

Válaszok Liker András opponensi kérdéseire

Köszönöm Liker András Professzor Úrnak, hogy elvégezte akadémiai doktori disszertációm bírálatát. Büszke vagyok rá, hogy elvállalta és foglalkozott vele, mert nagy tisztelője vagyok Professzor Úr kiugróan sikeres csoportvezetői tevékenységének és lenyűgöző publikációs eredményességének. Köszönöm szépen Professzor Úrnak a disszertáció tartalmára vonatkozó elismerő szavait is, örülök, hogy az akadémiai doktori cím elnyeréséhez a disszertáció színvonalát megfelelőnek ítéli.

Válaszok a kérdésekre

1.) *Plaszticitás finomhangoltságának általánossága*

Nincs okunk feltételezni, hogy az ebihalak egyéb gerincesekhez, vagy akár nagyobb általánosságban, egyéb előlényekhez képest különösen érzékenyen reagálnának a környezetükből érkező, rájuk nézve fenyegetést jelző ingerekre. Nagy irodalma van például a különböző ragadozófajok jelenlétére adott válaszoknak. DeWitt és munkatársai (2000) egy édesvízi csiga faj (*Physa* sp.) esetében mutatták ki, hogy csigákkal is táplálkozó halfaj jelenlétében nevelkedve a csiga összeroppantásra ellenállóbb, gömbölydedebb házat növeszt, míg a csigát a háza nyílásán benyúlva elérni próbáló rákok jelenlétében keskenyebb szájú, nyúlánkabb házat alakít ki. Zhang és munkatársai (2022) egy kerekeshéregnél (*Brachionus calyciflorus*) igazoltak ragadozófaj- és veszélyintenzitás-függő indukált válaszokat. Ezek a vizsgálatok igazolják, hogy már a gerinctelenek is képesek például különböző ragadozók és a predációs veszély szintjei között különbséget tenni és a környezetükben elérhető információ alapján a túlélési esélyeiket növelő választ adni. Ennek megfelelően a finomhangolt plasztikus válaszok általánosan jellemzőek lehetnek a teljes élővilágra.

DeWitt TJ, Robinson BW, Wilson DS (2000): Functional diversity among predators of a freshwater snail imposes an adaptive trade-off for shell morphology. *Evolutionary Ecology Research*, 2: 129–148.

Zhang H, He Y, He L, Zhao K, García Molinos J, Hansson L-A, Xu J (2022): Plasticity in rotifer morphology induced by conflicting threats from multiple predators. *Freshwater Biology*, 67: 498–507.

2.) *Göte jelenlétében miért nem nőnek mindig nagyobbra az ebihalak?*

Professzor Úr kérdése abszolút logikus, egy a szájmérete által limitált ragadozó jelenlétében, amilyenre a pettyes göte válhat ebihalakkal kapcsolatosan, védelmet nyújthat a prédaállatok számára, ha gyorsan nagyra nőnek. Mégis, az egyik ezzel is foglalkozó cikkben (Hettyey és mtsai. 2011) nem kaptunk arra utaló eredményt, hogy a ketrecbe zárt gótek jelenlétében nagyobbak lettek volna az átalakuláshoz közeledő erdei béka ebihalak, mint a kontroll kezelésben, és a metamorfok testtömegében sem volt a kezelések között különbség. Mivel az ebihalak testméretét és a testtömeget csak egy-egy pillanatban (a 40. napon, vagyis 1-2 héttel átalakulás előtt, illetve átalakuláskor) mértük, nem tudjuk, hogy a bizonyos fokú védelmet nyújtó, viszonylag nagy testméretet nem érték-e el hamarabb a kétéltűlárvák a gótek jelenlétében. Ugyanakkor a kísérlet szabadon úszó ragadozós részében azt találtuk, hogy a gótekkel szemben az adott kísérleti környezetben egyáltalán nem érték el az ebihalak a nagy méret okozta védettséget („size refuge”) biztosító testméretet. A másik, hasonló cikkünk (Hettyey és mtsai. 2010) eredményei szerint a gótek ugyancsak nem indukáltak nagyobb testméretet, vagy gyorsabb növekedést a kontrollhoz képest, csak egy tendencia mutatkozott a korai lárvafázisban, ami később el is tűnt, és csak a szitakötőlárvák jelenlétében nevelt ebihalakhoz és nem a kontrollokhoz képest. Mindkét kísérletünk és mások eredményei is (pl.: Laurila és mtsai. 2006; Ramamonjisoa és mtsai. 2018) így arra utalnak, hogy nem hat erős

szelekció annak irányába, hogy az ebihalak gőtéik jelenlétében gyorsabban nőjenek. Ennek hátterében egyrészt az állhat, hogy az efemer vizekben jelenlévő egyéb ragadozók nagy száma és abundanciája és az ebihalak élőhelyeül szolgáló kisvizek korai kiszáradásának lehetősége miatt gőtéik nélkül is erős a szelekció ami a gyors és intenzív növekedés irányába hat. Másrészt, a nagy testméret nyújtotta, gőtéik elleni védelem csak későn lép életbe és így rövid ideig él, ugyanakkor az erdei béka lárvák esetében legfeljebb részleges lehet (lásd Hettyey és mtsai. 2011).

Hettyey A, Zsarnóczai S, Vincze K, Hoi H, Laurila A (2010): Interactions between the information content of different chemical cues affect induced defences in tadpoles. *Oikos*, 119: 1814–1822.

Hettyey A, Vincze K, Zsarnóczai S, Hoi H, Laurila A (2011): Costs and benefits of defences induced by predators differing in dangerousness. *Journal of Evolutionary Biology*, 24: 1007–1019.

Laurila A, Pakkasmaa S, Merilä J (2006): Population divergence in growth rate and antipredator defences in *Rana arvalis*. *Oecologia*, 147: 585–595.

Ramamonjisoa N, Rakotonjoely H, Natuhara Y (2018): Defense investments and growth responses under different predation risks and gape-limitation predation threats in a tadpole prey. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 72: 144.

3.) Ragadozók lemosása okozta torzítás

Professzor úr felvetése valóban egy problémás pontra irányul, amit a cikkekben nem diszkutáltunk. A ragadozók mosása valószínűleg megemeli a ragadozókat érő stressz szintjét, ami kihathat az általuk leadott, és az ebihalak által érzékelhető kémiai jelzések összetételére is. Gondolhatunk itt például a stressz-indukált széklet-, vagy vizeletürítésre. Amennyiben az így felszabaduló kémiai jelek generikusak (pl. ammónia a vizeletben), stresszválaszt válthatnak ki az ebihalakból is, de minél taxon-specifikusabbak ezek a jelek, annál kevésbé. Mindenesetre, a ragadozóknál a mosás okozta stressz valóban torzíthatja a nem mosott ragadozóval történt összehasonlításból kapott eredményt. A 2. cikk (Hettyey és mtsai. 2010) viselkedésre (rövid távra) vonatkozó eredményei némileg támogatják ezt a feltételezést, hiszen, legalábbis az első mintavételezés időpontjában, a mosott ragadozók jelenlétében jobban lecsökkent az ebihalak aktivitása, mint a nem mosott ragadozók jelenlétében. A 4. cikk (Hettyey és mtsai. 2015) eredményei ugyanakkor ellentmondanak a felvetésnek, hiszen a mosott ragadozók egyik mintavételi időpontban sem váltottak ki erősebb viselkedési választ (sőt, a 3. időpontban éppen ellenkezőleg, gyengébbet), mint a nem mosott ragadozók. Ezt erősíti ugyanezen cikk azon eredménye is, hogy a nem-rana lárvákkal etetett, de mosott ragadozókra nem reagáltak intenzívebben az ebihalak, mint az éheztetett ragadozókra, vagyis a ragadozó mosása önmagában nem okozott megnövekedett viselkedési választ az ebihalakban. A hosszabb távú, lassabban kialakuló és kevésbé plasztikus morfológiai védekezés mindkét vizsgálatban a mosott ragadozók jelenlétében volt kevésbé intenzív. Mindezekről függetlenül szeretném megjegyezni, hogy ezeket az eredményeket nem tudtuk előre, így a mosás melletti döntésünket az a tény motiválta, hogy nem találtunk jobb módszert a ragadozásból eredő kémiai jelek eltávolítására.

Hettyey A, Zsarnóczai S, Vincze K, Hoi H, Laurila A (2010): Interactions between the information content of different chemical cues affect induced defences in tadpoles. *Oikos*, 119: 1814–1822.

Hettyey A, Tóth Z, Thonhauser KE, Frommen JG, Penn DJ, Van Buskirk J (2015): The relative importance of prey-borne and predator-borne chemical cues for inducible antipredator responses in tadpoles. *Oecologia*, 179: 699–710.

4.) Statisztikai elemzéssel kapcsolatos kérdések

A 2. cikkben (Hettyey és mtsai. 2010) tényleg tartály átlagokon végeztük a testalak elemzését, aminek technikai oka volt: a testalakot leíró változók között erős korreláció volt, ezért nem lett volna jó külön-külön elemezni őket, így többváltozós (multivariate) elemzést végeztünk, amibe az elemzéseknel használt SPSS 15.0 még nem tudott random faktort bevenni. Az így kapott eredményeink konzervatívak, de legalábbis első fajú statisztikai hibát (fals pozitív) nem vétettünk ezzel a megközelítéssel.

Az utolsó bekezdésben a viselkedésre vonatkozó két mintavételi időszakot azért elemeztük külön is, mert a mintavételi időpont („date of sampling occasion”) és a ragadozófaj („predator type”) közötti interakció, valamint a mintavételi időpont és a ragadozók mosása („types of cues present”) közötti interakció szignifikáns hatással volt az ebihalak aktivitására. Tettük ezt azért is, mert a vonatkozó ábráról (Fig. 3) látható volt, hogy egy kiugró csoport, a 10. napon vizsgált, kisebb táplálékmennyiséggel etetett és nem mosott götte jelenlétében nevelt ebihalak kiugróan magas aktivitása okozta mindkét interakció szignifikanciáját. A két időpont külön történt, részletesebb elemzése ezt a mintázatot statisztikákkal is alátámasztotta, ráadásul kimutatta az ábrán ugyancsak jól látszó, 2. időpontban észlelhető, ragadozófaj és ragadozó-táplálékmennyiség közötti interakció hatását is. Mivel az ábrán látható mintázatnak jobban megfelelnek a két mintavételi időpont adatainak külön-külön elemzésével kapott eredmények, ráadásul a mintavételi időpont és a ragadozófaj, ill. a ragadozók mosása közötti interakció szignifikanciája „feljogosított” a külön elemzés elvégzésére, a külön-külön történt elemzés eredményét tartom pontosabbnak és értelmezendőnek. Tisztában vagyok vele, hogy ez az eljárás vitatható, hiszen a külön történt, két időpontban megismételt elemzéssel megnöveltük a 2. fajú statisztikai hiba esélyét, de hogy erre az adott esetben (szignifikáns interakció mögötti mintázat felderítése) kell-e korrigálni, tudtommal nincs konszenzus.

Hettyey A, Zsarnóczai S, Vincze K, Hoi H, Laurila A (2010): Interactions between the information content of different chemical cues affect induced defences in tadpoles. *Oikos*, 119: 1814–1822.

5.) A bufadienolid-összmennyiség mérésének hibája

A bufadienolidok összmenyiségének pontos meghatározása csak akkor lehetséges, ha egyértelműen beazonosítottuk az összes komponenst, és rendelkezésünkre áll minden komponensből kellő mennyiségű tiszta standard is. Mivel a komponensek többségét egyértelműen beazonosítani nem tudtuk (az említett vizsgálatban a megtalált 20 komponens közül a rendelkezésünkre álló 9 standard segítségével csak a bufotalin és a telocinobufagin volt beazonosítható), kénytelenek voltunk a bufotalint használni univerzális standardként a mennyiségi meghatározásnál. Ez biztosan hibával terhelt, hiszen a HPLC nyomán végzett, tömegspektrometria (MS) segítségével kapott kromatogramm csúcsok görbe alatti területeinek méretéből számolt mennyiségek némileg eltérnek egymástól, ha különböző standardok görbéihez viszonyítjuk őket. Vagyis, az általunk számolt összmenyiség bevallottan egy meglehetősen durva becslés („rough estimate”-ként hivatkozunk rá a cikkekben). A pontos mennyiségi viszonyok meghatározásához minden komponenst be kellett volna azonosítani és minden beazonosított komponensből be kellett volna tudni szerezni standardot, ami egy kémiai analitikus specialista számára egy külön, többéves és igen költséges projekt lett volna. Így elérhető alternatíva híján alkalmaztuk ezt a módszert. Védelmünkre szól, hogy más, világszínvonalú csoportok is alkalmazzák ugyanezt a megközelítést (Benard és Fordyce 2003; Hagman és mtsai. 2009). Egy friss cikkben Max Mühlenhaupt és kollégái (2026) már új, pontosabb módszerrel, nagyfelbontású tömegspektrometriával (high-resolution MS) próbálták meghatározni az egyes méregösszetevőket, de ez a módszer sem volt képes egyértelműen

beazonosítani a mérgek komponenseket (lásd a cikk supplementumában a Table S3-ban), így ők sem jutottak sokkal előbbre a mennyiségek meghatározásában.

Professzor Úr kérdése kitért arra is, hogy van-e adatunk az össz-mérgekmennyiség becslésének hibájára és ismételhetőségére vonatkozóan. A rövid válaszem, hogy erre vonatkozó, elemezhető adataink sajnos nincsenek, mivel minden ebihalból v. frissen átalakult juvenilis varangyból egy mintánk származott a HPLC-MS elvégzéséhez éppen csak elégséges mérgekmennyiséggel. Felnőtt állatokból gyűjthettünk volna nagy mennyiségű mérget, amit alapos keverés után feloszthattunk volna almintákra, és ezeket külön-külön elemezve becsülhettük volna a hibát és az ismételhetőséget, de ilyen módszertani vizsgálatot nem végeztünk sem mi, sem mások (eddig). Mindenesetre, a módszer okozta hiba minimalizálása érdekében egy-egy vizsgálatból származó mintákat rövid időn belül, ugyanazon kutatók dolgozták fel, elválasztásuk ugyanazon a HPLC-oszlopon történt, ugyanazon módszerrel, az analitikai elemzés eredményeit pedig ugyanazon, analitikával magas szinten dolgozó kolléga, Móricz Ágnes (MTA ATK NÖVI) értékelte ki (ő technikai ismételések elvégzésével ellenőrizte a csúcs alatti terület méretére vonatkozó becslés relatív standardhibáját, ami komponenstől függően 2-6 %-nak adódott, ami megfelelőnek számít az alkalmazott ESI-MS esetén). Ez az analitikai kémiai elemzéseknél általánosan elégségesnek elfogadott eljárás.

Benard MF, Fordyce JA (2003): Are induced defenses costly? Consequences of predator-induced defenses in western toads, *Bufo boreas*. Ecology, 84: 68–78.

Hagman M, Hayes RA, Capon RJ, Shine R (2009): Alarm cues experienced by cane toad tadpoles affect post-metamorphic morphology and chemical defences. Functional Ecology, 23: 126–132.

Mühlenhaupt M, Baxter-Gilbert J, Riley JL, Makhubo BG, Dlodla NS, Baider C, Florens FBV, Porcel X, de Villiers A, van Otterlo WAL, Measey J (2026): Changes in the chemical defenses of an invasive toad indicate drivers and limitations of adaptation. iScience, 29: 115401. Supplementum itt: <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S2589004226007765-mmcl.pdf>

Budapest, 2026. 08. 23.



Hettyey Attila