

Diplomamunka

Morfometriai vizsgálatok balatoni sügereken (*Perca fluviatilis*)

Morphometric studies on European perch (Perca fluviatilis)

Pallos Réka

Állatorvostudományi Egyetem,

Zoológiai Tanszék,

Biológus MSc II.



Témavezetők:

Dr. Takács Péter, tudományos főmunkatárs, HUN-REN Balatoni Limnológiai Kutatóintézet

és

Dr. Szűts Tamás, tudományos főmunkatárs, Állatorvostudományi Egyetem, Zoológiai
Tanszék

**HUN
REN**



**Balatoni
Limnológiai
Kutatóintézet**

Tartalomjegyzék

| | |
|---|----|
| Absztrakt | 4 |
| Abstract | 5 |
| Rövidítések jegyzéke | 6 |
| I. Bevezetés | 7 |
| <i>I.1. Morfológia</i> | 7 |
| <i>I.2. Morfometria</i> | 8 |
| <i>I.3. Tartósítás szerepe</i> | 10 |
| II. Célkitűzések | 12 |
| III. Anyag és Módszer | 13 |
| <i>III.1. A mintavételi helyszínek</i> | 13 |
| <i>III.2. A vizsgált faj</i> | 14 |
| <i>III.3. Gyűjtés menete</i> | 15 |
| <i>III.4. Az adatfelvétel módszere</i> | 16 |
| <i>III.5. Tartósítás hatásának vizsgálata</i> | 18 |
| <i>III.6. Preparálás hatásának vizsgálata</i> | 19 |
| <i>III.7. Statisztikai elemzés</i> | 19 |
| IV. Eredmények | 21 |
| <i>IV.1. Összesített eredmények a tapasztalat hatásának vizsgálatáról</i> | 21 |
| <i>IV.2. Tapasztalat hatása az eredményekre</i> | 23 |
| <i>IV.3. Mérések megbízhatóságának vizsgálata</i> | 25 |
| <i>IV.4. Populációk elkülöníthetősége</i> | 26 |
| <i>IV.5. Formalinban való tartósítás hatása</i> | 27 |
| <i>IV.5.1. Tartósítás hatásának összefoglalása a 8 hónap alatt</i> | 27 |
| <i>IV.5.2. A testhossz és -magasság tartósítás miatti változásának vizsgálata</i> | 28 |
| <i>IV.5.3. Tartósítás során változó testméretek</i> | 28 |
| <i>IV.6. A kitűzés módjának hatása</i> | 31 |
| V. Diskusszió | 33 |
| VI. Irodalomjegyzék | 38 |
| VII. Köszönetnyilvánítás | 42 |
| VIII. Nyilatkozatok | 43 |

Absztrakt

A nehezen definiálható testalakot matematikai módszerekkel leíró morfometriai eljárásokat széles körben használják a biológia területén is. Egyebek között a morfometriát a halbiológiában is alkalmazzák, például egyes fajok jellemzésére, illetve halállományok elkülönítésére is. Vizsgálatunk kapcsolódik egy nagyobb léptékű feltáró vizsgálatához. Aminek eredeti célja a Balatonban élő európai sügér állomány (*Perca fluviatilis*) genetikai, morfológiai és morfometriai jellegeinek alapján a faj populációs szerkezetének feltárása. Az előzetes elemzések alapján azonban úgy tűnik, hogy a mérő személye, gyakorlottsága, szakmai tapasztalata jelentős hatással lehet a morfometriai elemzések eredményeire. Így a vizsgálatunk első fókuszja ezen metodológiai probléma feltérképezése lett. Jelen vizsgálatunkban annak igyekszünk utánajárni, hogy a különböző tapasztalattal rendelkező személyek által elvégzett morfometriai mérések eredményei mennyire lesznek eltérőek. A mérések többszöri ismétlésével az egyes mérők tanulási folyamatát, tapasztalatszerzését is vizsgáltuk. Az adatokat hat, a morfometriai mérések terén különböző mértékű tapasztalattal rendelkező mérő személy szolgáltatva. A vizsgálatokat három állományból származó 80 halegyedről készült fényképeken végeztük el hagyományos, távolság-alapú morfometriai módszerrel. A mérők összesen 21 morfometriai változót rögzítettek minden fotón, háromszori ismétléssel. Az előzetes eredmények szerint a vizsgálatban résztvevők eredményei egymástól szignifikánsan eltérnek, és a mérések megbízhatóságát (az adatsorok szórását) is jelentősen befolyásolja, a mérést végző személy gyakorlottsága, tapasztalata. Ugyanakkor a különböző mérők adatsorainak elemzése, a legtöbb esetben a vizsgált három populáció hasonló elkülönülés-mintázatát mutatta. Tehát az alkalmazott módszert még a kevésbé tapasztalt mérők is használhatják állományok elkülönítésére. Viszont különböző mérők adatsorainak összevetésekor mindenképpen figyelembe kell venni, hogy a hagyományos morfometriai vizsgálatok eredményeire a mérő személye alapvető befolyással van. Továbbá a mérési hibák más lehetséges okozóit, a tartósítást, illetve az egyedek kitérésének módját is megvizsgálva, úgy tűnik, mindkettő jelentősen befolyásolja az eredményeket.

Abstract

Morphometric studies on European perch (*Perca fluviatilis*)

Morphometric methods that describe hard-to-define body shapes using mathematical methods are also widely used in biology. Among others, morphometrics is also used in fish biology, for example to characterise certain species or to separate fish stocks. The original objective of our study was to investigate the population structure of the European perch (*Perca fluviatilis*) stock in Lake Balaton based on morphological and morphometric characteristics. However, based on preliminary analyses, it appears that the person's experience may have a significant influence on the results. Thus, the first focus of our study was to explore this methodological problem. Therefore, this methodical study's aim is to examine how the results of morphometric measurements taken by measurers with different levels of experience will differ. By repeating the measurements several times, we also investigated the learning process and experience acquisition of each measuring person. The data were provided by six measurers with varying degrees of experience in morphometric measurements. The analyses were carried out on photographs of 80 perch from three populations using traditional distance-based morphometric method. In total, 21 morphometric variables were recorded on each photo by the measurers. These series of measurements were repeated three times. Preliminary results show that the results of the participants differ significantly from each other, and that the reliability of the measurements (the standard deviation of the data series) is significantly influenced by the experience and skill of the person taking the measurements. However, analysis of the data series from the different persons showed similar patterns of separation in most of the studied three populations. It seems that the method can be used to isolate populations even by less experienced measurers. However, when comparing the data sets of different measurers, it is important to keep in mind that the results of traditional morphometric tests are fundamentally influenced by the measuring person. Furthermore, we examined other possible causes of measurement error like preservation and the way the individuals are pinned, and they both seem to have a significant impact on the results.

Rövidítések jegyzéke

| | |
|-----|---|
| PRO | preorbital distance; preorbitális távolság |
| LC | head length; fejhossz |
| SL | standard length; standard hosszúság |
| HP | height of pectoral fin; mellúszó magassága |
| LV | length of the first pelvic fin ray; az első hasúszó-sugár hossza |
| PD1 | first predorsal distance; első predorzális távolság |
| PD2 | second predorsal distance; második hátúszó predorzális távolság |
| H | height of the fish; a hal magassága |
| HD1 | height of first dorsal fin ray; az első hátúszó sugár magassága |
| HD2 | height of second dorsal fin ray; a második hátúszó sugár magassága |
| LD1 | length of first dorsal fin ray; az első hátúszó-sugár hossza |
| LD2 | length of second dorsal fin ray; a második hátúszó-sugár hossza |
| LP | length of the first pectoral fin ray; az első mellúszó sugarának hossza |
| HV | height of ventral fin ray; a hasi uszony sugarának magassága |
| HA | height of the anal fin ray; a farok alatti úszó sugarának magassága |
| LA | length of the anal fin ray; a farok alatti úszó sugarának hossza |
| LPC | length of the end of the anal fin ray and the lower caudal fin ray; a farok alatti úszó végének és az alsó farokúszó sugarának hossza |
| h | height of fin; a faroknyél magassága |
| HF | distance between the upper and lower origins of the caudal fin rays; a farokúszó sugarainak felső és alsó kiindulópontja közötti távolság |
| OH | eye width; szemszélesség |
| PA | preanal distance; preanális távolság |

I. Bevezetés

I.1. Morfológia

„Alak ily értelemben az egység elve, a dolgok mivoltának megnyilatkozása, a formált anyag.” – Pallas Nagylexikon. Az alak, vagy morfológia nem csak a természettudományokban jelentős, hanem a hétköznapi életben vagy például a művészetekben is alapvető, meghatározó fogalom. A nyelvészetben a morfológia definíciója a szavak formáját, szerkezetét és más szavakkal való kapcsolatukat, tehát a nyelv és kommunikáció alapját jelenti. Nem meglepő tehát, hogy a biológiai tudományokban is számos kutatás alapvető részét képezi [1]. A morfológia, biológiai értelemben, magába foglalja az alakot, a különböző struktúrák elrendeződését, a színezetet és mintázatot, tehát minden külsőleg megfigyelhető tulajdonságot. Charles Darwin és Carl von Linné, az evolúció és taxonómia alapjait lefektető kutatók is felismerték az alak objektív leírásának jelentőségét. Az evolúciós folyamatok megértéséhez és az élőlények rendszertanának kidolgozásához ugyanis a morfológia, mint akkor egyetlen akármilyen élőlényen megfigyelhető jelleg, elengedhetetlen volt [2,3].

A vizsgált organizmus azonosítása nem kizárólag a külső jellemzők alapján történhet, ám bár sok esetben ez a legegyszerűbb és a legcélravezetőbb kiindulópont. Végül soron a molekuláris vizsgálatok mintái is morfológiai alapokra támaszkodnak, mivel ezeket morfológiai módszerekkel meghatározott példányokból gyűjtik [4]. A természettudományok közül nemcsak a biológia, de számos más tudományterület, mint az orvostan, a fizika, a kémia vagy a földrajz is használja a morfológiát, csak más értelemben. Az alakok matematikai tanulmányozása és jellemzése pedig egyenesen egy külön tudományág, a geometria.

Míg a morfológia leginkább leíró jellegű, addig a morfometria, mely magába foglalja a morfológiát és geometriát, alkalmas a méretek és arányok változásának számszerű detektálására, analizálására. A XX. század elején ez a leíró tudományág kvantitatív tudományággá kezdett fejlődni [5]. A század közepére a statisztikai elemzések is számottevő részét képezték a morfológiai kutatásoknak, amelyekkel az alakváltozások jobban definiálhatóvá, objektívabbá és összehasonlíthatóbbá válhattak. A számítógépek megjelenése és a digitalizáció kora, pedig még inkább fellendítette a morfometriai vizsgálatok módszertani fejlődését [6] a számolási kapacitás jelentős megnövelésével és a szemléltető eszközök palettájának hirtelen „radiációjával”.

1.2. Morfometria

De mi is ez a morfometria, amivel „számokba önthetjük” azt, amit szavakba is nehéz? Az élőlények külső kinézete, alakja rengeteg információt szolgáltat a környezetéről, a vele kapcsolatban álló más szervezetek, illetve a kutatók számára is. A morfometria, az alak kvantitatív vizsgálata, mint tudomány nemcsak az egyes szervezetek alakjának, hanem akár különálló struktúrák összehasonlítására is alkalmazható. Nem meglepő tehát, hogy a formák és méretek változatosságának mennyiségi kifejezésére tett kísérletek viszonylag régre nyúlnak vissza a biológiában. A múlt században, a hetvenes évek környékén jelent meg egy új, már többváltozós morfometriát középpontba helyező könyv, melynek szerzői Blackith és Reyment voltak [7, 8]. A könyvben szinte kizárólag biológiai problémák megközelítésére helyezték a hangsúlyt, mellyel sok kutatási kérdés megválaszolásához segítették hozzá az olvasókat [8]. Ezt követően más tudományágak, mint az antropológia, paleontológia, geomorfológia, orvostudomány, sőt még a kriminológia területén is alkalmazni kezdték az eljárásokat [9]. Azonban a biológiában a módszert a morfológiai mérések kvantifikálására, illetve a mintákon belüli és a minták közötti eltérések értékelésére alkalmazzák. Ezzel párhuzamosan, folyamatosan fejlődött a statisztika is, melynek köszönhetően az ilyen típusú adatok elemzésének kifinomultsága is egyre előrehaladottabbá vált. Ez vezetett a többváltozós morfometriához, amelyben már a kanonikus varianciaelemzés, diszkriminancia-analízisek (DFA) és a főkomponens elemzések alapvető analízis módszerekké váltak [6]. Az egyik sokszor alkalmazott újabb módszer a geometriai morfometria, mely a testen kijelölt pontok koordinátái (landmark) közötti geometriai elemzésén alapul. Egy másik módszer a formák elemzése helyett a méretekre fókuszál. A diplomamunkám alatt végzett kutatás során ezt a módszert, vagyis a klasszikus távolságalapú morfometriát igyekeztem elsajátítani, amely meghatározott pontok közötti lineáris távolságok mérésén alapszik. A mérések általában a struktúrák hosszát és szélességét, valamint a kijelölt pontok közötti távolságokat foglalják magukba [10]. Ezek a mérhető távolságok lesznek a változók, melyeket az organizmuson vizsgálunk. Ezt az eljárást gyakran alkalmazzák az ichtiológiában is különböző halfajok közötti, tehát interspecifikus, illetve intraspecifikus, ezen belül akár populációk elkülönítésére [11]. A vizsgálatok során a célunk jellemzően két vagy több csoportba sorolt példány alakjának összehasonlítása, például környezeti tényezőkre adott reakció vizsgálatokor. Az erre szolgáló módszerek nagy számosságát foglalja magába a morfometria [12].

Azonban a változók mérése sok esetben emberi hibával terhelt, s mivel ez képezi a morfometriai kutatások alapjait, érdemes megvizsgálni, hogy az emberi tényezők közül a tapasztalat

menyire befolyásolja az adatgyűjtést. A szubjektivitás azt jelenti, hogy ugyanabból a forrásból kiindulva más-más személyek eltérő eredményre jutnak. A tudományban az objektivitás az elsődleges, hiszen mindennek megismételhetőnek kell lennie. Az előre kidolgozott protokollok ellenére mégis számos esetben figyelhetőek meg jelentős eltérések a mért eredményekben. A legtöbb morfometriai mérési módszerben úgy tűnik közrejátszik a szubjektivitás, ami károsan befolyásolja a mérések objektív elemzését. Szakirodalmi adatok alapján kiderült, hogy a hagyományos távolság alapú morfometriában ez az érték igen magas lehet [13].

A nagyfelbontású digitális fényképeken történő szoftveres mérésekkel a morfometriai mérések folyamata gyorsítható, pontosságuk növelhető, ezáltal a szubjektivitás hatása is jobban csökkenhet. A mérések pontosságát az ismételt mérések sorozatba rendelt elemzéséből, a random szórás figyelembevételével tudhatjuk meg. Minél kisebb a szórás annál hasonlóbba az ismételt mérések eredményei, vagyis az objektivitás teljesül [14].

A jellegek mérésének pontatlansága vagy eltérése több más forrásból is származhat. A mérési torzításokat általában hibás mérőeszközök, vagy nem megfelelő szoftver használat, illetve maguk az eljárások is okozhatják [15]. Szintén nagyban alakíthatja az eredményeket, hogy a mérendő struktúrák mennyire jól definiáltak és a már említett mérést végző hatása is. Azonban a szubjektivitás mellett az is fontos befolyásoló tényező lehet, hogy a mérést végzőnek mekkora tapasztalata van a morfometriában. A mérési körülmények is hathatnak az eredményekre, például a mérő fizikai vagy mentális állapota. Azonban a mérő személy tapasztalata nagyban csökkentheti ezen mérési hibalehetőségek arányát, illetve ezeknek kiküszöbölése még jelentősebb lehet, ha a mintákat többszöri ismétlésben méri le az egyén [16].

Nem biológiai eredetű hibák mindenütt jelen vannak a tudományban. Ezek a mérési hibák (egy mért mennyiség eltérése a valós értéktől) általában befolyásolják az eredményeket, így a morfometriai adatokat is [17]. Ennek forrásai közé tartozhat az egyedek kamera alatti pozícionálása, az eszközök és azok kezelőinek hibája [18], illetve a halak esetében az ismert dorzoventrális ívesedés [19].

Egy morfometriai kutatás szerint a mérések varianciájának 10-30%-a a pontos mérés kivitelezhetetlenségéből, nem pedig az egyedek közötti eltérésekből származik [16]. Így felmerülhet a kérdés, vajon a kapott eredmények valóban a lemért példányok különbségeit tükrözik vagy inkább a mérők tapasztalatából adódó különbségeket mutatják. A jelenleg elérhető szakirodalomban a mérők szakmai gyakorlottságának összehasonlítása és az eredményekre való hatása nem széleskörben vizsgált, emiatt is különösen izgalmas ez az

elgondolás, miszerint a tapasztalat mértéke nagyban meghatározhatja az eredmények pontosságát.

A tudományos igényű méréseknél alapvetően az érvényességnek, megbízhatóságnak és az objektivitásnak kell érvényesülnie. Az érvényesség a mérőeszközt helyezi középpontba, azaz annak rendeltetésszerű működésére, illetve a mérés tárgyára irányultságának pontosságára fókuszál. A megbízhatóság során a mérések eredményeinek hasonlósága vethető össze. A mérő objektivitásánál pedig fontos, hogy az eredmény független maradjon a vizsgáló várakozásaitól.

1.3. Tartósítás szerepe

A tartósítás rengeteg területen elengedhetetlen folyamata a kutatásoknak, ugyanis a megőrzött egyedekhez való visszatérés újabb felismeréseket is eredményezhet [20]. A természettudományi gyűjtemények mellett a haltenyésztésben előforduló betegségek, a környezeti monitoring, a környezetszennyező anyagok toxicitási vizsgálatai is remek példák arra, hogy a konzerválás mennyire kiemelkedő jelentőségű [21]. Ismert tény, hogy a halak szövetei haláluk után az autólízis folyamata során gyorsan degradálódik. Ennek következtében a tartósítás kulcsa az, hogy milyen gyorsan tudjuk inaktiválni azokat az endogén enzimeket, amelyek felelősek ezért az önmérsztési folyamatért [21].

Az ichthiológiában gyakran alkalmazzák tartósítószerként a formaldehidet, mely egy olyan gáz, amely körülbelül 37-40 tömegszázalékban oldódik vízben és általában 40%-os formalin néven ismert [22]. A formalin a legtöbb fixálószernél jobban képes megőrizni a sejtek szerkezetét, emiatt a legtöbb általánosan használt fixáló keverék összetevője [23]. Alacsony molekulatömege miatt viszonylag gyorsan hatol be a sejtekbe és a minták sok évig tárolhatók benne romlás nélkül. Ezek mellett nagy előnye még, hogy olcsó, könnyen elkészíthető, és jól megőrzi a sejtmorfológiát, az antigéneket és a genetikai anyagot [20]. A halbiológiában talán ezért is ez a leggyakrabban alkalmazott tartósítószer, vagy ennek valamilyen elegye más kémiai anyagokkal [24].

A morfometriai vizsgálatok során ugyanakkor a halak eredeti, természetes alakjának megőrzésére kell törekedni, hogy a testen vizsgált méretek a lehető legpontosabb képet adják, ugyanis az eredmény csak így képes a valóságot közvetíteni. Ebben nem csak a kitűzés segíthet, hanem a tartósítószer is, amely megkeményíti a szöveteket. A formalinban való tartósítás ugyanis a lágyszövetek természetes megkeményedését is szolgálja [25]. Azonban a morfometriához szükséges fotók elkészítését ezzel meg is nehezíti, mivel így a halakat nehezebb megfelelő pozícióba helyezni.

A halpopulációk ökológiájára fókuszáló tanulmányokhoz, állománybecsléshez, halgazdálkodáshoz gyakran van szükség különböző méretek, például a hossz és a súly mérésére.

A nagyobb testű állatoknak inkább csak 1-1 szervét vagy szöveteiket konverzálják, azonban a halak esetében gyakran előforduló kisebb testméretek miatt sokszor alkalmazzák az egészben tárolást ezen a területen [21]. Így a modellezéshez, monitorozáshoz és a halak alapvető biológiai összefüggéseinek leírására a morfometriát is alkalmazzák [26]. A morfometria területén pedig elengedhetetlen a teljes test megőrzése, ha az élő állatokról nem lehet felvenni az adott méreteket. Ez azonban sok nehézséget is magával von. Emiatt ezen a tudományterületen is elengedhetetlen a tartósítás szerepe, mert gyakran nem lehetséges az egyedek azonnali, terepen való elemzése az eszközök használatának komplexitása, a halak kezelhetősége vagy szimplán az idő szűke miatt [26].

II. Célkitűzések

Eredeti diplomamunkám témája a Balatonban élő őshonos sügér populáció-struktúrájának feltérképezése volt, morfológiai testalakanalízissel. Az előzetes elemzések alapján azonban a témavezetőm és a saját méréseimet összevetve nyilvánvalóvá vált, hogy a mérő személye, gyakorlottsága, szakmai tapasztalata jelentős hatással van a mérések eredményeire. Így dolgozatomban első sorban ezen metodológiai probléma feltárására fókuszálok. Jelen felmérésben megvizsgáljuk, hogy a különböző szakmai tapasztalattal rendelkező személyek morfológiai mérési eredményeinek mintázatai mennyire eltérőek, vagyis

#1 a különböző tapasztalatú személyek méréseiből analizált csoportosítás különbözik-e?

A mérések megbízhatóságát a folyamat ismétlésével igyekszünk vizsgálni, emiatt a kutatásban résztvevők három alkalommal mértek le minden egyedre, így az egyes mérési sorozatok összehasonlításával megvizsgálható az egyéni pontosság. A mérési sorozatok együttes vizsgálataival, a pontfelhők átfedéseivel képet kaptunk arról, hogy a személyek mérései egymáshoz és önmagukhoz képest is mennyire változnak, tehát

#2 az eltérő tapasztalatú személyek mérési eredményei hogyan viszonyulnak a saját és a többi személy méréseihez?

Az ismételt mérési sorozatokkal ezen felül, az egyes mérők tapasztalatszerzése, illetve a kapott mintázatok viszonyai is vizsgálhatóak. Arra is kíváncsiak voltunk, hogy a vizsgált populációk az általunk használt távolság alapú morfológiai módszerrel elkülöníthetőek-e egymástól.

A vizsgálatok során kiderült, hogy a formalinban tartósított halak alakja, észrevehetően megváltozott. Az átfogó módszertani felmérés kiegészítéséül, ezért azt is felmértük, hogy

#3 a formalinban való tartósítás és a halak testének egyértelmű kitézése milyen hatással van a vizsgált változók mérésére?

III. Anyag és Módszer

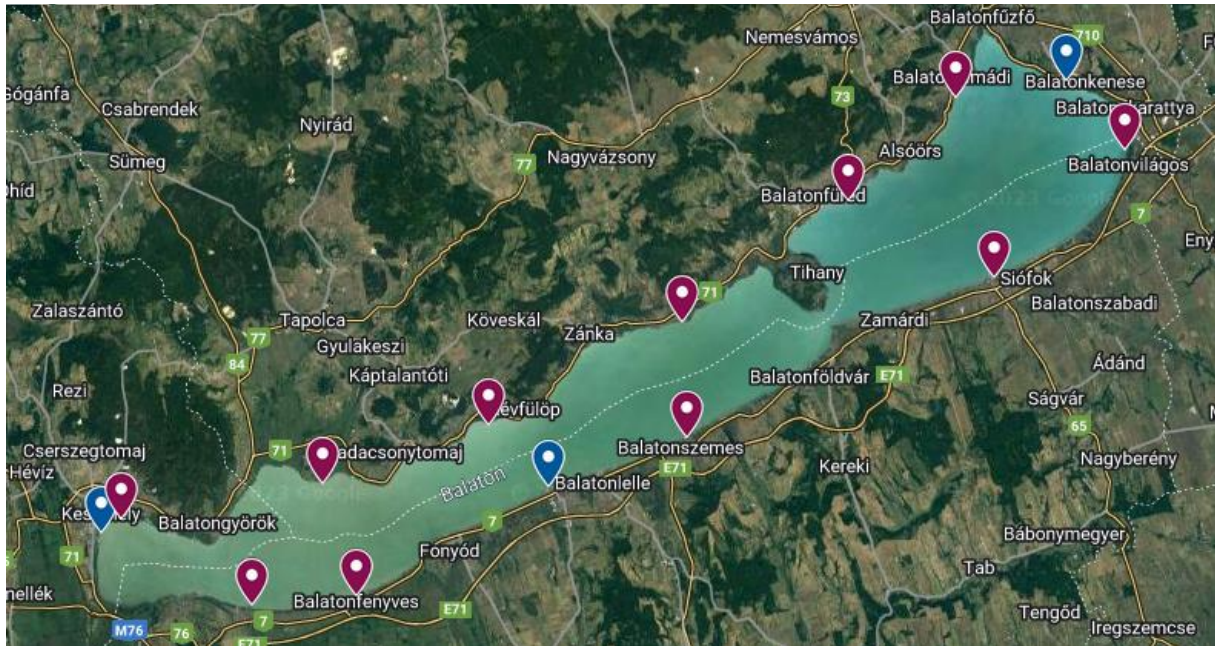
III.1. A mintavételi helyszínek

Kutatásunkban lemért halak a Balatonból származnak, mely 596 km²- es felszíni kiterjedésével Közép-Európa legnagyobb édesvízű tava. A tó sekély vizűnek számít, ugyanis átlagos mélysége csupán 3,25 méter. Hossza 78 km, szélessége pedig 7,6 km és 1.9×10^9 m³ vizet tartalmaz [27]. A Balaton négy medencéjére, a keszthelyi-, szigligeti-, szemesi- és siófoki-medencére osztható fel [28]. A déli parton az aljzat homokos, a víz sekély és a part lassabban, míg az északi oldalon meredeken mélyül. A tónak 51 beömlő és egyetlen, a tó délkeleti végén található kiáramló vízfolyása van, ez a Sió-csatorna [29]. A tóba befolyó vízmennyiség felét a Zala folyó szolgáltatja, amely a legnyugatibb és egyben a legkisebb medencébe folyik.

A víz hőmérséklet a májustól szeptemberig tartó időszakban általában 20-26 °C fok körül, illetve felett mozog. A víz pH-ja 8,4-es, tehát enyhén lúgos, ez a partokat övező mészkő és dolomit kőzetekből kioldódott magas kalcium, magnézium és bikarbonát ionok koncentrációjának köszönhető [27]. A tó longitudinális tengelye mentén, keletről nyugat felé haladva megfigyelhető egy növekvő trofikus gradiens, amely nagyban befolyásolhatja a tóban élő egyes szervezetek eloszlását, többek között a halbiomasszát is [30]. A halak sűrűsége a nyugati oldalon akár négyszer-hatszor is több lehet, mint a keleti oldalon [31].

Jelen vizsgálatunk, egy metodikai fókuszú részkutatása a Balatonban élő európai sügér (*Perca fluviatilis*) populáció-struktúra meghatározásának. Tehát középpontban így nem a populációk különbségeit vizsgáljuk, hanem a különböző morfológiai tapasztalattal rendelkező személyek és a módszertan során használt technikák eredményekre gyakorolt hatását.

Eredeti felmérésünkhöz 14 Balaton körüli település parti zónájából gyűjtöttük a sügéreket. Így e 14 állomány közül, a módosított célkitűzésünk miatt hármat választottunk ki (1.ábra). A kijelölt három helyszín Balatonkenese, Balatonboglár és a keszthelyi Libás strand voltak, mivel ezek földrajzilag távol helyezkednek el egymástól, emiatt az is feltételezhető, hogy az itt élő állományok között esetleg valamilyen morfológiai különbség kimutatható lesz.



1. ábra. 14 mintavételi helyszín a populáció struktúra meghatározásához (kék színnel emeltük ki a jelen vizsgálatsorozathoz felhasznált egyedek gyűjtési helyeit: Keszthely, Balatonboglár, Balatonkenese)

III.2. A vizsgált faj

Vizsgálatunk középpontjában álló európai sügér (*Perca fluviatilis*, Linnaeus, 1758) a sugarasúszójú halak osztályába (*Actinopterygii*), sügéralakúak rendjébe (*Perciformes*) és a sügérfélék (*Percidae*) családjába tartozó halfaj (2. ábra). Eurázsia vízrendszerében számos helyen elterjedt. Hazánk legtöbb nagy folyójában, mint a Dunában, Tiszában, Zalában, Drávában, Hármas-Körösben, illetve tavaink közül a Balatonban, a Fertő-tóban, Kis-Balatonban, Velencei-tóban és a Tisza-tóban is előfordul [32].

Ez a hazánkban őshonosnak számító hal, megjelenésében is rendkívül érdekes. Testét kisméretű ktenoid pikkelyek fedik, melyeknek száma az oldalon 57-77 is lehet. Jellegzetes zöldes-feketes harántsávok díszítik a test oldalát, melyek fontos faji elkülönítő bélyegként is szolgálnak. Magastestű, hossza nagyjából 10-15 centiméter, de akár a 30 centimétert is elérheti. Testének alakja oldalról lapított, mely hegyes orr tájékkal kezdődik és enyhén bemetszett farokúszóban végződik. Dorzálisan két hátúszó található, az első általában 12-17 tüskéből, míg a második 12-16 sugárból áll. Szintén fontos jellemző az első hátúszó végén jelen lévő fekete folt. A ventrális oldalon elhelyezkedő rövid, enyhén bemetszett farokalatti úszó 7-10 sugárból épül fel. A mellúszók alatt pedig hasúszók is találhatóak [32]. A halak elkülönítésénél igen fontos jelleg a száj állása, az európai sügér szája csúcsba nyíló, hasitéka pedig kismértékben felfelé irányul. Apró fogakkal rendelkeznek, melyek alkalmassá teszik a kemény vázzal

rendelkező bentikus szervezetek elfogyasztására is. Az idősebb, nagyobb egyedek akár kisebb halakkal is táplálkozhatnak.



2. ábra. A vizsgálatunk tárgya, az európai sügér (*Perca fluviatilis* Linnaeus 1758) (fotó: Takács Péter)

Az ivarérettséget jellemzően 3 éves korukban érik el, az ivási időszak pedig április környékén zajlik, emiatt ebben az időszakban tiltott a fogása. Sekély, növényekkel gazdagon benőtt vizek remek ivóhelyként szolgálnak ezen halak számára. Az ikrások egymáshoz tapadt ikrafüzéreket tapasztanak a növényekre és kövekre. Az gyöngyfüzérszerű láncokat ikraszemek építik fel, melyek átmérője nagyjából 2 mm és számuk halanként 10-20 ezer is lehet. Ez a faj egyaránt előfordul kisebb-nagyobb vízfolyásokban, illetve álló víztestek, mint a Balaton partiövezetében is. A változó vízhozamú kis folyókban az alsó, lassabb szakaszokon fordul elő, ezt az övezetet emiatt sügérzónának hívják. Jellemzően ezeken a részeken a lassabb vízáramlás miatt a hordalék és üledéklerakódás jelentősebb, így az aljzatot homok és finom iszap borítja. A hasonló környezet miatt szintén kedveli az iszapos medrű, sűrű növényzettel benőtt sekély állóvizeket is. Húsa ízletes és viszonylag kevés szálka található benne, azonban nagyobb példányok ritkasága miatt gazdaságilag nem olyan jelentős [32].

III.3. Gyűjtés menete

A vizsgálatokhoz gyűjtött sügérek (*Perca fluviatilis*), hazánk legnagyobb kiterjedésű tavából, a Balatonból származnak. Az egyedek gyűjtését a HUN-REN Balatoni Limnológiai Kutatóintézet munkatársai 2022. októberében és novemberében végezték. A tó északi és déli partján 6-6, a keleti és nyugati végein 1-1 helyszínen történtek az egyszeri mintavételezések elektromos halászgéppel (Agrár Minisztériumi engedélyszám: HHgF/230-4/2016). Az műszert csak a megfelelő képesítéssel rendelkező személy használhatja, mivel magasfeszültségű áramot

vezet a vízbe a készülék, mely enyhén elkábítja a halakat, de az emberre nézve is veszélyes lehet. Ez az átmeneti sokk megkönnyíti a halfajok azonosítását, illetve gyorsítja is a mintavételezés folyamatát. Mintavételi helyszínenként körülbelül 25-30 sügért gyűjtve, így a 14 területről összesen 357 egyed került bele az elemzésbe. A metodikai vizsgálatunkhoz a három kiválasztott területről (Balatonboglár, Kenese, keszthelyi Libás strand) származó populációk 30, 25 és 25 egyedből álltak. A kifogott egyedeket humánus módszerrel, szegfűszegolaj tartalmú vízben altatták túl [33], majd műanyag fóliába csomagolva, hűtőládába helyezve szállították vissza a vizsgálat helyszínére, ahol 3%-os formalin oldatban tartósították őket.

III.4. Az adatfelvétel módszere

A mérést feltűzött, kifeszített egyedekről készült fotók alapján végezzük. A halakat a fényképezés előtt egy fehér felületre preparáló tűkkel kell rögzíteni, majd a test függelékait is kitűzni. Fontos egy skálát, pl. egy vonalzót egyed közelébe helyezni, ugyanis a kalibrálást ennek segítségével kell végezni (3.ábra). Ezek után következik a saját kóddal ellátott egyedek fényképezése, mely Nikon 40 mm-es makro objektívvel történt. Ennek torzítása minimális, mely elengedhetetlen szempont a pontos mérések miatt.



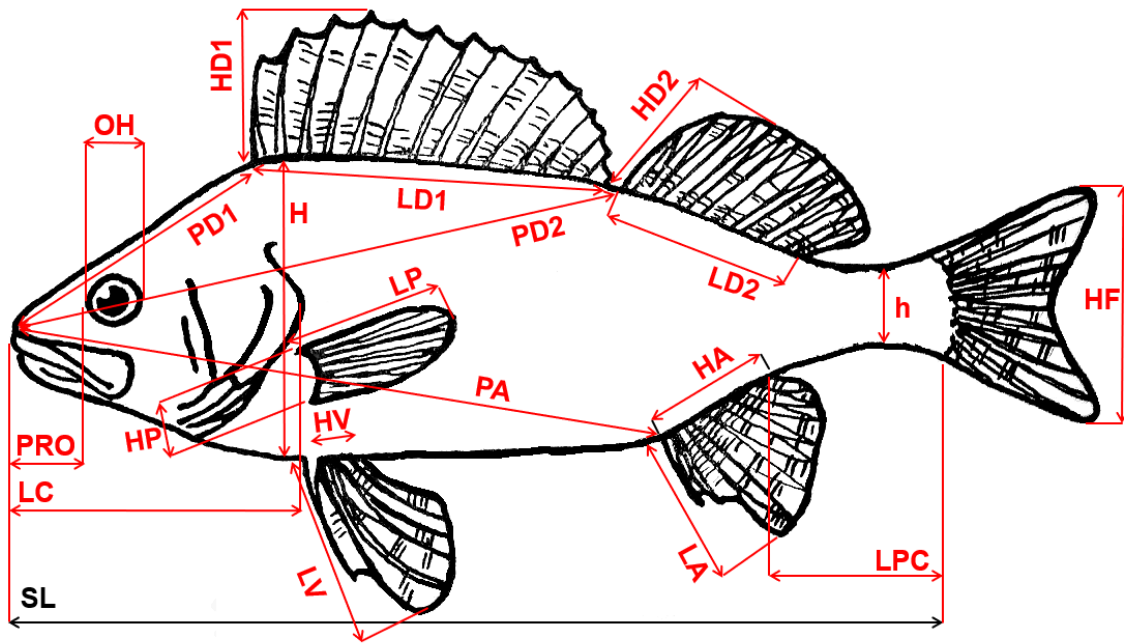
3.ábra. Morfometriai mérésekhez készült képek az egyedekről

A három populáció egyedeinek új kódokat adtunk, ezzel elkerülve az esetleges olyan tudatos vagy tudatalatti mérési módosításokat, mely az azonos helyről származás miatti hasonló testméretek mérését, ezáltal „mesterséges hasonlóságot” eredményezne. Egységesen minden

egyed bal oldaláról készültek a fényképek. A távolságalapú morfometriai módszer során sokszor tolmérőt használnak, azonban ebben a vizsgálatban az ImageJ szoftver felhasználásával mértük le a kijelölt távolságokat, ezzel minimálisra csökkentve a rákkeltő formalinnal való érintkezés idejét. Emellett a képeken végzett mérések ismételtetősége jobb [13]. A mérések elvégzése esetében, fontos felállítani előre egy sorrendet, amely alapján a kijelölt változókat lemérjük a hal testén. Ennek elmaradása esetén az eredmények értékelhetetlenné válnak. A sorrendben bekövetkező esetleges cserék, mérési hibákat eredményeznek, így érdemes a mérések során minél körültekintőbben eljárni. A halakról készült képek feldolgozását szintén a kutatóintézet kutatói, illetve az Állatorvostudományi Egyetem munkatársai és hallgatói végezték.

A felmérésben hat személy vett részt. Ketten tapasztalt mérők, ebből egy a morfometriában, illetve halmérésben is tapasztalt kutató, illetve egy másik a módszerben jártas, a halmérésben azonban nem, hanem más állatcsoporton szokta végezni a méréseket. Gyakorlott személy volt a módszerben és halmérésben az előbbieknél kevesebb, de valamennyi gyakorlattal, rendelkező mérő. Ketten voltak olyanok, akik a szoftvert ismerték, használták már, viszont nem halak mérésére. Végül a kontrollt egy teljesen tapasztalatlan személy jelentette. A felsorolt hat mérést végző személy méréseit hasonlítottuk össze, akik mind egymástól függetlenül, vakon végezték el a méréseket háromszori sorozatban ismételve. Személyenként összesen 80 egyeden háromszoros ismétlésben egyedenként 21 változó került lemérésre. Minden mérő tehát 5040 mérést végzett.

A méréseket a klasszikus távolságalapú morfometria módszere szerint végeztük, amely egy távolságokkal számoló, többváltozós statisztikákat alkalmazó módszer. Az eljárás a méretekre vonatkozó információkra fókuszál és a lényege, hogy a morfológiai jellegzetességeket a kijelölt távolsági változók segítségével kvantifikálni tudjuk. A sűgerek különböző testrészei között kijelölt lineáris távolságokat a geometriai morfometriában legtöbbször használt landmark-ok alapján választottuk meg, ugyanis a sűgérfélék esetében úgy tűnik, hogy ezek a változók a legalkalmasabbak az egyedi változatosság jellemzésére. Az említett módszerrel 21 előre kiválasztott távolságot mértünk le (4.ábra) az ImageJ szoftverrel [34].



4.ábra. A fotózott sügerek testén mért 21 változó. PRO: preorbitális távolság; LC: fejhossz; SL: standard hosszúság; HP: mellúszó magassága; LV: az első medenceúszó-sugar hossza; PD1: predorsális távolság; PD2: második hátúszó predorsális távolsága; H: a hal magassága; HD1: az első hátúszó sugar magassága; HD2: a második hátúszó sugar magassága; LD1: az első hátúszó-sugar hossza; LD2: a második hátúszó-sugar hossza; LP: az első mellúszó sugarának hossza; HV: a hasi uszony sugarának magassága; HA: az anális úszó/uszony sugarának magassága; LA: az anális úszó sugarának hossza; LPC: anális úszó végének és az alsó farokúszó sugarának hossza; h: a faroknyél magassága; HF: a farokúszó sugarainak felső és alsó kiindulópontja közötti távolság; OH: szemszélesség; PA: preanális távolság.

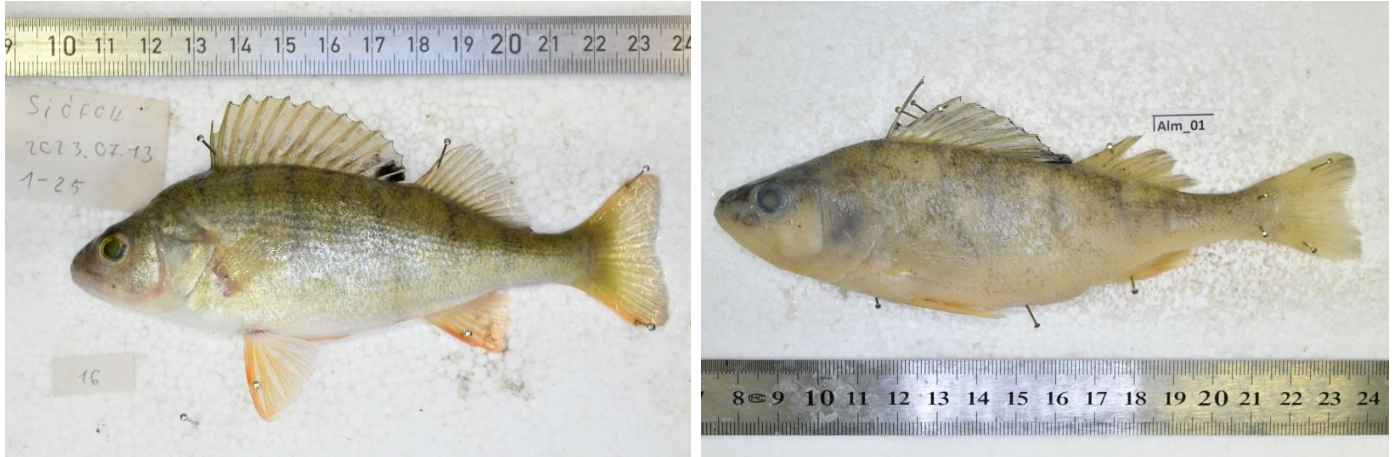
Az elemzésekhez a mért adatsort standardizáltuk, ezzel az egyes egyedek testmérethatását kiküszöbölve. A nyers adatok standardizálását az Elliot féle allometrikus képlet szerint végeztük [35], azaz $M_{adj} = M(L_s - L_0)^b$, ahol M az eredeti mérés értéke, M_{adj} a méretkorrigált mérés, L_0 a halak standard hossza (SL), L_s pedig az elemzésben szereplő összes hal SL-jének átlaga.

III.5. Tartósítás hatásának vizsgálata

Siófokról 25 sügér egyedet gyűjtöttünk 2023. július 14-én. A frissen gyűjtött egyedeket fagyasztóládába helyeztük, majd a következő napon felolvasztottuk őket. Ezután egyenként kitűztük és lefotóztuk őket. A képek elkészítését követően a halakat 3%-os formalin oldatba helyeztük, majd egy, négy és nyolc hónappal később (2023. augusztus 11-én; november 13-án 2024. március 13-án) ismét lefotóztuk és lemértük őket.

A négy fotózási alkalom között a tartósításhoz használt formalin oldat összetétele végig azonos maradt. A 21 változót a fentebb említett részfelmérések alapján ugyanazon metodikával végeztük el.

III.6. Preparálás hatásának vizsgálata



5. ábra. A gyűjtött sügerek testének jól és kevésbé jól kitűzése

A gyűjtött halak preparálása során a testfüggelékek maximálisan kifeszített kitűzésére és a test alakjának a természetes állapothoz való legjobban hasonlító formájára kell törekedni úgy, hogy a meghatározott változók megfelelően mérhetőek legyenek ezeken. Ezt sokszor megnehezítheti a tartósítás folyamán a test merevvé válása vagy a mechanikai hatások következtében a deformálódás. Az egyedek kitűzésének hatását ilyen, jól (bal kép) és kevésbé jól kitűzött (jobb kép) halakon vizsgáltuk, melyeken várhatóan egyértelműen és utóbbi esetben nem egyértelműen lesznek mérhetőek a változók. A mérések előtti kalibrálás kétféleképpen végezhető. Az egyik módja, a szoftver által felkínált automatikus skálás beállítás, a másik pedig manuálisan pixelek mérésével, majd ezek későbbi hosszúság mértékegységbe való váltásával.

A képeken lévő halak mérete különböző, így nem vethetőek össze egymással. Mivel az ismételtőség tesztelésének eredményéből kiderült, hogy a saját méréseim (8. ábra; Gyakorlott; rózsaszínes árnyalatú konvexek) is megbízhatóvá váltak a mérési folyamatok során. Ebből kifolyólag magam is elvégeztem a méréseket és a 19 résztvevő mérő eredményeit a saját eredményeimhez viszonyítva vizsgáltuk.

III.7. Statisztikai elemzés

Többváltozós varianciaanalízissel (MANOVA) teszteltük a mérők közötti különbségeket és a négy fotózás közötti tartósításnak köszönhető deformáció mértékét. A kanonikus varianciaanalízissel (CVA), amely szintén egy többváltozós módszer, a csoportok közötti és a csoporton belüli eltérések elkülönítését vizsgáltuk, illetve az ábrázoláshoz

használtuk. A négyzetes Mahalanobis távolság alapján főkomponens analízist végeztünk, majd ennek alapján csoportcentroidokkal is ábráztuk az adatokat. A kapott csoportcentroidok különbségei a mért adatok összehasonlítására alkalmasak. Az adatsorok készítését és elemzését az Excel, PAST 2.17c [36], SYN-TAX2000 [37] szoftverekkel végeztem, a munka összefoglalásához, pedig az MS Word programcsomagot használtam. A preparálás hatásának eredményeit violin plot-tal ábráztam, illetve a tartósítás hatásának elemzésénél boxplot-os szemléltetést is alkalmaztam.

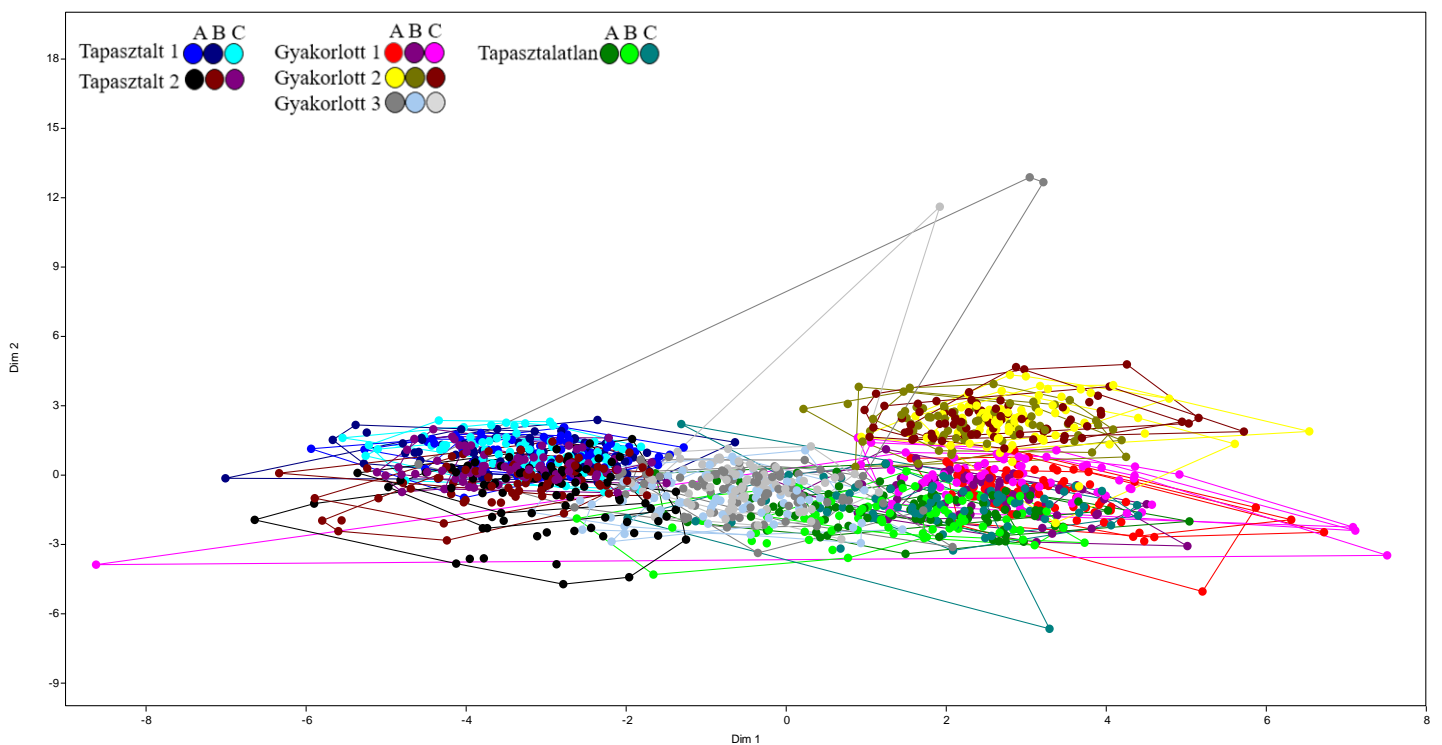
Az F-statisztika alkalmazása során a csoportok közötti és csoportokon belüli variancia hányados alapján számított F-arány értéke szerint csoportosítottam a változókat. Ez az arány megmutatja, hogy a csoportok közötti különbségek, hogyan viszonyulnak a csoporton belüliekhez [38].

IV. Eredmények

A diplomamunkámhoz a három részfelmérés (a tapasztalat, a tartósítás és a kitűzés hatásának vizsgálata) során összesen 285 egyeden, 5985 mérést végeztem.

IV.1. Összesített eredmények a tapasztalat hatásának vizsgálatáról

A hat különböző gyakorlottsági szinttel rendelkező mérő, három populációról történt háromszori sorozatának eredménye látható az 5.ábrán. Egy személyhez tartozó, három populációról (A, B, C) történt méréseket, egy adott szín különböző árnyalataival jelöltem. A populációk színei az ismételt mérések során ugyanazok maradnak. A szakmai tapasztalattal rendelkező személyhez (Tapasztalt 1) a kék szín és annak árnyalatai, a feketés-bordós színek a másik morfometriában jártas, de nem halmérésben tapasztalt személyhez (Tapasztalt 2) tartoznak. A pirosas-rózsaszínes árnyalatok a közepes szintű gyakorlattal rendelkező mérő (Gyakorlott 1) eredményeit mutatják, sárgás, illetve szürkés színek ahhoz a két személyhez tartoznak, akik már használták és ismerik a mérő programot, azonban még halakat nem mértek (Gyakorlott 2, 3). A zöld színek pedig a tapasztalattal egyáltalán nem rendelkező személy eredményeit jelölik (Tapasztalatlan).

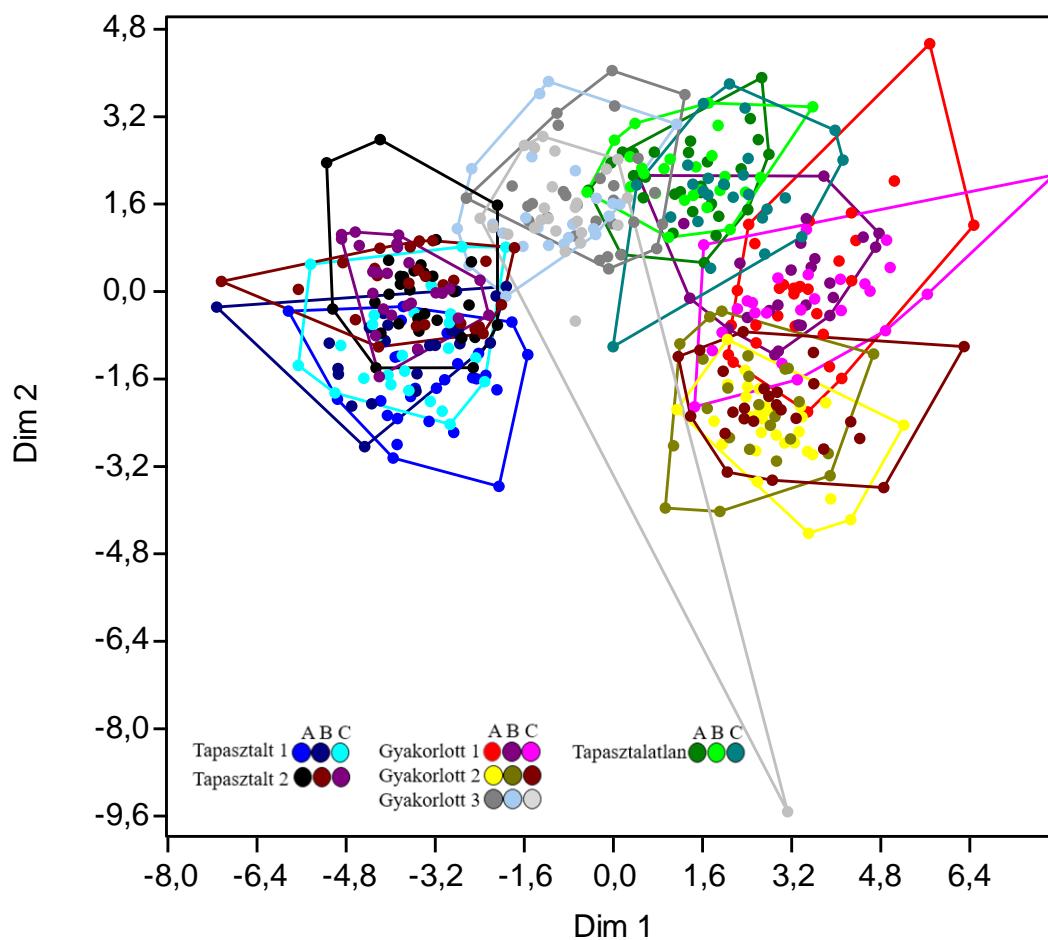


5.ábra. Hat mérő, 3 populációról, háromszori ismétlésben történt méréseinek, kanonikus variancia elemzéssel készült scatterplotja

A vizsgálatban résztvevők a 80 egyedről készült képeken, háromszor ismételve, azaz 240-szer végezték el a meghatározott 21 változó mérését. Így összesen a hat személy 30 240 mérési

adatot szolgáltatott a kutatáshoz. Az összesített ábrán a mérők pontthalmazait keretező konvex síkidomok hasonló mintázatot mutatnak, azonban látható néhány olyan adatpont, amely a sűrű pontfelhőn kívülre esik. Ezeket többnyire a mérési sorrendben való tévedés vagy esetleges félremérések eredményezhetik.

Mivel a háromszoros ismétlés nagy adathalmazt okoz, így a jobb áttekinthetőség érdekében a mérők és a populációk elkülönülését a második mérési sorozaton mutatom be (6.ábra). Ennek oka, hogy az első méréskor a mérők ismerkednek a módszerrel, a harmadikra pedig feltehetően már elegendő gyakorlattal rendelkeznek. Emiatt úgy gondoljuk a második sorozat adatait szolgáltatják a legvalósabb adatokat



6. ábra. A hat mérő által második mérési sorozatban lemert három populáció ábrázolása

Így a második sorozatban, a mérők a három populációt (80 egyed) egyszer mérték le, tehát a hat személy összesen 480 egyedi pontja alkotja a scatterplot-ot (6.ábra). A kék és bordós konvexek jelölik a tapasztalt mérők méréseit, akik eredményei láthatóan itt is elkülönülnek a közepes gyakorlottságú és tapasztalatlan személyek eredményeitől. Az szürke színnel jelzett

mérő esetében ismét megfigyelhetőek a pontfelhőből kiugró pontok, melyek valószínűsíthetően szintén mérési hibából származó eredmények (5.és 6. ábra).

1.táblázat. A páronkénti összevetések Bonferroni korrigált p értékei. A szignifikáns különbségeket ($p < 0.05$) piros színnel emeltük ki. (A kódok: T: tapasztalt, Gy: gyakorlott, Tlan: Tapasztalatlan)

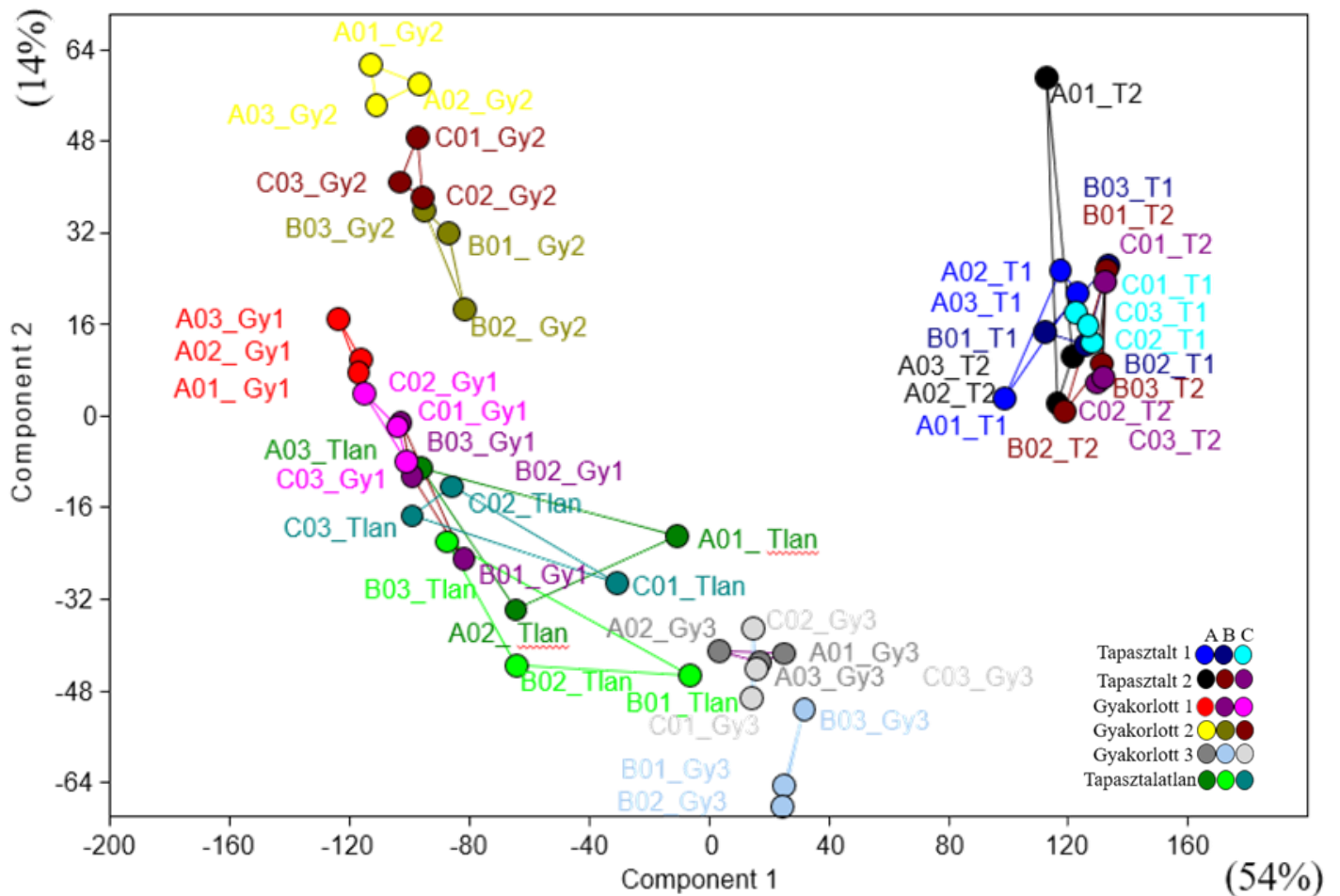
| | A02_T1 | B02_T1 | C02_T1 | A02_T2 | B02_T2 | C02_T2 | A02_Gy1 | B02_Gy1 | C02_Gy1 | A02_Gy2 | B02_Gy2 | C02_Gy2 | A02_Gy3 | B02_Gy3 | C02_Gy3 | A02_Tlan | B02_Tlan | C02_Tlan |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| A02_T1 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| B02_T1 | 1 | - | | | | | | | | | | | | | | | | |
| C02_T1 | 0.146 | 1 | - | | | | | | | | | | | | | | | |
| A02_T2 | 0 | 0.014 | 0 | - | | | | | | | | | | | | | | |
| B02_T2 | 0 | 0.247 | 0.005 | 1 | - | | | | | | | | | | | | | |
| C02_T2 | 0 | 0.126 | 0.03 | 1 | 1 | - | | | | | | | | | | | | |
| A02_Gy1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | | | | | | | | | | | |
| B02_Gy1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | - | | | | | | | | | | |
| C02_Gy1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | - | | | | | | | | | |
| A02_Gy2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | | | | | | | | |
| B02_Gy2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | - | | | | | | | |
| C02_Gy2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.029 | 1 | - | | | | | | |
| A02_Gy3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.001 | 0 | - | | | | | |
| B02_Gy3 | 0 | 0.001 | 0 | 0 | 0.016 | 0.007 | 0 | 0 | 0 | 0.001 | 0.188 | 0 | 0.454 | - | | | | |
| C02_Gy3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.001 | 0 | 0.148 | 0.461 | - | | | |
| A02_Tlan | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | | |
| B02_Tlan | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.001 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | - | |
| C02_Tlan | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.003 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.163 | 1 | - |

A hat mérő második mérési sorozatában a p-értékeket ($p < 0,05$) megvizsgálva, pár kivétellel mindenki eltérően mért egymástól és a lemerő populációk között sem voltak szignifikánsak az eltérések. A tapasztalt mérők (T1, T2) esetében, a lemerő B és C populációk eredményeinek összehasonlításánál, azonban nem volt szignifikáns eltérés ($p=0,247$; $p=0,126$) (1.táblázat).

IV.2. Tapasztalat hatása az eredményekre

A jobb értelmezhetőség miatt az összesített ábrából (5.ábra) készítettünk egy olyat, amelyen csak a csoportcentroidok vannak feltüntetve (7.ábra). A pontok összesen 54 csoportot jeleznek. Egy csoport, az egy emberhez tartozó, egy populációról, egyszeri alkalommal elvégzett méréseinek eredményeit mutatja. A pontok közötti összeköttetések, pedig az adott populáció lemerésének ismétléseit jelöli. A centroidok kódjaiban a nagybetűk (A, B, C) a vizsgált három lokalitásról származó populációkat jelentik. Az „A” populáció Balatonboglárról, „B” Balatonkeneséről és a „C” Keszthelyről származik. A számok (01-03) az ismétlés sorozatát

szemléltetik. Míg a kódok utolsó elemei az egyes mérők tapasztalatának mértékét (T: tapasztalt, Gy: gyakorlott, Tlan: Tapasztalatlan) mutatják.



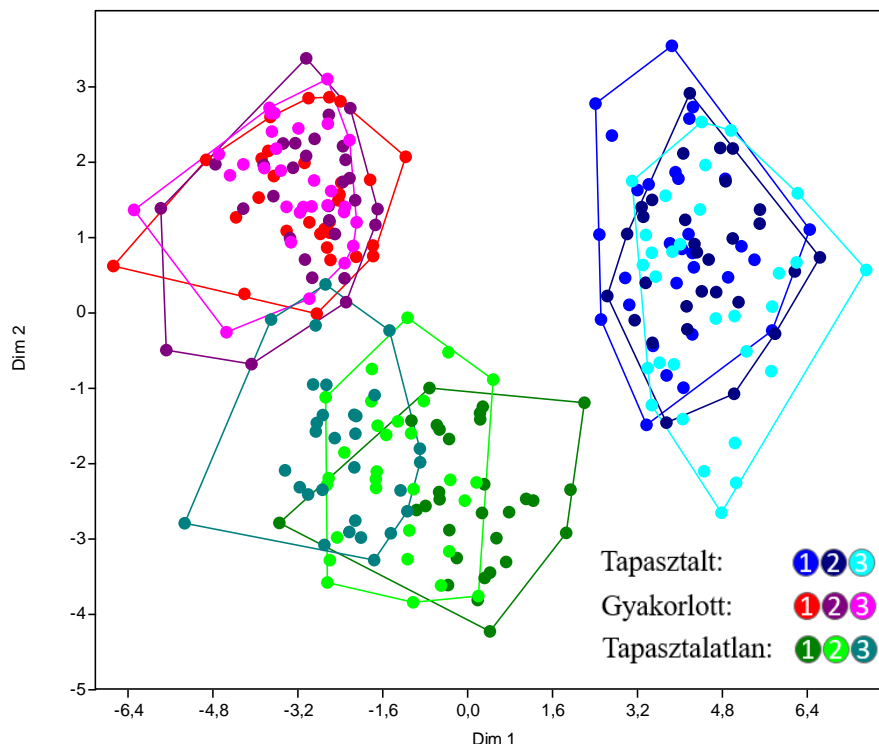
7.ábra. Hat mérő, három sorozatának csoportcentroidokkal ábrázolt eredményei

A főkomponens analízis ábráján a pontok két elkülönülő részre csoportosulnak. A jobb oldalon a tapasztalt mérők pontfelhői láthatóak, amelyek igen közel, egymást fedve helyezkednek el. Egyetlen igazán kiugró pont látható, az A01_T2, mely a morfometriában jártas, azonban halmérésben tapasztalatlan mérő első mérése. Feltehetően az előzetes tapasztalatok miatt, ennek a mérőnek egyszer volt szükséges elvégeznie a mérési sorozatot, annak érdekében, hogy utána hasonló módon mérjen, mint a hal morfometriában tapasztalt személy. Így az említett csoportcentroidot értelmezve, ez akár egy gyors tanulási vagy tapasztalatszerzési folyamatot is mutathat. A kevesebb tapasztalattal rendelkezők adathalmazai a plot bal oldalán helyezkednek el, jól elkülönülve a szakmai tapasztalattal rendelkező mérőktől. Az egyes mérők összekötött centroidjainak elhelyezkedése egymáshoz képest az adatok szórását jelöli, vagyis minél közelebb fekszenek egymáshoz, annál jobban hasonlítanak az ismételt mérési sorozatok egymásra, tehát ekkor kis mértékben szórnak az eredményeik. Az ábráról úgy tűnik, hogy a szórás mértéke a tapasztalat mennyiségével csökken, tehát minél tapasztaltabb a mérő annál

kisebbszórással bíró eredményeket produkál. A tapasztalatlan mérőnél megfigyelhető, hogy az azonos színű centroidjai között igen nagy távolságok vannak, ez mutatja, hogy esetében a gyakorlat hiánya magas szórásértékekkel párosul.

IV.3. Mérések megbízhatóságának vizsgálata

A mérések megismételhetőségének vagy megbízhatóságának tesztelésére, a három kiválasztott mérőnek, ugyanarról a Balatonbögárról származó populációról készült, háromszor ismételt méréseit vetettük össze (8.ábra).



8.ábra. Tapasztalt, közepesen tapasztalt/gyakorlott és tapasztalatlan mérők egy populációról, háromszori ismétlésben mért adatai

A mérők a három különböző gyakorlatú csoportból, tehát a hal morfológiában tapasztalt, a kevésbé tapasztalt vagy gyakorlott és a teljesen tapasztalatlan személyek mérései vannak összehasonlítva. Ezzel vizsgálható, hogy a mérők mérései mennyire egyeznek a saját ismételt mérési eredményeikkel, illetve egymáshoz képest milyen a viszonyuk.

A tapasztalt egyén mind a három ismétlésben igen hasonló eredményt kapott, ugyanis a konvexi hasonló alakúak, közel átfedőek és ennek legtöbb pontja hasonló elhelyezkedésű. A gyakorlott esetében a pontok szintén közel állnak egymáshoz, míg a tapasztalatlan három ismétléseinek eredményei egészen széthúzóak. Ebből következően a tapasztalat mértéke befolyásolja a mérések ismételtetését, ugyanis minél több gyakorlással rendelkezik a mérő, annál pontosabban végzi el az ismételt méréseket.

IV.4. Populációk elkülöníthetősége

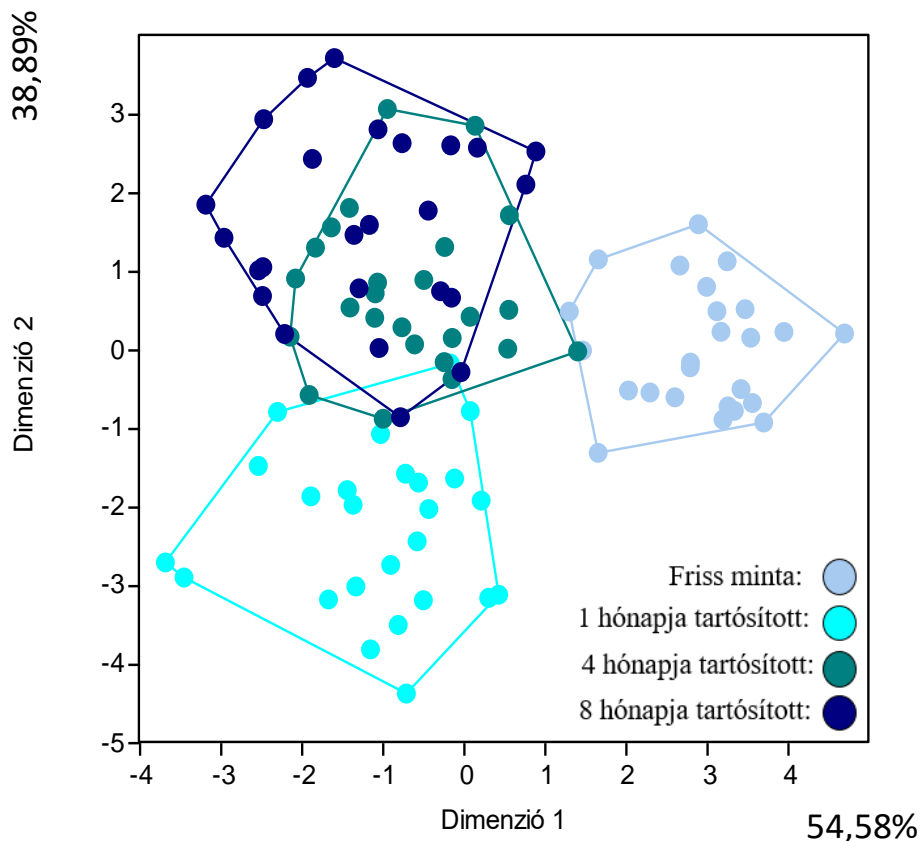
A hat mérő mérési sorozatainak eredményei alapján megvizsgáltuk, vajon a három, földrajzilag külön helyről származó populáció elkülönül-e egymástól. Az eredményeket mérési sorozatonként vizsgáltuk, majd összehasonlítottuk egymással. Ennek tesztelésére az adatokat többváltozós ANOVA-val vizsgáltuk és az eredmények Bonferroni korrigált értékeit vettük alapul. Összehasonlítottuk az egyes csoportok Hostelling szerinti p-értékeit, melyek alapján az elkülönülések kimutathatóak lehetnek. Szignifikáns eredmény csak az első két mérési sorozatban volt, azonban nem minden személy esetében.

Az első mérés során a halak mérésében nem jártas, de a morfometriában tapasztaltnak számító mérő, két közepesen tapasztalt és a tapasztalatlan mérő esetében a balatonboglári populáció (A), szignifikánsan ($p < 0,05$) eltér a balatonkenesei (B) és keszthelyi (C) populációktól.

Érdekes, hogy a második mérés alkalmával ez a mintázat már nem volt kimutatható. Ebben az esetben már csak az egyik közepes tapasztaltú személynél volt szignifikáns különbség ($p = 0,0290047$) a balatonboglári populáció (A) és keszthelyi (C) populáció között. A harmadik sorozatban pedig, meglepő módon már egy mérő esetében sem volt szignifikáns az eltérés.

IV.5. Formalinban való tartósítás hatása

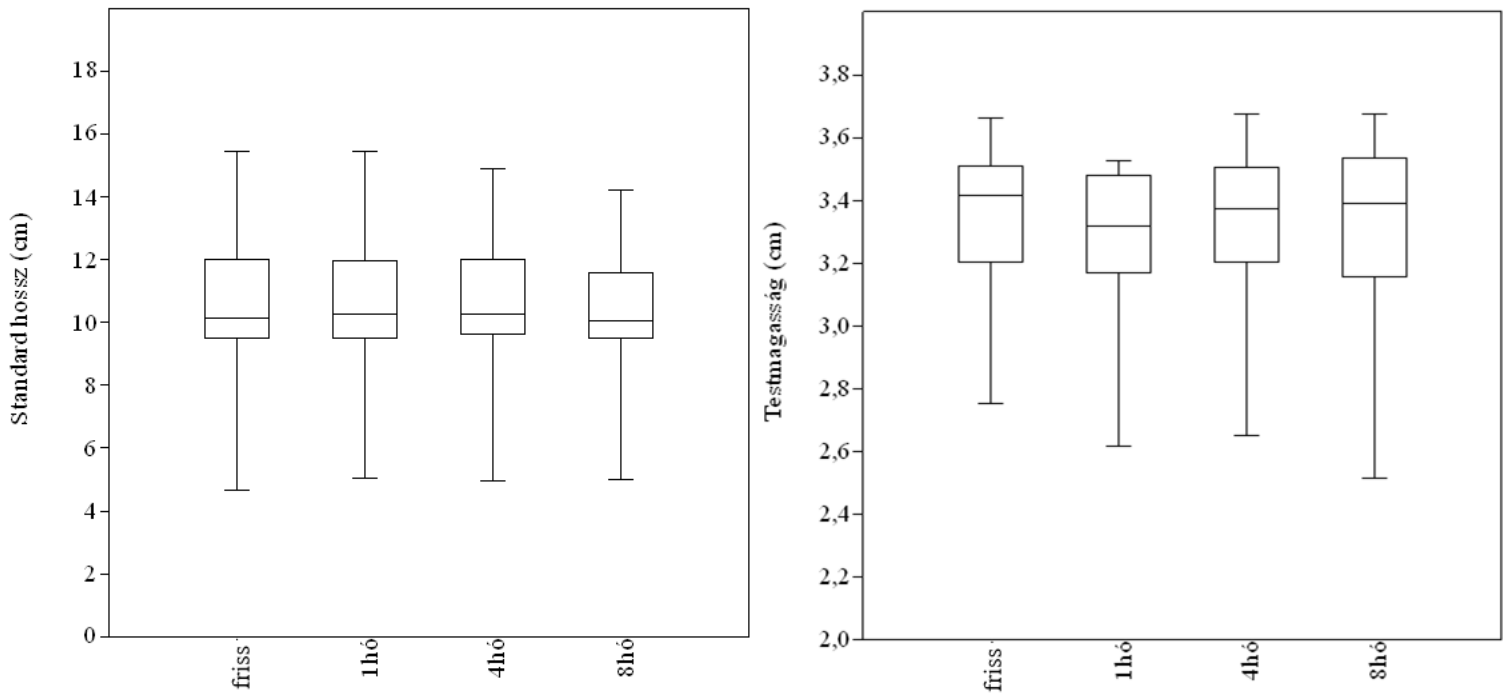
IV.5.1. Tartósítás hatásának összefoglalása a 8 hónap alatt



9.ábra. A négy mérési alkalom eredménye a nyolc hónapnyi tartósítás alatt

Jelen ábra összefoglalja a nyolc hónapig tartósított halakon mért adatok eloszlását (9.ábra). A kék legvilágosabb árnyalatával jelöltem a frissen gyűjtött egyedeken mért változókat. Az alakbeli változásokat ezekhez az mérésekhez viszonyítottuk, hiszen ekkor még semmilyen tartósítási vagy mechanikai hatás nem érte a gyűjtött állatokat, így ez tekinthető az alapállapotnak. Ezután formalinba helyeztük őket és egy hónappal később megismételtük a mérést. A neonkék színű pontok mutatják, hogy az egy hónappal későbbi állapot a frissen gyűjtött egyedekről felvett méretektől szignifikánsan eltér ($p_1=0,00000276$). A negyedik és nyolcadik tartósítási hónapban történt mérések, pedig mind a friss, mind az első havi mérésektől szignifikánsan különböző eredményeket mutatnak ($p_4= 0,000124348$; $0,0029019$ és $p_8= 0,00000488$; $0,0000761$).

IV.5.2. A testhossz és -magasság tartósítás miatti változásának vizsgálata



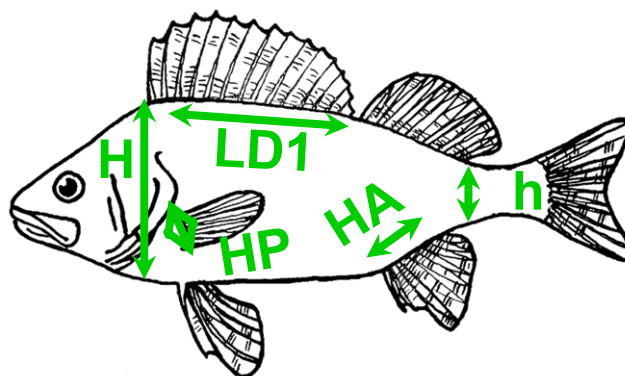
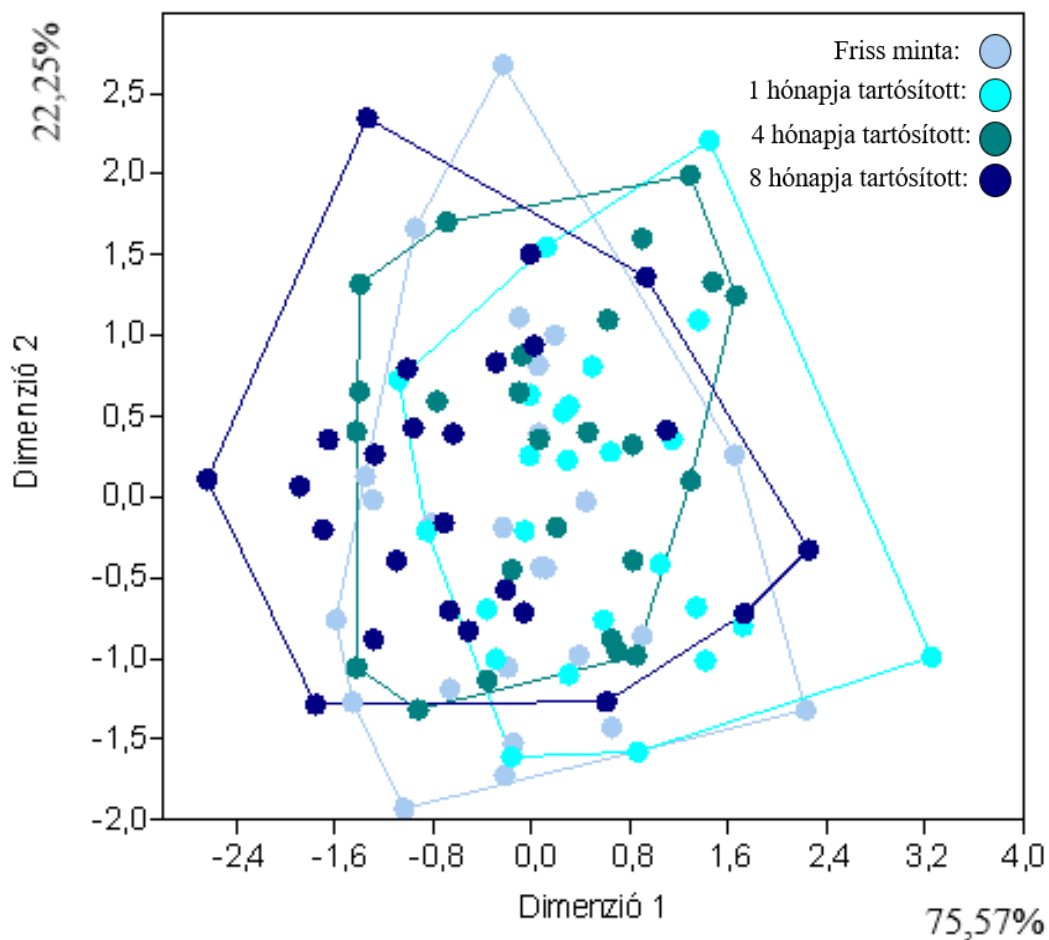
10.ábra. A test hosszának és -magasságának eredménye a négy mérési alkalom során

A boxplotok (10.ábra) a négy mérési ismétlés során felvett standard hosszúság (SL) és testmagasság (H) értékeit mutatja. Ezen időpontokban a két változó vizsgálata alapján szignifikáns eltérés nem volt. A nyolc hónap alatt a halak hosszúsága és magassága nem változott szignifikánsan, a formalinos tartósítás ezeket nem torzította.

IV.5.3. Tartósítás során változó testméretek

Egyes változók F-arány szerinti variancia értéke igen alacsony volt. Ez ugyanis, azt jelenti, hogy ezek a változók a mérések során nem igazán változtak, kicsi volt a varianciájuk. Az ábra is alátámasztja ezt, ugyanis a szelektálás után ezeket az alacsony varianciájú, lényegében a törzsön elhelyezkedő változókat egy analízisbe téve kimutatható, hogy igazán hasonló értékeket vesznek fel a négy időpontban (11.ábra). Tehát elhanyagolható a mérhető

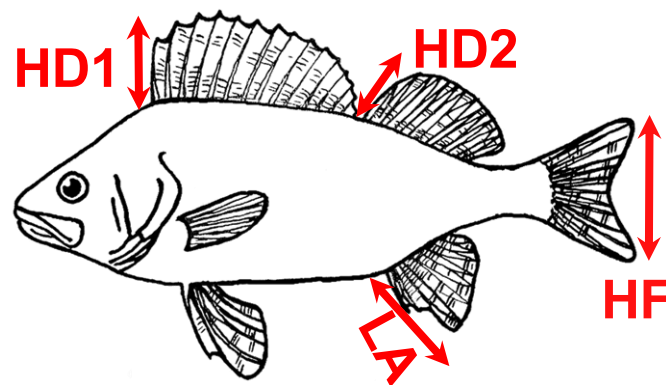
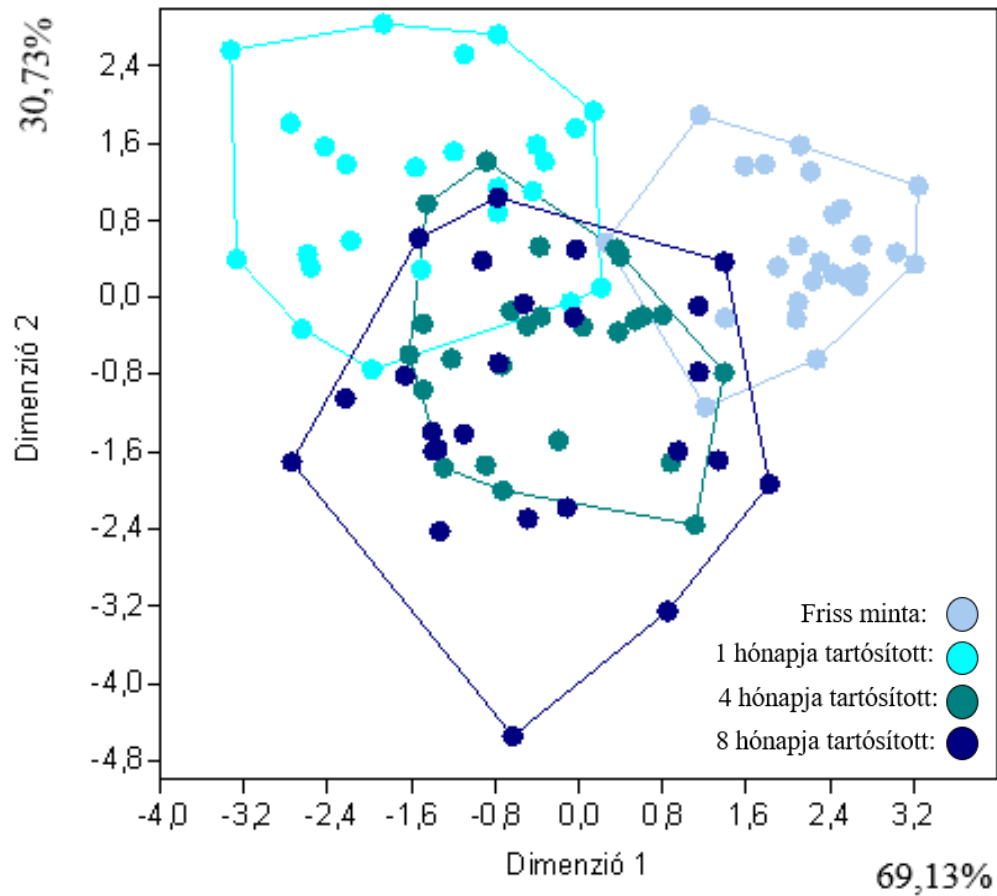
különbség köztük, így ezek viszonylag nagy magabiztosággal mérhetőek a tartósítás bármely szakaszában.



11. ábra. A tartósítás folyamán alig változótestméretek

Más változók F-arányának értéke magasabb volt, ezek nagyon különböznek egymástól a négy időpontban leértékelt egyedeken. Így ezek jelentős változásokon mentek keresztül a formalinban való tartósítása folyamán (12. ábra). Ezeket a kevésbé megbízhatóan mérhető változókat ismételt ANOVA-val összehasonlítva ábrázoltam. A mért pontok a dimenziórendszerben egymástól igen különböző értékeket vesznek fel, ez látható a széthúzó sokszögekből is (12. ábra).

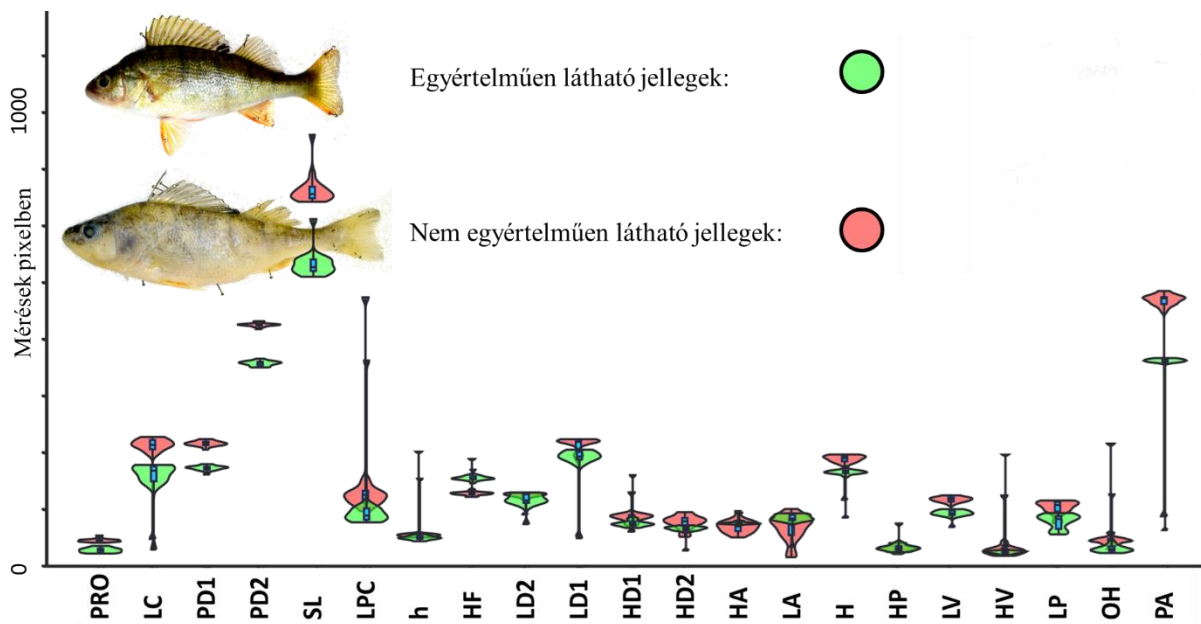
Az érintett változók a hal testfüggelékein, az úszókon és uszonyokon helyezkednek el, ugyanis ezek tartósítás során merevek, nehezebben kezelhetőek lesznek. Ezzel a kitérészt, illetve ezen méretek pontos mérésének lehetőségét akadályozzák.



12.ábra. A tartósítás folyamán szignifikánsan változó testméretek

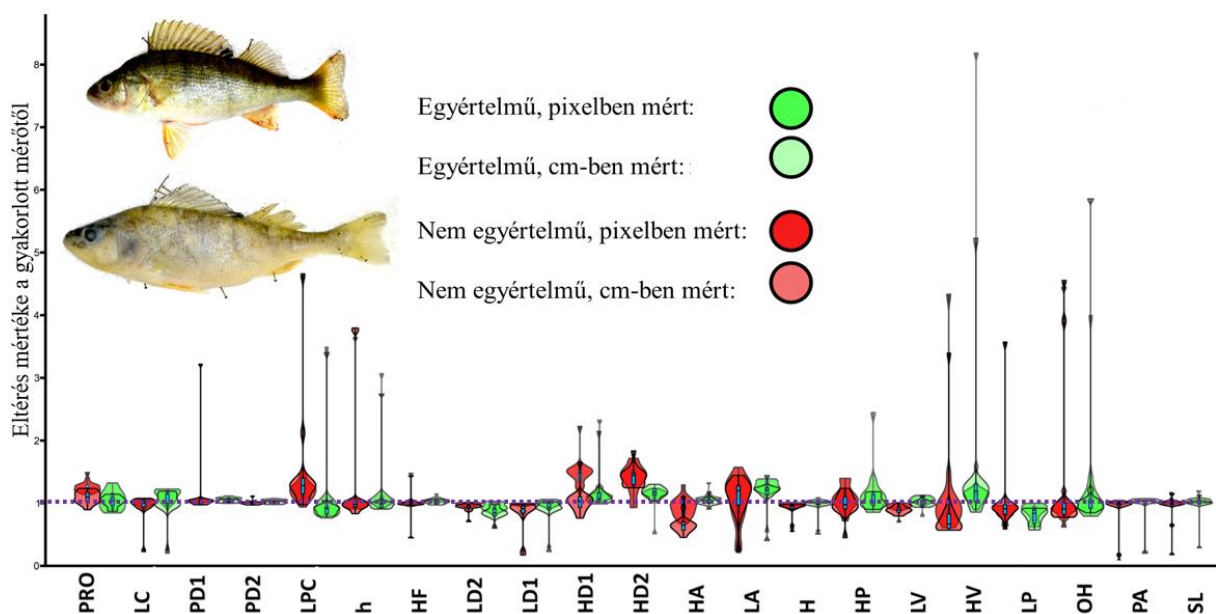
IV.6. A kitűzés módjának hatása

Az ábrán zöld színnel a jól preparált, míg pirossal a nem megfelelően kitűzött egyedeken mérhető változók vannak feltüntetve. Az optimálisan kitűzött halak esetében a mérendő változók egyértelműek, azonban a nem megfelelően prepráltakon ezek nem maguktól értetődőek (13.ábra). A zöld és a piros halványabb árnyalataival az automatizált skálás, míg az élénkekkel a manuálisan pixelben való mérési mód eredményei vannak ábrázolva.



13.ábra. A változók standardizálás előtti eredményei

Majd a 19 résztvevő mérései az általam kapott eredményekhez vannak viszonyítva, így az ettől (lila szaggatott vonal) való relatív eltérések láthatóak (14.ábra).



14.ábra. A már standardizált változók mért eredményei

Az ábráról így leolvasható, hogy a pirossal jelzett, nem megfelelően kitűzött halakon mért változók sokkal nagyobb mértékben térnek el, azaz nagyobb szórásértékekkel mérhetőek, mint azok, amelyeket a jól kitűzött halakon mértek. Tehát úgy tűnik, hogy a megfelelő preparálás hozzájárul a változók mérésének egyértelműségéhez.

A mérés során a 19 mérő egy előre meghatározott sorrend szerint mért, a kiugró pontok pedig ennek a mérési sorrendnek a felcseréléséből adódhatnak. Így az „LV” és „HV” változók, vagyis az első medenceúszó-sugár hosszának és a hasi uszony sugarának magasságának mérési felcserélése állhat a kiemelkedő csúcsok háttérében, ugyanis ezek a méretek jelentősen különböznek egymástól.

A pixelek mérésével való kalibrálás általánosan pontosabb mérési eredményt mutat, például a preorbitális távolság (PRO) és a fejhossz (LC) méretek esetében figyelhető meg, hogy akár a piros, akár a zöld esetében az élénkebb árnyalattal jelölt „hegedűk” esnek közelebb a lila szaggatott vonalhoz.

A kisebb méretű változók, mint az anális úszó szélességének (HA) mért eredményei általánosan nagyobb szórásúak, mert ezeket nehezebb pontosan lemérni. A kis méretek esetében vétett mérési hiba sokkal nagyobb százalékát jelenti az adott változó összméretének, mint a nagyobb változóknál.

V. Diszkusszió

A felmérés alapján elmondható, hogy a módszer használatára, még a kevesebb tapasztalattal rendelkező egyének is alkalmasak, ugyanis az eredményül kapott mintázatok hasonlóak és általában inkább csak a szórás értékek térnek el. A hasonló mintázat tehát jelen esetben, azt jelenti, hogy a lemerített sorozatok és populációk mérési eredményei valóban hasonló tartományban helyezkednek el. Azonban az is jól látható, hogy a tapasztalat mértéke, ezt befolyásolja. A kevesebb tapasztalattal rendelkezők esetében az eredmények sok helyen nem egyeznek a tapasztalt kutatók mérési eredményeivel.

A morfometriában tapasztaltnak számító, de ezidáig halakon méréseket még nem végző személy eredményeit a hal mérésben jártas személy méréseihez hasonlítva látható, hogy a pontatlanság egyre csökken, ahogy a mérő egyre több gyakorlatot szerez a mérési folyamatban. Ugyanis az első populáció 30 egyedének lemerítését követően (A01_T2), a többi mérése nagyon közelített a másik tapasztalt egyén eredményeihez (7.ábra). Tulajdonképpen ezen tanulási vagy tapasztalat szerzési folyamat példája alapján elmondható, hogy a gyakorlás javít a mérések pontosságán, megbízhatóságán és csökkenti az eredmények szórását [39].

A tudomány világában a reprodukálhatóság elengedhetetlen ahhoz, hogy az eredmények valósak és értékelhetőnek számítsanak. Ha ez a feltétel nem teljesül, az a tudományos eredményekbe vetett bizalmat veszélyezteti. Azonban a morfometriában a mért formák komplexitása, illetve a szubjektivitás gyakran negatívan befolyásolja az ismételhetőséget [40]. A morfometriai vizsgálatokban az ismételhetőség hasznos mutatója annak, hogy a mérési hiba a lemerített jellegek eredményeihez mennyiben járul hozzá. A minták kezelése és az újramérések befolyásolhatják az ismételhetőséget, de ezek elkerülhetőek a fényképes mérések esetében, hiszen ezek minősége nem változik [41]. Emiatt, ha van rá lehetőség, a digitális fotókról történő szoftveres mérés alkalmasabb módszer lehet.

Yezerinac és munkatársainak tanulmányában [16], amelyben madarak csontvázának morfometriai jellemzőit vizsgálták, sikerült megállapítaniuk, hogy a megfigyelő tapasztaltsága csökkenti a mérésből származó hibát, azonban ez a hatás csak akkor jelentős, ha több mintát mérnek le a mérők, mint amennyi a morfometriai vizsgálatokban általában megszokott [16].

A kutatásunkban is arra törekedtünk, hogy ezt a morfometriai ismételhetőséget teszteljük. A három különböző tapasztalattal rendelkező személy, egy populációról, háromszor ismételt méréseinek összevetésével (8.ábra) igazoltuk, hogy a gyakorlat mértéke igenis hatással van az eredmények megbízhatóságára. Illetve a megismételhetőséget vizsgálva szintén elmondható, hogy a tapasztalt mérő ismételt sorozatainak eredményei sokkal hasonlóbb eredményeket

adnak, mint a tapasztalatlané, ebből következően, a mérések pontossága javul a tapasztalat megszerzésével. Erre bizonyíték, hogy a közepes tapasztalattal rendelkező személy mérései sokkal inkább a tapasztalt eredményeihez hasonlítanak, mint a tapasztalatlanéhoz.

Azaz, a mérő objektivitása és a mérési pontossága javul a tapasztalat szerzésével, de a lemért adatok egy tapasztalatlan esetében is hasonló mintázatot mutatnak. Fontos szem előtt tartani azonban, hogy az adatsorok szórását jelentősen befolyásolja a mérést végző személy gyakorlottsága. Ezen eredmények alapján az is elmondható, hogy a mérők hatással vannak a mérési eredményekre, tehát a szubjektív hatása is bebizonyosodott a tapasztalat hatása mellett. Ennek következtében általánosan alkalmazott a morfometriában, hogy a méréseket egy személy végzi, ugyanis különböző mérők általában különbözően mérik az egyed azonos tulajdonságait, pontosan a szubjektív hatása miatt [42].

A populációk elkülöníthetőségének felmérésekor érdemes utána járni, hogy mik azok a tényezők melyek alakíthatják a jellegek variabilitását. A vizsgált minták különbségeit okozhatják más fejlődési stádiumok, a földrajzi lokalitások változatossága, illetve genetikai vagy környezeti hatások [10]. Kutatásunkban vizsgált halak is ilyen befolyásoló tényezők miatt különbözhetnek, amelyeket a fenotípusos plaszticitás jelensége okozhat. Lokálisan a körülmények átalakulása egy egész populációra nézve formáló hatású lehet melyek alapján a víztestben élő más populációktól eltérhetnek egyes tulajdonságaikban [43]. A Balatonban a négy különböző medence, az északi és déli part különbségei, mint az aljzat és a vízmélység, illetve a tóban longitudinálisan megfigyelhető trofikus grádiens mind befolyásolhatják a sügerek (*Perca fluviatilis*) alakját, azaz morfometriai mutatóit. Tehát, ha az általunk vizsgált egyedekből álló populációk elkülönülnek az említett okok következtében, akkor ezeket a különbségeket morfometriai mérésekkel jól tudjuk detektálni. A morfológiai és morfometriai vizsgálatok emiatt jól alkalmazhatóak ezek vizsgálatára.

Azonban az általunk vizsgált három populáció úgy tűnik nem különíthető el egységesen. Ez feltételezhetően nem mérési hibának köszönhető, hanem valószínűleg ezek a populációk, a földrajzi távolságok és az egyéb felsorolt körülmények ellenére, nem különböznek egymástól olyan mértékben, hogy morfometriai vizsgálatokkal ezt biztosan ki lehessen mutatni. Emiatt a jövőben genetikai módszerek bevonásával is igyekszünk megvizsgálni a balatoni populációk kapcsolatát, hátha azzal mást válaszokat kapunk.

Mind a három mérési sorozatban az elkülönülés, illetve a mérők ismétléseinek eredménye is más lett. A p-értékeket megvizsgálva úgy tűnik, hogy a populációk nem különülnek el

egymástól egyértelműen, hiszen nem mutattak konkrét mintázatot a mérők eredményei a szeparációt illetően.

A jövőben a populációk elkülöníthetőségéhez nagyban hozzájárulhat a megfelelő változók választása, ugyanis, ha nem elég variábilis jellegek lemerését választjuk, abban az esetben lehet, hogy a különbség meg van a vizsgált egyedek vagy populációk között csak éppen a módszereink nem a megfelelő jellegek mérésére irányultak. Ezek további vizsgálatához érdemes az elkülönítést rontó változók kiválogatását alkalmazni. A maradék változók alapján esetleg a méréseket újra el lehetne végezni csak ezekkel az elkülönítésben hasznosnak ítélt változókkal, többszöri lemerésben, ahogy azt Yezerinac és munkatársai is javasolják [16]. Tehát az elkülöníthetőséget rontó változók kizselektálásával és csak a különbséget mutató változókkal újramérve lehetséges, hogy más eredményt kapnánk, ahol esetleg a populációk közötti valósabb viszonyok feltárulnának. Illetve az is egy lehetőség, hogy egyszerűen túl sok vagy túl kevés volt a választott változók száma és ennek változtatása nyújtana választ a kérdésre. Emellett a szakirodalomban több tanulmány is megállapította, hogy a kisebb mérendő távolságok lemerésekor nagyobb a pontatlan mérés valószínűsége, vagyis minél nagyobb egy mérni kívánt változó hossza annál pontosabban, kisebb mértékű szórással lehet lemérni [44].

A kutatás kiegészítéseként, megvizsgáltuk a képek minőségének, azaz a vizsgálati organizmus elhelyezésének, kitűzésének hatását. Más felméréssel összevetve is azt az eredményt kaptuk, hogy a kitűzés módja jelentősen befolyásolja a fényképeken mért eredmények érvényességét, minőségét [14]. A nem megfelelően kifeszített halakon ugyanis a meghatározott változók nem egyértelműen mérhetőek, ebből kifolyólag ezek félrevezető eredményeket mutathatnak. Egy esetleges megoldás lehet az egyedek kitűzve tartósítása, azonban ez igen hely igényes, nagyobb tárolóedények és több tartósítószer is kell hozzá. Ezek miatt nem biztos, hogy ez bizonyul a leghatékonyabb megoldásnak, azt nem is említve, hogy elképzelhető, hogy a kitűzve tárolás ellenére, a testfüggelékek ugyanúgy elszakadhatnak és a testalak deformálódhat.

A hagyományos morfometriai elemzéssel kimutatták a formalinban történő tartósítás során bekövetkező méret- és alakváltozásokat, amelyek intenzitása fajonként eltérő lehet [45]. A hal különböző testrészeire más-milyen hatással lehet ez a tartósítószer. Ebből következhet, hogy a törzsön található méretek, illetve a testhossz és -magasság azért nem változik szignifikánsan, mert a pikkelyekkel való fedettség miatt nehezebben juthat be a formalin.

Vizsgálatunk eredményeként, mi is arra jutottunk, hogy az első hónaptól fogva jelentős eltérésekre kell számítani, melyek mértéke az idő előrehaladtával egyre nő, az eredeti testalak egyre torzul. Összességében más tanulmányok eredményei is azt mutatják, hogy a tartósítás az artefaktuális eltérések jelentős forrása lehet [17].

A tartósítást megelőző fagyasztás a szövetek víztartó képességének visszafordíthatatlan csökkenéséhez vezet, mely elsősorban a fehérjék denaturációjának és a lipidek oxidációjának köszönhető. Ezáltal a szövetekben degradációt indít meg a sejtek szintjén [46]. A jövőbeni kutatások során érdemes lehet megvizsgálni, hogy a formalinos konzerválás közvetlenül friss mintákból, köztes fagyasztási lépés (halak fagyasztása és kiolvasztása) nélkül vajon kisebb alakbeli változásokat eredményez-e [17].

A formalinba való helyezésnek azonban számos más hátránya is lehet az alak megváltozása mellett, például a lágy szövetek megkeményedése általi nehéz mozgathatóság, szín elvesztése, illetve a kezelőre nézve rákkeltő is lehet. A fixáló anyagba helyezési technikák (formalin, alkohol, izopropanol) mellett a fotózás szintén egyfajta tartósítási megoldás. Ezzel ugyanis szintén értékes és viszonylag változatlan információkat őrzünk meg az utókor számára. Egyelőre ez tűnik a legjobb és leggazdaságosabb tartósítási módnak.

Egy alkalmasnak bizonyuló másik digitális módszer lehet a nagy felbontású 3D képalkotó módszer, vagyis a 3D szkennelés. Berquist és munkatársai szerint a konzervált halak szkennelése jelentősen javítja az elérhető eredményt, mivel stabilizálja a szöveteket és olyan mozgástól mentes adathalmazokat hoz létre, amely hosszabb szkennelési idővel lényegesen nagyobb képfelbontást tesz lehetővé [46]. Azonban figyelembe véve a tartósítással kapcsolatos fentebb említett problémákat, érdemes lehet egy köztes állapotban végezni a szkennelést, amikor az állat nem mozog, de még él. Ugyanis az alakváltozás mértékében szerepet játszhatnak a halálhoz köthető izomösszehúzódások is [47]. Így megoldásként felmerülhet az altatásban lévő hal szkennelése, mely csak akkora dózissal altatószert bejuttatását igényli, hogy az állat mozdulatlan legyen, de a test leképezése után esetlegesen vissza is lehessen engedni a vízbe.

Rá kell jönnünk azonban, hogy igazság szerint nem létezik univerzálisan megfelelő fixálási mód, mint ezt König és munkatársai is nyilatkozták [26]. Ugyanis mindegyik tartósítási folyamat során valamilyen változás végbemegy, mely torzíthatja az adatokat szolgáltató szervezet alakját, ezáltal a levont következtetéseket is. Fontos mérlegelni, alapos kutatómunkát

végezni mielőtt belekezdünk egy felmérésbe és mindig érdemes azt a megoldást választani, amely a kutatási cél szempontjából a legmegfelelőbb tartósítási technikának bizonyul.

A konzerválás hatásának vizsgálatai alapján elmondható, hogy a formalinban való tartósítás és a mechanikai hatások, mint a tároló edénybe való behelyezés, illetve kivétel és kitűzés is jelentősen megváltoztatja a halak testalakját. Összefoglalva tehát a frissen fogott egyedekről, jól értelmezhető, digitális fényképeken történő szoftveres mérésekkel a morfometriai mérések pontossága növelhető, a szubjektív hatás csökkenthető. Ezeket a megközelítéseket alkalmazva érdemes lehet tovább vinni a kutatást, egy minél átfogóbb, pontosabb tudományos eredmény elérésének érdekében.

VI. Irodalomjegyzék

- [1] Matthews PH. Morphology. Cambridge University Press; 1991. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139166485>.
- [2] Darwin C. On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. London: John Murray; 1859.
- [3] Linné C von. Systema naturae per regna tria naturae secundum classes ordines genera species.vol. 1. Georg Emanuel Beer: 1788. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.559>.
- [4] Norman MacLeod, Peter L. Forey. Morphology, Shape and Phylogeny. CRC Press; 2002. <https://doi.org/10.1201/9780203165171>.
- [5] Bookstein F. L. A hundred years of morphometrics. Acta Zool Acad Sci Hung 1998; 44:7–59.
- [6] Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. Geometric morphometrics: Ten years of progress following the ‘revolution.’ Italian Journal of Zoology 2004; 71:5–16. <https://doi.org/10.1080/11250000409356545>.
- [7] Elewa AMT. Morphometrics for Nonmorphometricians. vol. 124. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-95853-6>.
- [8] FJ Rohlf, Blackith RE, Reyment RA. Multivariate Morphometrics. Systematic Biology. 1972.;21(3):348–9.
- [9] Claude J. Morphometrics with R. New York, NY: Springer New York; 2008. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-77789-4>.
- [10] James Rohlf F, Marcus LF. A revolution morphometrics. Trends Ecol Evol 1993; 8:129–32. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90024-J](https://doi.org/10.1016/0169-5347(93)90024-J).
- [11] Bánó B, Takács P. Effects of the analysed variable set composition on the results of distance-based morphometric surveys. Hydrobiologia 2022; 849:2267–80. <https://doi.org/10.1007/s10750-022-04864-2>.
- [12] Parsons KJ, Robinson BW, Hrbek T. Getting into Shape: An Empirical Comparison of Traditional Truss-Based Morphometric Methods with a Newer Geometric Method Applied to New World Cichlids. Environ Biol Fishes 2003; 67:417–31. <https://doi.org/10.1023/A:1025895317253>.
- [13] Takács P, Vitál Z, Ferincz Á, Staszny Á. Repeatability, Reproducibility, Separative Power and Subjectivity of Different Fish Morphometric Analysis Methods. PLoS One 2016; 11: e0157890. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157890>.
- [14] Maroda Á., Takács P., Sály P. Kisméretű halak manuális és szoftveres morfometriai mérési pontossága. . Hidrológiai Közlöny 2016; 96:56–8.
- [15] Walther BA, Moore JL. The concepts of bias, precision and accuracy, and their use in testing the performance of species richness estimators, with a literature review of estimator performance. Ecography 2005; 28:815–29. <https://doi.org/10.1111/j.2005.0906-7590.04112.x>.

- [16] Yezerinac SM, Lougheed SC, Handford P. Measurement Error and Morphometric Studies: Statistical Power and Observer Experience. *Syst Biol* 1992; 41:471–82. <https://doi.org/10.1093/sysbio/41.4.471>.
- [17] Fruciano C, Schmidt D, Ramírez Sanchez MM, Morek W, Avila Valle Z, Talijančić I. Tissue preservation can affect geometric morphometric analyses: a case study using fish body shape. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 2020.;188(1):148–62.
- [18] Arnqvist G, Mårtensson T. Measurement error in geometric morphometrics: empirical strategies to assess and reduce its impact on measures of shape. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 1998; 44: 73–96.
- [19] Glasbey CA, Horgan GW, Gibson GJ, Hitchcock D. Fish shape analysis using landmarks. *Biometrical Journal* 1995;37: 481–495.
- [20] Fournie JW, Krol RM., Hawkins WE. Fixation of Fish Tissues. *The Laboratory Fish* 2000; 569–578. doi:10.1016/b978-012529650-2/50043-3.
- [21] Miki M, Ohishi N, Nakamura E, Furumi A, Mizuhashi F. Improved fixation of the whole bodies of fish by a double-fixation method with formalin solution and Bouin's fluid or Davidson's fluid. *J Toxicol Pathol*. 2018;31(3):201–6.
- [22] Putt FA. *Manual of Histopathological Staining Methods*, John Wiley, New York. 1972; 335pp.
- [23] Baker JR. *Principles of Biological Microtechnique*. John Wiley, New York. 1958; 3rd edn.
- [24] Roberts RJ. *Fish pathology*. Chichester, West Sussex Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2012; 4. ed: 440pp.
- [25] Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. 1980; 2nd edn: 40-58. Reissued in 1987 by Battelle Press, Columbus, Ohio.
- [26] König U, Borcherdig J. Preserving young-of-the-year *Perca fluviatilis* in ethanol, formalin, or in a frozen state and the consequences for measuring morphometrics: Preserving *P. fluviatilis* in ethanol, formalin, frozen state. *Journal of Applied Ichthyology*. 2012.;28(5):740–4.
- [27] Borics G, Ács É, Boda P, Boros E, Erős T, Grigorszky I. Water bodies in Hungary—an overview of their management and present state. *Hung J Hydrol* 2016; 96:57–67.
- [28] Sagehashi M. A mathematical model of a shallow and Eutrophic Lake (The Keszthely Basin, Lake Balaton) and simulation of restorative manipulations. *Water Res* 2001; 35:1675–86. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00435-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00435-8).
- [29] Herodek S, Istvánovics V, Zlinszky J. Phosphorus metabolism and eutrophication control of Lake Balaton. *SIL Proceedings, 1922-2010* 1988;23:517–21. <https://doi.org/10.1080/03680770.1987.11897973>.
- [30] Vörös L, Göde PN. Long term changes of phytoplankton in Lake Balaton (Hungary). *SIL Proceedings, 1922-2010* 1993;25:682–6. <https://doi.org/10.1080/03680770.1992.11900224>.

- [31] Bíró P. Long-term changes in Lake Balaton and its fish populations, 2000, p. 599–613. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(00\)31032-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(00)31032-7).
- [32] Harka Ákos, Sallai Zoltán. Magyarország halfaunája. Szarvas: Nimfea T. E.; 2004.
- [33] Takács P, Ferincz Á, Staszny Á, Vitál Z. Effect of bodyside-specific data processing on the results of fish morphometric studies. *Fundamental and Applied Limnology* 2018; 192:137–44. <https://doi.org/10.1127/fal/2018/1159>.
- [34] Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 2012; 9:671–5. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>.
- [35] Elliott NG, Haskard K, Koslow JA. Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia. *J Fish Biol* 1995; 46:202–20. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1995.tb05962.x>.
- [36] Øyvind Hammer., Harper DAT, P. D. Ryan PD. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 2001; 4:1–9.
- [37] Podani J. “SYN-TAX 2000”. Computer program for data analysis in ecology and systematics for WINDOWS 95, 98 & NT. Budapest: Scientia Publishing; 2001.
- [38] Kim HY. Analysis of variance (ANOVA) comparing means of more than two groups. *Restor Dent Endod.* 2014;39(1):74.
- [39] Fruciano C. Measurement error in geometric morphometrics. *Dev Genes Evol* 2016; 226:139–58. <https://doi.org/10.1007/s00427-016-0537-4>.
- [40] Vrdoljak J, Sanchez KI, Arreola-Ramos R, Diaz Huesa EG, Villagra A, Avila LJ. Testing repeatability, measurement error and species differentiation when using geometric morphometrics on complex shapes: a case study of Patagonian lizards of the genus *Liolaemus* (Squamata: Liolaemini). *Biological Journal of the Linnean Society* 2020; 130:800–12. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa079>.
- [41] Wylde Z, Bonduriansky R. A comparison of two methods for estimating measurement repeatability in morphometric studies. *Ecol Evol* 2021; 11:763–70. <https://doi.org/10.1002/ece3.7032>.
- [42] Mina MV, Levin BA, Mironovsky AN. On the Possibility of Using Character Estimates Obtained by Different Operators in Morphometric Studies of Fish. . *J Ichthyol* 2005; 45:284–94.
- [43] Svanbäck R, Eklöv P. Genetic variation and phenotypic plasticity: Causes of morphological and dietary variation in Eurasian perch. *Evolutionary Ecology Research*, 8, 37-49 2006;8:37–49.
- [44] von Cramon-Taubadel N, Frazier BC, Lahr MM. The problem of assessing landmark error in geometric morphometrics: Theory, methods, and modifications. *Am J Phys Anthropol* 2007; 134:24–35. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20616>.

- [45] Butler JL. Collection and preservation of materials for otolith analysis. In: Stevenson DK, Campana SE (eds) Otolith structure examination and analysis. Can Spec Pub Fish Aquat Sci 1992; 117:13–17.
- [46] Berquist RM, Gledhill KM, Peterson MW, Doan AH, Baxter GT, Yopak KE. The Digital Fish Library: Using MRI to Digitize, Database, and Document the Morphological Diversity of Fish. Iwaniuk A. PLoS ONE. 2012;7(4): e34499.
- [47] Valentin AE, Penin X, Chanut JP, Sévigny JM, Rohlf FJ. Arching effect on fish body shape in geometric morphometric studies. Journal of Fish Biology 2008; 73: 623–638.

VII. Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni témavezetőimnek, Dr. Takács Péternek és Dr. Szűts Tamásnak, akik bevezettek a morfometria és a kutatás világába. Amellett, hogy részt vettek a morfometriai mérésekben, rengeteget segítettek a diplomamunkám során és végig mutatták a helyes irányt. Köszönettel tartozom az Állatorvostudományi Egyetem hallgatóinak, Maróthy Róbert Dánielnek, Mayer Ádámnak, Takács-Vágó Hunornak és a Biológia BSc II. évfolyamának, akik a mérésekben közre működtek és rengeteg adatot szolgáltatottak, ezzel lehetővé téve a kutatás létrejöttét.

VIII. Nyilatkozatok

Témavezetői ellenjegyzés

Alulírott Szűts Tamás, Takács Péter..... igazolom, hogy
..... Pallos Réka (a hallgató neve)
„Morfometriai vizsgálatok balatoni sügereken (*Perca fluviatilis*)” című diplomamunkát
ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2024 április 24.....



.....
a témavezető(k) neve és aláírása(i)

Takács Péter Szűts Tamás

Biológiai Intézet Zoológiai tanszék