

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Édesvízi hidrák és szimbionták filogeográfiai és
populációgenetikai vizsgálata**

Miklós Máté

Témavezető: Dr. Tökölyi Jácint



DEBRECENI EGYETEM
Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola
Debrecen, 2022

Bevezetés

Az élővilág többsejtű eukarióta organizmusaiiban az ivaros szaporodás a legelterjedtebb szaporodási mód, hiszen az ide tartozó fajok több 99%-a ilyen módon szaporodik (Bell, 1982). Az ivarosán szaporodó élőlények várhatóan előnyben vannak a heterogén környezetekben, mivel a gyakoribb genetikai rekombináció (Peck és mtsai., 1999) előnyeiket kihasználhatják így utat adva a kedvező mutációk elterjedésének a populációkban, ezáltal lehetővé téve számukra, a különböző élőhelyekhez történő nagyobb mértékű alkalmazkodóképességet (Pound és mtsai, 2004). Ezzel szemben az ivartalan (klonális) szaporodás (ahol az utódok egyetlen szülőtől származnak), kisebb gyakorisággal figyelhető meg az élővilágban, de a legtöbb nagyobb taxonómiai csoportban leírták már, kivéve az emlősöket és a madarakat (Avisé és mtsai, 1992). Az ivartalan módon szaporodó organizmusok populációi előnyben vannak a nagyobb szaporodási képességük miatt, mivel nem fizetik meg az ivar kétszeres költségét (Maynard-Smith, 1978), bár úgy gondolják, hogy kevésbé ellenállóak a környezeti feltételek változásaival szemben

(Haldane, 1932). Feltételezhetően egyes organizmusok évmilliókig sokasodhattak ivaros szaporodás nélkül (Welch és Meselson, 2000), bár napjainkra egyre több ritka ivaros szaporodási esetet figyeltek meg olyan fajoknál, amelyeket korábban teljesen ivartalannak tekintettek (Maynard-Smith és Mtsai, 1993; Tibayrenc és Ayala, 2002). Következésképpen a legtöbb faj, amely ivartalanul (klonálisan) szaporodik fakultatívan ivarosnak (vagy fakultatívan ivartalannak) tekinthető.

A doktori disszertációs munkám célja, a rendkívül összetett szaporodási rendszerrel rendelkező édesvízi hidrák természetes populációinak populációgenetikai és filogeográfiai vizsgálata volt. Az édesvízi hidrák szinte az egész világon elterjedt kontinentális vizekben előforduló csalánozók (Cnidaria), melyek nem rendelkeznek medúza alakkal. A hidrák rendkívül változatos életmódjuk miatt fontos modellszervezetnek számítanak már az 1700 évektől kezdve a fejlődésbiológiában, ökofiziológiában, öregedéskutatásban és a mutualista gazda-szimbióta rendszerek tanulmányozásában.

Az elsősorban vizsgált modellszervezetünk a *Hydra oligactis* (Pallas, 1766) a csalánzók törzsébe (Hydrozoa osztályba) tartozó makroszkópikus édesvízi gerinctelen zooplankton fogyasztó, helytülő ragadozó. A *H. oligactis* Euráziában és Észak-Amerikában egyaránt elterjedt (Martínez et al., 2010) és gyakran megtalálható különféle vízi élőhelyeken (Holstein, 1995; Schuchert, 2010), de a hidegebb és nagyobb/mélyebb víztesteket részesíti előnyben, mivel csak gyenge hősokk-választ képes generálni (Brennecke és mtsai, 1998). A *H. oligactis* életciklusa magában foglalja az ivartalan (bimbózás) és az ivaros szaporodást is (Reisa, 1973). Az ivartalan fázis általában tavasszal és kora nyáron következik be, míg az ivaros polipok nyár végén és ősszel fordulnak elő (Reisa, 1973), mivel az őszi erős hőmérséklet-csökkenés váltja ki az ivaros szaporodást (Lenhoff, 1983; Littlefield és mtsai, 1991; Reisa, 1973). Az ivaros szaporodás a gonádok (hímeknél herék, nőstényeknél peték; azaz váltivarú fajról beszélünk) fejlődéséből áll. A megtermékenyítést követően a zigóta leválik az anyaállatról és az aljzatra

süllyed, majd a kikelése után újra kezdődik az ivartalan életszakasz.

Célkitűzések

- 1. tanulmány:** Kárpát-medencei *Hydra oligactis* populációk populációgenetikai összehasonlítása az eltérő szaporodási stratégiáik függvényében

A célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a különböző párhuzamosan létező szaporodási stratégiák (ivartalan és ivaros) genetikai hátterét és differenciálódását a természetes *Hydra oligactis* populációkban, ami által kideríthettük, hogy az eddig megfigyelt szaporodási eltérések a vizsgált hidrapopulációink között fenotipikus plaszticitás vagy genetikai differenciálódás következményei-e.

- 2. tanulmány:** Egy magyarországi *Hydra oligactis* populáció szezonális szaporodási stratégiának vizsgálata

Ebben a munkában megvizsgáltuk a tavasszal és ősszel gyűjtött polipokból alapított, standard laboratóriumi

körülmények között tartott *H. oligactis* törzsek ivaros szaporodásra vonatkozó készültségi állapotát a különböző szezonok/évszakok fényében. Ezentúl megvizsgáltuk az ivaros készültségükben bekövetkezett változásokat válaszul a magas hőmérsékletnek való kitettségre.

3. **tanulmány:** Egy magyarországi *Hydra oligactis* populáció szezonális genetikai változásának leírása egy kétéves periódus alatt

E munka fő célja az volt, hogy az előző vizsgálatban is szereplő *H. oligactis* populáció genetikai összetételének szezonális változását vizsgáljuk meg valamint azt, hogy a klónvonalak túlélnek-e a telet. Ezen túlmenően a különböző genotípusok szerepét kívántuk feltárni az ivaros szaporodásra való hajlandóságában és annak időzítésében, valamint az ehhez kapcsolódó populációs dinamikában.

4. **tanulmány:** Kárpát-medencei *Hydra* populációk mikrobiom összetételének és diverzitásának vizsgálata a különböző szaporodási módok és élőhelytípusok függvényében

Ebben a vizsgálatban közép-európai víztestekben élő édesvízi hidra fajok esetében (*H. oligactis*, *H. vulgaris* és *H. circumcincta*) vizsgáltuk a gazdaszervezethez tartozó mikrobiális közösség taxonómiai diverzitását és összetételét, valamint az ezeket befolyásoló külső és belső tényezőket.

Módszerek

Minden tanulmányunk esetében (1.-;2.-;3.-;4. **tanulmány**) ugyanazzal az alábbiakban részletezett módszerével gyűjtöttük be a vizsgálati állatokat. A vizsgált populációk természetesen variálódtak mindig az adott vizsgálati kérdésünk függvényében. Mindig az adott populáció esetében több helyről próbáltunk meg polipokat gyűjteni (legalább 2 méteres távolságot hagyva köztük), hogy növeljük a genetikailag eltérő egyedek megtalálásának esélyét a populációkon belül (mivel a hidrák ivartalanul szaporodhatnak, így az egymáshoz közeli polipok nagyobb valószínűséggel ugyanahhoz a genetikai vonalhoz tartoznak). A hidrapolipokat szabadon lebegő és víz alá merült makrofita állományról

(leggyakrabban *Ceratophyllum demersum*, *Ceratophyllum submersum*, *Myriophyllum spicatum*, *Stratiotes aloides*) gyűjtöttük és egyenként Eppendorf-csövekbe (a **2. és 3. tanulmány** estében Falcon-csövekbe, a begyűjtött hidrák nagy száma miatt) helyeztük őket ügyelve a DNS kontamináció elkerülése. A begyűjtés napján az állatokat hűtőládában a laboratóriumba szállítottuk, ahol sztereomikroszkóppal meghatároztuk őket a morfológia – tapogató hossz/testhossz, talp jelenléte, tapogató fejlődése a bimbókon – alapján (Schuchert, 2010). Ezután feljegyeztük az állatok ivaros állapotát – nőstények (polip differenciált petékkal), hímek (polip differenciált herékkel) vagy immatúrok (polipok, amelyeknek jól látható ivarmirigyei vannak, de ezek a gonádok a fejlődés korai stádiumában vannak és ezért a nemet nem lehet még meghatározni esetükben).

A **2. és 3. tanulmány** esetén nem csak terepi adatokkal dolgoztunk, hanem laboratóriumi kísérletet is végeztünk, melynek részletei a következők voltak. A laboratóriumba hozott hidrapolipokat hidra médiumba helyeztük. Legfeljebb öt polipot választottunk ki minden gyűjtési

helyről, hogy ivartalan szaporodás útján törzseket hozzunk létre belőlük. A gyűjtött polipokat, mind az ivartalan utódaikat külön-külön 6-lyukú edényekben tartottuk, üregeként 5 ml M-médiumban. Hetente kétszer etettük őket *Artemia* (sórák) szuszpenzióval (az etetési mód leírását lásd Tökölyi és mtsai, 2016) és minden etetés után friss hidra médiumba helyeztük őket. Az ivartalan szaporodási szakasz 10 hétig tartott. Ez idő alatt a polipokat klímakamrában tartottuk 18 °C-on és 12/12 órás világos-sötét ciklusban. Az ebben az időszakban keletkezett ivartalan polipokat megtartottuk és az edényekben friss médiumot tartalmazó üres lyukakba helyeztük át. A polipok/törzs maximális számát N = 18-ra (azaz három 6-lyukú edényre) állítottuk. 10 hét elteltével a polipokat egy 8°C-os klímakamrába helyeztük át 8/16 órás világos-sötét ciklussal, hogy szimuláljuk a tél beálltát és indukálják a gametogenezist. A lehűlés napján minden egyedet lefényképeztünk a testméretük mérése végett. Mérésekkel ellenőriztük a testméretek közötti különbségeket a tavasszal és ősszel gyűjtött polipokból származó törzsek között. A kísérleti állatokat öt hónapig tartottuk így és hetente kétszer ellenőriztük a polipokat

sztereomikroszkóp alatt, hogy kimutathassuk a gonadogenezisük kezdetét. Ezenkívül két létrehozott törzs segítségével (hím és nőstény), egy meleg expozíciós kísérletet is elvégeztünk, a nyár szezonálisan megjelenő felmelegedési hatásának tesztelésére, a hidrák ivaros szaporodásra való készülségi állapotának. Két expozíciós idővel dolgoztunk, amelyek a következők voltak: 1 és 4 hét 18 °C-nak „meleg” való kitettség, a már előtte létrehozott hideg törzsek esetében. A hideg törzseket úgy hoztuk létre, hogy 18°C-on tartott felnőtt polipokat áthelyeztük 8°C-ra, majd 8°C-on ivaros szüleikről leváló bimbókat ivartalanul szaporítottuk. Ez a szakasz 3 hónapig tartott.

Az **1. a 3. és a 4. tanulmány** esetében genetikai adatokkal dolgoztunk így szükséges volt az összegyűjtött *H. oligactis* egyedekből származó genomi DNS-t izolálása, amit standard emlős DNS extrakciós protokoll segítségével végeztünk el.

Az **1. és 3 tanulmányunkban** a DNS mintáinkon RAD-seq-et egy modern egyre gyakrabban használt

populációgenomikai módszert alkalmaztunk, mert ezt találtuk legalkalmasabbnak az általunk vizsgált kérdések pontos megválaszolására. Ennek során mintáinkat könyvtárakba rendeztük (mely folyamat során a genomi DNS-enzimatikusan hasítottuk, majd mintánként egyedileg megjelöltük a kapott kisebb fragmenteket), amelyeket aztán szekvenáltattunk és az ebből nyert adatokat bioinformatikai eszközökkel feldolgoztuk. E feldolgozási munka során szekvenciáinkról eltávolítottuk a hibásként azonosított olvasásokat, demultiplexáltuk őket, eltávolítottuk a szennyeződések, elvégeztük rajtuk a fajok azonosítását és kizártuk a nem relevánsnak kapott szekvenciákat is. A **4. tanulmányunkban** 16S rRNS gén V1 és V2 hipervariábilis régiójának egyedi barcode-okkal jelölt részeit shotgun szekvenáltattuk illumina platformon, majd a kapott szekvenciákat QIIME2 programmal tisztítottuk, szűrtük és válogattuk ki.

A statisztikai elemzést minden tanulmányunk (**1.-;2.-;3.-;4. tanulmány**) esetében R statisztika környezetben végeztük el, az adott speciális elemzési/ábrázolási célra alkalmazható programcsomagok és függvények

használatával. Ez a munka **1. és 3. tanulmány** esetében MLG-ék azonosításából, a klónok azonosításából, a genetikai távolságok megállapításából, általános populációgenetikai statisztikák számolásából és családfa rekonstrukcióból állt. A **2. tanulmányban** a kapott adatokat binomiális eloszlású általánosított kevert lineáris modellekkel elemeztük (GLMM). A **4. tanulmányban** elsősorban a kapott bakteriális taxonok száma alapján történő diverzitási indexek számolását végeztük el és azok összevetését a különböző általunk vizsgált magyarázó tényezőkkel. Ezen kívül elvégeztük még a hidrákon lévő baktériumközösségek eltéréseinek összevetését egymással általunk vizsgált magyarázó tényezőkkel, különböző távolságmátrixok alkalmazásával.

Eredmények

1. tanulmány: Kárpát-medencei *Hydra oligactis* populációk populációgenetikai összehasonlítása az eltérő szaporodási stratégiáik függvényében

- Megállapítottuk, hogy egyértelmű bizonyítékok vannak a szaporodási mód fenotipikus plaszticitására (a klónoknak azonosított polipok szaporodási módjai eltérőek voltak)
- Nem volt észlelhető genetikai struktúra a szaporodási mód tekintetében (az ivaros polipok nem mutattak különbséget az ivartalan polipoktól).
- Emellett magas genetikai rokonságot találtunk a populációk között (másodrendű rokonságot észleltünk a távoli populációkhoz tartozó egyedek között is)
- Két nemváltást is megfigyeltünk (azonos klonális származású vonalakban egyaránt hímek és nőtények is voltak).
- Ezenkívül nem találtunk bizonyítékot a kriptikus fajok létezésére a Kárpát-medencei *H. oligactis* populációkban.

2. tanulmány: Egy magyarországi *Hydra oligactis* populáció szezonális szaporodási stratégiának vizsgálata

- Megállapítottuk, hogy ugyanaz a környezeti jelzés, amely a tél beálltát jelzi, eltérő reakciókat vált ki a tavasszal és ősszel gyűjtött törzsekben.
- Az ősszel gyűjtött polipokból származó törzsek ivaros szaporodásra vonatkozó készültségi állapota magasabb volt: nagyobb arányban mentek át ivaros szaporodáson és több mint egy héttel kevesebb időbe telt, mire megindult a gonadogenezisük.
- Igazoltuk a meleg expozíció érzékenyítő hatását a környezeti jelzésekre (lehűlésre) adott válaszok estében, azaz az ivaros szaporodás indukálásában.

3. **tanulmány:** Egy magyarországi *Hydra oligactis* populáció szezonális genetikai változásának leírása egy kétéves periódus alatt

- Sikerült kimutatnunk korlátozott változásokat a populáció szezonális genetikai összetételében
- Megfigyeltük, hogy egyes hidraklónvonalak évek és évszakok között is fennmaradhatnak.

- Megállapítottuk, hogy a különböző genotípusok ivaros szaporodási gyakoriságukban különböznek egymástól.
- Végül a fenti különbségek nem befolyásolták, hogy ezek a genotípusok újra megjelennek-e a mintavételek (szezonom) között.

4. tanulmány: Kárpát-medencei *Hydra* populációk mikrobiom összetételének és diverzitásának vizsgálata a különböző szaporodási módok és élőhelytípusok függvényében

- Megállapítottuk, hogy a *Hydra* populációk jelentősen különböztek a hordozott baktérium közösség összetételében és a populáció azonossága a mikrobiális α - és β -diverzitás legfontosabb tényezője.
- Ezen túlmenően kimutattuk, hogy az élőhely típusa erőteljesen magyarázza a baktériumok diverzitásának különbségeit.
- Szignifikáns különbségeket észleltünk a baktériumok diverzitásában a gazdafajok között (a legkevésbé változatos a *H. circumcincta*-ban volt).

- Végül a szaporodási módnak (ivaros vs. ivartalan) nem találtunk erős hatását a hidrák bakteriális közösségének összetételére.
- Összeségében megállapítottuk, hogy az α - és β -diverzitásra a legerősebben a mintavételi hely (populáció) van hatással, ezt követi a víztest típusa, míg a gazdatényezők (faj és szaporodási mód) jóval gyengébb, de konzisztens hatást gyakoroltak a bakteriális diverzitásra.

Diszkusszió

Első tanulmányunk, során elvégeztük az első populációgenomikai vizsgálatot a *Hydra* nemzetségben, amely betekintést enged a természetes *Hydra* populációk genetikai sokféleségének mintázataiba. Egyértelmű bizonyítékot fedeztünk fel a fenotipikus plaszticitásra a szaporodási módban e faj esetében. Ez arra utal, hogy a hőmérsékleten kívül vannak olyan egyéb belső tényezők vagy környezeti jelzések, amelyek indukálhatják az ivaros szaporodást ennél a fajnál. Tanulmányunkban így rávilágítottunk a fenotipikus plaszticitás szerepére a

természetes populációk fejlődési és élettörténeti mintázatainak kialakításában. Ezenkívül ezek az eredmények rámutatnak az élettörténeti stratégiák figyelemreméltó rugalmasságára egy fakultatívan klonális fajban, amelynek szaporodási módtól függő öregedése van. E rugalmasság adaptív értéke izgalmas útnak ígérkezik a további kutatásokhoz. Sőt mi több betekintést nyertünk a hidrák terjedési mechanizmusaiba, elsősorban a madarak általi terjesztés lehetőségére is (a populációk genetikai szerkezete is arra utal, hogy a populációk közötti génáramlás független a földrajzi elhelyezkedésüktől, ami szintén a madarak általi terjesztést támasztja alá). Ez a megfigyelés számos új megválaszolendő kérdést vethet fel (mint például, a tartós peték, vagy a felnőtt egyedek terjednek, vagy endo- vagy ektozoochóriával történik-e). Végül váratlanul bizonyítékot találtunk az ivarváltás tényére a természetes *H. oligactis* populációkban, ami több szempontból is jelentős lehet, hiszen rávilágítottunk, hogy természetes populációkban sokkal gyakoribb lehet a nemváltás, mint korábban gondolták és akár adaptív értéke is lehet. Ezek alapján a természetes hidra populációk szaporodási rendszereinek vizsgálatakor és a

laboratóriumi kísérletek tervezése során is a jövőben figyelembe kell venni az ivarváltozás lehetőségét is.

Második tanulmányunkban, kimutattuk, hogy a *H. oligactis* az ivaros szaporodást előidéző környezeti jelzésekre való érzékenysége évszakonként megváltozik. Úgy tűnik, hogy a polipok alacsony ivaros készütségi állapotot tartanak fenn tavasszal, de ez növekszik a kedvezőtlen időszakok beköszöntével. Ezek a megfigyelések kiegészítik Noda (1982) korábbi tanulmányát, amely hasonló hatásokat mutat be laboratóriumi körülmények között, valamint összhangban vannak más fakultatívan ivartalan fajokon (kerekesférgek és vízibolhák esetében; Alekseev és Lampert 2001, Schröder és Gilbert 2004) végzett vizsgálatokkal, amelyek dokumentálják a diapauzát kiváltó érzékenység szezonális változásait a környezeti jelzések hatására. A természetből gyűjtött törzsekkel kapcsolatos megfigyeléseinket kiegészítettük laboratóriumi törzsekkel végzett kísérletekkel, amelyek arra utalnak, hogy a hidrák érzékenységének növekedése a polipok hosszú távú magas hőmérsékletnek való kitettségével magyarázható. Viszont

a jelenség háttérében álló pontos fejlődési mechanizmusok magyarázata még várat magára.

A harmadik tanulmányunkban korlátozott eltéréseket tudtunk kimutatni a szezonális populáció genetikai összetételében és azt is, hogy egyes hidra klónvonalak évek és évszakok között is fennmaradhatnak (túlélhetnek) ellentétben az irodalmi adatokkal, amelyek szerint a hidrapolipok télen elpusztulnak elsősorban a befagyó vizek miatt és így csak az ivaros szaporodás során képzett tartós peték maradnak életben. Ellenben nem találtunk egyértelmű bizonyítékot a tavaszi genotípus bőségére a vizsgált hidra populációban, annak ellenére, hogy ez logikus következménye lenne a téli ivaros szaporodásuk magas arányának (új genotípusok generálása) és korábban más fakultatív ivaros szervezeteknél is leírták már. Azt is megfigyeltük, hogy a különböző genotípusok különböznek az ivaros szaporodás gyakoriságában. Ennek jelentős szerepe lehet az ilyen populációk genetikai összetételének hosszú távú változásában, hiszen az adott környezeti állapothoz legjobban alkalmazkodó genotípusok lehetnek a legelterjedtebbek az adott

élőhelyen. Végül azt találtuk, hogy ezek a megfigyelt különbségek nem befolyásolták, hogy ezek a genotípusok újra megjelennek-e egymást követő években és évszakokban. Összefoglalva, ezek az eredmények azt sugallják, hogy a fakultatív ivaros organizmusok genetikailag elég plasztikusak ahhoz, hogy párhuzamosan tartsák fenn a különböző szaporodási stratégiákat (ivartalan és ivartalan szaporodás), ami jelentős előnyhöz juttathatja őket a kiszámíthatóan változó környezetben, így növelve alkalmazkodóképességüket az előre nem látható változásokkal szemben. Emiatt ennek a képességnek a vizsgálata ma még aktuálisabb, mivel az ilyen tulajdonságokkal rendelkező populációkra épülő ökoszisztémák kulcsfontosságúak lehetnek az éghajlatváltozás okozta ökológiai károk mérséklésében.

A negyedik tanulmányunkban, természetes környezetből gyűjtött *Hydra* polipok nagy adatkészletének felhasználásával azt találtuk, hogy a gazdaszervezethez kapcsolódó mikróbák diverzitásának változása elsősorban a helyi környezettel függ össze és az eutrofizáció potenciálisan szerepet játszhat a mikrobiális diverzitás

növelésében. Ez meglepő, hiszen ismert, hogy a *Hydra* különálló és nagyon specifikus baktérium fajokat hordoz (Fraune és Bosch 2007, Franzenburg és mtsai 2013), amelyek részben vertikálisan terjednek át a szülőről az utódra (Fraune és mtsai, 2010), ami arra utalhat, hogy a mikrobák összetétele generációkon át öröklődik, nem pedig a környezetből származik. Mindazonáltal úgy tűnik, hogy a különböző élőhelyekre jellemző mikrobiális közösségek átmenetileg kolonizálják a hidrátát, ami végül hosszú távú asszociációkat eredményezhet a baktériumokkal, amelyek vagy hozzáadódnak a gazdaspecifikus mikrobákhoz, vagy helyettesítik azokat. Megállapítottuk, hogy a *Hydra* populációk jelentősen különböztek a baktériumok összetételében és a populáció azonossága a mikrobiális α - és β -diverzitás legfontosabb tényezője. A mikrobiális összetételben az eredményeinkhez hasonló populáció-specifikus változást vízi gerinceseknél is leírtak már és az egymással összefüggő környezeti feltételek, például hőmérséklet, földrajzi helyzet, vízminőség és kémia változásának eredményeként magyarázták, amelyek befolyásolják a helyi mikrobiális közösségek összetételét és végső soron a

gazdaszervezethez kötődő mikrobák közösségét (Sehnal és mtsai, 2021). Az élőhely típusa szignifikánsan magyarázza a baktériumok diverzitásának különbségeit. Ezen túlmenően, a mikrobiális összetétel jelentősen eltérő a gazdafajok szerint és a *H. circumcincta* mutatta a legkevésbé változatos és legkonzisztensebb mikroba közösségeket. Ezért az eltérő mikrobiótájuk nagy valószínűséggel fajspecifikus gazda-mikroba társulások eredménye. A specifikus mikrobiális taxonok és a gazdaszervezetek közötti hasonló konzisztens asszociációs mintázatokat számos állatcsoportban leírtak már, a szivacsoktól az emlősökig (Yildirim és mtsai 2010, Youngblut és mtsai, 2019) és gyakran nyilvánvalóak az együtt élő vízi állatfajokban (Sehnal és mtsai, 2021). A fajspecifikus mikrobiális összetételt korábban a *Hydra* esetében is leírták már (Fraune és Bosch 2007, Franzenburg és mtsai, 2013). Megfigyeléseink megerősítik Fraune és Bosch (2007) megfigyeléseit még nagyobb mintaméret és még szélesebb földrajzi felbontás tekintetében, amely több hidrapopulációt is magába foglalt. Ellenben az tapasztaltuk, hogy a gazdaszervezet szaporodási módja nem magyarázza meg a mikrobiális

diverzitás változásait. Pedig szignifikáns különbséget vártunk az ivaros és ivartalan polipok között, mivel az ivaros egyedek fiziológiája jelentősen eltér az ivartalanokétól, például az ivaros egyedek általi antimikrobiális peptidek termelése miatt). Mindazonáltal csak csekély eltérést találtunk az ivartalan és ivaros *Hydra* polipok mikrobiális diverzitásában, ami azt jelzi, hogy a fent leírt fiziológiai változások csak korlátozott hatással vannak a teljes mikrobiális diverzitásra. Végezetül elmondhatjuk, hogy azok a mechanizmusok, amelyeken keresztül a helyi környezet kölcsönhatásba lép a gazdafajjal/genotípussal a mikrobióta összeállítása során, továbbra is érdekes témát jelent, a rendszer további vizsgálataihoz.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom minden társszerzőmnek, akik tudásukkal, munkájukkal és szakértelmükkel hozzájárultak a dolgozatom elkészüléséhez, név szerint Laczkó Levente, Barta Zoltán, Sramkó Gábor, Sebestyén Flóra, Gergely Réka, Sebastian Fraune és Jan

Taubenheim. Külön köszönet illeti Tökölyi Jácintot, aki témavezetésével és megfelelő útmutatásával segítette szakmai fejlődésemet, valamint nagyszerű labor és terep munkán nyújtott segítségét, ami nélkül a disszertációm nem készülhetett volna el. Köszönettel tartozom még Gergely Rékának a terepi gyűjtésekben való nagy segítségéért. Ezentúl külön köszönet illeti Mester Valériát is, aki sok segítséget nyújtott a minták laboratóriumi feldolgozásában. Végül de nem utolsó sorban köszönöt illeti a Debreceni Egyetem, Evolúciós Állattani és Humánbiológiai Tanszék minden munkatársát is, akik segítettek valamilyen módon a dolgozat elkészültében. A doktori disszertációm elkészítése az Új Nemzeti Kiválóság Program (ÚNKP-22-4-I.) támogatásával valósult meg.

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények

- Miklós, M., Laczkó, L., Sramkó, G., Sebestyén, F., Barta, Z., & Tökölyi, J. (2021). Phenotypic plasticity rather than genotype drives reproductive choices in *Hydra* populations. *Molecular Ecology*, 30(5), 1206–1222. <https://doi.org/10.1111/mec.15810>
- Tökölyi, J., Gergely, R., & Miklós, M. (2021). Seasonal variation in sexual readiness in a facultatively sexual freshwater cnidarian with diapausing eggs. *Ecosphere*, 12(8), e03713. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3713>
- Miklós, M., Laczkó, L., Sramkó, G., Barta, Z., & Tökölyi, J. (2022). Seasonal variation of genotypes and reproductive plasticity in a facultative clonal freshwater invertebrate animal (*Hydra oligactis*) living in a temperate lake. *Ecology and Evolution*, Major revision.
- Taubenheim, J., Miklós, M., Tökölyi, J., Fraune, S. (2022). Population differences and host species predict variation in the diversity of host-associated microbes in *Hydra*. *Frontiers in Microbiology*, Elfogadva. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.799333>



Nyilvántartási szám: DEENK/93/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Miklós Máté
Doktori Iskola: Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10060012

A PhD értekezés alapján szolgáló közlemények

Idégen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

1. **Miklós, M.**, Laczkó, L., Sramkó, G., Sebestyén, F., Barta, Z., Tökölyi, J.: Phenotypic plasticity rather than genotype drives reproductive choices in Hydra populations.
Mol. Ecol. 30 (5), 1206-1222, 2021. ISSN: 0962-1083.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/mec.15810>
IF: 6.185 (2020)
2. Tökölyi, J., Gergely, R., **Miklós, M.**: Seasonal variation in sexual readiness in a facultatively sexual freshwater cnidarian with diapausing eggs.
Ecosphere. 12 (8), 1-12, 2021. ISSN: 2150-8925.
DOI: <https://doi.org/10.1002/ecs2.3713>
IF: 3.171 (2020)

További közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

3. Tökölyi, J., Sebestyén, F., **Miklós, M.**, Iván, K.: Öregedés és öregedés nélküli életciklus egy édesvízi csalánczónál: párhuzamos életrajzok.
Élet tud. 73 (23), 710-712, 2018. ISSN: 0013-6077.

Idégen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (3)

4. Sebestyén, F., **Miklós, M.**, Iván, K., Tökölyi, J.: Age-dependent plasticity in reproductive investment, regeneration capacity and survival in a partially clonal animal (*Hydra oligactis*).
J. Anim. Ecol. 89 (10), 2246-2257, 2020. ISSN: 0021-8790.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2656.13287>
IF: 5.091
5. Tökölyi, J., Kozma, B., Sebestyén, F., **Miklós, M.**, Barta, Z.: Life history traits and previous exposure predict resistance to UV irradiation in the freshwater cnidarian.





Invertebr. Biol. 136 (2), 217-227, 2017. ISSN: 1077-8306.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/ivb.12173>

IF: 1.333

6. Tökölyi, J., Bradács, F., Hóka, N., Kozma, N., **Miklós, M.**, Mucza, O., Lénárt, K., Ósz, Z., Sebestyén, F., Barta, Z.: Effects of food availability on asexual reproduction and stress tolerance along the fast-slow life history continuum in freshwater hydra (Cnidaria: Hydrozoa).

Hydrobiologia. 766 (1), 121-133, 2015. ISSN: 0018-8158.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-015-2449-0>

IF: 2.051

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 17,831

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 9,356

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.02.22.



Short thesis for degree of doctor of philosophy (PhD)

**Phylogeographic and population genetic study of
freshwater hydras and their symbionts**

by Miklós Máté

Supervisor: Dr. Tökölyi Jácint



UNIVERSITY OF DEBRECEN

Juhász-Nagy Pál Doctoral School

Debrecen, 2022

Introductions

In multicellular eukaryotic organisms, sex is the most common mode of reproduction, as more than 99% of the species belonging to it reproduce in this way (Bell, 1982). Sexually reproducing organisms are expected to have an advantage in heterogeneous environments, as they may take advantage of more frequent genetic recombination (Peck et al., 1999) to enhance for the spread of favorable mutations in populations, thereby allowing them to better adapt to different habitats (Pound et al., 2004). In contrast, asexual (clonal) reproduction, where offspring are from a single parent, is less common in the nature, but has been described in most major taxonomic groups, with the exception of mammals and birds (Avise et al., 1992). Asexual populations enjoy the benefit of a higher multiplication rate, because they do not pay the twofold cost of sex (Maynard-Smith, 1978), although they are thought to be less resistant to changes in environmental conditions (Haldane, 1932). Presumably, some organisms may have multiplied for millions of years without sexual reproduction (Welch and Meselson, 2000), although more

and more rare cases of sexual reproduction have been observed in species previously considered completely asexual (Maynard-Smith et al., 1993; Tibayrenc and Ayala, 2002). Consequently, most species that reproduce asexually (clonally) are considered facultatively sexual (or facultatively asexual).

The aim of my doctoral dissertation was to study the population genetics and phylogeography of natural populations of freshwater hydras, that has an extremely complex reproductive system. Freshwater hydras are common cnidarians (Cnidaria) found in continental lakes and rivers almost all over the world that do not have a jellyfish stage. *Hydras* have been an important model organization in developmental biology, ecophysiology, aging research, and the study of mutualist host-symbiont systems since the 1700s because of their extremely diverse lifestyles.

Our primarily studied model organism, *Hydra oligactis* (Pallas, 1766), is a predator of macroscopic freshwater invertebrate zooplankton belonging to the cnidarians

(Hydrozoa class). *H. oligactis* is widespread in both Eurasia and North America (Martínez et al., 2010) and is often found in a variety of aquatic habitats (Holstein, 1995; Schuchert, 2010), but prefers colder and larger / deeper water bodies because it has an attenuated heat shock response (Brennecke et al., 1998). The life cycle of *H. oligactis* includes asexual (budding) and sexual reproduction (Reisa, 1973). The asexual phase usually occurs in spring and early summer, while sexual polyps occur in late summer and autumn (Reisa, 1973), as strong temperature declines in autumn induce sexual reproduction (Lenhoff, 1983; Littlefield et al., 1991; Reisa, 1973). Sexual reproduction consists of the development of the gonads (testes in males, eggs in females; i.e. it is a gonochoristic species). After fertilization, the zygote separates from the mother animal and sinks to the substrate, after which the asexual life begins again.

Aims

- **Study 1:** Population genetic comparison of *Hydra oligactis* populations in the Carpathian-Basin as a function of their different reproductive strategies

Our aim was to investigate the genetic background and differentiation of different coexisting reproductive strategies (asexual and sexual) in natural *Hydra oligactis* populations, which allowed us to find out whether the reproductive differences observed so far are due to phenotypic plasticity or genetic differences.

- **Study 2:** Investigation of the seasonal reproduction strategy of a Hungarian population of *Hydra oligactis*

In this work, we examined the sexual readiness of *H. oligactis* strains based on hydras collected from spring and autumn harvested under standard conditions for sexual reproduction in the light of different seasons. Henceforth, we examined changes in their sexual propensity in response to exposure to high temperatures.

- **Study 3:** Description of the seasonal genetic change of a Hungarian population of *Hydra oligactis* over a two-year period

The main objective of this work was to investigate the seasonal variation in the genetic composition of the *H. oligactis* population included in the previous study and whether the clone lines survive the winter. In addition, we wanted to explore the role of different genotypes in sexual reproductive propensity and its timing, as well as in related population dynamics.

- **Study 4:** Investigation of the microbiome composition and diversity of *Hydra* populations in the Carpathian-Basin as a function of different reproduction modes and habitat types

In this study, we examined the external and internal factors associated with changes in the taxonomic diversity and composition of host microbes in freshwater hydra species (*H. oligactis*, *H. vulgaris*, and *H. circumcincta*) living together in Central European water bodies.

Methods

For each of our studies (**Studies 1.; 2.; 3.; 4.**), the animals were collected using the same method as detailed below. Of course, the studied populations always varied depending on our particular study question. We have always tried to collect polyps from multiple locations within a given population (leaving a distance of at least 2 meters between them) to increase the chances of finding genetically different individuals within populations (as hydras can reproduce asexually, polyps located close to each other are more likely to belong to the same genetic line). Hydra polyps were collected from a free-floating and submerged macrophytes (most commonly *Ceratophyllum demersum*, *Ceratophyllum submersum*, *Myriophyllum spicatum*, *Stratiotes aloides*) and placed one by one in Eppendorf tubes (Falcon tubes in **studies 2 and 3**). taking care to avoid DNA contamination. On the day of collection, the animals were transported in a cool box to the laboratory, where they were determined by stereomicroscopy based on morphology - tentacle length / body length, presence of peduncle, tentacles on

developing buds (Schuchert, 2010). We then record the sexual status of the animals - females (polyp with differentiated eggs), males (polyp with differentiated testes) or immatures (polyps that have clearly visible gonads, but these gonads are at an early stage of development and therefore sex cannot be determined yet).

For **studies 2 and 3**, we not only worked with field data, but also performed a laboratory experiment, the details of which were as follows. Hydra polyps brought to the laboratory were placed into hydra medium (M-medium). Up to five polyps were selected from each collection site to generate strains by asexual reproduction. The collected polyps and their asexual offspring were kept separately in 6-well dishes in 5 ml of M-medium per well. They were fed twice a week with *Artemia nauplii* suspension (for a description of the feeding method, see Tökölyi et al., 2016), and placed in fresh M-medium after each feeding. The asexual reproductive phase lasted for 10 weeks. During this time, the polyps were kept in a climate chamber at 18 ° C and a 12/12 hour light-dark cycle. Asexual polyps formed during this period were retained

and transferred to empty wells containing fresh medium in the dishes. The maximum number of polyps / strains was set at $N = 18$ (i.e., three 6-well dishes). After 10 weeks, the polyps were transferred to an 8°C climate chamber with an 8/16 h light-dark cycle to simulate the onset of winter and induce gametogenesis. On the day of cooling, all individuals were photographed to measure their body size. Differences in body size between strains from polyps collected in spring and autumn were checked by measurements. The experimental animals were kept for five months, and the polyps were examined twice a week under a stereomicroscope to detect the onset of gonadogenesis. In addition, with the help of two established strains (male and female), a warm exposure experiment was performed to test the seasonal warming effect of summer on the sexual standby status of the hydras. We worked with two exposure times, which were: 1 and 4 weeks of “warm” exposure to 18°C for pre-established cold strains. Cold strains were created by transferring adult polyps kept at 18°C to 8°C and asexually propagating buds detached from their sexual parents at 8°C . This phase lasted for 3 months.

For **studies 1, 3, and 4**, we used genetic data to isolate genomic DNA from collected *H. oligactis* individuals using a standard mammalian DNA extraction protocol.

In our **studies 1 and 3**, we used RAD-seq, an increasingly common population genomic method, on our DNA samples because we found it to be the most appropriate to answer the questions we examined accurately. In this process, our samples were arranged in libraries (in the process of which the genomic DNA was enzymatically cleaved and the resulting smaller fragments were individually labeled), which were then sequenced, and the resulting data processed using bioinformatics tools. During this processing, we removed the readings identified as erroneous from our sequences, demultiplexed them, removed contaminants, identified species on them, and excluded sequences that were found to be irrelevant. In our **study 4**, the barcode-labeled portions of the hypervariable region V1 and V2 of the 16S rRNA gene were shotgun sequenced on an illumina platform, and the

resulting sequences were purified, filtered, and selected with QIIME2 software.

Statistical analysis was performed for all of our studies (**Studies 1.; 2.; 3.; 4.**) using R statistical environments, using software packages and functions that can be used for specific analysis / representation purposes. For **studies 1 and 3**, this work consisted of the identification of MLGs, the identification of clones, the determination of genetic distances, the calculation of general population genetic statistics, and pedigree reconstruction. In **study 2**, the data obtained were analyzed using generalized mixed linear models (GLMM) with binomial distributions. In **study 4**, we primarily calculated diversity indices based on the number of bacterial taxa obtained and compared them with the various explanatory factors we examined. In addition, we compared the differences in the bacterial communities on the hydras with the explanatory factors we examined using different distance matrices.

Results

Study 1: Population genetic comparison of *Hydra oligactis* populations in the Carpathian-Basin as a function of their different reproductive strategies

- We found that there is clear evidence for phenotypic plasticity of the reproduction mode (the reproductive mode of polyps identified to be clones were different)
- No genetic structure was observed for the mode of reproduction (sexual polyps showed no difference from asexual polyps).
- In addition, we found high genetic relatedness between populations (second-order relatedness was also observed between individuals belonging to distant populations)
- Two apparent sex changes were also observed (there were both males and females in lines of the same clonal origin).
- In addition, we found no evidence for the existence of cryptic species in the populations of *H. oligactis* in the Carpathian-Basin.

Study 2: Investigation of the seasonal reproduction strategy of a Hungarian population of *Hydra oligactis*

- We found that the same environmental signal that indicates the onset of winter elicits different reactions in the strains collected in spring and autumn.
- Strains from hydras collected in the fall had higher sexual readiness: they underwent a higher rate of sexual reproduction, and it took more than a week less time for their gonadogenesis to begin.
- We demonstrated the sensitizing effect of warm exposure on responses to environmental signals (cooling) i.e., induction of sexual reproduction.

Study 3: Description of the seasonal genetic change of a Hungarian population of *Hydra oligactis* over a two-year period

- We were able to detect limited changes in the seasonal genetic composition of the population
- We have observed that some hydra clonal lines may survive between years and seasons.

- We found that different genotypes differ in their sexual reproduction frequency.
- Finally, the above differences did not affect whether these genotypes reappear between samples (seasons).

Study 4: Investigation of the microbiome composition and diversity of *Hydra* populations in the Carpathian-Basin as a function of different breeding patterns and habitat types

- We found that *Hydra* populations differed significantly in the composition of the carried bacterial community and that population identity is a major factor in microbial α - and β -diversity.
- In addition, we have shown that the type of habitat strongly explains the differences in the diversity of the microbiome.
- Significant differences in microbiome diversity were observed between host species (the least diverse was in *H. circumcincta*).
- Finally, the mode of reproduction (sexual vs. asexual) did not find a strong effect on the

composition of the bacterial community in the hydras.

- Overall, we found that α - and β -diversity is most strongly affected by the sampling site (population), followed by the type of water body, while host factors (species and mode of reproduction) had a much weaker but consistent effect on bacterial diversity.

Discussions

In our first study, we conducted the first population genomic study in the genus Hydra to provide insight into patterns of genetic diversity in natural Hydra populations. We found clear evidence for phenotypic plasticity in the reproductive mode in this species. This suggests that in addition to temperature, there are internal factors or environmental indications that may induce sexual reproduction in this species. In our study, we shed light on the role of phenotypic plasticity in shaping the developmental and life history patterns of natural populations. In addition, these results point to the

remarkable resilience of life history strategies in an optional clonal species that has sex-dependent aging. The adaptive value of this flexibility promises an exciting road for further research. Moreover, we have gained more insight into the propagation mechanisms of hydras, especially the possibility of spread by birds (the genetic structure of populations also suggests that gene flow between populations is independent of their geographical location, which also supports spread by birds) it may raise questions (such as whether persistent eggs or adults are spread, or whether it occurs with endo- or ectozoochory). Finally, we unexpectedly found evidence of sex change in natural *H. oligactis* populations, which may be significant in several respects, as we highlighted that sex change may be much more common in natural populations than previously thought and may even have adaptive value. Based on these, the possibility of sex change in the future should also be taken into account when examining the reproductive systems of natural hydra populations and when planning laboratory experiments.

In our second study, we showed that the sensitivity of *H. oligactis* to environmental signals that induce sexual reproduction varies seasonally. Hydras appear to maintain a low sexual readiness in the spring, but this increases with the onset of adverse periods. These observations complement Noda's (1982) previous study showing similar effects under laboratory conditions and studies in other facultatively asexual species (roundworms and water fleas; Alekseev and Lampert 2001; Schröder and Gilbert 2004) documenting diapause-inducing susceptibility seasonal changes due to environmental signals. Our observations on locally collected strains have been supplemented by experiments with laboratory strains suggesting that the increase in hydra sensitivity can be explained by the long-term exposure of polyps to high temperatures. However, an explanation of the exact developmental mechanisms behind this phenomenon remains to be seen.

In our third study, we were able to show limited differences in the genetic composition of the seasonal population and also that some hydra clone lines may

persist between years and seasons, in contrast to literature data suggesting that hydra polyp die in winter primarily due to frozen waters and only sexual long-lived eggs formed during reproduction survive. In contrast, we found no clear evidence of abundance of spring genotype in the studied hydra population, although this would be a logical consequence of the high rate of winter sexual reproduction (generation of new genotypes) and has previously been described in other optional sexual organisms. We also observed that different genotypes differ in the frequency of sexual reproduction. This may play a significant role in the long-term adaptation in the genetic composition of such populations, as the genotypes best adapted to a given environmental condition may be the most prevalent in a given habitat. Finally, we found that these observed differences did not affect whether these genotypes reappear in consecutive years and seasons. Taken together, these results suggest that facultatively asexual organisms are genetically plastic enough to maintain different reproductive strategies in parallel (sexual and asexual reproduction), which may give them a significant advantage in a predictably changing environment, thereby

increasing their adaptability even further, also in the face of unforeseen changes. For this reason, the study of this capability is even more relevant today, as ecosystems based on populations with such characteristics may play a key role in mitigating the ecological damage caused by climate change.

In our fourth study, using a large data set of *Hydra* polyps collected from the natural environment, we found that changes in host-associated microbial diversity are primarily related to the local environment and that eutrophication may play a potential role in increasing microbial diversity. This is surprising since *Hydra* is known to carry distinct and highly specific microbial species (Fraune and Bosch 2007; Franzenburg et al. 2013; this study) that propagate in part vertically from parent to offspring (Fraune et al., 2010), suggesting that the composition of microbes is inherited over generations, not from the environment. However, microbial communities characteristic of different habitats appear to temporarily colonize hydras, which may ultimately result in long-term associations with bacteria that either add to or replace

host-specific microbes. We found that *Hydra* populations differed significantly in bacterial composition and that population identity is a major factor in microbial α - and β -diversity. A population-specific change in microbial composition similar to our results has been described in aquatic vertebrates and explained as a result of changes in interrelated environmental conditions such as temperature, geography, water quality, and chemistry that affect the composition of local microbial communities and ultimately host-associated microbes. (Sehna et al., 2021). Habitat type significantly explains the differences in bacterial diversity. In addition, the microbial composition differed significantly by host species, and *H. circumcincta* showed the least diverse and most consistent microbial communities. Therefore, their different microbiota is most likely the result of species-specific host-microbe associations. Similar consistent association patterns between specific microbial taxa and hosts have been described in several animal groups, from sponges to mammals (Yildirim et al. 2010; Youngblut et al., 2019) and are often evident in coexisting aquatic animal species (Sehna et al., 2021). Species-specific microbial

composition has also been previously described for *Hydra* (Fraune and Bosch 2007; Franzenburg et al., 2013). Our observations confirm the observations of Fraune and Bosch (2007) regarding larger sample size and wider geographic scope, which included multiple *hydra* populations. In contrast, we found that the host reproduction state does not explain the changes in microbial diversity. However, a significant difference was expected between sexual and asexual polyps, as the physiology of sexual individuals is significantly different from that of non-sexual individuals (e.g., due to the production of antimicrobial peptides by sexual individuals). However, we found only a small difference in the microbial diversity of asexual and sexual *Hydra* polyps, indicating that the physiological changes described above have only a limited effect on overall microbial diversity. Finally, the mechanisms through which the local environment interacts with the host species or their genotype during microbial compilation remain an interesting topic for further investigation of the system.

Acknowledgments

I am grateful to all my co-authors who contributed their knowledge, work, and expertise to the preparation of my dissertation, namely Levente Laczkó, Zoltán Barta, Gábor Sramkó, Flóra Sebestyén, Réka Gergely, Sebastian Fraune and Jan Taubenheim. Special thanks go to Jácint Tökölyi, who helped me with my professional development with his supervision and proper guidance, and with his help in a great laboratory and field work, without which my dissertation would not have been possible. I am also grateful to Réka Gergely for her great help in the field collections. Special thanks are also due to Valéria Mester, who provided a lot of help in the laboratory processing of the samples. Last but not least, thanks to all the staff of the University of Debrecen, Department of Evolutionary Zoology and Human Biology, who helped to complete the dissertation in some way. The preparation of my doctoral dissertation was realized with the support of the New National Excellence Program (ÚNKP-22-4-I.)

List of publications related to the thesis

- Miklós, M., Laczkó, L., Sramkó, G., Sebestyén, F., Barta, Z., & Tökölyi, J. (2021). Phenotypic plasticity rather than genotype drives reproductive choices in *Hydra* populations. *Molecular Ecology*, 30(5), 1206–1222. <https://doi.org/10.1111/mec.15810>
- Tökölyi, J., Gergely, R., & Miklós, M. (2021). Seasonal variation in sexual readiness in a facultatively sexual freshwater cnidarian with diapausing eggs. *Ecosphere*, 12(8), e03713. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3713>
- Miklós, M., Laczkó, L., Sramkó, G., Barta, Z., & Tökölyi, J. (2022). Seasonal variation of genotypes and reproductive plasticity in a facultative clonal freshwater invertebrate animal (*Hydra oligactis*) living in a temperate lake. *Ecology and Evolution*, Major revision.
- Taubenheim, J., Miklós, M., Tökölyi, J., Fraune, S. (2022). Population differences and host species predict variation in the diversity of host-associated microbes in *Hydra*. *Frontiers in Microbiology*, Accepted. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.799333>



Registry number: DEENK/93/2022.PL
Subject: PhD Publication List

Candidate: Máté Miklós

Doctoral School: Pál Juhász-Nagy Doctoral School of Biology and Environmental Sciences

MTMT ID: 10060012

List of publications related to the dissertation

Foreign language scientific articles in international journals (2)

1. **Miklós, M.**, Laczkó, L., Sramkó, G., Sebestyén, F., Barta, Z., Tökölyi, J.: Phenotypic plasticity rather than genotype drives reproductive choices in Hydra populations.
Mol. Ecol. 30 (5), 1206-1222, 2021. ISSN: 0962-1083.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/mec.15810>
IF: 6.185 (2020)
2. Tökölyi, J., Gergely, R., **Miklós, M.**: Seasonal variation in sexual readiness in a facultatively sexual freshwater cnidarian with diapausing eggs.
Ecosphere. 12 (8), 1-12, 2021. ISSN: 2150-8925.
DOI: <https://doi.org/10.1002/ecs2.3713>
IF: 3.171 (2020)

List of other publications

Hungarian scientific articles in Hungarian journals (1)

3. Tökölyi, J., Sebestyén, F., **Miklós, M.**, Iván, K.: Öregedés és öregedés nélküli életciklus egy édesvízi csalánczónál: párhuzamos életrajzok.
Élet tud. 73 (23), 710-712, 2018. ISSN: 0013-6077.

Foreign language scientific articles in international journals (3)

4. Sebestyén, F., **Miklós, M.**, Iván, K., Tökölyi, J.: Age-dependent plasticity in reproductive investment, regeneration capacity and survival in a partially clonal animal (*Hydra oligactis*).
J. Anim. Ecol. 89 (10), 2246-2257, 2020. ISSN: 0021-8790.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2656.13287>
IF: 5.091





5. Tökölyi, J., Kozma, B., Sebestyén, F., **Miklós, M.**, Barta, Z.: Life history traits and previous exposure predict resistance to UV irradiation in the freshwater cnidarian.
Invertebr. Biol. 136 (2), 217-227, 2017. ISSN: 1077-8306.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/ivb.12173>
IF: 1.333
6. Tökölyi, J., Bradács, F., Hóka, N., Kozma, N., **Miklós, M.**, Mucza, O., Lénárt, K., Ósz, Z., Sebestyén, F., Barta, Z.: Effects of food availability on asexual reproduction and stress tolerance along the fast-slow life history continuum in freshwater hydra (Cnidaria: Hydrozoa).
Hydrobiologia. 766 (1), 121-133, 2015. ISSN: 0018-8158.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-015-2449-0>
IF: 2.051

Total IF of journals (all publications): 17,831

Total IF of journals (publications related to the dissertation): 9,356

The Candidate's publication data submitted to the iDEa Tudóstér have been validated by DEENK on the basis of the Journal Citation Report (Impact Factor) database.

22 February, 2022



Irodalomjegyzék/References

- Alekseev, V., and W. Lampert. (2001). Maternal control of resting-egg production in *Daphnia*. *Nature* 414:899–901.
- Avise, J. C., Quattro, J. M., & Vrijenhoek, R. C. (1992). Molecular clones within organismal clones. In M. K. Hecht, B. Wallace, & R. J. Macintyre (Eds.), *Evolutionary Biology: Volume 26* (pp. 225–246). doi: 10.1007/978-1-4615-3336-8_6
- Bell, G. (1982). *The masterpiece of nature: the evolution and genetics of sexuality*. London: Croom Helm.
- Brennecke, T., Gellner, K., & Bosch, T. C. G. (1998). The lack of a stress response in *Hydra oligactis* is due to reduced hsp70 mRNA stability. *European Journal of Biochemistry*, 255(3), 703–709. doi: 10.1046/j.1432-1327.1998.2550703.x
- Franzenburg, S., J. Walter, S. Künzel, J. Wang, J. F. Baines, T. C. G. Bosch, and S. Fraune. (2013). Distinct antimicrobial peptide expression determines host species-specific bacterial associations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110:E3730–E3738.
- Fraune, S., and T. C. G. Bosch. (2007). Long-term maintenance of species-specific bacterial microbiota in the basal metazoan *Hydra*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:13146–13151.
- Fraune, S., R. Augustin, F. Anton-Erxleben, J. Wittlieb, C. Gelhaus, V. B. Klimovich, M. P. Samoilovich, and T. C. G. Bosch. (2010). In an early branching metazoan, bacterial colonization of the embryo is

- controlled by maternal antimicrobial peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:18067–18072.
- Haldane, J. B. S. (1932). *The causes of evolution*. London: Longmans: Green & Co.
- Holstein, T. (1995). Cnidaria: Hydrozoa. In: *Süsswasserfauna von Mitteleuropa*. Gustav Fisher, Stuttgart.: Schwoerbel J.
- Lenhoff, H. M. (1983). *Hydra: Research Methods*. New York and London.: Plenum Press.
- Littlefield, C. L., Finkemeier, C., & Bode, H. R. (1991). Spermatogenesis in *Hydra oligactis*: II. How temperature controls the reciprocity of sexual and asexual reproduction. *Developmental Biology*, 146(2), 292–300. doi: 10.1016/0012-1606(91)90231-Q
- Martínez, D. E., Iñiguez, A. R., Percell, K. M., Willner, J. B., Signorovitch, J., & Campbell, R. D. (2010). Phylogeny and biogeography of *Hydra* (Cnidaria: Hydridae) using mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(1), 403–410. doi: 10.1016/j.ympev.2010.06.016
- Maynard-Smith, J. (1978). *The evolution of sex*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Maynard-Smith, J., Smith, N. H., O'Rourke, M., & Spratt, B. G. (1993). How clonal are bacteria? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(10), 4384–4388. doi: 10.1073/pnas.90.10.4384
- Noda, K. (1982). Sexual differentiation in *Pelmatohydra robusta*. I. Response to a temperature change is dependent on the duration of an asexual period after

- hatching. *Journal of Experimental Zoology* 221:237–243.
- Peck, J. R., Yearsley, J., & Barreau, G. (1999). The maintenance of sexual reproduction in a structured population. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 266(1431), 1857–1863. doi: 10.1098/rspb.1999.0857
- Pound, G. E., Cox, S. J., & Doncaster, C. P. (2004). The accumulation of deleterious mutations within the frozen niche variation hypothesis. *Journal of Evolutionary Biology*, 17(3), 651–662. doi: 10.1111/j.1420-9101.2003.00690.x
- Reisa, J. (1973). Ecology of hydra. In Burnett, A. (ed), *Biology of Hydra*. New York and London: Academic Press.
- Schröder, T., and J. J. Gilbert. (2004). Transgenerational plasticity for sexual reproduction and diapause in the life cycle of monogonont rotifers: intraclonal, intraspecific and interspecific variation in the response to crowding. *Functional Ecology* 18:458–466.
- Schuchert, P. (2010). The European athecate hydroids and their medusae (Hydrozoa, Cnidaria): Capitata Part 2. *Revue Suisse de Zoologie*, 117, 337–555.
- Sehnal, L., E. Brammer-Robbins, A. M. Wormington, L. Blaha, J. Bisesi, I. Larkin, C. J. Martyniuk, M. Simonin, and O. Adamovsky. (2021). Microbiome Composition and Function in Aquatic Vertebrates: Small Organisms Making Big Impacts on Aquatic Animal Health. *Frontiers in Microbiology* 12.
- Tibayrenc, M., & Ayala, F. J. (2002). The clonal theory of parasitic protozoa: 12 years on. *Trends in*

Parasitology, 18(9), 405–410. doi: 10.1016/S1471-4922(02)02357-7

- Tökölyi, J., Bradács, F., Hóka, N., Kozma, N., Miklós, M., Mucza, O., ... Barta, Z. (2016). Effects of food availability on asexual reproduction and stress tolerance along the fast–slow life history continuum in freshwater hydra (Cnidaria: Hydrozoa). *Hydrobiologia*, 766(1), 121–133. doi: 10.1007/s10750-015-2449-0
- Welch, D. M., & Meselson, M. (2000). Evidence for the evolution of Bdelloid Rotifers without sexual reproduction or genetic exchange. *Science*, 288(5469), 1211–1215. doi: 10.1126/science.288.5469.1211
- Yildirim, S., C. J. Yeoman, M. Sipos, M. Torralba, B. A. Wilson, T. L. Goldberg, R. M. Stumpf, S. R. Leigh, B. A. White, and K. E. Nelson. (2010). Characterization of the Fecal Microbiome from Non-Human Wild Primates Reveals Species Specific Microbial Communities. *PLOS ONE* 5:e13963.
- Youngblut, N. D., G. H. Reischer, W. Walters, N. Schuster, C. Walzer, G. Stalder, R. E. Ley, and A. H. Farnleitner. (2019). Host diet and evolutionary history explain different aspects of gut microbiome diversity among vertebrate clades. *Nature Communications* 10:2200.