



Szent István Egyetem

**A PIKKELYALAK VIZSGÁLATA HALAKON
GEOMETRIAI MORFOMETRIAI MÓDSZEREKKEL**

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Staszny Ádám

GÖDÖLLŐ

2016

A Doktori iskola

Megnevezése: Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

tudományága: Állattenyésztés-tudomány

vezetője: Dr. Mézes Miklós
tanszékvezető, egyetemi tanár, az MTA
levelező tagja
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattudományi alapok Intézet, Takarmányozástani
Tanszék

Témavezető: Dr. Urbányi Béla
tanszékvezető, egyetemi tanár, az MTA
doktora
SZIE, Mezőgazdaság- és
Környezettudományi Kar,
Akvakultúra és Környezetbiztonsági
Intézet, Halgazdálkodási Tanszék

Társtémavezető: Dr. Paulovits Gábor
tudományos főmunkatárs
MTA, Ökológiai Kutatóközpont, Balatoni
Limnológiai Intézet

.....

Az iskolavezető jóváhagyása

.....

A témavezető jóváhagyása

.....

A társtémavezető jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, KITŰZÖTT CÉLOK

1.1 A munka előzményei

Az élőlények csoportosítása is alapvetően a morfometria – azaz az alaktan – tudományával vált lehetségessé, sőt a kezdetekben, a fenetikus osztályozás (numerikus taxonómia) során, kizárólagos alapja volt a biológiai rendszertannak.

Bár a szintén fenetikán alapuló numerikus taxonómiát mára szinte teljesen felváltotta az elsősorban genetikai vizsgálatokra alapozott kladsztika (a filogenetikus rendszertan modern módszertana), a morfometria továbbra is rendkívül fontos, elengedhetetlen a rendszertani vizsgálatok során.

Számos biológiai folyamat okozhat eltérést az egyed vagy egyes részeinek alakjában, mint például a betegségek, az ontogenetika (egyedfejlődés), a helyi környezethez történő alkalmazkodás, vagy a hosszú távú evolúciós változások.

Halak esetén is számos tanulmány alkalmazza a morfometria legújabb irányának (mérőpont alapú geometriai morfometria) módszereit, legtöbb esetben – ahogy a tradicionális morfometria esetén is – a hal testalakjának elemzésére.

Ez azonban olyan mértékű stresszt okoz az egyed számára, amittől az a legtöbb esetben elpusztul. Ezért fordultak a kutatók, nagyjából 10 évvel ezelőtt, olyan struktúrák irányába, amelyek eléggé variábilisak a populáció-szintű elkülönítéshez és gyűjtésük nem okoz maradandó károsodást az egyed számára. Halak esetén ezeknek a kritériumoknak a pikkely felel meg a leginkább, mivel a pikkely-mintavétel nem okoz sokkal nagyobb stresszt az állat számára, mint maga a megfogás, ezen kívül ez a struktúra könnyen és gyorsan képes regenerálódni.

Több tanulmány is foglalkozott a pikkelyalak vizsgálatával.

Mivel a korábbi vizsgálatok a sikeres elkülönítés szintjén nagyon ritkán mutatnak túl, munkám során fontosnak tartottam feltárni a pikkely-alak vizsgálatokban rejlő további lehetőségeket, valamint a variabilitás háttérében meghúzódó tényezőket.

1.2 Céltűzések

1. Magyarországon élő, halfajok pikkelyalakjának összehasonlítása, a fajok elkülöníthetőségének vizsgálata, valamint a pikkelyalakjuk alapján kialakuló csoportokba rendeződésük összehasonlítása a filogenetikai kapcsolataikkal. Elkülöníthetőek-e a halfajok pikkelyalakjuk alapján és van-e kapcsolat az egyes fajok pikkelyalakjának hasonlósága és a rokonsági kapcsolataik között?
2. Négy édesvízi halfaj (ezüstkárász *Carassius gibelio* BLOCH 1782, ponty *Cyprinus carpio* L. 1758, bodorka *Rutilus rutilus* L. 1758, sügér *Perca fluviatilis* L. 1758) populációinak pikkely-alak alapján történő elkülöníthetőségének vizsgálata. Alkalmas-e a pikkelyalak a halfajok populációinak elkülönítésére?
3. Laborkísérletben megvizsgáltam, hogy a pikkelyalakot befolyásolják-e a fajon belüli genetikai különbségek. Szerepet játszik-e a genetikai háttér a populációk pikkelyalakban tapasztalható különbségei között?
4. Laborkísérlet a táplálékellátottság, mint környezeti hatás pikkelyalakra gyakorolt hatásának vizsgálatára zebradánió (*Danio rerio* HAMILTON 1822). A környezeti különbségek megmutatkoznak-e a pikkelyalakban?
5. Az ivari dimorfizmus megjelenésének vizsgálata a pikkelyalakon zebradánió és ezüstkárász esetén. Megfigyelhető-e az ivari dimorfizmus a pikkelyalakban? Befolyásolja-e a mintában szereplő egyedek ivararánya a kapott eredményt?

6. Az egyedfejlődés pikkelyalakra gyakorolt hatásának vizsgálata ezüstkárászon. Tetten érhető-e az egyedfejlődés a pikkelyalakban? Befolyásolhatja-e a mintákban szereplő egyedek koreloszlása az eredményt?

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1 Pikkely-mintavétel, adatelemzés

A pikkelyeket minden esetben 1 csepp/literes koncentrációjú szegfűszegolajjal altatva vettem le az egyedekről. A pontyfélék (*Cyprinidae*) esetén – kivéve a gardát (*Pelecus cultratus* L. 1758) – a pikkelyek horizontálisan a hátúszó első úszósugarának vonalából, vertikálisan pedig a hátvonal és oldalvonal közötti felező területéről származnak, sügéralakúak (*Perciformes*) és garda esetén pedig a hossz tengellyel párhuzamosan beállított mellúszó vége által kijelölt területről. Minden pikkely az egyedek bal oldaláról került levételre, elkerülve ezzel az esetleges fluktuáló aszimmetria okozta eltéréseket. Az elemzésekbe minden esetben 1 egyedről 1 pikkely került bevonásra.

A pikkelyeket két tárgylemez közé ragasztottam. Az így preparált pikkelyeket felső megvilágítású (XPA feltét) szkennelvel (Hewlett Packard ScanJet 5300C), 2400 dpi felbontással szkenneltem.

Miután létrehoztam a file-t (ekkor még üresen, tehát LM=0), a tpsDig2 programban megnyitva vettem fel a 7 jól meghatározható mérőpontot. Az 1. és 3. mérőpontok a pikkely craniális szélén a ventrális és dorzális sarkába kerültek, a 2. mérőpont az 1. és 3. mérőpontok felezőjéhez került. A 4. és 6. mérőpontokat a szomszédos pikkelyek által fedett és szabadon álló terület határának ventrális és dorzális szélén vettem fel. Az 5. mérőpont a pikkelyek fókuszába került, míg

a 7. mérőpontot a pikkely caudális szélén a 4. és 6. mérőpont felezőjéhez helyeztem el.

A további elemzéseket a morphoJ programmal végeztem. Első lépésként teljes Prokrusztész-illesztést végeztem a mérőpont készleteken, ezáltal egymásra illesztve, méretezve és forgatva a mérőpontokat. Ezután az egyes egyedekhez hozzárendeltem a csoport azonosítóját, majd pedig egy többszörös lineáris regressziót végeztem (függő változók: Prokrusztész koordináták, független változó: a centroid méretek logaritmus). Minden regresszió eredményének megbízhatóságát permutációs teszttel (10 000 permutáció) vizsgáltam.

A további elemzéseket a regresszió reziduálisával (a méret által nem magyarázott rész) folytattam. A csoportok elkülönülésének vizsgálatára kanonikus variancia analízist (CVA) és diszkriminancia függvény-elemzést (DFA) végeztem.

2.2 Halfajok elkülöníthetőségének vizsgálata

A halfajok elkülöníthetőségének vizsgálatához 13 faj, fajonként 25 egyednek 1-1 pikkelyét vizsgáltam meg (bodorka, domolykó, ezüstkárász, garda, küsz, lápi póc, naphal, ponty, razbóra, sügér, süllő, vörösszárnyú keszeg, zebradánió). A halfajok taxonómiai helyzetével való összehasonlításhoz az NCBI génbankjából töltöttem le a 13 halfaj citokróm-oxidáz (COI) szekvenciáit. A szekvenciákat a ClustalW (ver. 2.1) programmal illesztettem (Multiple Sequence Alignment), majd hasonlósági mátrixot képeztem belőle. A genetikai távolságok alapján kapott távolság mátrixot a csoportok pikkelyalakjai közötti Prokrusztész-távolságokkal vettem össze Mantel-teszttel. Az elemzéseket a PAST v3.01 szoftverrel végeztem.

2.3 Halpopulációk elkülöníthetőségének vizsgálata

Megvizsgáltam, hogy a módszer alkalmas-e a hazai halfajok populációinak elkülönítésére, amihez 4 faj (ezüstkárász, ponty, bodorka, sügér) egyedeinek pikkelyeit használtam fel. Az ezüstkárászok a Balatonból, a Kis-Balaton I-es és II-es üteméről, valamint a Nagyberekéből származtak. A pontyok a Balatonból, a Kis-Balaton I-es és II-es üteméről, valamint a Hévízi-tóból származtak. A bodorkák a Balatonból, a Kis-Balaton I-es és II-es üteméről származtak. A sügerek a Ráckevei-Duna-ágból, a Szabolcsi Halászati Kft. kemecsei telepéről, valamint Vodňany, Lengyelországból származtak.

2.4 Genetikai különbségek hatása a pikkelyalakra

A pikkely-alak genetikai meghatározottságának vizsgálatához a zebradániót, mint modell fajt használtam. Az elemzéshez egy regisztrált vonal (AB vonal) és egy kereskedésekben kapható vonal (LF BASKA vonal) egyedeit használtuk fel. A halak azonos körülmények között lettek felnevelve 3 hónapos korukig egy recirkulációs rendszerben (Tecniplast) (vízhőmérséklet 25 ± 0.5 °C, pH: 7.4 ± 0.2 , vezetőképesség: 525 ± 50 μ S) 14/10 órás fény/sötét ciklusban, 30 egyed / 3,5 literes sűrűségben. Napi kétszeri etetés történt SDS Small Gran granulált táppal (Special Diets Services Limited International Dietex GB) és frissen kelt sórakkal (*Artemia sp. naupliuslárvai*) (SERA).

2.5 A környezeti különbségek hatása a pikkelyalakra

A környezeti hatás vizsgálatához is a zebradánió volt a legalkalmasabb, az előző bekezdésben ismertetett rendszerben tartva. Környezeti paraméternek a táplálék-ellátottságot választottam. Négy AB vonalba tartozó anyapár egyetlen szaporításából származó utódait osztottam 2-2 csoportba. Így 8 olyan csoportot

(N1-H1, N2-H2 stb.) kaptam, melyben páronként a genetikai különbség a lehető legkisebb volt. Minden N-es csoport a korának és fejlettségi stádiumának megfelelő minőségű és mennyiségű táplálékot (kontroll táplálás – napi kétszeri etetés), míg minden H-s csoport a létfenntartáshoz szükséges minimális mennyiségű táplálékot kapott (csökkentett táplálás – kétnaponta etetés). A csoportokat 3 hónapig tartottuk fent. 2 H csoport (H2, H3) egyedeit további 3 hónapig tartottuk kontroll táplálás mellett (ezeket új csoportokként bevonva az elemzésbe – REH2, REH3), annak kiderítésére, hogy a fiatalkori táplálékhiány megmutatkozik-e a későbbiekben is, vagy a megfelelő táplálék-ellátottság elfedi a kezdeti lemaradást (kompenzációs növekedés).

2.6 Az ivar hatása a pikkelyalakra

Az ivari dimorfizmus esetleges pikkelyalakban megmutatkozó formáját zebraadánió és ezüstkárászon vizsgáltam. A zebraadániókat (AB vonal) a korábbiakban már leírt, azonos körülmények között tartottuk, míg az ezüstkárászonok a Balatonból és a Kis-Balaton II. üteméről származtak.

2.7 A kor hatása a pikkelyalakra

A kor hatásának vizsgálatát ezüstkárász pikkelyeken végeztem el. A Kis-Balatonról származó egyedeket a pikkelyeik évgyűrűi alapján 0+-tól 6+-os korosztályig csoportokba soroltam.

3. EREDMÉNYEK

3.1 Halfajok elkülöníthetőségének vizsgálata

A fajok elkülöníthetőségének vizsgálata esetén szignifikáns allometrikus hatást találtam. A fajkon belüli alak-varianciát átlagosan 5,5%-ban magyarázta

a pikkely mérete ($p < 0,001$). A fajok két párosítást kivéve (ponty és ezüstkárász, bodorka és vörösszárnyú keszeg) valamennyi esetben szignifikánsan eltértek egymástól a Hotelling-féle t-próba alapján ($p < 0,001$). Hogy részleteiben is meg tudjam vizsgálni a nem szignifikánsan elkülönülő csoportok viszonyát, minden egyéb fajt kizárva (kűsz, zebradánió, naphal, garda, sügér, razbóra, süllő, domolykó, lápi póc) egy új CVA-t is elvégeztem. Bár a csoportok között itt is megfigyelhetők voltak átfedések, mégis ebben az esetben már szignifikánsan elkülönültek egymástól ezek a fajok is ($p < 0,05$), ami a módszer skálafüggésére utal. A genetikai és pikkelyalak alapján képzett távolságmátrixok összevetése során nem találtam szignifikáns kapcsolatot ($R = 0,178$; $p = 0,124$). A fajok mintázatában a legnagyobb különbséget az jelentette, hogy a kistestű pontyfélék (kűsz, razbóra, zebradánió) pikkelyalakjuk alapján igen közel kerültek egymáshoz. Így az elemzést elvégeztem e nélkül a három faj nélkül, így pedig már szignifikáns kapcsolatot találtam a pikkelyalak és a genetikai háttér között ($R = 0,354$; $p = 0,037$).

3.2 Halpopulációk elkülöníthetőségének vizsgálata

Ebben a vizsgálatban 4 halfaj (ezüstkárász, ponty, bodorka, sügér) populációinak elkülöníthetőségét teszteltem pikkely-alak alapján. A méret hatása az alakra minden esetben szignifikáns volt.

A 4 mintavételi területről származó ezüstkárászok pikkely-alak alapján 3 jól elkülöníthető csoportot alkotnak ($p < 0,001$). A két Kis-Balatoni minta nem mutatott szignifikáns elkülönülést ($p = 0,23$). Ponty esetén valamennyi mintavételi terület szignifikánsan elkülönült egymástól ($p < 0,001$). A Hévíz-tóban élő pontyok pikkely-alakja jelentősen eltér a környező vizekben élőkétől. Bodorka esetén mindhárom csoport szignifikánsan elkülönült egymástól, a csoportok közötti átfedések ellenére ($p < 0,01$). A három sügér populáció

szignifikánsan elkülönül egymástól pikkelyalakjuk alapján, a jelentős átfedések ellenére is ($p < 0,01$).

3.3 Genetikai különbségek hatása a pikkelyalakra

Ebben az esetben is a méret szignifikáns hatását tapasztaltam az alakra nézve ($p < 0,001$), melynek mértéke átlagosan 7,7% volt. A két csoport pikkelyalakja szignifikánsan különbözött egymástól ($T^2 = 115,24$; $p < 0,001$), a besorolási megbízhatóság azonban csak közepesnek mondható (besorolási megbízhatóság 81,3%, kereszt-validációs besorolási megbízhatóság: 78,79%).

3.4 A környezeti különbségek hatása a pikkelyalakra

A méret ebben az esetben is szignifikánsan befolyásolta a pikkely alakját ($p < 0,001$), átlagosan 24,27%-os mértékben. A csoportokon elvégzett CVA eredményei alapján egyetlen esetet kivéve (N1-REH2 összevetés), minden relációban szignifikáns különbséget kaptam a csoportok között. Elemezni azonban csupán azon csoportok közötti eltéréseket érdemes, ahol a két csoportot az azonos szülőktől származó egyedek alkották. Ebben az esetben minden összehasonlított csoport szignifikánsan eltér egymástól ($p < 0,001$). Az is megfigyelhető, hogy ahol sikerült továbbtetést is végezni (REH2 és REH3), ott mindkét esetben a normál- és a csökkentett etetési protokollal bíró csoportok között helyezkedett el az adott csoport. A besorolási megbízhatóságok magasnak mondhatók, az átlagos 97%-os megbízhatósággal.

3.5 Az ivar hatása a pikkelyalakra

Az ivari dimorfizmus esetleges pikkely-alakban megmutatkozó hatását zebraadánió és ezüstkárászon vizsgáltam.

A pikkely mérete zebraadánió esetén szignifikánsan befolyásolta az alakot ($p < 0,001$), 7,41 %-os mértékben. A két ivar pikkelyalak alapján szignifikánsan elkülönült egymástól ($T^2 = 35,02$; $p < 0,001$), azonban a besorolási megbízhatóság (68,75%) és a keresztvalidációs besorolási megbízhatóság (61,25%) értéke is olyan alacsony, hogy ezt az elkülönítést nem tekinthetjük kellően erősnek.

Ezüstkárász esetén, bár csak kis mértékben (3,69%), de szintén szignifikánsan ($p = 0,04$) befolyásolta a pikkely mérete a pikkely alakját. A két ivar elkülönítése nem hozott szignifikáns különbséget ($T^2=7,22$; $p=0,79$). A besorolási megbízhatóságok ennek megfelelően igencsak alacsony értékeket mutattak (68,18%), főleg ha figyelembe vesszük a kereszt-validáció besorolási megbízhatóságát is (48,48%). Ahogy a zebraadánió esetén, itt is csupán két csoport vett részt az elemzésben, így ez az érték véletlenszerű besorolásnak tekinthető.

3.6 A kor hatása a pikkelyalakra

Mint minden eddigi vizsgálat során, a pikkely mérete az alakját ebben az esetben is szignifikánsan befolyásolta ($p = 0,001$), a teljes alakvariancia 3,47%-áért volt felelős a méret. A csoportok két esetet kivéve (3+-5+ és 4+-5+) szignifikánsan eltértek egymástól 95%-os szignifikancia szint mellett. A besorolási megbízhatóságok magasnak bizonyultak, átlagosan (a nem szignifikánsan elkülönülő csoportok besorolási megbízhatóságait nem beleszámítva) 91,6%-nak adódtak.

3.7 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Elsőként találtam összefüggést édesvízi halfajok (bodorka, domolykó, naphal, süllő, sügér, lápi póc, ezüstkárász, vörösszárnú keszeg, garda, ponty) pikkely-alak alapján történő csoportosulása és a rendszertani elhelyezkedésük között.
2. Több, eddig még nem vizsgált halfaj esetén is bebizonyítottam, hogy a pikkelymorfometria mind faji (lápi póc, vörösszárnú keszeg, ezüstkárász, ponty, garda, naphal, sügér, süllő, kűsz, razbóra, zebradánió), mind populációs (ezüstkárász, ponty, sügér) szintű elkülönítésre alkalmas.
3. Laborkísérletben bizonyítottam, hogy a pikkelyalakban már a kismértékű, fajon belüli genetikai különbségek kimutatása is lehetséges.
4. Elsőként bizonyítottam laborkísérletben a környezeti hatások közül a táplálék mennyiségének pikkelyalak-módosító hatását, illetve, hogy a körülmények megváltozásával a pikkelyalak is jelentős módosuláson megy keresztül (regenerálódhat).
5. Megállapítottam, hogy pikkely-alak szintjén nem mutatható ki ivari dimorfizmus a zebradánió és az ezüstkárász esetén.
6. Ezüstkárász esetén bizonyítottam, hogy a pikkelyalakra jellemző az ontogenetikus változás, azaz az egyes korosztályok eltérő pikkelyalakkal rendelkeznek.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

4.1 A halfajok elkülöníthetőségének vizsgálatából levonható következtetések

Az eddigi legszélesebb taxonómiai spektrumot felölelő vizsgálatban bizonyítottam, hogy a pikkelyalak alkalmas a fajok elkülönítésére, még a közeli rokon, pontyfélék (Cyprinidae) családjába tartozó fajok esetén is. A fajok elrendeződése jórészt megegyezik a genetikai háttérük alapján történő besorolásuknak, néhány eltéréssel. Az egyik ilyen eltérés, hogy a kistestű pontyfélék (küsz, razbóra, zebradánió) közel kerülnek egymáshoz pikkelyalak alapján, annak ellenére, hogy genetikailag viszonylag távol állnak egymástól. Ennek oka lehet, hogy ezeknek a kistestű fajoknak dorzo-ventrális irányban sokkal szélesebb pikkelyei vannak, valamint hogy a pikkely-fókusz rendkívül közel esik a pikkely kraniális széléhez. Pikkelyalakjuk hasonlóságának oka lehet egyrészt a kis testméret, a bento-pelágikus életmód, valamint az omnivor táplálkozási mód.

Szintén eltér a rendszertani besorolástól a naphal és a garda pikkelyalak alapján történő rendeződése. Ez azért is furcsa, mert a két faj pikkely-típusa is különbözik, hiszen a gardának cycloid, míg a naphalnak ctenoid pikkelyei vannak. Ha közös pontot keresünk a két faj esetén, akkor azt találhatjuk, hogy mindkét faj kifejlett korban planktivornak/invertivornak mondható, illetve amellet, hogy a garda egész életét a nyíltvízi területen éli le, a naphal is ezeken a területeken található meg 15 mm-es méretig. A táplálékmenyiség lehetséges hatását vizsgáló kísérlet eredményei alapján (ahol a fiatalkori környezeti hatás a későbbiekben is kimutatható volt kompenzálódó táplálék-mennyiség mellett is), akár a fiatal korban megfigyelhető hasonló életmód és környezet is okozhatja ezt a hasonlóságot.

Az eredmények arra is rámutatnak, hogy a módszer erősen skálafüggő. Amennyiben sok csoport szerepel az ilyen típusú vizsgálatokban és a csoportok közötti alakkülönbségek nagyok, úgy az egymáshoz közel eső csoportok esetén a kis különbségeket már nem képes a módszer kimutatni, így ilyen esetekben érdemes lehet átgondolni az újracsoportosítást, illetve egyes csoportok kiemelését és külön elemzésbe vonását.

4.2 Halpopulációk elkülöníthetőségének vizsgálatából levonható következtetések

A vizsgálataimban szereplő fajok esetén elsőként mutattam ki különbségeket a populációk között és bizonyítottam a módszer alkalmazhatóságát. Ezüstkárász esetén a két kis-balatoni állomány nem különült el egymástól szignifikánsan, ami a várakozásaimnak megfelelő, hiszen a két terület egymással közvetlen kapcsolatban áll és a környezeti feltételek többé-kevésbé azonosak. Igaz ugyan, hogy az átjárhatóság megléte a Kis-Balaton és a Balaton esetében is elmondható, a két vízterület között a környezeti paraméterek azonban jelentősen eltérnek. Mivel az ezüstkárász táplálkozása jórészt bentikus, az élőhelyének trofitása jelentősen befolyásolhatja pl. a kondícióját, ezáltal az, hogy a Kis-Balaton és a Nagyberék eutrófnak, míg a Balaton inkább mezooligotrófnak mondható, jelentősen befolyásolhatja a pikkelyalakot is. Ponty esetén a leginkább eltérő pikkelyalakkal rendelkező állomány a Hévízi-tóban élő pontyokat jellemezte, aminek több oka is lehet. Egyrészt az ott élő pontyok extrém környezeti körülmények között töltik életüket, hiszen a többi vízterület tipikus átlagos éves víz hőmérsékletéhez (11-12 °C) képest a Hévízi-tóban az átlagos víz hőmérséklet télen 22°C, míg nyáron 38°C. Mindez megjelenik a Hévízi-tavi pontyok törpenövésében is, ami nagy valószínűséggel a tóban található extrém környezeti viszonyoknak köszönhető. Az élőhely természetesen

nem csupán a magas hőmérséklet által befolyásolja az ott élő pontyok életkörülményeit, közvetett módon a szaporodási ciklust, a növekedést, a betegségekre való fogékonyságot, vagy a táplálékbázist is befolyásolja ez az extrém környezet. Másrészt előzetes genetikai vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a Hévízi-tóban élő pontyok genetikailag is teljesen elkülönülnek a környező vizekben élő társaiktól, ami szintén befolyásolhatja a pikkelyalakban tapasztalható jelentős eltéréseket. Bodorka esetén az egyes csoportok elkülönítésének megbízhatósága lényegesen elmarad az ezüstkárász és a ponty esetén tapasztaltakéhoz képest, ami az egyes csoportokon belüli pikkely-alakban tapasztalható nagy szórásnak köszönhető. Mivel a három vízterület egymással közvetlen kapcsolatban van, így a populációk közti diszperzióval fenntartható a genetikai keveredés is. Meg kell még említenünk, hogy a bodorka kifejezetten kötődik a parti sávhoz, a balatoni nádasok legállandóbb és domináns faja, így a Kis-Balaton és a Balaton közötti eltérő környezeti tényezőket a mikrohabitathoz való erős kötődés elfedheti. Sügér esetén a csoportok közti különbség mértéke elmarad a korábban tapasztaltakétól, annak ellenére, hogy a korábbiaktól eltérően ebben az esetben igen nagy földrajzi távolságokra található állományok összehasonlításáról volt szó. Azonban ha figyelembe vesszük, hogy a Szabolcsi Halászati Kft. kemecsei telepén tartott állomány nem tekinthető természetes vízi állománynak (hiszen itt a külső tavakban tartott állomány esetén takarmányozás is folyt), illetve, hogy a Lengyelországból származó állomány is legalább egy szezonnal korábban szintén Kemecsére került, akkor a kis különbségek már nem tűnnek megmagyarázhatatlannak. Bár a sügér pikkelyalakját korábban nem vizsgálták, szintén magyarázatot adhat a nagy földrajzi távolság ellenére megtalálható kis különbségekre, hogy a sügér nagymértékű fenotípusos plaszticitással jellemezhető, sőt a környezeti hatásokra fellépő fenotípusos plaszticitás igen rövid időn belül (4 hét) akár vissza is fordítható.

4.3 A genetikai hatás pikkelyalakra gyakorolt hatásának vizsgálatából levonható következtetések

Zebradánión végzett vizsgálatom bizonyította, hogy a genetikai különbségek tetten érhetőek a pikkely-alakban is. Az eredményeim alátámasztják, hogy a pikkely-alak intraspecifikus változatossága erős genetikai meghatározottság alatt áll, valamint, hogy a genetikailag izolált természetesvízi populációk pikkely-alakja is eltérő lehet, amit a Hévízi-tavi pontyok esetén is láthattunk.

4.4 A környezeti különbségek pikkelyalakra gyakorolt hatásának vizsgálatából levonható következtetések

Ebben a vizsgálatban sikerült bizonyítanom, hogy a táplálék mennyisége, ami az egyik legfontosabb környezeti faktor a természetes halpopulációkat tekintve, szintén befolyásolja a pikkely alakját. Zebradánió esetén a pikkelyek a kevés táplálék hatására fej-farki irányban lapítottak lettek, ami a megfelelő mennyiségű táplálék visszaállítása után sem tudott teljes mértékben kompenzálódni. A halak test-alakjára a potenciális környezeti paraméterek közül a hőmérséklet és a táplálék hatása a legjobban vizsgáltak. A táplálék összetétele és mennyisége természetesen befolyásolja a kondíciót és a zsírraktárak teltségét halaknál, ami szintén hatással van a test alakjára. A hal kondíciója azonban dinamikusan változik élete folyamán, nem csupán a rendelkezésre álló táplálék, hanem az egyedi táplálkozási stratégia, a betegségek, az ontogenetikus fejlődés hatására, sőt még szezonálisan is, a reprodukciós és telelési ciklusnak megfelelően. Ezek a tanulmányok éppen azokon a testtájakon mutattak ki erős különbségeket, amelyek összefüggésben vannak a kondícióval és a zsír metabolizmussal, mint a testmagasság és a legnagyobb zsírraktárakkal rendelkező farki és törzsi régiók. Ezért azok a testalak-paraméterek, amiket a hal

kondíciója befolyásol, csak bizonyos megkötések mellett alkalmazhatóak intraspecifikus állomány-elkülönítésekre. Összehasonlítva a teljes test vizsgálatokkal, a pikkelyalak vizsgálatok feltehetően kevésbé érzékenyek a rövid távú környezeti hatásokra és a pillanatnyi folyamatokra, valamint kevésbé függenek a hal kondicionális állapotától. Eredményeim azt mutatták, hogy bár a pikkely alakja szintén visszaáll a kompenzációs növekedés (azaz a normalizálódó táplálkozási körülmények) alatt, ez a folyamat sokkal lassabb és feltehetően nem olyan teljes, mint a kondícióval összefüggő testparaméterek esetén. A genetikai különbségek hatásának vizsgálati eredményei valamint a környezeti különbségek hatásának vizsgálati eredményei rámutatnak, hogy az intraspecifikus pikkelyalak-változékonyság a genetikai különbségek és a környezeti hatások interakciójából származik, és a fenotípusos plaszticitást tükrözi

4.5 Az ivar pikkelyalakra gyakorolt hatásának vizsgálatából levonható következtetések

Az ivari dimorfizmus sok esetben jellemző a halakra. Zebradánió esetén, ahol az egyedek szexálása egy rutinos szakember számára nem okoz gondot, a két ivar pikkely-alak alapján szignifikánsan elkülöníthető volt egymástól. Ez a különbség azonban olyan mértékű, hogy nem tekinthető megbízható vizsgálati módszernek. Ezüstkárász esetén, ahol a testalakban sem tapasztalható ivari dimorfizmus, a pikkely alakjában sem volt kimutatható a két ivar közötti különbség. Ez azt mutatja, hogy a pikkely-morfometriai vizsgálatok nem alkalmazhatóak általánosan a két ivar elkülönítésére halakon.

4.6 A kor pikkelyalakra gyakorolt hatásának vizsgálatából levonható következtetések

A kor hatásának vizsgálati eredményei alátámasztják azt a megfigyelést, hogy bár a pikkelyek már igen hamar megjelenhetnek az egyes fajok lárváin, azonban a fajra jellemző pikkely-alak eléréséhez évekre van szükség. Ezüstkárász esetén ez a fajra jellemző alak a 3+-os kor elérésekor alakul ki. Elmondható tehát, hogy a pikkelyalak esetén megfigyelhető egyfajta ontogenetikus fejlődés. Ez a megfigyelés azért is fontos, mert amennyiben különböző korosztályú csoportokat hasonlítunk össze (nagyon fiatal csoport és adult csoport), akkor a csoportok koreloszlása önmagában okozhat szignifikáns elkülönülést a pikkelyalakok alapján, mindenféle környezeti vagy genetikai különbség nélkül.

4.7 Általános következtetések

Mivel ezzel a módszerrel megfelelő biztonsággal sorolhatóak be az egyes fajok, ezért régészeti feltárások során előkerülő pikkely-minták, illetve halevő ragadozók (pl. vidra *Lutra lutra* L. 1758, kárókatona *Phalacrocorax sp.*) táplálékvizsgálatakor is érdemes lenne alkalmazni a módszert. Vizsgálataimból kiderült, hogy a pikkely-morfometriai vizsgálatok ugyanazokkal a korlátokkal szembesülnek, mint a széles körben alkalmazott test-alak vizsgálatok, mégpedig hogy mind a genetikai háttér, mind pedig a környezeti tényezők befolyásolják az eredményeket. Pusztán a morfometriai elemzés alapján nem lehet elkülöníteni, hogy a különbségeket mekkora arányban okozzák a genetikai különbségek és mekkorában a környezeti hatás, bár vannak olyan esetek, amikor feltételezhető, hogy a genetikai és a környezeti hatások valamilyen módon rendeződnek a vizsgálat során. Ennek ellenére a módszer mégis számos előnnyel rendelkezik a széles körben elterjedt teljes testalak vizsgálatokkal szemben:

1. A pikkely-mintavétel lényegesen kisebb stresszt okoz a halnak, mint a teljes test vizsgálat, ezért kimondottan ajánlott védett vagy veszélyeztetett fajok vizsgálata esetén.
2. Lényegesen könnyebben kivitelezhető, mint a teljes test vizsgálat, ezért sokkal idő- és költséghatékonyabb, hiszen nagyon sok esetben a pikkely-mintavétel és preparáció egyéb populáció-dinamikai vizsgálatok miatt egyébként is megtörténik.
3. Kevésbé függ az egyedek aktuális kondíciós állapotától, ezért sokkal inkább alkalmas a hosszabb távú környezeti hatások, illetve genetikai elkülönülések vizsgálatára.
4. A pikkely gyűrűs szerkezetének köszönhetően egy részletes pikkelyvizsgálattal nyomon követhetőek az adott állományt érő környezeti változások.

4.8 Javaslatok

- Érdemes lenne megvizsgálni, hogy a pikkely-morfometriai vizsgálatok ismételhetőség illetve megbízhatóság szempontjából hogyan illeszkednek a többi morfometriai módszer közé.
- Vizsgálataimból látható, hogy a pikkelyalak, más fenotípusos jellemzőkhöz hasonlóan, mind a genetikai háttér, mind pedig a környezeti hatások befolyása alatt áll. Azt azonban vizsgálataim nem tudták feltárni, hogy ezek milyen arányban jelennek meg, illetve hogy van-e lehetőség a két tényező szétválasztására. Az ezüstkárász- és a bodorka-populációk elkülönítése esetén láthattunk erre utaló jeleket.
- Ehhez kapcsolódóan érdemes lenne megvizsgálni, hogy intraspecifikus vizsgálat esetén a genetikai távolságok és a pikkelyalak alapján kialakuló távolságok között van-e kapcsolat.

- Az ezüstkárász esetén nem találtam különbséget a két ivar pikkelyalakja között. Zeradánió esetén az elkülönülés szignifikáns volt ugyan, azonban a besorolási megbízhatóságok alapján az elkülönítés nem volt kellőképpen robosztus. Mindenképpen fontosnak tartanám további halfajok esetén megvizsgálni ezt a kérdést.
- Pikkely-morfometriai vizsgálatok esetén feltétlenül figyelni kell a mintákban szereplő egyedek koreloszlására. Esetlegesen érdemes kiegészíteni kor-becsléssel is a pikkelyalak vizsgálatot, vagy kizárni azon egyedeket, amelyek nem érik el a megfelelő testméretet.
- Mivel a pikkelyek gyűrűs szerkezete konzerválja a hal egyéni életútját, ezért a pikkely-gyűrűk részletes elemzése kiváló lehetőséget nyújthat feltárni a környezeti hatások változásait és az egyedi élettörténeteket mind a halállományokon belül és halállományok között.
- A környezeti tényezők közül a különböző anyagok toxikológiai hatásának kimutatása fontos szerepet játszik a kutatásokban. Ezért fontos lenne megvizsgálni, hogy a pikkely-morfometriai módszerek beépíthetőek-e a toxikológiai tesztek rendszerébe.

Az értekezés témakörében megjelent közlemények

Tudományos közlemények folyóiratban

Á. STASZNY, E. HAVAS, R. KOVÁCS, B. URBÁNYI, G. PAULOVITS, D. BENCSIK, Á. FERINCZ, T. MÜLLER, A. SPECZIÁR, K. BAKOS, ZS. CSENKI (2013): Impact of environmental and genetic factors on the scale shape of zebrafish *Danio rerio* (Hamilton 1822): a geometric morphometric study, *Acta Biologica Hungarica* 64(4):462-475.

Á. STASZNY, Á. FERINCZ, A. WEIPERTH E. HAVAS, B. URBÁNYI, G. PAULOVITS (2012): Scale-morphometry study to discriminate gibel carp (*Carassius gibelio* BLOCH 1782) populations in the Balaton-catchment (Hungary), *Acta zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 12/2012; 58(Suppl.):19-27.

STASZNY, Á., FERINCZ, Á., WEIPERTH, A., HAVAS, E., PAULOVITS, G., URBÁNYI, B. (2009): Pikkely-morfometriai vizsgálatok fajok illetve populációk elkülönítésére, *Állattani Közlemények*, 94 (2), 159-166.

Konferencia kiadványban megjelent közlemények

STASZNY, Á., FERINCZ, Á., WEIPERTH, A., URBÁNYI, B., PAULOVITS, G. (2010): Pikkely-morfometriai vizsgálatok ezüstkárászon, *Hidrológiai Közlöny*, 90 (6), p. 134-135.

STASZNY Á., WEIPERTH A., FERINCZ Á., URBÁNYI B., PAULOVITS G. (2009): Halpopulációk összehasonlításának új módszerei. *Hidrológiai Közlöny*. 89. 6. 172 - 174.

Az értekezés témaköréhez nem kapcsolódó publikációk

Tudományos közlemények referált folyóiratban

K. BAKOS, R. KOVÁCS, **Á. STASZNY**, D. KÁNAINÉ SIPOS, B. URBÁNYI, F. MÜLLER, ZS. CSENKI, B. KOVÁCS (2013): Developmental toxicity and estrogenic potency of zearalenone in zebrafish (*Danio rerio*), *Aquatic toxicology* 136-137:13-21

FERINCZ, **Á.**, **STASZNY, Á.**, ÁCS, A., WEIPERTH, A., TÁTRAI, I., PAULOVITS, G. (2012): Long-term development of fish assemblage in Lake Fenéki (Kis-Balaton Water Protection System, Hungary): succession, invasion and stabilization, *Acta zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 12/2012; 58((Suppl.)):3-18

Magyar nyelvű könyvrészlet

STASZNY ÁDÁM, URBÁNYI BÉLA (2011) A harcsa természetes vízi és horgászati jelentősége. In. A harcsa (*Silurus glanis*) biológiája és tenyésztése. Szent István Egyetemi Kiadó, Gödöllő (Szerkesztők: Horváth László, Urbányi Béla és Horváth Ákos) pp. 77-82 .

Konferencia kiadványban, összefoglalóként megjelent közlemények

FERINCZ, **Á.**, **STASZNY, Á.**, ÁCS, A, KOVÁTS, N., PAULOVITS, G. (2013): Non-indigenous fish species of the Balaton-catchment (Hungary): finding the rules in the distribution patterns, 32nd Congress of the International Society of Limnology, Budapest, Hungary, 4-9. August 2013.

FERINCZ, Á., STASZNY, Á., WEIPERTH, A., ÁCS, A., KOVÁTS, N., PAULOVITS, G. (2013): Long-term development of fish assemblages in Lake Fenéki (Kis-Balaton Water Protection System, Hungary): invasion, succession and stabilization, 3rd Fresh Blood for Freshwater, Lunz am See, Ausztria, 2013 február 27-március 1.

FERINCZ, A., STASZNY, A., ACS, A., KOVATS, N., PAULOVITS, G. (2013): Status and risk assessment of non-indigenous fish species in the Balaton catchment, Quality and sustainable use of water resources in Lake Garda and in other large water bodies in Europe: experiences within the project EULAKES, Gardone Riviera, Brescia, Italy, 30th May 2013.

STASZNY, Á., FERINCZ, Á., MÜLLER, T., SPECZIÁR, A., URBÁNYI, B., PAULOVITS, G., CSENKI, ZS. (2012): Usability of scale-morphometric methods for population biology studies of protected species, 2012, május 30, Vila Nova De Cerveira Portugália, ECF2012

FERINCZ, Á., STASZNY, Á., KOVÁTS, N., WEIPERTH, A., TÁTRAI, I., PAULOVITS, G. (2012): Long-term changes in the fish assemblage structure and diversity of a shallow eutrophic reservoir (Lake Hídvégi, Hungary), 2012, május 30, Vila Nova De Cerveira Portugália, ECF2012

STASZNY, Á., FERINCZ, Á., WEIPERTH, A., HAVAS, E., PAULOVITS, G., URBÁNYI, B. (2012): Possible method to discriminate fish species and populations based on scales: investigations on common carp (*Cyprinus carpio* L. 1758) and gibel carp (*Carassius gibelio*, Bloch 1782), EuLakes Országos Konferencia, 2012.03.09, Veszprém

FERINCZ, Á., STASZNY, Á., ÁCS, A., WEIPERTH, A., TÁTRAI, I., PAULOVITS, G. (2012): Long – term development of fish fauna in Lake Fenéki

(Kis-Balaton Water Protection System, Hungary): succession, invasion and stabilization, EuLakes Országos Konferencia, 2012.03.09, Veszprém

FERINCZ, Á., KOVÁTS, N., **STASZNY, Á.**, WEIPERTH, A., PAULOVITS, G. (2011): Long-term changes in the fish assemblage structure and diversity of Lake-Hídvégi (Kis-Balaton Waterquality Protection System, Hungary), 1st International Conference on Fish Diversity of Carpathians, Stara Lesna, 21-25 September 2011.

FERINCZ, Á., **STASZNY, Á.**, WEIPERTH, A., PAULOVITS, G. (2011): Biological invasion of Prussian carp (*Carassius gibelio* BLOCH): Magnitude and effect on fish fauna of Kis-Balaton Water Protection System, VII. Kárpát-Medencei Környezettudományi Konferencia, Kolozsvár, 24-27 March 2011.

STASZNY, Á., HAVAS, E., KOVÁCS, R., URBÁNYI, B., PAULOVITS, G., BENCSIK, D., MÜLLER, T., CSENKI, ZS. (2010): Analysis of Zebrafish (*Danio rerio*) Scale Morphometry. II. FBFW, Lunz am See, 02-04. July 2010.

FERINCZ, Á., **STASZNY, Á.**, WEIPERTH, A., PAULOVITS, G. (2010): Comparism of four Prussian carp (*Carassius gibelio*) populations in the Balaton-catchment (Hungary). II. FBFW, Lunz am See, 02-04. July 2010.