Szent István Egyetem

TERMÉSZETESVÍZI HALFAJOK IVARI CIKLUSÁNAK VIZSGÁLATA

Doktori (Ph. D.) értekezés

Lefler Kinga Katalin

GÖDÖLLŐ

2010

A doktori iskola

megnevezése: Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

tudományága: Mezőgazdaság-tudomány

vezetője: Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, MTA doktora
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattudományi Alapok Intézet
TakarmányozástaniTanszék

Témavezető: Dr. Szabó Tamás
C.Sc., egyetemi docens
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet
Halgazdálkodási Tanszék

....

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések ***5***
1.1 A téma indoklása ökológiai szempontból 5
1.2. A téma indoklása gazdasági szempontból 6
1.3. A téma indoklása tudományos szempontból 6
1.4. Célkitűzések 7

2. Szakirodalmi áttekintés ***9***
2.1. A vizsgált halfajok szaporodásának rövid jellemzése 9
2.2. Szaporodásbiológiai folyamatok áttekintése 12
2.2.1. A nőivarú halak szaporodásbiológiai folyamatainak áttekintése 12
2.2.1.1. A halak petefejlődése 12
2.2.1.2. A petefejlődés típusai 23
2.2.1.3. Ikraméret 24
2.2.1.4. A genetikai háttér és a táplálkozás hatása a szaporodásbiológiai folyamatokra 25
2.2.1.5. Atrézia 25
2.2.1.6. Ovulációt követő nyári, regenerációs időszak 27
2.2.1.7. A petefészek növekedése, a gonado-szomatikus-index (GSI) alakulása 27
2.3. Hormonális szabályozás 28
2.3.1. A nőivarú halak szteroid hormonjainak hatásmechanizmusa 30
2.3.2. A szteroid hormonok bioszintézise 32
2.3.3. Hormontranszport és a szteroidok metabolizmusa 34
2.4. A környezeti tényezők jelentősége, szabályozó mechanizmusa 34

3. Anyag és módszer ***37***
3.1. A vizsgálatok helye, körülményei 37
3.2. A vizsgált halfajok 38
3.3. A vizsgált szaporodásbiológiai mutatók 38
3.3.1. A gonado-szomatikus index (GSI) meghatározása 39
3.3.2. A különböző fejlődési állapotban lévő ivarsejtek egymáshoz viszonyított arányának vizsgálata 39
3.3.3. A petefészekben lévő follikulusok átmérőinek meghatározása 40
3.3.4. A vérplazmában lévő szteroid hormon szintek meghatározása 40
3.3.4.1. Mintagyűjtés és mintakezelés 40
3.3.4.2. A vérminták előkészítése a RIA vizsgálathoz 40
3.3.4.3. A RIA (Radio Immuno Assay) menete 41
3.3.4.4. Az ivari szteroid hormonok koncentrációira ható módosító tényezők 44
3.4. Adatok feldolgozása 44

4. Eredmények ***45***
4.1. A Dunában gyűjtött halfajokban kapott eredmények bemutatása 45
4.1.1. A balin fajban kapott eredmények bemutatása 45
4.1.2. A bagolykeszeg fajban kapott eredmények bemutatása 49
4.1.3. A jászban kapott eredmények bemutatása 53
4.1.4. A márnában kapott eredmények bemutatása 56
4.1.5. A bodorkában kapott eredmények bemutatása 60
4.1.6. A karikakeszegben kapott eredmények bemutatása 63
4.1.7. A paducban kapott eredmények bemutatása 67
4.2. A Balatonban gyűjtött halfajokban kapott eredmények bemutatása 71
4.2.1. A bodorka fajban kapott eredmények bemutatása 71
4.2.2. A karikakeszegben kapott eredmények bemutatása 74
4.3. Az eredmények értékelése 78
4.3.1. A Dunából gyűjtött fajok ivari ciklusának bemutatása 78

4.3.1.1. A balin ivari ciklusa ... 78
4.3.1.2. A bagolykeszeg ivari ciklusa ... 79
4.3.1.3. A jász ivari ciklusa ... 81
4.3.1.4. A márna ivari ciklusa ... 82
4.3.1.5. A bodorka ivari ciklusa ... 84
4.3.1.6. A karikakeszeg ivari ciklusa ... 85
4.3.1.7. A paduc ivari ciklusa ... 88
4.3.2. A Balatonban gyűjtött egyedek eredményeinek kiértékelése ... 89
4.3.2.1. A bodorka ivari ciklusa ... 89
4.3.2.2. A karikakeszeg ivari ciklusa ... 91

5. Következtetések és javaslatok ... 94

6. Új és újszerű tudományos eredmények ... 96

7. Összefoglalás ... 97

8. Summary ... 99

9. Irodalomjegyzék (1. sz. melléklet) ... 101

10. 2. sz. melléklet ... 115

11. 3. sz. melléklet ... 116

12. 4. sz. melléklet ... 119

13. Köszönetnyilvánítás ... 127

1. Bevezetés és célkitűzések

1.1 A téma indoklása ökológiai szempontból

A XIX. századtól kiteljesedett, átfogó folyószabályozási munkálatok következtében Európa vízrendszerének nagy része átalakult. A XX. században a folyókon gátakat és hidroelektromos műveket építettek. Az egyoldalú beavatkozások ökológiai szempontból negatív következményeket vontak maguk után. A jellemző folyóvízi élőhely-típusok elvesztették korábbi karakterüket, a folyami halak szaporodásához alapvető fontosságú ívóhelyek pedig elszigetelődtek. A mesterséges beavatkozások végső soron az áramló vizek halközösségének (rheofil fajok) elszegényedését eredményezték. Ehhez az ipari tevékenység hatására jelentkező és a század második felében egyre súlyosbodó vízminőségi problémák is hozzájárultak (SZABÓ 2001).

Vízszennyezést számos vegyi anyag okozhat. Ezek részben mérgezést okoznak, illetve hosszabb-rövidebb időre felborítják a vizek oxigénháztartását, ezzel veszélyeztetve a vízi élővilágot. A növényvédőszerek közül a rovarirtók már kis koncentrációban elpusztíthatják a vízi rovarokat, csigákat, kagylókat, rákokat és halpusztulást is okozhatnak. A gyomirtók károsíthatják a vizek algaállományát, a hínárféléket, a békalencsét és más vízi növényeket. A szerves anyagok elsősorban szennyezéssel, szennyvízzel, bemosódással jutnak a természetes vizekbe. A műtrágyaszennyezés szervesanyag-feldúsulást okoz, fokozza az algatermelést, a vízinövények növekedését, burjánzását és a vizek eutrofizációjához vezet. Súlyosabb esetben időszakos, vagy rendszeres algavirágzás, majd a növények elpusztulása, bomlása következtében időszakos, vagy súlyos oxigénhiány léphet fel. A szervetlen mérgező anyagok közül például az iparból származó ammónia, nehézfémsók, cianid, szulfid (átalakulása során kénhidrogén mérgezés) lehet különösen veszélyes. A szervetlen mérgező anyagok elsősorban a táplálékláncon keresztül feldúsulhatnak az élő szervezetekben és idővel bizonyos szint túllépése esetén a vízi élőlények pusztulását idézhetik elő. Több, a humán gyógyászatban használt gyógyszer (fogamzásgátlók, fájdalomcsillapítók, nyugtatók, antibiotikumok, stb.) hatóanyagát az emberi szervezet részben elbontja és kiválasztja. A gyógyszerek hatóanyagainak, illetve azok metabolitjainak egy része a természetes vizekbe kerülhet. Itt felhígulnak ugyan, de a vízi élőlényekben – elsősorban a halakban - szaporodási rendellenességeket okozhatnak (MASTERS 2001).

Magyarországon a veszélyeztetett halfajok többsége folyóvizekben él. Ezt jelzi például, hogy a hazai folyóvízi halfajok 61 %-át, míg az állóvízi halfajok 12 %-át nyilvánították védetté a közelmúltban (GYÖRE et al. 2000). Ennek oka az, hogy az elmúlt másfél évszázadban az emberi tevékenység számos vonatkozásban megváltoztatta a folyóvíz-rendszerek természetes állapotát, ami kedvezőtlenül hatott a halállományok alakulására is (KIRCHHOFER és HEFTI 1996). A folyók

szabályozása, a növekvő ipari tevékenység és az ehhez párosuló szennyezések hatására romlott a vizek minősége, így az áramló vizek halpopulációi megfogyatkoztak.

A Duna folyót érintő első szabályozásokat az árvíz elleni védekezés miatt végezték. A Duna Budapesttől a déli országhatár közötti teljes szakasza szabályozásának elsődleges célja a jéglevonulás elősegítése, valamint a Duna parti települések és mezőgazdasági művelésű területek árvíz-mentesítése volt. A hajózás biztosítása ezen a szakaszon csak másodlagos fontossággal bírt. A dunai halállomány alakulására az 1960-as évektől kezdődően vonhatunk le következtéseket a hivatásos halászok halfogási adatai alapján. A fogási eredményekben csökkenő trend figyelhető meg. A hanyatlás egyre határozottabbá vált az 1980-as évek végétől, és a halfogások 1993-ban, a bősi vízlépcső üzembe helyezését követő évben jutottak mélypontra. (GUTI 2005).

A Nemzeti Biodiverzitás-monitorozó Program „Halgazdálkodás, halászat, horgászat" c. részprogramja célul tűzte ki a folyóvizek biológiai sokféleségének megőrzését. Ez részben megvalósítható a még természetesnek tekinthető vízterületek megóvásán, valamint az emberi tevékenység által már megváltoztatott élőhelyek rekonstrukcióján keresztül. A keltetőházi halszaporítás és a védett, tavi környezetben történő ivadéknevelés, majd az ezt követő természetes vízi halasítás szintén hozzájárulhat az áramlást kedvelő halfajok megőrzéséhez (LUSK 1995).

1.2. A téma indoklása gazdasági szempontból

A folyóvizeken a hagyományos halászati tevékenység visszaszorult, ugyanakkor a horgászat az egyik legnépszerűbb szabadidős tevékenységgé fejlődött. A haltelepítés a természetes vízi halgazdálkodás fontos részévé vált, különösen az intenzív horgászvizeken, amelyek területe az elmúlt időszakban megnőtt.

A folyóvízi fajok halászati és horgászati jelentőségük következtében a hazai folyóvizek gazdasági szempontból értékes halfajai közé tartoznak. A hazai horgásztársadalom és a nyugat-európai felvevőpiac igénye gazdasági szempontból indokolja a fajok keltetőházi szaporítását és a természetes vizek rendszeres halasítását. A természetes vízi halasítás alapjául szolgáló ivadék keltetőházi előállításának alapvető feltétele a fajok ivari ciklusának és gametogenezisének ismerete.

1.3. A téma indoklása tudományos szempontból

A valódi csontoshalak (*Teleostei*) szaporodásbiológiája iránt az elmúlt években megnövekedett az érdeklődés, az egyes fajok természetvédelmi és gazdasági jelentősége miatt. Ezért érdemes az egyes halfajok szaporodási szokásairól, illetve szaporodásuk környezeti

feltételeiről tájékozódni. Az egyes halfajokra eltérő petefejlődési típus (egyszer-, illetve többszörívó) jellemző, így annak érdekében, hogy megállapítsuk, milyen szaporodási stratégiát képviselő halfajjal állunk szemben, a petefejlődést kell vizsgálnunk.

A hazai tógazdasági haltermelésben fontos szerepet betöltő halfajok, mint a a ponty, az amur, a fehér és a pettyes busa, a compó, a csuka és a harcsa szaporítása az anyahalak hormonkezelésétől egészen a zsenge ivadék előállításáig halkeltetőkben történik. A fajok sikeres szaporításának egyik feltétele szaporodásbiológiájuk megismerése volt. Elsőként a ponty (*Cyprinus carpio*) ivari ciklusát és gametogenezisét tárták fel szinte mindenre kiterjedő részletességgel (HORVÁTH 1980). Ez a későbbiekben alapot nyújtott a növényevő halfajok, a compó (*Tinca tinca*), a csuka (*Esox lucius*) és a harcsa (*Silurus glanis*) ilyen irányú vizsgálatának elvégzéséhez.

A külföldi akvakultúrákban gazdasági jelentőséggel bíró halfajoknál szintén feltárták az ivari ciklus alapvető jellegzetességeit és a gametogenezis folyamatát. A legfontosabb fajok között említhetjük a hidegvízi szivárványos pisztrángot (*Oncorhynchus mykiss*), a trópusi országok lakosságának élelmezésében fontos szerepet játszó tilápia fajokat és afrikai harcsát (*Clarias gariepinus*) (RICHTER et al. 1982), vagy a kaviár előállításához nélkülözhetetlen tokféléket (*Acipenseridae*) (DOROSHOV 1985). Az ivari ciklust és az ivarsejtek fejlődését néhány olyan gazdasági szempontból fontos tengeri halfaj esetében is leírták, melyek szaporítására is kísérletet tettek. Itt említhetjük meg például a tőkehalat (*Gadus morhua*) (KJESBU et al. 1990), vagy az atlanti-óceáni lepényhalat (*Hippoglossus hippoglossus*) (JONES 1974).

A gametogenezis feltárása a molekuláris biológiai és biotechnológiai kutatások középpontjában álló, a gerinces állatok tanulmányozásához modellként szolgáló zebra dánió (*Danio rerio*) esetében is megtörtént (SELMAN et al. 1993).

1.4. Célkitűzések

Ezen indokok alapján a természetesvízi halasításban és a haltelepítésben is hasznosítható szaporodásbiológiai törvényszerűségeket fel kell tárnunk. Kutatómunkám során ezért célom a balin (*Aspius aspius,* Linnaeus, 1758), a bagolykeszeg (*Abramis sapa,* Pallas, 1814), a jász (*Leuciscus idus,* Linnaeus, 1758), a márna (*Barbus barbus,* Linnaeus, 1758), a bodorka (*Rutilus rutilus*, Linnaeus, 1758), a karikakeszeg (*Blicca bjoerkna,* Linnaeus, 1758) és a paduc (*Chondrostoma nasus,* Linnaeus, 1758) ivari ciklusának és oogenezisének feltárása.

Célul tűztem ki a fent említett fajok szaporodásbiológiai mutatóinak, mint a

- gonado-szomatikus indexnek,
- a petefészekben található, eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos arányának,
- a follikulusok átmérőinek,

- valamint három szteroid hormon (tesztoszteron, progeszteron, 17β-ösztradiol) koncentrációjának meghatározását az ivari ciklus különböző időpontjaiban.

Továbbá célom volt a Balatonban élő karikakeszeg és bodorka ivari ciklusának vizsgálata, hogy összehasonlítsam, az álló- illetve folyóvízi élettér adta lehetőségek befolyásolják-e az ivari ciklust az egyes fajoknál. Olyan fajokat választottam, melyek mindkét típusú víztérben megtalálhatóak és a mintázáshoz szükséges egyedszámot a mintavételi időpontokban az egyes fajokból biztosan össze tudom gyűjteni.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A vizsgált halfajok szaporodásának rövid jellemzése

Az általunk vizsgált halfajok, mint a balin, a bagolykeszeg, a bodorka, a karikakeszeg, a márna, a jász valamint a paduc - többek között - Magyarország folyóvizet kedvelő halfajai közé tartoznak. A felsorolt fajok horgászati és halászati jelentőségük miatt folyóvizeink gazdaságilag értékes halfajai közé tartoznak, továbbá néhányuk jó exportlehetőséggel rendelkezik. Mindezek által gazdasági jelentőségük nem kérdéses. Ökológiai szempontból hazai folyóvizeink állapota, gazdasági szempontból a hazai horgásztársadalom és a nyugat-európai felvevőpiac egyre növekvő igénye indokolja a fent említett fajok szaporítását és természetes vizeinkbe történő folyamatos és rendszeres kihelyezését. A vizsgált halfajok a pontyfélék (*Cyprinidae*) családjába tartoznak.

Balin

Nagyobb folyókban és állóvizekben egyaránt megtalálható, de a víz tisztaságára fokozottan érzékeny. Leginkább a lassú folyású limányos részeken, állóvizekben pedig a mólók környékén találhatók meg.

Ivarérettségét 3-4 éves korban éri el. Ívása rendszerint március elején kezdődik és május elejéig tart. Az ívási időszakban a hímek testét – elsősorban a fejet – nászkiütések borítják. Többnyire sóderos, vagy homokos ívóhelyet választ. A lerakott ikrák száma függ a halak testméretétől, általában 30-400 ezer darab. A kb. 1,5 mm átmérőjű, opálos ikraszemek erősen ragadósak (PINTÉR 1992).

Bagyolykeszeg

A folyók dévérzónájára jellemző, áramláskedvelő faj. Tavak közül azokban él, melyben áramlások is vannak.

Ivarérettségét 3-5 évesen éri el, rendszerint május elejétől június közepéig tart a szaporodása. Egy-egy nőstény 10-50 ezer kb. 2 mm átmérőjű ikraszemet érlel. Az ívás a dévérzóna sodrottabb szakaszain, illetve a tavak áramlásos részein játszódik le, ahol a lerakott ikra a homokos-sóderes aljzathoz tapad (HARKA és SALLAI 2004).

Bodorka

Tömegesen olyan állóvizekben és lassú folyású folyóvizekben él, melyekben a sűrű növényzet jellemző.

Három-négyévesen lesz ivarérett, április-májusban szaporodik. Többnyire a víz alatti növényzetre ívik – különösen kedveli az elöntött ártéri réteket –, de ennek hiányában a sóderes

aljzatra is lerakja az ikrát. Az ikraszemek száma egy-egy halnál 20-200 ezer, átmérőjük 1-1,5 mm (HARKA és SALLAI 2004).

Karikakeszeg

A tavakon, holtágakon és a víztározókon kívül a lassú, növényzettel benőtt folyószakaszokon is nagyon gyakori.

Az ivarérettséget 3-4 éves korban éri el. Ikrái nagyok, akár 2 mm-es is lehet az átmérőjük. Az ívási időben, május-júniusban, nagy csapatokba verődve keresi fel a növényzettel benőtt szélvizeket és ide rakja le ikráit. A nászjáték néhány napos különbségekkel ismétlődik meg, többnyire háromszor egy ívási időszak alatt. Az ikrások 20-100 ezer darab ikrát raknak le (PINTÉR 1992).

Márna

A folyókban az ún. márna szinttáj képezi élőhelyeit. Kizárólag az ívási időszakban indul felfelé a folyón, hogy megfelelő ívóhelyet keressen. Ekkor a folyók felső szakaszaira vonul és a kavicsos mederszakaszokon ívik.

Ivarérettségét az ikrás 4-5 éves korában éri el, a tejes előfordul, hogy előbb is. Az ívási időszak vízterülettől függően változhat, hazánkban általában április végére-május elejére esik. 1,5-2 mm átmérőjű, élénksárga ikráit szakaszosan érleli be, így az ívási időszakban általában többször, rendszerint három részletben ívik. Az ikraszemek az aljzaton a kavicsok közé sodródnak, ahol 16-20°C vízhőmérséklet mellett 6-8 nap alatt kelnek ki a lárvák. A zsenge ivadék ebben a környezetben kezdi meg táplálkozását (PINTÉR 1992). A természetes szaporodás során a nagyméretű, szikanyagban gazdag ikra több részletben történő beérlelése és lerakása szelekciós előnyként jelentkezett a törzsfejlődés során (SZABÓ 2000c).

Jász

Elsősorban a síkvidéki folyókban él, de megtalálható nagyobb példányszámban víztározókban is.

Ivarérettségét 3-5 éves korban éri el. Tavasszal nagy csapatokba verődve keresik fel a folyók lassabb folyású, homokos aljzatú szakaszait, ahol általában áprilisban egy részletben rakják le ikráikat. Az ívási időszak megválasztását befolyásolják az időjárási körülmények. A lerakott ikramennyiség nagyban függ a testnagyságtól, általában 40-120 ezer darab körül lehet. (PINTÉR 1992).

Paduc

Kifejezetten folyóvízi hal, az áramló, oxigéndús vizet kedveli. Leggyakrabban a paduczónában élnek vagy a márna- illetve dévérzóna sodrottabb részein.

Aránylag hamar, 2-4 éves korban válik ivaréretté. Ívása április-májusban zajlik a folyók sodrottabb szakaszain. A lerakott, kb. 2 mm átmérőjű ikraszemek a meder kavicsaihoz ragadnak. Az ikraszám egy-egy nősténynél 10-40 ezer körül mozog (HARKA és SALLAI 2004).

2.2. Szaporodásbiológiai folyamatok áttekintése

2.2.1. A nőivarú halak szaporodásbiológiai folyamatainak áttekintése

2.2.1.1. A halak petefejlődése

Az ivarszervek kialakulása

Az ivarszervek kialakulásakor két fő sejttípust tudunk elkülöníteni. A szomatikus, azaz testi sejteket, melyek diploid kromoszóma készlettel rendelkeznek és a szerveket építik fel, valamint a germinális redő sejtjeit, melyek haploid ivarsejteket termelnek, a gamétákat. A germinális redő diploid sejtjeit primordiális ivarsejteknek vagy ősivarsejteknek nevezzük (PGC). Ezek a sejtek az embriogenezis során igen hamar elkülönülnek és a genitális redőhöz vándorolnak, amiből később kifejlődnek a herék vagy a petefészkek.

A petefészek differenciálódása során a petefészek-kezdemény külső felszínén egy vékony peritoneális eredetű hártya keletkezik, mely kívülről burkolja be az ivarszervet. Ezalatt fejlődik a kötőszöveti burok (*tunica albuginea*). A fejlődés folyamán a kialakuló petefészek üregébe lemezek un. lamellák nyúlnak be, melyek kötőszöveti rostokól, germinális epitél sejtekből valamint az ősivarsejtekből (primordiális csírasejtek) állnak. A lamellák belsejében áramlik a tápanyagokat szállító vér (HORVÁTH és URBÁNYI 2000).

A gerinceseknél a petesejtek kialakulása elkerülhetetlenül kapcsolódik a körülöttük lévő testi sejtek rétegeivel. Egy oocyta és testi sejtekből álló burkai alkotják az un. follikulust (WALLACE és SELMAN 1981, GURAYA 1986, SELMAN és WALLACE 1989, SELMAN et al. 1993).

A petesejtek kialakulása

Az ősivarsejtek képződése

Az ősivarsejtek olyan bipotens sejtek, amik fejlődhetnek tovább az oogenezisben valamint a spermatogenezisben is. Az ősivarsejtek nagyok, így méretükből adódóan jól el lehet őket különíteni a testi sejtektől. Oválisak és sejtmagjuk a citoplazmától jól láthatóan elkülönül. Az ősivarsejtek sejtmagjai kerekek és soha nem centrális helyzetűek. Általában egy sejtmagvacskájuk van és csak néhány pórusuk a sejtmaghártyán. Ezt a mitokondriális aggregátumot elsőként az I-es fejlődési stádiumú oocytánál írták le (CLEROT 1976, WALLACE és SELMAN 1981) és csak később az ősivarsejteknél (BRUSLÉ 1980).

Az ősivarsejtek a körülöttük lévő szomatikus sejtekkel dezmoszómális kapcsolatot létesítenek. Ezek a testi sejtek az ősivarsejtekhez szorosan kötődve jelennek meg a nőivarú egyedekben, alapjaként a később kialakuló follikulusnak.

Ahogy az ősivarsejtek és sejtmagjuk fokozatosan növekszik, a sejtek körvonalai elmosódottá válnak. A sejtmaghártya pórusainak száma nő és egyre több sejtalkotót tudunk megkülönböztetni a citoplazmában. A szemcsés felszínű endoplazmatikus retikulum (rER) ekkor már jól fejlett, alakja koncentrikus rétegeket mutat. Néhány Golgi apparátus jelenléte már megfigyelhető és a mitokondriumok fejlődése is fokozódik. Az ekkor oogóniumnak nevezett sejt szabálytalan alakú, még differenciálatlan sejt, ami nagy, centrálisan elhelyezkedő sejtmaggal rendelkezik, valamint egy elkülönülő, kerek sejtmagvacskával.

Osztódási szakasz

Egy bizonyos idő elteltével az oogónium elkezd mitotikusan osztódni és az így kialakult oogóniumok továbbra is kapcsolatban maradnak az őket körülvevő testi sejtekkel. Ezek lesznek a *pregranulosa* sejtek. Az oogóniumok hálózata egy a pregranulosa sejtek által termelt alaphártyával elkülönül a stromától. Az így elkülönült oogóniumok továbbra is jól láthatóak az ovariális stromában, vékony pre-granulosa sejtréteggel körülvéve.

Az oogóniumok a legtöbb csontoshalfaj ikrás egyedeiben egész életükön át megtalálhatóak. Az oogóniumok későbbi életszakaszokban is jelen vannak a petefészekben, a szaporodási periódusban mitotikusan osztódnak, majd belépnek a növekedési periódusba, ahol elsőrendű oocyták alakulnak ki belőlük, ezért a petefészek által termelt petesejtek száma elméletileg korlátlan. A petefészekben csoportokban helyezkednek el más, kisméretű, pre-follikulus sejtekkel együtt. Ezek a mitotikusan osztódó sejtek alapul szolgálnak az oocyta kialakulásához.

A hazai pontyállományoknál az oogonális fázis a kelés után néhány hétig (HORVÁTH 1980), míg a szivárványos pisztrángnál 2-3 hónapig tart (BROMAGE és CUMARANATUNGA 1988).

Növekedési szakasz

Az elsőrendű oocyta kialakulása, növekedése

Amikor egy fiatal petesejt elválik az oogoniális szövethalmaztól, egy egysoros lapos granulosa sejtréteg veszi körül, ami létrehozza a bazális hártyát a stroma mezo-epiteliális rétegéből. A bazális rétegen kívül vérerekhez kapcsolódva néhány szomatikus sejt egysoros réteget képez. Ez lesz a theca réteg. Az oocytával együtt ez a két réteg – a granulosa és a theca – alkotja az ovariális follikulust. A granulosa sejtek specializált testi sejtek, melyek körülölelik az elsődleges oocytát, kiválasztják a bazális membránt és a theca sejtek rétegével együtt szervesen részt vesznek az ivari szteroidok előállításában az oocyta fejlődése és érése alatt (NAGAHAMA et al. 1995, NAGAHAMA 1997).

Az oocyta fejlődése ezek után 4 jól elkülöníthető szakaszra bontható, melyek az éppen legjellemzőbb fejlődési állapotot tükrözik az oocyta és az őt körülvevő sejtek rétegének fejlődése közben.

I-es szakasz (protoplazmás növekedés)

A fiatal elsőrendű oocyta kinézetre olyan, mint az oogónium, kivéve sejtmagjának struktúráját. Általában egy nagy sejtmagvacskát tartalmaz. A setjmaghártya szinte sima felszínén a pórusok elszórtan helyezkednek el. A homológ kromoszómák egész hosszuk mentén összetapadnak, szinapszist alkotnak. Ezt a szendvicsszerű fehérje-DNS szerkezetet szinaptonémás komplexnek nevezzük. Ez a szerkezet zipzárszerűen összekapcsolja a homológok egymásnak megfelelő szakaszait, és ebben a szerkezetben játszódik le a meiózis egyik legfontosabb eseménye a crossing over. Számtalan mitokondriális szemcse található elszórtan a perinukleáris ooplazmában. Amikor az I-es stádiumú oocyták az oogonális fészekben fejlődnek, az első meiotikus osztódás kezdete általában szinkronizált, minden sejtmagban azonos fázis zajlik.

A szomatikus granulosa sejtek szabályos epitéliumot hoznak létre, befejezik a bazális hártya képzését a bazális membránból. A bazális hártyán kívül, a hámsejtek még nem differenciálódott sejtjei létrehozzák a theca réteget, amit számos kapilláris sző át.

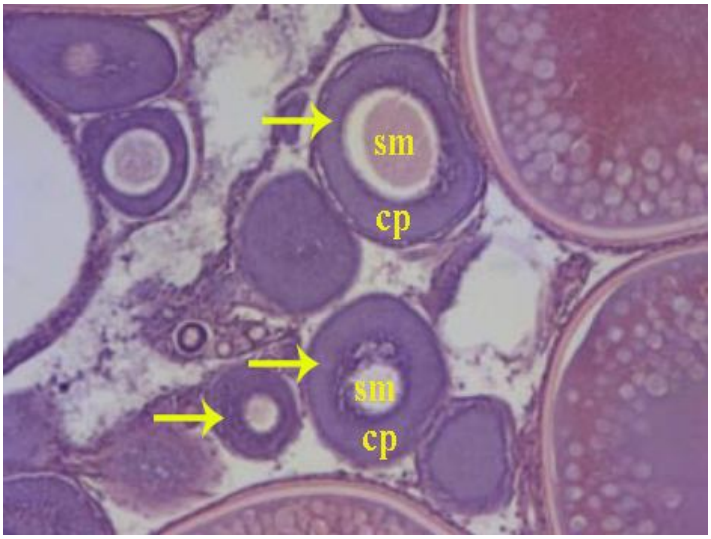
Az elsődleges növekedés szakaszának végére kialakul a többrétegű follikulus. A follikulus nem más, mint az oocyta és az őt körülvevő follikuláris tok. A follikuláris tok a belső egyrétegű granulosa sejtrétegből és a külső, kétrétegű theca-rétegből áll. A theca réteget felhámsejtek rétege és kötőszövet veszi körül, hogy a makromolekulák be-és kivándorlását megakadályozza.

II-es szakasz

Ez a pre-vitellogenetikus stádium, ugyanis ez még a szik előanyagainak oocytába jutása előtt történik (LE MENN és BURZAWA-GERARD 1985). Ebben a szakaszban játszódik le az első meiotikus osztódás profázisának *diplotén* fázisa, amelyben az elsőrendű oocyták osztódási folyamatai leállnak. Két folyamat történik ekkor. Az első a szinaptonémás komplexek szétesése. A második folyamat a sejtmagvacskák növekedése. A sejtmag ekkor számos kisebb sejtmagvacskát tartalmaz, melyek a sejtmaghártya közelében helyezkednek el. Ugyanekkor mind a riboszómális-RNS, mind a mRNS az ooplazmába kerül. Ekkor akkumulálódik az ooplazmában egy nagyobb mennyiségű vitellogenin receptor mRNS-e (DAVAIL et al. 1998, PERAZZOLO et al. 1999, AGULLEIRO et al. 2007).

Az oocyta mérete a sejtmagban zajló folyamatok alatt folyamatosan növekszik (1. kép). A csontoshalaknál az oocytákban jelentős méretbeni növekedés következik be. Átlagosan a 10-20 μm nagyságú átmérő 100-200 μm-re növekszik. A citoplazma összetevőinek felépítése és a nagy

mennyiségű citoplazmikus RNS és fehérje felhalmozódása felelős a többszörös oocyta térfogat növekedésért és a jelentős sejtmag-citoplazma arány csökkenésért (SELMAN és WALLACE 1989). Ennek ellenére ez a méretváltozás könnyen elkerülheti a figyelmünket, ugyanis az elsőrendű oocyták növekedésekor a GSI értéke kisebb, mint 0,1%.



1. kép: Petefészekből készített szövettani metszeten látható protoplazmás fejlődési stádiumban lévő, különböző méretű sejtek (→, **cp**: citoplazma, **sm**: sejtmag, H&E, 100X)

Az eddig szétszórva elhelyezkedő sima felszínű ER és a mitokondriumok elkezdenek az ooplazma perifériájáról beljebb húzódni oda, ahol a Golgi apparátus található. Ez alkotja a számos valódi csontoshalfajnál majdnem szabályos kör alakú sejtorganellumot, mely félúton a sejtmag és a sejthártya között figyelhető meg. Ez a sejtorganellum az erősen festődő Balbiani test. A Balbiani test élő oocytában is jól látható megfelelő festést követően (BEGOVAC és WALLACE 1988).

Ezt követően a sejthártya elválik az granulosa sejtek felszínétől. Az így keletkezett területet külső oocyta mátrixnak nevezzük, melybe az oocyta felszínéről mikrovillik nyomulnak be a granulosa sejtek felé. A granulosa réteg hozzátapad az sejthártyához minden mikrovilli csoport körül. Ezek lesznek a rés-kapcsolatok a sejthártya és a follikuláris sejtek között.

A granulosa sejtek száma megnő és kialakítják az epiteliális burkot. A tokfélék esetében a bazális lamina kivételesen nagyon vastag, akár ötször vastagabb a granulosa rétegnél. Fajtól függően a theca réteg vagy csak néhány sejtet tartalmaz a vérerek közvetlen közelében, vagy számos sejtet, melyek folytonos kettős- vagy hármas-réteget alkotnak, vererekkel sűrűn átszőve. A kapcsolatot egymás között dezmoszómákkal tartják fenn. A pre-vitellogenetikus II-es szakasz végén az oocyta minden szükséges sejtorganellumot és molekulát tartalmaz, amik nélkülözhetetlenek a vitellogenezis alatti endocitotikus és exocitotikus folyamatokhoz. A mikrovillik kialakulása tovább folytatódik.

IIIa alszakasz

Ebben az alszakaszban jelenik meg először a vitellogenin az oocyta plazmájában, amit számos fajnál csak elektronmikroszkóppal lehet észlelni. Ezt korábban I-es típusú vitellogenezisnek nevezték (BRETON et al. 1983). Valódi csontoshalaknál a kortikális alveolusok is ebben az alszakaszban kezdenek kialakulni.

A halaknál az ivari ciklust és a follikulus fejlődését a környezeti tényezők szabályozzák, mint pl.: fotoperiódus és hőmérséklet. Ezek a tényezők a központi idegrendszerre hatnak, ami speciális neuronokon keresztül indukálja a GnRH szekrécióját. A GnRH a hipofízis sejtjeit indukálja GtH-I (FSH) szekrécióra. GtH hatására ivari szteroidok termelődnek, mint pl.: 17β-ösztradiol (E_2). A vitellogenin szintézisét a vérben keringő, petefészekből származó E_2 váltja ki (NG és IDLER 1983). Az ösztrogén a theca sejtekből a véráramba jut, hatására a hepatocyták speciális receptorai közvetítésével megindul a vitellogenin véráramba szekretálódása, ez a szik előanyaga. A vitellogenin a sejtben szikfehérjévé alakul. Ismereteink szerint a máj által előállított vitellogenin a legfontosabb alkotóeleme a szikfehérjéknek (TYLER et al. 1991).

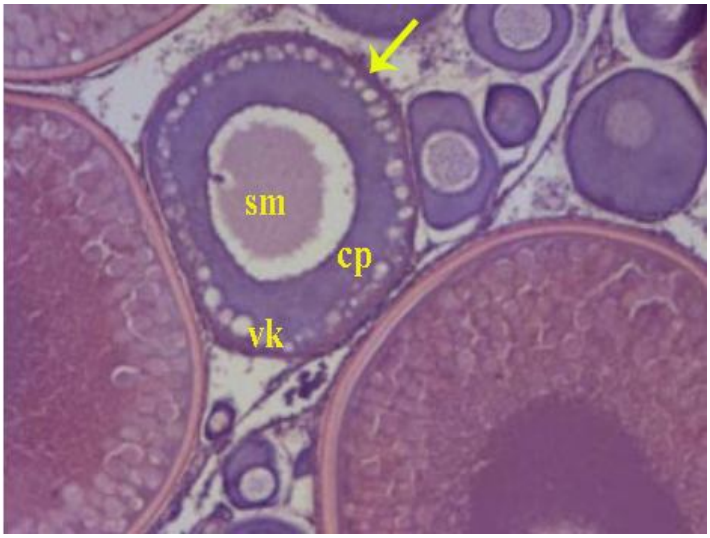
A különböző valódi csontos halfajok vitellogeninjének mindegyikében megtalálható a nagy molekulájú (300-600 kDa) glikofoszfoprotein (SPECKER és SULLIVAN 1994).

A vitellogenin elérve az oocyta felszínét, elsőként a theca sejtek között jut át a bazális hártyán keresztül, majd a granulosa sejtek között és végül át az oocyta mikrovilli nyúlványain (SELMAN és WALLACE 1982, ABRAHAM et al. 1984). A vitellogenin endocitózissal jut be a sejtbe speciális receptorokon keresztül (STIFANI et al. 1990, CHAN et al. 1991, DAVAIL et al. 1998, HIRUMATSU et al. 2004). A vitellogenin receptorok az oocyta membránon már a vitellogenin beépülése előtt jelentős mennyiségben megtalálhatók. A valódi csontoshalakban a vitellogenin receptorok specifikus kötőhelyekkel, és magas affinitással rendelkeznek. Molekulatömegük kb. 100 kDa. A vitellogenezis során a receptorok száma a follikulusok felszinén folyamatosan nő, majd hirtelen, közvetlenül az ovuláció előtt lecsökken (LANCASTER és TYLER 1994). Ezzel párhuzamosan a kötési affinitás is változik.

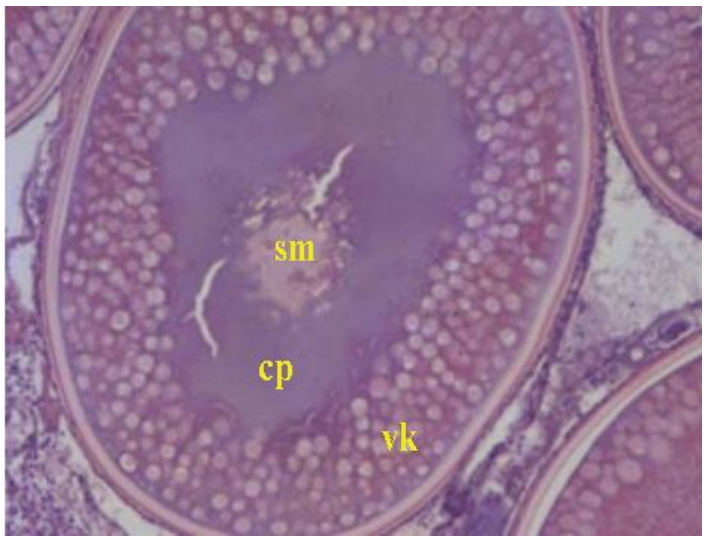
A sejthártyában számos klatrin fehérjével határolt üreg un. receptorcsapda (PEARSE 1976) alakul ki, amelyek azután speciális endocitotikus vezikulumok formájában a citoplazmába szakadnak. Ezek a vitellogenin tartalmú vezikulumok a Golgi apparátusból származó (BUSSON-MABILLOT 1984, WALLACE és SELMAN 1990) lizoszómákkal egyesülnek, és így hozzák létre a multivezikuláris testeket. A multivezikuláris testekben lizoszomális enzimek találhatóak, mint pl. a cathepsin D, aminek feladata valószínűleg a vitellogenin kisebb szikfehérjékké bontása (SIRE et al. 1994, CARNAVELLI et al. 1999).

A kortikális alveolusok kialakulása, a vakuolizálódás folyamata

A kortikális alveolusokat legelsőként a Golgi apparátus mellett figyelték meg, ugyanis kialakulásukban a Golgi apparátusnak és a ER-nak kitüntetett szerepe van. A Golgi apparátus és a kortikális alveolusok között közvetlen kapcsolatot mutattak ki (ULRICH 1969, SELMAN és WALLACE 1989, LE MENN és PELISSERO 1991). Valódi csontohalaknál ez a IIIa alszakaszban következik be, míg a porcos halaknál csak a IIIb alszakaszban. A kortikális alveolusok az első olyan citoplazmatikus szerkezetek, melyek fénymikroszkóppal már megfigyelhetőek (2. és 3. kép). A vakuolumokat az embrió nem használja fel, így nem is lehetnek részei a szikanyagnak sem. Méretük az animális pólustól a vegetatív pólus felé haladva fokozatosan növekszik. A szakasz végére majdnem teljesen kitöltik a citoplazmát. Az alveolusok általában enzimfehérjéket, poliszaharid jellegű hidrofil kolloidokat és szénhidrátot tartalmaznak.



2. kép: Petefészekből készített szövettani metszeten látható „gyűrűs” vakuolizálódás stádiumában lévő sejt (→, **cp**: citoplazma, **sm**: sejtmag, **vk**: vakuolumok, H&E, 100X)



3. kép: Petefészekből készített szövettani metszeten látható „teljes” vakuolizálódás stádiumában lévő sejt (**cp**: citoplazma, **sm**: sejtmag, **vk**: vakuolumok, H&E, 100X)

Amint a vitellogenezis elkezdődik, a kortikális alveolusok az oocyta perifériájára húzódnak és a vitellogenezis befejeztével az ooplazma szélére szorulnak, így hozzák létre a kortikális réteget. Aktivációkor fúzionálnak a sejtháttyával és a kortikális reakció alatt glikoprotein tartalmuk exocitózissal az oocyta felszínére kerül (KOBAYASHI 1985, SELMAN et al. 1988, SELMAN és WALLACE 1989). Ez a felszabadulás egy szerkezeti változást eredményez, a zona radiata megkeményedik és kialakul belőle az ellenálló ikrahéj (SHIBATA et al. 2000, SZABÓ 2000b). Ez a megkeményedett struktúra védi a korai embriót.

Az ovulációt megelőzően a szivárványos pisztrángnál a 200 kDa nagyságú glikoproteinek depolimerizálódnak, és ezáltal 9 kDa nagyságú fragmentek keletkeznek (KITAJIMA et al. 1994). A szivárványos pisztrángban ezt a fejlődési állapotot képviselő oocyták a kelés után egy évvel jelennek meg és ezt követően mindig jelen lesznek a petefészekben. A hazai pontyállományokban a második szezonban jelennek meg a petesejtekben a vakuolizáció első jelei (HORVÁTH 1980).

A lipidek beépülése és a vitellogenezis folyamata

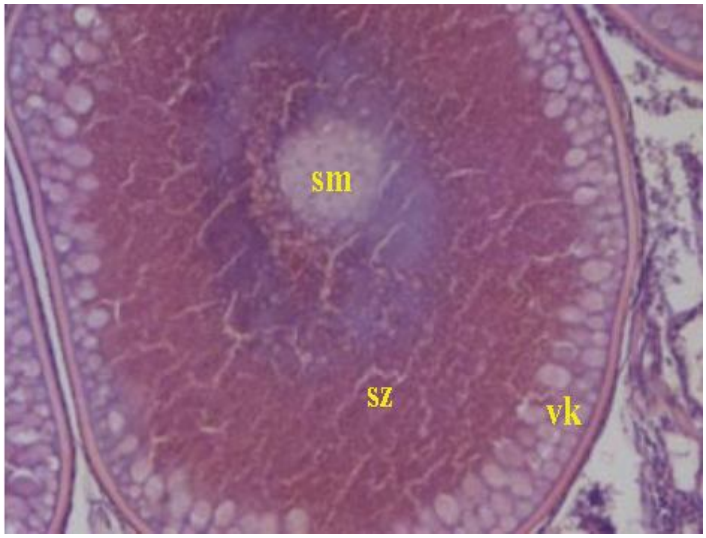
Szivárványos pisztrángban nagy mennyiségű kortikális alveolus halmozódik fel a sejthártya alatt. A kortikális alveolusok szintézise megkezdődik a szikberakódás kezdetén, mikor a vitellogenin beépülése még kezdeti stádiumban van és csak elektronmikroszkóp segítségével láthatóak (PERAZZOLO et al. 1999). Ugyanekkor a lipid szemcsék, a leendő szik másik fő komponensei, megjelennek az ooplazmában összekeveredve a kortikális alveolusokkal. A IIIa alszakaszban szik és lipid szemcsék találhatóak az ooplazmában. Számos valódi csontoshalnál a kortikális alveolusok, a lipid és szikszemcsék szövettani metszeteken koncentrikus körökbe

rendezetten látszódnak. SELMAN és WALLACE (1989) rámutattak arra, hogy szövettanilag a lipidszerű anyagokat nehéz megkülönböztetni a kortikális alveolusoktól, a jellegzetesen narancsszínű karotinoid pigment összekapcsolódik a vitellogenin lipid komponensével.

Jelentős eltérések figyelhetők meg különböző valódi csontoshalaknál az oocytákban található lipidek mennyiségét illetően. Néhányuknál teljesen lipidmentes cseppek jelennek meg, míg másoknál a lipidek (pl. gurámi fajok) az oocyta tömegének több, mint egyharmadát teszik ki. Néhány fajban azonban, mint pl. a zebradánióban, nem található lipid csepp az ooplazmában (MALONE és HISAOKA 1963).

A szikkel teli oocytákban (4. kép) a szikfehérjéknek két nagy csoportját különböztetjük meg, a lipovitellineknek nevezett lipoproteineket, valamint a foszfoproteineket, melyek foszfátot és foszvitint tartalmaznak. A legtöbb szikfehérje általában a vitellogeninből származik, ami néhány halfajnál az oocyta növekedése során fellépő protolitikus folyamatokban kisebb peptidekre esik szét és a vitellogenin származékaival kapcsoltan helyezkednek el a szikszemcsékben (SELMAN et al. 1993). Az embrionális fejlődés korai szakaszában ezek a fehérjék energiaforrásként és építőanyagként szerepelnek.

A vitellogenezis végén a szikszemcsék az oocyta belső terét szinte teljesen kitöltik, miközben a kortikális vezikulumok a zona radiata alá szorulnak, és létrehozzák a kortikális réteget.



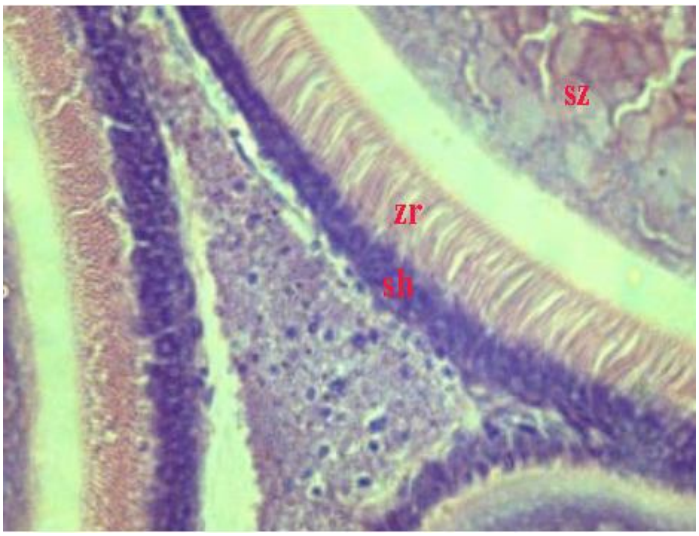
4. kép: Petefészekből készített szövettani metszeten látható vitellogenezis stádiumában lévő sejt (**sm**: sejtmag, **sz**: szik, **vk**: vakuolumok, H&E, 100X)

A zona radiata externa kialakulása

Ebben a szakaszban a leglátványosabb változás a zona radiata (vagy más néven vitellin membrán, vitellin burok) (5. kép) külső rétegének kialakulása, mely exocitózissal jön létre az ooplazma és a sejthártya perifériáján. Az ooplazma szélén elhelyezkedő számos Golgi apparátus

sima felszínű vezikulumokat szekretál, amik exocitózissal az külső oocyta mátrixba ürítik tartalmukat a mikrovilli nyúlványai között, és ezáltal létrehozzák a zona radiata külső (externa) rétegét. A zona radiata fehérjéi a májban szintetizálódnak ösztrogén hatására, egyidőben a vitellogenin szintézisével (CELIUS és WALTHER 1998, LE MENN et al. 1999). A vitellogeninhez hasonlóan endocitózissal jutnak be az oocytába, majd a Golgi appartátusban átalakulnak az oocyta glikoproteinjeivel mielőtt exocitózissal a külső-oocyta mátrixba választódnak ki (TESORIERO 1978).

A zona radiata külső rétege PAS (Periodic Acid Schiff) pozitívan festődik a benne lévő glikoproteinek miatt, így hisztológiai technikát alkalmazva egy vékony, jól festődő réteg látható az oocyta felszínén. Mindezek a változások a GtH-I hatására végbemenő androgén (tesztoszteron) szintézis miatt mennek végbe. Az androgének a granulosa sejtekben ösztrogénekké alakulnak, majd az E_2 átjutva a bazális laminán és a theca sejtek rétegén, a theca sejteket átszövő vérerekbe kerül (NAKAMURA et al. 1993).



5. kép: Petefészekből készített szövettani metszeten látható zona radiata (**sz**: szik, **zr**: zona radiata, **sh**: sejthártya, H&E, 200X)

<u>IIIb. alszakasz</u>

A zona radiata interna kialakulása

A Golgi apparátusból számos vezikulum fűződik le és a sejthártya alá érve tartalmukat exocitózissal a külső oocyta mátrixba ürítve, elkezdik felépíteni a zona radiata belső (interna) rétegét. A vezikulum szállítása az ooplazmában a citoszkeleton váz aktin filamentumain keresztül valósul meg, mely hálózatot alkot a sejt plazmájában. Ennek a belső váznak köszönhető, hogy az óriási mennyiségben érkező vitellogenin nem torzítja el a sejtet. Ennek a szakasznak a végére a képződő kortikális alveolusok már a sejthártya közvetlen közelében találhatóak meg.

A zona radiata belső rétege közben fokozatosan szorítja kifelé a zona radiata külső rétegét a a granulosa sejtek rétege felé. A zona radiata-ban négy eltérő fehérjét tudunk megkülönböztetni. Mindegyik fehérjének a polimerizálódását a dopamin szabályozza (SUTTON et al. 2002).

A radiális csatornákban egy vagy kettő mikrovilli nyúlvány található. Az oocyta mikrovilli nyúlványai a granulosa sejtek apikális részével, valamint azok mikrovilli nyúlványaival érintkezve membrán kapcsolatot hoznak létre.

A mikropyle csatorna ebben a szakaszban alakul ki teljesen. Sejtje vagy sejtjei a granulosa epitéliumából származnak. Áttörnek a zona radiata-án a sejthártyáig, ezáltal indukálják a zona radiata átrendeződését, hogy így kialakuljon a tölcsérszerű képződmény. A zona radiata külső rétegében található glikoproteinek vonzó hatással vannak a spermiumokra, hogy megtermékenyítéskor könnyebben megtalálják a mikropyle csatornát (AMANZE és LYENGAR 1990, IWAMATSU et al. 1997).

A vitellogenin beépülésével megkezdődik a sejt gyors méretbeli növekedése. A szikfehérjék a petesejt száraztömegének 80-90%-át teszik ki, ezért a vitellogenezis az oocyta növekedés egyik legfontosabb folyamata. A legtöbb valódi csontoshalnál a vitellogenezis a legfontosabb fejlődési fázis, amely az oocyták növekedésére döntő befolyással van. A végső ikraméret kialakításában több, mint 95%-ban vesz részt. A lebegő ikrát termelő fajok esetében a vitellogenezis kisebb mértékben vesz részt a végső ikraméret kialakításában, mint a szubsztrátra ívóknál (LEFLER és KOMÁROMI 2002). A szik és a lipid szemcsék összekeveredve találhatóak meg az ooplazmában, csak egy vékony kis réteget hagyva szabadon közvetlenül a sejthártya alatt. Ebbe a vékony rétegbe ürülnek az érkező vitellogenin további vezikulumai. A vitellogenin beépülésének útját szövettani vizsgálatokkal követhetjük nyomon (ABRAHAM et al. 1982, SELMAN és WALLACE 1989).

A vérplazma vitellogenin koncentrációja a vitellogenezis kezdetén hirtelen megnő és a növekedési fázis végéig azonos szinten marad. A vér magas vitellogenin koncentrációja a vitellogenezis alatt az oocyta növekedését eredményezi. A valódi csontoshalakban a vér vitellogenin koncentrációja és beépülésének mértéke az oocyta fejlődési típusára is utal. Az érett ikrások vérében az egyszer ívó fajoknál a maximális vitellogenin koncentráció sokkal magasabb (akár 50 mg/ml), mint az ívási időszakban többször ívó fajok esetében. Sok halfaj esetében, habár az ovuláció után hirtelen lecsökken a vitellogenin koncentráció, marad a vérben bizonyos mennyiségű vitellogenin, ami az idő előrehaladtával fokozatosan lebomlik (BABIN 1987). Azoknál a halfajoknál, melyek életük során csak egyszer ívnak és az ívás után elpusztulnak (pl. csendes-óceáni lazacfélék, angolnafélék), a vérben lévő összes vitellogenin beépül a petefészekbe az ovuláció előtt.

Az északi féltekén a szivárványos pisztráng esetében, azokban az ikrásokban, amelyek kétéves korban ívnak először, a vitellogenezis kb. 18 hónapos korban kezdődik (2. év, július hó). Az

ívás a vitellogenezis kezdete után 4-5 hónappal következik be (november-január). Azokban az ikrásokban, melyek hároméves korban ívnak először, a vitellogenezis kb. 27 hónapos korban kezdődik (3. év, március-április hónapok). Az ívás a vitellogenezis kezdete után kb. 8 hónappal következik be (november-január) (BROMAGE és CUMARANTUNGA 1988). A hazai ponty állományokban az intenzív szikképződés a harmadik nyáron válik dominánssá (HORVÁTH 1980).

A vitellogenezis időtartama a petefészek fejlődési típusától függ. A szivárványos pisztrángnál és sok más lazacfélénél az oocyták a vitellogenezis fázisában 9, vagy több hónapot tölthetnek. Ezzel ellentétben, az egy ívási időszakban többször ívó halfajoknál ez az időszak 5-7 hétre rövidül. A különböző ökle fajoknál (aszinkron petefejlődés) az oocyták igen rövid idő alatt (5 nap) képesek a vitellogenezis fázisán keresztüljutni.

IV. szakasz

Érési szakasz

Végső oocyta érés

A protoplazmás növekedés alatt az elsőrendű oocyták osztódási folyamatai a meiotikus osztódás 1. főszakaszának profázisában leállnak és az ívás kedvező környezeti feltételeinek kialakulásáig kényszernyugalmi állapotban vannak. A termékenyülőképesség kialakulásának feltétele a meiotikus osztódás befejeződése. Az ívási környezet kialakulása hormonális változásokat indukál az ikrás halakban. Az érési folyamatokat a gondotrop hormonok szabályozzák. Hatásukra a follikulus testi sejtjeiben megindul az érést stimuláló szteroidok szintézise. Az érést indukáló szteroid (maturation inducing steroid, MIS) a sejthártya receptoraihoz kapcsolódva beindítja az érést kiváltó faktor (maturation promoting factor, MPF) termelődését (YAMASHITA 1998, SENTHILKUMARAN et al. 2004). Így az elsőrendű oocyta sejtmagjában újraindul a meiotikus osztódás.

A végső oocyta érés kezdetekor az elsőrendű oocyta sejtmagja elmozdul a sejt középpontjából. A sejtmag vándorlása az animális pólus irányába, az oocyta sejthártyája felé, a mikropyle irányába történik. A kihúzódást követően a sejtmag közvetlenül a mikropyle nyílása alatt állapodik meg. A szikszemcsék fúzionálnak a lipidcsepekkel, létrehozva egy folyékony szikanyagot az oocyta vegetatív pólusán. A szikszemcsék összeolvadása következtében az oocyta áttetszővé válik. Az összeolvadás mértéke összefüggésbe hozható azzal, hogy az adott faj a törzsfejlődés mely szintjén helyezkedik el. A magasabbrendű valódi csontoshalakban a folyamat egyetlen, a sejt közepén elhelyezkedő, fénylő olajcsepp kialakulásához vezet. Ide tartoznak például a sügérfélékhez (*Percidae*) tartozó halfajok. A pisztrángféléknél, csukaféléknél az összeolvadás mértéke csekély, az ikra az ovulációt követően számos apró lipidcseppet tartalmaz (SZABÓ 2000a).

Az ezt követő hidratáció nélkülözhetetlen az embrió normális fejlődéséhez. A vízfelvételhez szükséges ozmotikus grádiens kialakításában szerepet játszik a megnövekedett sejten belüli K^+-ion-koncentráció, a fehérje-defoszforiláció és a sejten belüli fehérje természetű szikanyag proteolízise. A tárolt szikfehérjék egy része lebomlik, szabad aminosavakat és kisebb fehérjéket hozva létre, amik ozmotikus effektorként működnek a vízbeáramlás közben. GREELEY és munkatársai (1986) bebizonyították, hogy az oocyta végső érése hidratációtól függetlenül is végbe megy, ezzel szemben a proteolízisre feltétlenül szükség van.

Az oocyta mikrovilli nyúlványai visszahúzódnak a zona radiata csatornáiból. Az oocyták a végső oocyta érés során hidratálódnak, méretük A nagymértékű, 3-4-szeres térfogat-növekedés a tengeri halfajokra jellemző és előfeltétele az ikrák lebegőképessége kialakulásának (SZABÓ 2000a).

Az oocytákban a meiotikus osztódási folyamat továbbfolytatódik. A telofázisban két utódsejt keletkezik, egy nagy másodrendű oocyta, valamint egy kisebb méretű poláros test, ami felszívódik. A másodrendű oocytában végbemennek a második meiotikus osztódás fázisai egészen a metafázisig. Ovuláció alatt a másodlagos oocyta eltávolodik az őt körülvevő testi sejtek rétegétől. Íváskor érett másodlagos oocyta hagyja el a petefészket, a meiotikus osztódás megtermékenyítéskor fejeződik be.

Ovuláció

Az ovuláció a másodrendű oocyta kilökődése a follikuláris tokból. A jelenséget lényeges folyamatok előzik meg. A végső érést követően az oocyta és a follikuláris tok mikrovilli nyúlványokon keresztüli kapcsolata megszűnik. Enzimatikus tevékenység hatására a follikuláris tok egy bizonyos ponton elvékonyodik. A másodrendű oocyta kilökődését a tok falába (theca sejtekben) lévő mikrofilamentumok összehúzódása segíti elő. A mikrofilamentumok száma az ovulációt megelőzően növekszik meg. Az összehúzódása hasonló a simaizmokban végbemenő folyamatokhoz.

2.2.1.2. A petefejlődés típusai

A petefejlődés típusai alapján a valódi csontoshalakat három fő csoportba sorolhatjuk (SZABÓ 2000a).

- Az anadróm pisztrángfélék (csendes-óceáni lazacfajok) és a katadróm angolnák az ívás után elpusztulnak. Az ívási ciklus során az ováriumot felépítő petesejtek azonos fejlődési stádiumban vannak, tehát az oocyták fejlődése egyidejű. A 17β-ösztradiol koncentráció az oogenezis alatt folyamatosan emelkedik. Maximális értékét az ovuláció előtt éri el. Az oocyták végső érése és az ovuláció során a hormon koncentrációja lecsökken.

- A másik csoportba tartozó fajok petefészkében két vagy több olyan oocyta sejtcsoport van jelen egyidejűleg, amelyek eltérő fejlődési stádiumban vannak. Az ikrások fajtól és környezeti körülményektől függően egy vagy több alkalommal ovulálnak és ívnak a szaporodási időszakban.

Ebbe a csoportba tartozik a vadponty és az aranyhal is. A csoportot képviselő fajok egy részébe a 17β-ösztradiol-koncentráció ívás előtt lecsökken, más fajokban azonban nem változik.

- A harmadik csoportba tartozó fajok petefejlődése aszinkronizált. Az ováriumot felépítő oocyták különböző fejlődési stádiumban vannak. Az azonos vagy hasonló stádiumban lévő oocyták nem képeznek jól megkülönböztethető csoportokat a petefészken belül. A viszonylag hosszú szaporodási időszak alatt az ikrások meghatározott időközönként ovulálnak és ívnak. Ennek megfelelően 17 β-ösztradiol-koncentráció ingadozik az ívási időszakban. Ezt a csoportot képviselik többek között az ökle fajok.

2.2.1.3. Ikraméret

A halak ikráinak nagy a szikanyag tartalma, különösen azoknak, amelyek szubsztrátra ívnak. A patakokban élő kb. 100g testtömegű sebes pisztráng (*Salmo trutta m. fario*) ikrájának átmérője 2,5 mm, míg a 10 kg körüli *Oncorhynchus tshawytscha* ikrájának átmérője meghaladja az 1 cm-t. A legnagyobb ismert ikra méretet a valódi csontoshalak közé tartozó Latiméria fajnál találták, melynek átmérője 8 cm (GUDGER 1918). Azok a halfajok, melyek nem szubsztrátra ívnak, hanem ikráik lebegnek a vízben (pelágikus ikratípus), rendszerint kisebb méretű ikrával rendelkeznek. Ezt jól mutatja a tengeri süllő (*Dicentrarchus labrax*) és a tőkehal (*Gadus morhua*) példája, hisz ezeknek a fajoknak a testtömege 10 akár 20 kg is lehet, de ikráiknak átmérője sokszor alig éri el az 1 mm-t.

Az ivaréréshez szükséges idő szintén befolyásolhatja az ikrák méretét (SARGENT et al. 1987). A nagyobb testtömegű halak általában nagyobb méretű ikrákat termelnek. A többször ívó halfajoknál megfigyelték, hogy az ívási időszak végén lerakott ikrák mérete egyre kisebb a korábbiakhoz képest, ennek oka a csökkenő szikanyag utánpótlás az ikrások szervezetében (HSIAO et al. 1994).

Azok a halak, melyek nagyobb méretű ikrákat raknak le, általában kevésbé termékenyek, mint a kisebb méretű ikrákat termelők. Például a pisztrángfélék testtömeg kilogrammonként 1000-3000 db, viszonylag nagyméretű ikrát termelnek. Testméretükhöz képest ugyancsak nagy ikrát termelnek, hasonlóan kis mennyiségben a tüskés pikók.

Azok a valódi csontoshalak, melyeknek a legnagyobb az abszolút termékenysége (pl. tőkehal, óriás laposhal), több millió ikrát termelnek egy-egy ívási időszakban. Sok valódi csontos halfaj *iteropara*, azaz több éven keresztül képes ívásra. Szezononkénti ikraprodukciótól és a szaporodási

képesség hosszától függ, hogy egy hal mennyi ikrát termel élete során. Nem minden iteropara halfaj ívik minden évben szabályos időközönként, ugyanis néhány faj szabálytalanul, akár több év kihagyása után is ovulálhat (SZABÓ 2000a).

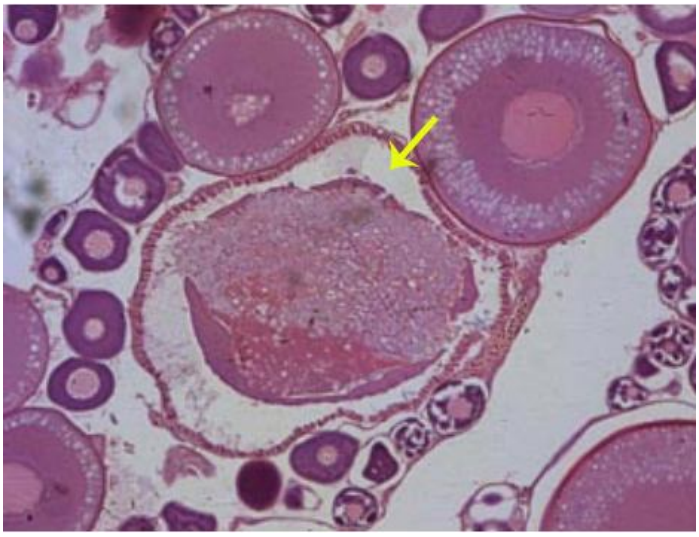
2.2.1.4. A genetikai háttér és a táplálkozás hatása a szaporodásbiológiai folyamatokra

Emlősöknél már azonosították a termékenységért felelős ún. termékenységi gént (FecB), de a hatásmechanizmusát még nem ismerik (DAVIS 2005). Számos kutatási eredmény azt igazolja, hogy a termékenység, mint tulajdonság, genetikailag meghatározott, továbbá függ a testnövekedés ütemétől és a táplálkozási szokásoktól is. A tápláltság a termékenységen kívül befolyásolhatja az ivarsejtek fejlődésének ütemét, valamint az érett sejtek mennyiségét, nagyságát és minőségét is. A táplálékban lévő fehérjék és az esszenciális amino- és zsírsavak mennyiségbeni és minőségbeni megléte nagyban kihat az utódok túlélési esélyeire is (IZQUIERDO et al. 2001), valamint mint nélkülözhetetlen alkotóelemei a szikanyagnak, hiányuk károsan befolyásolhatja a vitellogenezis folyamatát.

Például a lepényhalnál azt tapasztalták, hogy a gametogenezis korai szakaszában, amennyiben a bevitt energia mennyisége kevesebb az optimálisnál, a szervezet leállítja a petefészek fejlődését (BURTON 1994). Szivárványos pisztráng esetében a termékenység jelentősen lecsökken, ha a gametogenezis korai szakaszában feleannyit táplálkoznak az egyedek, mint általában. Ha azonban normálisan táplálkoznak, a termékenység nem változik. Ebben a korai fejlődési időszakban, ami a kortikális alveolusok kialakulásáig tart, fejti ki hatását szinte az összes termékenységet befolyásoló tényező (LEFLER és KOMÁROMI 2002).

2.2.1.5. Atrézia

Az atrézia az ovariális follikulusok ovulációt megelőző degenerációja (6. kép). Minden gerinces petefészkében zajló folyamat. A halaknál a már érett petesejtek a hormonálisan egyensúlyban lévő szervezetben kényszernyugalmi állapotba kerülnek, ha a környezeti adottságok nem megfelelőek a szaporodásra. Ha ez az állapot túlságosan sokáig tart, az ovulációra kész petesejtek atretizálódni (degenerálódni) kezdenek és a tápanyaguk nagy része átkerül a gyors fejlődésnek indult következő sejtnemzedékbe. Ezáltal gazdaságosan hasznosítva a már egyszer megtermelt tartalék tápanyagokat. Ez a sejtállomány a következő szaporodási időszak pontenciális utódnemzedéke lehet. Mérsékelt égövön a tömeges atrézia oka lehet a növekvő nyári hőmérséklet és ezzel összefüggésben az oldott oxigén koncentrációjának csökkenése (HORVÁTH és URBÁNYI 2000).



6. kép: Petefészekből készített szövettani metszeten látható atretikus sejt (→, H&E, 40X)

Az atrézia gyorsan lejátszódó folyamat és viszonylag rövid idő telik el az oocyta degenerációjának első jeleitől a teljes szikanyag felszívódásáig (α-atretikus állapot) (HUNTER és MACEWICZ 1985). A késői atretikus állapotok megkülönböztetése az üres follikulustól nehézzé válik, ezért a legtöbb tanulmány is csak az α-atretikus állapot vizsgálatára korlátozódik (WITTHAMES és GREER WALKER 1991). Emlősöknél és madaraknál több kutatást végeztek, melyben megállapították, hogy az atrézia nem más, mint apoptózis, azaz programozott sejthalál. A sejtek degenerációjáért számos hormon és növekedési faktor felelős. Halak esetében minden fejlődési állapotú sejtben bekövetkezhet a degeneráció (SAIDAPUR 1978).

Valódi csontoshalak esetében az atrézia eltérő fejlődési stádiumú petesejtekben következhet be. Szivárványos pisztrángban nagyobb százalékban kezdenek szétesni a sejtek DNS fragmentjei az ovulációt közvetlenül megelőző időszakban, mint a kezdetlegesebb fejlődési stádiumban lévő vitellogenezis elején álló sejtekben. Az apoptózis szabályozását, az emlősökhöz hasonlóan, valódi csontoshalakban is hormonok és faktorok irányítják (JANZ és VAN DER KRAAK 1997). Összehasonlítva az aszinkron (többszörívó) és a szinkron (egyszerívó) petefejlődést képviselő fajokat, megállapították, hogy a többször ívó fajok ellenállóbbbak az esetleges atretikus folyamatokkal szemben, mint az egyszerívó halfajok. Az oocyták egyes csoportjai, fajtól függően, degenerálódhatnak a végső érettségtől kezdve az ívási időszak végéig.

HUNTER és MACEWICZ (1985) kísérlettel becsülték meg az atrézia időtartamát. Szardíniákat éheztettek, hogy atréziát idézzenek elő, ezután egy intenzív etetési időszak következett, ami az atrézia megszünését jelentette. Az eltelt idő alapján becsülni lehet az atretizálódás különböző szakaszainak hosszát.

A megnyúlt kényszernyugalmi állapoton, valamint a túl magas vízhőmérsékleten kívül számos más tényező is okozhat a sejtekben degenerációt. Ilyen tényező például a környezetkárosító toxikus vegyületek hatása, mely kezdetben visszamaradt gonádfejlődést, csökkent fekunditást valamint alacsonyabb hormon koncentrációt okoz, végül az ivarérés teljes eltolódását eredményezi (VAN DER KRAAK et al. 1992; MCMASTER et al. 1996).

A fent említetteken kívül még számos stresszfaktor eredményez atréziát, mint pl. a hipoxia (csökkent O_2 ellátás), nem megfelelő táplálás, alacsony pH és természetesen az ívás előtt álló egyedek zavarása, túl gyakori és indokolatlan kézbevétele (SAIDAPUR 1978, WALLACE és SELMAN 1981, HUNTER és MACEWICZ 1985, MCMASTER et al. 1996, PANKHURST és VAN DER KRAAK 1997, COWARD et al. 1998, HORVÁTH és URBÁNYI 2000).

2.2.1.6. Ovulációt követő nyári, regenerációs időszak

A regenerációs időszak alatt a petefészekben található kis számú érett, de fel nem szakadt follikulus, az ovulált, de le nem rakott ikrák és az ívás során esetlegesen képződő vérrögök felszívódása történik meg. A petefészekben asszimilációs folyamatok, fontos mennyiségi változások, illetve minőségi átalakulások nem történnek. A halak intenzíven táplálkoznak, a táplálék a szervezet raktárainak feltöltésével hasznosul. Ezek a források az ívást megelőző intenzív oogenezis során merülnek ki. Ebben az időszakban az egyed nem képes a felvett táplálékból biztosítani a vitellogenezis szervesanyag- és energia-igényét, ezért testének tartalékait is mozgósítani kénytelen (BROMAGE és CUMARANATUNGA 1988).

2.2.1.7. A petefészek növekedése, a gonado-szomatikus-index (GSI) alakulása

A petefészek fejlettségének jellemzésére, annak tömege alapján, igen jól használható mérőszám a GSI. A halakban a szaporodás jelentős mértékű anyagcserét igényel. Az ívási időszakban egyszer ívó halfajoknál a GSI a petefészek tömegének testtömeghez viszonyított aránya, általában 18-25% között változik, de bizonyos fajok esetében akár 40%-ot is meghaladhatja. Többször ívók esetében a GSI rendszerint kisebb (8-14%), mert az oocyták érésének folyamata elhúzódóbb és kiegyenlítettebb. Azoknál a fajoknál, ahol az ívási időszak több hónapig is eltart (aszinkron petefejlődés), a GSI értéke 2-10% között ingadozik (HSIAO et al. 1994).

2.3. Hormonális szabályozás

Az ívást kiváltó tényezők, mint az ívási aljzat, a másik nem jelenléte, a víz hígulása, a légnyomásváltozás, a vízszint emelkedése hozzájárulnak a hipofízis gonadotrop (GtH) hormonjainak szekréciójához, ami a petefejlődés elengedhetetlen feltétele. A kiváltó tényezők együttes jelenléte hat a gonadotrop raktárak tartalmának szekréciójára, azonban egyes tényezőknek a hiánya esetenként nem gátolja meg a teljes szaporodási folyamatot.

A gerincesekben a szaporodás neuroendokrin szabályozásának alapja a „hipofízis-gonád-tengely" hipotalamikus regulációja. Annak ellenére, hogy a különböző halfajok eltérő vízi életmódhoz alkalmazkodtak, endokrin rendszerük meglehetősen hasonló. A környezeti hatásokról az információ a központi idegrendszeren – hipotalamusz - keresztül jut el a hipofízisbe, amely az ivarszerveket, mint perifériás célmirigyeket, a központi idegrendszerhez kapcsolja. A hipotalamusz neuroszekréciós sejtjei termelik azokat a neurohormonokat, melyek irányítják a hipofízis működését.

A hipofízis két részből áll, a neurohipofízisből és az adenohipofízisből, melyek eltérő szövetei különböző hormonok termelésére specializálódtak. A neurohipofízis (*pars nervosa*) az agyalap *diencephalon* részéből alakult ki, lényegében a hipotalamusz nyúlványa. Az adenohipofízis ektodermális eredetű, a Rathke-féle tasakban kifejlődő endokrin mirigy, mely a legtöbb halfajban egy hátulsó (*pars distalis*) valamint egy középső (*pars intermedia*) részre különül.

A gonadotrop-releasing (GnRH) hormon külső környezeti hatásra szekretálódik a hipotalamusz un. kissejtes (*parvocellularis*) területén. A GnRH egy 10 aminosavból álló dekapeptid, amely az N terminális részen foszforilálódik, míg a C terminális végen amilálódik. A GnRH molekulákat felépítő aminosavaknak funkcionális szerepük van. C- és N- terminális végeik (glutamin és glicin) a GnRH receptorok felismerésében nélkülözhetetlen. A gerincesek törzsfejlődése során az aminosavak szekvenciája nem változott nagymértékben, valódi csontoshalakban kb. 70-90%-os az azonosság a hormont felépítő aminosav-alegységek között (SHERWOOD et al. 1994). A halakban a GnRH több formában megtalálható (gerincesekben eddig nyolc különböző szerkezetű GnRH-t izoláltak), de általában kettő vagy több GnRH formát lehet megtalálni minden halfajban. Pl. a lazac (sGnRH) és a csirke II (cGnRH-II) forma mind az aranyhalak, mind a pisztrángfélék agyában megtalálható (KING és MILLAR 1992). Az első három aminosav (glutamin, hisztidin, tripszin), egy forma kivételével, mind a nyolc típusban megegyezik. Ez a régió a legstabilabb szerkezetű evolúciós szempontból, valamint ez felelős a GtH szekréciójáért (SZABÓ 2000a).

A GnRH legnagyobb mennyiségben a hipotalamuszban található meg, bár aranyhalakban izoláltak sGnRH-t és egy újfajta GnRH-t a petefészkekben is (PATI és HABIBI 1998). A hipotalamuszban a GnRH-t termelő idegsejteknek két csoportját tudjuk megkülönböztetni. Az egyik

csoport a középagyban található és ezek termelik a cGnRH-II változatot. Idegsejtjeinek axonjai a gerincevelőhöz futnak, feltehetően ingerületátvivőként funkcionálnak. A másik csoport a preoptikus területen helyezkedik el, axonjaik az adenohipofízisbe futnak és a hipofízis GtH szekréciójáért felelősek. Hermafrodita egyedekben a GnRH termelődését nagyban befolyásolja az éppen aktuális nem és a pillanatnyi szexuális fejlettségi állapot. Ezeknél a fajoknál a preoptikus areában magasabb szintű GnRH aktivitást figyeltek meg hímekben, mint a nőstényekben és a fiatal egyedekben. Ez arra utalhat, hogy a hermafrodita fajoknál a maskulinizáció kialakulásához nagyobb mennyiségű GnRH-ra van szükség (ELOFSSON et al. 1997).

A valódi csontoshalakban, ellentétben más gerincesekkel, a hipotalamusz-adenohipofízis közti portális keringés hiányzik, így a GnRH neurohormon közvetlenül axonokon keresztül jut el a hipofízisben lévő szekréciós sejtekig (axo-axonális kapcsolat), ahol kiváltja a GtH szekrécióját. Pisztrángfélékben kimutatták, hogy a GtH felszabadulásáért kizárólag a sGnRH forma felelős és nem a cGnRH, mely ugyancsak megtalálható a fajok hipotalamuszában (LUO et al. 1990).

A hormonok hatásainak közvetítésében alapvető szerepet töltenek be a célszerven, célszövetben található specifikus receptorok. A szteroid hormonokra leginkább jellemző a G-proteinhez kapcsolódó receptor típus. A receptor intracelluláris része a G-proteinnel áll kapcsolatban, melyeknek konformációja megváltozik hormon-receptor komplex kialakulása után. Eddigi inaktív állapotából mobilissá válik és enzimaktiváló felülete alkalmassá válik enzim aktiválásra. Valódi csontoshalakban ezek a GnRH G-protein receptorok a hipofízisben, az agy egyes területein illetve a gonádokban találhatóak meg (LETHIMONIER et al. 2004). A GnRH receptorok stimulációja megnöveli a célszervben a Ca^{2+} beáramlást, és többek között aktiválja az adenilát ciklázt is, mely ATP-ből cAMP-t állít elő. cAMP hatására a proteinkináz-A enzim aktiválódik, alegységei képessé válnak további enzimek aktiválására. Végül a proteinkináz-C aktiválása megnöveli a gonadotrop hormonok szekrécióját.

A gonodotrop hormonok feladata az ivari érés és a szaporodás szabályozása. A GtH-k glikoproteinek, melyek két alegységet (polipeptidlánc) tartalmaznak, egy α-alegységet, valamint egy β-alegységet. Egy fajon belül a GtH-k kizárólag β-alegységeikben különböznek egymástól, α-alegységeik mindkét GtH-ban azonosak. A β-alegységek felelősek a biokémiai specifitásért (GHARIB et al. 1990, SZABÓ 2000a).

Az emlősökhöz hasonlóan a valódi csontos halak hipofíziséből is két különböző típusú GtH-t frakcionáltak. A két eltérő szerkezetű GtH funkciója különböző. Az FSH-szerű GtH-I a valódi csontos halakban a gametogenezis szabályozásáért, míg a LH-szerű GtH-II az ovuláció kiváltásáért felelős. A GtH-I szintézéséért felelős gonadotrop sejtek már a kelést követő 2. héten megjelennek, míg a GtH-II-t termelő sejttípus mennyisége csak az ivarérés közeledtével nő meg (SZABÓ 2000a).

2.3.1. A nőivarú halak szteroid hormonjainak hatásmechanizmusa

A gametogenezis időszaka alatt (korai petesejt fejlődés, vitellogenezis) a vérplazma GtH-I koncentrációja megnő, ezzel ellentétben az GtH-II koncentrációja alacsony marad. Mindkét GtH fő célszerve nőivarú egyedekben a petefészek, azon belül is az oocytákat körülvevő theca és granulosa sejtek rétege (VAN DER KRAAK et al. 1998). A célszervekkel a hormon speciális receptorokon keresztül tartja fenn a kapcsolatot. A GtH receptorokon belül megkülönböztethetünk két típust, elsőként a GtH-RI, mely képes megkötni mind az GtH-I -t, mind a GtH-II -t, bár az GtH-I -t jóval nagyobb affinitással. A másik receptor típus a GtH-RII, mely kizárólag a GtH-II képes kötni. A GtH-RI típus megtalálható a theca és a granulosa sejteken egyaránt, míg a GtH-RII-t csak a granulosa sejtek rétegén izolálták (NAGAHAMA et al. 1994). Mindkét receptor G-protein receptor típus, melyek a jól ismert cAMP úton hatnak a célszervek hormonszintézisére.

A vitellogenezis alatt számos valódi csontoshalfajban a GtH-I a theca sejtekre hatva tesztoszteron szintézist vált ki. A tesztoszteron diffúzióval átjut a granulosa sejtek rétegébe és 17β-ösztradiollá alakul aromatáz enzim segítségével. Ebben a fejlődési stádiumban a vérplazmában lévő tesztoszteron és 17β-ösztradiol koncentráció igen magas. A 17β-ösztradiol a keringésen keresztül eljut a májba, ahol kapcsolódva az ösztrogén receptorokhoz (ER) kiváltja egy glikolipofoszfoprotein, a vitellogenin szintézisét. Emlősökben az ösztrogén receptoroknak két típusát különböztethetjük meg az ERα-t és az ERβ-t. Valódi csontoshalakban eddig a szivárványos pisztrángban és a nílusi tilápiában (*Oreochromis niloticus*) sikerült izolálni az ERα DNS-ét (TAN et al. 1996). A vitellogenin fehérjetermészetű anyag, az oocytákban felhalmozódó szik elővegyülete. A hepatocytákból a véráramba szekretálódik a vitellogenin, majd a petefészekhez érkezve átjut a theca és a granulosa sejtek rétegén és az oocyta felszínén lévő specifikus receptorokhoz kötődve endocitózissal bejut a petesejbe (SPECKER és SULLIVAN 1994). Az oocytákban a vitellogenin fehérje-, illetve lipidtermészetű szikanyaggá, leginkább lipovitellinné és foszvitinné alakul át. Ezek folyadékban gazdag szikszemcsékké tömörülnek össze. A vitellogenezis előrehaladtával a szikszemcsék mérete és száma, ennek következtében az oocyta átmérője is növekszik. A GtH-I feltehetően közvetlenül is serkenti a máj vitellogenin szintézisét, valamint az ikrahéjat felépítő fehérjék (glikoproteinek) termelését. *In vitro* kísérletekben megállapították, hogy a GtH-I koncentráció emelkedésével nő a vitellogenin felvétele az oocytákban. Hogy melyik oocyta mennyi vitellogenint képes felvenni feltehetően szorosan összefügg az oocyta felszínén lévő vitellogenin receptorok mennyiségével (TYLER és SUMPTER 1996). A GtH-I serkentő hatása folyamatosan változik, a vitellogenezis közepéig nő, majd fokozatosan csökken. A vérben lévő tesztoszteron és 17β-ösztradiol koncentrációjának ovulációt megelőző változását a fajokra jellemző petefejlődési típus befolyásolja. Az életükben egyszer ívó fajok (anadrom pisztrángfélék, valamint a katadrom angolnák) esetében, ahol a petesejtek fejlődése egyidejű, a 17β-ösztradiol és a tesztoszteron-

koncentráció az oogenezis alatt folyamatosan nő, maximális értékét az ovuláció előtt éri el. A többször ívó fajokat további két csoportra tudjuk osztani petefejlődési típusuk alapján. Az egyik csoportba azok a fajok tartoznak, melyek petefészkében a fejlődő oocyták jól elkülöníthető csoportokat alkotnak, melyek eltérő fejlődési stádiumban vannak. Egy évben egyszer vagy többször ívhatnak, ennek megfelelően vérükben a 17β-ösztradiol és a tesztoszteron-koncentráció vagy lecsökken ívás előtt vagy nem változik. A másik csoportba azok a fajok tartoznak, melyek petefejlődése aszinkron, oocytáik különböző fejlődési stádiumban vannak, és csoportokat sem alkotnak. Viszonylag hosszú a szaporodási időszakuk, így ennek megfelelően a 17β-ösztradiol- és a tesztoszteron-koncentráció ingadozik az ívási időszakban (SZABÓ 2000a).

A vitellogenezist követően az oocyták a végső érés stádiumába kerülnek, mely közvetlenül megelőzi az ovulációt. A valódi csontoshalfajoknál három fő mediátor szabályozza ezt a folyamatot. Az elsők a gonadotropinok, ezek közül is a GtH-II, amely az oocyta érési folyamataiért felelős, azonban önmagában nem elegendő ezen folyamatok kiváltásáért. A GtH-II szintén a szisztémás keringési rendszeren keresztül jut el az ivarszervekbe, ahol hatására két endogén érést-kiváltó-hormon termelődik a 17α,20β-DP (17α,20β-dihidroxi-4-pregnen-3-on) valamint a 20β-P (17α,20β, 21 trihidroxi-4-pregnen-3-on) a granulosa sejtek rétegében. Mindkét hormon 21 szénatomszámú szteroid, sejtmagvándorlást és maghártya-felszívódást indukálnak.

Pontyféléknél a GtH-II és a 17α,20β-DP szintje az ovulációt megelőző időszakban éri el maximumát. A 17α,20β-DP nőivarú egyedekben feromonként is funkcionál, ezzel jelezve a hímeknek a peteérést és az ovuláció közeledtét. Miközben a GtH-II koncentrációja megemelkedik az ovuláció előtt, GnRH-koncentráció csökkenése figyelhető meg az agy egyes területein. Az ovulációt követően néhány órával a GnRH koncentráció visszaáll eredeti értékére.

Az ovuláció kiváltásában azonban a prosztaglandinok is nagy szerepet töltenek be. A prosztaglandinok a biológiailag aktív lipidekhez tartoznak, többnyire a simaizmok működésének szabályozásában játszanak szerepet. Valódi csontoshalaknál a prosztaglandinok F-származékai az ovuláció kiváltásában vesznek részt. A prosztaglandin $F_{2\alpha}$ (PGF) a follikuláris tok falában és az azt körülvevő szövetben szintetizálódik. Az ovariális cAMP koncentráció csökkenésének hatására stimulálja a follikuláris tok falában lévő simaizmok összehúzódását valamint a follikulus által termelt proteolitikus enzimek aktivitását ovulációkor. Nőivarú egyedek feromonjaként hatással van a hímivarú egyedek szexuális viselkedésére is (STACY 1987, SZABÓ 2000a).

Természetesen a “hipotalamusz-hipofízis-gonád-tengely” szintjei között az információáramlás nem egyirányú. Valódi csontoshalakban agyi szinten legelső szabályozó mechanizmus a GtH szekréciójának gátlása, mely a dopamin vegyület segítségével valósul meg (CHANG et al. 1984). Az endogén dopamin olyan természetes mediátor molekula, mely a gonadotrop sejteken lévő GnRH-kötőhelyek számának csökkenését okozza, így fejtve ki gátló hatását a hipofízis GtH

szekréciójára. Gátlásának mértéke és aktivitása fajspecifikus. A pontyfélékben (*Cyprinidae*) és a harcsaalakúakban (*Siluriformes*) az érés indukciója érdekében szervezetbe juttatott GnRH nem fejti ki hatását a megfelelő dopamin inhibitor nélkül, míg a pisztrángfélékben a dopamin jelen van ugyan, de nem hat gátlólag a GnRH-ra.

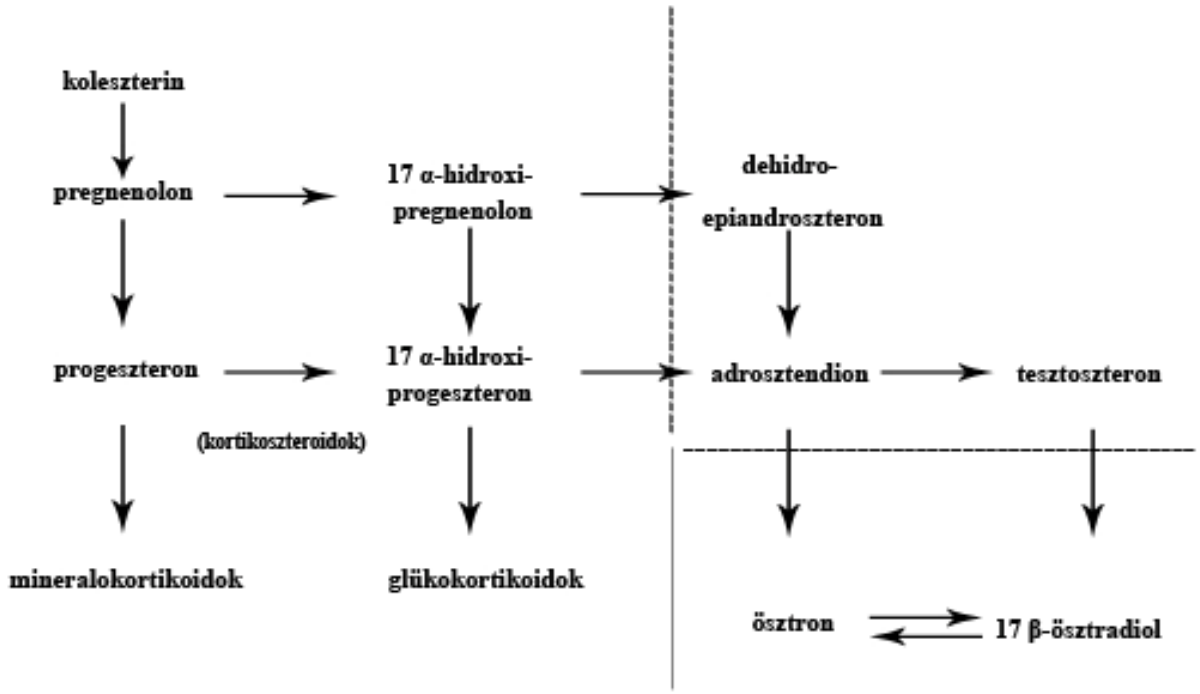
A szabályozó tengely "alacsonyabb" szintjein ún. feed-back mechanizmusok szükségesek a zavartalan működéshez. Az ivari szteroidok negatív feed-back hatása nagyrészt a γ-amino-vajsav (GABA) ingerületátvivő anyagon keresztül valósul meg. A GABA serkenti a hipofízisbe érkező GnRH idegvégződésekből a GnRH dekapeptid leadását. Ahogy nő a vérben a 17β-ösztadiol koncentráció, úgy csökken a GABA hatása is. Feed-back mechanizmusok irányítják a dopamin szekrécióját is.

Az említett sztreoid hormonokon kívül más biológiailag aktív molekulák (ingerület-átvivő anyagok, növekedési faktorok (IGF-I MAESTRO et al. 1997, EGF MACDOUGALL és VAN DER KRAAK, 1998), és további ivari szteroidok (inzulin, prolaktin, növekedési hormon) is részt vesznek a gametogenezis szabályozásában.

2.3.2. A szteroid hormonok bioszintézise

A szteroid hormonok közös kiinduló anyaga a májban keletkező koleszterin, amelynek nagyobb hányada azonnal észtereződik. A sejtek a koleszterint a vérből veszik fel, bennük koleszterinészter formájában tárolódik a szintézishez szükséges C vitaminnal együtt, majd a véráramon keresztül eljut a szteroid termelés helyére (ivarmirigyek, mellékvesekéreg). Az ivari szteroid hormonok szintézise kulcsenzimek segítségével történik. Halak esetében a kulcsenzimek a citokróm P-450 enzimek családjába tartoznak. A P-450_{SCC} (side chain cleavage) a koleszterint alakítja át, ami kezdeti lépése minden hormon kialakulásának. A többi P-450 enzim a további lépésekben töltenek be fontos szerepet. Számos xenobiotikum serkenti vagy gátolja a citokróm P-450 monooxigenáz aktivitását. (STEGEMAN és KLOEPPER-SAMS 1987).

Az ivarmrigyekben a lipidcseppekbe való beépülés után enzimatikus deészterifikáción mennek keresztül a koleszterolészterek, ezt követően az endoplazmatikus retikulum csatornáin át a szabad koleszterol a mitochondriumokba jut. Itt történik a koleszterin hidroxilálása, valamint oldalláncának hasítása dezmoláz segítségével, melynek eredményeként létrejön a pregnenolon.



1. ábra A szteroid hormonok szintézisének folyamata (JANZ és WEBER 2000)

A pregnenolon két irányba is továbbalakulhat, hiszen az enzimatikus reakció eredményezhet 17-α-OH-pregnenolont illetve progeszteront.

1., Alakulhat 17-α-OH-pregnenolonná, amikor is a reakció végeredménye a tesztoszteron. A legfontosabb androgén, a tesztoszteron az androszténdionból keletkezik (SHAHABI et al. 1975). A célszervekben ez a hormon hatékonyabb metabolittá, a 5α-dihidrotesztoszteronná (DHT) redukálódik. A tesztoszteronból androszteron vagy a 18 szénatomszámú ösztradiol szintetizálódhat. Maga a mellékvesekéreg csak kevés nemi hormont termel, inkább az előanyagaikat bocsátja a vérkeringésbe.

2., Enzim hatására a progeszteronból 17-α-OH-progeszteron keletkezik, mely a 19 szénatomos androgének szintézisének kiinduló anyaga. Ezt követően a hormonszintézisben megkülönböztethetjük a mineralokortikoid-utat, valamint a glükokortikoid utat. A mellékvesekéregben folyó hormonszintézisnek utolsó lépéseként kortizol keletkezik.

Az ivari szteroidok szintézise leginkább az ivarmirigyekben zajlik, de folyik szteroidogenezis az agyban: pl. a hipofízisben és a gerincvelőben is (PASMANIK és CALLARD 1985, ANDERSSON et al. 1988). A szteroidogenezis egyik legfontosabb kulcsenzime a citokróm P450

enzimek családjába tartozó aromatáz enzim, mely az androgéneket egy metil csoport eltávolításával oxidációs folyamaton keresztül ösztrogénné alakítja.

Szivárványos pisztrángban aromatáz enzimeket nemcsak a veséből, hanem az izomszövetben, a gyomorban és a belekben is izoláltak (BELVEDERE et al. 1998). Továbbá 20β-HSD aktivitást is detektáltak a pisztráng kopoltyújában és a tipikusan pontyban lévő 20α-HSD-t is megtalálták az aranyhal szemében, kopoltyújában, szívében és vérében (EBRAHIMI és KIME 1998). Aranyhal agyban magas az aromatáz enzim koncentráció összehasonlítva számos más gerincesssel. Az aromatáz aktivitásnak köszönhető mRNS termelődés szezonális ingadozást mutat és a tavaszi ívási időszakban éri el a maximumát (GELINAS et al. 1998).

2.3.3. Hormontranszport és a szteroidok metabolizmusa

A vérből gyorsan távozó szteroidok szállítását transzport fehérjék végzik, ugyanis a szteroid hormonok zsíroldékonyak, így szállítófehérje szükséges az apoláros molekula oldatban tartásához. A szteroidok jelentős része egy α-globulin-frakcióba tartozó transzkortin fehérjéhez (CGB) kötve található, míg az ivari szteroidokat külön fehérje, a SHBG (sexual-hormone-binding-protein) szállítja. Az egyensúlyi konstansnak megfelelően nagyobb részük ebben a formában található a vérplazmában. Kisebb részük viszont oldott formában, mint „szabad” szteroid mennyiség található meg. A kötött és a szabad hormonok között élettani alap állapotban stabil, de dinamikus egyensúly alakul ki. Az aktív a szabad forma, csak ezek a molekulák képesek a sejtek receptoraihoz kapcsolódni és biológiai hatásukat kifejteni.

A szteroidok redukciós folyamatok során bomlanak le, túlnyomórészt a májban (KAPLAN és PESCE 1984). A 17-OH-kortikoszteroidok az A-gyűrű redukciójával inaktiválódnak, majd a 17,21-dihidro-20-keto-szteroidok a vizelettel ürülnek ki.

2.4. A környezeti tényezők jelentősége, szabályozó mechanizmusa

A gametogenezis két alapvető részfolyamatának környezeti szabályozása

A szaporodást (ívást) a legtöbb esetben a környezeti tényezők változásának sajátos kombinációja váltja ki. A zavartalan ivarsejt-termelés és az ivarsejtek végső érésének folyamata eltérő környezetben játszódik le (HORVÁTH és TAMÁS 1978).

Az első folyamathoz (vitellogenezis) hosszantartó, állandó és kiegyensúlyozott környezeti feltételek szükségesek. A fejlődésnek induló és beérő petesejtek számát három alapvető környezeti tényező (a vízhőmérséklet, a rendelkezésre álló tápanyag-mennyiség és a víz oxigénkoncentrációja), valamint azok egymáshoz való viszonya szabja meg. Néhány további, nem elsődleges, de korlátozó

hatású eseti tényező (kórokozók, toxikus tényezők, extrém vízkémiai hatások) szintén hatást gyakorolhat a vitellogenezisre.

A végső érés kiváltásához az előzőektől eltérő, ún. ívási környezet szükséges. Ennek kiválasztása azon az alapon történik, hogy az adott fajra nézve mely környezet kedvez leginkább az utódok túlélésének, a faj fennmaradásának. Az ívási környezet tehát a halak állandó tartózkodási környezetétől lényegesen eltérhet, melynek egyik legfontosabb eleme az ívóhely, vagy az ívási terület (az a földrajzi tér, ahol az adott faj az ikráját elhelyezi). Az ívóhelyen kívül az ívási környezet meghatározó tényezői lehetnek a víz hőmérséklete, áradása, sótartalma, az ívási aljzat, a fényklíma, a légnyomásváltozás, stb.

Az anyahalak szempontjából az ívási környezetben a tápanyag-ellátásnak nincs jelentősége, mivel az igen rövid ovulációs időszak alatt a szexuális izgalomban lévő halak nem, vagy alig táplálkoznak. A fénynek a bioritmus bekapcsolásában van szerepe. Az ívás előtt és alatt a halak rendkívül érzékenyek a stresszhatásokra. Bármilyen zavaró tényező az ívást leállíthatja és az ovulált ikra a petefészekben néhány óra alatt túlérik, termékenyítésre alkalmatlanná válik. A folyamatot fizikai változások (hirtelen lehűlés, erős szél, vízszintváltozás, stb.) is megzavarhatják.

Az ívási környezetben kétféle ökológiai tényezőt különítünk el: az alaptényezőket és a kiváltó tényezőket (HORVÁTH 1980). Alaptényezőknek nevezzük azokat a hatásokat, amelyek megszabják a fiziológiai folyamatokat. Ezek könnyen kerülnek limitáló helyzetbe és felfüggeszthetik a teljes ovulációs folyamatot. Az alaptényezők közül kontrolláló tényező a hőmérséklet és limitáló tényező az oxigénszint. A toxikus és stressztényezőknek teljesen hiányozniuk kell a sikeres szaporodáshoz. Bármelyik tényező kedvezőtlen mértéke megakasztja a folyamatot és a szaporodás elmarad. Önmagukban azonban még nem váltják ki azokat a hormonális változásokat, amelyek eredményeként bekövetkezne az ovuláció.

Kiváltó tényezőknek nevezzük azokat a hatásokat, melyek beindítják az íváshoz szükséges hormonális változásokat. Legfontosabbak az ívási aljzat, a másik nem jelenléte, a víz hígulása, légnyomásváltozás (hideg- vagy melegfront), a vízszint emelkedése (áradás). Ezek együttes jelenléte hat legkönnyebben a gonadotrop hormonok szekréciójára, azonban egyes tényezőinek hiánya nem gátolja meg a teljes szaporodási folyamatot.

A fentiekben megnevezett környezeti tényezők és szabályozó szerepük a mérsékelt égövben élő melegvízi halfajok, elsősorban a pontyfélék esetében érvényesek.

A mérsékelt éghajlati övben élő hidegvízi halfajok, mint pl. a pisztrángfélék a nappalok hosszának szezonális változása alapján időzítik az éves szaporodási ciklusukat (BROMAGE et al. 1992). Mindig az év egy bizonyos időszakában ívnak, általában ősszel és télen, de néha tavasszal. Fontos, hogy az ívás akkor történjen, mikor az ikrából kikelő ivadék számára a környezet hőmérséklete, és a rendelkezésre álló táplálék mennyisége optimális feltételeket biztosít a túléléshez.

A fényszakosság beindítja a szervezet belső szabályozó rendszerét. A szaporodást a fotoperiuson kívül a hőmérséklet is jelentősen befolyásolja. A szivárványos pisztráng Svédországban élő populációiban a petefészek fejlődése hasonlóképpen zajlik, mint az egyéb európai populációkban. Azonban az ívás az európai populációkban ősszel-télen történik, míg a Svédország északi részén élő pisztrángok tavasszal ívnak (MORRISON és SMITH 1986). Ugyanis ezekben a populációkban a petefészek fejlődése a téli hónapokban szünetel. Ugyanez a jelenség figyelhető meg a Európa leghidegebb vizű folyóiban élő pisztrángok esetében, mert ezekben a vizekben az íváshoz szükséges minimális 10°C-ot a víz hőmérséklete csak a tavaszi hónapokban éri el. A téli hónapokban fellépő nyugalmi állapotnak az az oka, hogy az alacsony környezeti hőmérséklet gátolja a szikfelhalmozódás folyamatát, így az ezt követő érési folyamatok sem következnek be. Hasonló jelenség figyelhető meg számos pontyfélénél is a téli hónapok alatt.

Az ívás történhet párban (süllő, harcsa), vagy csoportosan (pontyfélék). A párválasztást, vagy az ívást rendszerint fajra jellemző viselkedésformák sorozata előzi meg és időzíti az ivartermékek leadását. A halak szaporodási stratégiája igen változatos formát mutathat.

3. Anyag és módszer

3.1. A vizsgálatok helye, körülményei

A téma megvalósításának helyei a SzIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Halgazdálkodási Tanszék (Gödöllő) és a SzIE, Állatorvos-tudományi Kar, Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszék (Budapest) voltak. A SzIE tanszékein a vizsgálatokhoz szükséges laboratóriumi eszközök biztosították a kísérleti munka feltételeit.

A halállomány begyűjtése 2003-tól 2007-ig a Duna folyó szigetközi, ercsi valamint paksi szakaszán történt. A Balatonból származó mintákat 2006. és 2007. között Tihany térségéből halásztuk. A kísérleti egyedeket igyekeztem havonkénti rendszerességgel begyűjteni, azonban több alkalommal – számos környezeti tényező miatt – nem állt rendelkezésemre a vizsgálni kívánt halfajból az értékelésekhez szükséges minimális egyedszám, így voltak olyan mintavételi időpontjaim, amikor csak néhány halfaj egyedeitől sikerült megfelelő számú mintát gyűjteni.

A halak begyűjtéséhez elektromos halászeszközt, vagy un. tükörhálót használtak. Az elektromos halászeszköz kutatási célból való alkalmazásához minden hónapra kérvényeztem az illetékes Megyei Halászati Felügyelő engedélyét.

A Dunán folyó egyes mintavételezések során mindig mértem a víz hőmérsékletét a felső 40 cm-en digitális hőmérővel, azonban az egyes években a mintavételi hónapok nem fedik teljesen az adott évet, ezért a teljes ivari ciklus alatt, a teljességre való törekvés végett, a vízhőmérsékleti adatokat teljes naptári évekre ábrázoltam. Az adatokat a VITUKI Vízügyi Adatbank honlapjáról (www.vizadat.hu) töltöttem le. A Balatonban – Tihanynál - mért vízhőmérsékleti adatokat rendszeresen rendelkezésemre bocsájtották a Balatoni Limnológiai Kutatóintézet munkatársai (2 sz. melléklet).

A vizsgált egyedeket 2003-2007 között folyamatosan gyűjtöttem a Duna különböző szakaszain. Mivel az egyes években előfordult, hogy azokból a hónapokban is sikerült mintát vennem, amelyekből egy másik évben nem, így az éves ivari ciklust az egyes mintavételi évek összevonásával határoztam meg. Hogy egyáltalán megtehetem-e ezt az összevonást, statisztikalilag értékeltem a különböző évek azonos hónapjaiban kapott adatokat. A statisztikai értékeléshez a GSI értékeinek évenkénti alakulását választottam, ugyanis a gonádok relatív tömegét tudtam leggyakrabban meghatározni az egyes mintavételezések során (3. sz. melléklet).

3.2. A vizsgált halfajok

Munkám során a balin, a bagolykeszeg, a jász, a márna, a bodorka, a karikakeszeg, és a paduc ivari ciklusát és ovogenezisét vizsgáltam.

A táblázatokban (1. és 2. táblázat) az egyes halfajokból vizsgált egyedek mennyiségét (db) jelöltem. Zárójelben adtam meg a vérvizsgálatra került egyedek darabszámát (db).

Hónap / Faj	balin	bagolykeszeg	jász	márna	bodorka	karikakeszeg	paduc
január				10(3)			
február			8	15			13
március	19(3)	13(5)	17(5)	26(5)	16	44(7)	21(5)
április	15(3)	18	18(5)	34(5)	18(5)	33(5)	29(7)
május				24(5)		38	
június		11	22(3)	15(5)		14(5)	15(6)
július	17	7(3)	14(4)	8(3)		8(3)	9(3)
augusztus	23(5)	8(3)	30(7)	16(4)	15(4)	54(11)	21(5)
szeptember	12(3)	16(4)	17(4)	10(5)		34(9)	11(5)
október	22(4)	14(6)	37(6)	21(5)	12(6)	32(10)	33(7)
november							
december				5			

1. táblázat A Dunából gyűjtött halfajok vizsgált egyedeinek mennyisége (db), valamint az ezekből vérvizsgálatra került egyedek darabszáma (db) az egyes mintavételi hónapokban

Hónap / Faj	bodorka	karikakeszeg
január		
február		
március	8(5)	9(5)
április	5(5)	8(5)
május	11(5)	10(5)
június		6(5)
július	7(5)	8(5)
augusztus	12(5)	17(5)
szeptember		20(5)
október		
november	11(5)	11(5)
december		

2. táblázat A Balatonból gyűjtött halfajok vizsgált egyedeinek mennyisége (db) valamint az ezekből vérvizsgálatra került egyedek darabszáma (db) az egyes mintavételi hónapokban

3.3. A vizsgált szaporodásbiológiai mutatók

A kísérletek során elsősorban a halfajok ivari ciklusát vizsgáltam, valamint a szaporodás előtt álló halak szexuálbiológiai állapotát mértem fel.

3.3.1. A gonado-szomatikus index (GSI) meghatározása

Az ivari ciklusról a petefészek tömegének testtömeghez viszonyított aránya ad pontos képet. A számszerűsíthető mutató, melyet a statisztikai értékelésben használtam, a gonado-szomatikus index, melynek kiszámítása a következő:

$$\text{GSI (\%)} = \text{petefészek tömege (g)} \times 100 / \text{testtömeg (g)}$$

A GSI meghatározásához a kísérleti halak feláldozására volt szükség. A hal és a petefészek tömegét grammnyi pontossággal mértem. A GSI meghatározására az ivari ciklus különböző időpontjában került sor, mivel a halak GSI-vel kifejezhető szexuálbiológiai státusza folyamatosan változik az ivari ciklus során. A változásokat a felvett adatok statisztikai értékelésével, valamint összefoglaló táblázatokkal és ábrákkal mutatom be.

3.3.2. A különböző fejlődési állapotban lévő ivarsejtek egymáshoz viszonyított arányának vizsgálata

Az egyes mintavételi időpontokban, a boncolást követően eltávolítottam a vizsgált egyedek gonádjait, amiket felcimkézett kis üvegekben Bouin folyadékban fixáltam. A cimkékre felkerült a mintavétel időpontja valamint a halfaj és az egyedi számozás. A 12-16 órás rögzítést követően a mintákat 75%-os etilalkoholba helyeztem át és feldolgozásig ebben tároltam azokat. A dehidratáció felszálló alkoholsorban (75-90%-os etil-alkohol) történt, majd a xilolos átmosást a paraffinba ágyazás követte.

Mikrotóm segítségével 2-5 mikronos metszeteket készítettem. A metszeteket hematoxilin-eozinnal festettem meg.

Az egyedekből az elkészített szövettani metszeteken Nikon Eclipse E600 kutatómikroszkóp segítségével megszámoltam a protoplazmatikus, a vakuolizálódás, illetve a vitellogenezis stádiumában lévő oocytákat. Az oogenezis különböző stádiumait BROMAGE és CUMARANATUNGA (1988) besorolása alapján állapítottam meg. A meglévő stádiumok mellé rendeltem egy általam vett besorolást is, a „gyűrűs” vakuolizálódás állapotát (2. kép), mert a kapott adatok alapján jelenlétét értékes plusz információnak ítéltem, és nem akartam összevonni az általam „teljes” vakuolizálódás stádiumába (3. kép) tartozó sejtekkel. Az ivari ciklus egy adott szakaszában a szövettani metszetek jellegzetes képet mutatnak minden vizsgált faj esetében.

Egy adott faj esetében a különböző időpontokban vett petefészek-mintákat vizsgáltam és hasonlítottam össze. A két eltérő fejlődési állapotban lévő oocyták számának egymáshoz viszonyított arányát határoztam meg, és azt vizsgáltam, hogy ez hogyan változik az ivari ciklus előrehaladtával. Két különböző faj esetében az azonos időpontban gyűjtött mintákat vizsgáltam és hasonlítottam össze. Ez lehetőséget adott annak megállapítására, hogy a vizsgált fajok hasonló,

vagy eltérő szaporodásbiológiai tulajdonságokkal rendelkeznek. Az adott fajra és az adott időpontban legjellemzőbb képeket digitális kamerával lefényképeztem és CD-lemezen archiváltam.

3.3.3. A petefészekben lévő follikulusok átmérőinek meghatározása

A kifogott halak petefészkeiből 1g-ot mértem ki. A petefészekdarabokat 10 %-os formalin oldatban tároltam a feldolgozás időpontjáig. A feldolgozás során formalinból desztillált vízbe helyeztem a mintákat, hogy a formalin káros hatásait elkerüljem. Az egyes mintákat Zeiss Technival sztereomikroszkóp alatt szétmaceráltam és a szövetdarabokat eltávolítottam, annak érdekében, hogy a follikulusokat egyesével lemérhessem okulármikrométer használatával. A kapott adatokat a teljes petefészekre extrapoláltam és a továbbiakban ezt vettem eredménynek.

3.3.4. A vérplazmában lévő szteroid hormon szintek meghatározása

3.3.4.1. Mintagyűjtés és mintakezelés

Az utolsó két mintavételi évben (2006 és 2007) vizsgálataimat vérvétellel is kiegészítettem, mert lehetőségem nyílt, hogy a vérplazmából mért szteroid hormonszintek változásait is nyomonkövessem. A hormonanalízis jellegéből adódóan a mérések elvégzésére csak egyszer volt lehetőségem, ugyanis a vérvételekből nyert vérplazma csak korlátozott mennyiségben állt rendelkezésemre.

A vérminták gyűjtése

A vizsgált egyedektől a kifogást követően 1-2 órán belül még a helyszínen vért vettem. A halakat oldalukra fordítottam és a tűt a farokalatti úszó és az oldalvonal között szúrtam be. Igyekeztem legalább 1 ml vért venni a halak farokvénájából (*vena caudalis*). A minták alvadását heparinnal gátoltam (1-2 csepp), amit előzőleg szívtam fel a fecskendőbe. A vérvételekhez steril, eldobható 21-25 G jelű tűket és minden esetben 2 ml-es fecskendőt használtam. A vért hűtőtáskában szállítottam (+ 4 °C) a feldolgozás helyére.

3.3.4.2. A vérminták előkészítése a RIA vizsgálathoz

A heparinnal kezelt vérmintákat hűtött közegben (+ 4 °C) tartottam, majd centrifugálással (3000 fordulat/perc, 10 perc, rotációs sugár: 10 cm, g = 1006,2) választottam el az alakos elemeket a vérplazmától. A vérplazmákat ezután 20 °C-on tároltam a további mérésekig. Mérés előtt a plazmát szobahőmérsékleten olvasztottam fel.

Extrakció

Az extrakciót megelőzően a mintákhoz azonos mennyiségű (100µl) desztillált vizet pipettáztam, annak érdekében, hogy elkerüljem a vérplazma-minták felkenődését a kúpos csövek falára. Ezt követően 500µl plazmát mértem be a kúpos csövekbe.

Sajnos voltak azonban olyan egyedek, amelyektől nem sikerült kellő mennyiségű vért vennem, az ilyen mintákból a maximálisan kinyerhető vérplazma mennyiséget pipettáztam a csövekbe 150-500 µl közötti intervallumban. Megelőző próbamérések során volt alkalmam meghatározni az egyes, általam mérni kívánt, szteroid-hormonok kimutatásához minimálisan szükséges vérplazma mennyiségeket, melyek a következők voltak. Tesztoszteron (T) esetében 50µl, 17β-ösztradiol (E_2) esetében 100µl, míg a progeszteron (P_4) meghatározásához 200µl plazmára volt szükségem.

A bemérés után egységesen tízszeres térfogat (5 ml) oldószerrel, dietil-éterrel, háromszor extraháltam.

A rázatások (30 majd 20-20 perc) után a fázisokat – kb. 20 percig tartó – fagyasztással különítettem el, majd a felülúszókat ún. Wassermann-csövekben egyesítettem. Az így leöntött éteres fázist vízfürdő felett szárazra pároltam és meghatározásig -20°C-on abszolút etanolban tároltam.

Higítás

A RIA-t megelőzően - annak érdekében, hogy a minták szteroid tartalma mérhető tartományba kerüljön - hígítást kellett alkalmaznom. A higítást megelőzte a minták vízfürdő feletti szárazra párlása. Az extraktumokhoz a bemért vérplazmával azonos mennyiségű abszolút etanolt adtam, majd alaposan szuszpenzáltam Vortex-mixerrel. Ezt követően a mintát, a meghatározni kívánt hormonnak megfelelően 50, 100 és 200µl-enként alkohollal (40µl) szétmértem egy-egy RIA-csőbe, amely csöveket a RIA-ig hűtve (+ 4 ºC) tároltam.

3.3.4.3. A RIA (Radio Immuno Assay) menete

A tesztoszteron RIA kivitelezése JALLAGEAS (1975) módszere szerint, a progeszteron ABRAHAM és munkatársai (1971) módszere szerint, és végül a 17-β-ösztradiol RIA kivitelezését a MIKHAIL és munkatársai (1970) módszerének megfelelően különböző mennyiségű extraktumokból végeztük el.

Felhasznált anyagok

Foszfát-puffer:

pH: 7,4-7,6

A komponens: 1,095 g $NaH_2PO_4.2H_2O$ + 80 ml bidesztillált víz

B komponens:15,0525 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ + 420 ml bidesztillált víz

A+B komponens (500 ml), ebben feloldani 0,05 g zselatint.

Kötőanyagok az egyes szteroidok szerint:

Tesztoszteron:

20 ml puffer100 µl ^3H –tesztoszteron Testosterone, [1,2,6,7-^3H] [American Radiolabeled Chemicals, Inc.: ART 0768]

60000 - szeres hígítású T - antitest : 33 µl

Poliklonális T antiszérum BSA-tesztoszteron-3-hemszukcináttal szemben fejlesztették ki (Peter Sharp, Edinburgh U.K). Érzékenység: 10 pg/cső, intra- assay 6–9 % -, inter assay 5–8 %.

Keresztreakciói: T: 100 %, epiandroszteron: 38,89 %, 5α-androsztén-3α,17β-diol: 60,89 %, 4-androsztén-3,17-dion 36,73 %, Δ5-androsztén-3β-17β-diol: 43,33%, dehydro-iso-androszteron-3-szulfát: 17,22 %, etiokolan-17β-ol-3-on: 33,68 %, 5α-androsztén-7β-ol-3-on: 64,43 %, 5β-androsztén-3α,17β-diol 12,35 %, 17β-ösztradiol: 3,00 %, 17α-hydroxi-progeszteron: 1,50 %, progeszteron: 1,00 %.

17-β- ösztradiol:

20 ml puffer 100 µl ^3H -ösztradiol, Estradiol, [2,4,6,7-^3H] [American Radiolabeled Chemicals, Inc.:ART 1555] 20000-szeres hígítású E_2-antitest: 50 µl

Poliklonális E_2 antiszérum BSA-17-β ösztradiol-hemiszukcináttal szemben fejlesztették (Peter Sharp, Edinburgh, U.K.). Érzékenység: 10 pg/cső, intra- assay 9-11 %, inter assay 7-9 %. *Keresztreakciói:* E_2: 100 %; ösztron: 70 %; kortizol: 5 %; P_4: 1 %; 17α-hidroxi-progeszteron: 1%; T: 1 %.

Progeszteron:

20 ml puffer100 µl ^3H - progeszteron, Progesterone, [1,2,6,7,16,17-^3H] [American Radiolabeled Chemicals, Inc.: ART 1134] 5000-szeres hígítású P_4-antitest: 100 µl

Poliklonális P_4 antiszérum BSA-11-OH-progeszteron-hemiszukcináttal szemben fejlesztették ki. (Peter Sharp, Edinburgh, U.K.). Érzékenység: 10 pg/cső, intra- assay 4-6 %, inter assay 5-7 %.

Keresztreakciói: P_4: 100 %; 17α-hydroxi-progeszteron: 75 %; kortizol: 10 %; T: 1 %; 17α-hidroxi-progeszteron: 1%.

Szcintillációs koktél: toluol-Triton-X-100 PPO-POPOP primer és szekunder szcintillátor
Aktív szén (Charcoal) Dextrán T-70-nel bevonva.

A kötőoldat elkészítése

Lombikba először belemértem a tríciált szteroidot, vízfürdőben bepároltam, majd jégen hozzáadtam a foszfátpuffert és az antitestet. Ezt követően egész éjszaka inkubáltam + 4°C-on. Ennek következtében a foszfát puffer tartalmazza az antitestet.

A meghatározás menete

Az eddig fagyasztva tárolt, mintákból nyert, szteroid tartalmú alkoholos extraktumokat ismét szárazra bepároltam, majd a kötőoldattal (^3H jelölt szteroidot és specifikus antiszérumot tartalmazó foszfát puffert aliquotjával) Vortex-mixerrel szuszpenzáltam. Egy éjszakán át + 4°C-on tároltam, majd aktív szenes szeparálás alkalmazásával elkülönítettem az antiszérumhoz kötött (B:bound) és szabadon maradt (F:free) radioaktivitást. A szabad radioaktivitást, illetve az antiszérumhoz nem kötött szteroidokat a Dextrán-T-70-nel kezelt aktív szénszemcsék abszorbeálták és ezt a hűthető centrifugálással tökéletesen el lehetett szeparálni. A centrifugálás során az aktív szénen abszorbeálódott szabad szteroidok leülepedtek, így a felülúszó csak az antiszérum által kötött szteroidokat tartalmazta. A felülúszót pipettával leszívtam, majd mérőküvettába tettem szcintillációs koktélt adva hozzá. Ezt követően LKB Wallack típusú Szcintillációs Spektrométerrel lemértem a minták kötött (B) radioaktivitását. A beütésszám (a szcintillátor által mért CPM) és a minta szteroid koncentrációja között fordított arányosság van, mert minél alacsonyabb a vérminta szteroid tartalma, az antiszérum annál több radioaktívan jelölt szteroidmolekulát köt meg. Ha magas a vér szteroid tartalma, akkor kevesebb radioaktívan jelölt szteroidot köt meg.

A fenti módszerrel a 3 ivari szteroid szintjét tudtam nagy érzékenységgel (10 pg/cső) és specificitással meghatározni.

A kapott B radioaktivitásokból – standard görbékhez viszonyítva – a Szaporodásbiológiai Labor által szerkesztett számítógépes program segítségével meghatároztam az 1 ml vérplazmára vonatkoztatott E_2-, P_4-, T-koncentrációkat. A standard görbét ismert E_2-, P_4-, T-koncentrációjú oldatok felhasználásával készítettem el.

3.3.4.4. Az ivari szteroid hormonok koncentrációira ható módosító tényezők

A hormonok koncentrációinak meghatározásakor kapott eredmények lehetőséget adtak annak megállapítására, hogy a vizsgált fajok hasonló, vagy eltérő szaporodásbiológiai tulajdonságokkal rendelkeznek. Meg kell azonban jegyeznem, hogy a különböző időpontokban a szteroid hormonok vérben mért koncentrációira számos olyan tényező hat, mely befolyásolhatja a kapott eredményeket, így a kapott adatok az ivari állapot szempontjából kevésbé informatívak, inkább tájékoztató jellegűek. Tanulmányozásukkor nem az egzakt, pontos értékeiket veszem figyelembe, hanem az eltérő mintavételi időpontok közötti változásaik tendenciáját.

Módosító tényezőként felsorolok néhányat a teljesség igénye nélkül.

- Elsőként az egyedek illetve populációk közötti különbségeket említeném. Mivel az egyedeket természetes vízből gyűjtöttük, habár a vizsgálatok alatt megközelítőleg azonos vízterületből (Duna esetén folyamkilométer, Balatonnál jóval körülhatároltabb víztest), így sem biztosított az esetleges migrációk miatt, hogy azonos populáció egyedei kerültek mintázásra. Mivel a vizsgálatok az állatok feláldozásával jártak, minden egyedtől csak egyszeri vérvételre volt lehetőségem.
- Módosító tényezőként hatnak az egyes stressz-tényezők is. A halakat legtöbb esetben bárkában élve tárolták, míg néhány órával a gyűjtés után vért tudtam venni tőlük. Maga a halászat, a bárkában lévő több egyeddel való összezártság jelentős stressz faktor, ami azonnal hat a szervezet hormonháztartására, leginkább pl. a kortizol képződésére (POTTINGER et al. 1992, BILODEAU et al. 2005). Ezáltal feltehetően más szteroid hormonok szintézisére is.
- További tényezőként említeném meg az egyes ivari szteroid hormonok termelődésében a napszakos ingadozást, ezért célszerű a vért mindig azonos időpontban gyűjteni. Erre, a körülményeket tekintve, természetesen nem mindig volt lehetőségem, ennek ellenére igyekeztem a vérvételt mindig a kora reggeli órákra időzíteni.

Az itt leírtakból is jól látszik, hogy munkám úttörő jellege miatt számos olyan tényező adódott a vizsgálatok során, amiket feltétlenül ki kell küszöbölni, vagy amelyeken a továbbiakban javítani szükséges.

3.4. Adatok feldolgozása

A statisztikai értékeléshez a Microsoft Excel ’97 és a Windows GraphPad Prism 4.0 programcsomagot használtam. A GSI értékek meghatározásánál az egyes mintavételi hónapokban kapott eredményeket egyszempontos variancia-analízissel (ANOVA) (Tukey’s Multiple Comparison test), valamint kétmintás t-próba segítségével hasonlítottam össze $P \leq 0.05$ szignifikancia-szint mellett.

4. Eredmények

4.1. A Dunában gyűjtött halfajokban kapott eredmények bemutatása

4.1.1. A balin fajban kapott eredmények bemutatása

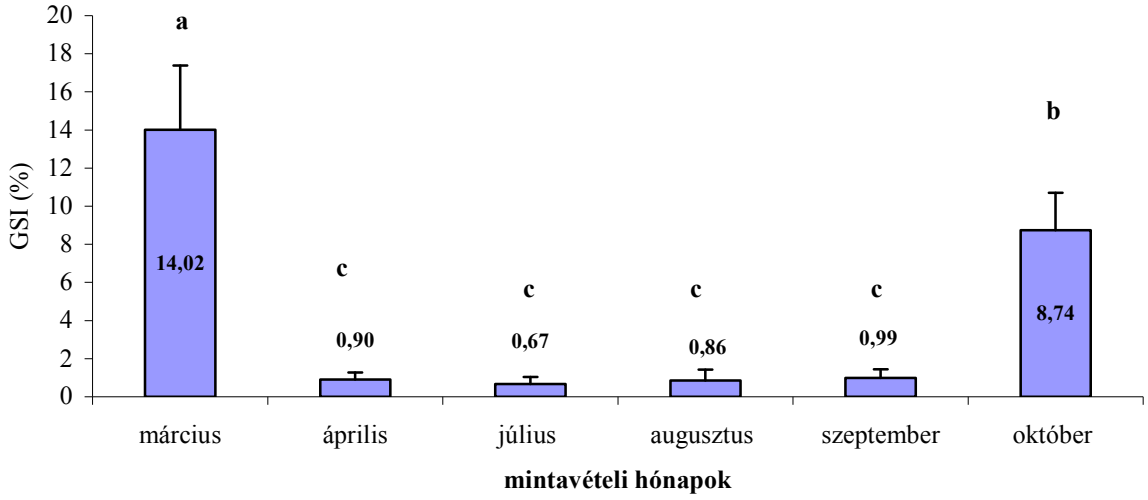
A balin faj petefészkeiből készített szövettani metszeteken lévő eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek átmérőinek alakulását a 3. táblázatban foglaltam össze.

stádium	**méret (µm)**
protoplazmás	…-300
"gyűrűs" vakuolizálódás	320-630
teljes vakuolizálódás	480-840
vitellogenezis	810-1350

3. táblázat A balin petefészkének szövettani metszetein lévő eltérő fejlődési stádiumban lévő follikulusok átmérőinek alakulása

<u>A GSI szezonális változása</u>

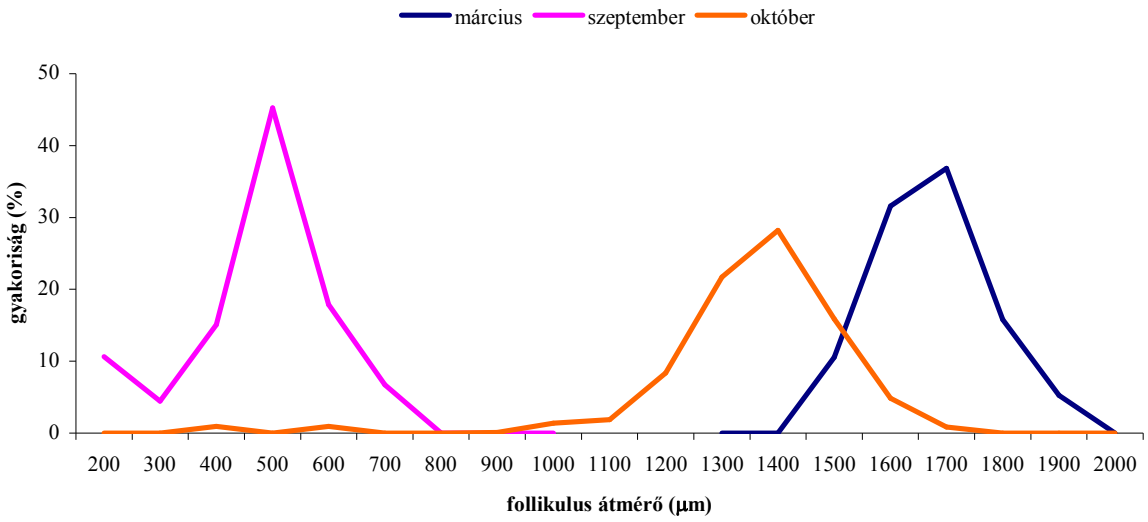
A balin ikrásainak petefészkében az ívást megelőző időszakban rendkívül intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak (2. ábra). Ezt a megállapítást támasztják alá az ábrán is látható GSI értékeknek éves szintű változása a mintavételi hónapok során, majd pedig intenzív emelkedése az ívást megelőző néhány hónapban, március hónapban. A vizsgálatok során megállapítottam, hogy balin esetében az ívási időszak alatt jellemző GSI érték viszonylag magas. A balin esetében a kapott adatokból is jól látható, hogy az ívási időszakot követően a GSI értéke hirtelen lecsökken (14,02 %-ról 0,9 %-ra), és szeptemberig nem is emelkedik 1 % fölé. Október hónapban jelentős növekedés tapasztalható a petefészkek tömegében, ami a tavaszi ívási időszakig – feltehetően - nem is csökken. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki ($P<0,05$).



2. ábra Balin ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05)

A follikulusok átmérőinek változása

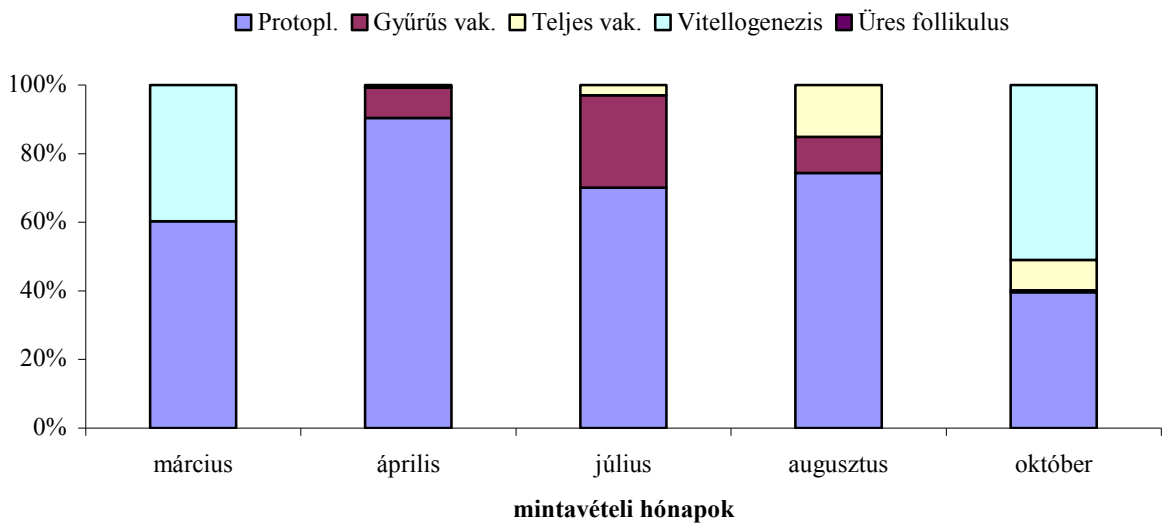
A balin petefészkeiben a follikulusok (oocyta és az azt körülvevő theca illetve granulosa sejtek rétege) átmérőinek meghatározásához korlátozottak voltak a mintavételi lehetőségeim, így csak három különböző hónapban tudtam adatot gyűjteni. Azonban ezekből az adatokból is jól látható (3. ábra), hogy március hónapban a balin ikrások petefészkeiben a follikulusok átmérőinek mennyiségbeli eloszlása a 1400-2000 μm-nél mutat egy csúcsot (37 %). Az ősz beköszöntével szeptemberben az ivarszervekben még csak a kisebb átmérőjű (300-800 μm) follikulusok találhatóak, amelyek nagysága októberre akár háromszorosára is nőhet (1000-1800 μm).



3. ábra A balin ikrások petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban

<u>A szövettani metszetek feldolgozása során kapott eredmények bemutatása</u>

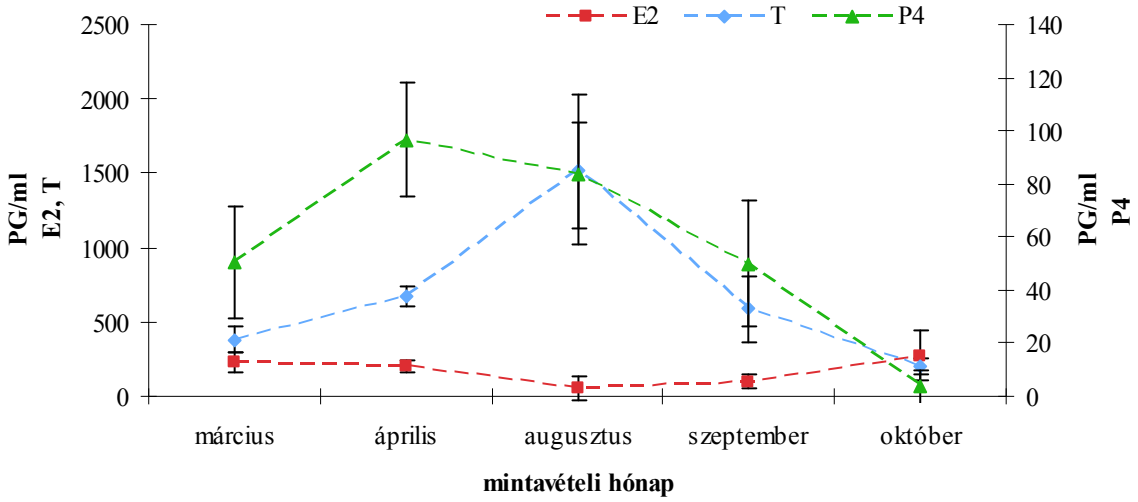
Balin fajban a márciusi mintavételkor a petefészkekben csak a vakuolizálódás előtti, valamint a vitellogenezis stádiumában lévő oocytákat láttam (4. ábra), míg vakuolizálódó sejteket egyáltalán nem találtam a metszeteken. Áprilisra a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek nagy valószínűséggel ovuláltak és az íváskor kiürültek a petefészkekből, így csak a következő sejtgeneráció vakuolizálódás előtti állapotában lévő sejtjeit, valamint éppen fejlődő ún. „gyűrűs“ vakuolizálódó sejteket találtam a mintákban. Néhány százalékban még felfedezhetőek voltak az ovuláció során kiürült, üres ún. „follikulus-zsákok“ is. A júliusi mintában a vakuolizálódás stádium előtti állapotban lévő oocyták száma jóval meghaladta a vakuolizálódó sejtek mennyiségét, míg vitellogenezis stádiumban lévő oocytákat csak nagyon kis százalékban találtam. Augusztusban ezeknek a sejteknek a száma fokozatosan megnövekedett. Október hónapban jól látható, hogy a vakuolizálódás stádiuma előtti állapotban lévő oocyták száma és a vitellogenezis stádiumában lévők száma közel azonos, míg a vakuolizálódó oocyták csak kis mennyiségben voltak jelen a petefészek mintákban (4. sz. melléklet).



4. ábra A balin ikrások petefészkeiből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok mérése során kapott eredmények bemutatása

Az ábrán (5. ábra) jól látszik a három szteroid hormon változásának tendenciája. A progeszteron szintje a mintavételezések során végig alacsony szinten mozog. Az ívást követően viszonylag magas értéke (56,07 PG/ml) fokozatosan csökken, októberre éri el a 11,39 PG/ml értéket. A 17-β-ösztradiol már sokkal látványosabb változáson megy keresztül. A márciusi ívást követően közepesnek mondható értéke (324,62 PG/ml) lecsökken, majd az őszi időszakban kezd el újra emelkedni, ahogy az ikrások szervezetében megkezdődnek az intenzív sejtépítő folyamatok. A tesztoszteron szintje ezzel szemben ívást követően megemelkedik (534,13 PG/ml), majd mennyisége fokozatosan csökken, azaz szerkezetileg ösztrogénné alakul október hónapra.



5. ábra A balin faj ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

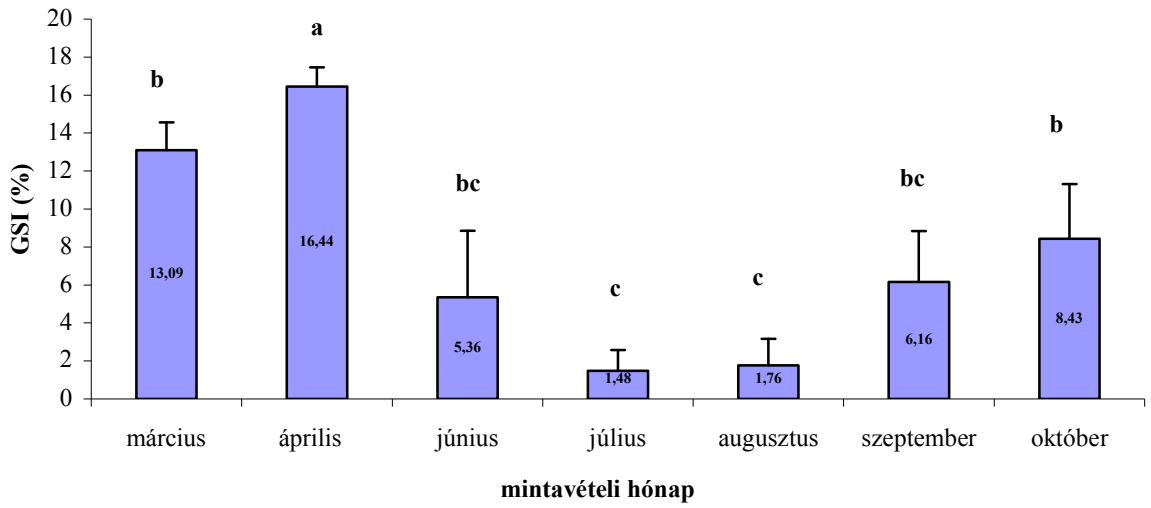
4.1.2. A bagolykeszeg fajban kapott eredmények bemutatása

stádium	**méret (µm)**
protoplazmás	…-230
"gyűrűs" vakuolizálódás	180-320
teljes vakuolizálódás	330-470
vitellogenezis	470-1350

4. táblázat A bagolykeszeg petefészkének szövettani metszetein lévő eltérő fejlődési stádiumban lévő follikulusok átmérőinek alakulása

<u>A GSI szezonális változása</u>

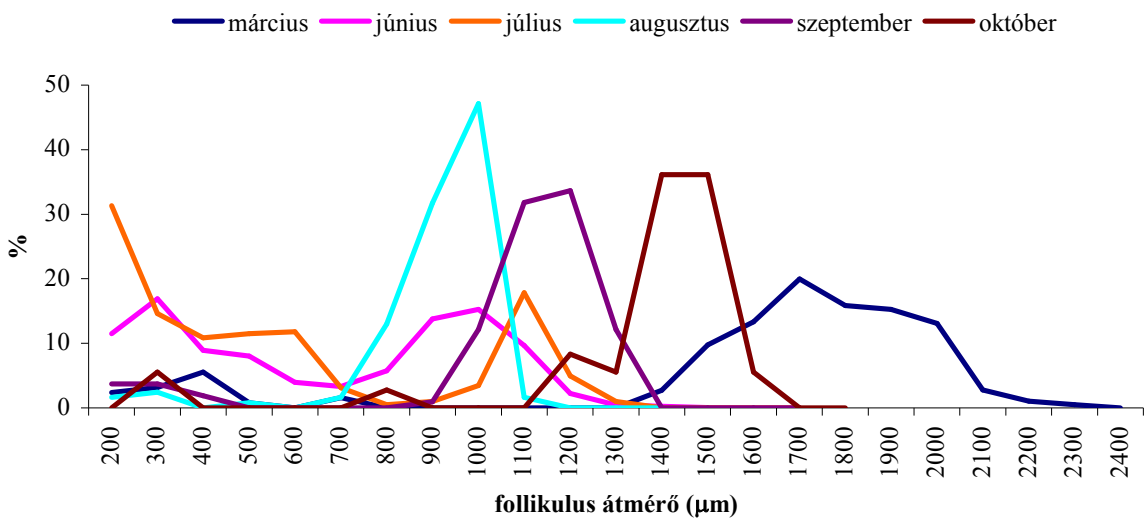
A kora tavaszi hónapban a bagolykeszeg GSI értéke viszonylag magasnak mondható értéket (13,09 %) mutat, ami az ívás közeledtével 16,43 %-ra növekszik (6. ábra). Ívást követően petefészkének testtömeghez viszonyított százalékos értéke fokozatosan csökken egészen a késő nyári, augusztus hónapig. Szeptember hónaptól GSI értéke fokozatosan emelkedik, októberre eléri a 8,23 %-ot.



6. ábra Bagolykeszeg ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05).

A follikulusok átmérőinek változása

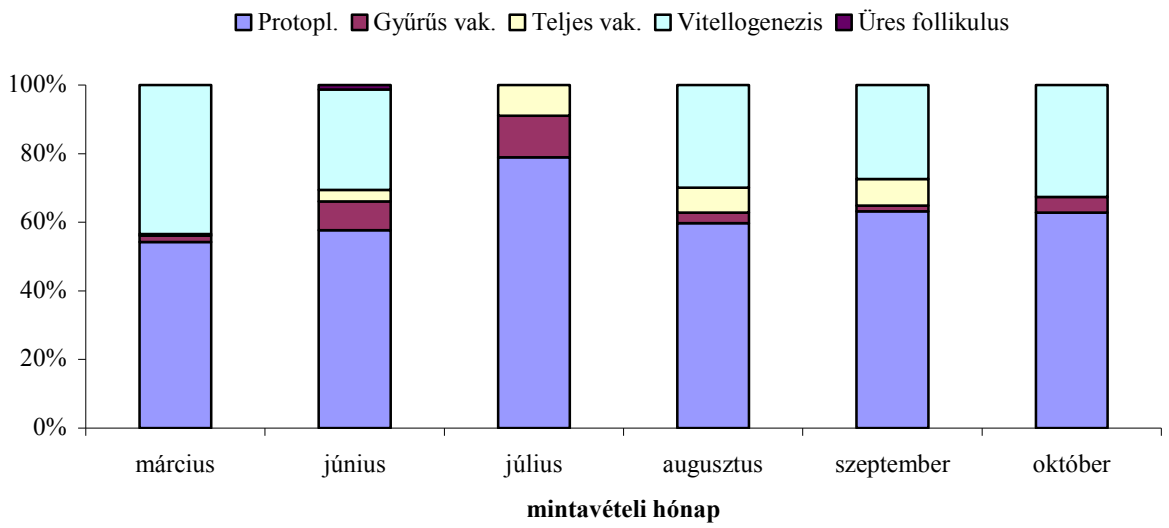
A bagolykeszeg follikulus átmérőinek vizsgálata során kapott adatokból kitűnik (7. ábra), hogy a kora tavaszi ívási időszakban a legnagyobbak az oocyták. Az őket körülvevő follikuláris tokkal együtt átmérőjük ekkor 1400-2200 µm közötti értékre tehető. A nyári hónapokban (június és július) a petefészkekben található follikulusok mérete nem haladja meg a 1300 µm-t és mennyiségbeli eloszlásuk is egyöntetűbb az egyes méretkategóriákon belül. Június és július hónapban az apróbb, 200-400 µm–es follikulusok vannak jelen nagy számban a petefészkekben. Ezeknek a száma nyár végével fokozatosan csökken, és októberre fokozatosan megemelkedik a nagyobb átmérőjű (1100-1700 µm) follikulusok mennyisége.



7. ábra A bagolykeszeg ikrások petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban

<u>A szövettani metszetek feldolgozásából származó eredmények bemutatása</u>

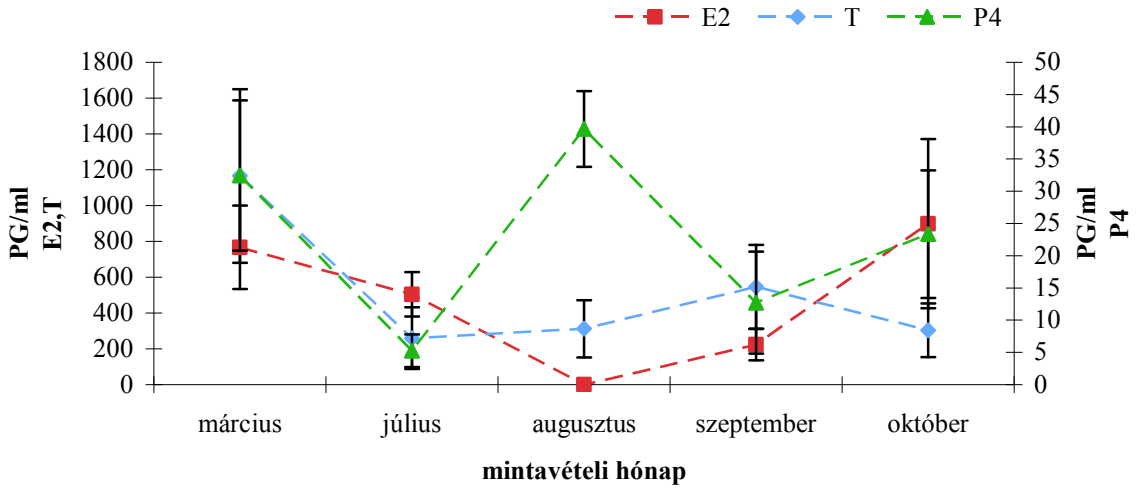
A bagolykeszeg petefészkében az ívási időszak körüli márciusi mintavételkor szinte csak a vakuolizálódás előtti, valamint a vitellogenezis stádiumában lévő oocytákat vannak (8. ábra). „Gyűrűs“ vakuolizálódó sejteket csak igen kis százalékban tudtam felfedezni a szövettani metszeteken. Június hónapra megnövekedett a vakuolizálódó sejtek mennyisége és kiürült „follikulus-zsákok“ is észrevehetőek voltak a mintákban. Nyár közepére a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták teljesen kiürültek a petefészkekből, míg a vakuolizálódás stádiumában lévő sejtek száma fokozatosan nőtt. Augusztusra már megjelennek a szikkel telt petesejtek és október hónapig a vakuolizálódó sejtek száma is nő. Októberre befejeződik a sejtek minőségbeli átalakulása és az egyes fejlődési stádiumok közötti mennyiségbeli arányok már csak igen kis mértékben változnak a tavaszi ívásig. Ekkorra a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek aránya növekszik meg (4. sz. melléklet).



8. ábra A bagolykeszeg ikrások petefészkeiből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok mérése során kapott eredmények bemutatása

A bagolykeszegben a vérben lévő progeszteron hormon szintje az ívást követően lecsökken 33,38 PG/ml-ről 5,26 PG/ml-re és csak az őszi hónapokban kezd újra emelkedni (12,72 PG/ml) (9. ábra). Szeptemberről októberre a vérben keringő progeszteron mennyisége csaknem megduplázódik (23,35 PG/ml) és a téli hónapokban ívásig feltételezhetően már csak igen kis mértékben növekszik. A 17-β-ösztradiol mennyisége ívást követően fokozatosan csökken szeptemberig (223,3 PG/ml), majd októberben még a márciusi íváskor mért értéket is meghaladja (898,98 PG/ml). A tesztoszteron szintje ívást követően lecsökken, majd szeptemberben 546,7 PG/ml-re növekszik, hogy aztán októberben egy átmeneti csökkenő tendenciát mutasson (303,57 PG/ml).



9. ábra A bagolykeszeg faj ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

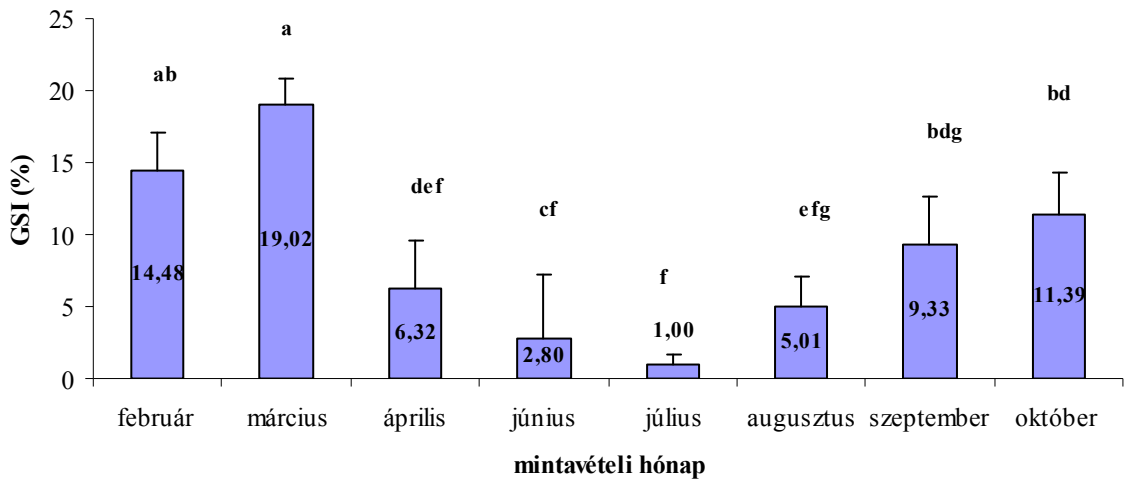
4.1.3. A jászban kapott eredmények bemutatása

stádium	**méret (µm)**
protoplazmás	…-340
"gyűrűs" vakuolizálódás	210-430
teljes vakuolizálódás	410-590
vitellogenezis	640-1180

5. táblázat A jász petefészkének szövettani metszetein lévő eltérő fejlődési stádiumban lévő follikulusok átmérőinek alakulása

<u>A GSI szezonális változása</u>

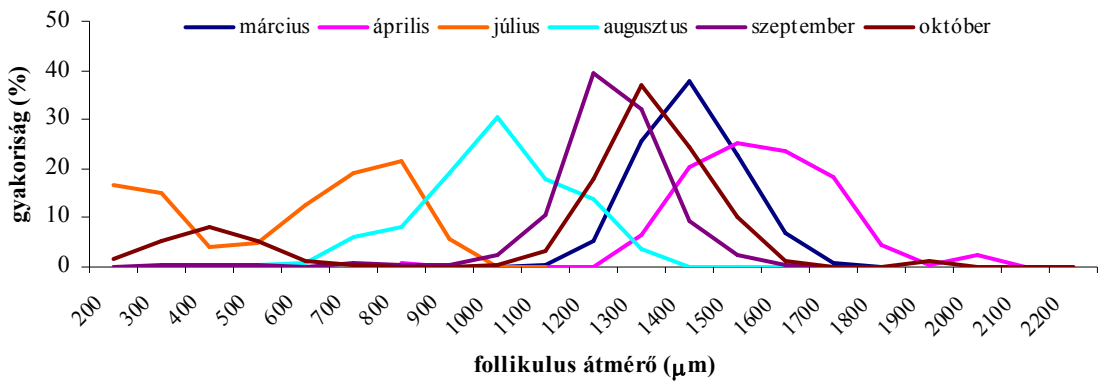
Az ábráról (10. ábra) megállapítható, hogy a jász ikrásainak petefészkében az ívást megelőző hónapokban intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak. Februárban a jász petefészkének és testtömegének százalékos aránya már igen magas értéket mutat (14,48 %), ami a márciusi ívási időszakra tovább nő (19,02 %). Az ívási időszakot követően a GSI értéke lecsökken (6,32 %), és csak augusztusban emelkedik 5 % fölé. Az őszi hónapokban a GSI értéke tovább növekszik és még a téli hónapok előtt megközelíti a februári értéket, amitől alig 3 %-al marad csak el (11,39 %).



10. ábra Jász ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05)

A follikulusok átmérőinek változása

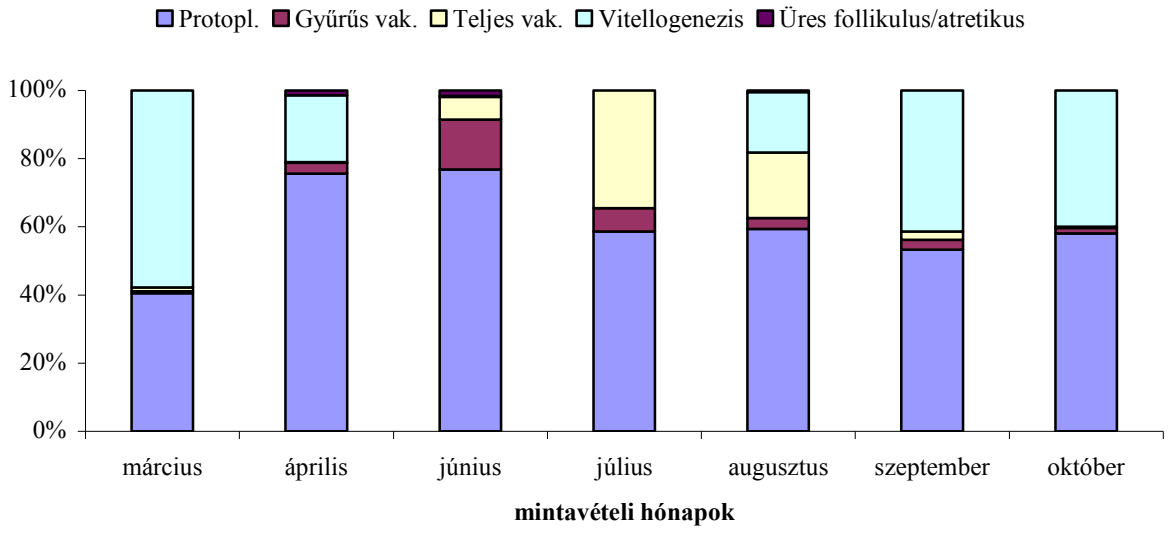
A jász petefészkéből vett mintákban található follikulus átmérőinek vizsgálata során megállapítottam, hogy a tavaszi ívási időszakban érik el maximális nagyságukat, mikor átmérőinek átlagos eloszlása 1200-2200 µm közé esik. A nyár folyamán a follikulusok mérete nem haladja meg az 1000 µm-t, majd augusztusban átmérőjük újra növekedni kezd és az őszi hónapokra méretük 1000 µm fölé emelkedik. Októberben a follikulusok 38 %-a éri el az 1300 µm-es maximális nagyságot, ami szorosan megközelíti a márciusi 1400 µm körüli értéket. Jól látható az ábrákon, hogy a petefészekben található follikulusok mértei szeptembertől kora tavaszig szűk határokon belül mozognak (11. ábra).



11. ábra A jász faj ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban

A szövettani metszetek feldolgozásából származó eredmények bemutatása

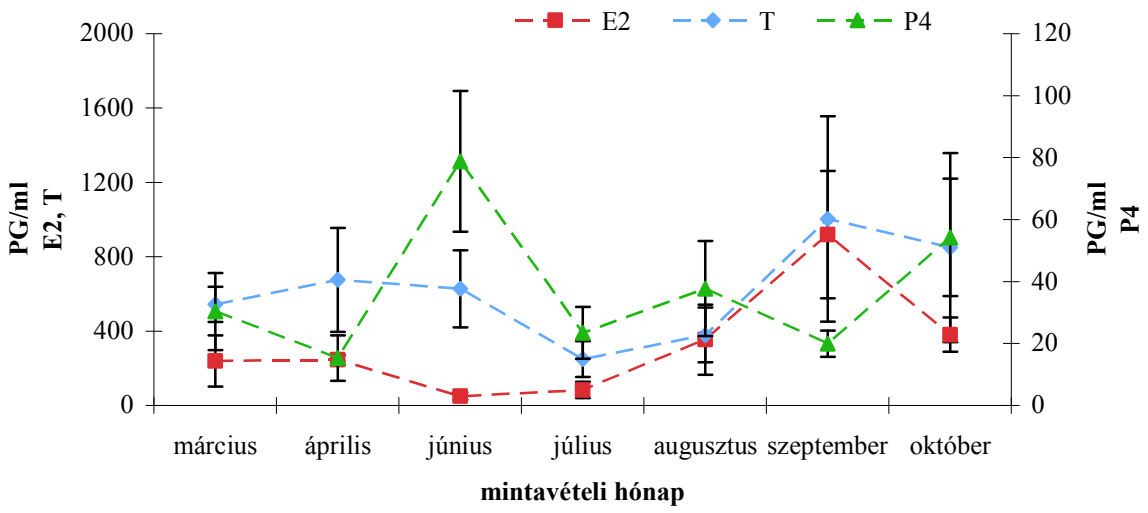
Jászban a márciusi ívási időszak alatt vett mintákban szinte csak a vakuolizálódás előtti, valamint a vitellogenezis stádiumában lévő oocytákat találtam (12. ábra). Vakuolizálódó sejtet csak igen kis százalékban tudtam megszámlálni a szövettani metszeteken. Áprilisban a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek százalékos aránya csökkent, és az ovuláció során kiürült „follikulus-zsákok" is észrevehetőek voltak. Júliusra teljesen eltűntek a szikkel telt petesejtek a mintákból, helyüket a vakuolizálódás stádiumában lévő oocyták vették át. Augusztusban megkezdődött a szikszemcsék beépülése a sejtekbe, ami a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek mennyiségének növekedésében nyilvánult meg. Szeptemberben és októberben az oocyták fejlődési stádiumainak aránya nem változott számottevően (4. sz. melléklet).



12. ábra A jász ikrások petefészkeiből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok mérése során kapott eredmények bemutatása

A jász vérplazmájában mért szteroid hormonok adatainak vizsgálatakor megállapítottam (13. ábra), hogy a progeszteron hormon szintje az éves ivari ciklus alatt igen alacsony értéket mutat. A márciusi ívást követően vérben lévő mennyisége lecsökken, július hónapban mutat egy enyhe emelkedést, hogy szeptemberre értéke újra 20 PG/ml alá essen. Mennyisége októberben eléri a 73,01 PG/ml-t. A 17-β-ösztradiol mennyiségének változása egy ideig hasonló tendenciát mutat a tesztoszteron mennyiségének változásával, azzal a különbséggel, hogy szeptemberben a tesztoszteron szintjének növekedése meghaladja a 17-β-ösztradiol szint növekedését. Októberben mindkét hormon szintje 400 PG/ml alá csökken.



13. ábra A jász faj ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

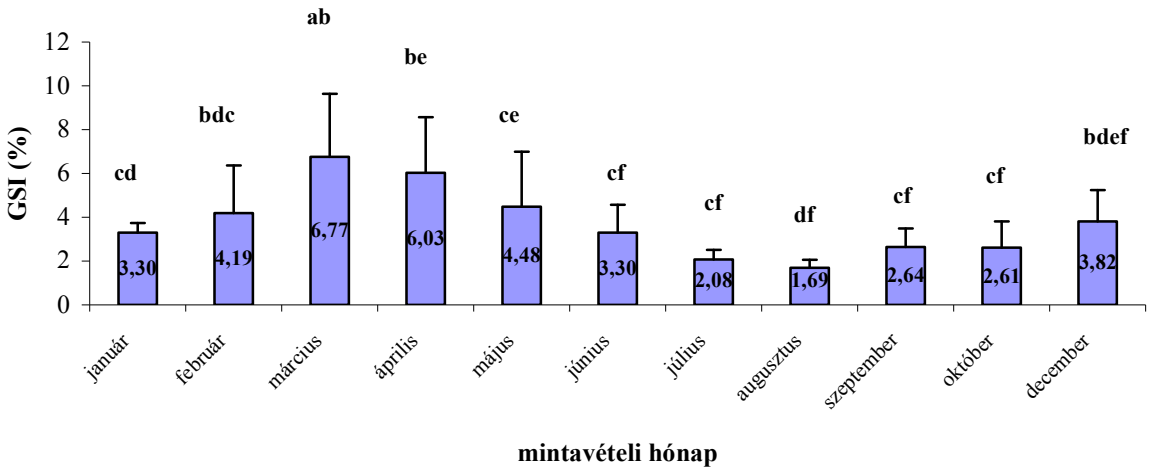
4.1.4. A márnában kapott eredmények bemutatása

stádium	**méret (µm)**
protoplazmás	…-320
"gyűrűs" vakuolizálódás	200-410
teljes vakuolizálódás	350-730
vitellogenezis	670-1710

6. táblázat A márna petefészkének szövettani metszetein lévő eltérő fejlődési stádiumban lévő follikulusok átmérőinek alakulása

<u>A GSI szezonális változása</u>

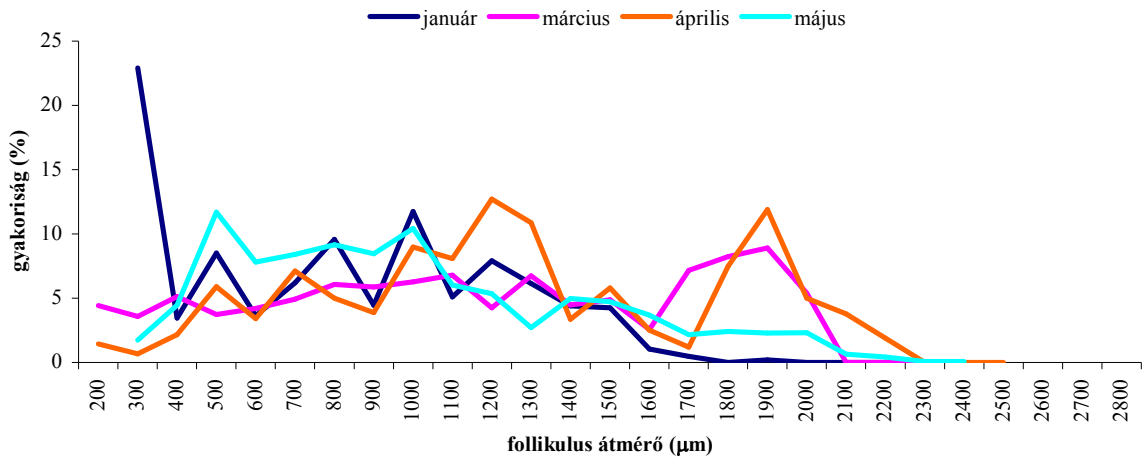
A márna ikrásainak petefészkében az éves ivari ciklus folyamán igen intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak (14. ábra). Ezt a megállapítást támasztják alá a GSI értékeknek éves szintű változásai a mintavételi hónapok során, majd azok emelkedése az ívási időszakot megelőzően. A márna íváskori közepesnek mondható GSI értéke (6,77 %) a tavaszi szaporodási szezont követően fokozatosan csökken egészen augusztus hónapig, ekkor éri el ugyanis legalacsonyabb értékét (1,69 %). Szeptemberrel megkezdődik a petefészkek tömegének fokozatos gyarapodása, ami a téli hónapok alatt csak kis mértékben változik a kora tavaszi időszakig.



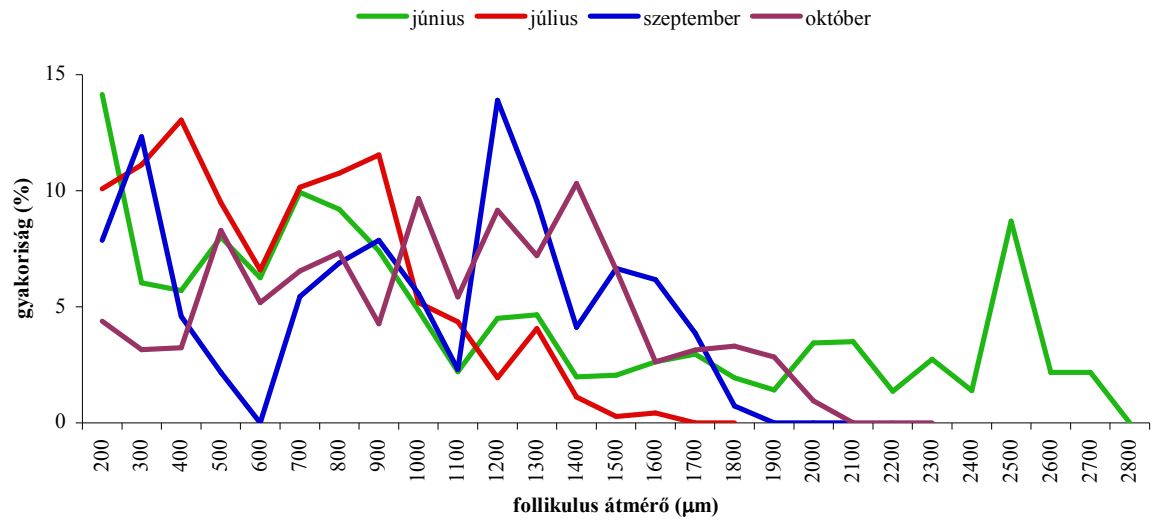
14. ábra Márna ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05).

A follikulusok átmérőinek változása

A márna petefészkeiben a follikulusok átmérőinek meghatározása során megállapítottam, hogy a márna oocyta nagyságainak százalékos eloszlása egész évben viszonylag állandóságot mutat, kisebb-nagyobb eltérésekkel az egyes évszakok között (15. és 16. ábra). Jól látható, hogy januárban a follikulusok átmérője inkább a kisebb értékeknél mutat csúcsot és ahogy közelednek a tavaszi hónapok, úgy növekednek fokozatosan az oocyták. Márciusban kettő (1200 µm és 2000 µm), míg áprilisban egy (2000 µm) igen jellemző csúcsot tudok megkülönböztetni a többi hónap értékeitől. Ezt követően a következő hónapokban eloszlanak a mérettartományok. Érdekesség, hogy júniusban még találtam igen nagy follikulusokat a petefészkekben. A júliusi kisebb méreteket egyre növekvő őszi értékek követik.



15. ábra A márna faj ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban (I. félév)

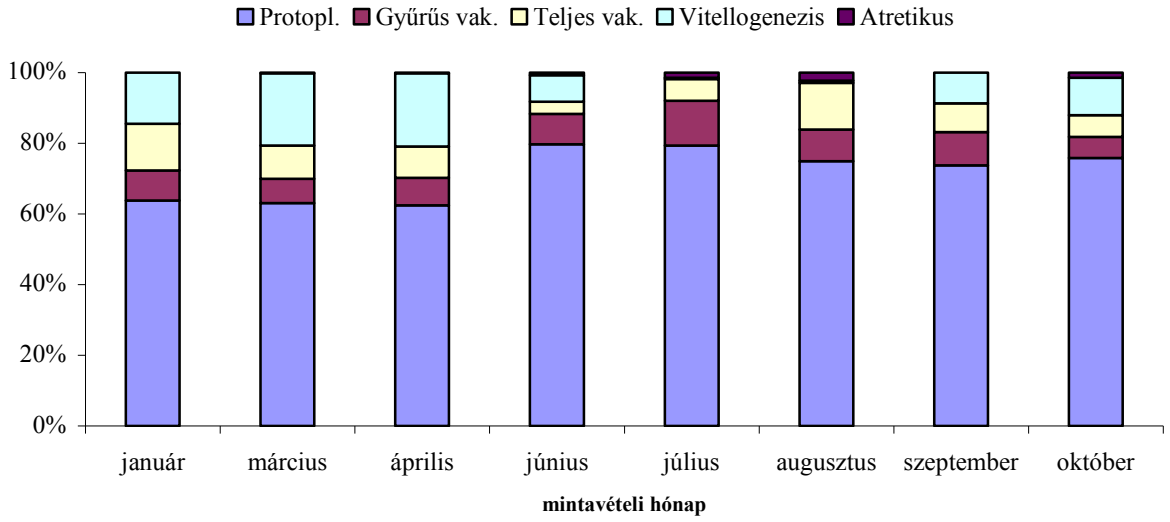


16. ábra A márna faj ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban (II. félév)

A szövettani metszetek feldolgozásából kapott eredmények bemutatása

A márna petefészkéből készített metszeteken jól nyomonkövethető (17. ábra) a márna fajra jellemző petefejlődés típusa, miszerint nincsenek éles átmenetek az egyes stádiumok között és ezeknek havonkénti eloszlásában sem. Már év elejétől kezdve találtam a petefészkekben az egyes fejlődési stádiumokat képviselő oocytákat. A vakuolizálódás előtti állapotban lévő sejtek aránya egyik vizsgált hónapban sem csökken 60% alá, és a vitellogenezis stádiumában lévő sejteket, a két késő nyári hónapot kivéve, is felfedeztem minden mintavétel alklamával. Júniusban lecsökken a szikkel telt sejtek mennyisége és velük párhuzamosan megjelennek a petefészkekben a kiürült

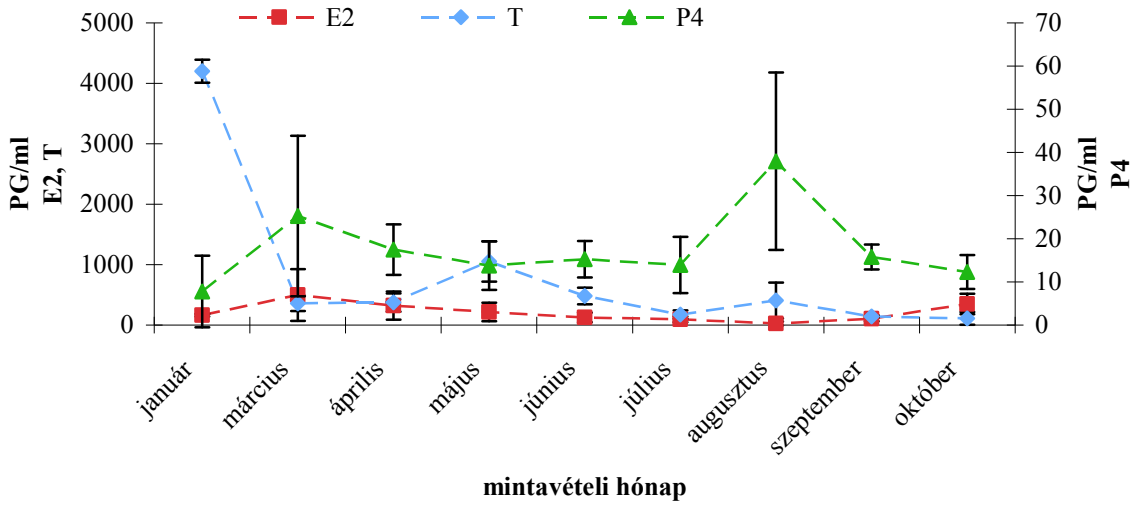
follikulusok. Júliusról augusztusra megnövekszik az atretikus sejtek mennyisége, majd szeptemberben újra elkezdődik a sejtek minőségbeni átalakulása és megszaporodik a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek száma. A tél folyamán az egyes fejlődési stádiumokhoz tartozó sejtek arányában nagy változás nem történik (4. sz. melléklet).



17. ábra A márna ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok méréséből származó eredmények bemutatása

A márna vérplazmájában mért szteroid hormonok vizsgálata során megállapítottam, hogy a progeszteron hormon szintje az éves ivari ciklus alatt a többi fajnál is mért igen alacsony értéket mutatja (18. ábra). A márciusi magas értéket (29,10 PG/ml) követően mennyisége lecsökken és égészen szeptember hónapig igen alacsony szinten marad. A júliusi alacsony progeszteron hormon szintet (6,54 PG/ml) szeptemberben egy igen magas érték követi (18,98 PG/ml), ami, egy viszonylag kisebb koncentrációbeli visszaeséssel, októberben is m egmarad (14,53 PG/ml). A 17-β-ösztradiol koncentrációjának alakulása hasonló tendenciát mutat a tesztoszteron mennyiségének változásával egészen a késő őszi időszakig, mikor a 17-β-ösztradiol vérben mért koncentrációja a szeptemberi alacsony értéket követően hirtelen megemelkedik (441,80 PG/ml), míg a tesztoszteron szintje ezzel párhuzamosan tovább csökken (85,01 PG/ml).



18. ábra A márna ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

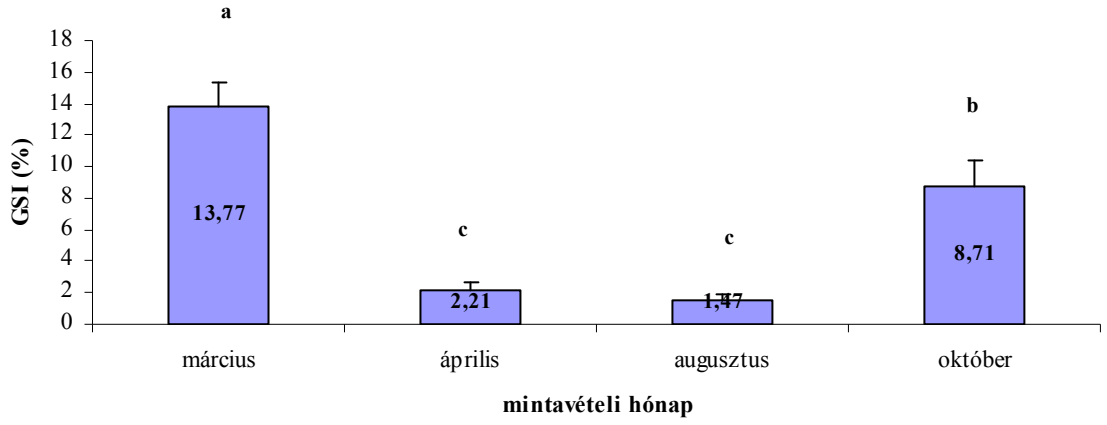
4.1.5. A bodorkában kapott eredmények bemutatása

stádium	**méret (µm)**
protoplazmás	…-250
"gyűrűs" vakuolizálódás	220-380
teljes vakuolizálódás	310-530
vitellogenezis	460-780

7. táblázat A bodorka petefészkének szövettani metszetein lévő eltérő fejlődési stádiumban lévő follikulusok átmérőinek alakulása

<u>A GSI szezonális változása</u>

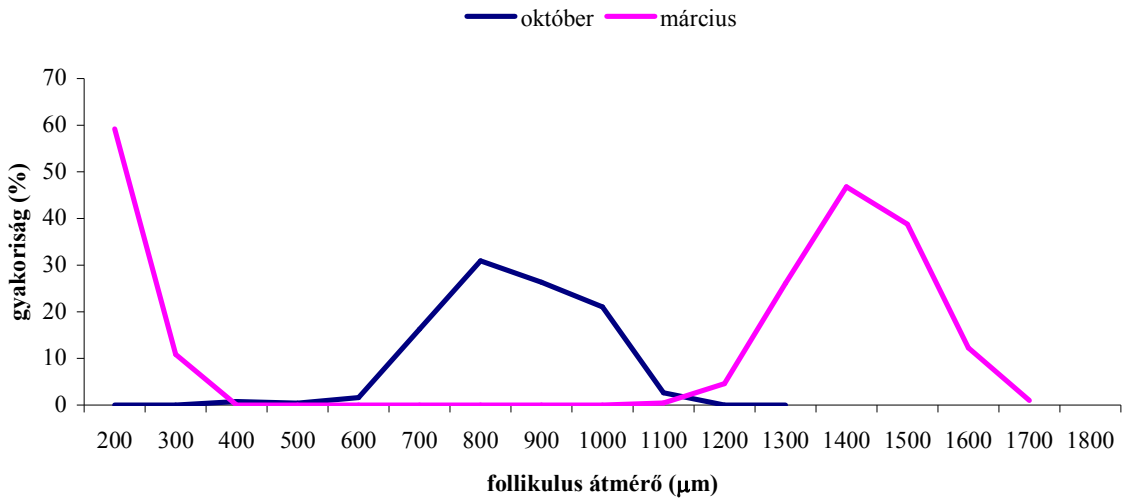
A Dunában gyűjtött bodorka fajt a balatoni mintavételezéssel párhuzamosan, 2007-ben kezdtem el vizsgálni, így sajnos csak néhány hónapban sikerült az eredmények kiértékelhetőségéhez megfelelő egyedszámot begyűjtenünk. Azonban ezekből az adatokból is jól látszik, hogy az íváskor jellemző magas GSI érték (13,77%) közvetlenül az ívás után hirtelen lecsökken (2,21%). Ezt a csökkenést követi a petesejtek fejlődésében a nyári nyugalmi időszak és csak ezt követően október hónapban kezd el újra növekedni a GSI értéke (19. ábra).



19. ábra Bodorka ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05)

A follikulusok átmérőinek változása

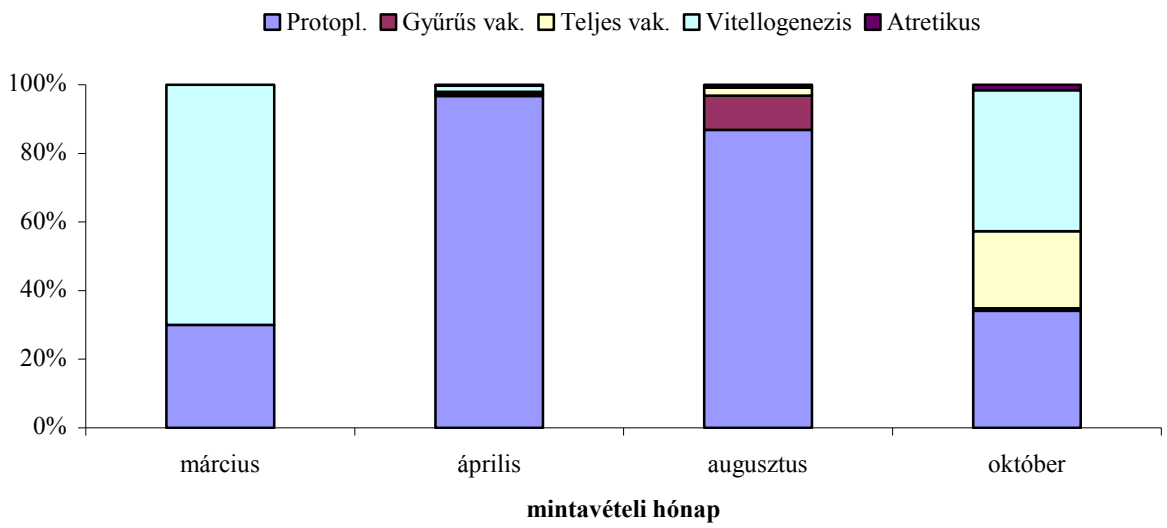
A follikulusok átmérőinek meghatározása során megállapítottam, hogy a bodorka petefészkében az oocyták nagysága íváskor 1100 és 1700 µm skálán mozog, valamint igen nagy százalékban találhatóak a petefészkekben még éretlen, kis átmérőjű follikulusok is (20. ábra). Ezzel ellentétben október hónapban a petefészekben található follikulusok átmérője jóval lemarad a tavaszi átlagtól. Nagyságuk ekkor 600-1100 µm közöttire tehető. Április és augusztus hónapban a petefészekben található sejtek mérete annyira kicsi volt, hogy nem volt alkalmam a follikulusok átmérőinek meghatározására.



20. ábra A bodorka faj ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban

A szövettani metszetek feldolgozásából kapott eredmények bemutatása

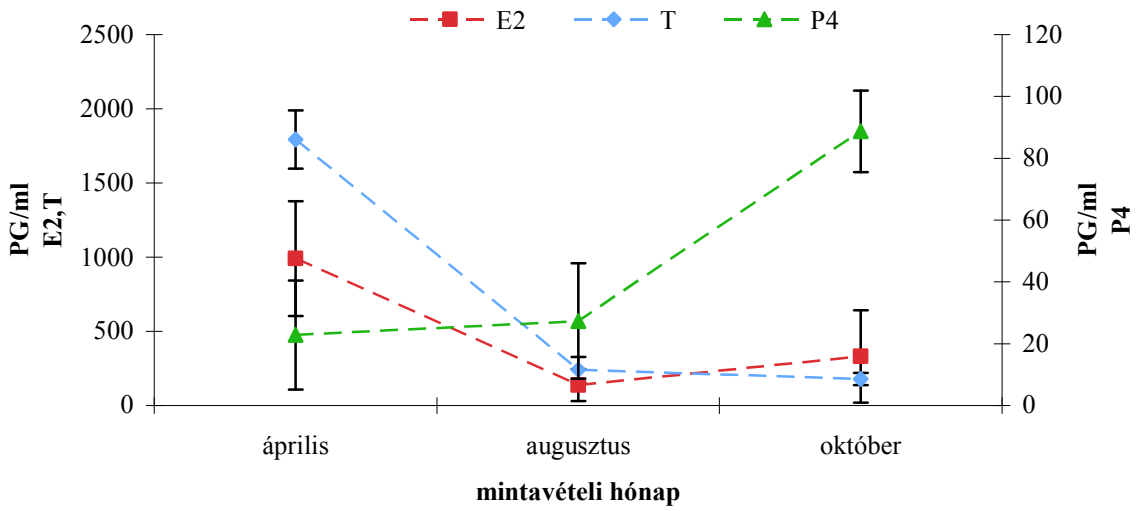
Az egyes mintavételezések során készített szövettani metszeteken jól látható a különböző időpontban gyűjtött egyedek petefészkeiben az egyes fejlődési stádiumban lévő sejtek aránya (21. ábra). A kora tavaszi íváskor a petefészekben kizárólag vakuolizálódás előtti valamint vitellogenezis stádiumában lévő sejteket találtam. A szikkel teli sejtek száma hirtelen lecsökkent az ívást követően, majd augusztusban megjelntek az első vakuolizálódó sejtek. Októberben a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták mennyisége már eléri a 40 %-ot, és mindezek mellett nagy számban találtam vakuolizálódó sejteket is a petefészek metszeteken (4. sz. melléklet).



21. ábra A bodorka ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok méréséből származó eredmények bemutatása

A bodorkában mért szteroid hormonok adatainak vizsgálatakor megállapítottam (22. ábra), hogy a vérben lévő progeszteron hormon szintje az ívást követő április hónapban igen alacsony koncentrációban (26,77 PG/ml) van jelen. Augusztusban a vérben lévő progeszteron mennyisége megnő (32,40 PG/ml) és további növekvő tendenciát mutat októberig, amikor eléri a mintavételi időpontok közül a maximális értékét (88,73 PG/ml). A 17-β-ösztradiol koncentráció csak kis mértékben változik az egyes hónapok során. A tavaszi hónapokat követően vérben mérhető mennyisége lecsökken (63,37 PG/ml), majd ősszel koncentrációja növekvő tendenciát mutat (331,20 PG/ml). A tesztoszteron hormon koncentrációja, mint az ösztrogének előhormonja, követi az 17-β-ösztradiol alakulásának tendenciáját. Április hónapban mért magas értékét (926,12 PG/ml) igen alacsony augusztusi koncentráció követi, ami októberben kezd el növekedni (178,58 PG/ml).



22. ábra A bodorka ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

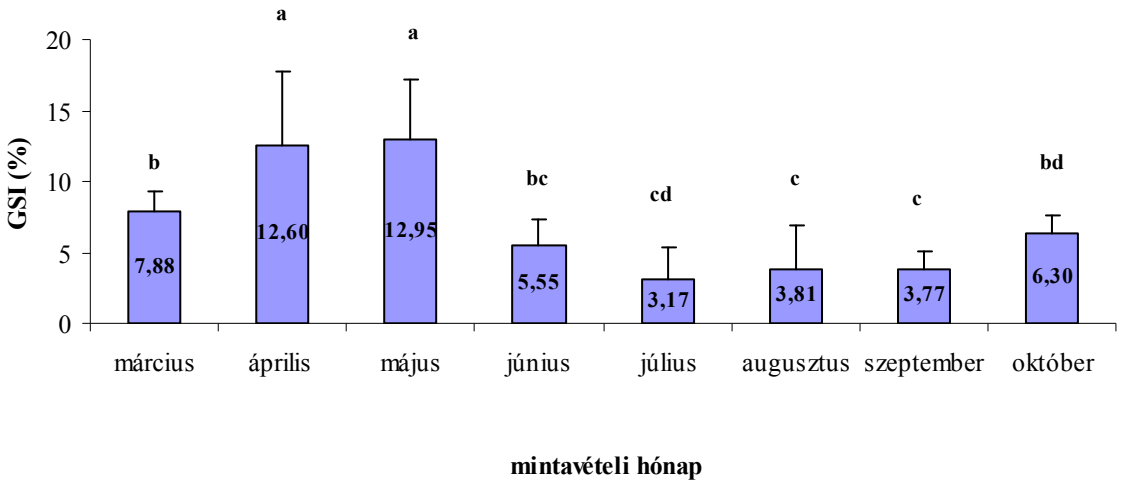
4.1.6. A karikakeszegben kapott eredmények bemutatása

stádium	**méret (µm)**
protoplazmás	...-230
"gyűrűs" vakuolizálódás	240-370
teljes vakuolizálódás	370-570
vitellogenezis	510-890

8. táblázat A karikakeszeg petefészkének szövettani metszetein lévő eltérő fejlődési stádiumban lévő follikulusok átmérőinek alakulása

<u>A GSI szezonális változása</u>

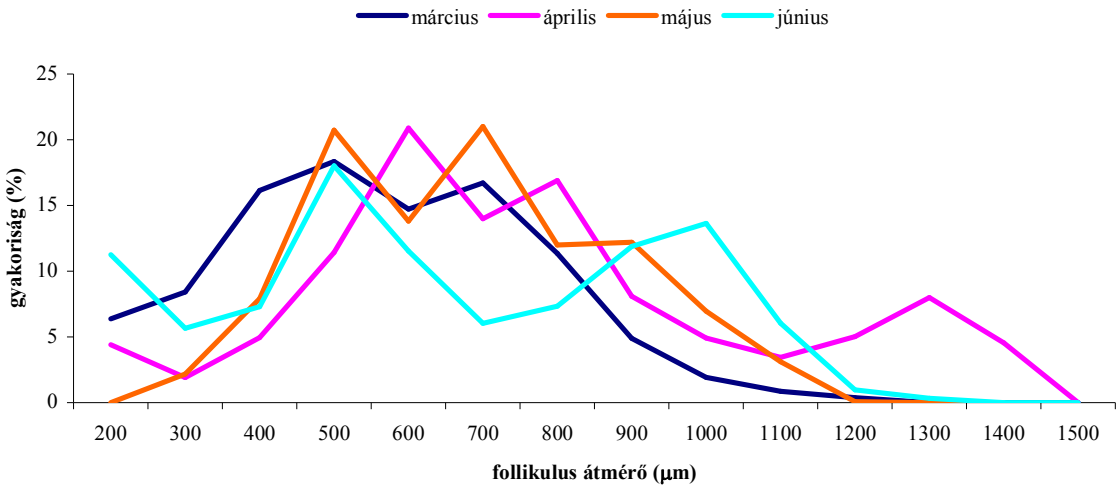
Az ábrán (23. ábra) jól látható, hogy a karikakeszeg ikrásainak petefészkében az éves ivari ciklus folyamán jelentős sejtépítő folyamatok zajlanak. Ezt a megállapítást támasztják alá a GSI értékeknek éves szintű fokozatos változásai a mintavételi hónapok során. Az ívási időszakban (április, május) a GSI értékek elérik a 12,6 % valamint a 12,94 %-ot. Az igen magasnak mondható íváskori GSI értéket fokozatosan csökkenő testtömeg-petefészektömeg index követi. Augusztusban kezdődik el a petefészkek tömegbeli gyarapodása (3,81 %) és ősszel a GSI érték megközelíti a tavasszal kapott eredményeket (6,30 %).



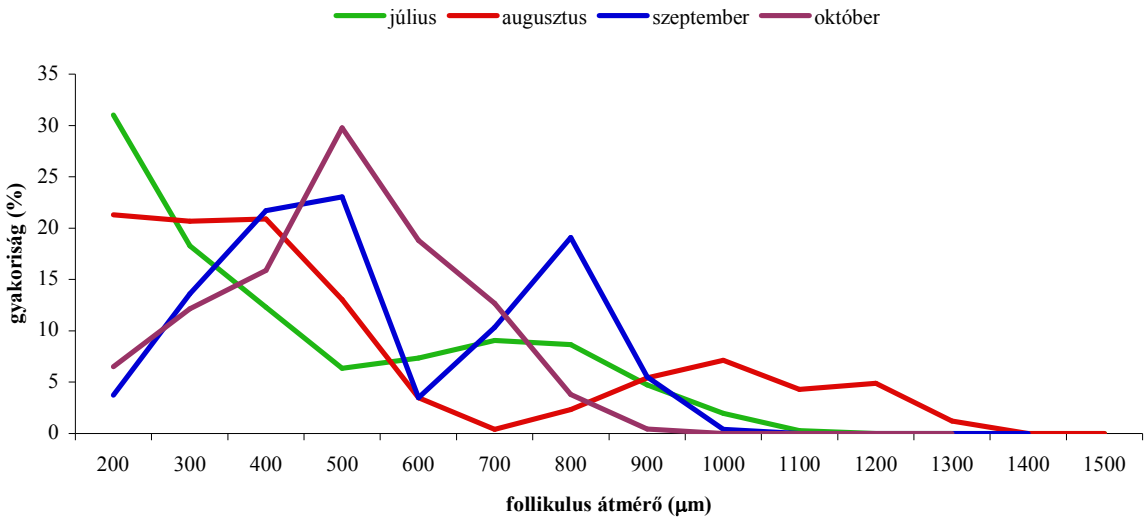
23. ábra Karikakeszeg ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05)

A follikulusok átmérőinek változása

A follikulusok átmérőinek meghatározásakor megállapítottam, hogy a karikakeszeg petefészkében az oocyták nagyságának átlagos eloszlása igen tág skálán mozog az összes mintavételezési időpontban (24. és 25. ábra). Ívási időszakban leginkább április hónapra jellemző a nagyobb follikulusok jelenléte (200-1500 µm), de ezzel szemben még júniusban is találtam igen jelentős méretű oocytákat (1200 µm). Júliusra kiürülnek a petefészekből a nagy átmérőjű oocyták, majd augusztusban újra felfedezhetőek az 1400 µm átmérőjű follikulusok. Szeptemberben és októberben a sejtek nagysága kisebb, egyik hónapban sem haladják meg az 1100 µm-t.



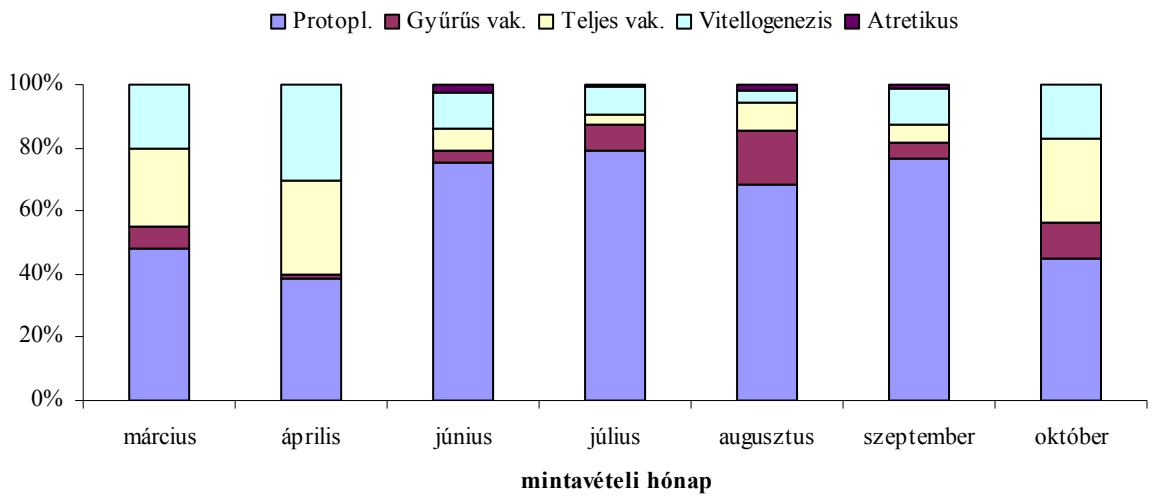
24. ábra A karikakeszeg ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban (I. félév)



25. ábra A karikakeszeg ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban (II. félév)

A szövettani metszetek feldolgozásából kapott eredmények bemutatása

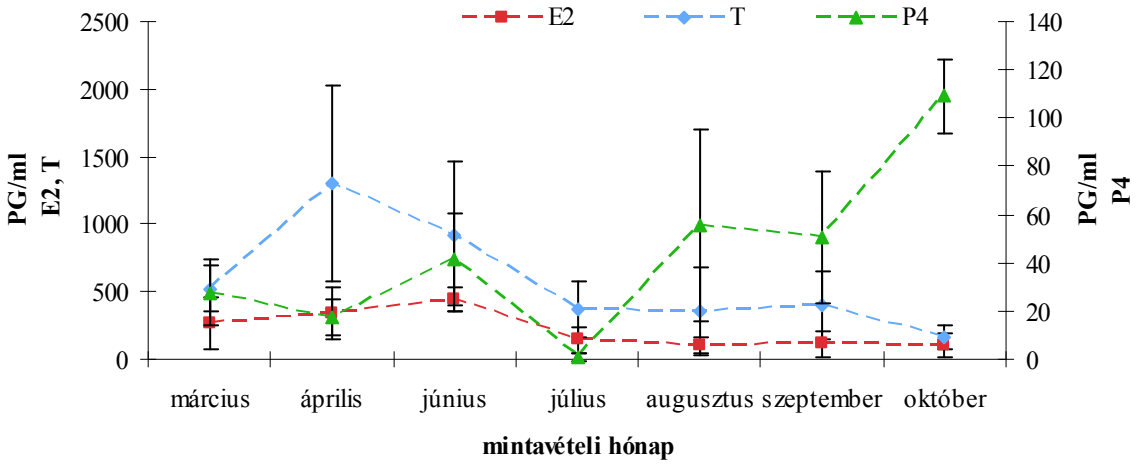
A karikakeszeg petefészkéből készített metszeteken jól nyomonkövethető, hogy nem jellemzőek az egyes mintavételi hónapok fejlődési stádiumai közötti markáns különbségek (26. ábra). Már kora tavasszal találtam a petefészkekben minden fejlődési stádiumot képviselő oocytákat, ami áprilisra annyiban változott, hogy a „gyűrűs“ vakuolizálódás állapotában lévő sejtek átalakultak a következő fejlődési stádiumba. A nyári hónapokra leginkább az jellemző, hogy a petefészek mintákban mindhárom mintavételi időpontban találtam atretikus/degenerálódó sejteket. Ezek a degenerálódó sejt-maradványok szeptemberben is jellemzőek a metszeteken. Októberben vesz ismét lendületet a sejtek minőségbeli átalakulása, az atretikus sejtek eltűnnek, és az egyes stádiumokra jellemző oocyták ismét nagyobb arányban találhatóak meg a petefészkekben (4. sz. melléklet).



26. ábra A karikakeszeg ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok meghatározásából kapott eredmények bemutatása

A karikakeszeg vérplazmájában mért szteroid hormonok koncentrációi a következőképpen alakultak (27. ábra). A vérben lévő progeszteron hormon szintje az ívási időszakra megnövekszik (39,67 PG/ml), majd ezt követően júliusban lecsökken. Ősszel megemelkedik és októberben eléri az általam mért maximumát (108,75 PG/ml). A 17-β-ösztradiol koncentrációjának lefutása hasonlóan alakul a progeszteronéhoz, ezzel ellentétben a tesztoszteron szintje íváskor hirtelen megnövekszik, majd ívást követően ugyanilyen hirtelen lecsökken. Csökkenő tendenciáját az őszi hónapokban is megtartja.



27. ábra A karikakeszeg ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

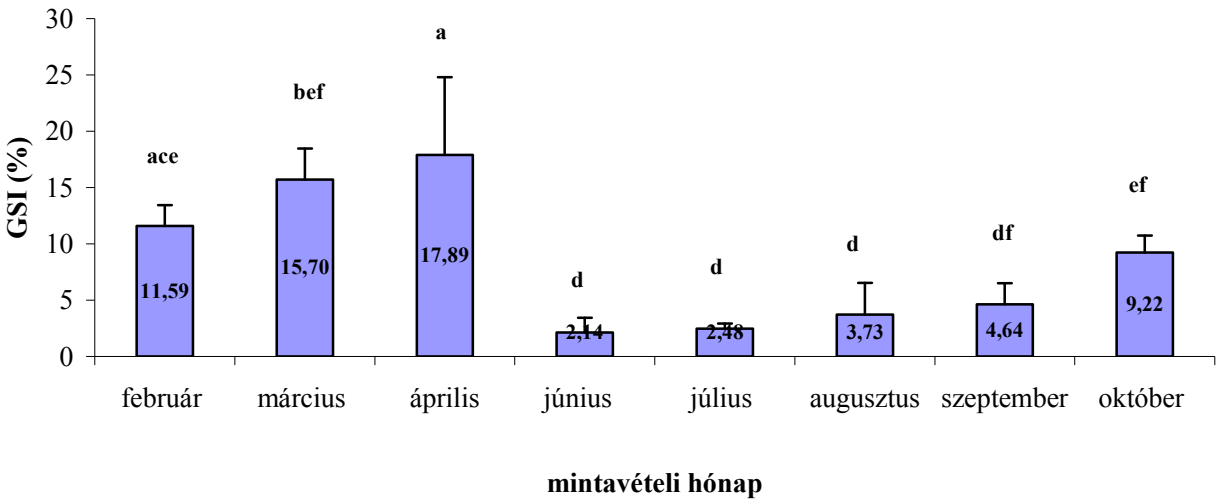
4.1.7. A paducban kapott eredmények bemutatása

stádium	méret (µm)
protoplazmás	…-330
"gyűrűs" vakuolizálódás	200-370
teljes vakuolizálódás	420-570
vitellogenezis	600-1260

9. táblázat A paduc petefészkének szövettani metszetein lévő eltérő fejlődési stádiumban lévő follikulusok átmérőinek alakulása

A GSI szezonális változása

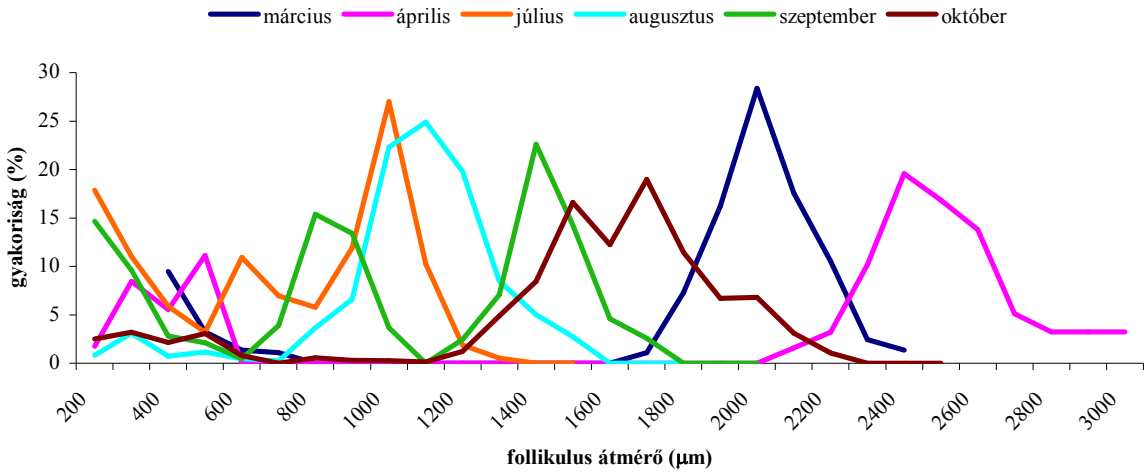
A paduc nőivarú egyedeire az ívási időszakot megelőzően a GSI értékének fokozatos növekedése jellemző (28. ábra). A paduc fajban az íváskori GSI érték igen magas, 17,89 %. Az ívást követően a GSI értéke hirtelen lecsökken és nyár végéig nem is változik jelentősen. Augusztusban kezd el növekedni a petefészek tömege, és a GSI értékének ez a fokozatos gyarapodása jellemző október végéig.



28. ábra Paduc ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05)

A follikulusok átmérőinek változása

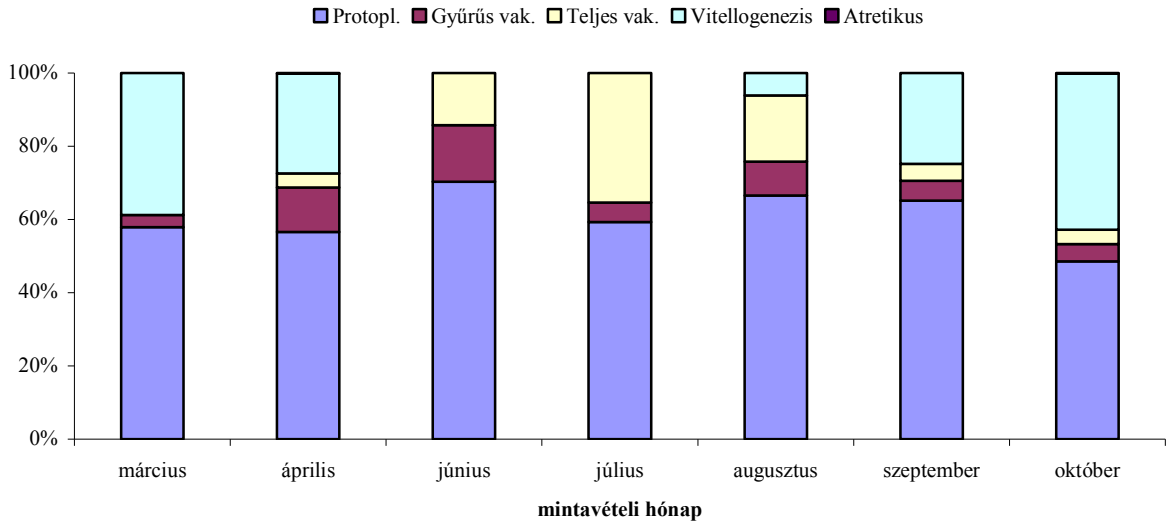
A follikulusok átmérőinek tanulmányozása során megállapítottam (29. ábra), hogy a paduc oocyta nagyságainak százalékos eloszlása az év folyamán igen jellegzetes képet mutat. Minden mintavételi hónapban meg tudtam különbözteteni egy-egy, az adott időszakra vonatkozó, jellemző nagyságot. Márciusban, az ívás közeledtével a follikulusok átmérői 2100 µm-nél mutatnak csúcsot, míg áprilisban méretük a 200-600 µm és a 2100-3000 µm-es tartományba esik. Ívás után a petefészekben maradt follikulusok nagysága nem haladja meg az 1400 µm-t. Az őszi hónapok közeledtével a gonádokban fejlődő follikulusok nagysága fokozatosan növekszik, mígnem októberben átmérőjük megközelíti a kora tavasszal jellemző értékeket.



29. ábra A paduc ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban

A szövettani metszetek feldolgozásából kapott eredmények bemutatása

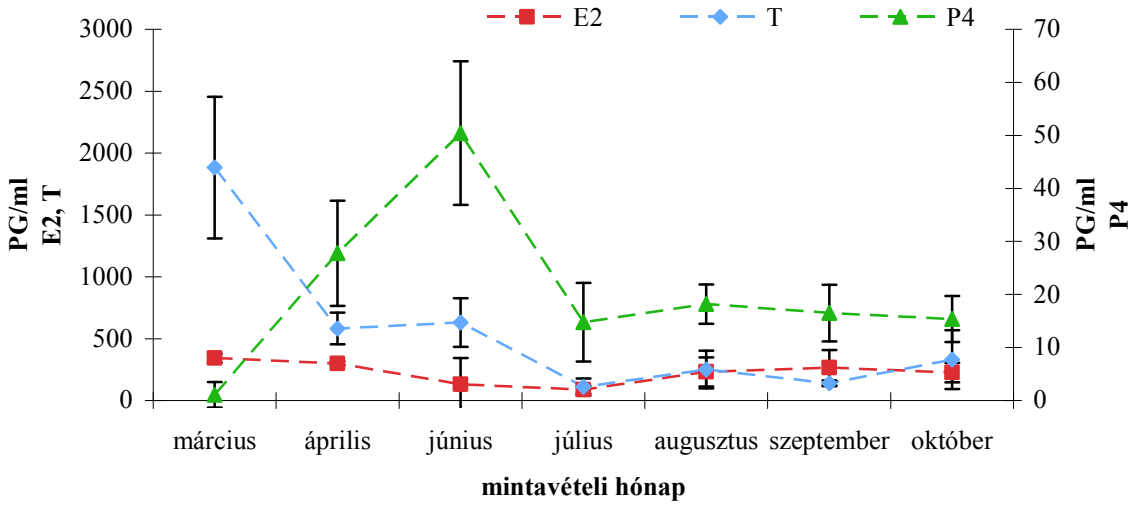
Az egyes mintavételezések során készített szövettani metszeteken jól látható (30. ábra), hogy a kora tavaszi íváskor a petefészekben leginkább vakuolizálódás előtti valamint vitellogenezis stádiumában lévő sejteket találhatóak. A „gyűrűs“ vakuolizálódás állapotában lévő oocyták csak igen kis mennyiségben (3,32 %) voltak jelen. Áprilisban megkezdődött a kezdetleges vakuolizálódás állapotában lévő sejtek átalakulása vakuolizálódó oocytákká, ezzel párhuzamosan csökkent a petefészekben található vitellogenezis stádiumában lévő sejtek aránya. A nyár eleji hónapokban a szikkel teli sejtek teljesen eltüntek a petfészkekből. Augusztusban kezdődik meg a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták számának növekedése és ez a fokozatos számbeli gyarapodás jellemzi az őszi hónapokat is (4. sz. melléklet).



30. ábra A paduc ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok meghatározásából kapott eredmények bemutatása

A progeszteron vérplazmában mért koncentrációja a mintavételezések során végig alacsony szinten mozog (31. ábra). Június hónapban mutat csúcsot (50,42 PG/ml), majd októberig fokozatosan ismét lecsökken (15,38 PG/ml). A 17-β-ösztradiol egyes hónapokban mért értékeinek jellemző görbéje hasonló lefutású a progeszteronéhoz. A márciusi íváskor legmagasabb a koncentrációja (342,55 PG/ml). Júliusig fokozatosan csökken, ezt követően fokozatosan növekvő tendenciát mutat szeptemberig (265,79 PG/ml). Októberben szintje ismét csökken (226,18 PG/ml). A tesztoszteron koncentrációja márciusban igen magas (1882,82 PG/ml) szintről hirtelen lecsökken (581,87 PG/ml), majd júliusban eléri paducban mért legalacsonyabb koncentrációját (110,22 PG/ml). Októberig változó intenzitással, de határozott emelkedést mutat.



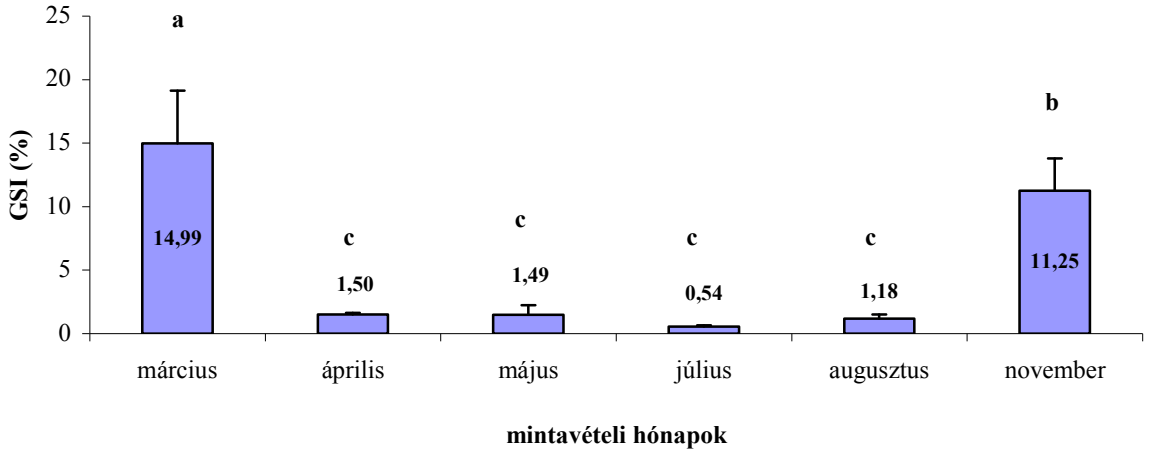
31. ábra A paduc ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

4.2. A Balatonban gyűjtött halfajokban kapott eredmények bemutatása

4.2.1. A bodorka fajban kapott eredmények bemutatása

A GSI szezonális változása

A bodorka ikrásainak petefészkében az ívást megelőzően feltehetően rendkívül intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak (32. ábra). A bodorka petefészkében az ívási időszak alatt a GSI érték viszonylag magas (14,99 %), ami az ívást követően hirtelen lecsökken (1,5 %), majd július hónapban éri el a minimum értéket (0,54 %). Augusztusban lendületet vesz a sejtek fejlődése, így novemberben már igen magas GSI érték (11,25 %) jellemző ennek a fajnak az ikrásaira.

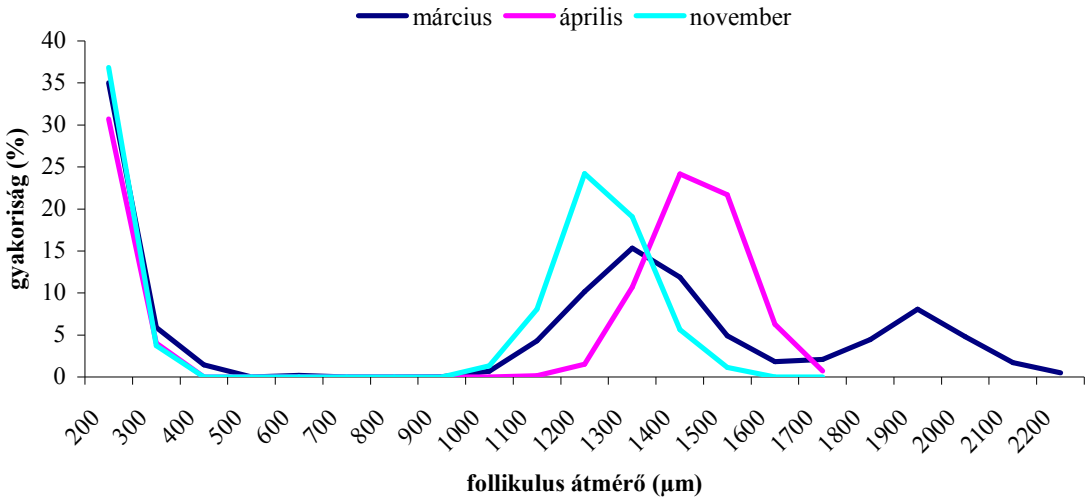


32. ábra A bodorka ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05)

A follikulusok átmérőinek változása

A bodorka petefészkeiben március hónapban a follikulusok átmérőinek mennyiségbeli eloszlása igen tág határok között mozog és a skálán három csúcs (200, 1350, 1950μm) jellemző erre az időszakra. Ebben a hónapban érik el legnagyobb nagyságukat a sejtek, a mintákban találtam 2200μm –es follikulusokat is (33. ábra). Április hónapra a jellemző átmérő nagyság már csak 1200-1750μm-ra tehető. Novemberben az ivarszervekben a kora tavaszihoz képest kisebb átmérőjű (1000-1550μm) follikulusok találhatóak, amelyek nagysága azonban majdnem megközelíti az

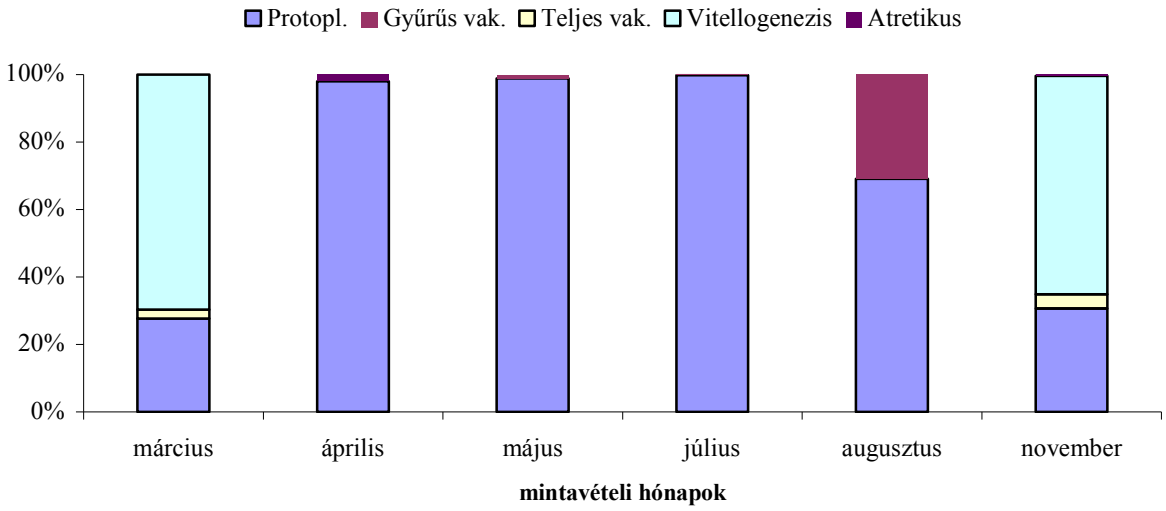
íváskori értékeket. Mindhárom mintavételi időpontban találtam igen nagy százalékban (30-36 %) 300µm-nél kisebb átmérőjű follikulusokat is.



33. ábra A bodorka ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban

<u>A szövettani metszetek feldolgozása során kapott eredmények bemutatása</u>

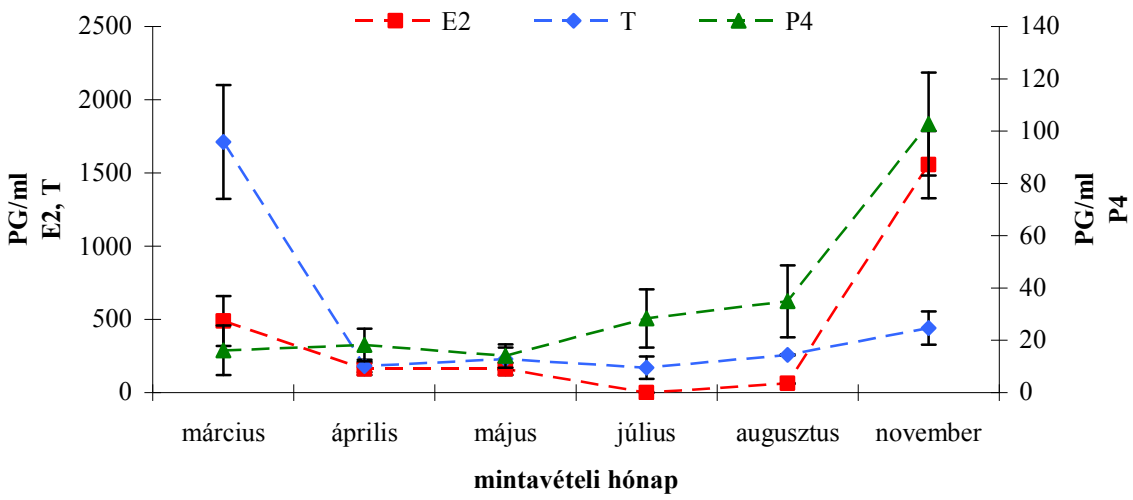
Bodorka fajban a márciusi mintavételkor a petefészkekben szinte kizárólag a vakuolizálódás előtti, valamint a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták vannak, csak egész kis százalékban (2,63 %) találhatóak vakuolizálódás stádiumában lévő sejtek (34. ábra). Áprilisra a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek nagy valószínűséggel ovuláltak és az íváskor kiürültek a petefészkekből, így csak a következő sejtgeneráció vakuolizálódás előtti állapotában lévő sejtjeit valamint néhány százalékban „gyűrűs“ vakuolizálódó sejteket találtam a mintákban. Májusban még néhány százalékban felfedezhetőek voltak a „gyűrűs“ vakuolizálódó oocyták, azonban júliusra teljesen felszívódtak az ovariumokból. Augusztusban ezeknek a sejteknek a száma ugrásszerűen (30,94 %) megnövekedett, és novemberre már a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek (65,55 %) voltak jelen döntő arányban. A tél folyamán a bodorka petefészkében jelentős minőségbeli átalakulás már nem történt az ívásig (4. sz. melléklet).



34. ábra A bodorka ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok mérése során kapott eredmények bemutatása

A bodorka vérében lévő hormonok koncentrációjának változása jól nyomonkövethető az ivari ciklusa során (35. ábra). A progeszteron szintje a mintavételezések során végig alacsony szinten mozog, a 20 PG/ml-es értéket csak július hónapban lépi át (28,35 PG/ml) és ettől az időponttól kezdve fokozatos emelkedést mutat. Novemberben éri el maximumát 102,73 PG/ml értékkel. A 17-β-ösztradiol már sokkal látványosabb változáson megy keresztül. A márciusi íváskor jellemző értéke (488,41 PG/ml) az ívást követően lecsökken és júliusban a RIA módszerrel nem érzékelhető tartományba esik. Augusztusban ismét növekedni kezd, majd novemberben eléri eddig mért legmagasabb értékét (1556,43 PG/ml), párhuzamosan az ikrások szervezetében megkezdődő intenzív sejtépítő folyamatokkal. A tesztoszteron szintje hasonló tendenciát mutat a 17-β-ösztradiollal, azzal a különbséggel, hogy ívás kori igen magas (1712,22 PG/ml) jellemző koncentrációja hirtelen csökken le, és nyár végén fokozatosan kezd el emelkedni (441,08 PG/ml) november hónapig.

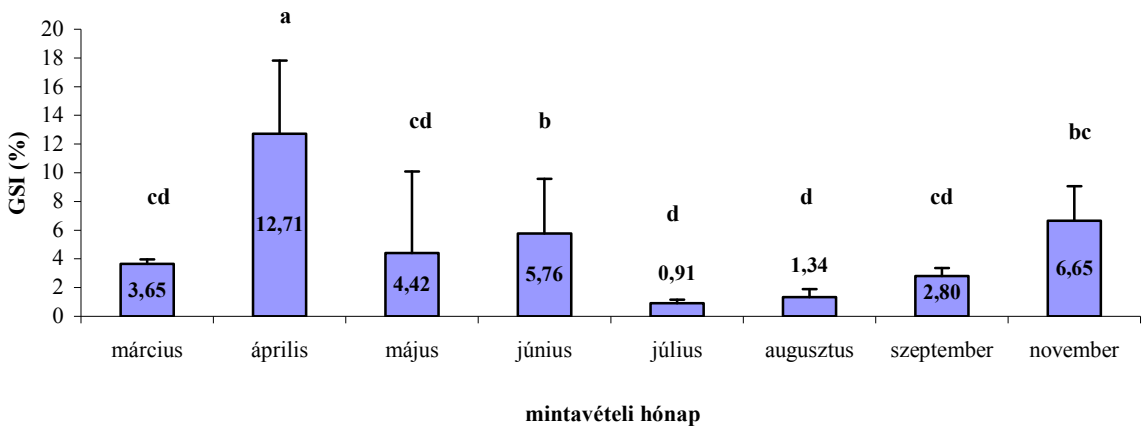


35. ábra A bodorka ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

4.2.2. A karikakeszegben kapott eredmények bemutatása

<u>A GSI szezonális változása</u>

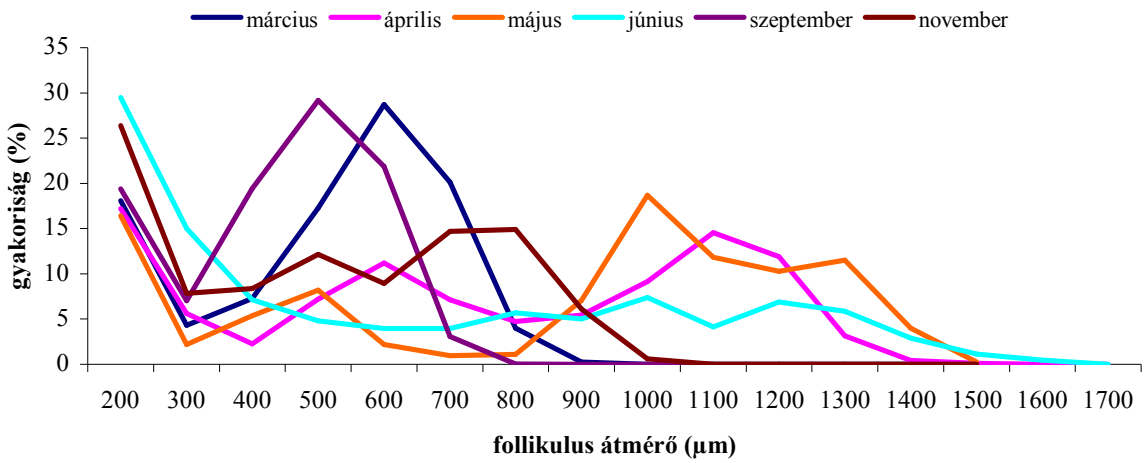
A Balatonban élő karikakeszegek petefészkében rendkívül intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak (36. ábra). Ezt a megállapítást támasztja alá a márciusban mért viszonylag alacsony (3,65 %) GSI érték ugrásszerű növekedése áprilisban (12,71 %). Az elhúzódó ívási időszak miatt májusban és júniusban is közepesnek tekinthető a GSI érték. Júliusban lecsökkent a petefészkek tömege, majd az igen rövid nyári nyugalmi időszakot lassú, folyamatos sejtépítő folyamatok követték, aminek következményeként ősszel elkezdett növekedni a GSI értéke és novemberre elérte a 6,65 %-os értéket.



36. ábra A karikakeszeg ikrások gonado-szomatikus indexének változása az ivari ciklus során. A statisztikai értékelés (ANOVA, Tukey teszt) az ivari ciklus eltérő időpontjaiban meghatározott GSI értékek között szignifikáns különbséget mutatott ki (P<0,05)

A follikulusok átmérőinek változása

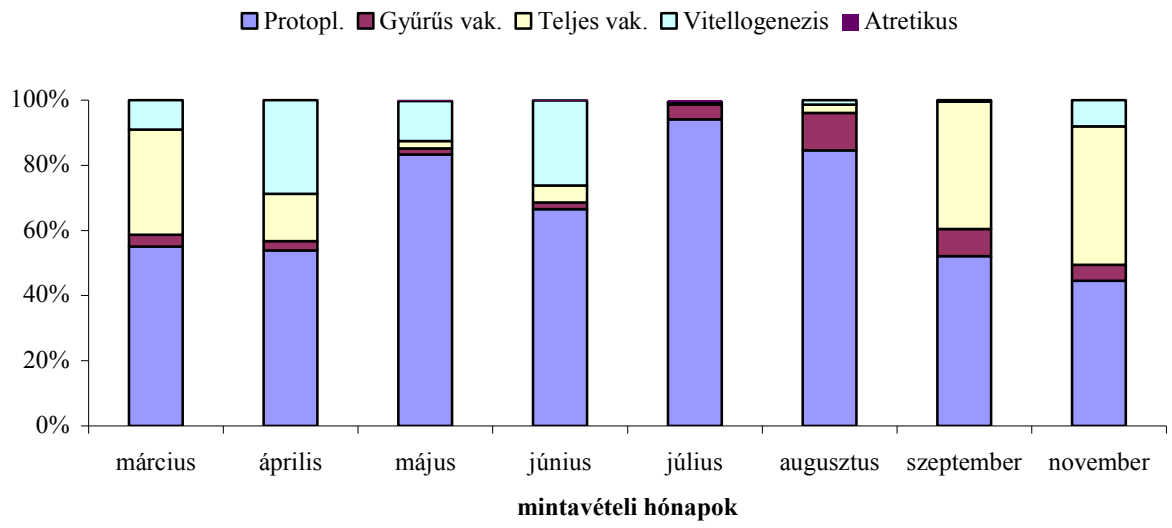
A karikakeszegben mért follikulusok átmérőinek tanulmányozása során megállapítottam (37. ábra), hogy a kora tavaszi időszakban (március) a follikulusok átmérője nem haladta meg a 900µm-t. Intenzív növekedést áprilisban, májusban és júniusban tapasztaltam az oocyták nagyságában, amikor találtam a mintákban 1600µm átmérőjű follikulusokat is. Júniusban azért észrevehetően csökkent a petefészekben található nagyobb sejtek száma, párhuzamosan ezzel nőtt a kisebb átmérőjű (<500µm) follikulusok százalékos aránya. Szeptemberben a nagyobb oocyták aránya lecsökkent, a follikulusok átmérője nem haladta meg a 800µm-t. Novemberben megkezdődött a sejtek fokozatos növekedése.



37. ábra A karikakeszeg ikrásainak petefészkében található follikulusok átmérőinek százalékos eloszlása az egyes mintavételi hónapokban

A szövettani metszetek feldolgozása során kapott eredmények bemutatása

A Balatonban megtalálható karikakeszeg petefészkében a különböző fejlődési stádiumban lévő sejtek arányát a 38. ábrán követhetjük nyomon. Kora tavasszal megjelennek a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek, de a fejlődésben lévő vakuolizálódó sejtek mennyisége (32,34 %) jóval meghaladja azokét. Áprilisban megkezdődik az ívás, a szikkel telt sejtek százalékos aránya megnő (28,8 %), de még folyamatos sejtépítő folyamatok zajlanak egészen júniusig. Nyár közepére kiürülnek a feltehetően ovulált oocyták a petefészkekből, és helyüket átveszik a vakuolizálódás előtti stádiumban lévő sejtek. Augusztusban megkezdődik a fejlettebb stádiumba lépő sejtek mennyiségének növekedése és tél elejére már találhatók (8,01 %) a ivarmirigyekben vitellogenezis stádiumában lévő oocyták (4. sz. melléklet).

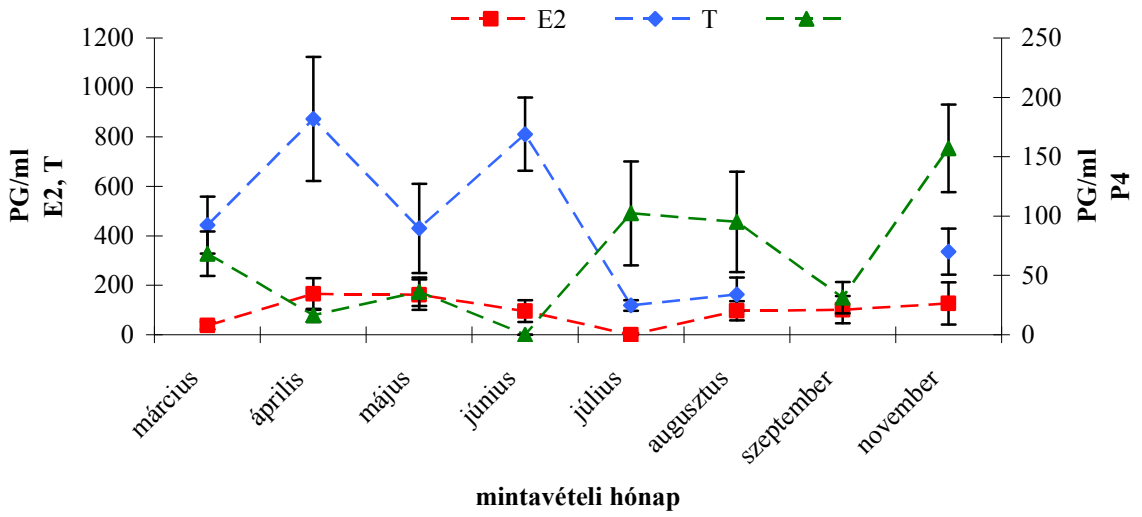


38. ábra A karikakeszeg ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszeteken található eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek százalékos aránya az egyes mintavételi hónapokban

Az ivari szteroid hormonok méréséből származó eredmények bemutatása

A balatoni karikakeszeg ikrásaiban mért hormon koncentrációk tanulmányozásakor a következőket állapítottam meg (39. ábra). A progeszteron szintje kora tavaszi értéket követően áprilisban lecsökken (16,39 PG/ml) majd májusban megemelkedik, hogy aztán júniusra RIA módszerrel meghatározhatatlan koncentrációban legyen jelen a keringésben. Júliusban a vérplazmában lévő szintje megemelkedik (811,37 PG/ml), majd fokozatosan csökken szeptemberig. Novemberben éréke eléri a 157,1 PG/ml-t. A 17-β-ösztradiol márciustól júliusig fokozatosan növekszik, majd csökken, júliustól koncentrációja ismét megemelkedik és novemberig nem is csökken vissza (126,71 PG/ml). A tesztoszteron koncentrációja már sokkal érdekesebb lefutást

mutat. A tavaszi időszakban értéke alacsony szintről (443,67 PG/ml) hirtelen megemelkedik, majd hirtelen lecsökken, hogy aztán júniusban ismét megemelkedjen (811,37 PG/ml). Júliusra koncentrációja lecsökken 118,67 PG/ml-re, majd augusztustól ismét növekvő tendenciát mutat. Szeptemberben nem volt alkalmam meghatározni a tesztoszteron koncentrációt, de a 17-β-ösztradiol szintjéből következtetve az androgén koncentrációja is fokozatos emelkedést mutat novemberig.



39. ábra A karikakeszeg ikrásaiban mért ivari szteroid hormonok koncentrációinak alakulása az egyes mintavételi hónapokban (átlag ± szórás, E2: 17-β-ösztradiol, P: progeszteron, T: tesztoszteron)

4.3. Az eredmények értékelése

4.3.1. A Dunából gyűjtött fajok ivari ciklusának bemutatása

4.3.1.1. A balin ivari ciklusa

A kora tavaszi, márciusi, ívási időszakban a balin GSI értéke igen magas. Petefészkében kizárólag csak a vakuolizálódás előtti illetve a vitellogenezis stádiumában lévő sejteket találtam, ami egyértelműen arra utal, hogy a petefészkekben ívásra érett oocyták vannak. Az érett follikulusok nagysága eléri a 2000 µm-es átmérőt is. Ekkor a legnagyobb a petefészekben lévő sejtek mérete. Számos valódi csontoshalfaj esetében, mint ahogy balinban is, a progeszteron koncentrációja a végső oocyta érés alatt is alacsony marad, illetve alig változik (CARRAGHER és PANKHURST 1993). Alacsony vérplazmában mért koncentrációját indokolhatja lokálisan kialakuló hatása, aminek következtében kizárólag a gonádok közvetlen közelében lévő kapilláris hálózatban található meg. Mivel metabolizmusa igen gyors, aranyhalban 6-10 órával (KAGAWA et al. 1983) a pisztrángfélékben 1-3 nappal az ovuláció után lebomlik (YOUNG et al. 1983), feltételezhetően a mintavételezések már a metabolitikus folyamatok után történtek. A 17-β-ösztradiol koncentrációjának közepesnek mondható értéke a petefejlődés ívás előtti befejeződésével magyarázható. Az ívást követően áprilisban a GSI értéke 1 % alá csökken, a petefészek döntő tömegét a protoplazmás fejlődési szakasz (elsődleges oocyta növekedés) különböző stádiumaiban lévő oocyták adják, a a szikkel telt, vitellogenzis stádiumában lévő sejtek kiürülnek. Természetesen a petefészekben mitotikusan osztódó oogóniumok, az ívást megelőzően nem ovulált oocyták és az ívás során le nem rakott ikrák is vannak. Az utóbbi két sejtcsoport felszívódási folyamaton megy keresztül. Az ováriumban mindezek mellett atretikus folyamatok is zajlanak, amelyek elsősorban az ebben az időszakban legfejlettebb stádiumban lévő „funkcionáló/élő" oocytákat érinti, azaz azokat a sejteket, amelyek a protoplazmás fejlődési szakaszban vannak. Minden valószínűség szerint ezek száma *közvetlenül* az ívási időszak után tovább csökken. Az ivarsejtek fejlődéséért, valamint azok éréséért felelős hormonok koncentrációja ezzel szemben csökken. A kora tavaszi ívást egy rendkívül hosszú, nyári regenerációs időszak követi. A tesztoszteron koncentrációja ekkor éri el legmagasabb értékét. Az ösztrogének prekurzoraként a vérplazmában akkor jelenik meg nagy mennyiségben, mikor már nincs rá tovább szükség az aromatizálódás folyamatában (CAMPBELL 1976) A szaporodásbiológiai paraméterek alakulását figyelve megállapítható, hogy az oocyták fejlődése október hónapban vesz lendületet. Ekkor a petefészkek relatív tömege az eddigi érték

nyolcszorosára nő, hiszen megindul a sejtekben a szikfelhalmozódás, és a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek mennyisége meghaladja vakuolizálódás előtti, protoplazmás fejlődési stádiumban lévő sejtek számát. A petefészek tömegének döntő részét a vitellogenezis fejlődési állapotban lévő oocyták teszik ki, melyek mérete eléri az 1800 µm-t. A petesejtek fejlődését, a szikanyag felhalmozását a 17-β-ösztradiol hormon szabályozza, vérben lévő koncentrációja eléri az ivari ciklus alatt mért legmagasabb értékét. Annak ellenére, hogy a petefészek relatív tömege már októberben számottevő a halfaj esetében, a GSI értéke fokozatosan tovább nő az ívásig a téli hónapok alatt. A GSI értékének téli hónapok alatt történő növekedése azt jelzi, hogy az ikrásokban az ívást megelőző 3-4 hónapban még intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak. Ezek már nem „minőségi jellegű" változások (átmenet egyik fejlődési állapotból a következőbe), hanem a már kialakult, vitellogenezis stádiumában lévő sejtek gyarapodása. Ez már nem darabszámbeli, hanem az egyes sejtek méretbeni gyarapodását (szikfelhalmozódás) jelenti. Erre utal a follikulusok átmérőinek növekedése is, ami igen kismértékű október és március hónapok között.

A ívási időszakot megelőzően a vakuolizálódó sejtek hiánya és a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek homogén mérete azt jelzi, hogy a balin az egy évben egyszer ívó fajok közé tartozik. Az általam vizsgált szaporodásbiológiai paraméterek alakulása az ívási gyakorisággal kapcsolatban alátámasztják a ívási viselkedésre vonatkozó megfigyeléseket, miszerint a balin az ívási környezet tényezőinek hatására felkészült oocytáit egyszerre érleli be, az érett oocyta-állományon belül az ovuláció szinkronizált és az ikra lerakása egy alkalommal történik.

4.3.1.2. A bagolykeszeg ivari ciklusa

A bagolykeszeg petefészkében kora tavasszal a petesejtekre már nem jellemző a minőségi jellegű átalakulások, azaz egyik fejlődési stádiumból a másikba. A vitellogenezis stádiumában lévő, szikkel telt oocyták ovulációra éretten töltik ki az ováriumokat. Mellettük csak a protoplazmás, vakuolizálódás előtti stádiumban lévő sejtek vannak jelen a petefészkekben. A GSI értéke fajra jellemzően igen magas, ami az ívásra érett, vitellogenezis stádiumában lévő sejtek nagyságára és mennyiségére utal. A follikulusok átmérői elérik a 2400 µm-t. A vérplazmában mért ivari szteroid hormonok koncentrációi magas értéket mutatnak. A progeszteron hormon végső oocyta érést stimuláló szteroidként (SCOTT és CANARIO 1987) szabályozza az ovulációs folyamatokat. Általában alacsonynak mondható értékei mellett koncentrációja ekkor igen magas. Áprilisban a petefészkek relatív tömege tovább nő, feltételezhetően ekkor következik be az ívás. A follikulusok ekkor felszakadnak és az érett ikra kikerül a halak szervezetéből. Ívást követően a GSI értéke hirtelen lecsökken, ami a petefészkek kiürülésére utal. Nyár közepére a petefészekben már csak a protoplazmás, illetve a vakuolizálódás stádiumában lévő oocyták találhatóak meg. Az ováriumok

relatív tömege tovább csökken és ezzel párhuzamosan a petefejlődésért felelős szteroid hormonok mennyisége is fokozatosan csökkenő tendenciát mutat. Az follikulusok nagysága nem haladja meg az 1400 µm-t. Augusztus hónapban a GSI értéke 2 % alá csökken és megkezdődik az igen rövid, pár hetes nyári regenerációs időszak. Az ivarsejtek fejlődését szabályozó 17-β-ösztradiol koncentrációja alig mérhető mennyiségben van már csak jelen a vérkeringésben és a sejtek nagysága homogén eloszlást mutat 800-1200 µm között. A tesztoszteron ezzel szemben emelkedni kezd. A 17-β-ösztradiol előhormonjaként az ősz elején egy része átalakul ösztrogénné, ami stimulálja a rövid nyári "leállást" követő fejlődési folyamatokat. Bagolykeszegben a szikberakódás szeptemberben kezdődik el. A vakuolizálódás-szikberakódás stádiumok közötti átalakulás ugyancsak faji jellegzetesség. Összehasonlítva, a jászban a sejtek szikberakódási folyamata már augusztusban, míg a balin fajban csak október hónapban kezdődik meg. Ennek hátterében az eltérő életmódbeli sajátosságok állhatnak, hiszen mindhárom faj eltérő módon készül fel a téli nyugalmi időszakra valamint a kora tavaszi ívásra. Feltehetően a téli hónapokat megelőző, eltérő táplálékbázis adottságai okozzák ezeket a fajok közötti látványos szaporodásbiológiai különbségeket. Októberre azonban mindhárom faj esetében többé-kevésbé kialakul a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek döntő többsége és a téli hónapokban, illetve az ívást megelőző kora tavaszi időszakban a sejtek között minőségbeli átalakulások folyamata nem jellemző. Elérik íváskori GSI értéküknek 60-70 %-át. Bagolykeszegben a progeszteron hormon koncentrációja hasonlóan a jászban tapasztaltakhoz, emelkedni kezd, ezzel párhuzamosan kezd növekedni ugyancsak a 17-β-ösztradiol szintje, ami a balinban mért értékek alakulásával azonos. Feltehetően jászban már csak igen kis mértékben zajlanak ivarsejtefejlődési folyamatok a téli hónapok közeledtével, hiszen ekkor a három faj közül csak a jászban csökken jelentősen az ösztrogén szintje. Október hónapra a bagolykeszeg oocytáinak átmérői elérik az 1800µm-t, amelyben ugyancsak hasonlít az előbb említett két fajhoz.

A ívási időszakot megelőzően a vakuolizálódó sejtek igen kis mennyisége (1,8 %) és a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek méretének homogén eloszlása azt jelzi, hogy a bagolykeszeg az egy évben egyszer ívó fajok közé tartozik. Az általam vizsgált szaporodásbiológiai paraméterek alakulása az ívási gyakorisággal kapcsolatban alátámasztják a ívási viselkedésre vonatkozó megfigyeléseket, miszerint a bagolykeszeg az ívásra felkészült oocytáit egyszerre érleli be, az érett oocyta-állományon belül az ovuláció szinkronizált és az ikra lerakása egy ívási időszakban egy alkalommal történik.

4.3.1.3. A jász ivari ciklusa

A jászra vonatkozó adatok alapján megállapítható, hogy már az ívás előtti időszakban igen magas az ovárium relatív tömege és az ívásig a GSI értéke még igen jelentősen megnő. Március hónapban éri el rendkívül magasnak mondható, maximális értékét. Ekkor a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek leginkább nagyságban gyarapodnak, de emellett nem zárható ki számbeli növekedésük sem. A szikkel telt oocyták közel 80 %-a az 1300-1600 µm–es mérettartományba esik. A jász ívása, ellentétben az előbb említett balinéval, április hónapra is elhúzódik. Ekkor még folyamatos az érő follikulusok növekedése, átmérőjük eléri a 2100 µm-t is. A vitellogenezis stádiumában lévő sejtek mennyisége 20 % alá csökken, és a szövettani metszeteken jól megszámlálhatóak a kiürült, ovulált follikulusok is. Az elhúzódó ívásnak köszönhetően a petefészek relatív tömege jelentősen lecsökken, ezzel párhuzamosan a vérben keringő progeszteron koncentrációjának szintje is csökkenő lefutást mutat. Az ivarsejtek fejlődése a 17-β-ösztradiol és a tesztoszteron hormon szint emelkedésének köszönhetően tovább folytatódik. Az „elsőrendű oocyta – vakuolizálódó sejt" átalakulás a június-július hónapokra esik. Az átalakulás stimulálása, a hormonszintek figyelembevételével, feltehetően nem igényel túlzott mértékű endokrin szabályozást, ekkora ugyanis a 17-β-ösztradiol és a tesztoszteron hormon koncentrációja is csökkeni kezd. Júliusra GSI 1 %-ra csökkenő értéke azt jelzi, hogy ekkora tehető a jász fajra jellemző, néhány napos nyári regenerációs időszaka, a follikulusok átmérő alig éri el az 1000µm-t. Ez a regenerációs időszak a sejtek eltérő fejlődési állapotát tanulmányozva nem is nevezhető egyértelműen "nyugalmi időszaknak", habár a vérplazmában mért hormonszintek, többé-kevésbé, ebben az időszakban érik el legalacsonyabb értéküket. Ez alól a 17-β-ösztradiol kivétel, ez a szteroid hormon típus ugyanis júniusi minimumát követően, ekkor már stimulálja az ováriumot a protoplazmáz állapotban lévő oocytákat a vakuolizálódás stádiumába történő átalakulására.

A vitellogenezis folyamata igen korán, már augusztus hónapban megkezdődik, jelentős növekedést okozva ezzel a petefészkek relatív tömegében és a follikulusok nagyságában. A vakuolizálódás folyamata a nyár második felében rendkívül intenzív és szeptember-október hónapra befejeződik. A metszeteken meghatározott fejlődési stádiumok százalékos arányainak változásait követik az oogenezisért felelős hormonok vérben meghatározott koncentrációi is. A szikberakódás a nyár végén megkezdődik és az ívási időszak kezdetéig tart, folyamatos növekedést okozva ezáltal a sejtek nagyságában és a petefészkek relatív tömegében. A petefészket felépítő, a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták mérete, már szeptember-októberben rendkívül homogén. Októberben megközelítik a tavaszi íváskor jellemző follikulus nagyságot.

4.3.1.4. A márna ivari ciklusa

A márna ikrásainak petefészkében az éves ivari ciklus folyamán igen intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak. Ezt a megállapítást támasztják alá szaporodásbiológiai paraméterek éves szintű változásai a mintavételi hónapok során. A márna petefészkéből készített szövettani metszetek tanulmányozásakor egyértelműen látható, hogy az ívás idejének meghatározására ezek az adatok kevésbé alkalmasak. A tavaszi időszakban az eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek számának egymáshoz viszonyított aránya alig változik. Azonban a GSI értékeit figyelembe véve megállapítható, hogy a sejtépítő folyamatok január hónaptól kezdve folyamatosan zajlanak. Ezt támasztja alá nemcsak a vérben keringő tesztoszteron koncentrációnak rendkívül magas értéke, hanem a follikulusok átmérőinek alakulása is, hiszen már ekkor igen széles skálán mozognak, elérik az 1800 µm-es nagyságot is. Márciusban feltehetően bekövetkezik az ívás, ekkor a legmagasabb a GSI értéke. A januárban jellemző magas tesztoszteron mennyiség egy része 17-β-ösztradiol-lá alakul, az ösztogén ekkor éri el maximális értékét az éves ivari ciklus folyamán. A progeszteron koncentrációja eléri legmagasabb szintjét, biztosítva ezzel az oocyták végső érését. A follikulusok átmérője 2200 µm-re növekszik és ez a növekedés április hónapban tovább folytatódik. Az ívás, hasonlóan a karikakeszeghez, ebben a fajban is elhúzódó folyamat. PONCIN és munkatársai (1996) medencékben tartott márnáknál megfigyelték, hogy az elhúzódó ívási időszak alatt megközelítőleg 15 napos időközönként 4 illetve 10 alkalommal is képes a márna ívni. Hasonló eredményre jutott LIBOSVÁRSKÝ és ŠTĚRBA (1981), akik a márnának egy szaporodási időszakon belül több ívását is leírták.

Az április hónapban gyűjtött mintában a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták száma meghaladta a vakuolizálódók mennyiségét, azonban egymáshoz viszonyított arányaikban jelentős mértékben elmaradtak a karikakeszegben számított arányokhoz képest. Az ívást megelőzően a vakuolizálódó, illetve a vitellogenezis fejlődési stádiumban lévő oocyták aránya egyrészt faji sajátosság lehet. Feltételezhetően, a karikakeszeg ívási időszaka hosszabb, mint a márnáé, és ikráját is több részletben rakja le. Hosszabb ívási időszakát igazolja, hogy karikakeszegben júliusban még találtam szikkel telt oocytákat, míg márnában ekkora már kiürültek a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek. A másik lehetséges magyarázat az, hogy a karikakeszeg ívása néhány héttel később következik be. Ez idő alatt petefészkében további vakuolizálódó oocyták léphetnek tovább a vitellogenezis fejlődési stádiumba. Májusban a GSI értéke fokozatosan csökken és ezzel párhuzamosan fokozatosan csökken a vérplazmában mért 17-β-ösztradiol koncentráció is.

A petefészekben a nyári hónapok elejéig található vitellogenezis stádiumában lévő oocyta és ezeken túlmenően a vakuolizálódás stádiumában lévő sejtek is elég nagy százalékban vannak jelen, ami a folyamatos sejtutánpótlásra utal. A sejtek fejlődésért felelős 17-β-ösztradiol és tesztoszteron

hormon koncentrációja július hónapig ingadozik, követve az ivarsejtek fejlődésének tendenciáját, azonban júliusban mindhárom szteroid hormon minimálisra csökken a keringésben. A GSI értéke júliusban még nem éri el minimum értékét, ugyanis a petefészkekben még az érett, de nem ovulált, valamint a follikulusból kikerült, de le nem rakott ikrák felszívódása zajlik. A karikakeszegéhez hasonló, igen rövid regenerációs időszak augusztusra befejeződik, bár ekkor a petefészkek relatív tömege 2 % alá csökken, azonban a gonádokban megnövekszik a vakuolizálódásstádiumában lévő sejtek számának egymáshoz viszonyított aránya, valamint megjelennek a vitellogenezis stádiumába lépő oocyták is. Szeptember hónapban a márna és a karikakeszeg petefészkében lévő sejtek néhány tekintetben igen hasonló képet mutatnak. Petefészkeik szinte azonos arányban tartalmazzák a különböző fejlődési stádiumban lévő oocytákat, a progeszteron hormon koncentrációjára lassú emelkedés jellemző, míg a tesztoszteron szintje csökkenő tendenciát mutat. A 17-β-ösztradiol koncentrációjának alakulásából megállapítható azonban, hogy a karikakeszegben a nyári regenerációs időszak feltehetően sokkal kifejezettebb, ezt követően ösztrogén hormonjának koncentrációja fokozatosan kezd el növekedni az őszi hónapokban. Ezzel szemben a márnában a szeptemberi alacsony 17-β-ösztradiol koncentrációt ugrásszerű növekedés jellemzi október hónapban.

Október hónapban a GSI értéke a márnánál fele akkora, mint a karikakeszegnél. Az index értéke azonban a késő őszi és a téli hónapokban is növekszik. A növekedés nem nagy mértékű, de folyamatos és egyenletes. A sejtek minőségbeli átalakulása egyik fejlődési stádiumból a másikba is lassabb ütemben megy végbe, mint a karikakeszegben. Mind a márnában, mind a karikakeszegben a tesztoszteron koncentrációja a téli hónapok közeledtével fokozatosan tovább csökken, míg a 17-β-ösztradiol és a progeszteron szintje növekszik. A tesztoszteron koncentrációjának ingadozó tendenciája az éves ivari ciklus alatt arra enged következtetni, hogy számos más ivarsejtfejlődési folyamatra hatással van. Feltehetően részt vesz a szikberakódás folyamatában, valamint feedback-mechanizmuson keresztül hat a hipofízisben a GtH termelésére (CRIM és EVANS 1979).

A márnában a vitellogenezis folyamata valamivel később kezdődik, mint a karikakeszegben. Ezt támasztja alá az októberi mintában a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek számarányára, ami néhány százalékkal magasabb a karikakeszegben. Mivel a vitellogenezis feltehetően egyik faj esetében sem szünetel a téli hónapokban a kora tavaszi hónapokban vett mintákban, a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek száma meghaladja az októberben meghatározottakét.

A márna petefészkében a késő őszi és a téli hónapokban nem csak mennyiségi változások zajlanak. Október és január hónapok között a vakuolizálódó sejtek és a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták száma is szignifikánsan nőtt. Ez a minőségi változás azt jelenti, hogy a vakuolizálódó sejtek egy részében befejeződik a vezikulumok képződése és a megkezdett vitellogenezis, azaz a szikfelhalmozódás folyamata tovább folytatódik. Ezzel ellentétben SZABÓ (1960) korábban

vizsgálta a petényi márna (*Barbus peloponnesius petenyi* Heckel, 1852) petefészkének éves ciklusát, munkájában megállapította, hogy az általa mintázott petényi márna egyedekben a vitellogenezis kis mértékben megkezdődik ugyan az őszi hónapokban, de az ősszel, illetve kora tavasszal fogott példányok petefészkei között sem külalakilag, sem szövettanilag nem tudott lényeges különbséget leírni.

A márna esetében is megállapítottam, hogy az ívást megelőző hónapokban mind a vakuolizálódó, mind a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek mérete rendkívül heterogén. Ez a márna esetében is parciális ovulációra és szakaszos ívásra utal. A márna azonos fejlődési stádiumú oocytájának átmérője csaknem duplája a karikakeszegének.

4.3.1.5. A bodorka ivari ciklusa

Hazánkban a bodorka ívása kora tavasszal, március-április hónapban zajlik kb. 8,1 – 13,4 ºC fokos vízben, ezzel ellentétben a cseh köztársasági Dyje folyóban a bodorkák ívása május közepén történik14-16 ºC fokos vízhőmérséklet mellett (LIBOSVÁRSKY et al. 1985). A belgiumi Meuse folyón végzett kutatás során a bodorka ívását ugyancsak április-május hónapokban tapasztalták, ekkor a vízhőmérséklet átlagosan 10 -18 ºC körüli volt (KESTEMONT et al. 1999).

Márciusban a dunai bodorkák petefészkében kizárólag csak vakuolizálódás előtti, valamint a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek találhatóak meg. A szikkel telt oocyták száma jóval meghaladja a protoplazmás stádiumban lévő sejtek mennyiségét, ami egyértelműen utal a hamarosan bekövetkező tömeges ovulációra. GSI értéke igen magas, szinte eléri a balinnál és a bagolykeszegnél mért értékeket. Oocytáinak átmérői hűen tükrözik a szövettani metszeteken tapasztaltakat, miszerint az ováriumokban csak a vakuolizálódás előtti valamint a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek találhatóak meg. A protoplazmás sejtek mérete nem haladja meg a 400 µm-t, míg a szikkel telt oocyták homogén eloszlást mutatnak 1100-1700 µm között. Hasonló megfigyeléseket tett LIBOSVÁRSKY és munkatársai (1985), akik ívást megelőzően a mintázott bodorkák petefészkében döntően 970-1670 µm átmérőjű sejteket találtak. KESTEMONT és munkatársai (1999) közvetlenül az ívási időszakot megelőzően mérték a vizsgált egyedekben a legmagasabb tesztoszteron koncentrációt, ami aztán fokozatosan csökkent az ívást követően. Az általam mért tesztoszteron koncentráció alakulása hasonló tendenciát mutat a Meuse folyón tapasztaltakkal, ívást követően a mért koncentráció értékekben csökkenő tendencia figyelhető meg augusztus hónapig.

A bodorka ívási időszaka rövid, áprilisra kiürülnek a petefészekből az érett oocyták és az ovárium döntő tömegét (83 %) a vakuolizálódás előtti sejtek adják. A GSI értéke hirtelen lecsökken, majd nyár végéig további 0,74 %-ot süllyed. Az oogenezisért felelős 17-β-ösztradiol és

tesztoszteron hormonok koncentrációi elérik legalacsonyabb szintjüket, ezzel ellentétben a progeszteron értéke az április hónapban mérthez képest növekszik. Feltételezhetően a bagolykeszeghez hasonlóan, ekkor a bodorka petefészkében is megkezdődik a szikberakódás folyamata (0,5 %), valószínűleg a vérben meghatározott ösztrogén koncentrációja emiatt nem csökkent 10 PG/ml alá, ahol a RIA módszer érzékenységén kívül esett volna. Október hónapra a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek egymáshoz viszonyított százalékos aránya eléri a 40 %-ot. GSI értéke ugrásszerűen megemelkedik, eléri az ívaskori érték 63 %-át. Az ivari szteroid hormonok koncentrációi emelkedő tendenciát mutatnak hasonlóan a jászban tapasztaltakéhoz. A téli hónapok alatt feltételezhetően a GSI értékének növekedése, az eltérő fejlődési stádiumok százalékos arányainak változása, valamint a follikulusok méretbeli növekedése október és március hónapok között azt jelzi, hogy az ikrásokban az ívást megelőző 3-4 hónapban még intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak. A már kialakult, vitellogenezis stádiumában lévő sejtek gyarapodása, ami már nem darabszámbeli, hanem az egyes sejtek méretbeni növekedését jelenti.

Bodorka esetében is megállapítható az általam vizsgált szaporodásbiológiai paraméterek alapján, hogy az ívási időszakot megelőzően a vakuolizálódó sejtek hiánya és a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek homogén mérete jelzi, hogy a bodorka az egy évben egyszer ívó fajok közé tartozik. A bodorka az ívási környezet tényezőinek hatására felkészült oocytáit egyszerre érleli be, az érett oocyta-állományon belül az ovuláció szinkronizált és az ikra lerakása egy alkalommal történik.

4.3.1.6. A karikakeszeg ivari ciklusa

A karikakeszeg ivari ciklusa során az oogenezis nem azonos intenzitással zajlik. Ezt igazolják a GSI adatok, a különböző átmérőjű follikulusok számának egymáshoz viszonyított arányai, a szövettani metszetekkel kapcsolatos vizsgálatok, valamint az ivari szteroid hormonok meghatározásából kapott eredmények is.

Az ívást megelőző egy-másfél hónapban (március) a petefészekben rendkívül intenzív minőségi és mennyiségi változások zajlanak, amik a tavasszal bekövetkező vízhőmérséklet fokozatos növekedésével párhuzamosan indulnak be. Ez az ivari ciklus legintenzívebb szakasza, amely a számszerűsíthető szaporodásbiológiai mutatókban is megmutatkozik. A GSI értéke már ebben a hónapban igen magas (7,88 %), az ováriumban pedig mindhárom fejlődési stádiumot képviselő oocytákat találunk. A follikulusok átmérői azonban a következő hónapig már csak kis mértékben változnak. Az ivari szteroid hormonok koncentrációi ekkor még közepesnek mondhatóak. A zavartalan oogenezist biztosító mindkét hormon (17-β-ösztradiol, tesztoszteron)

szintje növekedni fog a tavaszi környezeti tényezők hatására, felkészítve az egyedeket a szaporodásra.

Április hónapban vesz ismét lendületet az oogenezis, ami a nappalok hosszabodásával, a hőmérséklet növekedésével és a felszaporodott táplálék bázissal magyarázható (GLENN és WILLIAMS 1976). A GSI értéke (12,6 %) rövid időn belül szinte megduplázódik, és eléri a BRYLIŃSKA és ŹBIKOWSKA (1997) által is meghatározott 3,8 - 21,2 %-os, átlagosan 12,45 %, értéket. Ezzel párhuzamosan a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták száma megnő és mennyisége eléri a vakuolizálódó sejtek számát. A petefészek relatív tömegének növekedéséhez egyrészt hozzájárul a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek számának növekedése, másrészt a sejtekben felhalmozódó szikanyag az egyes sejtek méretét is megnöveli, amely szintén hozzájárul a GSI értékének növekedéséhez. A vitellogenezis stádiumában lévő follikulusok átmérője eléri az 1500 µm-t. A vérplazmában mérhető tesztoszteron szintje ugrásszerűen megnő, legmagasabb értékét RINCHARD és munkatársai (1997) a végső oocyta érés alatt mérték. Vele együtt a 17-β-ösztradiol koncentrációja is emelkedik. A tesztoszteron koncentrációjának ilyen mértékű növekedése azokra a petefészkekre jellemző, melyekben teljesen érett, ovulációra kész sejtek vannak (KOBAYASHI et al. 1987). Az ívás feltehetően már április végén, május elején megkezdődik, 13,4 – 17,8 ºC vízhőmérséklet mellett. Ezzel ellentétben a Vistula folyón BRYLIŃSKA és ŹBIKOWSKA (1997) az ívás kezdetét május hónap közepétől figylete meg 18 – 19,4 ºC vízhőmérsékletnél. Megállapították továbbá, hogy a karikakeszeg ívási időszaka erősen függ az adott terület hőmérsékleti adottságaitól, ugyanis elterjedési területének délebben fekvő részein az ívás korábban megkezdődik (áprilistól, 9,6 ºC vízhőmérséklet mellett). A 17-β-ösztradiol íváskori alacsony koncentrációjára lehetséges magyarázatként szolgál, hogy a folyamatos ívás miatt nem alakul ki jellemző csúcsa ennek a hormonnak, hiszen a karikakeszeg jellemzően többször ívó faj, így petefészkében egy ívási időszakban több ikra-adag érik meg. Az éréshez elengedhetetlen a 17-β-ösztradiol szerepe, amelynek hatása „szétmorzsolódik“ az egyes érő oocyta-adagok között. BRYLIŃSKA és ŹBIKOWSKA (1997) alátámasztotta azt a korábban írt megfigyelést, hogy a karikakeszeg, élőhelytől függően, adott évben ívhat egyszer egy ívási időszakon belül, illetve kétszer vagy többször is. Legjellemzőbb ívási gyakoriságként (78,3 %) az egy ívási időszakon belüli kétszeri ívást figyelték meg. A második ívás júniusban történik 18 -29 ºC vízhőmérséklet mellett. Saját vizsgálataimban nem találtam egy évben egyszer ívó egyedet, a mintázott egyedekre - az általam viszgált szaporodásbiológiai mutatók által, - kivétel nélkül jellemző az elhúzódó, többszöri ívás.

A halfaj esetében az időben igen elhúzódó április-május és júniusi ívási időszakot csak egy igen rövid, néhány hetes regenerációs időszak követi július hónapban (RINCHARD és KESTEMONT 1996). Az ívási időszakban a tesztoszteron koncentrációja megemelkedik,

legmagasabb értékét áprilisban éri el. Az androgénből kialakuló 17-β-ösztradiol növekedésének tendenciája követi a tesztoszteronét, maximális koncentrációját egy hónappal később júniusban éri el. A GSI értéke ívás után 3,17 %-ra csökken. A petefészekben túlnyomó többségben ekkor a protoplazmás növekedés, azaz vakuolizálódás előtti stádiumában lévő oocytákat találtam meg. Ezek mérete nem éri el a 300 µm-t. A legkezdetlegesebb fejlődési stádiumban lévő sejtek mellett kis mennyiségben meg tudtam különböztetni a vakuolizálódó és a vitellogenezis stádiumában lévő sejteket is, ami feltehetően a petefészkekben zajló elhúzódó ivarsejt-érés végkifejletére utal. Igen kis mennyiségben láthatóak olyan sejtek is, melyek atretikus folyamatokon mennek keresztül. Citoplazmájukban felhalmozódott tartalék tápanyagaik ekkor lebomlanak és a következő sejtgeneráció építőköveiként hasznosulnak újra. Az ivari szteroidok koncentrációi júliusra lecsökkennek, a szervezetben minimálisra csökken a reprodukcióra fordított energia. Az oogenezis először augusztus-szeptember hónapokban vesz lendületet, melyhez hasonlót RINCHARD és KESTEMONT (1996) is megfigyelt. Augusztusban megkezdődik a GSI értékének növekedése (3,81 %). A petefészek relatív tömegének a növekedéséhez a vakuolizálódás stádiumába lépő, valamint a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták járulnak hozzá döntő mértékben. A vakuolizálódó oocyták mérete 300-550 µm között változik, a szikanyaggal telítődő sejtek átmérője 600-1000 µm között mozog. Megkezdődik a progeszteron koncentrációjának fokozatos emelkedése, bár ez a szteroid hormon jellemzően alacsony szinten marad az egész ivari ciklus folyamán más fajok esetében is. Ez érthető is, hiszen a progeszteron a végső oocyta érést szabályozza, így a ciklus ívástól eltérő időpontjaiban, az irodalami adatok szerint, szerepe szinte elhanyagolható. Hasonló megfigyelést tett RINCHARD és munkatársai (1997), valamint SCOTT és CANARIO (1992) is, akik azzal magyarázták a progeszteron alacsony koncentrációját, hogy a szabad, nem kötött állapotban lévő szteroidok igen hamar lebomlanak. KIME (1992) szerint a pontyfélék petefészkében igen intenzív az 5-α-reduktáz aktivitás, ami a hormon lebontásáért felelős. A petefejlődés folyamatát szabályozó 17-β-ösztradiol a progeszteronnal párhuzamosan növekszik.

A progeszteron koncentrációjának változásával párhuzamosan a tesztoszteron szintje, mint a 17-β-ösztradiol előhormonja (CAMPBELL 1976), is enyhe emelkedést mutat. Ebben a hónapban tehát a petefészek relatív tömegének a növekedése egy minőségi változásnak, nevezetesen a vakuolizálódó sejtek kialakulásának, valamint a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek meglétének az eredménye. A vitellogenezis fejlődési szakaszban lévő oocyták száma a vakuolizálódókéhoz képest ekkor még elhanyagolható. Szeptemberben tovább nő a petefészekben a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták száma, ezáltal a petefészek relatív tömege is növekszik. A vitellogenezis stádiumában lévő oocyták átmérője 500 µm-nél nagyobb, de nem haladja meg az 1000 µm-t. A progeszteron koncentrációja tovább emelkedik, a tesztoszteroné csökkenni kezd. Október hónapban ugrásszerűen megnő a vakuolizálódó sejtek mennyisége és ezáltal a szikkel teli oocyták száma is

fokozatosan nő. A vakuolizálódó sejtek számaránya majdnem kétszeresét teszik ki a vitellogenezis stádiumában lévő sejteknek. A vakuolizálódás-vitellogenezis minőségi átalakulás a petefészek relatív tömegének nagymértékű növekedésével jár együtt. A GSI értéke a szeptemberihez képest a kétszeresére változik.

Október és március között a petefészek téli „nyugalmi állapotba" kerül. Sem a petefészek relatív tömegében, sem a vakuolizálódó és a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták egymáshoz viszonyított számarányában nem történik számottevő változás. A progeszteron szintje lecsökken, míg a végső érésért és az ovulációért felelős 17-β-ösztradiol koncentrációja megnövekszik. A tesztoszteron szintje, mint a 17-β-ösztradiol előhormonja ugyancsak megnő.

A GSI-re vonatkozó vizsgálatok megerősítették azokat a korábban leírt megfigyeléseket, miszerint a karikakeszeg az egy ívási időszakban többször ívó fajok közé tartozik. Ez a szaporodásbiológiai sajátosság tükröződik a természetes ívást megelőzően megállapított GSI közepesnek tekinthető értékében (kb. 13 %), amely a többször ívó halfajok jellemzője. Megállapítottam továbbá, hogy az ívást megelőző hónapokban mind a vakuolizálódó, mind a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek mérete rendkívül heterogén. Ez szintén parciális ovulációra és szakaszos ívásra utal.

4.3.1.7. A paduc ivari ciklusa

A paducra vonatkozó szaporodásbiológiai adatok alapján megállapítható, hogy már az ívás előtti időszakban igen magas az ovárium relatív tömege és az ívásig a GSI értéke még igen jelentősen megnő. Március hónapban már eléri a többi egyszerívó faj íváskori, rendkívül magasnak mondható GSI értékét. Ekkor a petefészkében a néhány százaléknyi "gyűrűs", azaz kezdetleges vakuolizálódás állapotában lévő sejten kívül kizárólag a vitellogenezis valamint a protoplazmás fejlődési stádiumban lévő oocyták vannak jelen. Az ivari szteroidok koncentrációi mind intenzív petefejlődési folyamatokra utalnak, így nem meglepő, hogy a GSI értéke tovább emelkedik április hónapban. Sejtjeinek átmérői ekkor érik el maximális nagyságukat, melyek homogén eloszlást mutatnak 2000-3000 µm között. HOCHMAN (1965) a vizsgált paduc egyedek petefészkeiben ívást megelőzően hasonlóan nagy, 2,2-2,3 mm-es (2200–2300 µm) petesejteket talált. Az átmérők alakulását tanulmányozva nyilvánvaló az ováriumban a vitellogenezisnél kezdetlegesebb fejlődési stádiumban lévő, vakuolizálódó oocyták jelenléte is, amit a szövettani vizsgálatok egyértelműen alátámasztanak. A vakuolizálódás stádiumában lévő sejtek átmérői elérik a 650 µm-t is. Az ívás március végén kezdődik és április hónapban tovább folytatódik 9,6-13,4 ºC vízhőmérséklet mellett. HOCHMAN (1965) hasonló megfigyeléseket írt le az Oslava folyón, amely szerint 8 ºC-os vízhőmérséklet felett a paduc ívása áprilisra tehető. Április hónapban az oogenezis szabályozásáért

felelős szteroidok (17-β-ösztradiol, tesztoszteron) koncentrációja csökkenő tendenciát mutat, ellenben az ovuláció folyamatához nélkülözhetetlen progeszteron szintje a márciusi értékhez képest növekszik. Az ívást követően a petefészekben az fejlődési folyamatok intenzitása igen rövid idő alatt a minimálisra csökken. A petefészek relatív tömege 2,14 %-ra zuhan, az ováriumokból kiürülnek az érett, szikkel telt oocyták, és a fejlődést stimuláló 17-β-ösztradiol koncentrációja lecsökken. A progeszteron koncentrációjában tapasztalhatunk enyhe növekedést, ami feltehetően annak köszönhető, hogy az ovuláció után üresen maradt follikulusok még termelhetnek progeszteront, mint ahogy azt KAGAWA és munkatársai (1983) megfigyelték aranyhal ováriumában. Június hónapban a petefészkekben megkezdődik a rövid, néhány hetes nyári regenerációs időszak. Júliusban az ivarmirigyekben maradt follikulusok átmérői nem haladják meg az 1400µm-t, azonban nagyobb intenzitással folytatódnak a vakuolizálódás stádiumában lévő sejtek átalakulása, ezáltal a petefészek relatív tömege is növekszik néhány százalékkal. A jászhoz hasonlóan a vitellogenezis folyamata igen korán, már augusztus hónapban megkezdődik, növekedést okozva ezzel a petefészkek relatív tömegében és a follikulusok nagyságában. Augusztus hónaptól októberig a 17-β-ösztradiol koncentrációja folyamatos emelkedő tendenciát mutat híven tükrözve az intezív ivarsejtfejlődési folyamatokat. A petefészkekben a vitellogenezis stádiumába átalakuló sejtek mennyiségének folyamatos emelkedése jelentős GSI érték növekedést okoz. A petefészek relatív tömege a tél beállta előtt eléri az íváskori érték több, mint 50 %-át. A follikulusok átmérőinek homogén eloszlása októberre eléri a 2400 µm-t.

A szövettani vizsgálatok az ívási gyakorisággal kapcsolatban alátámasztják a ívási viselkedés kapcsán tett korábbi megfigyeléseket, miszerint az ívási időszakot megelőzően a vakuolizálódó sejtek hiánya és a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek homogén mérete jelzi, hogy a paduc az egyszer ívó fajok közé tartozik. Ovulációra felkészült oocytáikat egyszerre érlelik be, az érett oocyta-állományon belül a follikulusok felszakadása szinkronizált és az ikra lerakása az ívás folyamán egy alkalommal történik.

4.3.2. A Balatonban gyűjtött egyedek eredményeinek kiértékelése

4.3.2.1. A bodorka ivari ciklusa

Bodorkában az ívás már igen alacsony vízhőmérséklet (4,0–14,2 ºC) mellett, a kora tavaszi időszakban, március hónapban zajlik. Ekkor a ptefészekben a néhány százalékban jelenlévő vakuolizálódás stádiumában lévő sejteket kivéve, kizárólag csak vakuolizálódás előtti valamint a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták találhatóak meg. A szikkel telt oocyták száma jóval

meghaladja a protoplazmás stádiumban lévő sejtek mennyiségét, ami egyértelműen utal a bekövetkező ívásra. A GSI értéke igen magas (15 %), meghaladja, igaz csak néhány százalékkal, a Dunában gyűjtött bodorkában tapasztalt értéket (13,77 %). A follikulusok átmérőire két csúcs jellemző: 1000-1600µm és 1700-2200µm közötti értékek a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták nagyságát tükrözik, míg a 400µm alatti értékek a protoplazmás állapotban lévő sejtekre jellemző. A két méretbeni eloszlás csúcsa valószínüleg időben elhúzódó ívásra utal (igen rövid periódus alatt bekövetkező két ívás a kora tavaszi hónapban), habár a többi, általam mért szaporodásbiológiai paraméter ezt a megállapítást nem támasztja alá És más, szakirodalomban felelhető adat sem számol be több ívásról egy adott ívási időszakon belül (KESTEMONT et al. 1999).

Az ívási időszakban a szervezet szinte minden energiáját a szaporodásra fordítja. Az ivari szteroid hormonok koncentrációira, mind a tesztoszetonra, mind a 17-β-ösztradiolra, ekkor igen magas érték jellemző. A tesztoszteron plazmában mért koncentrációjára KESTEMONT és munkatársai (1999) mérései alapján közvetlenül ívás előtti egy csúcs jellemző, ami hirtelen csökkenést mutat az ívást követően. Ezt a magas értéket végső érési stádiumban lévő ikrások vérplazmájából mérték. Az ezt követő tesztoszteron koncentráció csökkenés annak tudható be, hogy a 17-β-ösztradiol előhormonjaként, már nincs tovább szükség a magas tesztoszteron koncentrációra az aromatizálódás folyamatában. KOBAYASHI és munkatársai (1987) hasonló csúcsot határoztak meg aranyhalban, mely jelzi, hogy a petefészekben lévő sejtek a végső érés stádiumában vannak és készek az ovulációra. Ívást követően a tesztoszteron és a 17-β-ösztradiol szintje hirtelen lecsökken és ezzel párhuzamosan drasztikusan csökken a petefészek relatív tömege is, alig 1,5 %-ra. Míg a dunai egyedekben néhány százalékban (1,52 %) marad a petefészekben szikkel telt oocyta és üres follikulus, addig a Balatonból gyűjtött egyedek ováriumában ezt a néhány százalékot (2 %) az üres follikulusok és az atretikus folyamatokon keresztüljutó sejtek teszik ki. A sejtek nagysága ekkor nem haladja meg az 1700µm-t és feltehetően ez a csökkenés a nyári hónapokban tovább folytatódik. Júliusra teljesen "kiürülnek" a petefészkek és kizárólag (100 %) csak a protoplazmás állapotban lévő sejtek találhatóak meg. A 17-β-ösztradiol koncentrációja a vérben minimálisra csökken, és csökken a plazmában mért tesztoszteron szintje is. A progeszteron szintje ekkor kezd emelkedni a késő tavaszi alacsony értékeit követően. Nyár végén megkezdődik a sejtek minőségbeli átalakulása és közel 31 %-ban megjelennek a vakuolizálódás kezdeti állapotában lévő, az ún. "gyűrűs" vakuolizálódó oocyták. Ezek a sejtek azonban csak kis mértékben járulnak hozzá a petefészek tömegének növeléséhez, ezt tükrözi a GSI értékének enyhe fokú növekedése. Annak ellenére, hogy a Dunából megmintázott egyedekben már találni "teljes" vakuolizálódó sejteket, a GSI értékük szinte teljesen megegyezik Balatonban élő fajtársaikéval. Legközelebb már csak novemberben volt lehetőségem a halak begyűjtésére. Ekkorra a petefészek relatív tömege elérte a 11 %-ot, az ovárium döntő tömegét a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek adják, melyek

mennyisége jócskán meghaladta a protoplazmás állapotban lévők számát. 4,25 %-ban vakuolizálódó oocytákat is találhatunk. A sejtek nagyok, nagyságuk megközelíti a márciusban vizsgált follikulusok méretét. A 17-β-ösztradiol ugrásszerűen megemelkedik és vele párhuzamosan a másik két ivari szteroid hormon is növekvő tendenciát mutat, utalva az intenzív petefejlődés folyamatára.

A téli hónapok alatt a follikulusok méretbeli növekedése, az eltrérő fejlődési stádiumok százalékos arányainak változása, a GSI értékének növekedése, valamint az ivari szteroid hormonok vérben meghatározott koncentrációinak változásai október és március hónapok között azt jelzi, hogy az ikrásokban az ívást megelőző 3-4 hónapban még intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak. A már kialakult, vitellogenezis stádiumában lévő sejtek gyarapodása történik, ami az egyes sejtek méretbeni növekedését jelenti.

A Balatonban élő bodorka faj esetében is megállapítható az általam vizsgált szaporodásbiológiai paraméterek alapján – kivéve márciusban a follikulusok átmérőinek méretbeni eloszlásában tapasztalt két csúcsot - , hogy az ívási időszakot megelőzően a vakuolizálódó sejtek csekély mennyisége és a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek homogén mérete jelzi, hogy a bodorka az egy évben egyszer ívó fajok közé tartozik. A bodorka az ívási környezet tényezőinek hatására felkészült oocytáit egyszerre érleli be, az érett oocyta-állományon belül az ovuláció szinkronizált és az ikra lerakása egy alkalommal történik.

4.3.2.2. A karikakeszeg ivari ciklusa

Hasonlóan a Dunában élő fajtársához a balatoni karikakeszeg éves ivari ciklusa során sem zajlik azonos intenzitással az oogenezis. Az ívást megelőző időszak az ivari ciklus legintenzívebb szakasza, és ezt igazolják az általam vizsgált szaporodásbiológiai paraméterek, mint a GSI adatok, a különböző átmérőjű follikulusok számának egymáshoz viszonyított arányai, a szövettani metszetekkel kapcsolatos vizsgálatok, valamint az ivari szteroid hormonok meghatározásából kapott eredmények is.

A halfaj esetében a szövettani metszetek értékelése során jól látszik, hogy még az ívás előtt intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak az ikrások petefészkében. Ezt a nagy mennyiségben megtalálható vakuolizálódó sejtek jelzik. A follikulusok átmérője ekkor még nem haladja meg a 900 µm-t és a végső oocyta érést szabályozó ivari szteroid hormon (progeszteron) koncentrációja is viszonylag magas. A fejlődési folyamatok a vízhőmérséklet fokozatos növekedésével párhuzamosan indulnak újra el a téli kényszernyugalmi állapot után. Április hónapban az oogenezis ismét lendületet vesz, ami a nappalok hosszabodásával, a hőmérséklet növekedésével és a

felszaporodott táplálék bázissal magyarázható (GLENN és WILLIAMS 1976). A GSI értéke rövid időn belül megnégyszereződik. Ezzel párhuzamosan a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták aránya megnő és mennyisége meghaladja a vakuolizálódó sejtek számát. Az ívás döntő mértékben egyértelműen április hónapban zajlik, azonban a GSI értékének ívást követő ingadozása azt jelzi, hogy az ívás a Balatonban éppoly elhúzódó folyamat, mint ahogy azt a Dunában élő egyedeknél is tapasztaltam. Ebben a hónapban az oogenezisért felelős 17-β-ösztradiol és tesztoszteron szintje ugrásszerűen megemelkedik, a sejtek nagysága eléri az 1400µm-t és a follikulusok méretének heterogén eloszlása utal az áprilisi ívást követő további parciális ovulációra. Habár májusban lecsökken a petefészkek tömege, de az ováriumokban marad még végső érés előtt álló oocyta, amik júniusban fognak ovulálni és megtörténik az ívás. Tavasz végén a petefészkek már csak néhány százalékban tartalmaznak vakuolizálódó sejteket, a tesztoszteron koncentrációja is lecsökken, de a 17-β-ösztradiol azonos mennyiségben van jelen a keringésben, ami a további ivarsejt-termelésre utal. Júniusban a GSI értéke újra megnövekszik, újabb sejtek jutnak el a végső érés stádiumába, amiknek nagysága eléri az 1600µm-t, habár az ováriumokban lévő arányuk jól láthatóan lecsökken, ezzel szemben megnő a kisebb átmérővel rendelkező follikulusok aránya. Az időben igen elhúzódó ívási időszakot egy rövid, néhány hetes regenerációs időszak követi július hónapban RINCHARD és KESTEMONT (1996). Ekkorra kiürülnek a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek a petefészkekből, az ovárium döntő tömegét a protoplazmás fejlődési állapotban lévő sejtek adják. A hormon koncentrációk lecsökkennek, a GSI értéke nem éri el az 1 %-ot. A szervezetben minimálisra csökken a reprodukcióra fordított energia. Az oogenezis először augusztus hónapban vesz lendületet, melyhez hasonlót tapasztaltam a dunai faj esetében is. Augusztusban megduplázódik a GSI júliusban meghatározott értéke. A petefészek relatív tömegének a növekedéséhez a vakuolizálódás stádiumába lépő, valamint a néhány százalékban (1,42 %) vitellogenezis stádiumában lévő oocyták járulnak hozzá döntő mértékben. Ahogy megkezdődik a sejtek fejlődési a regenerációs időszak után, párhuzamosan emelkedni kezd a 17-β-ösztradiol koncentrációja a vérplazmában. Ősszel megkezdődik az vakuolumok képződése a sejtekben. Ezt jelzi a GSI értékének csekély szintű növekedése szeptember hónapban. A follikulusok átmérői viszonylag homogén eloszlást mutatnak 200-800µm között. Novemberben megkezdődik az intenzív szikberakódás folyamata, ami már a petefészkek relatív tömegében is kifejeződik. A vakuolizálódás-vitellogenezis minőségi átalakulás a petefészek relatív tömegének nagymértékű növekedésével jár együtt. A GSI értéke a szeptemberihez képest a kétszeresére változik. Ez egyértelmű különbség a Dunában és a Balatonban élő karikakeszeg egyedek között, hiszen ugyanezek a változások a Dunában élő egyedeknél már október hónapban megkezdődnek. Ennek oka feltételezhetően a Balatonban lévő kiegyenlítettebb életfeltételek miatt van. Feltehetően a Balatonban az álló víztömeg miatt gazdagabb a táplálékbázis, kevesebb a táplálék konkurens faj, a

hatalmas, nem áramló víztömeg az alacsony vízszint és a kiegyenlítetteb vízhőmérséklet miatt később hűl le az ősz folyamán, így az ott élő karikakeszeg populációknak elég csak november hónapban felkészülniük a téli, keményebb időjárásra, mikor a petefészekben a sejtjeik kényszernyugalmi állapotba kerülnek.

Novemberben az ováriumban lévő sejtek nagysága megnő, homogén eloszlásuk heterogénné válik, ahogy felszaporodnak az ováriumokban az eltérő fejlődési stádiumban lévő sejtek. Az ivarsejtek fejlődésével, párhuzamosan növekszik az oogenezist szabályozó szteroid hormonok koncentrációja. A tesztoszteron szintje, mint a 17-β-ösztradiol előhormonja (CAMPBELL 1976), jól láthatóan az ivari ciklus folyamán mindvégig magasabb koncnetrációban van jelen, mint az ösztrogén.

November és március között a petefészek téli „nyugalmi állapotba" kerül. A vakuolizálódó és a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták egymáshoz viszonyított számarányában nem történik számottevő változás. A progeszteron és a 17-β-ösztradiol szintje csökken. A tesztoszteron szintje megnő, hogy bitosítani tudja az ösztrogén előhormonjaként a kora tavaszi 17-β-ösztradiol koncentrációjának növekedését.

5. Következtetések és javaslatok

A vizsgált fajok eredményeinek összehasonlításából származó következtetések levonása, javaslatok

1. A balin, a bagolykeszeg, a bodorka - a Balatonban élő állományukat is beleértve -, a jász és a paduc esetében a vakuolizáció időszaka az őszi hónapokban történik. Az ívást megelőző 3-4 hónapban a már kialakult, vitellogenezis stádiumában lévő sejtek gyarapodnak tovább. Ez nem darabszámbeli, hanem az egyes sejtek méretbeni növekedését jelenti.

2. A GSI-re és az oocyta átmérő alakulására vonatkozó eredményeim megerősítik azokat a korábban leírt megfigyeléseket, miszerint a balin, a bagolykeszeg, a bodorka, a jász és a paduc az egy alkalommal ívó fajok közé tartozik.

3. A márna petefészkében a késő őszi és a téli hónapokban nem csak mennyiségi változások zajlanak, mint ahogy azt a GSI értékének szignifikáns emelkedése mutatta. Október és április hónapok között a vakuolizálódó sejtek száma szignifikánsan csökkent, miközben a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták száma szignifikáns mértékben nőtt. Ez a minőségi változás azt jelenti, hogy a vakuolizálódó sejtek egy részében befejeződik a vezikulumok képződése és megkezdődik a vitellogenezis, azaz a szikfelhalmozódás folyamata

4. A márnában és a karikakeszegben – hasonlóan a Balatonban élő egyedekben - a vakuolizáció a tavaszi hónapokban is folyik. Ebben az időszakban nem csak mennyiségi változások, hanem „minőségi jellegű” átalakulások is történnek, azaz átmenet egyik fejlődési állapotból a következőbe.

5. A GSI-re és az oocyta átmérő alakulására vonatkozó eredményeim megerősítik azokat a leírt megfigyeléseket, miszerint a márna és a karikakeszeg az egy ívási időszakban többször ívó fajok közé tartozik

6. Az egyes fajok részletes szaporodásbiológiai folyamatainak ismeretében módunkban áll meghatározni az egyes áramlást kedvelő halfajok keltetőházi halszaporításának pontos időzítését, ezáltal biztosítva az anyahalak begyűjtésének időpontját, az anyák tartásának az időtartamát. Ez utóbbi egy-egy gazdaságban komoly értékmérő tulajdonságként szerepel. A pontosabb időzítés egyúttal hozzájárul ahhoz, hogy a szaporítani kívánt egyedeket, a lehetőségekhez képest, minél kevesebb stresszhatás érje.

7. Amennyiben SALLAI (2008) által kezdeményezett fajlagos tilalmi időszak bevezetése hazánkban komolyabb formátumot öltene, javaslatot tennék arra vonatkozóan, hogy adataimat figyelembevéve kerüljenek az általam is vizsgált halfajok védettséget jelentő státuszba az adott szaporodási időszakon belül. A jelenleg érvényben lévő fajlagos tilalmi időszak márna esetében május 2. - június 15. – ig tart. Figyelembevéve a márna faj szaporodásbiológiai sajátosságait, miszerint ívási időszaka április hónap közepétől kezdődik, fajlagos védettséget így, ettől az időponttól kezdve kellene kapnia.

A Magyar közlöny 99. számában (2009. július 27.) jelent meg a 88/2009 (VII. 17.) FVM-KvVM együttes rendelet "A nem halászható (horgászható) halfajokról és víziállatokról, valamint az egyes halfajok szerinti halászati tilalmi időkről szóló 73/1997 (X. 28.) FM-KTM együttes rendelet módosításáról". A rendelet a korábbi halfajokra vonatkozó tilalmak mellett további három halfajra ír elő tilalmi időt, 2010. évtől: május 2. és június 15. között nem fogható a jászkeszeg, a paduc és a szilvaorrú keszeg. A rendelet a fent említett fajok közül esetleg a szilvaorrú keszegnek jelent némi védelmet, mely faj az említett három faj közül a legkésőbb ívik hazánkban, azonban kísérleteim is bizonyítják, hogy sem a jásznak (**március**-április hónap), sem a paducnak (március-**április** hónap) az ívási időszaka nem esik bele a fent említett időintervallumba. Javaslom a rendelet felülvizsgálatát.

8. Javaslom a vizsgált halfajok ivari ciklusának további, mélyrehatóbb kutatását, az egyes ivari szteroidok koncentrációinak változásának részletesebb feltárását, hogy ezáltal átfogóbb képet kaphassunk a környezetünkben élő halfajok szaporodásbiológiájáról és ívási viselkedésükről.

6. Új és újszerű tudományos eredmények

1. Meghatároztam az általam vizsgált halfajok (balin, bagolykeszeg, jász, márna, bodorka, karika keszeg, paduc) GSI változásait az éves ivari ciklus folyamán.

2. Leírtam a petefészkekben zajló sejtépítő folyamatok dinamikáját a különböző fejlődési állapotok megjelenésén keresztül valamint a fejlődő follikulusok átmérőjének meghatározásával.

3. Meghatároztam a gametogenezist befolyásoló fontosabb ivari szteroidok koncentrációinak változását az ivari ciklus során.

4. Részben feltártam a halakra jellemző eltérő ívási gyakoriság (egyszer ill. többszörívó) petefészek-morfológiai és hormonális hátterét.

5. Saját vizsgálataim eredményei cáfolják – azt a szakirodalomban fellelhető információt (HALAČKA et al. 1997) -, hogy a paducban a vitellogenezis befejeződik októberben, hiszen a tavaszi hónapokban is folytatódik.

6. Összehasonlítottam az eltérő típusú élővizekben (álló - és folyóvíz) található azonos fajok (bodorka, karika keszeg) szaporodásbiológiai tulajdonságait és feltártam közöttük lévő eltéréseket.

7. Összefoglalás

A hazai folyóvizekben élő halfajok szaporodásbiológiai vizsgálatát tudományos, természetvédelmi és gazdasági szempontok egyaránt indokolják. Vizsgáltam a balin (*Aspius aspius*), a bagolykeszeg (*Abramis sapa*), a bodorka (*Rutilus rutilus*), a karikakeszeg (*Blicca bjoerkna*), a márna (*Barbus barbus*), a jász (*Leuciscus idus*) és a paduc (*Chondrostoma nasus*) ivari ciklusát és oogenezisét, valamint összehasonlítottam két, eltérő típusú élettérben – állóvízben (Balaton) és folyóvízben (Duna) élő faj (bodorka és karikakeszeg) egyedeinek petefejlődését. Kutatómunkám célja az volt, hogy új, alapvető ismereteket tárjak fel különböző pontyfélék családjába tartozó halfajok éves ivari ciklusáról, ivari szteroid hormonjaik (17-β-ösztradiol, progeszteron és tesztoszteron) alakulásáról, petefészkük relatív tömegének szaporodást megelőző növekedéséről és ivarsejtjeik fejlődéséről. Az ivari ciklusról a petefészek tömegének testtömeghez viszonyított aránya, a gonado-szomatikus index ad pontos képet. Az ivarsejtek fejlődési állapotát a gonádokból vett minták szövettani vizsgálatával értékeltem, az ivari szteroidok aktuális koncentrációit RIA módszerrel határoztam meg.

A GSI értéke a kora tavaszi időszakban mind a hét vizsgált halfaj esetében határozott mértékben megemelkedett. Ezzel párhuzamosan megnőtt a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták aránya és a follikulusok mérete elérte maximális átmérőjét. Mindez azt jelzi, hogy a kora tavaszi időszakban az ikrások gonádjaiban rendkívül intenzív sejtépítő folyamatok zajlanak. A GSI értékének meghatározása, illetve nyomon követése, a szövettani vizsgálatok, valamint ivari szteroid hormonjaik alakulása lényeges, a fajok szaporodásbiológiájában megmutatkozó különbségekre is felhívták a figyelmet. A márna és a karikakeszeg az egy ívási időszakban többször ívó fajok közé tartozik. Ezt támasztja alá a természetes szaporodást megelőzően megállapított GSI közepesnek tekinthető értéke (kb. 12 %), amely a többször ívó halfajok sajátossága. Az ívási időszakban a GSI értékének fokozatos csökkenése szintén a szakaszos ívásra utal. Az ívás előtt készített szövettani metszetekben az ovulációra felkészült oocyták mellett a vitellogenezis korai szakaszában lévő petesejteket is megfigyeltem. Íváskor márnában a 17-β-ösztradiol és a progeszteron vérplazmában mért koncentrációira ekkor igen magas érték jellemző, ezzel szemben a karikakeszegben a szteroid hormonok koncentrációinak alakulása egy esetlegesen hosszabb, időben elnyújtottabb ívási időszakra utal. Karikakeszegben a 17-β-ösztradiol íváskori alacsony koncentrációjára lehetséges magyarázatként szolgál, hogy a folyamatos ívás miatt nem alakul ki jellemző csúcsa ennek a hormonnak. Márnában a follikulusok átmérője 2200 µm-re növekszik és ez a növekedés június hónapban tovább folytatódik (2800 µm), bár ekkor már nemcsak a GSI értéke marad el az íváskori értéknél, hanem a vitellogenezis stádiumában lévő sejtek számának százalékos aránya is csökken.

Kevesebb, de méretben nagyobb szikkel teli oocyta van a petefészkekben. Karikakeszegben a follikulusok április hónapban, feltehetően az első ívásnál érik el maximális méretüket (1500 µm). Mindkét faj esetében a GSI értékének fokozatos csökkenése, valamint még június hónapban a petefészkekben talált szikkel teli oocyták jelenléte megerősíti azokat a megfigyeléseket, miszerint a márna és a karikakeszeg az egy ívási időszakban többszörívó fajok közé tartozik.

A többi vizsgált halfaj esetében - balin, bagolykeszeg, bodorka, jász és paduc - az ívási időszakot megelőzően a GSI értéke viszonylag magas (kb. 19 %) és ívást követően hirtelen lecsökken. A petefészkekből kiürülnek a vitellogenezis stádiumában lévő oocyták, a gonádokban már csak a kisebb átmérőjű sejtek maradnak. A szikberakódás folyamata nyár végén - ősszel kezdődik meg és az ívást megelőző kora tavaszi hónapokban folytatódik. Vizsgálataim eredményei alapján a fent említett öt fajt az ívási időszakban egy alkalommal ívó fajok közé soroltam.

Összehasonlítva a két eltérő típusú élettérben élő fajok ikrás egyedeinek petefejlődését megállapítottam, hogy a Dunában élő karikakeszegben az intenzív szikberakódás folyamata októberben kezdődik meg, ezzel szemben a Balatonban élő fajtársainál ez a folyamat csak egy hónappal később, novemberben tapasztalható. Ennek oka feltételezhetően a Balatonban lévő kiegyenlítettebb életfeltételek miatt van.

Hasonló ok miatt lehet az is, hogy a dunai bodorkában ívást követően marad a petefészekben szikkel telt oocyta, addig a Balatonból gyűjtött egyedek ováriumában ezt a néhány százalékot már az üres follikulusok és az atretikus folyamatokon keresztüljutó sejtek teszik ki. Nyár végén megkezdődik a sejtek minőségbeli átalakulása és megjelennek a vakuolizálódás kezdeti (ún. “gyűrűs”) állapotában lévő oocyták. Dunából megmintázott egyedekben hasonló stádiumban lévő sejtek kisebb százalékban találhatóak meg és már megfigyelhetőek “teljes” vakuolizálódó sejtek is, azonban a két eltérő típusú élettérben élő faj GSI értéke ekkor szinte teljesen megegyezik.

A fajok szaporodásbiológiájának mélyebb ismerete lehetőséget adhat keltetőházi szaporításuk kidolgozására. A keltetőházi szaporítás, a védett környezetben történő ivadéknevelés és az ezt követő halasítás hozzájárulhat az áramlást kedvelő fajok megőrzéséhez.

8. Summary

Investigations on the ovarian cycle of fish species inhabiting Hungarian rivers are necessary both from environmental and economical aspects. In the present study, investigations were carried out on the gonadal cycle and oogenesis of the asp (*Aspius aspius*), white-eye bream (*Abramis sapa*), roach (*Rutilus rutilus*), white bream (*Blicca bjoerkna*), barbel (*Barbus barbus*), orfe (*Leuciscus idus*) and nase (*Chondrostoma nasus*) and comparisons were made of the oogenesis of two species (roach and white-eye bream) that live in two different habitats, lacustrine (Balaton) and riverine (Danube). The objective of my research was to explore new fundamental knowledge concerning ovarian cycle, concentration changes of different sexual steroid hormones (17-β-estradiol, progesterone and testosterone) and relative weight of gonads before the spawning season of riverine fish species. Proportion of ovary weight to body weight called gonad-somatic index (GSI) is an important indicator of the reproductive cycle. Histological investigation of gonads and determination of proportions of gametes in different stages of development is an appropriate method for the description of spawning characteristics of these species. RIA was used to determine current levels of sexual steroid hormones.

In early spring GSI value was markedly increased in all of the seven examined fish species. Simultaneously, the number of oocytes in the stage of vitellogenesis increased and the size of follicles has reached its maximum diameter. All these data indicate that in early spring prior to spawning very intensive developmental processes are taking place in the ovary. Determination of GSI values, examination of histological changes and sexual steroid hormone concentrations has drawn attention to essential differences in the reproductive biology of examined fish species

Barbel and white bream are multiple spawner species according to the medium value (12 %) of GSI prior to the spawning period, which is a speciality of multiple spawners. During the spawning season GSI decreases gradually. In the pre-spawning period the presence of oocytes in the stage of cortical alveoli and vitellogenesis indicate partial ovulation, too. A very high concentration of 17-β-estradiol and progesterone is detected in the blood plasma of the barbel while in the white bream changes in steroid hormone levels indicate a putatively longer spawning period. The absence of a characteristic peak in the concentration of 17-β-estradiol due to prolonged spawning can be a possible explanation for the low concentration of this hormone during spawning in the white bream. In the barbel, the diameter of follicles increases to 2200 μm and this growth continues further in June (to 2800 μm), although GSI value and percentage of vitellogenetic oocytes is reduced then comparing the period of spawning. The number of oocytes present in the ovary is lower, however, their size is larger due to the amount of accumulated yolk. In the white bream, follicles reach their maximum size (1500 μm) in April, possibly at the first spawning. Gradual decrease of GSI as well

as the presence of yolk-rich oocytes in the ovaries in June confirm observations that the barbel and the white bream are multiple spawner species.

Asp, white-eye bream, roach, orfe and nase are single spawners according to their high GSI values (19 %) before spawning and the drastic reduction after reproduction. Vitellogenetic oocytes are emptied from the ovaries and only smaller cells are left in the gonads. Yolk deposition starts in the end of summer and during the fall and continues in the early spring months prior to spawning. According to the results of my studies, the above mentioned five species were listed as single spawners.

Comparison of the oogenesis in the females of two species inhabiting two different habitats revealed that the period of intensive yolk deposition starts in October in the Danubian white bream while this process starts a month later in November in individuals of the same species living in lake Balaton. This is probably due to the more balanced condition in the lake.

Similar reasons can be found for the fact that yolk-rich oocytes can be found in the ovaries of Danubian roach while in individuals collected from the lake Balaton ovaries contain only empty follicles and atretic cells. Qualitative transformation of cells starts in the end of the summer and oocytes in the early stage of cortical alveoli appear. A lower percentage of cells in the same stage can be found in individuals sampled from the Danube and oocytes in the complete stage of cortical alveoli can be observed, although, the GSI values of the individuals living in two different habitats are almost identical.

Understanding reproduction biology of these species can help to develop an induced spawning technology for them. Induced spawning and fry rearing in protected environment followed by restocking can contribute to the conservation of these riverine species.

9. Irodalomjegyzék (1. sz. melléklet)

ABRAHAM G. E., SWERDLOTF R. S., TULCHINSKY D., ODNELL W. D. (1971): Radioimmunoassay of plasma 17-hydroxyprogesterone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism,* 33 (1): 42-46. p.

ABRAHAM M., HILGE V., LISON S., TIBIKA H., RAHAMIN A. (1982): The envelope cells of the oocytes and the pathway of intravenously injected HRP in the teleostean ovary. *General and Comparative Endocrinology,* 46 390-391. p.

ABRAHAM M., HILGE V., LISON S., TIBIKA H. (1984): The cellular envelope of oocytes in teleosts. *Cell and Tissue Research*, 235 (2): 403-410. p.

AGULLEIRO M., ANDRÉ M., MORAIS S., CERDÁ J., BABIN P. J. (2007): High transcript level of fatty acid-binding protein 11 but not of very low-density lipoprotein receptor is correlated to ovarian follicle atresia in a teleost fish (*Solea senegalensis*). *Biology of Reproduction*, 77 (3) 504-516. p.

AMANZE D., LYENGAR A. (1990): The micropyle: a sperm guidance system in teleost fertilization. *Development,* 109 (2): 495-500. p.

ANDERSSON E., BORG B., LAMBERT J. G. D. (1988): Aromatase activity in brain and pituitary of immature and mature Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *General and Comparative Endocrinology,* 72 (3): 94-401. p.

BEGOVAC P. C., WALLACE R. A. (1988): Stages of oocyte development in the pipefish, *Syngnathus scovelli*. *Journal of Morphology*, 197 (3):353-369. p.

BELVEDERE P., DALLA VALLE L., LUCCHETTI A., RAMINA A., VIANELLO S., COLOMBO L. (1998): Extraglandular expression of genes encoding steroidogenic cytochromes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) *Annals of the New York Academy of Science,* 839, 589-591. p.

BILODEAU A. L., SMALL B. C., WISE D. J., WOLTERS W. R. (2005): Pathogen levels, lysozyme, and cortisol response in channel catfish with susceptibility differences to *Edwardsiella ictaluti*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 17 (2): 138-146. p.

BRETON B., FOSTIER A., ZOHAR Y., LE BAIL P. Y., BILLARD R. (1983): Maturational glycoprotein gonadotropin and estradiol-l7-β during the reproductive cycle of the female brown trout (*Salmo trutta*). *General and Comparative Endocrinology*, 49 220-231. p.

BROMAGE N. R., CUMARANATUNGA P. R. T. (1988): Egg production in rainbow trout. In: MUIR J. F., ROBERTS R. J. (eds.) *Recent Advances in Aquaculture.* London és Sydney: Croom Helm, pp. 65-138. p.

BRUSLÉ S. (1980): Fine structure of early previtellogenic oocytes in *Mugil (Lisa) auratus* Risso, 1810 *(Teleostei, Mugilidae). Cell and Tissue Research*, 207 (1): 123-134. p.

BRYLIŃSKA M., ŹBIKOWSKA L. (1997): Ecology, growth and fecundity of a reproducting population of silver bream, *Blicca bjoerkna*, from a lowland river reservoir. *Folia Zoologica*, 46 (4): 353.366. p.

BURTON M. P. M. (1994) A critical period of nutritional control of early gametogenesis in female winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Pisces: Teleostei). *Journal of Zoology* (London) 233 405-15. pp.

BUSSON-MABILLOT S. (1984): Endosomes transfer yolk proteins to lysosomes in the vitellogenic oocyte of the trout. *Biology of the Cell*, 51 (11): 53-56. p.

CAMPBELL S. (1976): Double blind psychometric studies on the effects of natural estrogens on post-menopausal women. In: The Management of the Menopause and Post-Menopausal Years, Campbell S. ed. Baltimore: University Park Press, pp. 149-158.

CARNAVELLI O., CARLETTA R., CAMBI A., VITA A., BROMAGE N. (1999): Yolk formation and degradation during oocyte maturation in seabream *Sparus aurata*: involvement of two lysosomal proteinases. *Biology of Reproduction*, 60 (1): 140-146. p.

CARRAGHER J. F., PANKHURST N. W. (1993): Plasma levels of sex steroids during sexual maturation of snapper, *Pagrus auratus* (*Sparidae*), caught from the wild. *Aquaculture,* 109 (3-4): 375-388. p.

CELIUS T., WALTHER B. T. (1998): Oogenesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) occurs by zonagenesis preceding vitellogenesis *in vivo* and *in vitro*. *Journal of Endocrinology*, 158 (2): 259-266. p.

CHAN L., TAN C. H., PANG M. K., LAM T. J. (1991): Vitellogenin purification and development of assay for vitellogenin receptor in oocyte membranes of the tilapia *(Oreochromis niloticus,* Linnaeus 1766). *Journal of Experimental Zoology*, 257 (1): 96-109. p.

CHANG J. E., PETER R. E., NAHORNIAK C. S., SOKOLOWSKA M. (1984): Effects of catecholaminergic agonists and antagonists on serum gonadotropin concentrations and ovulation in goldfish: evidence for specificity of dopamine inhibition of gonadotropin secretion.. *General and Comparative Endocrinology*, 55 (3): 351-360. p.

CLÉROT J. C. (1976): Les groupements mitochondriaux des cellules germinales de poissons Téléostéens Cyprinidés. 1. Etude ultrastructurale. *Journal of Ultrastructure Research*, 54 (3): 461-475. p.

COWARD K., BROMAGE N. R., LITTLE D. C. (1998): Inhibition of spawning and associated suppression of steroid levels during confinement in the substrate-spawning Tilapia zillii. *Journal of Fish Biology,* 52 (1) 152–165. p.

CRIM L. W., EVANS D. M. (1979): Stimulation of pituitary gonadotropin by testosterone in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *General and Comparative Endocrinology,* 37 (2): 192-196. p.

DAVAIL B., PAKDEL F., BUJO H., PERAZZOLO L. M., WACLAWEK M., SCHNEIDER W. J., LE MENN F. (1998): Evolution of oogenesis: the receptor for vitellogenin from the rainbow trout. *Journal of Lipid Research*, 39 (10): 1929-1937. p.

DAVIS G. H. (2005): Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genetics Selection Evolution,* 37 (1): 11–23. p.

DOROSHOV S. (1985): Biology and culture of sturgeon, Acipenseriformes. In: MUIR J. F., ROBERTS R. J. (eds.) *Recent Advances in Aquaculture*, pp. 251-274.

EBRAHIMI M., KIME D. E. (1998): Extragonadal Steroidogenesis in Teleost Fish. *Annals of the New York Academy of Science,* 839, 581-583. p.

ELOFSSON U., WINBERG S., FRANCIS R. C. (1997): Number of preoptic GnRH-immunoreactive cells correlates with sexual phase in a protandrously hermaphroditic fish, the dusky anemonefish (*Amphiprion melanopus*). *Journal of Comparative Physiology,* 181 (5): 484-492. p.

GELINAS D., PITOC G. A., CALLARD G. V. (1998): Isolation of a goldfish brain cytochrome P450 aromatase cDNA: mRNA expression during the seasonal cycle and after steroid treatment. *Molecular and Cellular Endocrinology,* 138 (1-2): 81-93. p.

GHARIB D. D., WIERMAN M. E., SHUPNIK M. A., CHIN W. W. (1990): Molecular biology of the pituitary gonadotropins. *Endocrine Reviews,* 11 (1): 177-199. p.

GLENN C. L., WILLIAMS R. R. G. (1976): Fecundity of the mooneye, Hiodon tergisus, in the Assiniboine River. *Canadian Journal of Zoology,* 54 (2): 156-161. p.

GREELEY M. S., J. R. CALDER D. R., WALLACE R. A. (1986): Changes in teleost yolk proteins during oocyte maturation - correlation of yolk proteolysis with oocyte hydration. *Comparative Biochemistry and Physiology,* 84B: 1-9. p.

GUDGER E. W. (1918): The breeding habits and the segmentation of the egg of the pipefish *Siphostoma floridae*. *Proceedings U.S. National Museum,* 29, 447-500. p.

GURAYA S. S. (1986): The cell and molecular biology of fish oogenesis. In: SAUER H. W. (ed.), *Monographs in Developmental Biology*, Karger, Basel, Switzerland, pp. 18-223.

GUTI G. (2005): A Duna és a hullámtéri vízterek közötti oldalirányú kölcsönhatások jelentősége a halállomány biológiai sokféléségének megőrzésében. In: Tamás E. A. (szerk.) Élet a Duna-árterén – *Ember a természetben,* 51-57. p.

GYÖRE K., BALOGH J., BARDÓCZ T., CSIKAI CS. (2000): A hal és a halgazdálkodás helye a Nemzeti Biodiverzitás Programban. *Halászat*, 93 (2): 66-69. p.

HARKA Á., SALLAI Z. (2004): Magyarország halfaunája. Pauker nyomda, Budapest, pp. 80-82, 118-122, 124-126, 170.

HIRAMATSU N., CHAPMAN R.W, LINDZEY J.K., HAYNES M.R., SULLIVAN C.V. (2004): Molecular characterization and expression of vitellogenin receptor from the white perch *(Morone Americana)*. *Biology of Reproduction*, 70 (6): 1720-1730. p.

HOCHMAN L. (1965): Fecundity of *Chondrostoma nasus* L. in the Oslava River. *Zoologicke Listy,* 14 (1): 71–83. p.

HORVÁTH L. (1980) A ponty (*Cyprinus carpio L.*) petefejlődésének elemzése és szabályozása. A halhústermelés fejlesztése (9). Szerkesztő: Oláh J. Haltenyésztési Kutató Intézet, Szarvas, pp. 166.

HORVÁTH L., TAMÁS G. (1978): Halszaporítás - Ivadéknevelés. In: Bakos J. (Szerkesztő), Haltenyésztés (Szakmérnöki jegyzet), Debrecen, pp. 141-240.

HORVÁTH L., URBÁNYI B. (2000): Általános szaporodásbiológia. In: Halbiológia és haltenyésztés (egyetemi tankönyv). Szerkesztő: Horváth László. Mezőgazda Kiadó, Budapest 168-180. p.

HSIAO H. M., GREERLEY M. S., WALLACE R. A. (1994): Reproductive cycling in female *Fundulus heteroclitus. Biological Bulletin,* 186 (3): 271-84. p.

HUNTER J. R., MACEWICZ B. J. (1985): Measurment of spawning frequency in multiple spawning fishes. In: An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: Application to the Northern anchovy, *Engaulis mordax*. LASKER R. (ed.) U.S. Department of. Commerce's National Oceanic and Atmospheric. Administration, Tech. Rep., 36, pp. 79-93.

IWAMATSU T., ONITAKE K., MATSUYAMA K., SATOH K., YUKAWA S. (1997): Effect of micropylar morphology and size on rapid sperm entry into the eggs of medaka. *Zoological Science*, 14 (4): 626-628. p.

IZQUIERDO M. S., FERNANDEZ-PALACIOS H., TACON A. G. J. (2001): Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture* 197, 1-4 (322 p.) 25-42 pp.

JALLAGEAS, M. (1975): Interactions réciprogues testo-thyroidiennes chez le canard mâle. Incidences sur les cycles endocriniens annuels. Thèse de Doctorat ès Sciences, Université de Montpellier, CNRS A. O. nº 10965

JANZ D. M., VAN DER KRAAK G. (1997): Suppression of apoptosis by gonadotropin, 17b-estradiol and epidermal growth factor in trout preovulatory ovarian follicles. *General and Comparative Endocrinology,* 105 (2): 186-193. p.

JANZ D. M., WEBER L. P. (2000): Microscopic Functional Anatomy: Endocrine System. Chp 25 in: The Laboratory Fish (GK Ostrander ed.). Academic Press, London. pp. 415-439.

JONES A. (1974): Sexual maturity, fecundity, and growth of the turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom,* 54: (1) 109-125. p.

KAGAWA H., YOUNG G., NAGAHAMA Y. (1983): Relationship between seasonal plasma estradiol-17β and testosterone levels and in vitro production by ovarian follicles of amago salmon (Oncorhynchus rhodurus). *Biology of Reproduction,* 29 (2): 301-309. p.

KAPLAN L. A., PESCE A. J. (1984): Clinical chemistry, The C. V. Mosby Company, St. Louis pp. 795-801.

KESTEMONT P., RINCHARD J., FEYS V., FOSTIER A. (1999): Spawning migrations, sexual maturity and sex steroid levels in female roach *Rutilus rutilus* from the River Meuse. *Aquatic Sciences*, 61: 111-121. p.

KIME D. E. (1992): Progestogen metabolism by ovaries of the roach (*Rutilus rutilus* L.) and the rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.). *Fish Physiology and Biochemistry,* 9 (5-6): 497-504. p.

KING J. A., MILLAR R. P. (1992): Evolution of gonadotropin-releasing hormones. *Trends in Endocrinology and Metabolism,* 3: 339-346. p.

KIRCHHOFER A., HEFTI D. (1996): Introduction. In: KIRCHHOFER A., HEFTI D. (eds), Conservation of Endangered Freshwater Fish in Europe. Birkhäuser Verlag Basel / Switzerland

KITAJIMA K., KUROYANAGI H., INOUE S., YE J., TROY F. A., INOUE, Y. (1994): Discovery of a new type of sialidase kinase, which specifically hydrolyses deaminoneuaminyl (3-deoxy-d-glycero-d-galacto-2-o-nonulosonic acid) but not n-acylneuaminyl linkages. *Journal of Biological Chemistry,* 269 21415-21419. p.

KJESBU O. S., WHITTHAMES P. R., SOLEMDAL P., GREER WALKER M. (1990): Ovulatory rhythm and a method to determine the stage of spawning in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisferies and Aquatic Sciences*, 47 (6): 11. p.

KOBAYASHI W. (1985): Communication of oocyte-granulosa cells in the chum salmon ovary detected by trasmission electron microscopy. *Development, Growth and Differentation*, 27 (5): 553-561. p.

KOBAYASHI M., AIDA K., HANYU I. (1987): Hormone changes during ovulation and effects of streoid hormones on plasma gonadotropin levels and ovulation in goldfish. *General and Comparative Endocrinology* 67: 24-32. p.

LANCASTER P. M., TYLER C. R. (1994): Developmental expression and modulation of the vitellogenin receptor in ovarian follicles of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss. The Journal of Experimental Zoology,* 269 (5): 458-466. p.

LE MENN F., BURZAWA-GÉRARD E. (1985): Effect of carp gonadotropin (cGTH) and a fraction unadsorbed on concanavalin A-sepharose obtained from c-GTH on vitellogenesis in the hypophysectomized marine teleost *Gobius niger. General and Comparative Endocrinology*, 57 23-36. p.

LE MENN F., PELISSERO C. (1991): Histological and ultrastructural studies of oogenesis of the Siberian sturgeon *(Acipenser baeri).* In: WILLIOT P. (ed.), *Acipenser,* CEMAGREF, Bordeaux, pp. 113-127.

LE MENN F., DAVAIL B., PELISSERO C., NDAYE P., BON E., PERAZZOLO L., NUÑEZ J. (1999): A new approach to fish oocyte vitellogenesis. In: *Proceedings of the 6th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, Bergen, Norway, 281-284. p.

LEFLER K., KOMÁROMI J. (2002): Gazdasági szempontból jelentős folyóvízi halfajok ivari ciklusának vizsgálata. Tudományos Diákköri Konferencia, SZIE, november 27.

LETHIMONIER C., MADIGOU T., MUÑOZ-CUETO J. A., LAREYRE J. J., KAH O. (2004): Evolutionary aspects of GnRH neuronal systems and GnRH receptors in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*, 135 (1): 1-16. p.

LIBOSVÁRSKÝ J., ŠTĚRBA O., (1981): Regressive processes in the oocytes of three cyprinids with intermittent spawning. *Folia Zoologica*, 30 (3): 241-248. p

LIBOSVÁRSKÝ J., SAEED D. W., NÉMCOVÁ M. (1985): Fecundity of roach, *Rutilus rutilus* in a newly built reservoir. *Folia Zoologica*, 34 (4): 357-372. p.

LUO D., MCKEOWN B. A., RIVIER J., VALE W. (1990): In vitro responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) somatotrophs to carp growt hormone-releasing factor (GRF) and somatostatin. *General and Comparative Endocrinology,* 80 (2): 288-298. p.

LUSK S. (1995): The status of *Chondrostoma nasus* in waters of the Czech Republic. *Folia Zoologica*, 44 (1): 1-8. p.

MACDOUGALL T. M., VAN DER KRAAK G. (1998): Peptide growth factors modulate prostaglandin E and F production by goldfish ovarian follicles. *General Comparative and Endocrinology,* 110 (1): 46-57. p.

MAESTRO M. A., PLANAS J. V., MORIYAMA S., GUTIERREZ J. PLANAS J., SWANSON P. (1997): Ovarian receptors for insulin and insulin-like growth factor I (IGF-I) and effects of IGF-I on steroid production by isolated follicular layers of the preovulatory coho salmon ovarian follicle. *General and Comparative Endocrinology,* 106 (2): 189–201. p.

MALONE T.E., HISAOKA K.K. (1963): A histochemical study of the formation of deutoplasmic components in developing oocytes of the zebrafish, *Brachidanio rerio*. *Journal of Morphology*,112: 61-75. p.

MASTERS, R. W. (2001): Viagra Falls: Pharmaceuticals in Rivers and Municipal Tap Water. *Water Well Journal,* 55. (7): 16-18. p.

MCMASTER M. E., VAN DER KRAAK G. J., MUNKITTRICK K. R. (1996): An epidemiological evaluation of the biochemical basis for steroid hormonal depressions in fish exposed to industrial wastes. *Journal of Great Lakes Research,* 22 (2): 153-171. p.

MIKHAIL G., WU C. H., FERIN M., VANDE WIELE R. L. (1970): Radioimmunoassay of plasma estrone and estradiol. *Steroids,* 15 (3): 333–352. p.

MORRISON J. K., SMITH C. E. (1986): Altering the spawning cycle of rainbow trout by manipulating water temperature. *The Progressive Fish Culturist,* 48: 52–54. p.

NAGAHAMA Y. (1997): 17α, 20β-Dihydroxy-4-pregnen-3-one, a maturation-inducing hormone in fish oocytes: mechanisms of synthesis and action. *Steroids* 62 (1): 190-196. p.

NAGAHAMA Y., YOSHIKUNI M., YAMASHITA M., TANAKA M. (1994): Regulation of oocyte maturation in fish. In Fish Physiology, (eds SHERWOOD N.M., HEW C. L.), Academic Press, San Diego, CA. pp. 393-439.

NAGAHAMA Y., YOSHIKUNI M., YAMASHITA M., TOKUMOTO T., KATSU Y. (1995): Regulation of oocyte growth and maturation in fish. *Current Topics in Developmental Biology*, 30: 103-145. p.

NAKAMURA M., SPECKER J.L., NAGAHAMA Y. (1993): Ultrastructural analysis of the developing follicle during early vitellogenesis in tilapia, *Oreochromis niloticus,* with special reference to the steroidproducing cells. *Cell and Tissue Research*, 272 (1): 33-39. p.

NG T. B., IDLER D. R. (1983): Yolk formation and differatiation in teleost fishes. In: HOAR W. S., RANDALL D. J., DONALDSON E. M. (eds.) *Reproduction* - Part A. New York: Academic Press, pp. 373-404.

PANKHURST N. W., VAN DER KRAAK G. (1997): Effects of stress on reproduction and growth of fish. In: Fish stress and health in Aquaculture. In: IWAMA G. K., SUMPTER J., PICKERING A. D., Schreck C. B. (eds). Society for Experimental Biology Seminar Series, 62; Cambridge University Press, Cambridge UK. pp. 73-95.

PASMANIK M., CALLARD G. V. (1985): Aromatase and 5α-reductase in the teleost brain, spinal cord and pituitary gland. *General and Comparative Endocrinology,* 60 (2): 244-251. p.

PATI D., HABIBI H. R. (1998): Presence of salmon GnRH and compounds with GnRH-like activity in the ovary of goldfish. *Endocrinology,* 139 (4): 2015-2024. p.

PEARSE B. M. F. (1976): Clathrin: a unique protein associated with intracellular transfer of membrane by coated vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 73 (4): 1255-1259. p.

PERAZZOLO L. M., COWARD K., DAVAIL B., NORMAND E., TYLER C. R., PAKDEL F., SCHNEIDER W. J., LE MENN F. (1999): Expression and localization of messenger ribonucleic acid for the vitellogenin receptor in ovarian follicles throughout oogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biology of Reproduction*, 60 (5): 1057-1068. p.

PINTÉR K. (1992): Magyarország halai –biológiájuk és hasznosításuk- (második, változatlan kiadás). Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 202.

PONCIN P., THIRY M., LEPOINT A. (1996): Histological and biometrical study of intraovarian oocytes in barbel *(Barbus barbus*) reared in captivity. *Folia Zoologica* 45 (1): 117-120. p.

POTTINGER T. G., MORAN T. A., CRANWELL P. A. (1992): The biliary accumulation of corticosteroids in rainbow-trout, *Oncorhynchus-mykiss*, during acute and chronic stress. *Fish Physiology and Biochemistry*, 10 (1): 55-66. p.

RICHTER C. J. J., EDING E. H., LEUVEN S. E. W., VAN DER WIJST J. G. M. (1982): Effects of feeding levels and temperature on the development of the gonad in the African catfish *Clarias lazera* (C & V). In: *Proceedings of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, Wageningen, The Netherlands, 2-6 August, 1982: 147-150. p.

RINCHARD J., KESTEMONT P. (1996): Comparative study of reproductive biology in single- and multiple-spawner cyprinid fish. I. Morphological and histological features. *Journal of Fish Biology,* 49 (5): 883-894. p.

RINCHARD J., KESTEMONT P., HEINE R. (1997): Comparative study of reproductive biology in single and multiple-spawner cyprinid fish. 2. Sex steroid and plasma protein phosphorus concentrations. *Journal of Fish Biology,* 50 (1):169–180. p.

SAIDAPUR S.K. (1978): Follicular atresia in the ovaries of nonmammalian vertebrates. *International review of Cytology* 54: 225-244. p.

SALLAI Z. (2008): Az őshonos halaink védelmében, Halászati Tudományos Tanácskozás, 20. pp.

SARGENT R. C., TAYLOR P. D., GROSS M. R. (1987): Parental care and the evolution of egg sizes in fishes. *The American Naturalist,* 129 (11): 32-46. p.

SCOTT A. P., CANARIO A. V. M. (1987): Status of the oocyte maturation-inducing steroids in teleost. In: IDLER D. R., CRIM L. W., WALSH J. M. (Eds.), In: *Proceedings of the Third International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. Memorial University of Newfoundland, St. Johns, Canada, pp. 22.

SCOTT A. P., CANARIO A. V. M. (1992): 17α,20β-Dihydroxy-4-pregnen-3-one 20-sulfate; a major new metabolite of the teleost oocyte maturation-inducing steroid. *General and Comparative Endocrinology,* 85 (1): 91–100. p.

SELMAN K., WALLACE R. A. (1982): Oocyte growth in the sheepshead minnow: Uptake of exogenous proteins by vitellogenic oocytes. *Tissue and Cell,* 14 (3): 555-571. p.

SELMAN K., WALLACE R. A., BARR V. (1988): Oogenesis in *Fundulus heteroclitus.* V. The relationship of the yolk vesicles and cortical alveoli. *Journal of Experimental Zoology,* 246 (1): 42-56. p.

SELMAN K., WALLACE R. A. (1989): Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zoological Science,* 6 (2): 211-231. p.

SELMAN K., WALLACE R. A., SARKA A., QI X. (1993): Stages of oocyte development in the zebrafish *Brachydanio rerio*. *Journal of Morphology,* 218: (2) 203-224. p.

SENTHILKUMARAN B., YOSHIKUMI M., NAGHAMA Y. (2004): A shift in steroidogenesis occurring in ovarian follicles prior to oocyte maturation. *Molecular and Cellular Endocrinology* 215 (1-2): 11-18. p.

SHAHABI N. A., NORTON H. W., NALBANDOV A. V. (1975) Steroid levels in follicles and the plasma of hens during the ovulatory cycle. *Endocrinology*. 96 (4): 962-968.

SHERWOOD, N. M., PARKER, D.P., MCRORY, J.E., LESCHEID, D.W. (1994): Molecular evolution of growth hormone-releasing hormone and gonadotropin-releasing hormone. In „*Fish Physiology*" (N.M. Sherwood, C. L. Hew, Eds.) Academic Press, San Diego 13: 3-66. p.

SHIBATA Y, IWAMATSU T., OBA Y., KOBAYASHI D., TANAKA M., NAGAHAMA Y., SUZUKI N., YOSHIKUNI M. (2000): Identification and cDNA cloning of alveolin, an extracellular metalloproteinase, which induces chorion hardening of Medaka *(Oryzias latipes)* eggs upon fertilization. *Journal of Biological Chemistry*, 275 (12): 8349-8354. p.

SIRE M. F., BABIN P. J., VERNIER J. M. (1994): Involvement of the lysosomal system in yolk protein deposit and degradation during vitellogenesis and embryonic development in trout. *Journal of Experimental Zoology*, 269 (1): 69-83. p.

SPECKER J. L., SULLIVAN C. V. (1994): Vitellogenesis in fishes: status and perspectives. In DAVEY K. G., PETER R. E., TOBE S. S. (eds.) *Perspectives in Comparative Endocrinology.* Ottawa, Canada: National Research Council of Canada, pp. 304-315.

STACY N. E. (1987): Roles of hormones and pheromones in fish reproductive behavior. In: *Phychobiology of Reproductive Behavior: An Evolutionray Perspective* (Crews D. ed.), pp. 28-60.

STEGEMAN J. J., KLOEPPER-SAMS P. J. (1987): Cytochrome P-450 isozymes and monooxygenase activity in aquatic animals. *Environmental Health Perspective,* 71 87-95. p.

STIFANI S., LE MENN F., NUÑEZ RODRIGUEZ J., SCHNEIDER W. J. (1990): Regulation of oogenesis: the piscine receptor for vitellogenin. *Biochim Biophys. Acta,* 1045 (3): 271-279. p.

SUTTON K. A., JUNGNICKEL M. K., FLORMAN H. M. (2002): If music be the food of love. *Nature Cell Biology,* 4 154-157. p.

SZABÓ T. (2000a): A szaporodás neuroendokrin szabályozása. In: Halbiológia és haltenyésztés. (egyetemi tankönyv) Szerkesztő: Horváth László. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 194-205.

SZABÓ T. (2000b): A valódi csontoshalak ikrájának morfológiája, élettana és megtermékenyülése. Halbiológia és haltenyésztés. (egyetemi tankönyv) Szerkesztő: Horváth László. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 185-194.

SZABÓ T. (2000c): A balin, a jászkeszeg, a paduc és a márna szaporítása. In: Halbiológia és haltenyésztés. (egyetemi tankönyv) Szerkesztő: Horváth László. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 336-341.

SZABÓ T. (2001): A paduc (*Chondrostoma nasus* L.) közép-európai állományának értékelése természetvédelmi szempontból. *Halászat,* 94 (1): 11-13. p.

SZABÓ ZS. (1960): A petényi márna (*Barbus meridionalis petényi* Heckel) petefészkének évi ciklusa. *Vertebrata Hungarica,* 2 (2): 153-161. p.

TESORIERO J. V. (1978): Formation of the chorion (zona pellucida) in the teleost, *Oryzias latipes*. III. Autoradiography of ^{3}H-proline incorporation. *Journal of Ultrastructure Research*, 64 (3): 315-326.

TYLER C. R., SUMPTER J. P., KAWAUCHI H., SWANSON P., (1991): Involvement of gonadotropin in the uptake of vitellogenin into vitellogenic oocytes. *General and comparative endocrinology,* 84 (2): 291–299. p.

TYLER C. R., SUMPTER J. P. (1996): Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fishers* 6 (3): 287-318. p.

ULRICH E. (1969): Etude des ultrastructures au cours de l'ovogenése d'un poisson téléostéen, le Danio, *Brachydanio rerio* (H. B.). *Journal of Microscopy*, 8 447-478. p.

VAN DER KRAAK G., SUZUKI K., PETER R. E., ITOH H., KAWAUCHI H. (1992): Properties of common carp gonadotropin I and gonadotropin II. *General and Comparative Endocrinology,* 85 (2): 217–229. p.

VAN DER KRAAK G., CHANG J. P., JANZ D. M. (1998): Reproduction. In: The Physiology of Fishes, 2nd edn (ed. Evans D. H.), CRC Press, Boca Raton. pp. 465-488.

WALLACE R. A., SELMAN K. (1981): Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoologist*, 21 (2): 325-343. p.

WALLACE R. A., SELMAN K. (1990): Ultrastructural aspect of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. *Journal of Electron Microscopy Technique*, 16 (3): 175-201. p.

WITTHAMES P. R., GREER-WALKER M. (1991): Follicular atresia in the ovary of the western mackerel (*Scomber scombrus* L.). In: SCOTT A. P., SUMPTER J. P., KIME D. E., ROLFE M. S., eds. *Proceedings of Fourth International Symposium of Reproductive Physiology of Fish.* Sheffield, UK: Sheffield University Press, pp. 328.

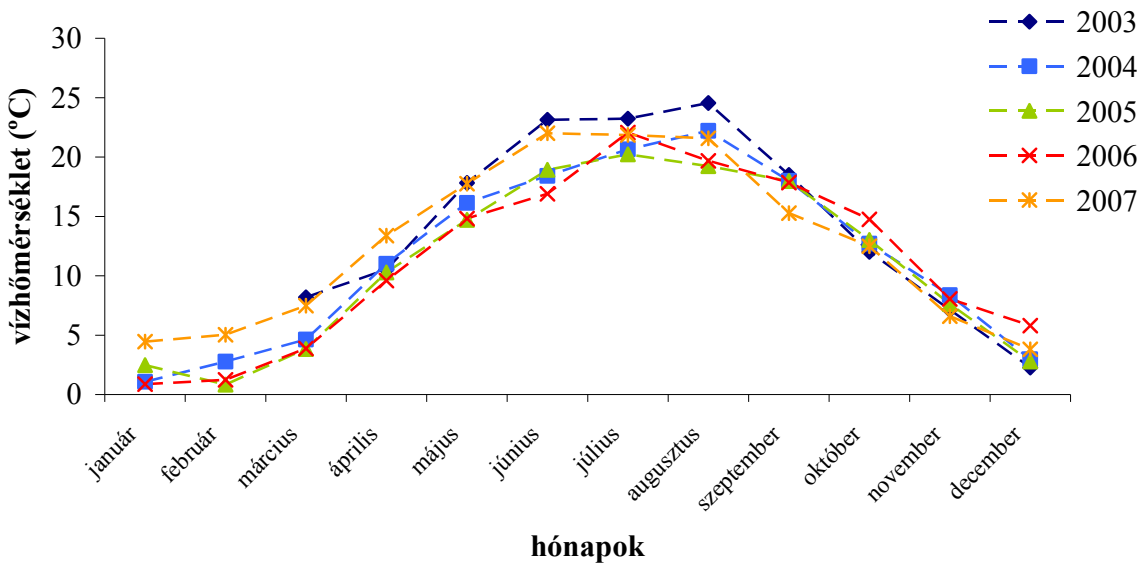
www.vizadat.hu

YAMASHITA M. (1998): Molecular mechanisms of meiotic maturation and arrest in fish and amphibian oocytes. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 9 (5): 569-579.

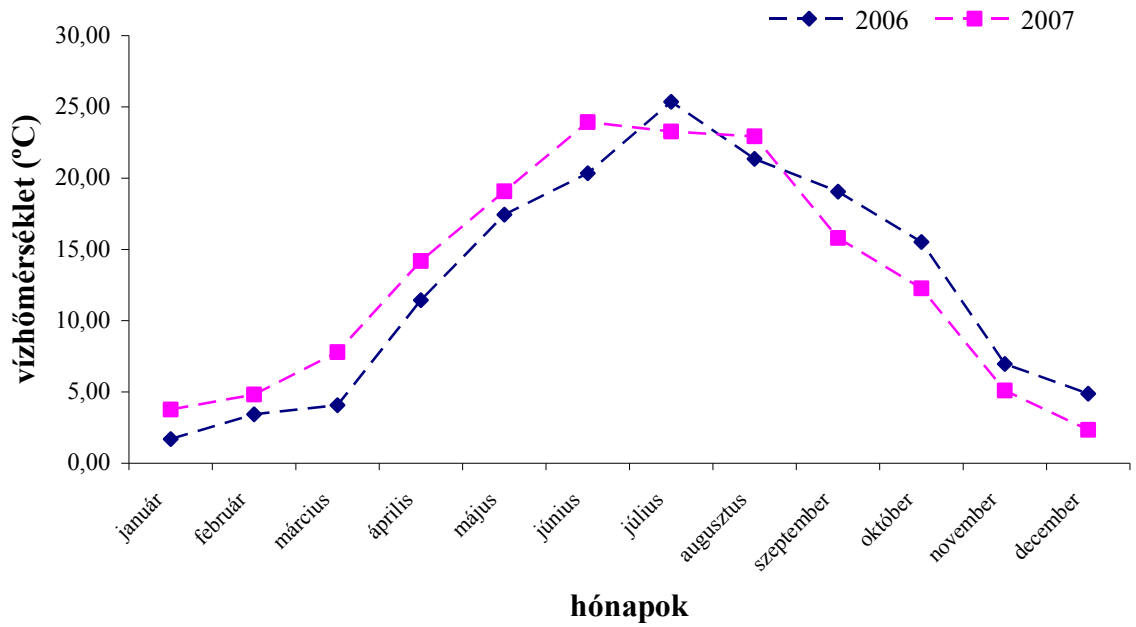
YOUNG G., KAGAWA H., NAGAHAMA Y. (1983): Evidence for a decrease in aromatase activity in the ovarian granulosa cells of amago salmon (*Oncorhynchus rhoduras*) associated with final oocyte maturation. *Biology of Reproduction,* 29 (2): 310-315. p.

10. 2. sz. melléklet

Az egyes mintavételi években a Dunában (Paks) mért havonkénti átlagos vízhőmérséklet alakulása (www.vizadat.hu).

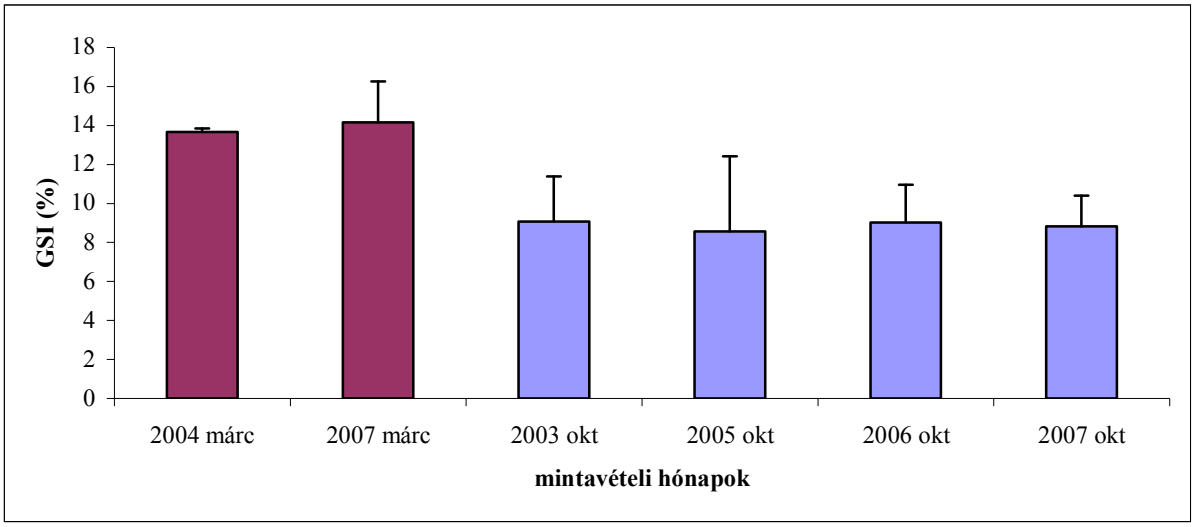


Az egyes mintavételi években a Balatonban (Tihany) mért havonkénti átlagos vízhőmérséklet alakulása.

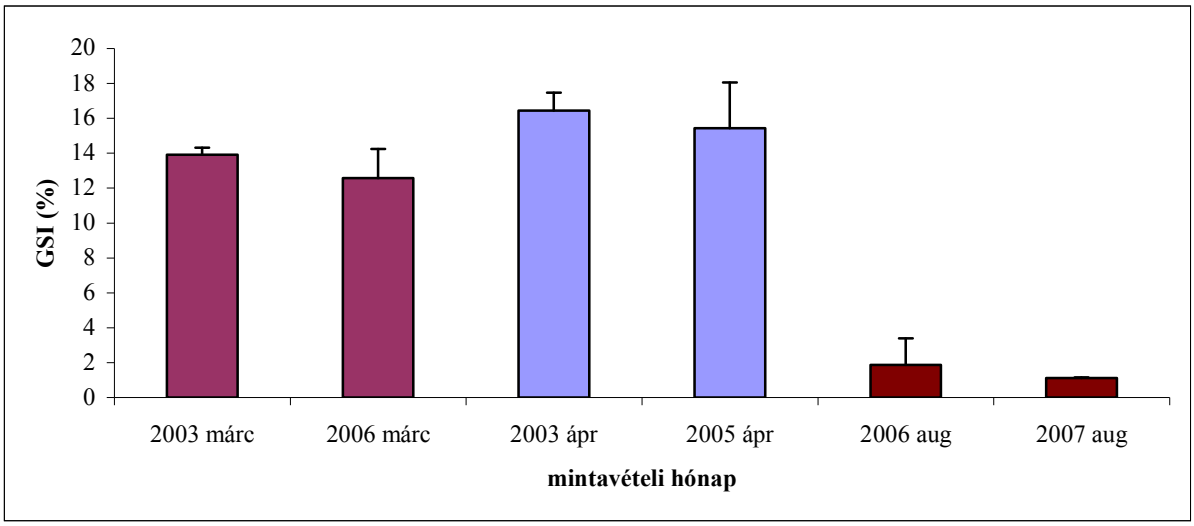


11. 3. sz. melléklet

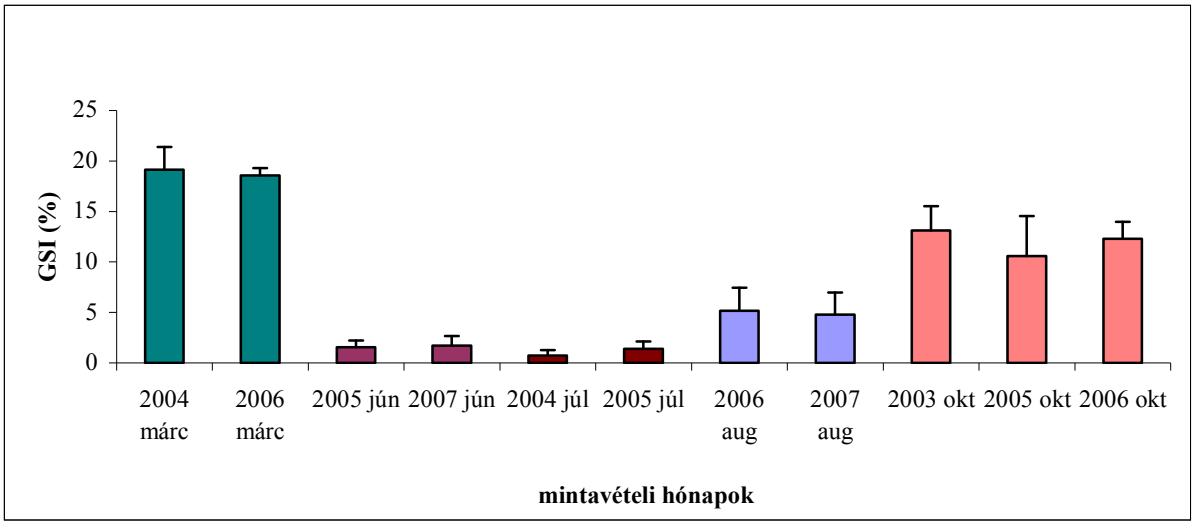
A különböző évek azonos hónapjaiban kapott GSI adatok évenkénti alakulásának összehasonlítása. Az adatok között 95 %-os szignifikancia (P<0,05) szint mellett nem tapasztaltam különbséget



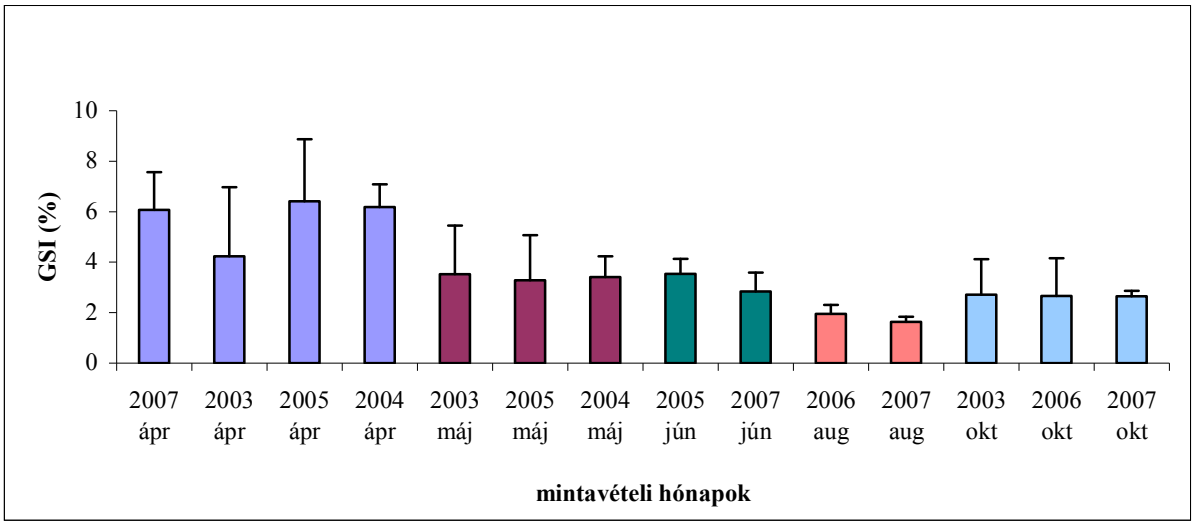
A balin ikrások gonado-szomatikus indexének évenkénti alakulása. A statisztikai értékelés (kétmintás t-próba, ANOVA) az egyes GSI értékek között szignifikáns különbséget nem mutatott ki (P<0,05).



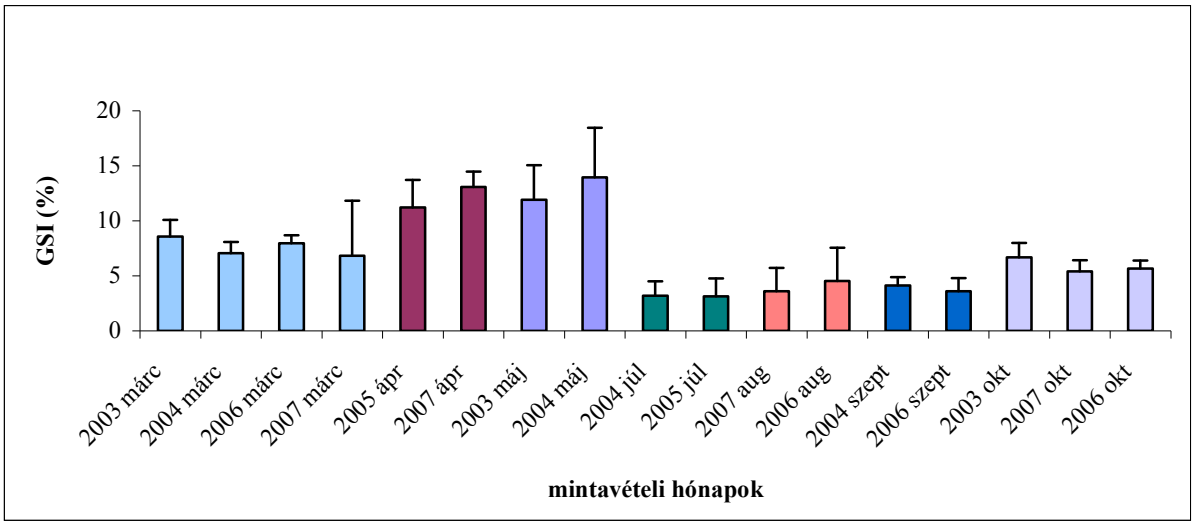
A bagolykeszeg ikrások gonado-szomatikus indexének évenkénti alakulása. A statisztikai értékelés (kétmintás t-próba) az egyes GSI értékek között szignifikáns különbséget nem mutatott ki (P<0,05).



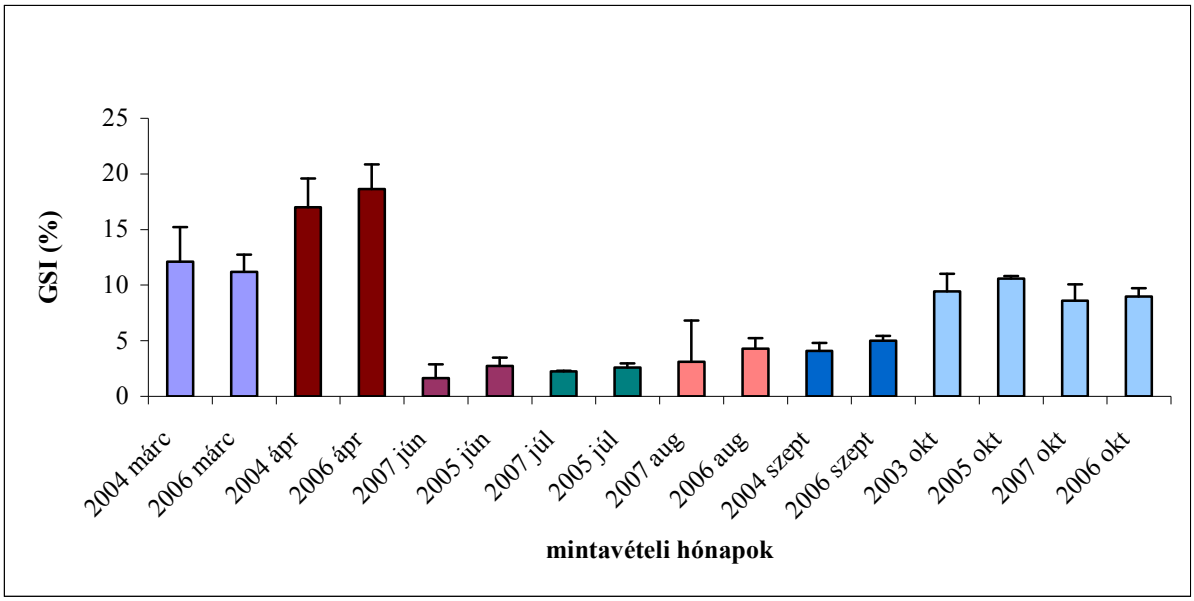
A jász ikrások gonado-szomatikus indexének évenkénti alakulása. A statisztikai értékelés (kétmintás t-próba, ANOVA) az egyes GSI értékek között szignifikáns különbséget nem mutatott ki (P<0,05).



A márna ikrások gonado-szomatikus indexének évenkénti alakulása. A statisztikai értékelés (kétmintás t-próba, ANOVA) az egyes GSI értékek között szignifikáns különbséget nem mutatott ki (P<0,05).



A karikakeszeg ikrások gonado-szomatikus indexének évenkénti alakulása. A statisztikai értékelés (kétmintás t-próba, ANOVA) az egyes GSI értékek között szignifikáns különbséget nem mutatott ki (P<0,05).

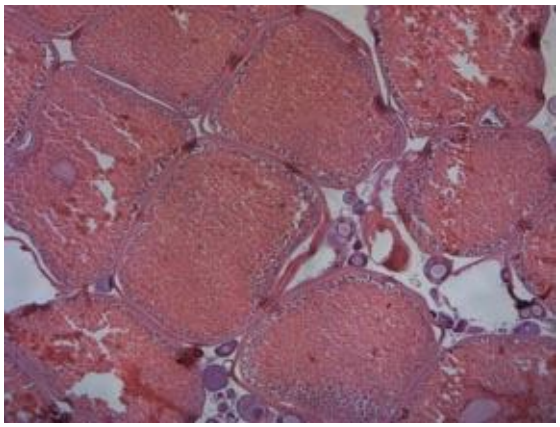


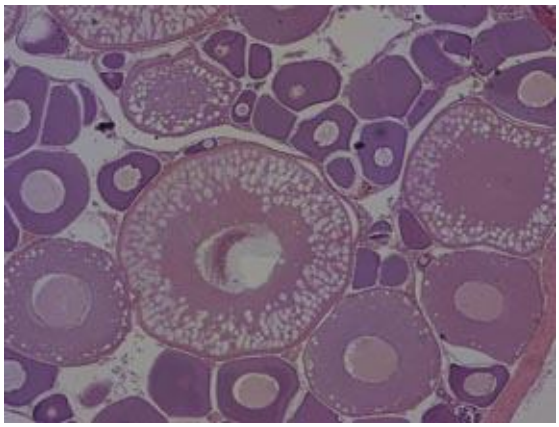
A paduc ikrások gonado-szomatikus indexének évenkénti alakulása. A statisztikai értékelés (kétmintás t-próba, ANOVA) az egyes GSI értékek között szignifikáns különbséget nem mutatott ki (P<0,05).

12. 4. sz. melléklet

A Dunából gyűjtött halfajok vizsgált ikrás egyedeinek petefészkéből készített szövettani metszetek (hematoxilin-eozin)

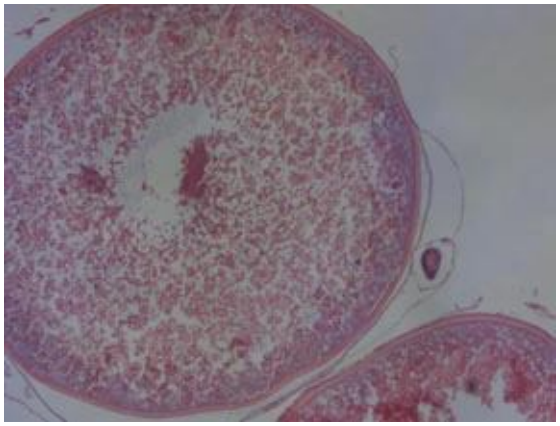
A balin ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek

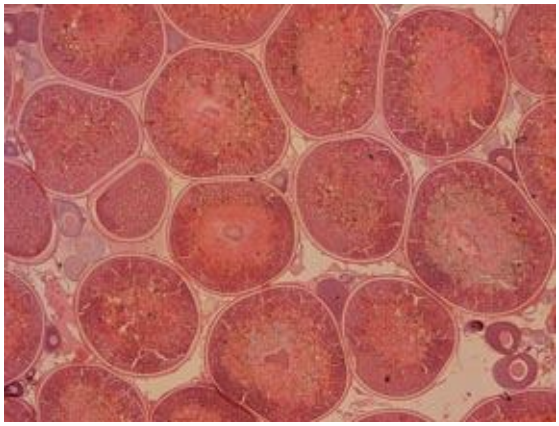




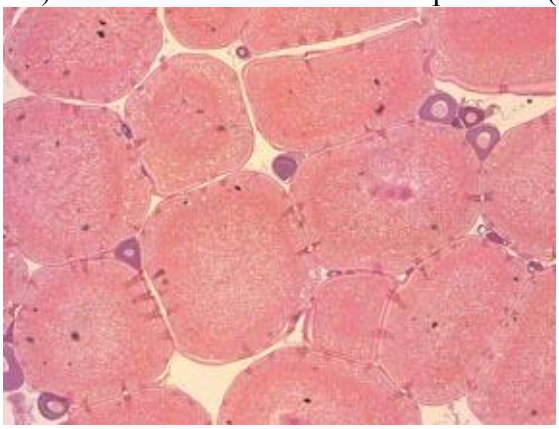
március (20X) augusztus (40X)

A bagolykeszeg ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek



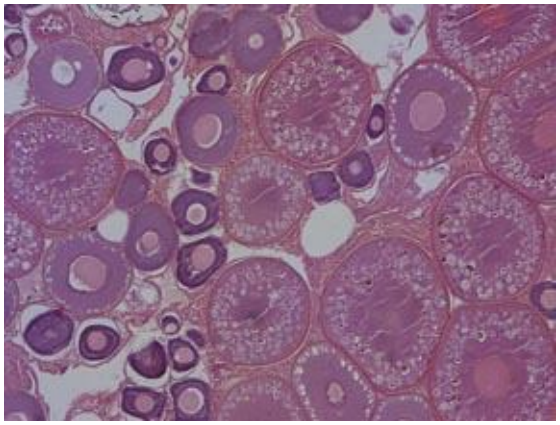


március (40X) szeptember (20X)

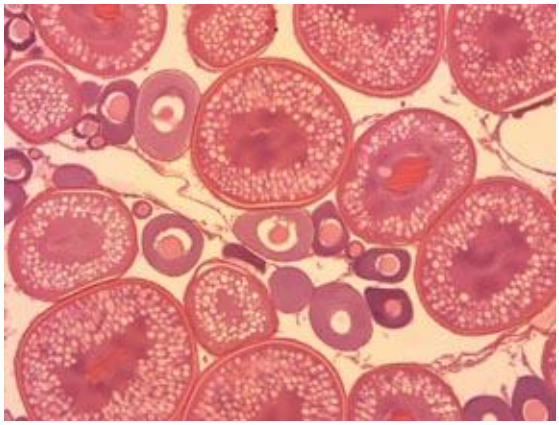


október (20X)

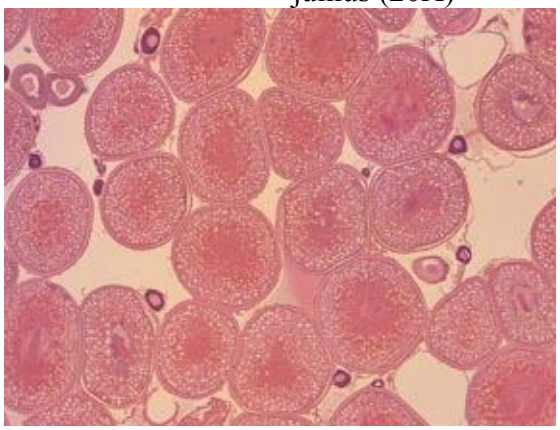
A jász ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek



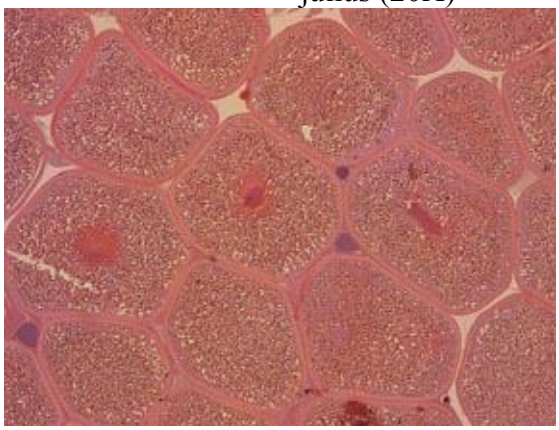
június (20X)



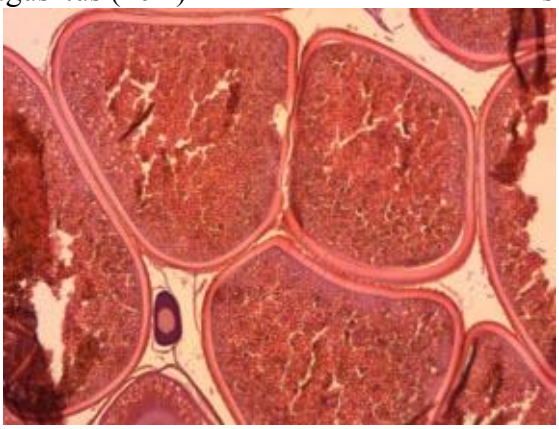
július (20X)



augusztus (20X)

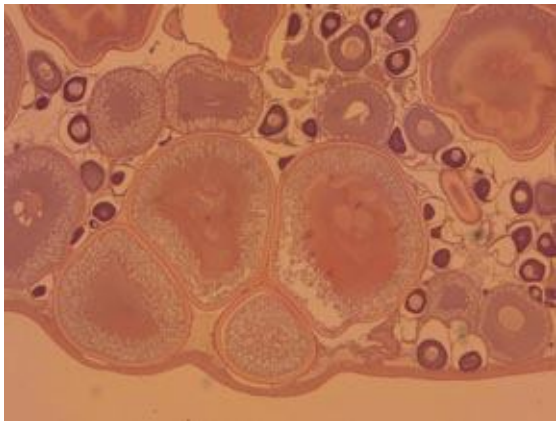


szeptember (20X)

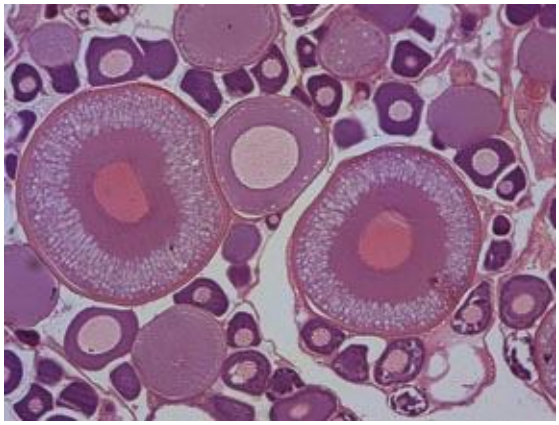


október (40X)

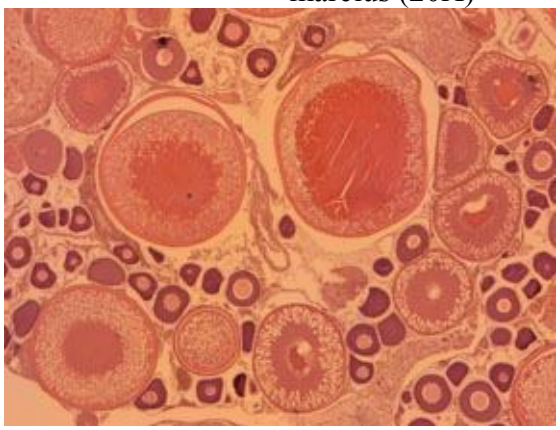
A márna ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek



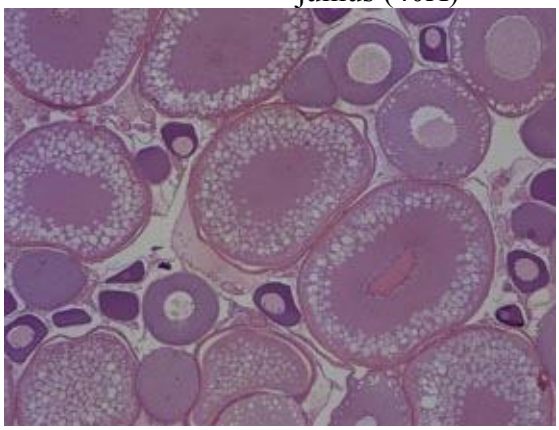
március (20X)



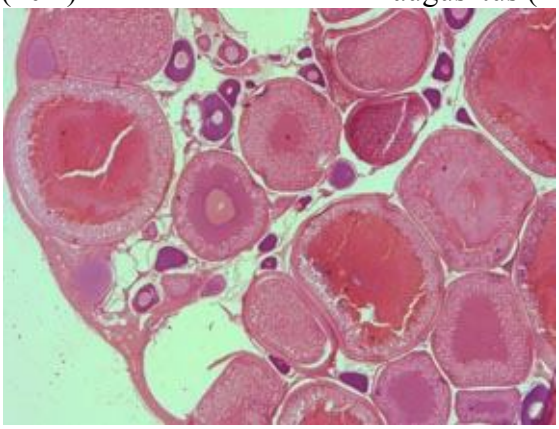
június (40X)



július (20X)

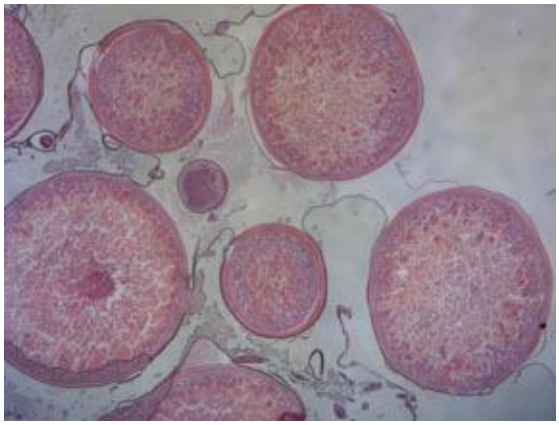


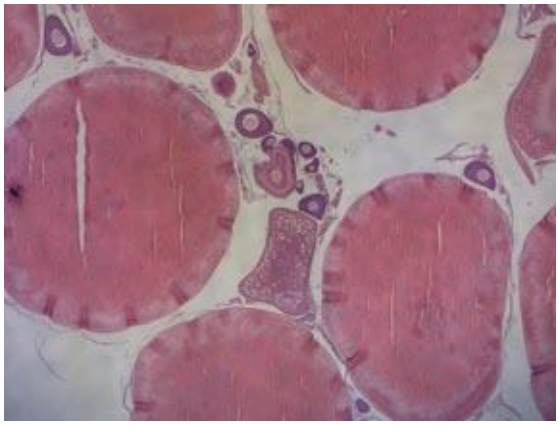
augusztus (40X)



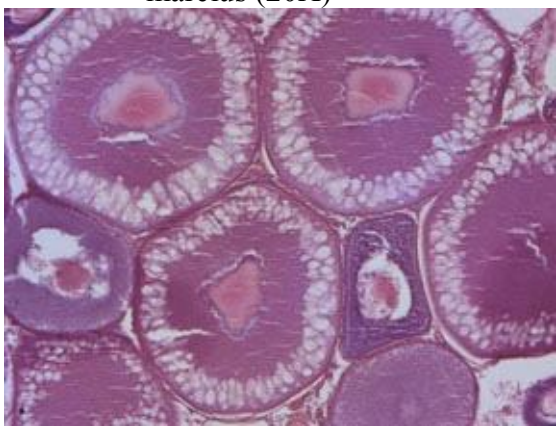
október (20X)

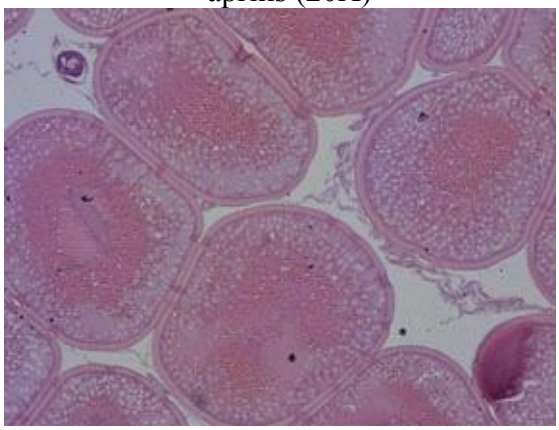
A bodorka ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek





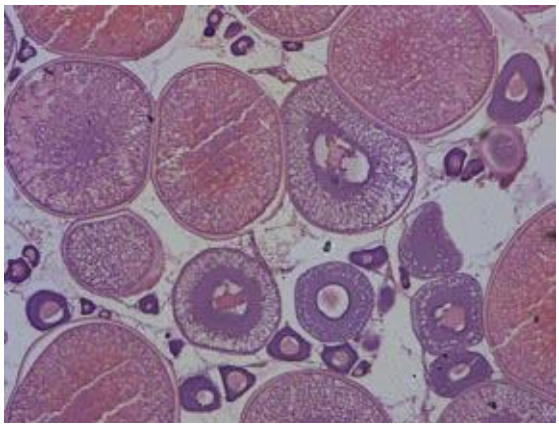
március (20X) április (20X)

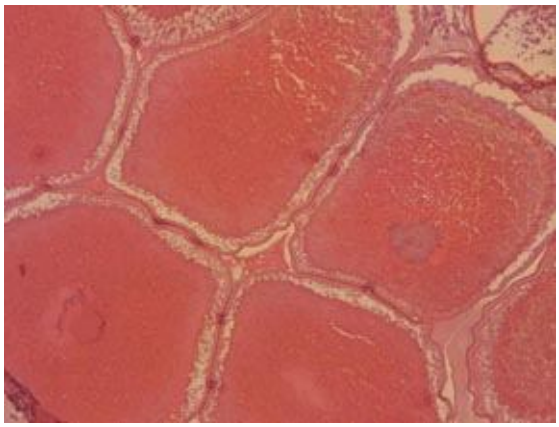




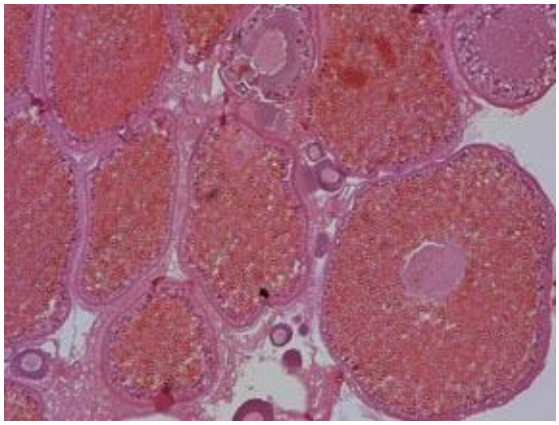
augusztus (40X) október (40X)

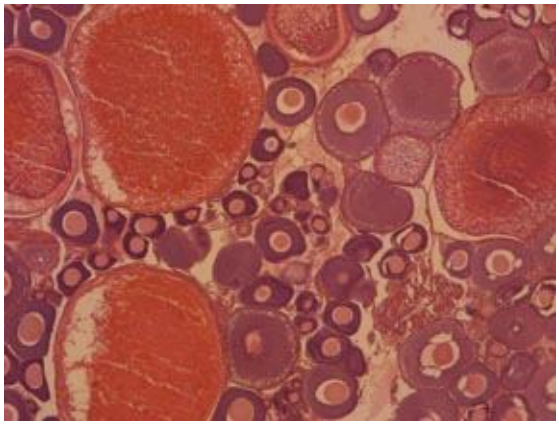
A karikakeszeg ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek



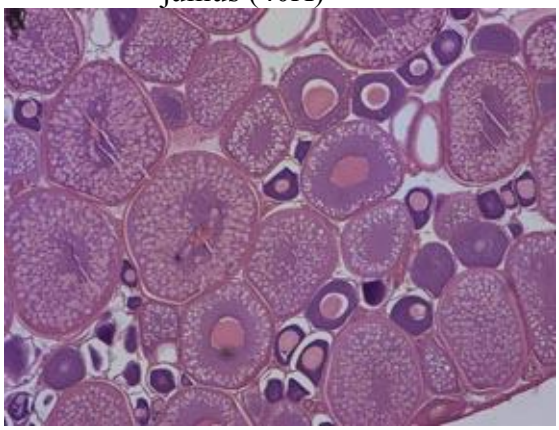


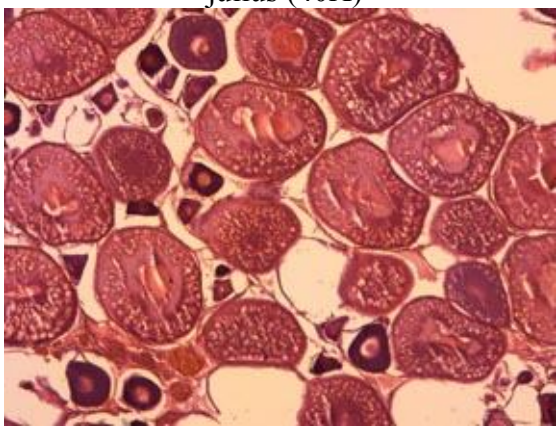
március (20X) április (40X)





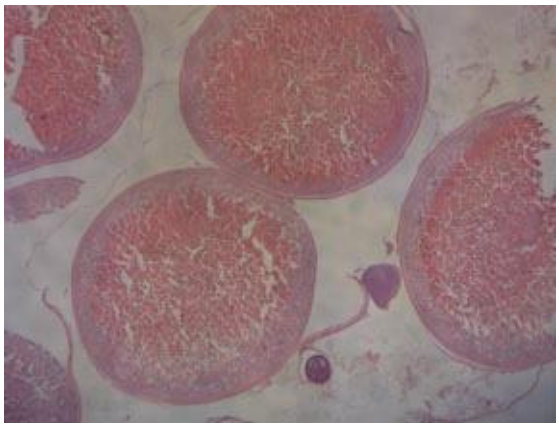
június (40X) július (40X)



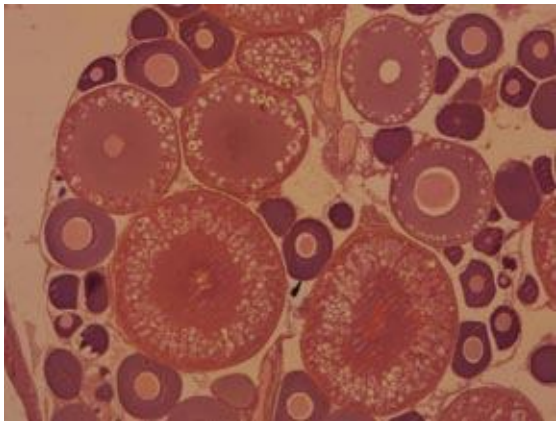


augusztus (20X) szeptember (20X)

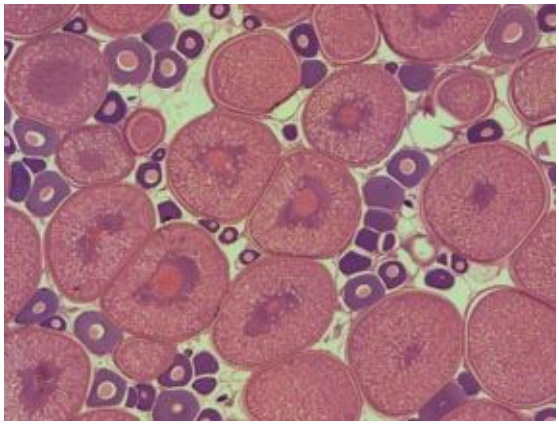
A paduc ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek



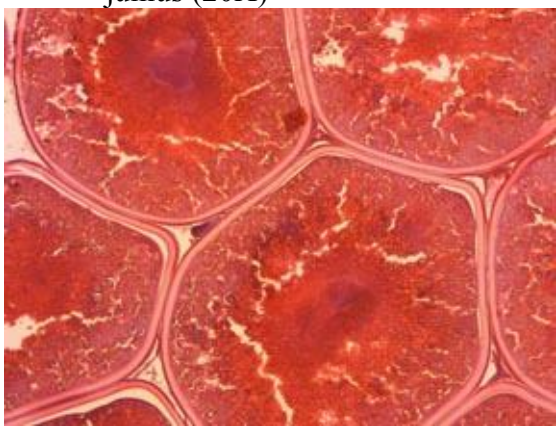
március (20X) április (20X)



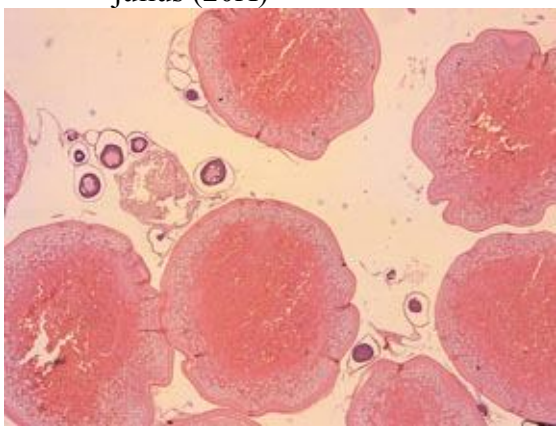
június (20X)



július (20X)



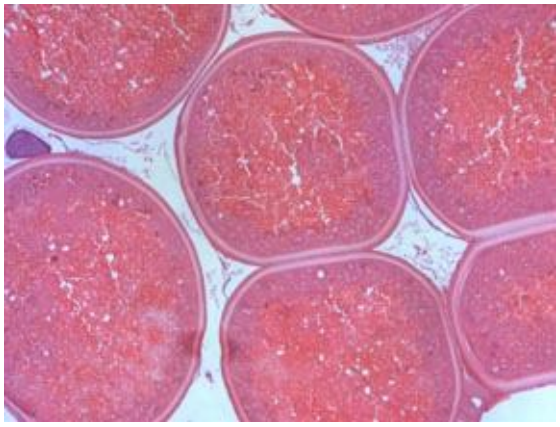
szeptember (20X)



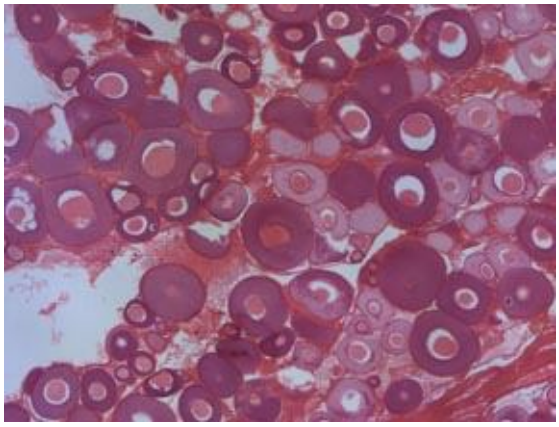
október (40X)

A Balatonból gyűjtött halfajok vizsgált ikrás egyedeinek petefészkéből készített szövettani metszetek (hematoxilin-eozin)

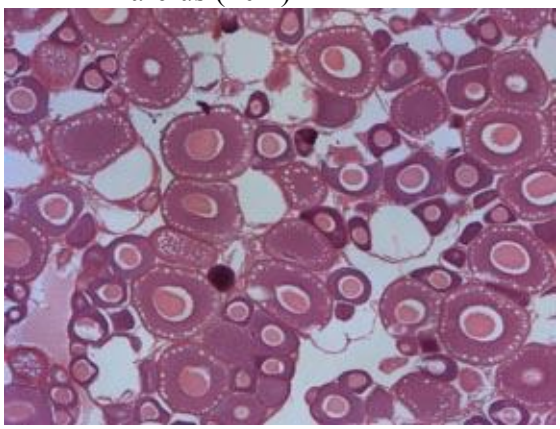
A bodorka ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek



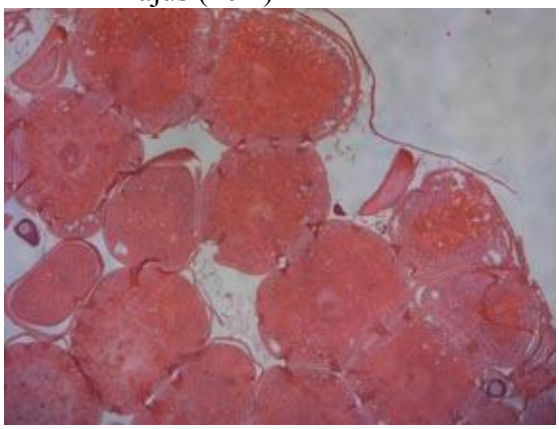
március (40X)



május (40X)

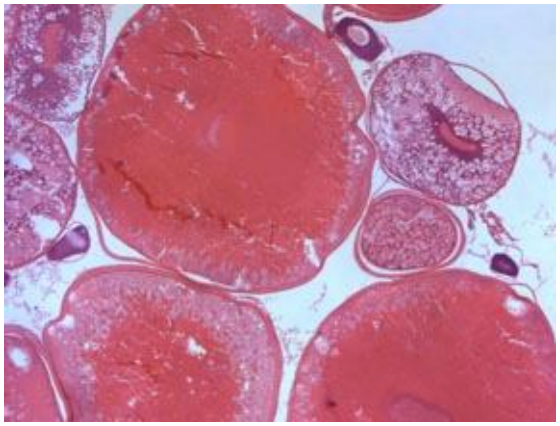


augusztus (40X)

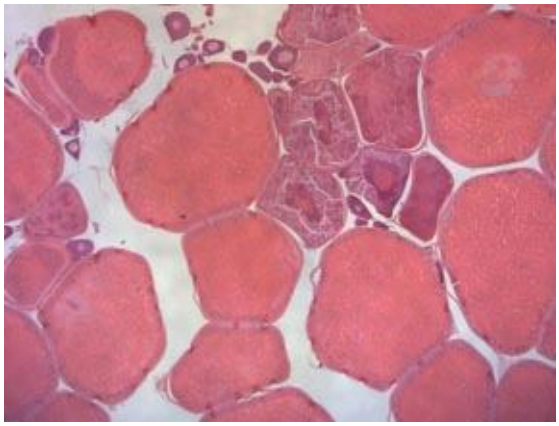


november (20X)

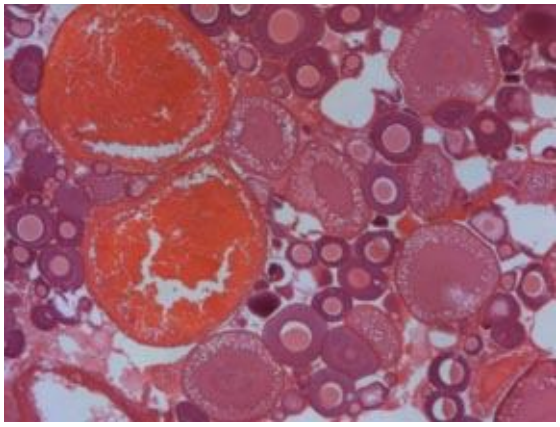
A karikakeszeg ikrásainak petefészkéből készített szövettani metszetek

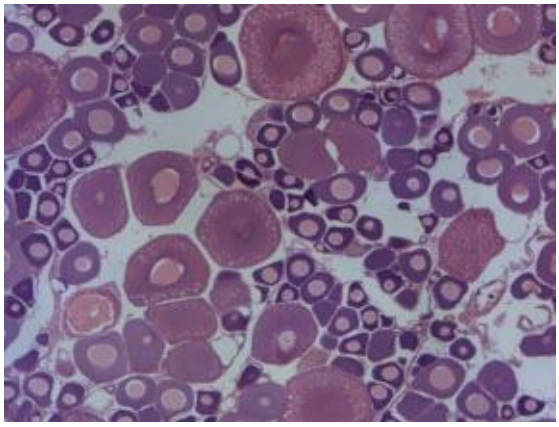


április (40X)

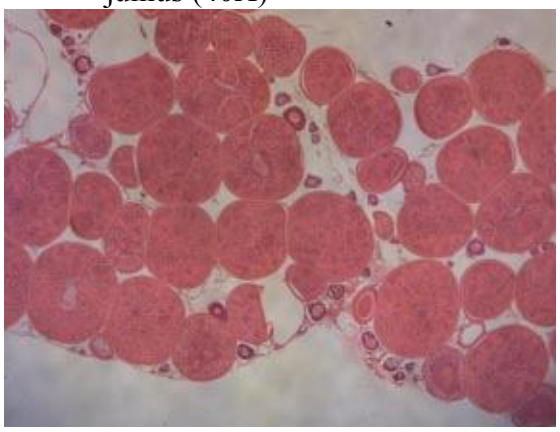


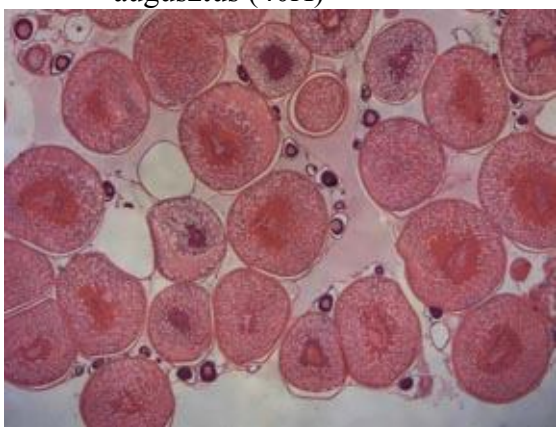
május (20X)





június (40X) augusztus (40X)





szeptember (20X) november (20X)

13. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki közvetve vagy közvetlenül hozzásegített eredményeim elvégzéséhez, dolgozatom elkészítéséhez. Mivel név szerint nem áll módomban valamennyiüket megemlíteni, így az alábbiakban csak a legfontosabb személyeket emelném ki.

Köszönettel tartozom **Dr. Horváth László** professzor úrnak, aki nagy odaadással, szívvel-lélekkel vezette az általa alapított Halgazdálkodási Tanszéket. Szakmai tudása és emberi nagysága előtt fejet hajtva, örülök, hogy az ő irányítása mellett sajátítottam el egyetemi és doktori éveim alatt a szakma rejtelmeit.

Szakmai vezetőmnek, **Dr. Szabó Tamás**nak szeretnék köszönetet mondani, aki már egyetemi tanulmányaim során támogatott, megszerettette velem akkori, majd későbbi témám szépségeit és a doktori képzés elkezdésére és folytatására ösztönzött.

Szívből jövő hálával tartozom **Dr. Baska Ferenc**nek, akinek a hosszú évek alatt nem tudtam sem szakmai, sem erkölcsi témában olyan problémát felvetni, amit nem oldott volna meg. Bármikor, bármilyen gondommal gondolkodás nélkül fordulhattam hozzá. Szakmai tudásának töredékét átadni igyekezve vezetett be évekkel ezelőtt a szövettani technika rejtelmeibe, és biztosított zavartalan munkámhoz minden szükséges feltételt, amiért külön köszönettel tartozok neki.

Itt szeretnék köszönetet mondani az Állatorvos-tudományi Kar **Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszék** dolgozóinak az évek óta nyújtott önzetlen segítségükért, leginkább **Pop Renátá**nak, aki bármikor a rendelkezésemre állt és megoldással szolgált, ha technikai akadályokat gördített elém a szakma.

Köszönettel tartozom a Halgazdálkodási Tanszék egész kollektívájának, hisz önzetlen segítségükre az itt töltött évek alatt mindig is számíthattam.

Külön köszönet illeti a Halgazdálkodási Tanszék tanszékvezetőjét, **Dr. Urbányi Bélát**, aki kezdetektől fogva önzetlenül támogatott, elfogadta emberi gyengeségeimet és megadta a kezdő lépést doktori tanulmányaim megkezdéséhez. Számára nem létezik lehetetlen bármilyen problémáról legyen is szó, hiszen az évek alatt akármilyen gonddal fordultam hozzá, biztos lehettem benne, hogy bármikor megteremti a szükséges feltételeket és gyors, magasszínvonalú megoldást ajánl.

Nagy szeretettel gondolok **Dr. Horváth Ákos** kollegámra, aki mindig, minden formában segítségemre tudott lenni, ha eltévedtem a szakamai élet útvesztőiben, legyen az a statisztikától kezdve a cikkírásig bezárólag minden. Azonban nem csak szakmailag, hanem emberileg is önzetlenül, időt és fáradtságot nem sajnálva egyengette tudományos tevékenységemet, tanácsot adott, ha bárhol elakadtam.

Sokat köszönhetek **Dr Müller Tamás** kollegámnak, aki már évekkel ezelőtt, energiát nem sajnálva, segítő kezet nyújtott témám kiszélesítésében és lehetőséget biztosított a mintavételek zavartalan lebonyolításához. Átbeszélgetett hosszú útjaink alatt ösztönzött a doktori munka folytatására és ami a legfontosabb, mielőbbi lezárására, amiért külön köszönettel tartozok neki.

Külön köszönetet szeretnék mondani **Dr. Hegyi Árpád**nak, aki nélkül ez a munka nem készült volna el. Fáradtságot nem kímélve segítő kezet nyújtott nem csak az éjszakába nyúló mintavételezések, adatok gyűjtése, hanem a végtelen íróasztali munkák során is. Ha esetleg feladtam, ő volt az, aki folytatásra ösztönzött.

Sokat köszönhetek egykori diáktársaimnak is, **Csenki Zsolt**nak és **Csorbai Balázs**nak.

Köszönetet szeretnék mondani **Dr. Péczely Péter** tanár úrnak, aki lehetővé tette Szaporodásbiológiai Laborjában a szteroid hormonok mérését, és nem utolsósorban a Laborban dolgozó lányoknak, **Ferencziné Szőke Zsuzsi**nak, **Váradi Évi**nek és **Végi Barbará**nak.

Köszönöm mindenkinek, aki a hosszú évek alatt kitartóan, fáradtságot és energiát nem sajnálva biztosította számomra a mintavételi egyedeket. **Dr. Specziár András**nak a Balatoni Limnológiai Kutatóintézet munkatársának, **Madár József**nek, **Révfalvi Imré**nek, **Lacza István**nak a Paksi Halászati Szövetkezet munkatársainak, **Gyurkó Ferenc**nek és **Szilágyi Ákos**nak az önzetlen segítségért vizsgált egyedeim begyűjtésében.

Végül, de nem utolsósorban **Szüleimnek, Testvéremnek és Páromnak** tartozok köszönettel, akik biztosították számomra a hosszú évek alatt a biztos, nyugodt családi hátteret. Támogatásukkal sikerült átvészelni a néha nehéz, embertpróbáló hétköznapokat nem csak doktori -, hanem egyetemi tanulmányaim alatt is.