

MTA doktori értekezés opponensi véleményére adott válasz

Jelölt: Dr. Müller Tamás

Értekezés azonosítója: dc_1972_21

Értekezés címe: Keltetőházi halszaporítási gyakorlattól eltérő új- és újszerű módszertani eljárások

Opponens: Dr. Erős Tibor, az MTA doktora

Tisztelt Opponens úr!

Mindenekelőtt köszönöm doktori értekezésem szakmai bírálatát, elismerő szavait, támogató véleményét!

A formázásra adott kritikai megjegyzések jogosak, elkerülhető hibáimért elnézést kérek. A „Priyadarshi et al 2020” hivatkozás az irodalomjegyzék 95. oldalában megtalálható, azonban EndNote-ban szerkesztett hivatkozási listában összezsúszott Peter et al. 1988. hivatkozással.

Bíráló kérdés: *Honnan jött az ötlet, mikor az inszeminációs ötletet kitalálta? Ismerte-e már akkor a tengeri különfaj szaporodási stratégiáját vagy később, az ötlete után nézett tüzetesebben utána e szaporodási módnak?*

Az ötletet az angolna szaporítása során fellépő egyik gyakorlati probléma megoldási kényszere ösztönözte. Habár kutatócsoportunknak számos alkalommal sikerült ikratermékenyülést elérni a fajban, azonban csak ívatásos szaporítási módszerrel, így a két ivar beérésének szinkronizálása kulcsfontosságú. Kísérleteink során nem minden esetben sikerült ez az összehangolás, mivel az angolnák hormonálisan indukált ivarérelésének egyik sajátossága, hogy az ikrások és a tejesek gametogenezise más ritmusú. A tejesek esetén a herében az ivarsejtek érési folyamata gyorsabb, hormonálisan indukált eljárással 5-6 hét alatt érett spermiumsejtekkel rendelkező spermát lehet fejni, a legjobb minőségű sperma termelést a 8-10 hét között lehet elérni. Ezzel szemben az ikrások indukált ovogenezise átlagosan körülbelül 9-18 hét alatt megy végbe – nagy egyedi különbségek között – köszönhetően részben a szikbeépülés lassú folyamatának is. Több alkalommal előfordult, hogy az ikrások beérésekor nem állt rendelkezésünkre olyan tejes példány, ami jó minőségű spermát termelt volna. Kézenfekvő megoldás, hogy ilyen esetekben megpróbálkozzunk az *in vitro* termékenyítési módszerrel és mélyhűtött spermaminták felhasználásával. Azonban az ikrások döntő adagú, ovuláció kiváltására használt úgynevezett DHP hormonkezelésre adott reakálásában nagy egyedi különbségeket figyeltünk meg. 12-20 óra között bármikor ovuláltak az ikrások és szórták el ikratételeiket. Bonyolította a helyzetet, hogy ovulációt követően roppant gyors az ikrák túlérése, a termékenyítőképesség csökkenése (néhány perc), így a végső hormonkezelést követő 10 órától 20 óráig folyamatosan figyelniünk kellett az ikrásokat, hogy ne hagy lemaradjunk az ikraszórásról.

Ekkor gondolkodtunk azon, hogy megvizsgáljuk annak a lehetőségét, hogy a döntő adagú hormonkezeléskor a bódított ikrások hasüregébe jutatott sperma (az angolnaalakúaknak gimnovárium típusú petefészke van, tehát nincs kialakult petevezeték) spontán ikraszórásakor (tehát tejesek jelenléte nélkül) lehetséges-e termékeny ikratételeket nyerni ezzel a módszerrel. Ezt követően az irodalmazás során akadtam rá a külső megtermékenyítésű tengeri kölfélek sajátos szaporodási stratégiájára, amely reményt adott rá, hogy más külső megtermékenyítésű fajok petefészkek körülményei is megőrizhetik a spermiumsejtek termékenyítő képességét a beérési idő alatt (hormonkezeléstől ovulációig). Ebből az ötletből születtek azok a kísérletsorozatok, amik a dolgozatot is alkotják. Szeretném megjegyezni, hogy a dolgozat nem tartalmazza, de sikerült így szaporítani angolnát is.

Bíráói kérdés: *Miért lehet előnyös evolúciósan ez a stratégia, miért nem terjedt el jobban a halak körében, illetve miért e ritka esetben alakulhatott ki?*

A szakirodalmi adatok alapján több különböző taxonban is megtalálhatók olyan halfajok, amelyek belső ivarsejt egyesüléssel szaporodnak (Ito et al., 2022); kölfélekben (*Cottidae*, Munehara et al., 1989), a pikófélékhez közeli csövescsőrű-félékben (*Aulorhynchidae*, Akagawa et al., 2008; Okiyama et al., 1993), pontylazac-félékben (*Characidae*, Pecio et al., 2005), és harcsa alakúak rendjében (*Siluriformes*, Ito et al., 2022; Parreira et al., 2009). Tehát a belső ivarsejt egyesülés nem biztos, hogy ritka a belső megtermékenyítésűnek vélt halak között (zigopar fajok), és evolúciósan stabil stratégia lehet (Takeshi Ito személyes véleménye alapján). Koya et al. (2002) kísérletei alapján a spermiumsejtek egy hónapig is megtermékenyítőképesek maradtak az ováriumban, így a kopuláció és az ovuláció közötti idő viszonylag hosszú. Az ikrásoknak ezen hosszú időszak nem kell biztosítaniuk azokat a feltételeket, amik a petefészken/petevezetőn belüli embriófejlődéshez már szükséges lenne, amik az anyai szervezetet megterhelné. Ez alkalmat teremt arra, hogy (i) az ikrások több tejjel kopuláljanak (sperma versengés, utódok géndiverzitásának növelése), (ii) a kopulálást követően az ikrásoknak van lehetősége kiválasztani a megfelelő ivási szubsztrátot vagy azt/azokat a tejest/tejeseket, amelyek az utódgondozásra alkalmasnak találják.

Személyes véleményem szerint „maradvány stratégiát” is feltételezhetünk a belső ivarsejt egyesülés fennmaradásában. Nem tisztázott, hogy a páncélosalak (*Placodermi*) egy oldalág a halak evolúciójában (King et al., 2017) vagy az állkapcsosok (*Gnathostomata*) közvetlen őse (Long et al., 2015), de szaporodásukat tekintve egyedi jellegzetességgel bírtak. Paleontológiai bizonyítékok alapján egyes páncélosalak fajok hímjei páros csontos ivarszervvel rendelkeztek (Lang et al., 2015), így feltételezések szerint belső megtermékenyítésű fajaik is voltak. Gess és Trinajstić (2017) viszont kiemelték, hogy a külső hím pározószervek jelenléte nem előfeltétele a belső megtermékenyülésnek. Elképzelhetőnek tartom, hogy a korábban említett előnyök mellett esetlegesen a „belső ivarsejt egyesülés” is jóval elterjedtebb lehetett.

Első pillantásra a belső ivarsejt egyesülés egy specializált szaporodási módnak tűnnek a halak körében, de ha kiterjesztjük az elméletet a zigopar és embriopar fajokra (belső megtermékenyítésű fajok, ahol a megtermékenyített ikra/tojás zigóta- vagy embrió állapotban kerül testüregén kívülre*), akkor a kopuláció és az ikra vagy tojásrakás meglehetősen gyakori szaporodási forma az állatvilágban.

*tojást rakó cápák; macskacápa-félék (*Scyliorhinidae*), szőnyegcápa-félék (*Parascyllidae*), bikafejű cápa-alakúak (*Heterodontidae*) és a rablócápa-alakúak (*Orectolobiformes*) egyes fajtái, skorpióhal-alakúak (*Scorpaeniformes*), egyes nyálkásal-alakúak (*Blenniiformes*) rendjébe tartozó faj, hüllők (*Reptilia*), madarak (*Aves*).

- Akagawa, I., Hara, M., & Iwamoto, T. (2008). Egg concealment in ascidians by females of the Japanese tubesnout, *Aulichthys japonicus* (Gasterosteiformes), and its subsequent copulation. *Ichthyological Research*, 55, 85–89.
- Gess RW, Trinajstić KM (2017) New morphological information on, and species of placoderm fish *Africanaspis* (Arthrodira, Placodermi) from the Late Devonian of South Africa. *PLoS ONE* 12(4): e0173169.
- King, B., Qiao, T., Lee, M. S. Y., Zhu, M., & Long, J. A. (2017). Bayesian morphological clock methods resurrect placoderm monophyly and reveal rapid early evolution in jawed vertebrates. *Systematic Biology*, 66(4), 499–516.
- Ito, T., Morita, M., Okuno, S., Inaba, K., Shiba, K., Munehara, H., Koya, Y., Homma, M., & Awata, S. (2022). Fertilization modes and the evolution of sperm characteristics in marine fishes: Paired comparisons of externally and internally fertilizing species. *Ecology and Evolution*, 12, e9562.
- Long, J., Mark-Kurik, E., Johanson, Z. et al. (2015). Copulation in antiarch placoderms and the origin of gnathostome internal fertilization. *Nature* 517, 196–199.
- Koya, Y., Munehara, H., Takano, K. (2002). Sperm storage and motility in the ovary of the marine sculpin *Alcichthys alcicornis* (Teleostei: Scorpaeniformes), with internal gametic association. *J Exp Zool*. 292(2):145-155.
- Parreira, G. G., Chiarini-Garcia, H., Melo, R. C. N., Vieira, F. O., & Godinho, H. P. (2009). Spermatozoon and its relationship with the ovarian lamellae in the internally inseminating catfish *Trachelyopterus galeatus*. *Microscopy Research and Technique*, 72, 889–897.
- Pecio, A., Burns, J. R., & Weitzman, S. H. (2005). Sperm and spermatozeugma ultrastructure in the inseminating species *Tytocharax cochui*, *T. tambopatensis*, and *Scopaeocharax rhinodus* (Pisces: Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae: Xenurobryconini). *Journal of Morphology*, 263, 216–226.

Bíráló kérdése: *Emellett úgy tudom számos kölönte faj belső megtermékenyítésűnek hittek a kutatók. Lehet, hogy sok halfaj valóban ugyanilyen stratégiát folytat, csak egyszerűen még nem tárták fel gazdaságilag nem hasznosított fajok pontos szaporodási stratégiáját?*

Egyetérték a Bírálóval, hogy a gazdaságilag nem hasznosított halak pontos szaporodási stratégiája nem teljesen feltárt, a belső ivarsejt egyesülés, mint szaporodási forma jóval elterjedtebb lehet. Például a hazai skorpióhal-alakúak rendjébe tartozó kölöntefélék családját egy faj képviseli, a botos kölönte (*Cottus gobio*) és éppen ennek a fajnak a szaporodásbiológiája sajátos jellegzetességeket mutat. A spermium finomszerkezete* és fiziológiája** a belső megtermékenyítésű halakhoz hasonlatos, azonban a megtermékenyítés módja még is külső (Lahnsteiner et al., 1997).

* Míg a külső megtermékenyítésű halak általában gömbölyű vagy tojásdad spermium fejjel és kis középrésszel rendelkeznek, a belső megtermékenyítésű halak spermiumai hosszúkás fejjel és bonyolultabb felépítésű középrésszel rendelkeznek. A botoskölönte spermiuma az utóbbi jellegzetességeket mutatja. ** Másfelől a külső megtermékenyítésű édesvízi halfajok döntő többségénél a spermiumok motilitása nem hosszabbítható meg 10-15 másodpercnél hosszabb ideig fiziológiás sóoldatban. Ezzel szemben a *C. gobio* spermiumai akár 2 órán át is úsznak foszfátpufferelt sóoldatban (50 mmol l⁻¹ NaCl). Ez a leghosszabb mozgási időtartam, amelyet külsőleg megtermékenyülő halak spermiumai esetében valaha is kimutattak (Lahnsteiner et al., 1997).

Jelenleg egy doktori témán belül vizsgáljuk a botos kölönte szaporodásbiológiai jellemzőit, amely keretén belül kísérleteket tervezünk az ívás-, valamint az ikra megtermékenyülés körülményeinek részletesebb feltárására (Imecs István: Botos kölönte (*Cottus gobio*) állományok megőrzésére irányuló *ex situ* és *in situ* konzervációbiológiai kutatások; 2022-2026, témavezetők: Dr. Müller Tamás és Dr. Urbányi Béla).

Lahnsteiner F., Berger B., Weismann T. & Patzner R.A. (1997). Sperm structure and motility of the freshwater teleost *Cottus gobio*. *J. Fish Biol.* 50, 564–574.

Bíráói kérdés: *Általánosan külső megtermékenyítésű fajokban is leírtak belső megtermékenyülést. Miként mehetett végbe a megtermékenyülés? Mi lehet a legvalószínűbb módja?*

Dean et al. (2019) először sikerült háromtűskés pikó ikrásból kinyert embriókat kikeltetni és ivaréretté nevelni. A belső megtermékenyülés tényét genetikai vizsgálatokkal is igazolták, kizárva a ginogenetikus és önmegtermékenyítés valószínűségét (a vizsgált egyed hermafrodita volt). Arra a kérdésre azonban, hogy ténylegesen hogyan mehetett végbe a belső megtermékenyülés csak feltételezésekre szorítkoztak. Ugyanebbe a rendbe tartozó (*Gasterosteidae*) fajok között vannak belső ivarsejt egyesüléssel *Aulichthys japonicus* fajok is.

Eddig nem publikált kísérleti eredményeink során sikerült belső termékenyítést elérni zebradánió és afrikai harcsa fajokban. Mindkét fajban számos kísérletet hajtottunk végre és arra a következtetésre jutottunk, hogy termékenyüléshez szükség van az ivarsejtek vízakivárási útjára. Azonban sikeres „belső termékenyüléskor” az embriók nem voltak képesek blasztula állapotnál tovább fejlődni az anyai szervezetben. Valószínűleg a légzési gázok cseréjéhez nélkülözhetetlen vérkeringési rendszer kialakulására lenne szükség, hogy biztonságosan tovább fejlődjenek. A zebradánióban és afrikai harcsában elért eredményeket is figyelembe véve úgy gondolom, hogy a vizsgált egyed petevezetője „nyitott” állapotban maradhatott (fejlődési rendellenesség), így a testen kívülről volt biztosítva az embriófejlődéshez szükséges oxigénutánpótlás.

Dean, L.L., Robertson, S., Mahmud, M., MacColl, A.D.C. (2019) Internal embryonic development in a non-copulatory, egg-laying teleost, the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. Scientific Reports 9: 2395.

Bíráói kérdés: *A sperma inszemináláson alapuló szaporításból származó utódok életképessége eltér-e az általános külső megtermékenyítésű született utódok életképességétől? Várna-e különbséget?*

A múlt évben közöltünk le egy hibridizációs kísérlet eredményeit, ami részben választ ad az opponensi kérdésre. Hibridizációs szaporítás céljából ugyanazon *Heterobranchus longifilis* tejes ketté osztott spermátételével „termékenyítettünk” *Clarias gariepinus* ikrátételeket; (1) inszeminációval (10 órás petefészki tárolást követően ivatás) és (2) *in vitro* termékenyítési eljárással (ikragyűtést követő száraz termékenyítés eljárás). Mindkét szaporításból származó utódokat felneveltük 28 napig. Az *in vitro* fertilizációból származó halak két genotípusból származtak: 50 hibrid és 50 afrikai harcsa / nevelési egység 4 ismétlésben, míg az ivatásból származó halak (n=3 pár) 100 hal / nevelési egység szintén 4 ismétlésben. Egytényezős ANOVA szignifikáns különbségeket mutatott ki a túlélési arányokban (ANOVA: $F=7,827$; $df=3$, $p=0,0037$). A post hoc tesztek szerint mind a három inszeminált ikrásból származó ivadékok statisztikailag igazolható módon ($p<0,05$) magasabb túlélési arányt mutattak ($66,75\pm 5,52\%$, min-max: 58–75 %, hibrid:afrikai harcsa arány 98,1:1,9 %) mint az *in vitro* fertilizációból született halak ($43 \pm 12,19\%$, min-max: 23–55%, hibrid:afrikai harcsa arány 45,8:54,2 %). Messzemenő következtetést ebből nem lehet levonni, de elképzelhető, hogy a spermiumok 10 órás petefészki körülmények közötti tárolása alatt olyan szelekciós folyamatok zajlanak le (például sperma kompatibilitás, spermium verseny), amelynek során életerősebb ivadékokat nyerhetünk. A kérdés pontos megválaszolásához újabb kísérletsorozatokra van szükség. Fontosnak tartom még kiemelni, hogy ivarérett afrikai harcsa szaporítóállományaink jelenleg inszeminációs szaporítási eljárásból származnak, problémamentesen tovább szaporíthatók.

Okomoda et al. (2023) kísérleteikben afrikai harcsa fajban összehasonlították az inszeminációs módszert (24 órás petefészki expozíció), kétféle *in vitro* termékenyítési eljárással; egyfelől frissen gyűjtött-, és 24 órán 4 C°-on tárolt spermát használtak fel.

Eredményeik alapján a három kezelés között nem volt statisztikailag igazolható különbség ($p < 0,05$) termékenyítőképességében (91-93%), kelési arányban (81-83%). Vizsgálták a különféle kezelésből származó halak túlélési arányát – lárvák száma a szikfelszívódási fázisban / kelt lárvák száma $\times 100$ – és nem találtak különbséget a megmaradásban (72-74%).

Okomoda, V.T., Amighty, R.O., Bem, T.M., Amaantimin, J., Nurizzati, I., Koh, I.C.C., Abol-Munafi, A.B., Ikhwanuddin, M. (2023). Ovarian lavage method as an alternative route for hormonal administration and short-term sperm storage in *Clarias gariepinus*. *Theriogenology* 198, 203-209.

Quyen, N.N., Alebachew, G.A., Kucska, B., Kovács, Gy., Halasi-Kovács, B., Ferincz, Á., Staszny, Á., Horváth, L., Urbányi, B., Müller, T. Practical application of inseminated sperm method for production of interspecific hybrids (*Clarias gariepinus* \times *Heterobranchus longifilis*). *Aquaculture Reports* 27, 101418.

Bíráói kérdés: *Hogyan látja, vajon lehet-e majd mesterségesen szaporítani (némiképp megoldott) és nevelni európai angolnát? Miért lehet ez sokkal keményebb dió, mint japán angolna esetében? Mennyire sokan kísérleteznek ezzel, mekkora a verseny az egyes laborok között és részt vesz-e ebben még a jelölt és csoportja?*

Az utóbbi évtizedben már nem egyedülálló dolog leszaporítani az európai angolnát, kísérleti rendszerekben olasz (Bologna University), dán (Technical University of Denmark) és holland kutatók (Glasaal Volendam B) rendszeresen állítanak elő lárvát nagy tételben. A kulcs probléma jelenleg a lárvanevelés, amely számos kihívást tartogat, mint például a lárvák speciális tartása (kreisel edényrendszer), takarmányozás a nevelő víz minőségének fenntartása mellett, bakteriális megbetegedés elleni kezelések (elsősorban vibriózis) stb. Japán angolna esetében nagyon hosszú kutatási folyamat előzte meg a fogságban történő szaporítást, nevelést. 1974-ben szaporítottak először japán angolnát (Yamamoto és Yamauchi, 1974), 2003-ban, tehát 29 év kutatást követően sikerült laboratóriumi körülmények között az első angolna lárvát üvegangolna korig felnevelni (Tanaka et al., 2003). 2011-ben sikerült bezárni a ciklust (fogságban szaporított halakat sikerült leszaporítani, Ijiri et al. (2011)). Tavaly az INAGI Co 6. generációs angolnát neveltek fel és idén terveznek szaporítani (Dr. Akihiro Okamura szóbeli közlése alapján, 2022, november), azonban fontos kihangsúlyozni, hogy messze elmaradnak az ipari méretű neveléstől (néhány ezer egyed / év). Japánban nincs tiltva a telepi angolnák feminizálása hormontartalmú tápok etetésével, a szaporító állományt ellenőrzött körülmények között nevelik és készítik fel. Az ivarérelésre kiválasztott ikrások petefészke a gametogenezis magasabb érettségi fokán lévő oocitával rendelkeznek, a beérési idejük is lényegesen rövidebb, mint az európai angolna esetében. Ugyanez vonatkozik a lárvanevelés idejére. Matsubara et al. (2010) leírták, hogy azonos körülmények között nevelt hibrid angolnáknak (*A. japonica* \times *A. anguilla*) 322 napra van szükségük a metamorfózist követő üvegangolna fázis eléréséig, míg ez japán angolna lárvák esetében jelentősen rövidebb (179 nap) idő alatt végbemegy, ami arra utal, hogy a lárvafejlődés sebessége – valószínűleg már a korai fázisokban is – minden bizonnyal eltér egymástól. Fontos kihangsúlyozni, hogy a japán angolna lárvák kezdeti táplálását olyan speciális étrenddel biztosítják, ami jelenleg nem publikus (leírások alapján egy mélytengeri cápafaj petefészkek homogenizátumát keverik össze bizonyos ásványi és vitamin kiegészítőkkel), ami a kísérleti eredmények alapján nagyban megkönnyíti a kezdeti nevelést.

Ijiri, S., Tsukamoto, K., Chow, S., Kurogi, H., Adachi, S., Tanaka, H., 2011. Controlled reproduction in the Japanese eel (*Anguilla japonica*), past and present. *Aquac. Eur.* 36, 13–17.

Matsubara, H., Nomura, K., Murashita, K., Kurokawa, T., Kobayashi, T., Tanaka, H., 2010. Can the hybrid between Japanese eel and European eel grow. *Newsl. Japan Soc. Comp. Endocrinol.* 36, 133–139.

Tanaka, H., Kagawa, H., Ohta, H., Unuma, T., Nomura, K., 2003. The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology. *Fish Physiol. Biochem.* 28, 493–497.
Yamamoto, K., Yamauchi, K., 1974. Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature* 251, 520–522.

Hazai angolna állományok speciális helyzete miatt „versenyhátrányba” kerültünk európai szinten is. Mi a szaporítóállományt részben hazai állományokból szerezzük be. Vizsgálataink alapján a balatoni angolna állomány 99%-ban ikrás egyedekből áll, a szaporításhoz szükséges tejeseket Olaszországból kell beszereznünk. Másfelől a balatoni ikrások populációbiológiai, ivarérettségi, és egészségügyi felmérései azt mutatták, hogy a vándorlásában akadályozott, túlkoros halak (31- 48 életév) szaporodó képessége lecsökkent, az ivarérettel járó intenzív fiziológiai folyamatok jelentette megterhelést nem képesek túlélni, az állomány konzerváció biológiai értéke ma már elenyésző. Ez a felhalmozódó szubletális szerves vegyületek és nehézfémek ivarérett során bekövetkező károsító hatásának tudható be. Horváth László Professzor úr ötlete által kifejlesztett különböző újszerű biomanipulációs-biotechnológiai eljárások és technológiai fejlesztések révén sikerült elérni a halak sikeres felkészítését egy gyógykezelési, valamint egy károsanyagmentesítési eljárást követően (tőzegkivonat, illetve tőzeg-zeolit fürdetéssel), mely kezelések nehézfémeket képesek közömbösíteni *in vivo*. Ezt követően ivaréreltük halainkat heti gonadotrop kezeléssel. A hosszú 16 hetes kezelési időszak végén spontán, illetve indukált ovulációt értünk el, sikeres termékenyülést követően életképes lárvákat is sikerült keltetnünk. Azonban a szaporító állomány felkészítése már olyan többlet energiát igényel, hogy nem vagyunk képesek a lárvanevelésre fókuszálni és többi kutatócsoporttal lépést tartani. Dán, holland és olasz kutatócsoportoknak nem szükséges ilyen felkészítési eljárásnak alávetni a halakat, mert kiváló minőségű fiatal szaporító állományok állnak rendelkezésre (tengeri vándorló angolnák, illetve speciális takarmányokon nevelt-, parazitamentes farmangolnák), valamint a lárvaneveléshez szükséges feltételek eredetileg is ott adóttak a nagy múltú tengeri akvakultúrai termelés-kutatásuk révén (például sósvízi táplálékszervezetek nevelése, tengeri hallárvák neveléséhez alkalmas berendezések, szakértelem stb.).

2016. október 20-án alakult Wageningenben az EELRIC (Eel Reproduction Innovation Centre), melynek deklarált célja a különböző kutatócsoportok együttműködésének elősegítése angolna szaporítás, lárvanevelés témakörben, kapcsolatot nyújtani a termelés és a kutatói szféra között, érdekképviselői erőfeszítések pályázati források allokálásában. A megalakulástól a csoportunk tagja ennek a nemzetközi szervezetnek. Így többé-kevésbé a kutatócsoportok jól ismerik egymást. Az alábbi táblázatban (1. táblázat) összegyűjtöttem az egyik „mérőszámot”, ami jellemezheti a csoportok előrehaladásának mértékét az angolna kutatásban.

Jelenleg nem folytatunk angolna ivarérelési munkákat, ugyanakkor együttműködésben dolgozunk a lengyel, török, és olasz kutatócsoportokkal (közös publikációk, kutató cserék), valamint tervezés alatt van Vietnámban *A. bicolor bicolor* ivarérelési kísérleti indítás.

1. táblázat. Különböző kutatócsoportok összefoglaló eredményei az európai angolna szaporításból származó lárva-nevelés sikerességének szempontjából.

Intézmény	Ország	Zárt rendszerben elért lárva-nevelés napokban
Polytechnic University of Valencia	Spanyolország	3*
University of Bologna	Olaszország	35 **
Technical University of Denmark	Dánia	~ 90 **
Thünen Institute of Fisheries Ecology	Németország	23 ***
Wageningen University	Hollandia	18 ****
Glasaal Volendam B		95 #
Mediterranean Fisheries Research Production and Training Insitute, Beymelek Unit	Törökország	13 ##
MATE	Magyarország	8 ###

* Vílchez M.C. Mazzeo I.; Baeza R.; Gallego V.; Peñaranda D.S.; Asturiano J.F.; Pérez L. (2013). 4th International Workshop on Biology of Fish Gametes. Faro, Portugal, Book of abstracts. pp. 228 – 229. 2012 óta nincs angolna szaporítási kísérlet, Prof. Juan F. Asturiano személyes közlés, 2022.

** Dr. Antonio Cassalini személyes közlés, 2022.

*** 2016 óta nem volt angolna szaporítás, Dr. Lasse Marohn személyes közlés, 2022.

**** Dr. Arjan Palstra személyes közlés, 2022.

Rick Lemmans személyes közlés, 2022.

Török-Magyar kutatói együttműködés: Öztürk, S., Aydın, I., Sezen, S., Kurtoğlu, A., İnanan, B.E., Mefut, A., Sevgili, H., Kanyılmaz, M., Kocakaya, S., Müller, T. (2022). Embryonic and larval development in the European eel (*Anguilla anguilla* L. 1758) during its reproduction efforts in Turkey. SOFAS 2022 International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences, October 25-27, Trabzon, Turkey.

2016 óta nem volt angolna szaporítás.

Megköszönöm az Opponens úr alapos, építő kritikákat és jobbitó észrevételeket tartalmazó bírálatát, bízom, hogy válaszaimat és kiegészítéseimet/magyarázataimat elfogadásra érdemesnek ítéli!

Gödöllő, 2023.01.18.

Dr. Müller Tamás