

**A szaporodásbiológiai mutatók és az azt
befolyásoló mikrobiális közösség
kapcsolatának feltárása ponty (*Cyprinus
carpio*) fajban**

Kirchner Márton
Mezőgazdasági mérnöki BSc

Gödöllő
2024



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Szent István Campus
Mezőgazdasági mérnöki BSc**

**A szaporodásbiológiai mutatók és az azt befolyásoló mikrobiális
közösség kapcsolatának feltárása ponty (*Cyprinus carpio*) fajban**

Témavezetők: Várkonyi Dávid
PhD hallgató,
MATE AKI Halgazdálkodási Tanszék

Dr. Bokor Zoltán
tudományos főmunkatárs,
MATE AKI Halgazdálkodási Tanszék

Dr. Bernáth Gergely
tudományos főmunkatárs,
MATE AKI Halgazdálkodási Tanszék

Készítette: **Kirchner Márton**
UYWZ6C
Nappali

Intézet: **Növénytermesztési-tudományok**

**Gödöllő
2024**

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések.....	4
1.1 Célkitűzések	5
2. Szakirodalmi áttekintés	6
2.1 Ponty (<i>Cyprinus Carpio</i>) általános jellemzése	6
2.1.1 Rendszertani besorolása.....	6
2.1.2 Biológiája, elterjedése, élőhelye.....	7
2.1.3 Morfológiája.....	9
2.1.4 A ponty nemzetközi és hazai helyzete	9
2.1.5 Ágazat kihívásai	10
2.2 Mikrobiális közösségek halélettani hatása	11
2.3 Ivartermék minősítése	12
2.4 A baktérium közösségek izolálásának és azonosításának módszertani áttekintése.....	14
2.4.1 Klasszikus tenyésztési módszerek.....	14
2.4.2 16s rDNS gén Sanger-féle szekvenálása	15
2.4.3 MALDI-TOF MS módszer bemutatása	16
3. Anyag és módszer	17
3.1 Telephely bemutatása	17
3.2 A mintavétel menete.....	18
3.3 Ivartermék minták vizsgálata	19
3.4 Laboratóriumi vizsgálatok.....	21
3.4.1 Klasszikus tenyésztési eljárás.....	21
3.4.2 MALDI-TOF MS módszer	22
3.4.3 16s rDNS gén Sanger-féle szekvenálása	22
3.5 Adatok elemzése és kiértékelése	23
4. Eredmények és értékelésük	24
4.1 Eredmények.....	24
4.1.1 A tejesek esetén kapott eredmények.....	24
4.1.2 Az ikrások esetében kapott eredmények	25

4.1.3 Az identifikált baktérium nemzetségek relatív abundanciája	27
4.2 Eredmények értékelése	27
5. Következtetések és javaslatok	32
6. Összefoglalás	33
7. Irodalomjegyzék	35
8. Ábrák és táblázatok jegyzéke	42
8.1 Ábrajegyzék	42
8.2 Táblázatjegyzék.....	42
9. Köszönetnyilvánítás.....	43
10. Nyilatkozatok.....	44
10.1 Hallgatói nyilatkozat	44
10.2. Konzulensi nyilatkozat	45

1. Bevezetés és célkitűzések

Magyarország haltermelésében a ponty (*Cyprinus carpio*) kiemelkedően fontos szerepet játszik. Ez a faj adja az éves étkezési hal 82%-át (MAHAL 2023). A sikeres és gazdasági haszonnal járó haltermelés a tenyészállomány általános, jó egészségi állapotán és kedvező szaporodásbiológiai mutatóin nyugszik. Az életerős ivadék előállítása csak abban az esetben valósulhat meg, ha a megfelelő genetikai háttérű anyahalak mellett kiemelkedő figyelmet fordítunk azok kondíciójára és szaporításra történő felkészítésére. A hazai keltetőházi pontyszaporítás technológiájának kidolgozása sok évtizedes múltra tekint vissza. Az ikra ragadósságának elvételére kifejlesztett sós-karbamidos (Woynárovich-féle) oldat és az 1970-es években megalkotott planktonszelekcióra hagyatkozó tavi ivadéknevelés nagyban növelte a termelés hatékonyságát (Horváth és Urbányi 2004). Három éves termelési ciklusa során számos környezeti és antropogén hatás éri az állományokat. Az ágazat rendkívül kitett a szélsőséges időjárásnak, amely következtében a tavak extrém magas vízhőmérsékletet és kritikusan alacsony oldott oxigénszintet érhetnek el. Ezen faktorok mellett a gazdaságokban esetlegesen előforduló nem megfelelő bánásmód tovább növelheti a halakat érő stressz mértékét. Az egyedek szakszerűtlen válogatása, kezelése fizikai sérüléseket okozhat, mely fertőzések kapuját nyithatja meg. Egyes esetekben tömeges elhullás is bekövetkezhet. Különösen igaz ez a tenyészállományokra, hiszen a szaporítás körüli teendők nagymértékű emberi beavatkozást igényelnek. Napjaink egyre növekvő jelentőségű kutatási irányzata a halak felületén és szervezetében élő mikrobaközösségek, valamint azok egészségügyi állapotra, növekedésre és reprodukciós mutatókra kifejtett hatásának vizsgálata. A humán és emlős kutatást követően a halak esetében is leírták, hogy felületi és testen belüli patogén és szimbionta mikrobák komplex mechanizmusok által befolyásolják a belső környezetet. Az egyensúly eltolódásával romolhat az egyedek általános egészségügyi állapota, csökkenhet azok növekedése és ezáltal a szaporító képessége. A halak fejlődésének és kondíciójának vizsgálata során több hasznos és ártalmas mikroorganizmus került azonosításra. Számos kutatásban leírták, hogy különböző probiotikum tartalmú készítményekkel történő kezelések jótékonyan képesek befolyásolni a növekedést és egészségügyi mutatókat a ponty esetében. A mikrobák szaporodásra kifejtett hatásáról azonban csekély számú ismeret áll rendelkezésünkre. Kísérleteinkben fel kívántuk térképezni a ponty faj ivartermékeinek (sperma és ikra) minőségét, valamint a szaporítás sikerességét befolyásoló mikrobaközösségek (bél, sperma, ikra) összetételét.

1.1 Célkitűzések

Tudományos munkánk során a ponty szaporodásbiológiai mutatói és az egyedek szervezetében (bél, sperma, ikra) megtalálható mikrobiális közösségek hatása közti kapcsolat feltárását tűztük ki célul.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1 Ponty (*Cyprinus Carpio*) általános jellemzése

2.1.1 Rendszertani besorolása

Ország: Állatok (*Animalia*)

Törzs: Gerinchúrosok (*Chordata*)

Főosztály: Csontos halak (*Osteichthyes*)

Osztály: Sugarasúszójú halak (*Actinopterygii*)

Rend: Pontyalakúak (*Cypriniformes*)

Család: Pontyfélék (*Cyprinidae*)

Alcsalád: Valódi pontyok (*Cyprinae*)

Nem: *Cyprinus*

Faj: Ponty (*Cyprinus carpio*) (Linnaeus 1758) (Kovács et al. 2018) (1. ábra).

1. ábra: A ponty (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758)
(Forrás: saját felvétel 2023)



A ponty a sugarasúszójú halak (*Actinopterygii*), pontyalakúak (*Cypriniformes*) rendjébe, a pontyfélék (*Cyprinidae*) családjába, azon belül a *Cyprinidae* alcsaládjába tartozó faj (Kovács et al. 2018). Máig vitatott Eurázián, a természetes elterjedési területén belül az eredete. Kezdetben a Közép-Ázsiai származást és az onnan való elterjedést feltételezték. Több tanulmány is leírta, hogy onnan terjedt el természetes módon kelet felé egészen Kínáig, illetve nyugat felé a Duna vízrendszeréig (Balon 1995; Kirpichnikov 1999; Froufe et al. 2002). Későbbi közlemények a faj kialakulásának helyéül a Japán Biwa-tavat jelölték meg. Újabban

végzett genetikai kutatások alapján azt tartják valószínűnek, hogy a faj ma ismert alfajai az Észak-Ázsiából való elterjedés során alakultak ki (Mabuchi et al. 2006). Jelenleg három alfajjal rendelkezik: 1. európai-transzkaukázusi ponty (*C. c. carpio*) 2. távol-keleti (amuri) ponty (*C. c. haematopterus*) 3. délkelet-ázsiai (észak-vietnámi) ponty (*C. c. viridiviolaceus/C. c. rubrofuscus*) (Mišik 1958).

2.1.2 Biológiája, elterjedése, élőhelye

A ponty mindenevő hal, táplálékát a felső vízrétegből és a bentoszból egyaránt képes felvenni. A étrendjét képezik a plankton-, a magasabb rendű növényi- és állati szervezetek is. Közel egyforma hatékonysággal képes hasznosítani a különböző eredetű takarmányok táplálékanyag-tartalmát. A természetes vizekben a növekedése nagyban függ a táplálékkonkurensok mennyiségétől (Mézes 2018) Az ikrás 150-200 ezer ikrát tesz le testtömeg-kilogrammonként. Az ikraszemek szürkés színűek, duzzadás után 2-2,5 mm átmérőjűek. A kikelésükhöz 60 napfok (Az a hőösszeg, ami a halakat egy jellemzően egy napnál hosszabb időszak alatt éri) (Woynárovich et al. 2019) szükséges. Kikelve a lárva 6-7 mm hosszú, 4-5 napos növényen való függeszkedés után kezdi meg az önálló táplálkozást. A zsenge pontyivadék leglényegesebb táplálékát a kerekessférgék (*Rotatoria*) képezik. Az állat növekedésével egyidőben kerülnek be étrendjébe az evezőlábú rákok (*Copepoda*) és az ágascápú rákok (*Cladocera*) (Pintér 1989).

A szaporodás hatékony működéséhez a belső szervezeti feltételeken kívül szükség van az optimális külső környezet meglétére is. A halak a gerincesek között a változó testhőmérsékletűekhez tartoznak, így nagymértékben függ a testhőmérsékletük külső környezettől. Ennek előnye, hogy az állandó testhőmérséklet fenntartására nem kell sok energiát fordítaniuk. Hátránya azonban, hogy az anyagcsere sebessége a külső viszonyoktól függ. A mérsékelt égövön élő halak többsége, így a ponty is, nem fogyaszt táplálékot a téli időszakban, ilyenkor nem is növekszik. A trópusi vizekben elég egyetlen év, míg hazánkban az ikrások 3-4, a tejesek 2-3 év után ivarérettek. A kedvező tógazdálkodási körülmények között a bőséges tápanyagellátásnak köszönhetően az ikra fejlődése és érése szinkronizált. A természetes vizekben 18-20°C között kezdődik az ivása, ami itthon április vége és június eleje közé esik. A többi állatfajhoz hasonlóan a ponty ivarsejtjeiben lévő örökítőanyagnak is a legnagyobb része a sejtmagban található, míg a fennmaradó részét a mitokondriumok DNS-e alkotja, mely a sejt energiatermeléséért felelős. Ez egy apró, kör alakú DNS-molekula (körülbelül 16 kilobázispár) és csupán 37 gén helyezkedik el rajta. Különleges öröklődési móddal rendelkezik, ami azt eredményezi, hogy a termékenyítés során nem kerül az utódokba

mitokondrium a spermium által, a következő generációban található DNS mindig az anyától származik (anyai öröklődésmenet). A mitokondriális DNS kitűnően alkalmas az evolúciós fejlődés vizsgálatára és a rokonfajok, populációk felosztására, ugyanis csaknem teljesen azonosak egy fajon belül a géneket kódoló szakaszai, míg az összekötő szakaszok különböznek populáción belül is (Csorbai és Urbányi 2018).

A ponty terjedéséhez Ázsiában és Európában részben a természetes, részben az ember által alkalmazott tudatos tenyésztési folyamatok járultak hozzá. Ezeknek a folyamatoknak köszönhető, hogy a legészakibb régió kivételével minden olyan vízben megtalálható, amely az élőhelyi igényeinek megfelelő. Ezáltal földünk legszélesebb körben elterjedt édesvízi halfajának tekinthető (Weber és Brown 2011; Kloskowski 2011a; Parkos és Wahl 2014). A ponty más halfajoktól eltérően a pleisztocénben nem jutott el a Brit-szigetekre és Skandináviába, ezzel bizonyítható a késői megjelenése. Ugyancsak később kerülhetett a Távol-Keletre is, mivel ugyanebben az időszakban nem vándorolt át Észak-Amerikába a Bering-földnyelven. A ponty őse a pleisztocén végén fejlődhetett ki a Kaszpi-tenger területén. A jégkorszak után megjelenő optimális hőmérséklet hatására a faj terjeszkedésnek indult, és egyes pontytörzsek eljutottak egészen Kelet-Ázsiába, az Aral-tó vízrendszerébe és a Fekete-tenger környékére. Ennek a vándorlásnak tudható be, hogy eljutott a Duna vízrendszerébe 8-10 ezer évvel ezelőtt. Európa többi táján való megjelenése viszont a kereszténység kora - a tudatos emberi terjesztés-után volt lehetséges. Több kontinensre is (Észak-és Dél-Amerika, Afrika, Ausztrália és Óceánia) a *C. c. carpio* került betelepítésre. Ugyancsak európai pontyokat telepítettek 1904-ben Japánba, 1927-ben Indonéziába, majd más ázsiai országba is (Pintér 1989). Nagymértékű az egyes változatok kereszteződése. Az ilyen nagyfokú keveredés ritka, és ezáltal hozzájárul a természetes változatok eltűnéséhez. Ilyen például a Természetvédelmi Világszövetség (IUCN-International Union for Conservation of Nature) vörös listáján szereplő dunai vadponty (Csorbai és Urbányi 2018). Kínában az amuri pontyban (*C. c. haematopterus*) természetes úton véletlenszerűen megjelenő fekete és piros színváltozatokból alakult ki a koi (japán díszponty, nishikigoi). Körülbelül 200 éve került Japánba, ahol elkezdődött a halak tudatos keresztezéssel történő tenyésztése. Magyarországra először az 1970-es években került be (Urbányi és Staszny 2018).

A ponty a lassú folyású-, illetve az állóvizeket kedveli, így többnyire sekély vizű tavakban, holtágakban, folyókhoz kapcsolódó csatornáknál lehet a leggyakrabban találkozni a fajjal (Barus et al. 2001). Azokat a területeket részesíti előnyben, ahol nagy mennyiségű vízi növényzet található, és hosszabb ideig van napsütés alatt. Olyan helyeken is megtalálható, ami nem felel meg tökéletesen az igényeinek, mivel rendkívül jó az alkalmazkodóképessége. Nagy

a tűrőképessége, egyes esetekben még a 35-40°C-os vízhőmérsékletet és az alacsony oxigénszintet is elviseli rövid ideig. Fejlődésének hőmérsékleti optimuma 22-23°C körül van. A víz magas sótartalmával szemben is ellenállóképességű (Lehoczky és Urbányi 2023).

2.1.3 Morfológiája

Ha pontosan szeretnénk jellemezni a ponty faj küllemi sajátosságait, el kell különítenünk a vadpontyot a háziasított pontytól. Jelen esetben számunkra az utóbbi a számottevő. Testfelépítésben magasabb hátú, ahogy a profilindexe (testhosszúság és testmagasság hányadosa) is mutatja (tőponty: 2,8- 3,5; magashátú ponty: 2,0-2,8). Színezete változatos, de alapjában véve elmondható, hogy független az élőhelyétől, háta sötétbarna vagy olajzöld, oldala zöldessárga vagy sötét arany színű, hasa csontszínű vagy sárgásfehér. Az úszók sötétbarnák vagy szürkék, a farok alatti úszó első sugarai gyakran sárgák. Hátúszójában 3-4 kemény és 15-23 osztott sugár helyezkedik el. Az első sugár csonttüskévé (bognártüske) módosult, melynek erősen fogazott a hátulsó oldala. A test egészének a középső részén halványan húzódik az oldalon. Feje közepes méretű, szája harmonikászerűen kiölthető, alsó sarkában található egy pár rövidebb, míg felső ajkán egy pár hosszabb bajuszszál. A pikkelyek gyakorisága és elhelyezkedése szempontjából megkülönböztetünk pikkelyes-, tükrös- és bőrponyt (Lehoczky és Urbányi 2023).

2.1.4 A ponty nemzetközi és hazai helyzete

A haltermelést globális növekedés jellemzi. Az elmúlt években az akvakultúra ágazat nemzetközi szintű 24%-os gyarapodást ért el, ezzel szemben a halászat csupán 0,2%-al erősödött. Ez a világszerte tapasztalható túlhalászásnak és a különböző korlátozásoknak a következménye. Míg a természetes vizekből származó halállományok újratermelődése korlátozott, addig az akvakultúrában a megfelelő rendszerek használatával ez a tényező kiküszöbölhető (Mézes et al. 2020).

A ponty tenyésztése Ázsiában ma is jelentős, de fontos áruhal a világ más tájain is. Ezt mutatja, hogy a 4 millió tonnát is meghaladta az éves termelése (2022-ben), ez adja a világ édesvízi akvakultúrás haltermelésének 5,7%-át. A FAO statisztikái alapján 89 ország termel, illetve tenyészt pontyot. Ebből 37 országnak 1000 tonna feletti az éves termelése. Kína a legmeghatározóbb, 3 millió tonnánál is több az éves mennyiség. Ázsia fejlődő országaiban számos embernek a hal - és így a ponty - az elsődleges fehérjeforrása (Urbányi és Staszny 2018).

Az Európai Unió akvakultúrájában a pontyféle termelése stabil, közel 80.000 tonna a teljes éves volumen, melyből a ponty 87,7%-t tesz ki. Lengyelország, Csehország és

Magyarország az összmenyiség 68%-t állítja elő. A 2015-ös évre nézve Csehország, Magyarország és Horvátország volt a legnagyobb exportőr, illetve Lengyelország, Németország és Románia adta a felvevőpiac 62,4%-át.

Magyarországnak kimagasló helyzete van Európa édesvízi haltermelésében. Az EU tagállamai közül a második legnagyobb pontytermelő ország (Urbányi és Staszny 2018).

A hazánkban folyó haltermelés gazdasági jelentősége túlmutat az étkezési hal előállításán, hiszen nagy befolyással rendelkezik több ellátó és kiszolgáló ágazati szektor működésében. Hazánkban a ponty 2022-ben az étkezési hal 82%-át tette ki (Bojtorné Lukácsik et al. 2023), így elmondható, hogy Magyarország tógazdasági haltermelése pontycentrikus. Az Agrárközgazdasági Intézet adatai alapján az éves termelése 2023-ban meghaladta a 16.000 tonnát, melynek 30-40%-a emberi fogyasztásra jut, 20-30%-a élőhalként kerül exportra (Románia, Németország), a fennmaradó mennyiség pedig a horgásztavak és a természetes vizek halállományának pótlására jut (internet 1). Jellemzően extenzív és félintenzív rendszerben, polikultúrában tartva nevelik. Jelenleg 33 államilag elismert tájfajtát termel és tart fent 21 tenyésztőszervezet (Lehoczky és Urbányi 2023).

2.1.5 Ágazat kihívásai

Kijelenthető, hogy a pontynak a termelési és fogyasztási kultúrája kevésbé jelenik meg az EU nyugati országaiban, sokkal inkább Közép-és Kelet-Európára összpontosul. A Nyugat országaiban a fogyasztó hozzá tud jutni minőségi tengeri halhúshoz is, ami háttérbe szorítja a ponty jelentőségét (Urbányi és Staszny 2018).

A piac által elvárt méret a 1,5-2,5 kg közötti hal. Ez a jelenlegi tenyésztéstechnológiával 3-4 éves üzemidőt jelent, ami az infrastruktúrától hosszútávú lekötést igényel, így állandó költségek is folyamatosan jelentkeznek. A másik nehézség, hogy nem lehet minden évben azonos minőségű árut előállítani, mivel az időjárás nagyban befolyásolja a tenyésztés feltételeit (Urbányi és Staszny 2018).

A pontytenyésztés technológiájában az elmúlt évszázadban nem történt számottevő változás. Történtek újítások egyes munkafázisaiban, azonban más állattenyésztési ágazatokhoz képest nagyban elmaradtak. A termelés még mindig jelentősen függ az élőmunkától. Ez az igény a hatékonyságra és a versenyképességre is hatást gyakorol (Urbányi és Staszny 2018).

A fajnak újabb és újabb betegségei jelennek meg. Ezek közül a koi herpesvírusa kiemelkedik, amely Európa több országában probléma. A betegségek elterjedését segíti a szállítmányozás alatt az alapvető állategészségügyi intézkedések be nem tartása. A saját érdekünk, hogy a kereskedelmet és a fogyasztást veszélyeztető kritikus tényezőket

minimalizáljuk a termelésünkben (Urbányi és Staszny 2018).

2.2 Mikrobiális közösségek halélettani hatása

Mivel az érintett szakterület kevésbé kutatott hazánkban is, ezért Bernáth et al. 2023-ban foglalkoztak a mikrobiom kutatás szerepéről az akvakultúrában egy áttekintő tanulmányban.

A gazdaszervezet mikrobiomját elsősorban az egyes taxonok szabják meg (Ghanbari et al. 2015; Romero et al. 2014). A halak kültakarójára (nyálkaréteg), szaglószerendszerére, kopolyájára és bélrendszerére közvetlen hatással van az egyed környezete. A kültakaró a környezetből érkező hatásokkal szemben egy elsődleges barrierként szolgál. Különféle glikoproteinekből, fehérjékből, zsírokból és ionokból áll. Fontos szerepük van a védekezésben a lektineknek, egyes fehérjéknek (komplement és antimikrobiális), immunglobulinoknak, lizozimeknek, proteázoknak és további más enzimeknek (Brinchmann 2016; Uribe et al. 2011). A nyálkaréteg hasznos a patogénnel szembeni védekezésben, mivel a kommenzalista mikroorganizmusoknak tápanyagot biztosít (Hansen és Olafsen 1999; Merrifield és Rodiles 2015). A béltraktusban található mikroorganizmus közösség hozzávetőlegesen 500 fajt számol. Főként anaerob és heterotróf baktériumoknak biztosít megfelelő környezetet (*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* és *Firmicutes*) (Austin 2006; Givens et al. 2015; Merrifield és Rodiles 2015; Montalban-Arques et al. 2015; Sullam et al. 2012; Tran et al. 2017; Wang et al. 2018).

A gombákra vonatkozóan hiányosabbak az ismereteink (De Bruijn et al. 2018). Kopolyára nézve Tömlősgombák (*Ascomycota*) törzséről rendelkezünk írásos adatokkal, míg a bélben a Tömlősgombák mellett a Bazídiumos gombák (*Basidiomycota*) törzse is jelen van (Gatesoupe 2007; Romero et al. 2014). Ezek mellett a kopolyában és a bélrendszerben is megtalálhatók állati egysejtűek, állati csillósok és archeák (metanogének) (De Bruijn et al. 2018).

Az egyed fejlődése során különféle baktériumok (*Aeromonas*, *Alteromonas*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Pseudomonas* és *Streptomyces*), megjelennek már ikraszem stádiumban is, legtöbbjük anyai eredetű. Ezen mikroorganizmusokon túl szintén megjelennek ebben a korai fázisban mikroszkópikus gombák is (*Microdochium*, *Mortierella*, *Chytrium* és *Saprolegnia*) (Liu et al. 2014). Az egyed korával csökken a mikrobák száma és változatossága, de a bél mikroorganizmusaira nézve a relatív abundancia változatlan marad (Stephens et al. 2016).

A halak szervezetében megtalálható mikroorganizmusokat több csoportra oszthatjuk. Ebben a mikrobiális közösségben lehetnek szimbiotikus, kommenzalista és patogén szervezetek egyaránt. Ezek folyamatosan jelen vannak, de a kórokozó mikroorganizmusok nem minden esetben okoznak fertőzést vagy megbetegedést. A kommenzalista közösség egyensúlyának eltolódása idézi elő a patogenitás kialakulását (Montalban-Arques et al. 2015; Moya és Ferrer 2016; Romero et al. 2014; Sagvik et al. 2008; Stecher et al. 2013; Turner et al. 2013). Kijelenthető, hogy az egészséges hal mikrobiótája magasabb diverzitást mutat, mint a fertőzött/beteg egyedé (Bernáth et al. 2023). Legelsősorban a környezet (pl. hőmérsékletváltozás) és az emberi hatások (pl. víz paraméterek, tartási körülmények, klímaváltozás) indukálhatja az egyensúly eltolódását (Bernáth et al. 2023).

A víz hőmérsékletének, tápanyag tartalmának folyamatos fluktuációja hatással van a mikrobiális közösségekre, emellett évszakos változatosságot is mutat a mikrobiom dinamikája. (Bentzon-Tilia et al. 2016; De Gilbert et al. 2012; Zarkasi et al. 2014; Zarkasi et al. 2016). A jelenlévő mikroorganizmusok arányában fontos szerepet játszanak a víz fiziko- kémiai tulajdonságai. Lényeges viszont, hogy ezek a külső tényezők nincsenek olyan nagymértékben hatással a bélben lévő mikrobiális közösségekre. (Sylvain et al. 2016).

Ellenben, ami jelentősen befolyásolja a bélrendszer mikrobiótáját, az a táplálkozási stratégia. A növényevő, mindenevő és ragadozó fajok béltraktusában megtalálható közösségek között jelenős különbségek jelentkeznek. Mind a természetes vizekben jelenlévő táplálékforrások, mind a teljes értékű takarmányok összetétele is befolyásolja az emésztőrendszer mikrobiális közösségét. A másodlagos kórokozók felszaporodását sok esetben az a fertőzés teszi lehetővé, amit az elsődleges patogén szervezet okozott (Llewellyn et al. 2017). Kétféleképpen tudnak hozzájárulni a kommenzalista szervezetek a patogének elleni védekezéshez és az egyed egészségi állapotának megtartásához, direkt és indirekt módon (Merrifield és Rodiles 2015; Parra et al. 2015; Salinas 2015; Xu et al. 2016). A direkt védekezés során a mikrobák kiszoríthatják a niche-ből a kórokozókat, versenghetnek a tápanyag forrásért, vagy befolyásolhatják a patogéneket antibiózis útján. Indirekt beavatkozás során módosíthatják a gazdaszervezet immunválaszát és hozzájárulhatnak a megfelelő tápanyagfelvételhez (Bernáth et al. 2023).

2.3 Ivartermék minősítése

Az ivartermékek minősítése fontos szerepet játszik a haltermelésben, ugyanis a szaporodásbiológiai mutatók nagymértékben meghatározzák a következő termelési ciklus

hatékonyságát. A vizsgálatok képet adnak a tenyészállomány ivarsejtjeinek minőségéről (Valdebenito et al. 2012).

Az ikra minőségi paraméterei: alak, méret, lipidcseppek mennyisége, lebegőképesség. Ezenkívül fontos érték még a mennyisége, a pseudo-gonadoszomatikus index (PGSI%) (lefejt ikra mennyisége/testtömeg, %) és az ovariális folyadék pH-ja és ozmolalitása. Az ovariális folyadék az ikratömeg 10-30%-át teszi ki. Különbféle tápanyagokat, metabolitokat és hormonokat tartalmaz. Ez a folyadék megnöveli a spermiumok úszási sebességét és megfelelő környezetet biztosít a motilitásuknak. (Rosengrave et al. 2009). Az ozmolalitása 306 mmol/kg (Ploudy és Billard 1982), a pH-ja átlagosan 8,36 (Gosh 1985). A PGSI% információt nyújt az egyed szaporodási ciklus eredményességéről. Megfelelő értéke a tejeseknél maximum 14%, az ikrásoknál 35% (Hume et al. 1983). Az egyik lehetséges indikátor a deformálódott embrióknak és lárváknak az aránya. Az embrió első differenciálatlan sejtjeinek morfológiai elváltozásai befolyásolják a későbbi fejlődést és életképességet. Ismert, hogy a nagyobb ikrából nagyobb lárvák kelnek ki, de az ikraméret használata a tenyésztett halak ikraminőségének értékelésére vitatott. Kamler (2005) és Kjorsvik (1990) rámutatott, hogy az ikra minőségének meghatározásában az átmérő változása az egyik legfontosabb kritérium. Az ikra méretének intraspecifikus változékonysága összefügg az ikrás életkorával, méretével, élettani állapotával, az ívás idejével és a környezeti hatásokkal. A takarmányozás, mint az egyik legmeghatározóbb faktor, szintén befolyásolja a termékenységet és az ikra méretét (Valdebenito et al. 2013).

A sperma vizsgálatánál a legalapvetőbb paraméter a mennyisége. Ez a mutató nagyban függ az egyed egészségi állapotától. Mennyiségét térfogatban mérik. A sperma mértéke és koncentrációja meghatározza a megtermékenyítési kapacitást és a szaporodás sikerességét mind természetes vízben és mesterséges ívás esetén is (Kowalski és Cejko 2019). Fontos tényezők, amelyek hatnak a sperma összetételére és minőségére a szezonális, hőmérséklet, táplálék, stressz, mérgező anyagok, hormonális stimuláció és a szennyeződés (Ciereszko 2008). A szezonális különösen a tenyésztési időszak végén befolyásolja a szeminális plazma összetételét. Ebben az időszakban csökken a fehérjék koncentrációja, hasonlóképpen egyes makroelemekhez (nátrium, kálium, C-vitamin). A szeminális plazma ingadozó összetétele kapcsolatban áll a szaporítási időszak végén jelentkező alacsony termékenyítő képességgel, illetve az ivarsejtek öregedésével. Egy kutatás eredményei azt mutatták, hogy a ponty hideg vízben való szaporításánál nőtt a nátrium koncentráció és a pH, míg a káliumszint csökkent (Emri et al. 1998). A szeminális plazma szennyeződhet nyálkahártyával, székllettel, vérrel, vízzel és vizelettel, amelyek befolyásolják a minőségét és az összetételét. Ezek megfelelő keltetőházi módszerekkel kiküszöbölhetők. A hormonstimuláció egy népszerű gyakorlat az

akvakultúrában, amely javítja a sperma elérhetőségét, növelve annak mennyiségét és koncentrációját (Valdebenito et al. 2012). Természetes körülmények között a szeminális plazma biztosítja a spermiumok mozgási képességét és az ivarsejt tárolása során védi őket a reaktív oxigénfajták által okozott ártalmak ellen (Rurangwa et al. 2004). Azt is feltételezték, hogy a pH is nagy befolyással van a motilitási potenciálra (Lahnsteiner et al. 1996). A kationok, mint például a K^+ és a Na^+ fizikai szerepet játszanak az ozmotikus egyensúly fenntartásában, és összetevői számos fontos enzimnek. A spermiumok motilitását édesvízi fajokban gátolja a szeminális plazma magas ozmolalitása (Perchec-Poupard et al. 1997). A koncentráció megfelelő mennyisége hozzávetőlegesen 16 és 19 ($\cdot 10^9 \text{ ml}^{-1}$), a pH-ja nem esik 8 alá, az ozmolalitás 260-270 (mmol/kg) (Cejko et al. 2013).

Napjainkban több módszer áll rendelkezésre, amellyel mérni lehet a spermiumok motilitását. Az egyik legmodernebb és legjobban alkalmazható módszer egy számítógépes berendezés, a CASA (Computer-Aided Sperm Analysis) segítségével történő spermavizsgálat. A berendezés a mozgó spermiumokról videófelvételt készít egy kamera és egy mikroszkóp segítségével. A spermiumok fejének útvonalát és elmozdulását vizsgálja, majd ezeket automatikusan egymásba fűzi. A gép képes rögzíteni egy időben több mozgási paramétert, melyet rögtön kielemez. Előnye, hogy nagy mennyiségű sejt elemzésére képes utómunka szükséglete nélkül. Ellenben ehhez pontos faj- és taxonspecifikus programbeállítás szükséges. Ebből kifolyólag nélkülözhetetlen a szakképzett személyzet megléte. A folyamat során a halspermát vízzel vagy egyedi aktiváló oldattal keverik össze egy sejtvizsgáló kamrában vagy egy speciálistárgylemezen. Ezt követően a minta bekerül a mikroszkóp objektíve alá, ahol a rendszer az előre megszabott időpontban felvételt készít és menti azt az utólagos kiértékeléshez (Várkonyi 2021).

2.4 A baktérium közösségek izolálásának és azonosításának módszertani áttekintése

2.4.1 Klasszikus tenyésztési módszerek

A mikrobiológia laboratóriumok a modern és gyors mikrobiológia módszerekkel elért eredmények ellenére sok esetben továbbra is a klasszikus módszereket alkalmazzák. Ezek azok a módszerek, amelyeket minden laboratóriumban el lehet végezni, mivel költségkímélők és nem szükségesek hozzá különösebben korszerű gépek, ezért is még mindig a legelterjedtebbnek tekinthetők. A leggyakrabban alkalmazott klasszikus módszerek a különféle táptalajra oltott petricsészés tenyészetek. Eme módszereknek vannak limitációi. A folyamat időigényes, hiszen

a látható baktériumtelepek fejlődése akár több napot is igénybe vehet. A telepszámláló módszerek ki vannak téve az emberi hibafaktornak is. A másik nagy hátránya a módszernek, hogy a táptalajon képződött minták sokszor nem homogének, különböző átmérőjűek, sűrűségűek és formájúak lehetnek, vagy addig növekedhetnek, amíg összeolvadnak. Nem is beszélve arról, hogy az előkészítő folyamatok során könnyen befertőződhetnek más, nem kívánt mikroorganizmussal, így még nehezebbé téve a számlálást, vagy az idegen telepek akár teljesen meggátolhatják az eredmény vizsgálatát (Sandle 2020).

A telepszámlálás évszázados megléte óta átesett néhány technikai fejlődésen. A mikrobiális telepeket hagyományos Petri-csészében vagy multi-well (baktériumok, gombák és emlős sejtvonalak tenyésztésére használt) csészében növesztik. A vizsgálni vélt mikroorganizmusnak megfelelő körülmények között történő inkubációját követően a TKE-k (telepképző egység: a táptalajon látható kolónia) számának meghatározásához le kell számolni a telepeket. Ez a folyamat manuálisan történik. Bár ez egyszerűnek tűnhet, a mikrobiológusoknak szükségük van megfelelő tapasztalatra, szakértelemre és ítélőképességre, hogy értelmezni tudják a látottakat. Ezen folyamat szubjektív és változó értelmezésekhez és vizsgálati eredmények dokumentálásához vezethet (Sandle 2020).

2.4.2 16s rDNS gén Sanger-féle szekvenálása

A szekvenálással történő 16s rDNS gén analízise számos laboratóriumban gyakori diagnosztikai eszköz. Több oka van, hogy miért a 16s rDNS géneket használják különböző tanulmányokhoz. Először is, szekvenálták minden felismert fajra, és ez egy új faj leírásához is szükséges. A 16s rDNS gének alacsonyabb intraspecifikus variabilitással rendelkeznek, mint a legtöbb fehérjét kódoló gén, ennél fogva filogenetikai ágrajzok készítéséhez is könnyen alkalmazható (Baharum és Nurdalila 2012). A szekvenálás segítséget nyújt olyan organizmusok azonosításában, amelyeket nehéz osztályozni a hagyományos módszerekkel (Tewari et al. 2011).

A genetikai szekvenálással való baktérium azonosítás gyorsan elterjedt eszközzé vált a mikrobiológusok körében. Alkalmazásának népszerűsége az állatorvosi diagnosztikai laboratóriumokban még mindig növekszik. A Sanger-féle szekvenálás a közelmúltban alakult ki a baktérium fajok azonosítására. Az alacsony költség és a könnyű használat még a kisebb laboratóriumokban is lehetővé teszi a mikroorganizmusok gyors identifikálását. A körülbelül 500 bázispárral rendelkező Sanger-féle szekvenálás a törzseket 100%-osan, a fajokat 87%-osan képes meghatározni. Abban az esetben, ha egy mintánál a faj szintű azonosítás alacsony

egyezőt eredményez, a törzs szintű identifikáció megoldott. (Tewari et al. 2011).

2.4.3 MALDI-TOF MS módszer bemutatása

A MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) MS módszert 1985-ben fedezte fel Koichi Tanaka, Franz Hillenkamp és Michael Karas. A MALDI módszer mai formájának kialakulásához J.J. Thomson tette le az alapkövet. A módszer kifejlesztése nagy tudományos áttörés volt, ezt az is bizonyítja, hogy több ezzel foglalkozó tudós munkáját is Nobel-díjjal ismerték el (Patel 2015).

A MALDI-TOF MS (mátrix-asszisztált lézer deszorpció, ionizáció, repülési időmérésen alapuló tömegspektrometria) módszert arra használjuk, hogy egy adott mintában lévő mikroorganizmusokat azonosítsuk. Az MTB Biotyper által kifejlesztett referenciabázis jelenleg kicsit kevesebb, mint 5.000 fajt tartalmaz. A méréshez egy 2.000 és 20.000 Da közötti skálát használunk. Három alapvető eszközre van szükség a működéséhez; egy elemezni szánt mintára, egy megfelelő anyagú mátrixra és egy lézerre. A MALDI készítmény és az MS analízis a következőkből állnak: Első lépésben a mintát szükséges felvinni a tárgylemezre. Két féle mód létezik: csak a baktérium biomassza kerül fel a célterületekre és utólag adja hozzá a vizsgálóközpont a mátrixot, vagy összekeverjük a mátrixsal megfelelő arányban és ezután ezt a keveréket visszük fel a tárgylemezre. Miután kikristályosodott, behelyezzük a tárgylemezt a MALDI tömegspektrométerbe. A MALDI készítményt lézersugár ionizálja, majd a rendszer összegyűjti és elemzi az így képződött ionokat. A mátrix fontos szerepet játszik a folyamatban, ugyanis ez a vezető közeg, ami a lézerfényből származó energiát átviszi a minta molekuláihoz, és így jöhet létre az ionizáció. A minta jellege meghatározza a mátrix anyagát. A minta ionizációjához szükséges energia különböző nagyságú (az egyes mátrixok különböző energiaküszöbvel rendelkeznek). Másik oka az egyes minták különböző stabilitása. Ha a mátrix túl "meleg", az a mintavegyületek nem kívánt fragmentációjához vezethet. (Mellmann et al. 2008).

A folyamat végén a gép által létrehozott mintát összevetjük az adatbázisban lévő baktérium fajokkal. Az egyező faj mellé, a gép megadja a Da (dalton) számot is. Ebből tudunk következtetni arra, hogy milyen mértékben biztos az egyezés (Mellmann et al. 2008).

3. Anyag és módszer

A Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Szent István Campus Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága kijelenti, hogy a 2010/63/EU irányelv nem foglalja magába ezen kísérleteket, de végrehajtásuk a tudtával és engedélyével történt (Iktató szám: MATE-SZIC/1742-1/2022 és MATE-SZIC/1745-1/2022).

3.1 Telephely bemutatása

A kísérleti szaporítást és mintavételt szaporítási időszakban, a Szabolcsi Halászati Kft. keltetőházában végeztük Kemecsén. Az épületben három elkülöníthető rész található. Az egyik helyiség a raktárszoba, a másikkban található a víz fűtéséhez és keringetéséhez nélkülözhetetlen berendezések, és a fő teremben helyezkednek el az ikra keltetéséhez és az ivadék neveléséhez szükséges eszközök (2. ábra). Ez magába foglalja a Zuger-üvegeket, óriás Zuger-üvegeket és a kerek, illetve négyszögletű medencéket is. A rendszerben lévő víz állandó hőmérsékleten ($21\pm 1^{\circ}\text{C}$ -os) tartására egy gázkazán volt a segítségünkre, mely az előre beállított hőmérsékletre melegítette fel és tartotta a vizet. A rendszerbe jutó víz az egyik szomszédos tóból származott. Egy szivattyú először felszívta a vizet egy tárolóba, majd onnan egy másik szivattyú juttatta be az épületbe.

2. ábra: A kemecei keltetőház
(Forrás: saját felvétel, 2024)



3.2 A mintavétel menete

A szaporítás során, a gazdaság munkatársai segítségével lehalásztunk két kisebb tavat (egyikben ikrások, másikban tejesek voltak), majd ivaronként 15-15 egyedet kiválasztottunk és átszállítottunk a keltetőházba, ahol nemenként külön medencékbe helyeztük őket elkerülve az idő előtti ívást. Ezt követően előkészítettük egy medencében az altatáshoz szükséges, 2-fenoxietanollal (99%, 0,4ml/l) kevert vizet. A halakat egymás után behelyeztük az altató folyadékba, majd a megfelelő bódultsági állapot elérése után nedves törölközőre téve megtörtént az egyedek tömegének és testhosszának mérése (Kern Precíziós mérleg 572-45 12000 g / 0,05 g; mérőszalag) és feljegyzése. Az egyedi testsúly értékekhez mérten injekciós tűvel a halakba fecskendeztük a helyszínen előre elkészített ovulációt és spermiációt előidéző hormonális oldat (OVOPEL AUV; 0,1 golyó testtömeg-kilogrammonként, a teljes mennyiség 10%-a) előadagját. A bognártüskére színes szalagot kötöttünk, ami biztosította az egyedi azonosítást.

Az oldat döntő adagjának (OVOPEL AUV; 1,5 golyó testtömeg-kilogrammonként, a teljes mennyiség 90%-a) beadása 12 órával az első oltást követően történt. A halak altatása és oltása az előadag esetén ismertetett módon valósult meg. Mikor még az egyed bódult állapotban van, közvetlen a beavatkozást követően az ikrások ivarnyílását bevarrtuk, ezzel megakadályozva, hogy a hal az érett ikraszemeit elszórja a fejest megelőzően.

A halak fejését 24 órával az előadag beadását követően kezdtük meg. A folyamatot az ikrásokkal kezdtük. Az egyedeket ismét altató folyadékba helyeztük. A hasfal finom, hosszanti irányú masszírozásával nyertük ki az ivarterméket ($N=10$ ikrás és 10 tejes) steril mintatároló centrifuga csövekbe (15 és 50 mL).

A bélmintákat a szaporítási folyamatokat követően gyűjtöttük be (3. ábra). Az egyedeket túlaltattuk, majd az asztalra helyeztük őket. Papírtörülkövel szárazra töröltük a hal hasfalát, majd 70%-os etanollal fertőtlenítettük és szikével egy hosszanti vágást ejtettünk rajta. A hasfalat szétfeszítve hozzáfértünk a bélrendszerhez. Olló segítségével kimetszettünk belőle egy megközelítőleg 10 cm-es szakaszt, majd steril Falcon-csőbe helyeztük. Ezt a műveletet elvégeztük 10 ikráson és 10 tejesen.

3. ábra: Bél mintavétel a feltárt egyedből
(Forrás: Várkonyi Dávid, 2024)



3.3 Ivartermék minták vizsgálata

A fejest követően meghatároztuk a sperma teljes mennyiségét (TVM, ml) és a testsúllyal arányos sperma mennyiséget (VOM, ml/testtömeg kg) (Cejko et al. 2011). A spermához kevertük az aktiváló oldatot (45 mM NaCl, 5 mM KCl és 30 mM Tris, pH 8,0; Saad et al 1988), majd motilitását egy számítógépes spermavizsgáló rendszerrel (Computer-assisted sperm analysis, AndroVision, Minitube GmbH, Tiefenbach, Németország) rögzítettük. Ahhoz, hogy meg tudjuk vizsgálni a szeminális plazma pH-ját pH szenzor (Halo™ HI10832, HANNA Instruments Inc., Woonsocket, Amerikai Egyesült Államok) és ozmolalitását ozmométer (Wescor Vapro 5600, Wescor Inc., South Logan, Amerikai Egyesült Államok) segítségével, először egy centrifugával elválasztottuk a spermiumokat a szeminális folyadéktól. Ezt a műveletet 4 ml mintával végeztük 5 percen keresztül, 14.000 rcf-en (relatív centrifugális erő) (Eppendorf 5810R, Eppendorf AG, Németország). Ezen felül felvételeztük az 1. táblázatban látható motilitásra vonatkozó paramétereket. A sejtkoncentrációt a CASA berendezés határozta meg a motilitás mérés folyamata során. Az egyedek testtömegéből, a sejtsűrűségéből és az

átlagos lefejt sperma mennyiségéből került megállapításra: a teljes spermatermelés (TSP, sperma koncentráció*teljes sperma mennyiség, SPZ*TVM) illetve a teljes sperma szám (TNS, teljes spermatermelés/testtömeg kg, TSP/ttkg; Cejko et al. 2011).

1. táblázat: Sperma motilitásra vonatkozó paraméterek rövidítése és megnevezése
(Forrás: Ruganwa et al. 2004)

Paraméter jelölése	Paraméter magyar nyelvű elnevezése	Mértékegység
MOT	Motilitás	%
pMOT	Progresszív motilitás	%
VCL	Sebesség a megtett teljes mozgási útvonalra számítva	µm/s
VSL	Sebesség a kiindulási és végpont közti távolságra számítva	µm/s
VAP	Sebesség a mozgás átlagolt útvonalára számítva	µm/s
DCL	Ténylegesen megtett út hossza	µm
DSL	Megtett egyenes útvonal hossza	µm
DAP	Ténylegesen megtett útvonal átlagolt hossza	µm
ALH	Fej oldalirányú kitérésének átlagos mértéke	µm
BCF	Fej kilengésének frekvenciája	Hz
HAC	Fej aktivitása	rad
WOB	A teljes mozgási útvonalának az átlagolt mozgási útvonaltól számított eltérése	%
LIN	Útvonal egyenestől számított eltérése	%
STR	Az átlagolt mozgási útvonalának az egyenestől számított eltérése	%

Az ikrások esetében feljegyeztük a teljes ikra mennyiséget (kg), az egy grammban található ikraszámot (db) (Kern Precíziós mérleg 572-45 12.000 g / 0,05 g) és a pszeudogonadoszomatikus indexet kiszámoltuk. Mértük továbbá az ovariális folyadék pH és ozmolalitását a sperma minták esetén bemutatott módszerek felhasználásával.

3.4 Laboratóriumi vizsgálatok

3.4.1 Klasszikus tenyésztési eljárás

A keltetőházban vett minták a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézetének mikrobiológiai laboratóriumában kerültek feldolgozásra. A kimetszett bélszakaszt lamináris boksztól egy olló segítségével feltártuk, kaparékot vettünk a bélfalról, melyet PBS (foszfát puffer) oldatba (víz, nátrium-hidrogén-foszfát, nátrium-klorid) mostunk és homogenizálást követően tízes alapú hígítási sort készítettünk 10^0 - 10^{-4} hígítási szintig (4. ábra). Az elkészült hígítási sor tagjait szelektív De Man- Rogosa- Sharpe (MRS) agar táptalajra (főleg *Lactobacillus*ok tenyésztésére szolgál, *Lacto* és hasonló igényű baktériumok csíraszám becslésére alkalmas) szélesztettük, majd 22°C-on 120 órán át inkubáltuk. A folyamat végeztével a telepkepző egységeket (TKE) leszámoltuk, majd morfológiailag szeparáltuk azokat. Az elválasztott telepeket tripton-szója agar (TSA) lemezekre (kevésbé szelektív, a teljes bakteriális közösség csíraszám becslésére alkalmas) oltottuk tisztító szélesztéssel. Ezt addig ismételtük, ameddig létre tudtuk hozni tiszta tenyészeteket. A sperma és ikra (ovariális folyadék) mintákkal elvégzett munkafolyamatok a hígítási sor elkészítéséig azonosak voltak, viszont ebben az esetben 10^8 hígítási szintig dolgoztunk, majd a keletkezett szuszpenziókat nem szelektív TSA táptalajra oltottuk. Az így létrehozott tiszta tenyészeteket további inkubációnak vetettük alá. Ezen mikroszervezeteket vettük alapul a mikrobaközösségek faj szintű identifikációjához.

4. ábra: Bélminta táptalajra történő szélesztése
(Forrás: Várkonyi Dávid, 2024)



3.4.2 MALDI-TOF MS módszer

Ahhoz, hogy az izolált mikroorganizmusokat faj szinten tudjuk identifikálni, a klinikai diagnosztikában elterjedt MALDI-TOF MS módszert alkalmaztuk. Elvégeztük a vizsgálathoz szükséges előkészületeket. A MALDI-céllemez kijelölt részeire az előre megtervezett módon steril fapálcával vékony filmréteget képeztünk az azonosítandó baktériumtenyészetekből. A további lépéseket az Eurofins Analytical Services Hungary Kft. műszeres mikrobiológiai laboratóriumában MALDI Biotyper (Bruker Daltonics) készülék segítségével hajtották végre a cég munkatársai. Ebben a laboratóriumban a vizsgálatot végző személyek 1 µl 70%-os hangyasavat rácseppentettek a mintára, ezzel feltárták a sejteket. Következő lépésként 1 µl HCCA (α-ciano-4-hidroxi-fahéjsav) mátrixot rétegeztek a mintákra és elvégezték a fehérje ujjlenyomat vizsgálaton alapuló mérést, majd összevetették a MALDI Biotyper referencia könyvtárával. Visszaküldték számunkra az eredményeket, így kaptunk egy képet, hogy milyen baktériumok találhatóak az ivartermékben és a bélrendszerben. Mivel a leírt módszer az általunk vizsgált területen még kevésbé használatos, így szükségét éreztük az eredmények megerősítésének. Ehhez a 16S rDNS gén Sanger-féle szekvenálását végeztük el, melyet a következő pontban kívánok ismertetni.

3.4.3 16s rDNS gén Sanger-féle szekvenálása

A bélből, spermából és ikrából izolált baktériumok a 16S rDNS szekvenálás módszerével kerültek faj szinten azonosításra. A folyamat első lépéseként a tisztítószélesztéssel nyert baktériumtörzsekből overnight tenyészetet hoztunk létre, melyből TSA folyékony táptalaj felhasználásával folyadékkultúrát készítettünk. A MOBIO Ultra Clean Microbial DNA Isolation Kit (MOBIO Laboratories, USA) segítségével az előkészített mintákból DNS-t izoláltunk, amik ezt követően tisztításra kerültek. A baktériumok genomjában megtalálható fajspecifikus 16S rDNS gén felszorzosításához az alábbi univerzális primereket alkalmaztuk: forward primert (27f:5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') és reverz primert (1492r:5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'). A keresett génszakaszt jelölő primerpár mellett a reakcióban szükség van még DNS polimeráz enzimre, mely a sokszorozítandó szakasz másolását végzi, emellett nukleotidokra melyek az újonnan felépített szakaszok építőkövei, továbbá pufferre, mely biztosítja a megfelelő reakcióközeget a folyamat során. A reakció első lépése a denaturáció, mely során a DNS kettős szálai elválnak egymástól a reakcióban jelenlévő magas hőmérsékletnek köszönhetően. Ezt az anelláció követi, ahol a primerek képesek kötődni az egyszálú DNS-hez. Utolsóként játszódik le az elongáció, ahol a DNS polimeráz enzim felépíti a sokszorozítandó szakaszt, felhasználva a reakcióban jelenlévő nukleotidokat. A

polimeráz láncreakció paramétereit a következőképpen állítottuk be: 5 másodperc 98°C-on, 32 ciklus 30 másodpercig 94°C-on, 30 másodperc 54°C-on, 45 másodperc 75°C-on és végezetül az utolsó lánchosszabbítás 10 percig tartott 72°C-on. A reakció sikerességét agaróz gélelektroforézis segítségével ellenőriztük. Ezt követően a PCR termék tisztításra került a NucleoSpin PCR Clean- up kit (Macherey-Nagel) segítségével. A kitisztított PCR termékeket újból megvizsgáltuk agaróz gélelektroforézissel és a pozitív eredményt produkáló termékeket a szekvenáló PCR alapjaként alkalmaztuk. A szekvenáló PCR során szinte majdnem ugyanaz a reakció zajlik le, mint egy hagyományos PCR során, annyi különbséggel, hogy a négyféle hagyományos nukleotid mellett, fluoreszcens festékkel jelölt nukleotidokat is hozzáadunk a reakcióhoz, melyek detektálhatók a szekvenálás során. A nukleotid szekvencia meghatározása Big Dye Terminator (v3.1) Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Amerikai Egyesült Államok) használatával történt. A szekvenáló PCR paramétereit a következőképpen alakultak: 1 perc 96°C-on, 28 ciklus 10 másodpercig 96°C-on, 4 másodperc 51°C-on, 4 perc 60°C-on. Ezután az ABI 3130 Genetic Analyzer-rel (Applied Biosystems, Amerikai Egyesült Államok) végeztük a szekvenációanalízist, hogy megkapjuk a 16S rDNS pontos, fajspecifikus bázissortrendjét. A 16S rDNS gén körülbelül 1550 bázispár hosszú, azonban már 600-700 bázispár szekvenálásakor is igen nagy valószínűséggel faj szinten azonosítható a vizsgálatba vont baktériumtörzs (Church et al. 2020).

Előzetesen alkoholos kicsapattal tisztítottuk a szekvenáló PCR terméket, majd ezt követte a kapilláris gél-elektroforézis folyamata. A kapott szekvenciákat szerkesztettük a MEGA5® (v. 7.0.26., Amerikai Egyesült Államok) szoftver használatával, majd egyezést kerestünk az EzBioCloud (Yoon et al. 2017) adatbázisával összehasonlítva. A faj szintű azonosítást minimum 98%-os egyezés esetén tekintettük megbízhatónak.

3.5 Adatok elemzése és kiértékelése

A kapott eredményeket Microsoft Excel 2016 (Microsoft, Amerikai Egyesült Államok) programmal rögzítettük. A statisztikai értékeléshez az: R: A Language and Environment for Statistical Computing (R version 4.4.1, R Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Bécs, Ausztria) programot használtuk. Az elemzés során összehasonlítottuk a különböző ivartermékek (sperma és ikra), valamint a kapott baktérium telepkező egységek száma közötti lehetséges összefüggéseket. Az alkalmazott statisztikai módszer a korrelációs mátrix, valamint a Pearson-féle korrelációs együttható tesztelése volt ($p < 0,05$).

4. Eredmények és értékelésük

4.1 Eredmények

4.1.1 A tejesek esetén kapott eredmények

A tejeseknél MRSA és TSA lemezeken fejlődtek a minták, amelyek közül klasszikus tenyésztési módszerrel 10 minta esetében jártunk sikerrel. Az ozmolalitáson, koncentráción és az egyedek alapvető jellemzőin (testsúly, testhossz) kívül a 2. táblázat megmutatja a teljes sperma térfogatát (TVM), a testsúllyal arányos sperma mennyiséget (VOM), a teljes spermatermelést (TSP) és a teljes spermaszámot (TNS). Negatív korreláció volt a sperma telepképző egységeinek száma és a teljes spermaszám között (magas csíraszám- alacsony spermaszám, $p=0,0226$) megfigyelhető. Szintén negatív korreláció volt látható a sperma telepképző egység száma és a testsúllyal arányos sperma mennyisége között (magas csíraszám alacsony a sperma mennyiség, $p=0,0132$).

2. táblázat: Az általunk kapott eredmények a sperma paramétereinek (Sperma TSA TKE: telepképző egység, TSA táptalajon történt tenyésztés; Sperma MRSA TKE és Bél MRSA TKE: telepképző egység, MRSA táptalajon történt tenyésztés) vizsgálatánál

(Forrás: saját szerkesztés, 2024)

Egyed azonosítója	Sperma TSA TKE	Sperma MRSA TKE	Bél MRSA TKE	pH	Testsúly (kg)	Testhossz (cm)	TVM (mL)	VOM (ml kg ⁻¹)	TSP (spz*TV M)	TNS (TSP/ ttkg)	Ozmolalitás (mmol/kg)	Koncentráció
T1	0	0	1500	7,95	2,12	42	43	20,29	861333000000	406480887211	252	20031000000
T2	40	80	100	7,65	2,37	40	34	14,35	510238000000	215381173491	244	15007000000
T4	140	30	100	8,05	2,25	40	40	17,78	988280000000	439235555556	284	24707000000
T5	120	0	100	7,91	2,27	41	16	7,05	426144000000	187728634361	276,5	26634000000
T7	335	110	200	7,91	3,09	46	19	6,16	479636000000	155473581848	246	25244000000
T8	0	0	15900	7,87	2,09	40	25	11,98	534725000000	256339884947	254,5	21389000000
T9	380	0	487333	8,03	5,02	55	45	8,96	833130000000	165863030062	232	18514000000
T11	465	70	2600	7,92	5	58	25	5	554475000000	110806354916	256	22179000000
T13	350	0	20250	8,02	5,63	57	47	8,35	813758000000	144539609236	234	17314000000
T15	405	0	2400	7,82	2,04	40	16	7,84	266400000000	130460333007	274,5	16650000000

A 3. táblázat a sperma további paramétereit mutatja. Negatív korreláció a sperma MRSA táptalajon képződött telepek és a megtett egyenes útvonal hossza (DSL) között (magas a csíraszám, de alacsony a megtett egyenes útvonal hossza, $p=0,0481$). Negatív korreláció a sperma MRSA táptalajon képződött telepek és a teljes mozgási útvonalának az átlagolt mozgási

útvonaltól számított eltérése (WOB) között (magas a csíraszám, de alacsony a teljes mozgási útvonalának az átlagolt mozgási útvonaltól számított eltérése, $p=0,0268$).

3. táblázat: A számítógépes spermavizsgáló rendszer (CASA) által rögzített eredmények
(Forrás: saját szerkesztés, 2024)

Egyed azonosítója	MOT	pMOT	VLC	VSL	VAP	DCL	DSL	DAP	ALH	BCF	HAC	WOB	LIN	STR
T1	99,18	97,95	87,00	74,38	80,26	35,40	29,64	32,46	0,48	13,48	0,46	0,92	0,85	0,93
T2	98,39	85,47	60,16	46,24	50,36	23,46	16,76	18,76	0,43	9,94	0,47	0,84	0,77	0,92
T4	99,27	97,98	112,17	86,34	97,12	39,33	28,32	33,19	0,64	12,88	0,42	0,87	0,77	0,89
T5	99,7	99,14	109,53	84,34	95,76	39,3	28,64	33,82	0,63	13,58	0,42	0,87	0,77	0,88
T7	99,84	90,98	43,71	25,74	29,19	17,88	9,45	11,09	0,44	10,59	0,48	0,67	0,59	0,88
T8	99,87	96,95	121,77	82,42	97,92	38,97	24,12	30,58	0,79	12,92	0,47	0,80	0,68	0,84
T9	99,14	96,79	87,36	61,83	71,65	28,36	17,65	22,04	0,60	10,45	0,43	0,82	0,71	0,86
T11	99,88	99,47	117,59	78,06	93,97	38,78	23,33	30,14	0,79	13,25	0,51	0,80	0,66	0,83
T13	98,25	85,02	58,20	44,43	49,12	24,23	17,60	19,87	0,42	10,49	0,47	0,84	0,76	0,90
T15	99,61	98,94	140,64	99,52	120,46	49,79	32,63	42,05	0,82	12,89	0,46	0,86	0,71	0,83

A spermából és a tejesek beléből izolált és azonosított fajokat az 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat: A tejes bélből és a spermából izolált fajok
(Forrás: saját szerkesztés, 2024)

Sperma	Tejes bél
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	<i>Lactobacillus curvatus</i>
<i>Aeromonas bestiarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Lactococcus chungangensis</i>
<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Leuconostoc citreum</i>	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	
<i>Shewanella xiamenensis</i>	

4.1.2 Az ikrások esetében kapott eredmények

Az ikrásoknál szintén MRSA és TSA lemezekon alkalmazott klasszikus tenyésztési eljárás 10 ikrás ivartermék minta esetében 8 mintánál sikeres volt. A 5. táblázat tartalmazza az egyedek testsúlyát és teljes testhosszát, a leadott ikrák mennyiségét, 1 grammra vetített darabszámát és a testtömegre vetített ikratömeget. Negatív korreláció volt megfigyelhető az Ikrák MRSA táptalajon képződött telepek és az ovariális folyadék ozmolalitása között (magas csíraszám-alacsony ozmolalitás, $p=0,0394$).

5. táblázat: Az általunk kapott eredmények az ikra paramétereinek (Ikra TSA TKE: telepkepző egység, TSA táptalajon történt tenyésztés; Ikra MRSA TKE és Ikrás MRSA TKE: telepkepző egység, MRSA táptalajon történt tenyésztés) vizsgálatánál

(Forrás: saját szerkesztés, 2024)

Egyed azonosítója	Ikra TSA TKE	Ikra MRSA TKE	Ikrás MRSA TKE	pH	Ozmolalitás (mmol/kg)	Testsúly (kg)	Testhossz (cm)	Ikra mennyiség (kg)	PGSI (%)	Ikraszám (g-1)
I1	6083	30	200	8,29	178	5,36	57	0,14	2,52	714
I4	6130	0	-	8,41	201	4,24	53	0	0	0
I5	30	0	100	8,49	190	5,92	55	0,95	15,97	571
I6	1145	0	31866	8,32	223	4,23	48	0	0	0
I8	47150	30	0	8,34	190	2,67	44	0,03	1,01	806
I9	365	0	3300	8,19	254	6,5	59	0,37	5,63	559
I11	30	30	0	8,56	181	4,97	57	0,45	9,09	676
I12	0	0	9100	8,68	252	2,53	40	0,01	0,51	595
I14	0	0	9850	8,32	199	4,34	54	0,47	10,82	500
I15	>1000	0	0	8,13	229	2,43	41	0	0	0

Az ikrás beléből és az ikrából származó fajokat a 6. táblázat mutatja be.

6. táblázat: Az ikrából és az ikrás bélből izolált baktérium fajok

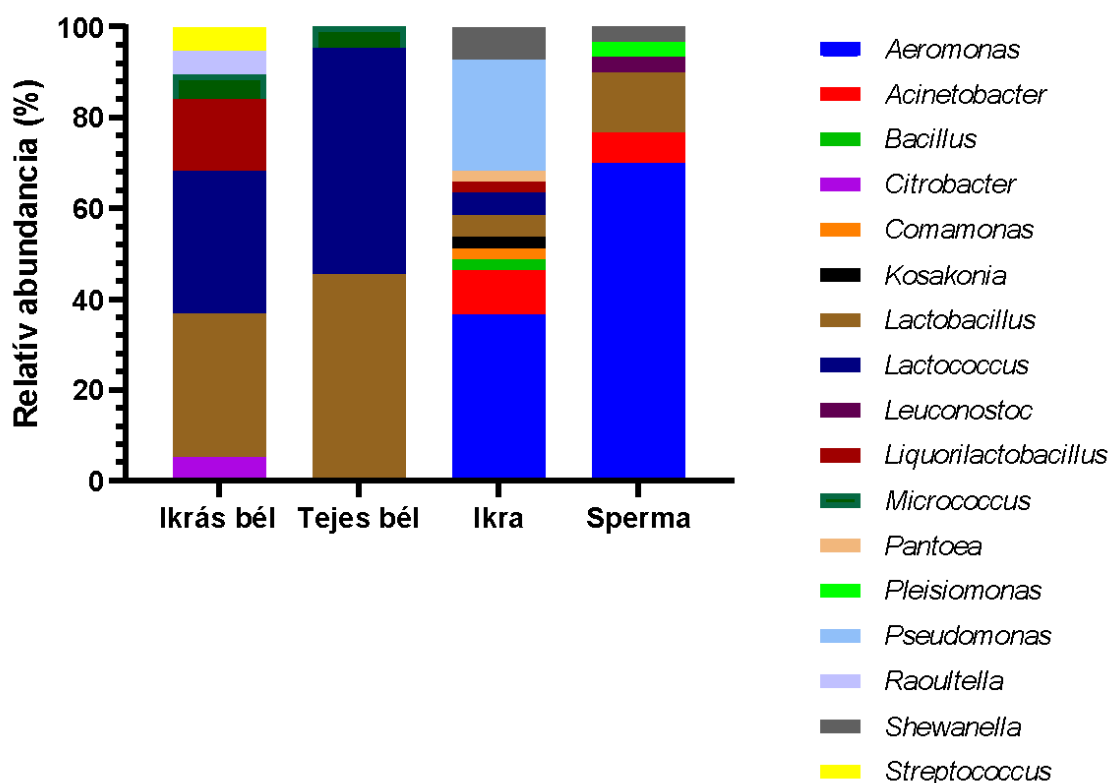
(Forrás: saját szerkesztés, 2024)

Ikra	Ikrás bél
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	<i>Citrobacter braakii</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Lactobacillus curvatus</i>
<i>Aeromonas bestiarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Lactococcus chungangensis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Comamonas testosteroni</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>
<i>Kosakonia cowanii</i>	<i>Liquorilactobacillus hordei</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
<i>Liquorilactobacillus hordei</i>	<i>Streptococcus parauberis</i>
<i>Pantoea agglomerans</i>	
<i>Pseudomonas anguilliseptica</i>	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
<i>Pseudomonas fulva</i>	
<i>Pseudomonas monteilii</i>	
<i>Pseudomonas oryzae</i>	
<i>Pseudomonas putida</i>	
<i>Shewanella xiamenensis</i>	

4.1.3 Az identifikált baktérium nemzetségek relatív abundanciája

Az 5. ábrán megfigyelhető az egyes mintacsoportokból izolált és identifikált baktérium nemzetségek relatív abundanciája. A bélből és az ivartermékekből sikeresen izoláltuk, majd identifikáltuk 17 baktérium nemzetség számos képviselőjét. Az eredmények azt mutatják, hogy egy nemzetségen belül több faj is található egy egyed szervezetében. Az ikrából kétszer annyi fajt izoláltunk, mint a spermából. Ez a különbség a *Pseudomonas* nemzetségnek is betudható, mely a spermából nem volt kimutatható. A tejes és ikrás egyedek bél mikrobiomját hasonló baktériumok építik fel.

5. ábra: Az izolált baktérium nemzetségek relatív abundanciája az egyes mintacsoportokban (ikrások és tejesek bél illetve ivartermék mintái)
(Forrás: saját szerkesztés, 2024)



4.2 Eredmények értékelése

Az ikránál szembetűnő eredmény volt, hogy a PGSI% nagymértékben ingadozik és a legtöbb helyen az irodalomtól is eltérő eredményt kaptunk (Hume et al. 1983). A pH átlagosan 8,73 volt. Az ozmolalitás, melynél nem voltak nagy eltérések a minták között, 178 és 254

mmol/kg között mozog. Amely egyednél sikerült ikrát fejni, annál elmondható, hogy az ikraszám körülbelül egymással azonos volt (átlagosan 632 db/g), de az ikramennyiségnél nagy eltérések voltak a minták között (0,01-től 0,95-ig változó).

A sperma minták pH-ja átlagosan 7,91 volt, mely kicsivel volt alacsonyabb az irodalomban szereplő adatokhoz képest. Ozmolalitása és koncentrációja megegyezett az irodalomban leírtakkal (Cejko et al. 2013). Ezeknél az értékeknél 1-1 minta kivételével közel azonos eredmények születtek. A minták ozmolalitása átlagosan 265 mmol/kg volt, koncentrációja $20\,767 \cdot 10^6$. A teljes sperma mennyiségénél és ebből kifolyólag a testtömegre vetített mennyiségnél is több különböző mértékű eredményt kaptunk. A spermiumok motilitása közel azonos volt, átlagosan 99,12%.

Citrobacter spp. Gram-negatív, fakultatív anaerob, nem spóráképző. A *Citrobacter* fajokat általában opportunistá patogénként ismerik a humán- és állatgyógyászatban, beleértve az akvakultúrát is (Sánchez et al. 2023).

A *Lactobacillus* nemzetséghez Gram-pozitív, nem spóráképző, fakultatív anaerob baktériumok tartoznak. A *Lactobacillus* spp. metabolizálja a szénhidrátokat, hogy tejsavat termeljenek, így a legnagyobb nemzetsége a tejsavbaktériumok csoportjának. A nemzetséghez tartozó fajokat a metabolizmusuk alapján három csoportra lehet osztani. Az általunk izolált fajokat a fakultatívan heterofermentatív csoportba lehet sorolni, amelyek bizonyos körülmények között vagy egyes szubsztrátokkal együttesen szénhidrátot fermentálnak, melyből tejsavat, etanol-ecetsavat és melléktermékként szén-dioxidot képeznek (Dempsey és Corr 2022). Kevés információval rendelkezünk az *L. plantarum* immunológiai hatásáról, de az ismert, hogy olyan antimikrobiális anyagokat termel (plantaricin), melyek bizonyos kórokozók ellen aktívak, és probiotikumként használják (Giri et al. 2013).

A *Lactococcus* nemzetség tagjai Gram-pozitív, nem mozgékony, spórákat nem képző és gömb-alakú mikroorganizmusok. A nemzetség tagjait az egyes tejtermékek fermentációjához alkalmazzák starter kultúráként. Az *L. raffinolactis* széles körben elterjedt az előállított termékek körében, ilyen a hal, hús, zöldségek, tej (Jung et al. 2020).

Liquorilactobacillus hordei-t először malátázott árpából izolálták, ez jelzi azt, hogy a faj a növényi élőhelyekhez is alkalmazkodott. Napjainkban kefirből izolálják a legtöbbet, melyben nagy számban jelen van (Bechtner et al. 2020).

Micrococcus nemzetséghez tartozó baktériumok Gram-pozitív, szigorúan aerob coccoidok. A természetben előfordulnak a talajban, tengeri üledékben, de megjelennek a csirkehúsban, édesvízben és az élelmiszerekben is. A *Micrococcus luteus* fertőzés egyes eseteit 2014 és 2016 között észlelték szivárványos pisztrángban (*Oncorhynchus mykiss*) és sebes

pisztrángban (*Salmo trutta morpha lacustris*) lengyelországi farmokon. Exophthalmiát (szem kidülledése), duzzadt hasat, fokozott bőrelváltozásokat és vérzést figyeltek meg általában haldokló egyedekben. Az elhullást követő vizsgálat során kimutattak bélgyulladást, májpangást és bevérzéseket a farok izmaiban. Mindegyik fertőzött halgazdaságban az elhullást 50%-ra becsülték (Pečala et al. 2018).

Raoultella ornithinolytica Gram-negatív, aerob baktérium. Kapcsolatban áll olyan hisztamin-képző baktériumokkal, amelyek később halmérgezést okozhatnak. Kimutatták már halak, kullancsok és természetek bélrendszeréből is, amik megerősítették, hogy hisztamint termel. A betegeknél, akik fertőzött halat fogyasztottak, szédülés és verejtékezés volt kimutatható (Morais et al. 2009).

Streptococcus jelentős veszteséget okoz az akvakultúrában. Az *S. para uberis* nem mozgékony, Gram-pozitív baktérium. Az akvakultúrában ezt a fajt először nagy rombuszhalból (*Scophthalmus maximus*) izolálták, a közelmúltban kimutatták, hogy a *Streptococcus* képes a klinikai tüneteket mutató fertőzések kiváltására, mint például egyes bőrelváltozások vagy vérmérgezés (Nho et al. 2011).

Az *Acinetobacter* nemzetség tagjai Gram-negatív, nem mozgékony, nem fermentatív baktériumok. A legtöbb törzs 20 és 30°C-on növekszik (Doughari et al 2011; Juni 2005). Az aerob baktériumok széles körben elterjedtek a természetben. Megtalálhatók a talajban, tengeri halakban, a vízben (Baumann 1968; Čož-Rakovac et al. 2002; Grawiński et al. 2009), édesvízi halakban (González 2009) és a zöldségekben is (Berlau et al. 1999; Gennari és Stegagno 1986). A fajokról kevés az írott dokumentum. Az *Acinetobacter johnsonii*-t és az *Acinetobacter lwoffii*-t beteg pontyból és szivárványos pisztrángból (*Oncorhynchus mykiss*) identifikálták. Kijelenthető, hogy újonnan megjelenő opportunistá halpatogének (Alicja et al. 2014).

Aeromonas spp. gyakori velejárója az elfogyasztott halaknak és a tenger gyümölcseinek. Vízi körülmények között szinte mindig megtalálható (Hänninen et al. 1997). Az *Aeromonas hydrophila* fakultatív anaerob baktérium, mely a halak szervezetében elszaporodva szeptikémiát, bevérzéseket, gyulladásos fekélyeket okoz, gyakran letális (Anurag et al 2023).

A *Bacillus cereus* Gram-pozitív, endospóra képző baktérium és jelentős oka az élelmiszer alapú megbetegedéseknek (Ryan és Ray 2004). Ez egy fakultatív anaerob organizmus, mely a *Bacillus* nemzetséghez tartozik. A *Bacillus* nemzetség mindenhol jelen van a természetben, mert tápanyagigénye nem komplex. A *B.cereus* spóráinak azon képessége, hogy túlél magas hőmérsékleten és képes egyes pszichotoleráns törzseket fejleszteni alacsony hőmérsékleten, különleges hal által terjesztett patogénné teszi (Rasool et al. 2017).

A *Comamonas testosteroni* aerob, Gram-negatív baktérium. Mozgékony, nem képez

spórát és önmagában vagy magával párban szokott jelen lenni. A *Comamonas* nemzetség tagjai széles körben elterjedtek, megtalálhatóak a talajban, a növényekben, vízi szaprofitákban és a párasító tartály vizében (Nakipoglu et al. 2005). *C. testosteroni*-t általában nem patogén mikroorganizmusnak tekintik.

A *Kosakonia cowanii* rúd alakú, mozgékony, Gram-negatív, fakultatív anaerob baktérium. Gyakran a talajban és a vízben fordul elő, de megtalálható növényekben, állatokban és emberekben is. Már izolálták a Fehér-tengerből származó atlanti tőkehal (*Gadus morhua*) bélrendszeréből is (Petrzik et al. 2021).

Pantoea egy Gram-negatív baktérium nemzetség, mely az *Enterobacteriaceae* családba tartozik. Egyrészt a *P. agglomerans* egy obligát patogén baktériuma a növényeknek, másfelől opportunista fertőző ágense az embernek, számos állatfajnak, köztüka halaknak. Néhány állat a klinikai betegség, abortusz és tüdőgyulladás jeleit mutatja. Amerikában izolálták a királylazac (*Oncorhynchus tshawytscha*) megtermékenyített ikráiból. Ezek az egyedek nem mutattak sérüléseket vagy egyéb betegségek tüneteit, a rossz ikraminőségben nyilvánult meg a baktérium jelenléte (Saticioglu 2018).

Pseudomonas nemzetség tagjai Gram- negatív baktériumok, melyek mindenütt jelen vannak a környezetben. Mivel metabolikusan sokoldalú, sok természetes környezetből izolálták már, beleértve a vizet is. A halaknál sikerült már bőrből, kopolyúból és belekből is izolálni. Annak ellenére, hogy a halak mikrobiomja a vízi élőhely mikrobiális populációját tükrözi (amely függ a baktériumterheléstől és a sótartalomtól), a *Pseudomonas* spp. alkotja a halak mikroflórájának túlnyomó részét. Különböző fertőzéseket okozhat és hozzájárul a frissen feldolgozott halak romlási folyamataihoz is (Kačániová et al. 2017).

Shewanella xiamenensis Gram-negatív, mozgékony, fakultatív anaerob baktérium (Huang et al. 2010). *Shewanella* spp. széles körben találhatók édesvízi és tengeri környezetben. Közülük néhány opportunista patogén (Paździor et al. 2023).

Leuconostoc nemzetség tagjai Gram-pozitív, cocci-alakú baktériumok, legtöbbször láncban vagy párban találhatók meg, gyakran növényekben és tejtermékekben fordulnak elő. Ritkán emberi és állati *in-vivo* probiotikumként is alkalmazzák. Diyaolu D. O. kísérletében (2021) 65 napos etetési ciklus után kijelenthető volt, hogy az *L. citrerum* tartalmú táppal etetett halak túlélési aránya nagyobb volt, mint a kontroll csoporté, és a baktériumok száma szignifikánsan magasabb volt a bélbaktériumok összetételét tekintve (Diyaolu 2021).

Plesiomonas shigelloides a *Plesiomonas* nemzetség egyetlen tagja. A baktérium természetes előfordulási helye az édesvíz és a tengeri környezet, valamint az itt élő élőlények, halak, kételtűek, rovarok. *Plesiomonas*-t még nem hozták összefüggésbe természeti katasztrófa

utáni fertőzésekkel, azonban a közvetett bizonyítékok azt mutatják, hogy részt vehetnek egyes betegségekben, melyek súlyos vízi katasztrófák után jönnek létre. Nagyszámú *Plesiomonas* törzsről számoltak be szivárványos pisztráng (*Oncorhynchus mykiss*), amur (*Ctenopharyngodon idellus*) és nílusi tilápia (*Oreochromis Niloticus*) esetében. Több bizonyíték szolgál arra vonatkozóan, hogy a *P. shigelloides* rendkívül patogén lehet tenyésztett halak számára. A tenyésztett fajok mellett 100%-os elhullást rögzítettek a sügér-féle díszhalaknál (Duman et al. 2023).

5. Következtetések és javaslatok

Kutatásunk során számos sperma és ikra minőségi paramétert eredményesen vetettünk össze az ivartermékekből és a bélmintákból izolált és azonosított baktérium fajokkal a ponty esetében. Igazolást nyert, hogy már a telepképző egységek száma is összefüggést mutathat különböző paraméterek megváltozott értékeivel. A vizsgálatok során továbbá megfigyeltük, hogy eltérő baktérium faj abundancia van jelen az egyedek ivartermékében és emésztőrendszerében. A minták számos patogén, fakultatív patogén és potenciálisan probiotikus hatású fajt tartalmaztak. A jövőben javasljuk ponty ikra, sperma és bél széleskörű közösségi mikrobiológiai vizsgálatát (újgenerációs metagenom analízis). A vizsgálatok elvégzésénél továbbá javasljuk a baktérium fajok termékenyítési és kelési aránnyal történő összevetését.

6. Összefoglalás

Magyarország haltermelésében a ponty (*Cyprinus carpio*) kiemelkedően fontos szerepet játszik. Ez a faj adja az éves étkezési hal 82%-át. A sikeres és gazdasági haszonnal járó haltermelés a tenyészállomány általános, jó egészségi állapotán és kedvező szaporodásbiológiai mutatóin nyugszik. Életerős ivadék előállítása csak abban az esetben valósulhat meg, ha a megfelelő genetikai háttérű anyahalak mellett kiemelkedő figyelmet fordítunk azok kondíciójára és szaporításra történő felkészítésére.

Az ivartermékek minősítése fontos szerepet játszik a haltermelésben, ugyanis a szaporodásbiológiai mutatók nagymértékben meghatározzák a következő termelési ciklus hatékonyságát. A vizsgálatok képet adnak a tenyészállomány ivarsejtjeinek minőségéről.

Kísérletünkben (melyet a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézetének Halgazdálkodási Tanszékén lévő laboratóriumában végeztünk) az ivartermék minták minősítésén túlmenően az egyedek bélrendszeréből és ivartermékéből izoláltunk baktériumokat. A laboratóriumi vizsgálatokhoz alkalmazott háromféle módszer: klasszikus tenyésztéses, 16s rDNS gén Sanger-féle szekvenálása, MALDI-TOF MS.

Az ikránál szembetűnő eredmény volt, hogy a PGSI% nagymértékben ingadozik és a legtöbb helyen az irodalomtól is eltérő eredményt kaptunk (Hume et al. 1983). A pH átlagosan 8,73 volt. Az ozmolalitás, melynél nem voltak nagy eltérések a minták között, 178 és 254 mmol/kg között mozog. Amely egyednél sikerült ikrát fejni, annál elmondható, hogy az ikraszám körülbelül egymással azonos volt (átlagosan 632 db/g), de az ikramennyiségnél nagy eltérések voltak a minták között (0,01-től 0,95-ig változó). A sperma minták pH-ja átlagosan 7,91 volt, mely kicsivel volt alacsonyabb az irodalomban szereplő adatokhoz képest. Ozmolalitása és koncentrációja megegyezett az irodalomban leírtakkal (Cejko et al. 2013). Ezeknél az értékeknél 1-1 minta kivételével közel azonos eredmények születtek. A minták ozmolalitása átlagosan 265 mmol/kg volt, koncentrációja $20\,767 \cdot 10^6$. A teljes sperma mennyiségénél és ebből kifolyólag a testtömegre vetített mennyiségnél is több különböző mértékű eredményt kaptunk. A spermiumok motilitása közel azonos volt, átlagosan 99,12%. A bélből és az ivartermékekből sikeresen izoláltuk, majd identifikáltuk 17 baktérium nemzetség számos képviselőjét. Az eredmények azt mutatják, hogy egy nemzetségen belül több faj is található egy egyed szervezetében. Az bélben nagy számban fordultak elő a *Lactococcus* és a *Lactobacillus* nemzetség tagjai, míg az ivartermékekben az *Aeromonas spp.*, az ikrában a *Pseudomonas spp.* volt nagymértékben megtalálható. A baktériumok telepképző egységeinek

száma összefüggésbe hozható egyes ivarsejt minőségi paraméterek negatív változásával.
4Számos azonosított baktériumfaj potenciálisan patogén és fakultatív patogén kockázattal, vagy probiotikus potenciállal bírhat.

7. Irodalomjegyzék

1. Anurag Semwal, Avdhesh Kumar, Neelesh Kumar, A review on pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and their mitigation through medicinal herbs in aquaculture, *Heliyon*, Volume 9, Issue 3, 2023, e14088, ISSN 2405-8440, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14088>.
2. Austin, B. (2006). The bacterial microflora of fish, revised. *The scientific world journal*, 6(1), 931- 945.
3. Baharum, S.N., Nurdalila, A.A. (2012) Application of 16s rDNA and cytochrome *b* ribosomal markers in studies of lineage and fish populations structure of aquatic species. *Mol Biol Rep* 39, 5225–5232
4. Bajer PG, Sorensen PW. (2015): Effects of common carp on phosphorus concentrations, water clarity, and vegetation density: a whole system experiment in a thermally stratified lake. *Hydrobiologia*. 746:303–311.
5. Balon, E. K. (1995). The common carp, *Cyprinus carpio*: its wild origin, domestication in aquaculture, and selection as colored nishikigoi. *Guelph Ichthyology Reviews*, 3.
6. Barus V, Peaz M, Kohlmann K. (2001): *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). In Banarescu PM, Paepke HJ, editor. The freshwater fishes of Europe, v. 5/III; *Cyprinidae* 2/III, and *Gasterosteidae*. Germany: AULA-G GmbH Wiebelsheim; p. 85–179.
7. Baumann P. (1968): Isolation of *Acinetobacter* from soil and water. *J Bacteriol* 96, 39– 42.
8. Bechtner, J., Ludwig, C., Kiening, M., Jakob, F., Vogel, R. F. (2020). Living the sweet life: how *Liquorilactobacillus hordei* TMW 1.1822 changes its behavior in the presence of sucrose in comparison to glucose. *Foods*, 9(9), 1150.
9. Bentzon-Tilia, M., Sonnenschein, E. C., Gram, L. (2016). Monitoring and managing microbes in aquaculture—Towards a sustainable industry. *Microbial biotechnology*, 9(5), 576-584.
10. Berlau J., Aucken H., Houang M., Epitt T.L. (1999): Isolation of *Acinetobacter* spp. including *A. baumannie* from vegetables: Implications for hospital-acquired infections. *J Hosp Infect* 42, 201–204.
11. Bernáth, G., Csorbai, B., Nagy, B., Kaszab, E., Suhajda, Á., Farkas, M., Urbányi B., Bokor, Z. (2023). A mikrobiom kutatás szerepe az akvakultúrában. *Acta agronomica óváriensis*, 64(Különs), 164-178.
12. Bojtorné Lukácsik M., Kiss G., György Á. I., Radócné Kocsis T., Timmel E., Szabó K. (2023): Jelentés a szervezet működésének 2022. évi eredményeiről. Magyar Akvakultúra és Halászati Szakmaközi Szervezet, Budapest. 23.
13. Brinchmann, M. F. (2016). Immune relevant molecules identified in the skin mucus of fish using- omics technologies. *Molecular BioSystems*, 12(7), 2056-2063.
14. Csorbai B., Urbányi B. (2018): A ponty örökítő anyaga; In: Csorbai B., Urbányi B. (Szerk.): A ponty (*Cyprinus carpio* L.) biológiája és tenyésztése. Vármédia Print Kft. Gödöllő 11.
15. Church, D. L., Cerutti, L., Gürtler, A., Griener, T., Zelazny, A., Emler, S. (2020). Performance and application of 16S rRNA gene cycle sequencing for routine identification of bacteria in the clinical microbiology laboratory. *Clinical microbiology reviews*, 33(4), 10-1128.
16. Cejko, B. I., Krejszeff, S., Judycka, S., Sarosiek, B., Dietrich, M., Kucharczyk, D., Kowalski, R. K. (2014). Sperm quality and selected biochemical markers of seminal plasma at the beginning of the reproductive period of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture International*, 22, 111-122.
17. Cejko B.I., Krejszeff S., Zarski D., Targonska K., Kucharczyk, D., Glogowski J. (2011): The effectiveness of selected hormonal preparations in stimulating the spermatation of the chub *Leuciscus cephalus* (L.). In: Polish

Journal of Natural Sciences, 26 (3), 235–245. p.

18. Ciereszko, A. (2008). Chemical Composition of. *Fish Spermatology*, 215.
19. Cortés-Sánchez, A. D. J., Salgado-Cruz, M. D. L. P., Diaz-Ramírez, M., Torres-Ochoa, E., Espinosa-Chaurand, L. D. (2023). A Review on Food Safety: The Case of *Citrobacter* sp., Fish and Fish Products. *Applied Sciences*, 13(12), 6907.
20. Čož-Rakovac R., Strunjak-Perović I., Popović N.T., Hacmanjek M., Šimpraga B., Teskeredžić E. (2002): Health status of wild and cultured sea bass in the northern Adriatic Sea. *Vet Med-Czech* 47, 222–226.
21. de Bruijn, I., Liu, Y., Wiegertjes, G. F., Raaijmakers, J. M. (2018). Exploring fish microbial communities to mitigate emerging diseases in aquaculture. *FEMS Microbiol ogy Ecology*, 94(1), fix161.
22. Dempsey, E., Corr, S. C. (2022). *Lactobacillus spp.* for gastrointestinal health: current and future perspectives. *Frontiers in immunology*, 13, 840245.
23. Diyaolu, D. O. (2021). Growth performance and gut bacterial population of *Clarias gariepinus* fingerlings fed *Lactobacillus brevis* and *Leuconostoc citreum* supplemented diets.
24. Doughari H.J., Ndakidemi P.A., Human I.S., Benade S. (2011): The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter spp.*: an overview. *Microb Environ* 26, 101–112.
25. Duman, M., García Valdés, E., Ay, H., Altun, S., Saticioglu, I. B. (2023). Description of a novel fish pathogen, *Plesiomonas shigelloides subsp. oncorhynchi*, isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): First genome analysis and comparative genomics. *Fishes*, 8(4), 179.
26. Emri M., Marian T., Tron L., Balkay L., Krasznai Z. (1998): Temperature adaptation changes ion concentrations in spermatozoa and seminal plasma of common carp without affecting sperm motility. *Aquaculture* 167, 85–94.
27. Froufe, E., Magyary, I., Lehoczy, I., Weiss, S. (2002). mtDNA sequence data supports an Asian ancestry and single introduction of the common carp into the Danube Basin. *Journal of Fish Biology*, 61(1), 301-304.
28. Gatesoupe, F. J. (2007). Live yeasts in the gut: natural occurrence, dietary introduction, and their effects on fish health and development. *Aquaculture*, 267(1-4), 20-30.
29. Gennari M., Stegagno F. (1986): Isolation and characterization of *Acinetobacter calcoaceticus* from raw, washed and frozen vegetables. *Arch Vet Ital* 37, 131–137.
30. Ghanbari, M., Kneifel, W., Domig, K. J. (2015). A new view of the fish gut microbiome: advances from next-generation sequencing. *Aquaculture*, 448, 464-475.
31. Gilbert, J. A., Steele, J. A., Caporaso, J. G., Steinbrück, L., Reeder, J., Temperton, B., Huse S., McHardy C. A., Knight R., Joint I., Somerfield P., Fuhrman A. J., Field, D. (2012). Defining seasonal marine microbial community dynamics. *The ISME journal*, 6(2), 298-308.
32. Giri, S. S., Sukumaran, V., Oviya, M. (2013). Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish & shellfish immunology*, 34(2), 660-666.
33. Givens, C. E., Ransom, B., Bano, N., Hollibaugh, J. T. (2015). Comparison of the gut microbiomes of 12 bony fish and 3 shark species. *Marine Ecology Progress Series*, 518, 209-223.
34. González C.J., Santos J.A., García-López M.L., Otero A. (2000): Psychrobacters and related bacteria in freshwater fish. *J Food Prot* 63, 315–321.
35. Gosh, R.I., (1985). Energy Metabolism of Fish Reproductive Cells and Embryos. Naukova Dumka, Kiev, 147

- pp. (in Russian).
36. Grawiński E., Podolska M., Kozińska A., Pękala A. (2009): Bacteria pathogenic for fish and humans isolated from Baltic cod. *Życie Wet* 84, 409–416.
 37. Hänninen, M. L., Oivanen, P., Hirvelä-Koski, V. (1997). *Aeromonas* species in fish, fish-eggs, shrimp and freshwater. *International Journal of Food Microbiology*, 34(1), 17-26.
 38. Hansen, G. H., Olafsen, J. A. (1999). Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish. *Microbial ecology*, 38, 1-26.
 39. Harka Á. (1997): Halaink. Kiadja a Természet- és Környezetvédő Tanárok Egyesülete, Budapest, 175.
 40. Harka Á. és Sallai Z. (2007): Magyarország halfaunája. Nimfea Természetvédelmi Egyesület, 174.
 41. Horváth László (2018): A ponty szaporításbiológiája és szaporítása. In: Csorbai B., Urbányi B. (Szerk.): A ponty (*Cyprinus carpio* L.) biológiája és tenyésztése. Vármédia Print Kft. Gödöllő 35-36.
 42. Horváth L. (2000): Tenyésztési alapok. In.: Horváth L. (szerk) Halbiológia és haltenyésztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest pp. 214-413
 43. Horváth László, Urbányi Béla (2004): Tógazdálkodás, Gödöllő, 30-32.
 44. Huang, J., Sun, B., Zhang, X. (2010). *Shewanella xiamenensis* sp. nov., isolated from coastal sea sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(7), 1585-1589.
 45. Hume, D. J., Fletcher, A. R., Morison, A. K. (1983). Carp Program–final report. *Arthur Rylah Institute for Environmental Research, Fisheries and Wildlife Division, Ministry for Conservation Victoria, Australia*.
 46. Jung, M. Y., Lee, C., Seo, M. J., Roh, S. W., Lee, S. H. (2020). Characterization of a potential probiotic bacterium *Lactococcus raffinolactis* WiKim0068 isolated from fermented vegetable using genomic and in vitro analyses. *BMC microbiology*, 20, 1-10.
 47. Juni E. (2005): Genus II. *Acinetobacter*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, edited by D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley, Springer, Michigan State University, USA, vol. 2 (part B), 425-437.
 48. Kačaniová, M., Terentjeva, M., Vukovic, N., Puchalski, C., Roychoudhury, S., Kunová, S., Kluga, A., Tokár, M., Kluz, M., Ivanišová, E. (2017). The antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against *Pseudomonas spp.* isolated from fish. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(8), 1108-1116.
 49. Kamler E. (2005): Parent–egg–progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. *Rev. Fish Biol. Fisher.* 15, 399–421.
 50. Kirpitschnikov, V. S. (1999). Genetics and breeding of common carp.
 51. Kiss 2024: Statisztikai jelentések – Lehalászás jelentés. Agrárközgazdasági jelentés, Budapest. XXIX. évf. 1. szám, 19.
 52. Kjorsvik E., Mangor-Jensen A., Holmefjord I. (1990): Egg quality in fishes. *Adv. Mar. Biol.* 26, 71– 113.
 53. Kloskowski J. (2011a): Impact of common carp *Cyprinus carpio* on aquatic communities: direct trophic effects versus habitat deterioration. *Fundam Appl Limnol.* 178:245–255.
 54. Kottelat, M. (1996). *Cyprinus carpio* (River Danube subpopulation). *The IUCN Red List of Threatened Species*.
 55. Kovács B., Lehoczky I. Kovács Gy., Gorda S., Péter A., Bakos J. (2018): A ponty genetikája és erőforrásai. In: Csorbai B., Urbányi B. (Szerk.): A ponty (*Cyprinus carpio* L.) biológiája és tenyésztése. Vármédia Print Kft. Gödöllő 9.
 56. Kowalski, R. K., & Cejko, B. I. (2019). Sperm quality in fish: Determinants and affecting

- factors. *Theriogenology*, 135, 94-108.
57. Kozińska, A., Paździor, E., Pękala, A., Niemczuk, W. (2014). *Acinetobacter johnsonii* and *Acinetobacter lwoffii*-the emerging fish pathogens. *Journal of Veterinary Research*, 58(2), 193-199.
 58. Lahnsteiner F., Berger B., Weismann T., Patzner RA (1996): Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish Physiol Biochem* 15:167–179
 59. Lehoczy I., Urbányi B. (2023): A ponty (*Cyprinus carpio*). In.: Ferincz Á., Staszny A., Dérer I., Urbányi B. (Szerk.): Magyar Halkönyv. Magyar Országos Horgász Szövetség, Budapest. 108-114.
 60. Liu, Y., De Bruijn, I., Jack, A. L., Drynan, K., Van Den Berg, A. H., Thoen, E., Sandoval-Sierra, V., Skaar, I., Van West, P., Diéguez-Urbeondo, J., Van Der Voort, M., Mendes, R., Mazzola, M., Raaijmakers, J. M. (2014). Deciphering microbial landscapes of fish eggs to mitigate emerging diseases. *The ISME journal*, 8(10), 2002-2014.
 61. Llewellyn, M. S., Leadbeater, S., Garcia, C., Sylvain, F. E., Custodio, M., Ang, K. P., Powell, F., Carvalho, G. R., Creer, S., Elliot, J., Derome, N. (2017). Parasitism perturbs the mucosal microbiome of Atlantic Salmon. *Scientific reports*, 7(1), 43465.
 62. Mabuchi, K., Miya, M., Senou, H., Suzuki, T., Nishida, M. (2006). Complete mitochondrial DNA sequence of the Lake Biwa wild strain of common carp (*Cyprinus carpio* L.): further evidence for an ancient origin. *Aquaculture*, 257(1-4), 68-77.
 63. Matsuzaki SS, Usio N, Takamura N, Washitani I. (2009): Contrasting impacts of invasive engineers on freshwater ecosystems: an experiment and meta-analysis. *Oecologia*. 158:673–686.
 64. McCrimmon H. (1968): Carp in Canada. Bulletin of Fisheries Research Board of Canada, 94, 165.
 65. Mellmann, A., Cloud, J., Maier, T., Keckevoet, U., Ramminger, I., Iwen, P., Dunn, J., Hall, G., Wilson, D., LaSala, P., Kostrzewa, M., Harmsen, D. (2008). Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria. *Journal of clinical microbiology*, 46(6), 1946- 1954.
 66. Merrifield, D. L., Rodiles, A. (2015). The fish microbiome and its interactions with mucosal tissues. In *Mucosal health in aquaculture* (pp. 273-295). Academic Press.
 67. Mézes Miklós (2018): A pontytakarmányozás alapjai; Elméleti alapok. In: Csorbai B., Urbányi B. (Szerk.): A ponty (*Cyprinus carpio* L.) biológiája és tenyésztése. Vármédia Print Kft. Gödöllő 95.
 68. Mézes Miklós, Bokor Zoltán, Csorbai Balázs, Ferincz Árpád, Staszny Ádám, Hegyi Árpád, Eszterbauer Edit, Urbányi Béla (2020): Halászat, haltenyésztés; Halászati vállalkozási és jogi alapismeretek; A magyar halászati ágazat termelési eredményei 361- 364, 369.
 69. Mišík V. (1958): Biometrika dunajského kapra (*Cyprinus carpio* L.) z dunajského systému na Slovensku. *Biol. Práce* 4. No. 6.
 70. Montalbán-Arques, A., De Schryver, P., Bossier, P., Gorkiewicz, G., Mulero, V., Gatlin III, D. M., Galindo-Villegas, J. (2015). Selective manipulation of the gut microbiota improves immune status in vertebrates. *Frontiers in Immunology*, 6, 512.
 71. Moya, A., Ferrer, M. (2016). Functional redundancy-induced stability of gut microbiota subjected to disturbance. *Trends in microbiology*, 24(5), 402-413.
 72. Nho, S. W., Hikima, J. I., Cha, I. S., Park, S. B., Jang, H. B., del Castillo, C. S., Kondo, H., Hirono, I., Aoki,

- T., Jung, T. S. (2011). Complete genome sequence and immunoproteomic analyses of the bacterial fish pathogen *Streptococcus parauberis*. *Journal of bacteriology*, 193(13), 3356-3366.
73. Orbán, L., Wu Q. J. (2008): *Cyprinids*. In: Kole CR and Kocher TD (eds). Genome mapping and genomics in animals: fishes and aquatic animals. Springer Verlag, Berlin, Germany, 45-83.
 74. Parkos, J. I. I. I., Wahl, D. (2014). Effects of common carp (*Cyprinus carpio*), an exotic fish, on Aquatic Ecosystems. Illinois Natural History Survey report of January/February 2000. University of Illinois Board of Trustees. *Center for Aquatic Ecology*.
 75. Parra, D., Reyes-Lopez, F. E., Tort, L. (2015). Mucosal immunity and B cells in teleosts: effect of vaccination and stress. *Frontiers in immunology*, 6, 354.
 76. Patel, R. (2015). MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clinical chemistry*, 61(1), 100-111.
 77. Paździor, E., Bomba, A., Thuścik, K., Nadolna-Ałtyn, K., Podolska, M., Reichert, M., Wasyl, D., Pękala-Safińska, A. (2023). Phylogenetic analysis of *Shewanella* spp. isolated from fish. *Journal of Fish Diseases*, 46(11), 1163-1171.
 78. Pękala, A., Paździor, E., Antychowicz, J., Bernad, A., Głowacka, H., Więcek, B., Niemczuk, W. (2018). *Kocuria rhizophila* and *Micrococcus luteus* as emerging opportunist pathogens in brown trout (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Aquaculture*, 486, 285-289.
 79. Perchee Poupard G., Gatti J.L., Cosson J., Jeulin C., Fierville F., Billard R. (1997): Effects of extracellular environment on the osmotic signal transduction involved in activation of motility of carp spermatozoa. *J Reprod Fertil* 110:315–327
 80. Petrzik, K., Brázdová, S., Krawczyk, K. (2021). Novel viruses that lyse plant and human strains of *Kosakonia cowanii*. *Viruses*, 13(8), 1418.
 81. Pintér Károly (1989): Magyarország halai. Biológiájuk és hasznosításuk; Pontyfélék családja-Cyprinidae 110-114.
 82. Plouidy, M.G. and Billard, R., (1982). The chemical composition fluids of the gametes in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) In: H. Goos and C. Richter (Editors), *Reproduction Physiology of Fish*. Pudoc, Wageningen, The Netherlands, p. 134.
 83. Pulian Morais, V., Daporta, M. T., Bao, A. F., Campello, M. G., Quindós Andrés, G. (2009). Enteric fever-like syndrome caused by *Raoultella ornithinolytica* (*Klebsiella ornithinolytica*). *Journal of clinical microbiology*, 47(3), 868-869.
 84. Rahman MM. (2015): Effects of co-cultured common carp on nutrients and food web dynamics in rohu aquaculture ponds. *Aquacult Environ Interact*. 6:223–232.
 85. Rasool, U., Ahmad, A., Badroo, G. A., Mudasir, M., Fayaz, S., Mustafa, R. (2017). Isolation and identification of *Bacillus cereus* from fish and their handlers from Jammu, India. *International Journal Current Microbiology Applied Science*, 6, 441-447.
 86. Ribiánszky, M., Woynarovich, E. (1962). *Hal, halászat, halgazdaság*. Mezőgazdasági Kiadó.
 87. Romero, J., Ringø, E., Merrifield, D. L. (2014). The gut microbiota of fish. *Aquaculture nutrition: Gut health, probiotics and prebiotics*, 75-100.
 88. Rosengrave, P., Taylor, H., Montgomerie, R., Metcalf, V., McBride, K., Gemmell, N. J. (2009). Chemical composition of seminal and ovarian fluids of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and their effects

- on sperm motility traits. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 152(1), 123-129.
89. Ruganwa E., Kime D.E., Ollevier F., Nash J. P. (2004): The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. In: *Aquaculture*, 234 (1-4), 1-28. p.
 90. Ryan K. J., Ray C. G. (2004): *Sherris Medical Microbiology*, 4th edn. New York: McGraw Hill.
 91. Saad A., Billard R., Thero, M. C., Hollebecq M. G. (1988): Short-term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen. *Aquaculture*, 71(1-2), pp. 133-150.
 92. Salinas, I. (2015). The mucosal immune system of teleost fish. *Biology*, 4(3), 525-539.
 93. Sandle, T. (2020). Ready for the count? Back-to-basics review of microbial colony counting. *Journal of GXP Compliance*, 24.
 94. Saticioglu, I. B., Duman, M., Altun, S. (2018). Antimicrobial resistance and molecular characterization of *Pantoea agglomerans* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Microbial pathogenesis*, 119, 131-136.
 95. Sagvik, J., Uller, T., Olsson, M. (2008). A genetic component of resistance to fungal infection in frog embryos. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1641), 1393-1396.
 96. Stecher, B., Maier, L., Hardt, W. D. (2013). 'Blooming'in the gut: how dysbiosis might contribute to pathogen evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 11(4), 277-284.
 97. Stephens, W. Z., Burns, A. R., Stagaman, K., Wong, S., Rawls, J. F., Guillemin, K., Bohannon, B. J. (2016). The composition of the zebrafish intestinal microbial community varies across development. *The ISME journal*, 10(3), 644-654.
 98. Sullam, K. E., Essinger, S. D., Lozupone, C. A., O'CONNOR, M. P., Rosen, G. L., Knight, R., Kilham, S. S., Russell, J. A. (2012). Environmental and ecological factors that shape the gut bacterial communities of fish: a meta-analysis. *Molecular ecology*, 21(13), 3363-3378.
 99. Sylvain, F. É., Cheaib, B., Llewellyn, M., Gabriel Correia, T., Barros Fagundes, D., Luis Val, A., Derome, N. (2016). pH drop impacts differentially skin and gut microbiota of the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Scientific Reports*, 6(1), 32032.
 100. Tewari, D., Cieply, S., Livengood, J. (2011). Identification of bacteria recovered from animals using the 16S ribosomal RNA gene with pyrosequencing and Sanger sequencing. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(6), 1104-1108.
 101. Tran, N. T., Wang, G. T., Wu, S. G. (2017). A review of intestinal microbes in grass carp *Ctenopharyngodon idellus* (Valenciennes). *Aquaculture Research*, 48(7), 3287- 3297.
 102. Turner, T. R., James, E. K., Poole, P. S. (2013). The plant microbiome. *Genome biology*, 14, 1-10.
 103. Udvari Zs. (2017): Magyarországon elismert pontyfajták, Földművelésügyi Minisztérium, Horgászati és Halgazdálkodási Főosztály, Iktatószám: HHgF/268/2017.
 102. Urbányi Béla, Staszny Ádám (2018): A faj jelentősége, trendek hazánkban, Európában és a Világban; A ponty szerepe az EU akvakultúrájában; A ponty jelentősége hazánkban. In: Csorbai B., Urbányi B. (Szerk.): A ponty (*Cyprinus carpio* L.) biológiája és tenyésztése. Vármédia Print Kft. Gödöllő 164-169.
 103. Uribe, C., Folch, H., Enríquez, R., Moran, G. J. V. M. (2011). Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinární medicína*, 56(10), 486-503.
 104. Valdebenito, I. I., Gallegos, P. C., Effer, B. R. (2013). Gamete quality in fish: evaluation parameters and

- determining factors. *Zygote*, 23(02), 177–197.
105. Valdebenito Isler, I., Sanchez, R. R., Effer Roldan, B., Ubilla Madrid, A. (2012). Morphometric characterization of the first blastomeres of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Zygote*. 20(4):327-31.
106. Várkonyi, L. (2021). A balatoni sudár ponty (*Cyprinus carpio morpha acumminatus*) és a hévízi törpenövésű magyar vadponty (*Cyprinus carpio morpha hungaricus*) spermamélyhűtésének és intenzív rendszerben történő szaporításának vizsgálata, valamint in vitro spermabankjának megalapozása (Doctoral dissertation, Magyar Agrár-és Élettudományi Egyetem).
107. Wang, A. R., Ran, C., Ringø, E., Zhou, Z. G. (2018). Progress in fish gastrointestinal microbiota research. *Reviews in Aquaculture*, 10(3), 626-640.
108. Weber MJ, Brown ML. (2011): Relationships among invasive common carp, native fishes, and physicochemical characteristics in upper Midwest (USA) lakes. *Ecol Freshw Fish*. 20:270–278.
109. Woynárovich András, Kovács Éva, Nagy Sándor Alex (2019): A vízminőség állapotának felmérése és értékelése 24.
110. Xu, Z., Takizawa, F., Parra, D., Gómez, D., von Gersdorff Jørgensen, L., LaPatra, S. E., Sunyer, J. O. (2016). Mucosal immunoglobulins at respiratory surfaces mark an ancient association that predates the emergence of tetrapods. *Nature communications*, 7(1), 10728.
111. Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole genome assemblies. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(5), 1613-1617.
112. Zarkasi, K. Z., Abell, G. C., Taylor, R. S., Neuman, C., Hatje, E., Tamplin, M. L., Katouli, M., Bowman, J. P. (2014). Pyrosequencing-based characterization of gastrointestinal bacteria of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) within a commercial mariculture system. *Journal of applied microbiology*, 117(1), 18-27.

Internetes források:

1. [http1: https://www.agronaplo.hu/20240624/ezt-a-halat-veszi-most-a-legtobb-magyar-itthon-de-mi-tortent-a-ponttyal-49276](https://www.agronaplo.hu/20240624/ezt-a-halat-veszi-most-a-legtobb-magyar-itthon-de-mi-tortent-a-ponttyal-49276) (elérve: 2024.10.)

8. Ábrák és táblázatok jegyzéke

8.1 Ábrajegyzék

1. ábra: A ponty (<i>Cyprinus carpio</i> , Linnaeus 1758)	6
2. ábra: A kemecsei keltetőház	17
3. ábra: Bél mintavétel a feltárt egyedből	19
4. ábra: Bélminta táptalajra történő szélesztése	21
5. ábra: Az izolált baktérium nemzetségek relatív abundanciája az egyes mintacsoportokban (ikrások és tejesek bél illetve ivartermék mintái)	27

8.2 Táblázatjegyzék

1. táblázat: Sperma motilitásra vonatkozó paraméterek rövidítése és megnevezése	20
2. táblázat: Az általunk kapott eredmények a sperma paramétereinek (Sperma TSA TKE: telepképző egység, TSA táptalajon történt tenyésztés; Sperma MRSA TKE és Bél MRSA TKE: telepképző egység, MRSA táptalajon történt tenyésztés) vizsgálatánál	24
3. táblázat: A számítógépes spermavizsgáló rendszer (CASA) által rögzített eredmények	25
4. táblázat: A tejes bélből és a spermából izolált fajok	25
5. táblázat: Az általunk kapott eredmények az ikra paramétereinek (Ikra TSA TKE: telepképző egység, TSA táptalajon történt tenyésztés; Ikra MRSA TKE és Ikrás MRSA TKE: telepképző egység, MRSA táptalajon történt tenyésztés) vizsgálatánál	26
6. táblázat: Az ikrából és az ikrás bélből izolált baktérium fajok	26

9. Köszönetnyilvánítás

Külön köszönetet szeretnék mondani konzulenseimnek, Várkonyi Dávidnak, Dr. Bernáth Gergelynek és Dr. Bokor Zoltánnak a szakmai segítségükért, a dolgozat megírásában való hatalmas támogatásukért és a rám szánt idejükért.

Szeretném megköszönni Dr. Kaszab Editnek, Dr. Farkas Milánnak, Dr. Csorbai Baláznak, Nagy Borbálának, Dzsudzsák Emília Laurának, Bartucz Tamásnak és Bartos Istvánnak, valamint a Szabolcsi Halászati Kft.-nek, azon belül ifj. Radóczy János, termelésvezetőnek és a többi munkatársnak, hogy segítették munkám szervezését és lebonyolítását.

A kutatás a Kulturális és Innovációs Minisztérium (KIM) Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal által kibocsátott támogatói okirat alapján valósult meg (2022-1.2.6-TÉT-IPARI-TR-2022-00002). Munkánkat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap keretében az EKÖP-24-V/MATE-6 kódszámú Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Program 2024 (2024-2.1.1-EKÖP) támogatta, az Innovációs és Technológiai Minisztérium által kiírt Térmaterületi Kiválósági Program (TKP2021), Nemzetvédelem és Nemzetbiztonság alprogram pályázata (TKP2021-NVA-22), valamint a KIM megbízásából a Nemzeti Kulturális Támogatáskezelő által meghirdetett, „Szakkollégiumok tehetséggondozó programjainak támogatása” (NTP-SZKOLL-24-0055) pályázat segítette elő. A kutatás a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Kutatási Kiválósági Programjának és Kiemelt Kutatócsoportok Programjának támogatásával készült.

10. Nyilatkozatok

10.1 Hallgatói nyilatkozat

NYILATKOZAT

szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: **Kirchner Márton**
A Hallgató Neptun kódja: **UYWZ6C**
A dolgozat címe: **A SZAPORODÁSBIOLOGIAI MUTATÓK ÉS AZ AZT
BEFOLYÁSOLÓ MIKROBIÁLIS KÖZÖSSÉG KAPCSOLATÁNAK
FELTÁRÁSA PONTY (*CYPRINUS CARPIO*) FAJBAN**

A megjelenés éve: **2024**
A konzulens intézetének neve: **Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet**
A konzulens tanszékének a neve: **Halgazdálkodási Tanszék**

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottnak tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Gödöllő, 2024. év 11. hó 05. nap



Hallgató aláírása

10.2. Konzulensi nyilatkozat

NYILATKOZAT

Kirchner Márton (hallgató Neptun azonosítója: UYWZ6C) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*3}

Kelt: Gödöllő, 2024 év 11 hó 05 nap



belső konzulens