.

A széles kárász növekedése nagyon eltérő, egyaránt függ a környezeti feltételektől és az állomány sűrűségétől (Berg, 1949, Ivlev, 1961, Nikolsky, 1963). Megállapítást nyert, hogy kisebb állománysűrűség mellett a széles kárász gyorsabban nő (Hamrin, 1979, Holopainen Pitkanen, 1985). Viszonylag sok adat van a növekedéséről (Heuschman, 1938, Schäperclaus, 1953, Zawisza és Antosiak, 1961, Białokoz, 1979, Brylińska és mtsai, 1991). Ez alapján megállapítható, hogy lassú növekedésű halfaj. Az első évben 2-3 cm-es nagyságot érnek el a farkukon sötét foltot viselő kárászok. Természetes vizekben csak kivételesen kedvező körülmények között érhetik el a má-

sodik év végére 10 cm testhosszt. Táplálékszegény vízben, illetve sűrű állományokban lassan növekszik, alacsony hátú, úgynevezett csökött formát vesz fel (Berinkey, 1966, Pintér, 2002). Nagymértékben függ az egyes populációk növekedési üteme az élőhely fajszerkezetétől. Olyan állományokban, ahol egyedüli fajként fordul elő, a halak testmagassága, az átlagos mérete jóval kisebb, mint ahol több halfaj populációi megtalálhatók (Holopainen et al., 1997, Kottelat és Freyhof, 1997).

A külföldi szakirodalom szintén lassú természetes vízi növekedésről számol be. Élőhelytől függően 2-5 cm-t érhet el az első évben, a másodikban 3-8 cm-t, a harmadikban pedig 4-12 cm-t (Copp et al., 2008). Tógazdaságban viszont jóval gyorsabban növekszik, kétnyaras korára elérheti az 50 grammos egyedi tömeget (Szczerbowski, 1996).

Vizsgálatainkat egy fajmegőrzési program keretében végeztük el, melynek elsődleges célja, természetes vizeink nagymértékű ezüstkárász dominanciája miatt, elsősorban lokális önfenntartó törzsállományok kialakítása volt. Ennek érdekében az ország eltérő régióiban felmérésre kerültek azok az élőhelyek, ahol az invazív ezüstkárász jelenléte még nem veszélyezteti a törzsállományok kialakítását. A halfaj esetében az eredményes állománymegőrzés



1. táblázat: A tavak mérete és az alkalmazott népesítési sűrűség

Tó száma	kihelyezési darabszám	tó terület, m ²	Népesítési sűrűség, db/ha	Megmaradási mutató %
41	25800	3400	75882	89
42	16500	3400	48529	90
55	9000	1800	50000	50
101	8400	1500	56000	91
102	9000	1500	60000	51
103	9000	1500	60000	52
104	9000	1500	60000	51

csak tógazdasági termeléssel lehetséges. A telepítésekkel kialakított törzsállományok a genetikai diverzitás fenntartása mellett elsősorban az anyaállomány utánpótlására alkalmasak. Az állománypótlási tevékenység során a legfőbb célkitűzés a genetikai változatosság olyan szintű megőrzése, amely a természetes körülmények között biztosítja a faj túlélését.

Az általunk végzett mesterséges szaporítással kap-

csolatban megjegyezendő, hogy a széles kárász szaporításával nem mi foglalkoztunk először, annak módszerét több hazai és külföldi publikációban leírták már (Müller és mtsai, 2007, Demény és mtsai, 2009, Targonska et al 2012). Ezért ennek részletes leírásával itt nem kívánunk foglalkozni. Azonban az akvakultúrában felnevelt és természetes vizekbe kihelyezendő széles kárász ivadékok esetében, az eddigi kísérletek során elért alacsony

2. táblázat: A próbahalászatoknál mért és az abból számított átlag és szórás értékek

tó száma	L, mm	W, g	L, mm	W, g	L, mm	W, g	L, mm	W, g
41-es tó	2015.08.05.		2015.08.19.		2015.09.09.		2015.11.10.	
min.	71,0	5,9	73,0	7,2	79,0	8,0	91,0	12,7
max.	108,0	23,7	110,0	25,7	127,0	37,7	131,0	39,9
átlag	84,2	10,6	89,1	12,8	98,7	17,0	106,0	20,8
SD	6,2	3,0	8,2	4,0	11,5	6,7	9,7	6,7
42-es tó	2015.08.05.		2015.08.19.		2015.09.09.		2015.10.07.	
min.	71,0	5,9	73,0	7,2	79,0	8,0	91,0	12,7
max.	108,0	23,7	110,0	25,7	127,0	37,7	131,0	39,9
átlag	84,2	10,6	89,1	12,8	98,7	17,0	106,0	20,8
SD	6,2	3,0	8,2	4,0	11,5	6,7	9,7	6,7
55-ös tó	2015.08.05.		2015.08.19.		2015.09.09.		2015.10.06.	
min.	65,0	4,2	63,0	4,3	61,0	5,3	77,0	8,3
max.	94,0	15,1	96,0	14,7	104,0	17,8	109,0	25,0
átlag	76,1	7,9	82,7	9,5	83,5	10,2	90,9	14,1
SD	7,1	2,5	8,1	2,5	11,5	3,8	7,3	3,8
101-es tó	2015.07.31.		2015.08.19.		2015.09.09.		2015.11.04.	
min.	70,0	5,6	85,0	11,6	90,0	12,6	95,0	14,6
max.	99,0	18,0	116,0	26,9	135,0	43,7	130,0	40,6
átlag	86,3	11,9	99,5	17,7	105,0	20,9	114,2	27,8
SD	6,7	2,5	7,4	3,9	8,6	5,8	8,0	6,1
102-es tó	2015.07.31.		2015.08.19.		2015.09.09.		2015.11.04.	
min.	70,0	6,9	88,0	11,5	92,0	14,4	107,0	21,1
max.	91,0	17,1	122,0	36,5	122,0	33,8	140,0	52,7
átlag	81,6	10,7	101,3	19,4	105,4	21,6	121,9	33,6
SD	5,0	2,0	7,6	4,8	7,4	5,1	8,7	7,7
103-as tó	2015.07.31.		2015.08.19.		2015.09.09.		2015.11.04.	
min.	64,0	5,6	88,0	11,8	95,0	15,8	100,0	17,3
max.	95,0	17,5	112,0	24,8	145,0	61,9	143,0	53,5
átlag	80,6	10,6	100,7	18,8	109,9	24,7	118,4	30,9
SD	6,3	2,5	6,1	3,2	7,9	7,0	9,0	7,8
104-es tó	2015.07.31.		2015.08.19.		2015.09.09.		2015.11.04.	
min.	72,0	8,0	85,0	11,6	95,0	14,8	101,0	18,6
max.	105,0	24,8	120,0	34,5	132,0	43,9	137,0	49,4
átlag	86,1	12,3	100,6	18,5	109,8	25,2	120,0	32,7
SD	6,0	2,8	7,1	4,2	7,7	5,9	9,3	7,8

testtömegeből (1-1,5 g) adódóan várható alacsony megmaradási mutatók veszélyeztetik az ehhez hasonló fajmegőrzési programok eredményességét. Az összes kihelyezett kis egyedsúlyú ivadékoknak csak töredéke képes átvészelni a téli időszakot.

Anyag és módszer

A technológiai kísérletünk elsődleges célja annak az optimális népesítési sűrűségnek a megtalálása volt, amely a nagy, legalább 25 grammos ivadék felnevelését teszi lehetővé az utónevelés során.

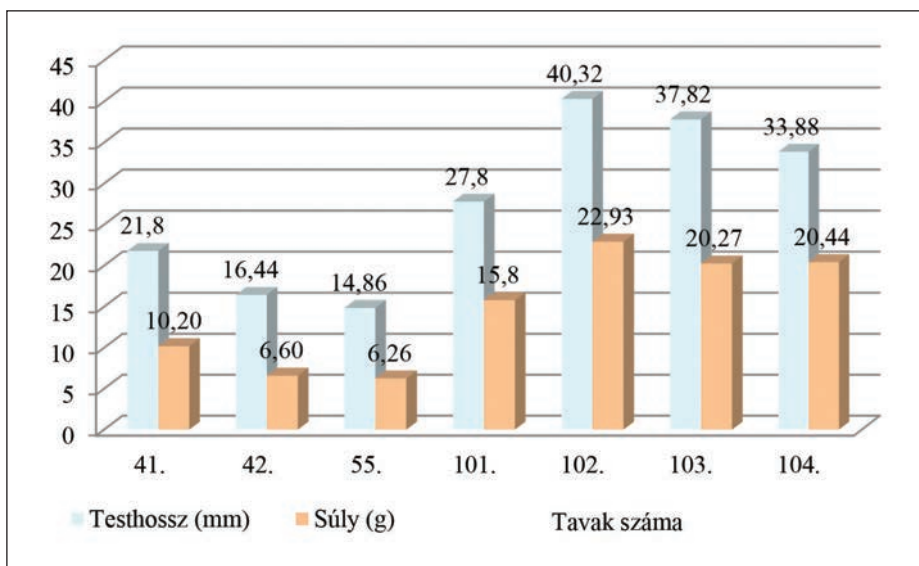
Az első levegővétel után (kb. 1 héttel a szaporítást követően) helyeztük ki a zsenge ivadékokat az erre előkészített előnevelő tóba. Az első táplálékukat a kerekcsigák alkották, majd fokozatos átállás mellett a továbbiakban táppal történt a takarmányozás.

A mintegy egy hónapos előnevelést követően a halakat hét darab, három különböző méretcsoportba tartozó utónevelő tóba helyeztük ki (0,15 ha, 0,18 ha, 0,34 ha). A népesítésnél az összehasonlítható növekedési vizsgálathoz három állomány sűrűséget alkalmaztunk: 50.000 db/ha, 60.000 db/ha és 75.000 db/ha. Kihelyezésekor a halak tömege ~150 mg volt. A kihelyezést követően az ivadékok naponta egyszer etették ponty és harcsatáppal.

Minden tóban havonta egyszer, összesen négy alkalommal végeztünk próbahalászatot, melynek során mértük a kifogott egyedek teljes hosszát (mm) és tömegét (g). Minden alkalommal tavanként 50 halat mértünk, és az egyes mérések után minden egyed visszarendeltük a tóba.

Az egyes tavakba kihelyezett halak számát, az utónevelő tavak méretét és a hektárra számított népesítési sűrűséget az 1. táblázat tartalmazza.

A próbahalászatok eredményei alapján minden mérési időszakra tavanként kiszámítottuk a mért testhossz és testtömegek átlagértékét, a minimális és maximális értékeket, valamint azok szórását (SD).



1. ábra: A különböző tavakban mért növekedési mutatók

A testhossz-testtömeg összefüggés vizsgálatával kerestük az optimális növekedést eredményező kihelyezési sűrűséget.

Az értékelést a $W = a + L^b$ hatványfüggvény segítségével végeztük el. A halak növekedését „b” regressziós koefficiens értéke alapján lehet értékelni. Amennyiben a képletben szereplő „b” = 3, akkor a növekedés izometrikus. Egyéb esetben allometrikus növekedésről beszélünk, azaz ilyenkor a testtömeg a törzhosszhoz viszonyítva gyorsabban vagy lassabban fejlődik. A 3-nál kisebb értékű allometrikus növekedés esetén a hal testhossz növekedése meghaladja a testtömeg gyarapodását, azaz a hal soványabb az elméleti kondíciójánál. A 3-nál nagyobb érték esetén viszont a kondíciója jobb. A «b» értékét nagyon sok külső és belső hatás befolyásolja. Ilyen a víz minősége, táplálkozási viszonyok, egyedsűrűség, éves szezonálitás, napszakos változás, kor.

Eredmények és értékelés

A szezonális próbahalászatok eredményeit a 2. táblázatban összesítettük. Az összes lehalászott ivadék mért és számított értékei alapján az alábbi megállapítások tehetőek. A 75000 db/ha-os népesítésnél az átlagos testhossz 106 mm (91-131), az átlagos testtömeg 20,8 g (12,7-39,9) volt. Az 50000 db/ha-os népesítésnél az átlagos testhossz 91 mm (77-109), az átlagos testtömeg 14,1 g (8,3-25) volt. Az 60000 db/ha-os népesítésű tavaknál az átlagos testhossz 114-122 mm (95-143), az átlagos testtömeg 27,8-33,6 g (14,6-53,5) között váltakozott.

A szórás adatok alapján megállapítható volt, hogy az 55-ös tóban volt a leghomogénebb a halállomány, habár az a 100-as tavakhoz hasonló megmaradási mutatók ellenére is a leggyengébb növekedési mutatókkal bírt.

A különböző tavakban mért növekedési mutatókat az 1. ábrán összesítve szemléltetjük.

3. táblázat: A testhossz-testtömeg összefüggés hatvány függvény számítás eredményei

„b” regressziós koefficiens értéke							
	41-es tó	42-es tó	55-ös tó	101-es tó	102-es tó	103-as tó	104-es tó
2015.08.05.	2,74	2,74	2,74	2,74	2,47	2,60	2,81
2015.08.19.	3,23	2,73	2,59	2,70	2,97	2,71	2,94
2015.09.09.	2,94	2,84	2,41	2,99	3,20	2,99	3,05
2015.11. hó	3,11	3,28	3,16	3,10	3,03	3,05	3,00
átlag	3,01	2,90	2,72	2,88	2,92	2,84	2,95
determinációs koefficiens (R ²)értékek							
2015.08.05.	0,92	0,92	0,92	0,92	0,71	0,80	0,92
2015.08.19.	0,97	0,82	0,98	0,90	0,93	0,88	0,92
2015.09.09.	0,87	0,66	0,89	0,93	0,96	0,83	0,88
2015.11. hó	0,95	0,97	0,94	0,90	0,90	0,91	0,92
átlag	0,93	0,84	0,93	0,91	0,88	0,86	0,91

4. táblázat: A takarmányozás főbb mutatói és a számított takarmányegyüttható

tó száma	megnevezés		tó száma	megnevezés		
41	ponty nevelő, kg	143	42	ponty nevelő, kg	143	
	harcsa roppantott, kg	343		harcsa roppantott, kg	304	
	összes takarmány, kg	486		összes takarmány, kg	447	
	lehalászott össztömeg,kg	461		lehalászott össztömeg,kg	372	
	<i>takarmány együttható</i>	1,06		<i>takarmány együttható</i>	1,2	
	tak. időtartama, nap	105		tak. időtartama, nap	90	
55	ponty nevelő, kg	90	101	ponty nevelő, kg	16	
	harcsa roppantott, kg	331		harcsa roppantott, kg	163	
	összes takarmány, kg	421		összes takarmány, kg	179	
	lehalászott össztömeg,kg	64		lehalászott össztömeg,kg	103	
	<i>takarmány együttható</i>	6,61		<i>takarmány együttható</i>	1,73	
	tak. időtartama, nap	105		tak. időtartama, nap	65	
102	ponty nevelő, kg	16	103	ponty nevelő, kg	16	
	harcsa roppantott, kg	163		harcsa roppantott, kg	163	
	összes takarmány, kg	179		összes takarmány, kg	179	
	lehalászott össztömeg,kg	73		lehalászott össztömeg,kg	75	
	<i>takarmány együttható</i>	2,45		<i>takarmány együttható</i>	2,37	
	tak. időtartama, nap	65		tak. időtartama, nap	65	
104	ponty nevelő, kg	16	összesítő	ponty nevelő, kg	440	
	harcsa roppantott, kg	163		harcsa roppantott, kg	1630	
	összes takarmány, kg	179		összes takarmány, kg	2070	
	lehalászott össztömeg,kg	72		lehalászott össztömeg,kg	1220	
	<i>takarmány együttható</i>	2,47		<i>átlag</i>	<i>takarmány együttható</i>	2,6
	tak. időtartama, nap	65		<i>átlag</i>	tak. időtartama, nap	80



A testhossz-testtömeg összefüggés vizsgálata során végzett hatványfüggvény számítás eredményeit táblázatosan összesítettük (3. táblázat).

Az átlagolt eredmények alapján a halak szezonális növekedésére vonatkozóan az alábbi megállapítások tehetők. Egyedül a 42-es tóba kihelyezett halak növekedése volt izometrikus, azaz a testhossz és a testtömeg egyenletesen növekedett. Az első próbahalászat eredményei alapján megállapítható, hogy habár a 41, 42, 55 és 101-es anyagba homogén állomány került kihelyezésre, szezonálisan az csak a 41-es és 42-es tó halállományánál maradt fenn. Az 55-ös tóban a növekedési tempó azoktól elmaradt, míg a 101-es tóban azt meghaladta. Ez eltérő népesítési sűrűség mellett következett be, ami alapján arra lehet következtetni, hogy a halak növekedése elsősorban takarmányon alapult, természetes hozam nem játszott abban jelentős szerepet. A 110-es tavak esetében megállapítható, hogy a gyengébb kondíciójú indulás ellenére a szezon végére azok növekedése izometrikussá vált, tehát növekedésük optimális volt.

A lehalászási átlagtömeg alapján megállapítható, hogy mind a négy tóban (101-104) a növekedés mértéke meghaladta a 40-es tavakban mért értéket. Az 55-ös tó gyengébb növekedési mutatóit és kondíció-faktorát a nyári időszakban észlelt *Lernaea* fertőzésnek tulajdonítottuk.

A megfelelő gyógykezelést követően a halak növekedése a szezon végére itt is izometrikussá vált. Az elemzések során kapott, az egyenlet illeszkedésének pontosságát kifejező átlagos R^2 értékek minden esetben a testhossz

és a testtömeg közötti szoros összefüggést mutattak 0,89 (0,84 – 0,93).

A növekedési és a lehalászási adatokat értékelve megállapítható, hogy az alkalmazott népesítési sűrűségek mellett lehetséges 14 – 33,6 g átlagtömegű nagy ivadék felnevelése.

A megmaradási mutatók alapján megállapítható, hogy az csak részben volt kihatással a halak növekedésére. A növekedésben tapasztalható eltérések pontosabb elemzése céljából a lehalászási adatokból és a feletett takarmány mennyiségéből kiszámítottuk a takarmány együtthatót (4. táblázat).

Következtetések és javaslatok

A kapott eredményeket összegezve megállapítható, hogy nagy egyedsúlyú széles kárász ivadéknevelés magas népesítési sűrűség és táppal történő takarmányozás mellett is eredményesen végezhető.

A halak növekedésére elsősorban nem a tavak mérete és a népesítési sűrűség, hanem azok egészségi állapota volt hatással. Ezért fontos rendszeres próbahalászatokkal annak folyamatos nyomon követése. A legjobb takarmány együtthatót (1,06) a legmagasabb népesítésű 41-es tó (75.000 db/ha) eredményezte, ahol a lehalászott ivadék átlag tömege 20,6 gramm volt. Ennél nagyobb egyedtömegű ivadékot (30-33 g) az alacsonyabb népesítésű (60.000 db/ha) ún. 100-as tavakban sikerült felnevelni, magasabb takarmány felhasználás mellett.

A fentiek alapján gazdaságossági szempontból széles kárász ivadék nevelésére optimális megoldásként a 75.000 db/ha-os népesítés alkalmazása javasolható. Azonban, ha az őszi kihelyezésű, vagy telettetett állomány megmaradási esélyei tekintjük elsődleges szempontnak, akkor célszerűbb a 60.000 db/ha-os népesítést alkalmazni, ahol magasabb takarmány felhasználás (2,43,2,47) mellett már az első tenyésztési szezon végére elérhető a 30 g átlagtömeg. Az ehhez tartozó 120 mm-es testhosszat a széles kárász természetes körülmények között harmadik életévében éri el.

A ráfordított többlet takarmányköltség ellenére, de a



várható jobb megmaradási mutatók miatt egy eredményes visszatelepítési program érdekében ezt a technológiai megoldást lenne célszerű alkalmazni.

Köszönetnyilvánítás

A munka megvalósítását HHGF/50/2015. számú szerződés alapján a Földművelésügyi Minisztérium megbízásából és pénzügyi támogatásával végeztük.

Irodalomjegyzék

- Berg, L. S., 1949: Ryby presnykh vod SSSR isopredelnykh stran. Vol. 1, 3. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moskva–Leningrad
- Berinke L. 1966: Magyarország állatvilága XX. kötet, 2. füzet. Halak – Pisces. Akadémiai Kiadó, Budapest 139 p.
- Białokoz W. 1979: Cechy merystyczne karasia (*Carassius carassius* L.) z dwóch jezior Pojezierza Mazurskiego. *Bibl. IRS. Olsztyn*
- Brylińska M., E. Bryliński, J. Terlecki, W. Białokoz, J. Radziej, B. Młyniec, R. Bartel, W. Kopiejewska, M. Tadjajewska, T. Krzywosz, K. Goryczko 1991: Ryby słodkowodne Polski. PWN Warszawa
- Copp GH, Černý J and Kovač V 2008: Growth and morphology of an endangered native freshwater fish, crucian carp *Carassius carassius*, in an English ornamental pond. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18: 32-43
- Demény F., Hegyi Á., Urbányi B., Boczonádi Zs., Müller T. (2009): A széles kárász (*Carassius carassius* L.) termelésének lehetőségei (mesterséges szaporítás és intenzív előnevelés utáni tógazdasági nevelés). XV. Ifjúsági Tudományos Fórum, Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Keszthely CD version 5. pp
- Guti G. 1993: A magyar halfauna természetvédelmi minősítésére javasolt értékrendszer. *Halászat*, 86 (3): 141-144.
- Hamrin S. 1979: Biomass of tench, perch, crucian carp and pike in a small, eutrophic lake in southern Sweden. *Jyväs. yliop. biol. lait. tied.* 19: 57-67
- Heuschman O. 1938: Karausche, *Carassius carassius* L. und Gibel, *Carassius auratus gibelio* (Bloch). *Z. f. Fischerei*, Bd 36: 249-285.
- Holopainen I.J., A.K. Pitkanen 1985: Population and structure of crucian carp (*Carassius carassius* L.) in two small, natural pond sin Eastern Finland. *Ann. Zool. Fennici.* 22: 397-406.
- Holopainen, I.J., Tonn, W.M., Paszkowski, C.A. 1997: Tales of two fish. The dichotomous biology of crucian carp (*Carassius carassius* (L.)) in northern Europe. *Annales Zoologici Fennici*, 34: 1-22
- Ivlev V.S. 1961: Experimental ecology of the feeding of fishes. Yale Univ. Press. New Haven
- Kottelat, M., Freyhof, J. 1997: Handbook of European freshwater fishes. Printed by Imprimerie du Démocrate SA, Delémont, Switzerland, 646. pp.
- Müller T, Csorbai B, Urbányi B. 2007: A széles kárász - *Carassius carassius* (L.) szaporítása a természetes vízi állományok fenntartása és megerősítése érdekében. *Pisces Hungarici* (2): 73-81
- Nikolski G.V. 1963: The ecology of fishes. Academic Press.London
- Pintér K. 2002: Magyarország halai, Akadémiai Kiadó, Budapest, 222.
- Sallai Z. 1999: Adatok a Mura és vízrendszere halfaunájához. *Halászat*, 92(2): 69-87.
- Schäperclaus W. 1953: Die Züchtung von Karauschen mit höchster Leistungsfähigkeit, *Z.f. Fisch.* 1/2: 19-69
- Szczerbowski J.A., A. Szczerbowski 1996: Karasie, IRS Olsztyn p.175.
- Targońska, K., Żarski, D., Müller, T., Krejszeff, S., Kozłowski, K., Demény, F., Urbányi, B., Kucharczyk, D. (2012): Controlled reproduction of the Crucian carp (*Carassius carassius* L.) combining temperature and hormonal treatment in spawners. *Journal of Applied Ichthyology* 28:894–899.
- Zawisza J.B., Antosiak, 1961: Tempo wzrostu karasia (*Carassius carassius* L.) w jeziorach okolic Węgorzewa. *Rocz. Nauk. Rol.* 77-3-2-:527-548.

Aeromonas spp. okozta bőrfekélyesedés kezelési lehetőségei a gyakorlatban

Zsigmond Gergely^{1,2}, Rónai Zsuzsanna³, Rigler Eszter¹, Sipos Dóra¹, Balog Attila⁴, Katics Máté⁴, Hoitsy György⁵, Eszterbauer Edit^{1,*}

¹ MTA Agrártudományi Kutatóközpont, Állatorvos-tudományi Intézet, Budapest

² Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

³ Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Budapest

⁴ Czikkhalas Halastavai Kft., Varsád

⁵ Hoitsy & Rieger Kft., Lillafüred

*e-mail: eszterbauer.edit@agrar.mta.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

A pisztrángfélék furunkulózisa, illetve a pontyfélék bőrfekélyesedése a halgazdaságokban igen gyakran előforduló, hasonló kórképek, melyek jelentős károkat okoznak mind a termelőkiesés, mind a kezelési és mentesítési költségek miatt. A tünetegyüttest *Aeromonas* spp. baktériumtörzsek okozzák. Az *Aeromonas* okozta fekélyesedés elleni vakcinázási lehetőségek vizsgálata az antibiotikumokra rezisztens baktériumtörzsek terjedésével egyre inkább előtérbe került, azonban hazánkban engedélyezett vakcina nem elérhető. Ezért a betegségek kezelésére bevett eljárás különféle antibiotikumok használata. A jelentős környezeti terheléshez, valamint a rezisztens baktériumtörzsek mind fokozódó terjedéséhez a nem megfelelő antibiotikus kezelés is hozzájárulhat. Ezért vizsgálatunk fő célja a halgazdaságokban végzett antibiotikus kezelések hatékonyabbá tétele. *Aeromonas* spp. törzseket izoláltunk és azonosítottunk furunkulózis tüneteit mutató pisztrángfélékből, illetve bőrfekélyesedésben szenvedő pontyfélékből. Az izolált baktérium törzsek rezisztogramja alapján a kezelési kísérletekhez a fluorokinolonok közé tartozó enrofloxacin illetve flumequine-t választottuk. Egynyaras szivárványos pisztrángokon, illetve pontyokon végzett 10 napos kezelési kísérletben az intraperitoneális (hasüregbe történő) oltással, valamint különféle gyógyszeres takarmányokkal és antibiotikummal kevert tört kukoricával végzett, szájon át történő kezelések hatékonyságát vizsgáltuk. A kísérlet végén a halak izomszövetéből mintát vettünk, antibiotikum-tartalmukat ELISA alapú módszerrel határoztuk meg. Eredményeink azt mutatják, hogy míg az intraperitoneális kezelés szignifikánsan magasabb szöveti hatóanyag-koncentrációt eredményezett, a gyógytáppal való kezelési módok között nem adódott jelentős különbség. A szórás értékekből látszik, hogy a hatóanyag bejuttatásának pontossága intraperitoneális beadás során a legpontosabb. A hatóanyaggal homogenizált, újraformázott táppal valamint az antibiotikum-bevonatos gyógytáppal közepes pontosságú, a tört kukorica alapú

eleséggel azonban meglehetősen pontatlan az antibiotikum bejuttatás. Munkaszervezési és állatvédelmi okok miatt tógazdasági körülmények között a hatóanyagot homogenizáltan tartalmazó táp ajánlott. Tört kukorica esetében nagy a túldozírozás veszélye, nem biztosított az egyenletes hatóanyag bejuttatás, és nagy a környezetterhelés kockázata.

TREATMENT POSSIBILITIES OF SKIN ULCER CAUSED BY AEROMONAS SPP. IN PRACTICE

Gergely Zsigmond^{1,2}, Zsuzsanna Rónai³, Eszter Rigler¹, Dóra Sipos¹, Attila Balog⁴, Máté Katics⁴, György Hoitsy⁵, Edit Eszterbauer¹

¹Institute for Veterinary Medical Research, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary

²University of Veterinary Medicine, Budapest, Hungary

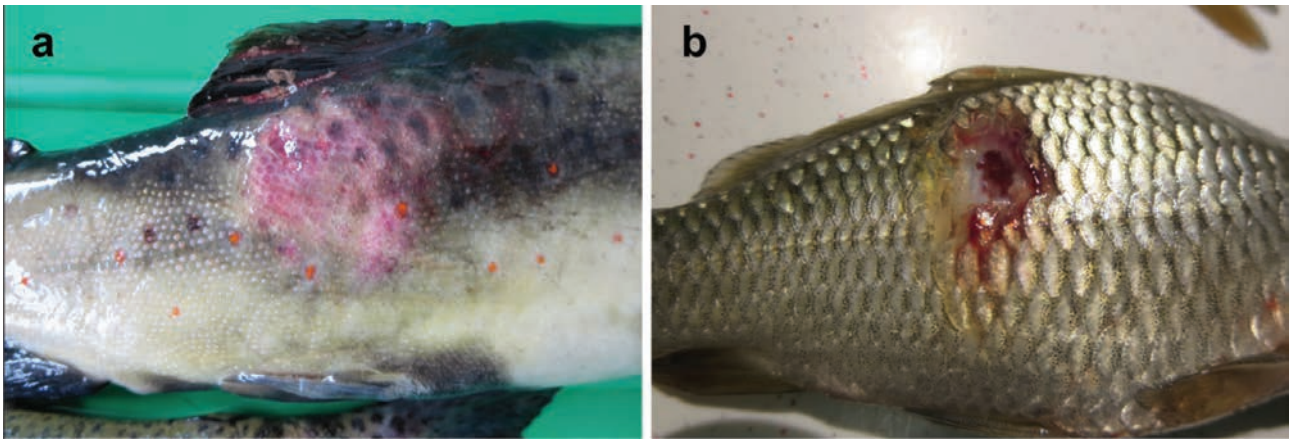
³National Food Chain Safety Office, Budapest, Hungary

⁴Czikkhalas Ltd., Varsád, Hungary

⁵Hoitsy & Rieger Ltd., Lillafüred, Hungary

SUMMARY

Aeromonas spp. causing among others furunculosis in salmonids and skin ulcer in cyprinids are responsible for large-scale damages in fish farms, due to both the treatment and decontamination expenses, and the loss of production. Because of the spreading of antibiotic-resistant strains, the vaccination methods against ulcer-causing *Aeromonas* spp. came into view increasingly, but in Hungary, none of the commercial vaccines are available. Thus, the most widespread treatment of the diseases is the use of various antibiotics. The environmental impact of the treatment and the risk of the emergence of resistant strains are long-known problems, and one of the causes may be the inadequate use of antibiotics. The main purpose of our research was to elaborate an antibiotic



1. ábra: a) *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* okozta furunkulózis sebes pisztrángxánban. b) *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* okozta bőrfekélyesedés egynyaras pontyon.

treatment protocol, which is easily applicable in practice, and besides the minimization of the environmental impact, it guarantees the delivery of the necessary dose of antibiotics. For this purpose, first we isolated bacteria from fish suffering from furunculosis or ulcer disease, and identified the strains. Based on the resistogram of the isolated bacteria, we chose enrofloxacin and flumequine to accomplish the treatment experiments. In 10-day experiments, the following administration methods were compared: intraperitoneal (IP) injection, a medicated diet with antibiotic-coated pellet, a medicated diet with homogenized and re-formatted pellet containing antibiotics, and cracked corn seed soaked with antibiotic solution. At the end of the experiment, skin and muscle tissues were sampled, and antibiotic concentration was measured with ELISA-based technique. Our results show that whereas the intraperitoneal treatment eventuated a significantly higher drug concentration in the fish tissue, we could not detect significant difference between the medicated diets. But it appears from the standard deviation values that the IP method grants a more accurate delivery of the drug, while the cracked corn method was the least precise. The administration efficiency of the medicated diets was admissible, and because of the simple applicability in a fish farm, it is more prevalent in practice. Based on our results, we suggest the use of the homogenized medicated food, instead of the other two types of diets, since the fish often denied the ingestion of the antibiotic-coated one, and the feeding with cracked corn seed is not accurate enough.

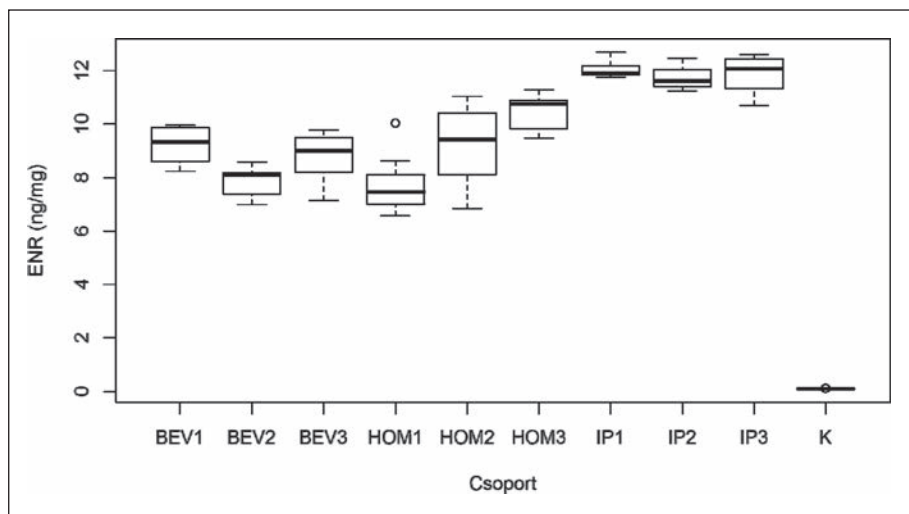
BEVEZETÉS

Az *Aeromonas* genus tagjai Gram-negatív, fakultatív anaerob, pálcá alakú baktériumok, köztük mozgásképtelen és mozgásra képes, mezofil és psychrofil fajokkal (Aravena-Roman et al., 2013). Az *A. salmonicida* egy mozgásképtelen, psychrofil faj, öt alfajjal (*A. s. subsp.*

salmonicida, *A. s. subsp. achromogenes*, *A. s. subsp. masoucida*, *A. s. subsp. pectinolytica*, és *A. s. subsp. smithia*) (Garrity et al., 2004). A „*salmonicida*” alfajba (*A. salmonicida* subsp. *salmonicida*) tartozó törzseket tartják a leggyakoribbnak, és ezeket hozzák kapcsolatba a pisztrángfélék furunkulózis jellegű szisztémás megbetegedéseivel (Burr and Frey, 2005). A másik négy alfajt, illetve a nem besorolható törzseket általában „atipikus” *A. salmonicida*-ként említik. Ezen törzsek hozhatók összefüggésbe egyes fekélyképző fertőzésekkel, melyek többek között pontyokat is érintenek (Burr and Frey, 2005; Gan et al., 2015; Hunt, 2006; Kodama et al., 2011). A „furunkulózis” név a betegség által okozott bőr léziókra utal, melyek karakteres, kidudorodó fekélyekként jelentkeznek. A kórokozó behatol a mélyebb szövetekbe, és a belső szervekbe, ahol nagyobb elhalások is kialakulhatnak,



2. ábra: *Aeromonas* spp. izolátum rezisztenciatesztje (enrofloxacin, florfenicol, neomycin, flumequine, szulfametoxazol-trimetoprim és oxytetracyclin antibiotikumokra) és API 20 NE kittel (bioMérieux, Franciaország) végzett biokémiai tesztje.



3. ábra: 1. kísérlet Enrofloxacin (ENR) koncentráció az egyes szívárványos pisztráng csoportok szöveteiben (ng ENR/mg halszövet). BEV: gyógyszerbevonatos táppal kezelt csoport; HOM: homogenizált gyógytáppal kezelt csoport; IP: intraperitoneálisan oltott csoport; K: kontroll csoport

más antibiotikum alkalmazása. Bragg és Todd (1988), valamint Williams et al. (1997), és Barnes et al. (1991) kutatásai igazolták, hogy ezen betegségek kezelésére a kinolonok, közülük is az enrofloxacin és a flumequine használata kecsegtethet a legbiztosabb eredményekkel. A terjedő antibiotikum-rezisztencia miatt pedig egyre növekszik az érdeklődés a flumequine és az enrofloxacin halgazdaságokban történő felhasználása iránt (Lucchetti et al., 2004; Xu et al., 2016; McIntosh et al., 2008). Ezt igazolja Kyuchukova et al. (2014) is, akik kimutatták, hogy egyszeri, 10 mg/ttkg dózisban *per os* beadott enrofloxacin 10 nappal a beadás

melyek később tályogra emlékeztetnek. Egy populáción belül az elváltozások akut és krónikus formában is jelentkezhetnek (Munro and Hastings, 1993). Akut esetben hamar bekövetkezik az elhullás, és a hal kevés külső elváltozást mutat, azonban a krónikus forma esetén a bőr besötétedik, letargia, étvágytalanság, petecsszerű vörzések jelentkeznek az úszótöveknél, valamint nagyméretű duzzanatok a bőrön. A kopoltyúk rendkívül sápadtak. Belsőleg a vékonybél és a pylorus-függelék körüli erek gyulladással elváltozást mutatnak. A belekben a normál béltartalom helyett véres, nyálkás folyadékgyülem és szövettörmelék jelenhet meg. A lép duzzadt és cseresznyepiros, a máj szürkészöld. A savóshártyák felületén gyakran petecsek találhatók. Az úszóhólyag duzzadt lehet és homályos. A vese szintén megduzzadhat. A hematokrit-mérés során általában extrém alacsony vörösvérsejtszám tapasztalható (Bergh, 2008). A pontyok bőrfekélyesedése esetén a tünetek rendkívül hasonlóak a pontyok erythrodermatitise esetén tapasztalhatókkal (Roberts, 2012). A bőrön és az úszók tövén vörzések figyelhetők meg, majd körömmi – maximum 3cm átmérőjű, mély fekélyek alakulnak ki. A fekélyek egészen a testüreg megnyílásáig mélyülhetnek. A fekélyek alapján granulációs szövet bújik meg a fedőréteget képező elhalt szövettörmelékek, vérsejtalakok és másodlagos baktériumok, valamint vízpenész gombák szövedéke alatt. A fekély szélét övezően élénk vörös perem figyelhető meg (Baska, 2014).

Ezen betegségek antibiotikus kezelési lehetőségeinek kutatása régre tekint vissza. Elsőként Gutsell (1946) tett említést a szulfonamidokkal való sikeres kezeléstről. Emellett gyakori az oxytetracyclin (Snieszko et al., 1951), a flumequin (Michel et al., 1980), az oxolinsav (Giraud et al., 2004), a florfenicol (de Ocenda et al., 2017), és az enrofloxacin (Bragg and Todd, 1988), valamint több

után is terápiás koncentrációban volt jelen a szérumban és a szövetekben. Az antibiotikus kezelés esetében a hatóanyag mellett fontos kérdés a beadási mód. A gyógyszeres takarmánnyal való kezelés sikerességének érdekében Austin és Austin (2007) szerint 3 feltételnek kell teljesülni: a hal képes legyen elfogyasztani a takarmányt; a hatóanyag legyen ízletes a hal számára; a hatóanyag szívódjon fel a bélnyálkahártyán.

Általánosságban azonban elmondható, hogy a kezelés helyett kívánatos lenne a megelőzésre fektetni a hangsúlyt. Az *Aeromonas*-okozta kórképek esetében például kielégítő eredményeket lehet elérni a helyes tartástechnológiával, fertőtlenítési eljárásokkal, illetve a rezisztens tenyészcsoportok célzott szelekciójával (Austin and Austin, 2007). Ezek mellett azonban további módszerek is rendelkezésre állnak. A rezisztens *Aeromonas* törzsek terjedésével egyre inkább előtérbe került a vakcinázási lehetőségek vizsgálata. Villumsen et al. (2014) tesztelte egy atlanti lazacra törzskönyvezett, skandináv országokban kereskedelmi forgalomban lévő vakcina (AlphaJect 3000[®], Pharmaq, Norvégia) valamint egy kísérleti autovakcina hatékonyságát szívárványos pisztrágon. Mindkét esetben a kísérletes fertőzés után a vakcinázott egyedek túlélési aránya szignifikánsan magasabb volt. Jelenleg azonban hazánkban nincs kereskedelmi forgalomban vakcina egyetlen *Aeromonas* ellen sem, így az antibiotikus kezelés jelenleg nem kiváltható a gyakorlatban (Zsigmond, 2015). Az antibiotikumok rendkívül széleskörű felhasználásának tekintetében régóta ismert tény a fellépő környezeti terhelés. Az elmúlt évek során azonban a vízi élőhelyek szennyezettségének kiemelt figyelmet szentelnek (Pouliquen et al., 2009). Több kutatás kimutatta, hogy az antibiotikumok a halgazdaságok környezetében található iszapban akár hónapokig perzisztálhatnak

(Herwig and Gray, 1997; Jacobsen and Berglund, 1988; Pouliquen et al., 2009; Smith, 1996). Továbbá, a halgazdaságokat övező vizekben élő halak belében együttesen található meg a szubterápiás mennyiségű antibiotikum és a baktérium, ami ideális helyzetet teremt a rezisztens törzsek kialakulására (Samuelsen et al., 1992). Ennek megelőzésére egy lehetséges mód lenne a létesített vizes élőhely (constructed wetland) technológia, melynek pozitív hatásairól Buřič et al. (2015) számolt be.

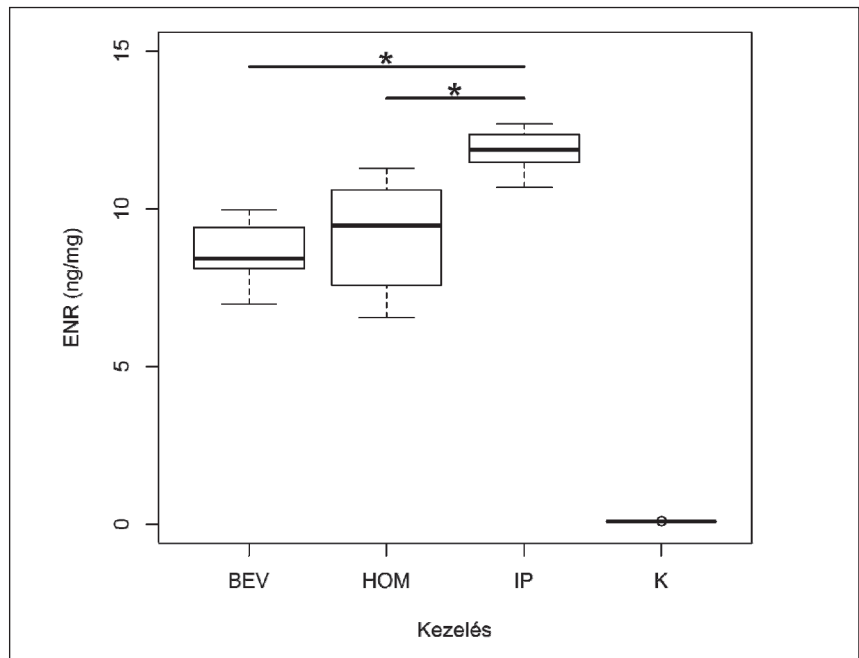
ANYAG ÉS MÓDSZER

A baktérium izolálása, azonosítása, és rezisztencia tesztje

Furunkulózis tüneteit mutató pisztrángfélékből (szivárványos pisztráng, sebes pisztráng, pénzes pér), illetve bőrfekélyes pontyfélékből (elsősorban pontyból) szelektív táptalajokon izoláltuk a kórokozó baktériumokat (1. ábra), majd biokémiai tesztekkel (API 20 NE, bioMérieux, Franciaország; 2. ábra) és molekuláris biológiai módszerekkel elvégeztük az izolált törzsek azonosítását. Utóbbiak többféle PCR rendszert foglaltak magukba. Az *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* esetében az egyik rendszer a baktérium DNS-giráz enzim béta-alegységének (*gyrB*) kb. 960 bp hosszú szakaszát erősíti fel (Yañez et al., 2003). A második PCR próba kizárólag az *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* alfaj DNS-ét képes felerősíteni egy kb. 510 bp hosszú PCR terméket létrehozva (Faisal et al., 2007). A pontyfélékből izolált kórokozók esetében kétféle specifikus PCR rendszert alkalmaztunk. A *gyrB* gén egy szakaszát, és a RNS-polimeráz gén D-alegységének (*rpoD*) 900 bp hosszú szakaszát sokszoroztuk fel. Az azonosítást követően elvégeztük a kórokozók rezisztenciavizsgálatát enrofloxacin, florfenicol, flumequine, szulfametoxazol+trimetoprim, neomycin és tetracyclin antibiotikumokra (2. ábra). Állatvédelmi szempontokat figyelembe véve, a halak mesterséges fertőzésétől eltekintettünk, mivel a kezeléshez használt antibiotikumok hatékonyságát a baktérium izolátumokon végzett rezisztencia tesztekkel az etetési kísérleteket megelőzően sikeresen igazoltuk.

Kezelési kísérlet 1.

A 10 napos kezelési kísérletet egynyaras szivárványos pisztrángokon végeztük a Lillafüredi Pisztrángtelepen. Három kezelési típust vizsgáltunk, mindhárom három

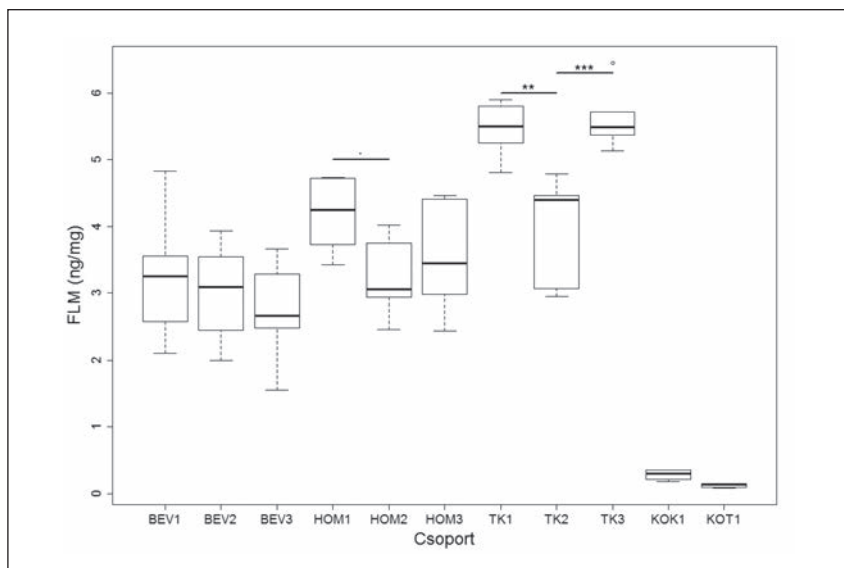


4. ábra: 1. kísérlet A kísérleti szivárványos pisztrángok szöveteiben kimutatott enrofloxacin (ENR) koncentráció kezelési típusonként. Szignifikáns különbség: Tukey-féle post hoc teszt *: szignifikáns eltérés a kezelési típusok között ($p < 0,05$). BEV: gyógyszerbevonatos táppal kezelt csoport; HOM: homogenizált gyógytáppal kezelt csoport; IP: intraperitoneálisan oltott csoport; K: kontroll csoport.

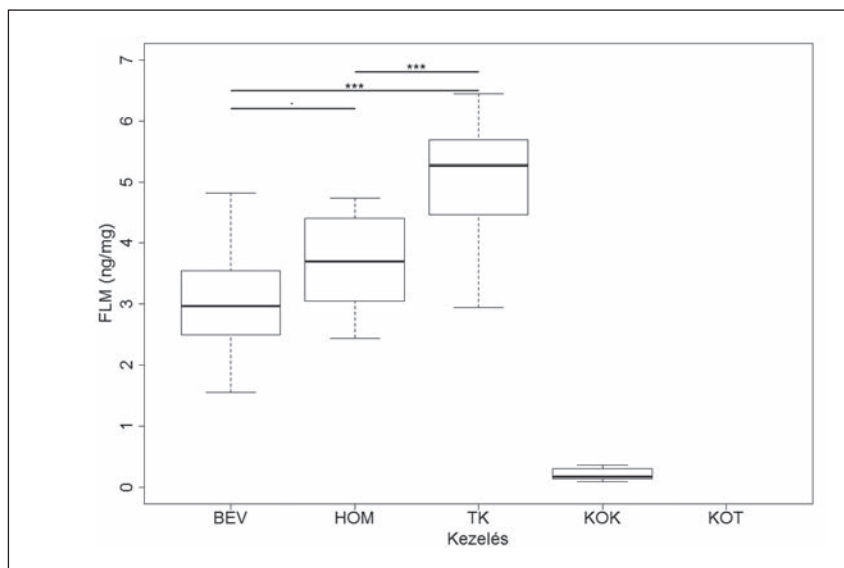
párhuzamos csoportban. A csoportok elhelyezése hálóval rekeszekre bontott nevelőkádakban történt. Kontrollként a kezelt csoportokkal egy kádban elhelyezett kezelés nélküli csoport szolgált. Az intraperitoneálisan oltott kezelési típusú (IP) csoportok enrofloxacin (ENR) tartalmú 10%-os Baytril A.U.V. oldatot (Bayer, Németország) kaptak háromnaponta, 10 mg ENR/tesztömeg kg (ttkg) dózisban. A második típusú (BEV) csoportok kezelését bevonatos gyógyszeres takarmánnyal végeztük. Ennek elkészítése során a telep által használt AllerAqua pisztráng nevelőtápra megfelelő mennyiségű Baytril oldatot permeteztünk, majd kiszárítottuk. A harmadik kezelési típusú ún. homogenizált (HOM) csoportokat, antibiotikumot tartalmazó újraformázott gyógytáppal etettük. Ez esetben a tápot porrá őröltük, a Baytril oldatot agargéllal keverve egyenletesen eloszlattuk, majd újraformáztuk és megszáritottuk. Mindkét gyógyszeres táppal kezelt csoport etetése napi háromszor történt, 20 mg ENR/ttkg-os napi adagolással. A halak testsúlya alapján kiszámított tápanyagfelvételtől kiindulva (1,5% ttkg/nap) ez 1,33 mg/g ENR-koncentrációt jelentett a tápban.

Kezelési kísérlet 2.

A második, szintén 10 napos kezelési kísérletet egynyaras pontyokon végeztük a Czikkhalas Kft. varsádi gazdaságában. Összesen 11 csoportot alakítottunk ki, kezelési típusonként 3 párhuzamos csoporttal. A HOM és



5. ábra: 2. kísérlet Flumequine (FLM) koncentráció az egyes pontycsoportok szöveteiben (ng FLM/mg halszövet). Szignifikáns különbség: Tukey-féle post hoc teszt ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. $p = 0,0551$. BEV: gyógyszerbevonatos táppal kezelt csoport; HOM: homogenizált gyógytáppal kezelt csoport; TK: antibiotikum tartalmú tört kukoricával kezelt csoport; KOK: gyógyszermentes tört kukoricával etetett kontroll csoport, KOT: gyógyszermentes táppal etetett kontroll csoport.



6. ábra: 2. kísérlet A kísérleti pontyok szöveteiben kimutatott flumequine (FLM) koncentráció kezelési típusonként (ng FLM/mg halszövet). Szignifikáns különbség: Tukey-féle post hoc teszt *** $p < 0,001$. $p = 0,057$. BEV: gyógyszerbevonatos táppal kezelt csoport; HOM: homogenizált gyógytáppal kezelt csoport; TK: antibiotikum tartalmú tört kukoricával kezelt csoport; KOK: gyógyszermentes kukoricával etetett kontroll csoport, KOT: gyógyszermentes táppal etetett kontroll csoport.

BEV típusú csoportok mellett egy harmadik, TK kezelési típust is létrehoztunk, mely esetében a halak kezelését antibiotikum-oldatba áztatott törtkukoricával végeztük. A kezelőszert (a flumequine (FLM) tartalmú Flumiquil 50% por belsőleges oldathoz, Ceva Santé Animale, Franciaország) 12 mg FLM/ttkg/nap dózisban, napi egyszeri, 2%

ttkg/nap tápadagolással használtuk. IP csoportot ezen kísérletben nem alakítottunk ki. Továbbá két típusú kontrollcsoportot állítottunk fel: a KOK csoport etetése tört kukoricával, a KOT csoporté táppal történt, mindkettő antibiotikum nélkül.

Mintafeldolgozás és elemzés

A kísérlet végén a halak izomzatából mintát vettünk, és a mintákat -80°C -on tároltuk feldolgozásig. Az izomzatban lévő antibiotikum koncentrációját kompetitív kolorimetriás ELISA vizsgálattal állapítottuk meg a MaxSignal Enrofloxacin és Flumequine ELISA Test Kit (BioScientific, USA) Rapid Method protokollja szerint. Az egyes csoportokban mért antibiotikum koncentrációk közötti különbségeket ANOVA és Tukey-féle post hoc teszt segítségével elemeztük.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

A baktérium izolálása és azonosítása, rezisztenciateszt

A furunkulózis tüneteit (testfelületen kerek, akár 6-7 cm-es, izomzatba hatoló fekélyek; 1a. ábra) mutató halakból több esetben sikeresen izoláltuk és azonosítottuk az *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* kórokozót. Emellett gyakran izoláltunk egyéb kórokozó baktérium törzseket is pl: *A. hydrophilá*-t és *A. veronii*-t. A rezisztogram alapján az 1. kezelési kísérletben, a pisztráng-félék furunkulózis kórokozója ellen az enrofloxacin használata mellett döntöttünk, mivel a többi vizsgált antibiotikumra (neomycin, tetracyclin stb.) az izolátumok közül több rezisztens volt. A választást segítette, hogy az enrofloxacin hatékonyságát furunkulózis ellen szakirodalmi ada-

tok igazolják (Williams et al., 1997).

A pontyok bőrfekélyesedése (1b. ábra) elleni, 2. kezelési kísérletet megelőző rezisztenciateszt alapján kimutattuk, hogy fluorokinolonokra (enrofloxacin, flumequine) és florfenicolra érzékenyek leginkább az izolált *Aeromonas* spp. törzsek. A szakirodalomban a pontyok bőrfekélyéért

felelős *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* mellett, a legtöbb mintában az *A. veronii* és *A. veronii* biovar *sobria* törzseket is izoláltunk. Az oxytetracyclin antibiotikumra való rezisztencia aránya jelentős volt az izolátumok között. Az etetési kísérletben a flumequine (FLM), illetve az ezt tartalmazó, Magyarországon étkezési halak kezelésére egyedülként forgalomban lévő Flumiquil 50% por belsőleges oldathoz (Ceva Santé Animale, Franciaország) nevű kezelőszer használata mellett döntöttünk.

Kezelési kísérlet 1.

A kísérlet kezdetén észleltük, hogy az antibiotikumos tápot a szivárványos pisztrángok kevésbé hajlandóak felvenni. Ezt okozhatta a környezetváltozás okozta stressz, illetve az antibiotikum keserű íze, amit ezért a kísérlet további részében a táp tengeri halolajjal való bevonatozásával csökkentettünk. A táplálékfelvétel csökkenését eredményezhette továbbá a relatíve alacsony víz hőmérséklet. A korábban kiszámított fejadagokat ezért a maradék táp felhalmozódásának elkerülése végett csökkentettük. A tapasztalt takarmány-visszautasítás következtében ajánlható a magasabb hatóanyag-tartalmú táppal, vagy hosszabb ideig tartó kezelés. Ezzel elkerülhető az alacsonyabb tápfelvétel miatti csökkent hatóanyag-bejutás. További tanulság, hogy érdemes az egyedeket az eredeti tartási helyükön kezelni, a környezetváltozással járó stressz elkerülése érdekében. A halak kezelésére tehát legjobb az olyan homogenizált gyógyszeres takarmány választása, melyet ízletessége miatt az egyedek azonnal felvesznek. Így mind a tervezett dózis pontos bejuttatása, mind a környezeti terhelés minimalizálása sikerrel megoldható (Zsigmond, 2015).

Az antibiotikum-koncentrációk mérése során az IP csoport esetében kaptuk a legmagasabb értékeket és a legalacsonyabb szórást (3. ábra). Az injekciós beadás magasabb hatékonysága a szájon át alkalmazott gyógyszerekkel szemben szivárványos pisztrángok enrofloxacinnal történő kezelése során már igazolt (Bowser et al., 1992). A homogenizált tápos, HOM csoportban magasabb ENR koncentrációk voltak mérhetőek a bevonatos, BEV csoporthoz viszonyítva, viszont magasabb szórással. Szignifikáns eltérés ugyan nem mutatkozott a HOM és a BEV csoportok között, azonban a mért ENR koncentrációk átlagait tekintve látható eltérés volt a HOM csoportok javára (3. ábra). Azonban a HOM csoportok közötti szórás miatt szignifikáns különbség nem volt kimutatható a HOM és BEV kezelés között (4. ábra). A kezelt csoportokkal egy kádban, elkülönítve tartott kontroll csoportban mért ENR koncentrációk szignifikánsan alacsonyabbak voltak a többi csoporténál, a kimutathatóság határát jelző, nullához közeli értékekkel (4. ábra). Bár az IP kezelés jóval eredményesebb volt, a gyógyszeres takarmánnyal való kezelési módot nem tekinthetjük elvetendőnek. Mind a saját, mind szakirodalmi eredmények is igazolják, hogy

bár a gyógytáppal bevihető antibiotikum mennyisége alacsonyabb, a kezelés sikerrel kivitelezhető (Zsigmond, 2015; Kyuchukova et al., 2014; Lucchetti et al., 2004). Ez a kezelési mód továbbá mind munkaszervezési, mind állatvédelmi szempontból előnyösebb.

Eredményeink megerősítik egyes korábbi kutatásokéit, melyek szerint a kezelésre használt antibiotikum egy része beoldódik a vízbe, ugyanis a kontroll csoport szöveteiben mérhető mennyiségben volt jelen a szer. Ezáltal kulcsfontosságúnak tartjuk, hogy a gyógytáp használata során azt a halak rövid időn belül, maradék nélkül fogyasszák el. Amennyiben ugyanis a takarmány sokáig ázik a vízben, jelentősen fokozódik a környezeti terhelés veszélye (Zsigmond, 2015; Bebak-Williams et al., 2002; Capone et al., 1996; Pouliquen et al., 2009; Samuelsen et al., 1992; Smith, 1996). A két ismertetett gyógytáp használata során keletkezett környezeti terhelés feltételezhető eltéréseinek igazolása további vizsgálatokat igényel.

Kezelési kísérlet 2.

Ez esetben a pontyok izomzatában a legkisebb antibiotikum koncentrációt a bevonatos (BEV) táppal etetett csoportokban mértük vissza (5. ábra). A HOM és TK csoportok átlagos hatóanyag koncentrációja hasonló volt, azonban a tört kukoricával (TK) etetett csoportokban igen nagy szórást mutattak, ami már szignifikáns különbséget adott a TK csoportok között ($P < 0,01$ és $P < 0,001$; 6. ábra). A negatív kontroll KOK és KOT csoportokban az antibiotikum koncentráció a mérési határ alatt maradt, a kapott minimális koncentráció értékek az ELISA „hátterzajának” tekinthetők (5-6. ábra).

Az elvégzett vizsgálatok alapján következtetésként levonhatjuk, hogy a gyakori antibiotikum rezisztencia miatt (különösen oxytetracyclinre) az antibiotikumos kezelést minden esetben meg kell előznie a kórokozó baktériumtörzs izolálása és antibiotikum rezisztenciájának vizsgálata. Az antibiotikumos kezelés során a hatóanyag pontos adagolására kell törekedni (Isd. kezelési kísérletben leírtak). Aluldozírozás rezisztens baktériumtörzsek kialakulásához vezethet, míg a túldozírozás a káros környezeti hatás miatt kerülendő. Antibiotikumos kezeléshez az etetéssel elérhető legpontosabb adagolás miatt a homogenizált táp ajánlott, különösen, hogy a környezetterhelés is ily módon a legkisebb.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönet Nagy Borbálának és Bertyné Hardy Tímeának a tápkészítésben és minta előkészítésben nyújtott segítségükért. Munkánkat a K+F Versenyképességi és Kiválósági Szerződések (VKSZ_12-1-2013-0078), „Az akvakultúra ágazat kitörési pontjainak komplex, versenyképességet szolgáló fejlesztése” c. projekt támogatta.

IRODALOMJEGYZÉK

- Aravena-Roman, M., Beaz-Hidalgo, R., Inglis, T.J.J., Riley, T.V., Martinez-Murcia, A.J., Chang, B.J., Figueras, M.J., 2013. *Aeromonas australiensis* sp. nov., isolated from irrigation water. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 2270–2276. doi:10.1099/ijs.0.040162-0
- Austin, B., Austin, D.A., 2007. Antimicrobial compounds, in: *Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish*. Springer Science & Business Media, Chichester, UK, pp. 379–393.
- Barnes, A.C., Lewin, C.S., Hastings, T.S., Amyes, S.G., 1991. In vitro susceptibility of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* to flumequine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 2634–2635.
- Baska, F., 2014. Halbetegségek, Egyetemi jegyzet. SzIE ÁOTK, Budapest. p.128
- Bebak-Williams, J., Bullock, G., Carson, M.C., 2002. Oxytetracycline residues in a freshwater recirculating system. *Aquaculture* 205, 221–230. doi:10.1016/S0044-8486(01)00690-1
- Bergh, O., 2008. Bacterial Diseases of Fish, in: Eiras, J., Segner, H., Wahli, T., Kapoor, B.G. (Eds.), *Fish Diseases*. Science Publishers, U.S., Enfield, NH, pp. 239–240.
- Bowser, P.R., Wooster, G.A., St. Leger, J., Babish, J.G., 1992. Pharmacokinetics of enrofloxacin in fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 15, 62–71.
- Bragg, R.R., Todd, J.M., 1988. In vitro sensitivity to Baytril of some bacteria pathogenic to fish. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 8.
- Buřič, M., Bláhovec, J., Kouřil, J., 2015. Back to the roots: the integration of a constructed wetland into a recirculating hatchery - a case study. *PloS One* 10, e0123577. doi:10.1371/journal.pone.0123577
- Burr, S.E., Frey, J., 2005. Attenuated virulence of an *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* type III secretion mutant in a rainbow trout model. *Microbiology* 151, 2111–2118. doi:10.1099/mic.0.27926-0
- Capone, D.G., Weston, D.P., Miller, V., Shoemaker, C., 1996. Antibacterial residues in marine sediments and invertebrates following chemotherapy in aquaculture. *Aquaculture* 145, 55–75. doi:10.1016/S0044-8486(96)01330-0
- de Ocenda, V.-R., Almeida-Prieto, S., Luzardo-Álvarez, A., Barja, J.L., Otero-Espinar, F.J., Blanco-Méndez, J., 2017. Pharmacokinetic model of florfenicol in turbot (*Scophthalmus maximus*): establishment of optimal dosage and administration in medicated feed. *J. Fish Dis.* 40, 411–424. doi:10.1111/jfd.12525
- Faisal, M., Eissa, A.E., Elsayed, E.E., 2007. Isolation of *Aeromonas salmonicida* from sea lamprey (*Petromyzon marinus*) with furuncle-like lesions in Lake Ontario. *J. Wildl. Dis.* 43, 618–622. doi:10.7589/0090-3558-43.4.618
- Gan, H., He, H., Sato, A., Hatta, H., Nakao, M., Somamoto, T., 2015. Ulcer disease prophylaxis in koi carp by bath immersion with chicken egg yolk containing anti-*Aeromonas salmonicida* IgY. *Res. Vet. Sci.* 99, 82–86. doi:10.1016/j.rvsc.2015.01.016
- Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G. (Eds.), 2004. Order XII. Aeromonadales, in: *Taxonomic Outline of the Prokaryotes*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer-Verlag, New York, p. 113.
- Giraud, E., Blanc, G., Bouju-Albert, A., Weill, F.-X., Donnay-Moreno, C., 2004. Mechanisms of quinolone resistance and clonal relationship among *Aeromonas salmonicida* strains isolated from reared fish with furunculosis. *J. Med. Microbiol.* 53, 895–901. doi:10.1099/jmm.0.45579-0
- Gutsell, J.S., 1946. Sulfa drugs and the treatment of furunculosis in trout. *Science* 104, 85.
- Herwig, R.P., Gray, J.P., 1997. Microbial response to antibacterial treatment in marine microcosms. *Aquaculture* 152, 139–154. doi:10.1016/S0044-8486(96)01517-7
- Hunt, C.J.-G., 2006. Ulcerative skin disease in a group of koi carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 9, 723–728. doi:10.1016/j.cvex.2006.05.027
- Jacobsen, P., Berglind, L., 1988. Persistence of oxytetracycline in sediments from fish farms. *Aquaculture* 70, 365–370. doi:10.1016/0044-8486(88)90120-2
- Kodama, H., Nakamura, H., Kashima, M., Iwasaki, T., Togase, H., 2011. Protection against atypical *Aeromonas salmonicida* infection in common carp, *Cyprinus carpio* L., by oral administration of a mixed microbial culture of *Lactobacillus paracasei*, *Pichia membranifaciens* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Vet. Med. Sci.* 73, 1319–1325.
- Kyuchukova, R., Milanova, A., Pavlov, A., Lashev, L., 2014. Comparison of plasma and tissue disposition of enrofloxacin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*) after a single oral administration. *Food Addit. Contam. - Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 32, 35–39. doi:10.1080/19440049.2014.983998
- Lucchetti, D., Fabrizi, L., Guandalini, E., Podestà, E., Marvasi, L., Zaghini, A., Coni, E., 2004. Long Depletion Time of Enrofloxacin in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 3912–3917. doi:10.1128/AAC.48.10.3912-3917.2004
- McIntosh, D., Cunningham, M., Ji, B., Fekete, F.A., Parry, E.M., Clark, S.E., Zalinger, Z.B., Gilg, I.C., Danner, G.R., Johnson, K.A., Beattie, M., Ritchie, R., 2008. Transferable, multiple antibiotic and mercury resistance in Atlantic Canadian isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* is associated with carriage of an IncA/C plasmid similar to the *Salmonella enterica* plasmid pSN254. *J. Antimicrob. Chemother.* 61, 1221–1228. doi:10.1093/jac/dkn123

Michel, C., Gerard, J.-P., Fourbet, B., Collas, R., Chevalier, R., 1980. Emploi de la fluméquine contre la furunculose des salmonidés : essais thérapeutiques et perspectives pratiques. Bull. Fr. Piscic. 154–162. doi:10.1051/kmae:1980011

Munro, A.L.S., Hastings, T.S., 1993. Furunculosis, in: Bacterial Diseases of Fish. Blackwell Science, Oxford, UK, pp. 123–142.

Pouliquen, H., Delépée, R., Thorin, C., Haury, J., Larhantec-Verdier, B., Morvan, M.-L., Le Bris, H., 2009. Comparison of water, sediment, and plants for the monitoring of antibiotics: A case study on a river dedicated to fish farming. Environ. Toxicol. Chem. 28, 496–502. doi:10.1897/08-238.1

Roberts, R.J., 2012. Fish Pathology. Wiley. p.581

Samuelson, O., Lunestad, B., Husevag, B., Hølleland, T., Ervik, A., 1992. Residues of oxolinic acid in wild fauna following medication in fish farms. Dis. Aquat. Organ. 12, 111–119. doi:10.3354/dao012111

Smith, P., 1996. Is sediment deposition the dominant fate of oxytetracycline used in marine salmonid farms: a review of available evidence. Aquaculture 146, 157–169. doi:10.1016/S0044-8486(96)01382-8

Snieszko, S.F., Friddle, S.B., Griffin, P.J., 1951. Successful treatment of ulcer disease in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) with terramycin. Science 113, 717–718.

Villumsen, K.R., Koppang, E.O., Raida, M.K., 2014. Adverse and long-term protective effects following oil-adjuvanted vaccination against *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout. Fish Shellfish Immunol. 42, 193–203. doi:10.1016/j.fsi.2014.09.024

Williams, P.J., Courtenay, S.C., Vardy, C., 1997. Use of Enrofloxacin to Control Atypical *Aeromonas salmonicida* in Atlantic Tomcod. J. Aquat. Anim. Health 9, 216–222. doi:10.1577/1548-8667(1997)009<0216:UOETCA>2.3.CO;2

Xu, N., Dong, J., Yang, Y., Yang, Q., Liu, Y., Ai, X., 2016. Pharmacokinetics and bioavailability of flumequine in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) after intravascular and oral administrations. J. Vet. Pharmacol. Ther. 39, 191–195. doi:10.1111/jvp.12261

Yáñez, M.A., Catalán, V., Apráiz, D., Figueras, M.J., Martínez-Murcia, A.J., 2003. Phylogenetic analysis of members of the genus *Aeromonas* based on *gyrB* gene sequences. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53, 875–883. doi:10.1099/ijs.0.02443-0

Zsigmond, G., 2015. *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* okozta pisztráng-furunkulózis: a kezelés optimalizálása a gyakorlatban. TDK dolgozat, SzIE ÁOTK.

The advertisement features a large blue banner at the top with the website address www.agrarlapok.hu. Below the banner is a grid of eight journal covers, each with a distinct agricultural theme. The covers are: 'MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA' (veterinary), 'AGRICULTURAL RESEARCH' (general agriculture), 'HALÁSZAT' (fisheries), 'NÖVÉNYTERMELES' (crop production), 'a falu' (rural life), 'ÁLLATTENYÉSZTÉS TAKARMÁNYOZÁS' (animal husbandry and nutrition), 'GAZDÁLKODÁS' (management), and 'KERTGAZDASÁG HORTICULTURE' (horticulture). At the bottom of the advertisement is the logo and name of 'HERMAN OTTÓ INTÉZET NONPROFIT KFT.', which includes a stylized sun and wave icon.

A pikkelyalak ontogenetikus fejlődése ezüstkárász esetén (*Carassius gibelio*)

Staszny Ádám¹, Paulovits Gábor², Urbányi Béla¹, Ferincz Árpád¹

¹ Szent István Egyetem, MKK-Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Halgazdálkodási Tanszék, Gödöllő

² MTA Ökológiai Kutatóközpont, Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

ÖSSZEFOGLALÁS

A halak pikkelyének vizsgálata számos kérdésre adhat választ. A mérsékelt égövön alkalmas a korbecslésre, az egyedi- és populációs növekedési ütem számolására, alakja alapján a fajok és populációk elkülönítésére. Arról azonban egyelőre nem született vizsgálat, hogy az egyes korcsoportok pikkelyalakja eltér-e egymástól és amennyiben igen, akkor ennek a korral járó változásnak van-e valamilyen trendje? Ezért a Kis-Balaton Vízüdelmi Rendszer 2. üteméről származó ezüstkárászok (*Carassius gibelio*) pikkelyeit soroltuk korcsoportokba (0+-6+-ig) és vizsgáltuk meg geometriai morfometriai módszerrel. Az elemzés kimutatta, hogy szignifikáns különbség van az egyes korcsoportok között és az alakváltozás egy irányban történik az első négy korcsoportban (0+-3+), majd a 4+ korcsoporttól kezdve a változás ellentétes irányt vesz. Vizsgálatunkból kiderült, hogy a pikkelyalak vizsgálatok nagyon fontos, hogy az allometrikus növekedés hatásának kiszűrésére szükséges standardizáció elengedhetetlen a kevert korcsoportú egyedek vizsgálata esetén.

Ontogenetic development of scale shape of gibel carp (*Carassius Gibelio* Bloch, 1782)

SUMMARY

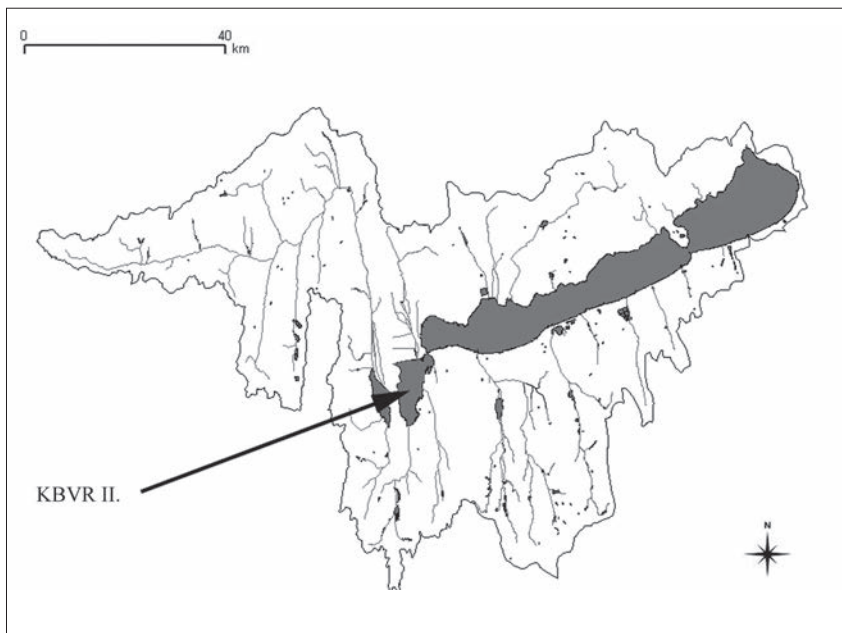
The investigation of fish scales can give answer to several questions. On the temperate zone it is suitable for age determination, for the calculation of individual- or population-level growth, for the classification of species and populations based on its shape. But there are no experiences about the differences among the different-aged specimens' scale shape, and about the trends of these differences. Therefore on seven age groups (0+-6+) of gibel carp (*Carassius gibelio*) specimens from the second stage of Kis-Balaton Water Protection System (KBWPS) were investigated by geometric morphometric methods. The results show that there are significant differences between the age groups. The shape change has a one way trend in the first four age groups (0+-3+), then the changes take different direction. Our results show the importance of removing allometric effects with standardization in experiments with mixed age groups.

BEVEZETÉS

Halak esetén is számos tanulmány alkalmazza a morfometria legújabb irányának (mérőpont alapú geometriai morfometria) módszereit, legtöbb esetben – ahogy a tradicionális morfometria esetén is – a hal testalakjának elemzésére. Ez azonban olyan mértékű stresszt okoz az egyed számára, amitől az a legtöbb esetben elpusztul. Ezért fordultak a kutatók, nagyjából 20 évvel ezelőtt, olyan struktúrák irányába, amelyek eléggé variábilisak a populáció-szintű elkülönítéshez és gyűjtésük nem okoz maradandó károsodást az egyed számára. Halak esetén ezeknek a kritériumoknak a pikkely felel meg leginkább, mivel eltávolítása nem okoz sokkal nagyobb stresszt az állat számára, mint maga a megfogás, ezenkívül ez a struktúra könnyen és gyorsan képes regenerálódni (Bereiter-Hahn és Zylberberg, 1993). Mivel a pikkelyt más populáció-dinamikai vizsgálatokra már régóta, széles körben alkalmazzák (korbecslés, növekedés-vizsgálatok), így mintavételére sok esetben egyébként is sor kerül. Több tanulmány is foglalkozott a pikkelyalak vizsgálatával. Sikeresen különítették el a tengeripér-félék (*Mugilidae*) családjába tartozó négy fajt, valamint ezek populációit (Ibáñez és mtsai., 2007). Körvonal-analízis segítségével el tudták különíteni az északi süllő (*Sander vitreus* MITCHILL 1818) ívási csoportjait a Winnipeg-tóban (Watkinson és Gillis, 2005) és a nyúldomolykó egy francia alfajának (*Leuciscus leuciscus burdigalensis* VALENCIENNES 1844) állományait (Poulet és mtsai., 2005), valamint hagyományos (hossz- és szögméréseken alapuló) és mérőpont-alapú módszerekkel különítették el populációkat a Hudson-folyóban élő csíkos sügerek (*Morone saxatilis* WALBAUM 1792) között pikkelyalakjuk alapján (Richards és Esteves, 1997). Ezek a vizsgálatok azonban szűk lokálitáson és kevés háttérváltozót vizsgálva készültek. Jelen vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogy a vizsgált egyed kora, illetve a vizsgált csoportok koreloszlása befolyásolhatja-e a csoportok elkülönülését? Tetten érhető-e az egyedfejlődés a pikkelyalakban?

ANYAG ÉS MÓDSZER

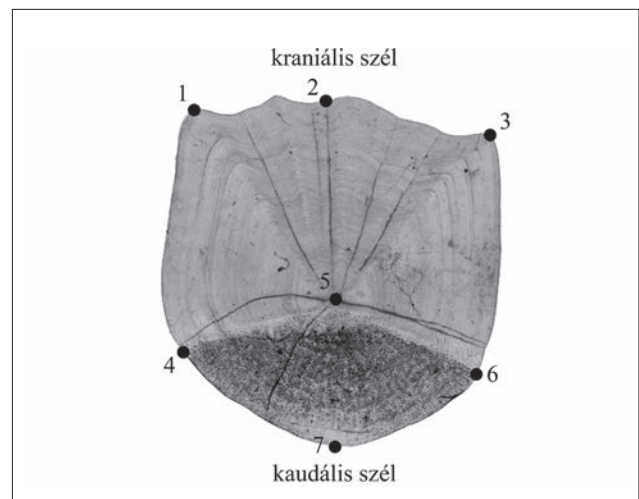
A pikkelyminták csoportonként 20 ezüstkárász (*Carassius gibelio*) egyedről származtak (minden korcsoportból 0+-tól 6+-ig). A korcsoport meghatározását a pikkelyen található



1. ábra. A mintavételi terület átnézeti térképe

évgyűrűk száma alapján végeztük. A pikkelyeket minden esetben 1 csepp/literes koncentrációjú szegfűszegolajjal altatva vettük le az egyedekről. A pikkelyek horizontálisan a hátúszó első úszósugarának vonalából, vertikálisan pedig a hátvonal és oldalvonal közötti felező területéről származnak. Minden pikkely az egyedek bal oldaláról került levételre, elkerülve ezzel az esetleges fluktuáló aszimmetria (Bellaagh és mtsai., 2007; Szabó és mtsai., 2000) okozta eltéréseket. Minden egyedről 4-5 pikkely került levételre, annak érdekében, hogy minden egyedről legyen nem regenerálódott, ép pikkely. Az elemzésekbe minden esetben 1 egyedről 1 pikkely került bevonásra. A mintavétel a Kis-Balaton Vízügyi Rendszer 2. ütemének (KBVR) sekély, litorális zónájában történt (1. ábra).

A pikkelyeket saját nyálkájukkal papírlapok közé ragasztva tároltuk feldolgozásig. A feldolgozás során a nyálka csapvízes lemosását követően a pikkelyeket két tárgylemez közé ragasztottuk. Az így preparált pikkelyeket felső megvilágítású (XPA feltét) szkennelvel (Hewlett



2. ábra. A pikkelyalak leírására alkalmazott mérőpontok. A pikkely területeinek leírását a hal pozíciójához viszonyítva adtuk meg.

1. táblázat. Hét ezüstkárász (*Carassius gibelio*) korcsoport pikkelyalakján végzett geometriai morfometriai elemzés eredménye. Bal félmátrix: T^2 értékek, jobb félmátrix: p-értékek, átló: a csoportok átlagos hasonlósága. A nem szignifikánsan elkülönülő csoportpárok értékei félkövérrel szedve.

	0+	1+	2+	3+	4+	5+	6+
0+	0,645	0,027	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
1+	32,72	0,636	0,006	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
2+	147,29	42,81	0,498	0,002	0,02	0,022	<0,001
3+	616,94	135,57	49,56	0,498	0,049	0,207	0,008
4+	357,96	147,64	34,81	28,57	0,373	0,145	<0,001
5+	340,58	97,12	33,92	19,06	21,47	0,458	0,004
6+	761,58	214,29	115,26	40,92	75,64	46,15	0,484

Packard ScanJet 5300C), 2400 dpi felbontással digitalizáltuk.

A hét jól meghatározható mérőpont felvételéhez tpsUtil (Rohlf, 2004), illetve tpsDig2 (Rohlf, 2005) programokat alkalmaztunk (2. ábra). Az 1. és 3. mérőpontok a pikkely kranialis szélén a ventrális és dorzális sarkába kerültek, a 2. mérőpont az 1. és 3. mérőpontok felezőjéhez került. A 4. és 6. mérőpontokat a szomszédos pikkelyek által fedett és szabadon álló terület határának ventrális és dorzális szélén vettük fel. Az 5. mérőpont a pikkelyek fókuszába került, míg a 7. mérőpontot a pikkely kaudális szélén a 4. és 6. mérőpont felezőjéhez helyeztük el.

A további elemzéseket a morphoJ programmal (Klingenberg, 2011) végeztük. Első lépésként teljes Prok-

rusztész-illesztést végeztünk a mérőpont készleteken, ezáltal egymásra illesztve, méretezve és forgatva a mérőpontokat (Dryden és Mardia, 1998). Ezután az egyes egyedekhez hozzárendeltük a csoportazonosítóját, majd pedig egy többszörös lineáris regressziót végeztünk (függő változók: Prokrusztész-koordináták, független változó: a centroid méretek logaritmus). Minden regresszió eredményének megbízhatóságát permutációs teszttel (10 000 permutáció) vizsgáltuk (Good, 2000). Amennyiben a méretnek (logCS) szignifikáns hatása volt az alakra, abban az esetben a további elemzéseket a regresszió reziduálisával (a méret által nem magyarázott rész) folytattuk. A csoportok elkülönülésének vizsgálatára kanonikus variancia analízist (CVA) és diszkriminancia függvény-elemzést (DFA) végeztünk (Dytham, 2011). A két módszer alapvető

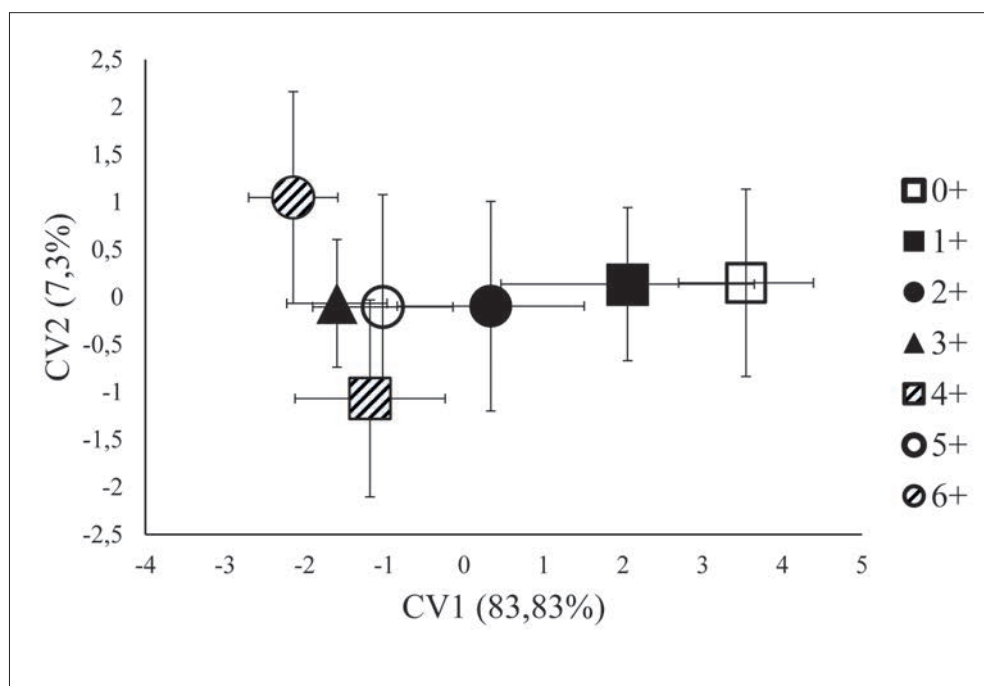
különbsége, hogy míg a CVA a teljes mintát elemzi, ezáltal a csoportok mintázatáról kaphatunk információt, addig a DFA a teljes mintán belül csoportpárokat vet össze, ezáltal a két vizsgált csoport egymástól való távolságát pontosabban adja meg. A DFA esetén minden esetben végeztünk egy *leave-one-out* keresztvalidációt (Lachenbruch, 1967), a besorolási megbízhatóságok ellenőrzésére, valamint Hotelling-féle t-próbát is (Hotelling, 1931).

EREDMÉNYEK

A pikkely mérete minden esetben szignifikánsan befolyásolta az alakját ($p = 0,001$), a teljes alakvariancia 3,47%-áért volt felelős a méret. A csoportok két esetet kivéve (3+-5+ és 4+-5+) szignifikánsan eltértek egymástól 95%-os szignifikancia szint mellett (1. táblázat).

A 3. ábrán jól megfigyelhető, hogy a 0+-ostól a 3+-os csoportig az első tengely mentén – némi átfedéssel – helyezkednek el a csoportok, majd a 4+-os korosztálytól a kettes tengely mentén, pozitív irányban rendeződnek a csoportok, ami már lényegesen kisebb varianciát hordoz (7,3%).

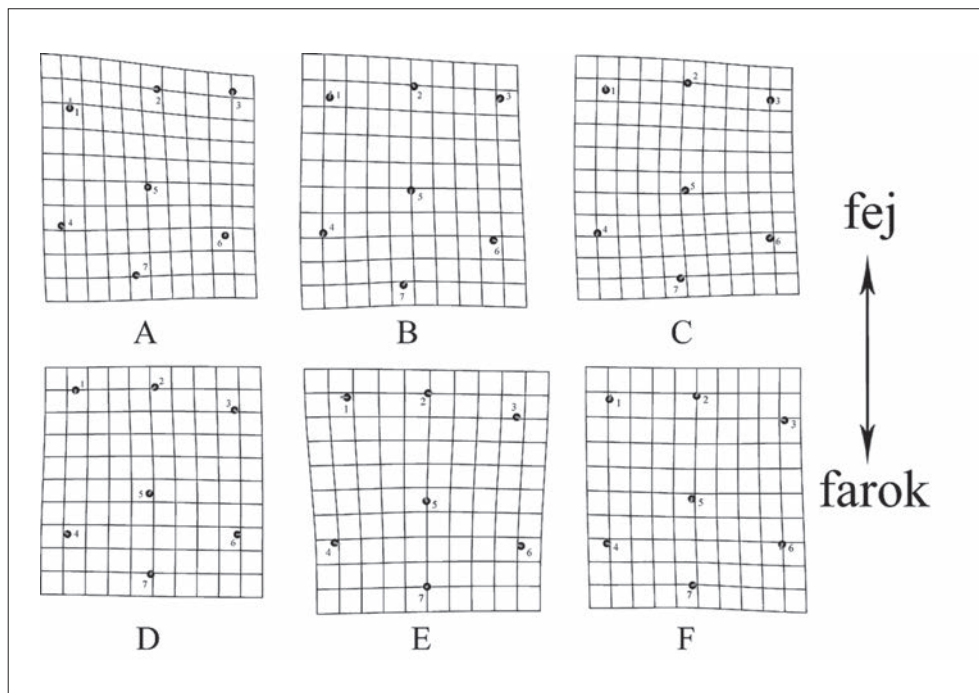
A besorolási megbízhatóságok magasnak bizonyultak, átlagosan (a nem szignifikánsan elkülönülő csoportok besorolási megbízhatóságait nem beleszámítva) 91,6%-nak adódtak (2. táblázat). A keresztvalidációból származó besorolási megbízható-



3. ábra. Hét ezüstkárász korcsoport pikkelyalakja alapján történő elkülönülése (CVA plot), a szimbólumok a csoportátlagot, míg a szálkeresztek a csoportok szórását mutatják.

2. táblázat. Klasszifikációs arányok a hét ezüstkárász (*Carassius gibelio*) korcsoport pikkelyalakjának diszkriminancia függvény-elemzésével. Bal félmátrix: kereszt-validációs értékek, jobb félmátrix: validációs értékek. A nem szignifikánsan elkülönülő csoportpárok értékei félkövérrel szedve.

	0+	1+	2+	3+	4+	5+	6+
0+		85%	100%	100%	100%	100%	100%
1+	57,5%		87,5%	95%	95%	95%	97,5%
2+	92,5%	72,5%		87,5%	80%	85%	90%
3+	97,5%	85%	77,5%		77,5%	77,5%	85%
4+	95%	95%	67,5%	60%		80%	95%
5+	97,5%	85%	62,5%	55%	55%		85%
6+	97,5%	97,5%	87,5%	67,5%	87,5%	70%	



4. ábra. Az ezüstkárász (*Carassius gibelio*) korcsoportok pikkelyalakjának eltérései thin-plate spline módszerrel ábrázolva (A – 0+-1+, B – 1+-2+, C – 2+-3+, D – 3+-4+, E – 4+-5+, F – 5+-6+).

ságok is átlagosan csupán 10%-al maradtak el, 81,7%-nak adódtak (2. táblázat).

Az egyes korosztályok átlagos pikkelyalakjának összehasonlításakor azt láthatjuk, hogy 3+-os korig az alak-változás iránya nagyon hasonló (4. ábra). 3+-tól 4+-os korig a pikkely szélesedni kezd, majd a kaudális szél elkezd keskenyedni, és a szomszédos pikkelyek által nem fedett rész aránya csökken.

Az egyedeket három korosztály-csoportba soroltuk (juvenilis: 0+, 1+; subadult: 2+; adult: 3+, 4+, 5+, 6+) (Harka és Sallai, 2004), majd a korosztályokon egy újabb elemzést végeztünk el. A regresszió eredménye alapján ebben az esetben is nagyon hasonló mértékben (4,59%) és szignifikáns módon ($p < 0,001$) befolyásolta a méret az alakot. Mindhárom korcsoport szignifikánsan elkülönült egymástól ($p < 0,001$) (3. táblázat).

Alapvetően az első tengely mentén különülnek el egymástól a csoportok (5. ábra), ami nem meglepő, hiszen az összvariancia 98%-át ez a tengely hordozza.

A besorolási megbízhatóságok hasonló szinten mozog-

3. táblázat. Az ezüstkárász (*Carassius gibelio*) három korosztály-csoportjának pikkelyalak vizsgálata. Bal félmátrix: T^2 értékek, jobb félmátrix: p-értékek, átló: a csoportok átlagos hasonlósága.

	juvenile	subadult	adult
juvenile	0,79	<0,001	<0,001
subadult	72,2	0,368	<0,001
adult	509,37	76,92	0,241

szükség. Ezüstkárász esetén ez a fajra jellemző alak a 3+-os kor elérésekor alakul ki. Elmondható tehát, hogy a pikkelyalak esetén megfigyelhető egyfajta ontogenetikus fejlődés. Ez a megfigyelés azért is fontos, mert amennyiben különböző korosztályú csoportokat hasonlítunk össze (nagyon fiatal csoport és adult csoport), akkor a csoportok koreloszlása önmagában okozhat szignifikáns elkülönülést a pikkelyalakok alapján, mindenféle környezeti vagy genetikai különbség nélkül. A 3. ábrán egy különös mintázat figyelhető meg: az egyes korcsoportok között ellentétes „irányú” alakváltozások láthatók. A fiatal korosztályok esetén (0+-3+) az első tengely mentén negatív irányba „lépegethetünk” a csoportok között. Ezután azonban a 4+-os csoport a kettes tengely mentén negatív irányba mozdul el, majd az 5+-os újra pozitív irányba, ami azt eredményezi, hogy a 3+-os és az 5+-os csoport igen közel kerül egymáshoz. A 3+-os csoport pikkelyalakjához képest a 4+-os csoport pikkelyei kiszé-

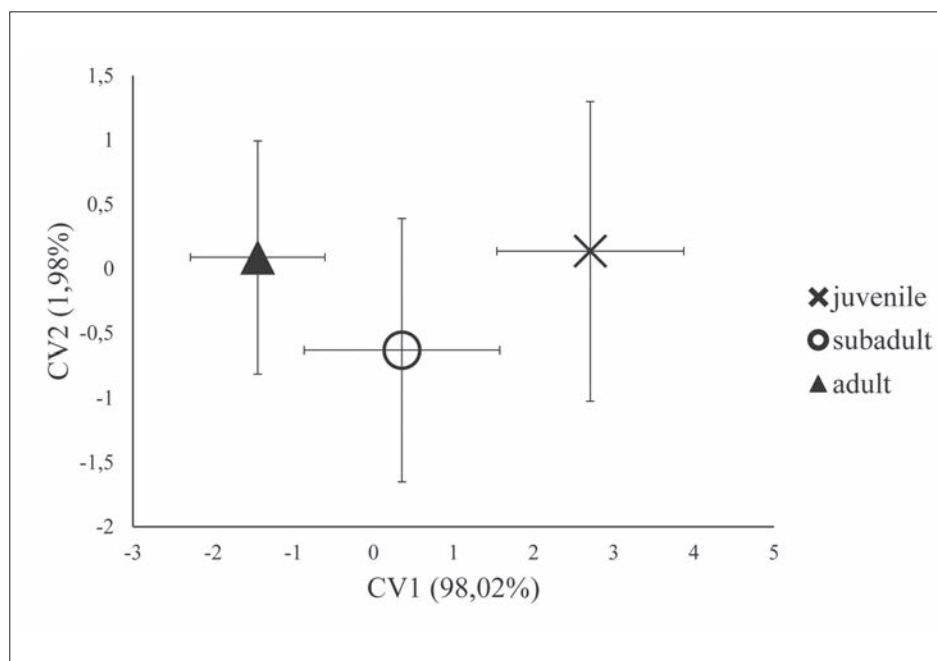
4. táblázat. Klasszifikációs arányok a három ezüstkárász (*Carassius gibelio*) korosztály-csoport pikkelyalakjának diszkriminancia függvény-elemzésével. Bal félmátrix: kereszt-validációs értékek, jobb félmátrix: validációs értékek.

	juvenile	subadult	adult
juvenile		88,75%	93,75%
subadult	81,25%		86,90%
adult	96,90%	76,25%	

nek, mint a hét csoport elemzésekor, átlagosan 89,9%-ban sikerült a megfelelő csoportba sorolni a pikkelyeket (4. táblázat), és a keresztvalidációs besorolási megbízhatóságok sem maradnak el sokkal (átlagosan 84,8%).

EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

A kor hatásának vizsgálati eredményei alátámasztják azt a megfigyelést, hogy bár a pikkelyek már igen hamar megjelenhetnek az egyes fajok lárváin (zebradánió esetén 8 mm-es standard hosszánál (Le Guellec és mtsai., 2004)), azonban a fajra jellemző pikkelyalak eléréséhez évekre van



5. ábra. Három ezüstkárász korosztály pikkelyalak alapján történő elkülönülése (CVA plot), a szimbólumok a csoportátlatgot, míg a száskeresztek a csoportok szórását mutatják.

lesednek hát-hasi irányban, majd újra elkeskenyednek az 5+-os csoportban (4. ábra). Ez a jelenség valószínűsíthetően a testalak ontogenetikus fejlődésével lehet összefüggésben, amire több példát is találunk a szakirodalomban. Vöröshasú pirája (*Pygocentrus natterei* KNER 1858) esetén kimutatták, hogy az egyedfejlődés során a test középső része, a fej szemüreg mögötti része (postorbitális), valamint a tarkó terület megnyúlik, valamint az egész feji rész magasabbá válik (Zelditch és Fink, 1995). Szintén a test megnyúlásáról, valamint a postorbitális régió megnyúlásáról számoltak be a páncélosarcsa-félék családjába (*Callichthyidae*) tartozó *Callichthys callichthys* L. 1758 esetén az egyedfejlődés során, valamint, a faroknyél elvékonyodásáról és a hasi régió magasságának növekedéséről (Reis és mtsai., 1998). Mindezt alátámasztják az általunk kapott eredmények is: mivel a pikkelysorok száma állandó a hal testen, és 3+-os kor után az ezüstkárászok testmagassága megnőtt (hasi régió magasságának növekedése) a testhosszukhoz képest, ez magával hozta a pikkelyek kiszélesedését. Ez a „magasodás” azonban később lelassult és nagyobb arányban nőtt a hal teste és pikkelye is fej-farki irányban (a test középső régiójának megnyúlása), ennek köszönhetően pedig a pikkely keskenyedett hát-hasi irányban.

Általánosságban elmondható, hogy pikkelymorfometriai vizsgálatok esetén feltétlenül figyelni kell a mintákban szereplő egyedek koreloszlására. Esetlegesen érdemes kiegészíteni kor-beccsléssel is a pikkelyalak vizsgálatot, vagy kizárni azon egyedeket, amelyek nem érik el a megfelelő testméretet. Az általunk is elvégzett

méret-standardizációra azonban feltétlenül szükség van a kevert korcsoportba tartozó csoportok összehasonlítása esetén.

IRODALOM-JEGYZÉK

Bellaagh, M., Deákné Lazányi-Bacsó, E.Á., Korsós, Z., 2007. Fluktuáló aszimmetria vizsgálata hullőpopulációk életminőségének jellemzésére. Állattani Közlemények 92, 27-36.

Bereiter-Hahn, J., Zylberberg, L., 1993. Regeneration of Teleost Fish Scale. Comparative Biochemistry and Physiology 105A(4), 625-641.

Dryden, I.L., Mardia, K.V., 1998. Statistical shape analysis. New York: Wiley,

376p.

Dytham, C., 2011. Choosing and Using Statistics. Wiley-Blackwell. 320p.

Good, P., 2000. Permutation tests: a practical guide to resampling methods for testing hypotheses. 2nd edition. New York: Springer-Verlag. 271p.

Hotelling, H., 1931. The Generalization of Student's Ratio. The Annals of Mathematical Statistics 2, 360-378.

Ibáñez, A.L., Cowx, I.G., O'Higgins, P., 2007. Geometric morphometric analysis of fish scales for identifying genera, species, and local populations within Mugilidae. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 64, 1091-1100.

Klingenberg, C.P., 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. Molecular Ecology Resources 11, 353-357.

Lachenbruch, P.A., 1967. An Almost Unbiased Method of Obtaining Confidence Intervals for the Probability of Misclassification in Discriminant Analysis. Biometrics 23, 639-645.

Le Guellec, D., Morvan-Dubois, G., Sire, J.-Y., 2004. Skin development in bony fish with particular emphasis on collagen deposition in the dermis of the zebrafish (*Danio rerio*). International Journal of Developmental Biology 48, 217-231.

Poulet, N., Reyjol, Y., Collier, H., Lek, S., 2005. Does fish scale morphology allow the identification of populations at a local scale? A case study for rostrum dace *Leuciscus leuciscus burdigalensis* in River Viaur (SWFrance). Aquatic Sciences 67, 122-127.

Reis, R.E., Zelditch, M.L., Fink, W.L., 1998. Ontogenetic

Allometry of Body Shape in the Neotropical Catfish *Callichthys* (Teleostei: *Siluriformes*). *Copeia* 1998, 177-182.

Richards, R.A., Esteves, C., 1997. Use of Scale Morphology for Discriminating Wild Stocks of Atlantic Striped Bass. *Transactions of the American Fisheries Society* 126, 919-925.

Rohlf, F.J., 2004. tpsUtil, file utility program. version 1.58., Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

Rohlf, F.J., 2005. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.17. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

Szabó, K., Liker, A., Korsós, Z., 2000. A fluktuáló aszimmetria vizsgálata két magyarországi kockás sikló (*Natrix tessellata*) populációban. *Állattani Közlemények* 85, 59-68.

Watkinson, D.A., Gillis, D.M., 2005. Stock discrimination of Lake Winnipeg walleye based on Fourier and wavelet description of scale outline signals. *Fisheries Research* 72, 193-203.

Zelditch, M.L., Fink, W.L., 1995. Allometry and Developmental Integration of Body Growth in a Piranha, *Pygocentrus nattereri* (Teleostei: *Ostariophysi*). *Journal of Morphology* 223, 341-355.

Triploidisation of pike perch (*Sander lucioperca* L.) may be associated with apoptosis in larvae. A flow cytometric observation.

Brief Communication

Demeter, K.^{1a}, Abdelkader, R.^{2a}, Beliczky, G.¹, Bodó, S.³ and Nagy, S.^{1*}

¹University of Pannonia, Georgikon Faculty, Department of Animal Sciences, Deák F. u. 16., H8360 Keszthely, Hungary

²Université de Khemis-Miliana, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Departement d'Agro-sciences, 44225 Algerie

³NARIC, Szent-Györgyi A. u. 4., H2100 Gödöllő, Hungary

^aK.D and R.A. have contributed equally to this work, both are regarded as first authors

*Author to whom correspondence should be addressed.

Phone: +36-83-545-349. E-mail: nagy.szabolcs@georgikon.hu

Abstract

The present study aimed to observe the success in triploidisation of pike perch (*Sander lucioperca* L.) larvae by flow cytometry and propidium iodide (PI) staining. Triploid larvae contained larger percentage of cells showing lower fluorescence intensity than the main peak as compared to the diploid larvae. The interpretation of such sub-main peak events in DNA histograms is usually a sign of apoptosis.

Key words: pike perch, triploid, aquaculture, apoptosis, flow cytometry, DNA quantity

The use of triploids in aquaculture goes back for decades. They are applied mostly in cases when reproduction of the stock is not preferred or stocking of fertile individuals are simply banned. The effect of triploidisation on growth, sexual maturation, etc. varies depending on the species

(Allen & Wattendorf, 1987; Bonnet *et al.*, 1999; Bonar *et al.*, 2002; O'Flynn *et al.*, 1997; Pradeep *et al.*, 2012).

Ploidy status of fish can be quickly assessed by flow cytometry (Ewing *et al.*, 1991; Lecommandeur *et al.*, 1994; Zhang & Arai, 1996; Bonnet *et al.*, 1999; Lamatsch *et al.*, 2000) using DNA-specific fluorochromes and the fluorescence intensity (indicating DNA quantity) of thousands of cells can be quickly and automatically evaluated.

In a series of experiments aimed at producing triploid pike perch and walleye (*Sander vitreus* M. and *S. lucioperca*, L.) Malison *et al.*, 2001; Blecha *et al.*, 2016; Fetherman *et al.*, 2015) the triploidisation was induced by pressure or temperature shocks. In our experiment eggs of two females (150-150 g) were mixed and fertilized by mixture of sperm of two males. Two minutes after fertilization (AF) the eggs were treated by clay powder solution (100 g clay/litre water) against stickiness according to the

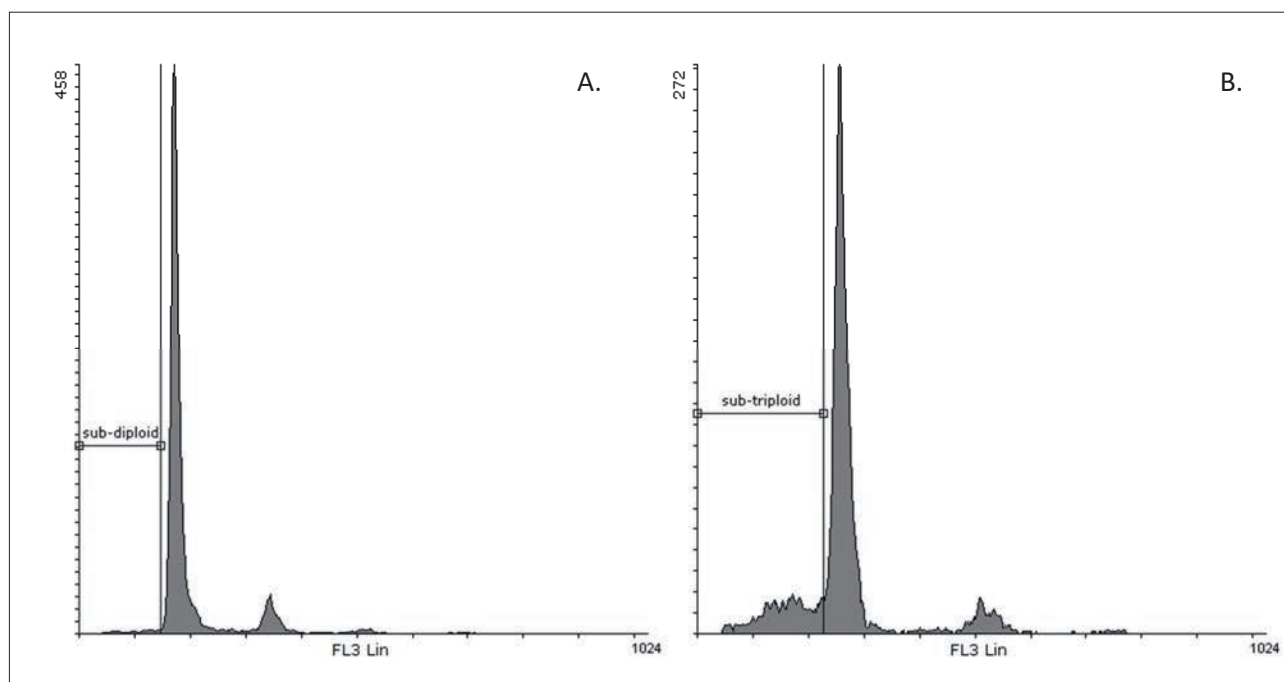


Figure 1. PI fluorescence intensity histograms of a representative diploid (A.) and triploid (B.) pike perch embryo. Fluorescence intensity is expressed on a linear 1024-channel scale. Events showing lower intensity than the main peak are identified with the “sub-diploid” and “sub-triploid” markers.

farm method in Hungary. The temperature of the ambient water was 16.5 °C. Four minutes AF half of the eggs were subjected to heat shock of 36°C with 2 minutes duration. The non-shocked eggs served as control. Both shocked and control eggs were slowly stirred in the clay suspension for 40 minutes at 16.5°C until eggs lost their stickiness and were put into Zuger jars for incubation. Hatching rates of control and treated fish were very close to each other (74% control and 68% of treated; calculated by hatchlings from 200-200 eggs). After hatching fry was kept in through flow aquaria for 5 days at 17°C until yolk sack was fully absorbed and fish started horizontal swimming. At this time fish were subjected to ploidy evaluation.

The ploidy status of fish was assessed by flow cytometry. The protocol followed Ewing *et al.* (1991) with modifications. Briefly, whole larvae (five diploid and 15 presumably triploid individuals) were dissociated in 0.7% NaCl solution at the age of 4 days after hatching, when the yolk absorbed. Dissociated larvae were fixed in 70% ethanol and transferred to the laboratory for ploidy measurements. Cell suspensions were kept on ice until sample preparation. DNA labelling was done with FXCycle PI/RNase kit (F10797, Molecular Probes) containing propidium iodide (PI) as DNA-specific fluorochrome, according to the protocol provided by the manufacturer. Cells were washed from the fixative by centrifugation at 400 x g for 10 min, then 500 µL of the FXCycle solution was added to the pellet containing approximately $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ cells. Samples were immediately vortexed and incubated for 30 min at room temperature in the dark. DNA quantity

as indicated by PI fluorescence intensity was measured by a Beckman Coulter FC-500 flow cytometer, equipped with a 488 nm, 20 mW argon ion laser. PI fluorescence was detected on FL3 detector (655 nm LP) in linear mode. The flow cytometer was aligned with FlowCheck fluorospheres (6605359, Beckman Coulter) before acquisition. Doublet discrimination was done following to the suggestions of the manufacturer of the instrument. Data acquisition was stopped either when 5000 events per sample were recorded or after five min acquisition time and light scatter and PI fluorescence intensities were stored in list mode (LMD) files. LMD files were analysed with the free Flowing 2.5.1. software (www.flowing.com). PI fluorescence intensities were drawn as one parameter histograms (Figure 1.) and median fluorescence intensities of the main peaks were recorded. As visual inspection revealed events with lower fluorescence than the main peak, such events were classified as subdiploid or subtriploid and the percentage of such events were recorded as well (Figure 1.). Statistical analyses were done with R Commander (version 2.2-5). Diploid larvae had a main (\pm SD) PI histogram peak at 183.2 ± 13.6 (larva no. 2. did not yield enough cells for analysis therefore this sample was not included in the evaluation) while main (\pm SD) PI histogram peak of the presumably triploid larvae was 270.5 ± 10.6 , indicating that these larvae were actually triploid (theoretically 3N would be $1.5 \times 2N$, in this case $1.5 \times 183.2 = 274.8$). Triploid larvae however, contained larger percentage of cells showing lower fluorescence intensity than the main peak as compared to the diploid larvae (Fig. 1.): the median

values of the subdiploid and subtriploid events were 1.55% and 15.25%, respectively. The difference was significant at $p < 0.001$ (Wilcoxon rank sum test).

The interpretation of such sub-main peak events in DNA histograms is usually a sign of apoptosis: as endonucleases are activated during apoptosis and cleave the DNA, fragmented DNA will leak out from the cells during sample preparation and resulting in lower fluorescence intensity due to the lower amount of DNA remaining in the cell nucleus (Darzynkiewicz *et al.*, 2010).

The appearance of apoptosis in aneuploid embryos is not surprising; any type of DNA damage or genetic imbalance would have serious consequences on the developing embryo. Extrinsic factors like hypoxia can affect the genomic integrity of the embryo. The rapid cell divisions of the developing early embryo do not allow time for DNA repair, and damaged cells are eliminated via apoptosis instead (Desmarais *et al.*, 2012). Damaged cells can be eliminated from the pluripotent cells via the p53-dependent pathway which induces cell cycle arrest or apoptosis (Tichy, 2011). However, studies with zebrafish embryos indicate that prior to midblastula transition defective cells can continue dividing as S-phase checkpoints are not active at this stage (Verduzco & Amatruda, 2011).

The presence of significantly higher quantity of sub-main peak cells in the triploid fish comparing to the normal diploids is an indication of apoptosis which is rather due to the aneuploidy of the cells than directly to the heat shock. A study on haploid and diploid porcine parthenogenetic preimplantation embryos indicated higher occurrence of apoptosis in haploids while diploids had similar ratios to normal IVF embryos (Hao *et al.*, 2004) which may indicate that genetic imbalance, not the parthenogenetic treatment was responsible for the activation of apoptotic pathways. The original aim of this study was not to investigate this event; however, the observation presented in this brief communication will be useful for subsequent studies on the apoptotic events in the developing aneuploid fish embryo.

Acknowledgements

Authors thank Attila Bognár for providing breeders and technical help for the experiments and Miklós Bercsényi (University of Pannonia, Hungary) for advices and comments in experimental design. Helpful comments of Anders Johannison (Sveriges lantbruksuniversitet, Sweden) are acknowledged. The financial support of HOP-3 COLL-1 („Aquaculture (breeding, genetic selection and education) Center of Transdanubium in Hungary” - reference number: 1699279607) program of the Hungarian Government and the EU is acknowledged.

References

- Allen Jr. S.K. & Wattendorf R.J. (1987). Triploid grass carp: status and management implications. *Fisheries* **12**, 20-24. doi: 10.1577/1548-8446-12-4
- Blecha M., Flajshans M., Lebeda I., Kristan J., Svacina P. & Policar T. (2016). Triploidisation of pikeperch (Sander lucioperca), first success. *Aquaculture* **462**, 115-117. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.05.016
- Bonar S.A., Holding B. & Divens M. (2002). Effects of triploid grass carp on aquatic plants, water quality and public satisfaction in Washington State. *North American Journal of Fisheries Management* **22**, 96-105. doi: 10.1577/1548-8675(2002)022<0096:EOTGCO>2.0.CO;2
- Bonnet S., Haffray P., Blanc J.M., Vallee F., Vauchez C., Faure A. & Fauconneau B. (1999). Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and seawater brown trout *Salmo trutta*. *Aquaculture* **173**, 359-375. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00460-8
- Darzynkiewicz Z., Halicka H.D. & Zhao H. (2010). Analysis of cellular DNA content by flow and laser scanning cytometry. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **676**, 137-147. doi: 10.1002/0471142735.im0507s60
- Desmarais J.A., Hoffmann M.J., Bingham G., Gagou M.E., Meuth M. & Andrews P.W. (2012). Human embryonic stem cells fail to activate CHK1 and commit to apoptosis in response to DNA replication stress. *Stem Cells* **30**, 1385-1393. doi: 10.1002/stem.1117
- Ewing R., Scalet C. G. & Evenson D.P. (1991). Flow cytometric identification of larval triploid walleyes. *The Progressive Fish-Culturist* **53**, 177-180. doi: 10.1577/1548-8640(1991)053<0177:FCIOLT>2.3.CO;2
- Fetherman E.R., Lepak J.M. & Harris D.J. (2015). Optimizing time of initiation for triploid walleye production using pressure shock treatment. *North American Journal of Aquaculture* **77**, 471-477. doi: 10.1080/15222055.2015.1040568
- Hao Y., Lai L., Mao J., Im G.S., Bonk A. & Prather R.S. (2004). Apoptosis in parthenogenetic preimplantation porcine embryos. *Biology of Reproduction* **70**, 1644-1649. doi: 10.1095/biolreprod.103.026005
- Lamatsch D.K., Steinlein C., Schmid M. & Scharl M. (2000). Noninvasive determination of genome size and ploidy level in fishes by flow cytometry: detection of triploid *Poecilia formosa*. *Cytometry* **39**, 91-95.
- Lecommandeur D., Haffray P. & Philippe L. (1994). Rapid flow cytometry method for ploidy determination in salmonid eggs. *Aquaculture and Fisheries Management* **25**, 345-350. doi: 10.1111/j.1365-2109.1994.tb00698.x
- Malison J. A., Held J. A., Weil L. S., Kayes T. B. & Thorgaard G. H. (2001). Manipulation of ploidy in

TUDOMÁNY

walleyes by heat shock and hydrostatic pressure shock. *North American Journal of Aquaculture* **63**, 17-24. doi: 10.1577/1548-8454(2001)063<0017:MOPIWB>2.0.CO;2

O'Flynn F.M., McGeachy S.A., Friars, G.W., Benfey J., & Bailey J. K. (1997). Comparisons of cultured triploid and diploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *ICES Journal of Marine Science*, **54**, 1160-1165. doi: 10.1016/S1054-3139(97)80022-7

Pradeep P.J., Sriyayaa T.C., Papinic A. & Chatterjia A.K. (2012). Effects of triploidy induction on growth and masculinization of red tilapia [*Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) × *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)]. *Aquaculture* **344-349**, 181-187. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.03.006

Tichy E.D. (2011). Mechanisms maintaining genomic integrity in embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *Experimental Biology and Medicine* **236**, 987-996. doi: 10.1258/ebm.2011.011107

Verduzco D. & Amatruda J.F. (2011). Analysis of cell proliferation, senescence and cell death in zebrafish embryos. *Methods In Cell Biology* **101**, 19-38. doi: 10.1016/B978-0-12-387036-0.00002-5

Zhang Q. & Arai K. (1996). Flow cytometry for DNA contents of somatic cells and spermatozoa in the progeny of natural tetraploid loach. *Fisheries Science* **62**, 870-877. doi: 10.2331/fishsci.62.870

SAJTÓKÖZLEMÉNY

2017. 08. 01.

NAIK HALÁSZATI KUTATÓINTÉZET

SAJTÓKÖZLEMÉNY

A NAIK HALÁSZATI KUTATÓINTÉZET MEGKEZDTE AZ „IMMUNSTIMULÁLÓ HATÁSÚ ÉS EDDIG NEM ALKALMAZOTT MIKROALGA TÖRZSEKEN ALAPULÓ PREVENTÍV CÉLÚ TAKARMÁNY KIEGÉSZÍTŐK TERMELÉSE ÉS INTENZÍV HALGAZDASÁGOKBAN TÖRTÉNŐ HASZNOSÍTÁSA” CÍMŰ PROJEKT MEGVALÓSÍTÁSÁT

A kutatás-fejlesztési projekt a „GINOP-2.3.2-15 - Stratégiai K+F műhelyek kiválósága” című pályázati kiíráson elnyert 742 millió forint vissza nem térítendő uniós támogatással, az Európai Regionális Fejlesztési Alapból valósul meg.

A NAIK Halászati Kutatóintézet, a Széchenyi 2020 program keretében, egy 4 tagból álló konzorciumot hozott létre, a MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, a Bay Zoltán Nonprofit Kft., valamint a Miskolci Egyetem közreműködésével.

A **projekt célja** zárt rendszerű algatenyésztési technológiával nyert magas hozzáadott értékű mikroalga biomaszra előállítására, illetve annak haltakarmányban történő hasznosítása. A fejlesztés eredményeként egyedi, korábban nem leírt összetételű mikroalga-tartalmú haltakarmány-kiegészítőt készítünk, amely élettanilag kedvező hatású, így hozzájárulhat az intenzív halnevelésben gyakori stresszhelyzetek okozta megbetegedések kiküszöböléséhez és a halak fejlődéséhez.

A projekt azonosító száma: GINOP-2.3.2-15-2016-00058

A projekt megvalósítási ideje: 2017.07.01-2021.06.30.

Támogatás aránya:100%

A projektről bővebb információt a www.haki.hu http://www.naik.hu/naik-ginop-2_3_2-15-2016-00058 weboldalon olvashatnak.

További információ kérhető:

Nacsa Adrienn
projektmenedzser

NAIK Halászati Kutatóintézet
5540 Szarvas, Anna-liget 8.
tel.: 0666/515-300/117
e-mail: nacsa.adrienn@haki.naik.hu

