

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Regeneráció és öregedés édesvízi hidráknál:
életmenet döntések és fiziológiai háttérük**

Sebestyén Flóra Zsuzsa

Témavezető: Dr. Tökölyi Jácint



DEBRECENI EGYETEM

Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

Debrecen, 2021

Bevezetés

A többsejtű élőlények számára állandó veszélyt jelentenek a sérülések, környezeti faktorok, betegségek vagy a stressz. A keletkezett károsodással szembeni védekezésként két fő folyamat alakult ki az evolúció során: a sebképződés és a regeneráció (Stocum, 2018). A sebképződés az elvesztett testrész pótlása nélkül történik, és a funkcionalitás csökkentése révén az adott terület integritásának megőrzésére szolgál (Stocum, 2018). Ezzel szemben, a regeneráció a negatív hatások helyreállító folyamatait foglalja magába (Stocum, 2018). Az általánosabban elterjedt definíció szerint a regeneráció az elvesztett testrészek pótlását jelenti, ám ezen szűkebb megfogalmazás szerint is vonatkozhat sejt, szövet, szerv vagy akár teljes test regenerációjára is (Bely & Nyberg, 2010).

A regenerációval kapcsolatban felmerül néhány olyan alapvető kérdés, minthogy minek köszönhető egyedi filogenetikai elterjedése (Bely & Nyberg, 2010) vagy mi lehet az, ami egyes fajokban és egyedekben gátolja vagy elősegíti a regeneráció képességét? Ezeknek a tágabb, általános kérdéseknek alapjaihoz és megválaszolásához közelebb vihet minket, ha a regenerációt mint *életmenet jelleget*, vagyis mint szaporodást és túlélést befolyásoló tulajdonságot vizsgáljuk. Ehhez fontos figyelembe venni, hogy a regeneráció egyértelmű előnyei ellenére, költséggel is rendelkezik. Ennek következtében, a regeneráció fennálló energia és forrásköltsége révén az élőlények számos más, életmenetükhöz tartozó jellegére is hatással lehet. Ez igen jelentős tulajdonság, ugyanis az egyed életmenetének a születésétől haláláig tartó időszakot tekintjük, mely magába foglalja azokat a kor- és állapotfüggő mintázatokat amik a ivarérést, szaporodást, túlélést és halált határozzák meg (Flatt & Heyland, 2011).

Az életmenet jellegek által felhasznált források limitáltak, így elkerülhetetlen közöttük a negatív kapcsoltság, azaz csereviszonyi kapcsolatok kialakulása (Flatt & Heyland, 2011). Limitáló tényezők lehetnek többek között a makro- és mikro tápanyagok (Catoni et al., 2008; Cotter et al., 2011; Zera & Zhao, 2006), metabolikus tartalékok (Ellers, 1995), de ezeken felül bármilyen több életmenet jelleg számára szükséges anyag is a csereviszonyi kapcsolatok tárgyát képezhetik. A nagy szöveti plaszticitással rendelkező állatoknál (pl. szivacsok, korallok, csalánozók, laposférgek) az őssejtek elérhetősége is ilyen limitáló tényező lehet (Rinkevich, 1996). Ezen gerinctelen állatok teste nagy arányban tartalmaz őssejteket, melyek egyfelől résztvevői lehetnek a túlélésért felelős jellegek széles skálájának kialakításában és a regeneráció szerepük is jelentős (Gold & Jacobs, 2013; Henry & Hart, 2005). Másfelől viszont, ugyanezen őssejtek bizonyítottan felelősek az ivaros és ivartalan szaporodásban résztvevő sejtek képzésében is (például Simpson 1984; Gahan et al., 2016; Newmark, Wang & Chong, 2008). A közös őssejt készlet alapján elméleti megfontolások szerint várható, hogy ha például a szaporodásba való

befektetés intenzív, akkor annak fiziológiai költsége is megnő, aminek eredményeképp az őssejtek szomatikus funkciójú, többek között regenerációban résztvevő sejtekké való differenciálódási képessége csökken a fennálló csereviszonynak köszönhetően (Henry & Hart, 2005; Rinkevich, 1996).

A szaporodás és az önfenntartás közötti csereviszonyt azonban befolyásolhatja a szaporodás módja, mely lehet ivaros és ivartalan is. Az utódok szaporodási értéke fontos szerepet játszhat abban, hogy mely szaporodási mód a sikeresebb, például annak köszönhetően, hogy az utódok túlélési esélyei eltérőek az adott körülmények között. Ha az ivaros és ivartalan utódok szaporodási értéke eltérő, várhatóan a befektetett forrás mennyisége is különbözik, mely gyakran tapasztalt jelenség az állatok között (pl. zsákkalatok: (Yund et al., 1997), levéltetvek: (Nespolo et al., 2009), *Daphnia*: (Innes & Singleton, 2000), hidra: (Kaliszewicz, 2011)). Arról azonban sokkal kevesebbet tudunk, hogy a szaporodási módtól függő eltérő befektetett energia mennyiség milyen fiziológiai költségekben nyilvánul meg, valamint milyen hatással van az állatok regenerációs képességeire és önfenntartásért felelős jellegeire. Az őssejtek lehetséges mediátor szerepéhez kapcsolódó vizsgálatok pedig különösen hiányoznak a korábbi elméletek alátámasztáshoz, mely kérdéskör az **első tanulmány (I)** vizsgálatának egyik központi eleme. **A disszertációm ezen részében az ivaros és ivartalan szaporodási módok, az őssejt források elérhetősége, és a tőle függő regeneráció valamint csalánsejt szám csereviszonyi hálózatának feltérképezését tűztem ki célul.**

A limitált fiziológiai források mellett a regeneráció belső szabályozó tényezője lehet az életkor és élet szakasz is, ami a fenotipikus plaszticitás egyik mozgatórugója (Fischer et al., 2014). A szomatikus sérülések helyreállító képességéről, regenerációjáról általában elmondható, hogy mértéke fiatal korban magasabb, ivaréretést követően csökken, majd szinte teljesen megszűnik a maximális várható élettartam vége előtt (Cichoń & Kozłowski, 2000). Tekintve, hogy a regeneráció a forrás limitáltság miatt kapcsoltságban állhat más jellegekkel is, szabályozása szempontjából érdemes megvizsgálnunk a szaporodási mintázatokat is. Véges és végtelen növekedéssel bíró szervezetekre is gyakran igaz, hogy fekunditásuk az életkorral nő (Clutton-Brock, 1984; Martin, 1995). Klonális vagy parciálisan klonális (vagyis ivaros és ivartalan szaporodásra is képes) állatok esetében azonban a kor függő mintázatok sokkal bonyolultabbak lehetnek és eltérhetnek a nem klonális állatoknál tapasztaltaktól (Clutton-Brock, 1984; Engen & Saether, 1994; Stearns, 1992), ezért az önfenntartást is tartalmazó életmenet modellekbe való integrálásuk is komplikált (Glazier & Calow, 1992). A parciálisan ivartalanul szaporodó állatoknál fontos életmenet döntés az ivartalanról ivaros szaporodásra való váltás is, melynek időzítése rugalmas és lehetséges kiváltó tényezője az ivartalan szaporodás külső környezeti tényezők általi gátoltsága (Burke & Bonduriansky, 2018; Gerber et al., 2018; Harvell & Grosberg, 1988).

Míg az ivaros és ivartalan szaporodás közötti különbségek jobban ismertek (összefoglalva például: Meirmans et al., 2012; Neiman et al., 2014), a szaporodási módokkal *párhuzamosan*, a regenerációban és más öfenntartásért felelős jellegekben korrall bekövetkező változások kevésbé kutatottak. A szaporodási módok tekintetében a regeneráció is mutathat eltéréseket, melyre általában az jellemző, hogy az ivartalan egyedek gyorsabb regenerációs képességgel rendelkeznek (például: Krois et al., 2013; Saccucci et al., 2016). Az is bizonyos, hogy lehetségesek szokatlan mintázatok a regenerációban az életkor változásával, így például fiatal szivacsok regenerációja teljesen gátolt lehet (véltetően az összejték intenzív növekedésben való részvétele miatt, (Simpson, 1984)), valamint egyes parciálisan ivartalan fajok regenerációs képessége az életkor előrehaladtával sem csökken (Bodnar & Coffman, 2016; Yun, 2015). Az ivartalan egyedekre általánosan magas öfenntartási jellegek jellemzőek (Sköld & Obst, 2011), ugyanakkor, az életkor előrehaladtával bekövetkező csökkenés is tapasztalható többek között a regenerációban (Meesters & Bak, 1995), túlélésben (Orive, 1995) és telomeráz aktivitásban is (Sköld et al., 2011). Ahogyan a fenti, néhol ellentmondásos példák is bizonyítják, a regeneráció életkorral történő változásait korántsem értjük teljesen, a változó szaporodási módok és a regeneráció (és más öfenntartásért felelős jellegek) közötti forrásallokációs mintázatokról pedig különösen keveset tudunk klonális és parciálisan klonális állatok esetében. Ehhez kapcsolódó ismereteinket bővítésére szolgál a **második tanulmány (II). Nyeles hidrákon végzett vizsgálatunkban, a szaporodáshoz (gametogenezis és ivartalan szaporodás) és öfenntartáshoz (fejregenerációs képesség és túlélés) kapcsolódó életmenet jellegek kor függő plaszticitását vizsgáltuk.**

A regenerációs folyamatok széles köre kapcsolatban állhat nem csak a korrall történő változásokban, hanem az öregedés jelenségével is. Stocum (2018) leírása alapján a sérülés indukálta regeneráció mellett egy másik típus, a *fiziológiás vagy fenntartó regeneráció* is meghatározható. A fiziológiás regeneráció során a régi sejtek újakkal történő helyettesítése (azaz a sejt “turnover”) az a homeosztatisz folyamat, mely fenntartja és biztosítja a szövetek normál szerkezetét és funkcióját (Stocum, 2018). Ez a kívülről láthatatlan folyamat az összes többsejtű élőlénynél megtalálható, például olyan formában mint az epidermisz, vér és gyomor sejtek cseréje (Kostyuchenko et al., 2016). A sérülés indukálta regeneráció mellett az öregedési mechanizmusok erre a fiziológiás regenerációra is hatással vannak.

Az eddigi tanulmányok nagy része megerősíti, hogy az öregedés folyamatával párhuzamosan a fiziológiás regeneráló folyamatok csökkenése is általánosan jelentkezik (Yun, 2015). Éppen ezért, egyes elméletek szerint a regenerációs képesség csökkenésének és a megfelelő funkciójú sejtek és szövetek fenntartásának elégtelenségének következménye az öregedés (Sharpless & DePinho, 2004). Ezt az elgondolást fordított szcenárióval igazolja azoknak az élőlényeknek a létezése,

melyek regenerációs képességei igen rendkívüliek és mérhető funkcionális hanyatlással nem rendelkeznek, amik az elhanyagolható öregedés jeleinek tekinthetők (Finch, 1994). Sőt, az erős javító és regenerációs képességű fajoknál a negatív öregedés (vagyis a csökkenő mortalitás és növekvő fekunditás jelensége) is előfordulhat (Vaupel et al., 2004).

Az öregedő és nem öregedő mintázatok kialakulásának kedvező és azt kiváltó kényszerekről azonban nem teljesen egyértelműek (Baudisch & Vaupel, 2012). Ilyen kényszer lehet például a túléléshez szükséges minimum metabolikus befektetés vagy a források elérhetősége is (Davison et al., 2014). A források elérhetősége, limitáltsága összefüggésbe hozható többféle túlélést és szaporodást érintő változással. Az elégtelen táplálék azonban jelzésként szolgálhat egy ellentétes folyamatra is, a végső befektetés (“terminal investment”) során ugyanis a túlélés lecsökken, míg az energiabefektetés a szaporodás intenzív növelésére irányul (Clutton-Brock, 1984; Fischer et al., 2009). Az azonos hatásra adott eltérő válaszok azonban nem egyediek az állatvilágban. Az is lehetséges, hogy a javító és öfenntartó mechanizmusokba való fokozott befektetés egyes fajokban csökkentik a fertilitást, másoknál csak kis hatással van rá, míg megint másoknál a jelenlegi fekunditás csökkenésével és a jövőbeli fekunditás növelésével jár együtt (Baudisch, 2012). Ezeknek a fajokra jellemző “beállítási lehetőségeknek (“option sets”) tanulmányozása a megöregedő és nem megöregedő öregedési mintázatok kialakulásához és az öregedés evolúciójának megértéséhez is közelebb vihet, ezért nagyobb kutatási hangsúlyt érdemelnének (Baudisch & Vaupel, 2012). Ezért is fontos, hogy a “beállítási lehetőségek” vizsgálatára potenciálisan alkalmas a *Hydra* nemzetség egy tagján végzett kutatásunkkal (**harmadik tanulmány (III)**) bővítsük a forrásallokációt, szaporodást és túlélést egyszerre érintő tudásunkat. **Disszertációs munkám ezen részében, az intenzív posztreproduktív degenerációt mutató nyeles hidráknál vizsgáltuk a táplálék elérhetőség hatását az ivaros szaporodásra és túlélésre.**

A regeneráció hidrák esetében is egy plaztikus jelleg, amire példaként szolgál a nyeles hidra (*Hydra oligactis*) faj, mely ivaros egyedeknél késleltetett vagy gátolt regenerációt írtak le (Galliot et al., 2018; Tomczyk et al., 2017). A regenerációs képességük elvesztésének hátterében vélhetően a szaporodási módjuk áll: öszszel a hőmérséklet csökkenés hatására ivartalan szaporodásról ivarosra váltanak, hogy más *Hydra* fajokhoz képest nagy számban hozzanak létre a zord időjárási körülményeknek ellenálló kitaró petéket (Reisa, 1973; Schuchert, 2010). A többi fajtól eltérően a nyeles hidráknál az ivaros szaporodás alatt és azt követően jelentős változások tapasztalhatók, ugyanis az ivarsejtek számának növekedésével a sejtközötti (interszticiális) őssejtjeik száma erősen csökken, majd ivaros szaporodás után testük degenerálódik és elpusztulnak (Tardent, 1974; Yoshida et al., 2006). A drasztikus változások miatt az ivaros szaporodás utáni öregedést “gametikus krízis”

következményének tartják, melyet összejtjeik ivarsejteké váló intenzív differenciálódása során való kimerülése és így a szomatikus funkciók ellátásának gátoltsága idézhet elő (Bosch, 2009; Brien, 1966; Tardent, 1974). Meg kell azonban jegyezni, hogy ezek a megfigyelések eddig csak néhány, laboratóriumi vonal alapján születtek, befolyásoló tényezőit (pl. táplálék vagy életkor) nem vizsgálva. Az eddigi hidrákon végzett regeneráció kutatások főleg a folyamat fiziológiai, fejlődési és molekuláris aspektusait vizsgálják (Bode, 2003; Kemmner & Chica Schaller, 1984; Tardent, 1974), a regenerációval, mint életmenet jelleggel való összefüggéseket viszont sokkal kevésbé értjük, ezért munkámmal erre a területre fókuszáltam. Továbbá, a természetes populációkban megjelenő szaporodási stratégiákkal, valamint azokban a sejt szintű forrásokért való versengés mediátor szerepével sem vagyunk tisztában, mely kérdéseket a **I, II és III tanulmányokban** található munkákban vizsgáltunk meg. Tekintve, hogy öregedő és nem öregedő útvonalak vizsgálata a hidráknál közelrokon fajoknál, nyeles hidráknál pedig akár fajon belül lehetséges, ideális modellszervezetként szolgálnak a regeneráció, öregedés és ezek életmenet jellegeket érintő következményeinek tanulmányozására, melyek disszertációs munkám alapvető kérdésköreit is alkotják

Anyagok és módszerek

(I) A nyeles hidra egyedeket természetes élőhelyükről, egy Tiszadorogma melletti Tisza holtágból gyűjtöttük az őszi-téli szaporodási időszak alatt, négy alkalommal. A víz alatti vegetációról begyűjtött egyedeket Eppendorf csöbe helyeztük és hűtőládában még aznap a laborba szállítottuk. A következő napon az egyedek randomizálva kiválasztott felén megkezdtem a fejregenerációs mérést. Ennek első lépéseként eltávolítottam a feji részt, majd négy nap múlva bináris rendszer szerint, a új tapogatók jelenléte vagy hiánya alapján értékelttem a regenerációt. Az állatokat ez alatt klímakamrában, a természetes élőhelyükön mért hőmérsékletnek megfelelően tartottam. Az állatok egy másik részét sejtösszetétel vizsgálatnak vetettük alá. A standard eljárás szerinti macerálást a gyűjtés utáni napon elvégeztük, később pedig az alábbi sejt típusokat megszámlálására került sor: epitél sejtek, intersticiális összejték, nematoblaszt (csalánsejt) sejtcsoportok és reprodukív sejtek (sperma prekursor sejtcsoportok a hímeknél és dajka sejtek a nőstényeknél). A statisztikai elemzéshez Általánosított Lineáris Kevert Modelleket (GLMM) használtam, az adatoknak megfelelő hiba eloszlással (Bayesian környezetben ahol szükséges volt).

(II) A kísérletben használt hím és nőstény nyeles hidra vonalak egy Tiszadorogma melletti holtágból származtak, amiket törzstenyészetben tartottunk a kísérletet megelőző egy évben. Az állatokat standard hidra médiumban, állandó körülmények között, 18 Celsius fokon, klímakamrában tartottuk. A kísérletben frissen levált bimbókat használtunk. Kísérleti kezelésként hőmérséklet csökkentést alkalmaztunk

7 Celsius fokra 3 vagy 24 nap elteltével a kísérlet megkezdése után. Az állatokat heti több alkalommal megvizsgáltuk, hogy rögzítsük ivartalan szaporodási rátájukat és ivarszerveik számát. A regeneráció mérését két hónapon át hetente elvégeztem az állatok egy részén, a feji rész eltávolítását követően egy héttel, az új tapogatók megjelenések bináris kódolása szerint. A sejtösszetétel méréseket szintén két hónapon át körülbelül hetente elvégeztük, az epitél sejtek, az intersticiális őssejtek, a sperma prekursor sejtcsoportok és a dajka sejtek számának feljegyzése révén. A kísérleti állatokat 5 hónapon át tartottuk, feljegyezve a haláleseteket, binárisan kódolva a túlélést. Az adatok elemzéséhez Általánosított Lineáris Kevert Modelleket használtam megfelelő hiba eloszlással, melyeket ‘Likelihood ratio test’ követett.

(III) A kísérletben használt 10 nyeles hidra vonal a Tiszadorogmához közeli holtágból származtak. A 10 állatot gyűjtését követően azokat standard laboratóriumi körülmények között tartottuk 20 Celsius fokon és két hónap alatt az egyedeket ivartalanul felszaporítottuk. A kísérlet ideje alatt az állatokat heti háromszor ettettük, 4 táplálék csoport szerint, melyeknek 3, 6, 10 vagy 20 μ l *Artemia* sórákot adtunk. A kísérlet kezdetétől számított második héten a hőmérsékletet 7 Celsius fokra csökkentettük, annak érdekében, hogy indukáljuk az ivaros szaporodást. Az ivaros szaporodás mértékének méréséhez rögzítettük az ivarszervek számát (leesett petéket a nőstényeknél, testiseket a hímeknél). Az állatok halálát is rögzítettük amennyiben azok szétestek vagy eltűntek. Különösen ügyeltünk arra, hogy az igen kisméretűre összehúzó állatokat is megtartsuk. Az állatokat 150 napig tartottuk, amikor is a legtöbb állat már halott volt vagy regenerálódott az ivaros szaporodás után és legalább egy ivartalan utódott hozott. A statisztikai elemzéshez Általánosított Lineáris Modelleket (GLM) vagy Általánosított Lineáris Kevert Modelleket (GLMM) és ‘Likelihood ratio test’-et alkalmaztunk Poisson vagy binomiális hiba eloszlással.

Eredmények

(I) Vizsgálatunk során azt találtuk, hogy nyeles hidráknál az ivaros egyedek fejregenerációs képessége, valamint csalánsejt és intersticiális őssejt készletük is csökkent az ivartalanul szaporodó egyedekhez képest, az ivartalan és nem szaporodó egyedek között azonban nem volt különbség. Továbbá, negatív korrelációt találtunk az ivaros egyedekben mért ivarsejt szám és az intersticiális őssejtek valamint csalánsejtek száma között. A regenerációs képességre és sejtösszetételre vonatkozó adataink igazolják az ivaros és ivartalan szaporodási módok közötti eltérő fiziológiai költségeket. Méréseink az ivarsejt és intersticiális őssejt adatokkal együtt megerősítik azt az elméletet, miszerint az őssejtekért folyó kompetíció mediátor szereppel rendelkezik az életmenet döntésekben. A sejt szintű (őssejt) források kimerülésének köszönhető valószínűleg a faj intenzív poszt reprodukív öregedése is. Tanulmányunk fontos eredménye, hogy természetes

populációból gyűjtött állatoknál is igazoltuk az eddig csak néhány, régóta laborban tartott vonalaknál tapasztalt különböző sejtípusokat érintő mintázatokat.

(II) A korfüggő plaszticitás meglétét igazoltuk az összes, nyeles hidrákon mért változóban (fejregenerációs ráta, ivartalan szaporodási ráta, ivarszervek száma, ivaros szaporodás kezdete, túlélés, ivarsejtek száma, össejtek száma). Vizsgálatunkban a fiatalabb egyedek magasabb ivartalan szaporodással, míg az idősebb egyedek intenzívebb gametogenezissel és ivarsejt képzéssel rendelkeztek. A szaporodásban mutatott eltérésekkel párhuzamosan, az önfenntartási jellegekben is eltérés mutatkozott: az idősebb egyedek alacsonyabb fejregenerációs képességgel, túléléssel és össejt számmal rendelkeztek. A fejregenerációs ráta és az össejtek számának változása a plasztikus hatás mellett ontogenetikus hatásra is utaltak.

(III) Kísérletünkben az ivaros szaporodást csökkent túlélés követett, azonban a korábbi kísérletekkel ellentétben, az állatok egy jelentős része a regenerálódott az ivaros szaporodás utáni degenerációt követően és ivartalanul is tovább szaporodott. A táplálék elérhetőség nem volt hatással az ivaros szaporodás megkezdésére, az ivarszervek számára viszont igen, magas táplálékszinten nagyszámú ivarszerv képzését eredményezve. A túlélési rátát nem befolyásolta az elérhető táplálék mennyisége, ezzel azt sugallva hogy a túlélés egy konzervált jelleg, fenntartása alacsony táplálékszint esetén is fontos. Az ivarszervek száma és a túlélés között nem volt egyedi szintű összefüggés. A kísérletünkbe bevont nyeles hidra vonalak között eltérés mutatkozott azok ivaros szaporodásra való hajlamában, ivarszerveinek számában és túlélésében is. Az ivaros szaporodást csak kis arányban vagy egyáltalán nem megkezdő vonalat is találtunk.

Diszkusszió

Munkám során a regenerációt, mint széles körben megjelenő életmenet jelleget vizsgáltam, szaporodáshoz és önfenntartáshoz kapcsolódó jellegekkel párhuzamos kutatásokat elvégezve. A regenerációt és a hozzá kapcsolódó jellegeket három fő tényezővel összefüggésben vizsgáltam édesvízi hidráknál: össejtek források, életkor és táplálék elérhetőség. Mind a három esetében szoros összefüggéseket fedeztünk fel az ellentétes életmenet komponsekhez tartozó jellegek és a regeneráció között valamint két esetben megfigyeltünk ivaros és ivartalan szaporodási módok közötti különbségeket is.

Az össejtek források tekintetében, természetes élőhelyükről gyűjtött nyeles hidráknál az eltérő szaporodási módú csoportokban markáns különbségek mutatkoztak, melyek regenerációjukban is tapasztalható volt **(I)**. Az ivaros egyedek csökkent fejregenerációs képességekkel, össejt számmal és a táplálkozásban szerepet játszó csalánsejt készlettel rendelkeztek a nem szaporodó egyedekhez

képest, míg az ivartalan csoport nem mutatott eltérést a nem szaporodóktól. Az ivaros szaporodással összefüggő csökkent szomatikus funkciók evolúciós oka lehet egy olyan szelekciós hatás, mely a hosszabb távú túlélés helyett a jelenlegi szaporodást priorizálja. Az evolúciós öregedés elméletek szerint, magas külső tényezők okozta mortalitás esetén ugyanis a túlélésre káros mutációk elterjedhetnek a populációkban (mutáció felhalmozódás elmélet: Medawar, 1952, antagonista pleiotrópia elmélet: Kirkwood & Rose, 1991, eldobható test elmélet: Williams, 1957). A potenciálisan megnövekedett mortalitás mérsékelt övi hidra populációkra is igaz, a hideg idő és a fagy beállta különösen a sekély vizekben jelent veszélyt. Ilyen esetekben a megfagyásnak is ellenálló kitartó peték létrehozása nagyobb reprodukciós értékkel bír az ivartalan utódokkal szemben, így szelekció hatására elterjedhet az ivaros szaporodásba való intenzív befektetés, akár a szomatikus funkciók fenntartásának kárára is. Az ivartalanul szaporodó egyedek stratégiája ezzel szemben azon alapulhat, hogy az alacsony szaporodási értékkel rendelkező utódaik létrehozása alacsony költséggel is jár. Ezek fényében, a szaporodás és a túlélés közötti csereviszony várhatóan a ivaros egyedeknél hangsúlyosabb, amit eredményeink is alátámasztanak. Valószínűleg ez állhat a háttérben a nyeles hidráknál is tapasztalt öregedési és szomatikus funkciókat érintő mintázatok megjelenésére, mely jelenség fiziológiai alapját a limitált összejt készletek elérhetőségére jelentheti.

Nagy szöveti plaszticitású állatoknál a multipotens összejtek számos életfunkció kialakításában részt vesznek, ezért az egyik funkcióba való intenzív befektetés az összejt források kimerülése révén más funkciók csökkentésével járhat együtt. A nagyobb reprodukciós befektetés során például a nagy számú ivarsejtképzés az összejtek nagyarányú elköteleződését igényelheti a csiravonal útvonal iránt, ami az összejtek limitáltságából adódóan a szomatikus funkciókat ellátó sejtek és magának az összejt készletnek a csökkenésével járhat. Ezt vizsgálatunk sejtszám mérései is alátámasztják, mivel az ivarsejtek száma és összejtek valamint csalánsejtek között negatív korrelációt találtunk hímek esetében.

Az összejt készlettel párhuzamosan, a fejregenerációs képesség is lecsökkent az ivaros szaporodó egyedeknél, az ivartalanoknál viszont megmaradt. Az összejteknel és a regenerációnál tapasztalt változások erősen összefügghetnek, ugyanis az összejtek szerepe kritikus több regenerációs típusban is (Alvarado, 2000; Bely & Nyberg, 2010; Sugimoto et al., 2011). Azonban, ha bármilyen fiziológiai folyamat csökkenti az összejtek elérhetőségét, akkor várhatóan a regeneráció is korlátozottá válhat (Henry & Hart, 2005; Kramarsky-Winter & Loya, 2000). Ahogy korábbi kutatások is alátámasztják, a regeneráció része az allokációs stratégiáknak és csereviszonyi kapcsolatoknak (Gross, 1925; Rinkevich & Loyla, 1989; Zattara & Bely, 2013), valamint a sejt szintű források elérhetőségének a szerepe is lehetséges magyarázatként merült fel például hidrák többszöri amputációs esemény követő

mérsékelt regenerációjánál (Martinez, 1996; Tardent, 1963). Vizsgálatunk ezek megerősítése mellett rávilágít arra is, hogy a szaporodási módok eltérően hathatnak a regenerációs képességre, mely különbségek oka valószínűleg az eltérő összejt költségekben rejlik.

Plasztikus jelleg lévén, a regenerációs képesség alakulása szempontjából az életkor is lényegesen befolyásoló tényező lehet. Az életkor előrehaladtával változhatnak a prioritizált életmenet jellegek, ami parciálisan klonális állatok esetében igen összetett jelenség lehet, mivel életmenetük során különböző szaporodási módok is előfordulhatnak (ivaros és ivartalan). Ezt a kérdéskört vettük górcső alá egy másik, kísérletes vizsgálatunkban (II). Ennek eredménye alapján elmondható, hogy a nyeles hidrák életmenet jellegei az életkor által jelentősen befolyásoltak. Az ivaros szaporodás kísérletes indukálása által felfedeztük, hogy a kor függő szaporodási módokhoz kapcsolódó stratégiák különböző mértékű önfenntartással társulnak. Ez a kapcsolat fontos része lehet a különböző öregedési mintázatoknak is. Habár eddigi tanulmányok alapján az a tendencia látszik kirajzolódni, hogy az ivartalan szaporodású állatok gyakran elhanyagolható vagy negatív öregedéssel rendelkeznek (Vaupel et al., 2004), míg az ivaros szaporodású állatok önfenntartása az életkor előrehaladtával hanyatlani kezd (Kirkwood & Rose, 1991), vizsgálatunk rámutat arra, hogy ezek a mintázatok változhatnak az életkor során.

Ahhoz, hogy a klonális és nem klonális élőlények olyan fő életmenet komponenseket, mint a növekedést, szaporodást, regenerációt és önfenntartást érintő allokációs mintázatait és prioritásait valóban megértsük, érdemes figyelembe vennünk egy lényegi különbséget a két csoport között. Fontos lehet ugyanis, hogy klonális és parciálisan klonális élőlényeknél a növekedés nem csak a test méretbeli fokozódását jelentheti, hanem a testből szomatikusan létrehozott ivartalan utódok képzsét is (Harvell & Grosberg, 1988). Ivartalan szaporodás révén az adott környezethez alkalmazkodott genotípus az ivaros szaporodásnál kisebb költséggel (Rispe et al., 1998), gyorsan képes egy élőhelyet kolonizálni. A nem klonális élőlényeknél tapasztalhatóakkal ellentétben ezért lehetséges, hogy az ivartalan szaporodásba való befektetés jó kondíció esetén már korai életszakaszban előnyös lehet (Burke & Bonduriansky, 2018). A parciálisan klonális fajoknál a genetikai diverzitás növelése pedig csak később, az ivaros szaporodás révén válhat előnyössé (Burke & Bonduriansky, 2018). Kutatásunk megerősíti ezt a feltevést, mivel azt találtuk, hogy nyeles hidrák élete során az ivartalan szaporodás fiatalabb korban, az ivaros szaporodás pedig csak később prioritás. Habár vannak példák a kor függő, szaporodással kapcsolatos mintázatokra (Burke & Bonduriansky, 2018; Kai & Sakai, 2008; Olive, 2002), a szaporodási módok közötti váltás kísérletes indukálása sokkal kevésbé vizsgált, holott a váltás befolyásoló tényezőinek, előnyeinek és költségeinek megbecsüléséhez elengedhetetlen.

Vizsgálatunk során a szaporodási módok eltérő önfenntartási költségekkel társultak: a fiatalabb egyedek, akik magasabb ivartalan szaporodási rátával és késleltetett, kevésbé intenzív gametogenezzel rendelkeztek, magasabb regenerációs és túlélési értékeket mutattak, míg ezek ellenkezője volt igaz az idősebb hidra polipokra. A korrallal bekövetkező változások tekintetében elmondható, hogy az ivartalan szaporodás képességével általában nem csökkenő regenerációs képességek és túlélés társul (Tanner, 2001; Yun, 2015), azonban egyes esetekben ezek csökkenése is előfordulhat (Meesters & Bak, 1995; Orive, 1995; Sköld et al., 2011). Ezen jelenségre is magyarázatul szolgálhat, hogy az önfenntartás korrallal történő változásai más életmenet jellegektől is függenek (Orive, 1995), mint például a vizsgálatunkban is szereplő szaporodási módoktól. A korábbi tanulmányok azonban a két szaporodási mód és az önfenntartási jelek kapcsolatát általában nem egyszerre, egy fajon belül vizsgálják, és nem foglalkoznak az életkor hatására bekövetkező változásokkal, mely fontosságára eredményeink is rámutatnak.

Proximális szinten nézve, sejt szintű méréseink lehetséges magyarázatot adhatnak a korrallal növekvő ivaros szaporodásra való hajlandóságra és annak nagyobb költségére is. Az ivarsejtek előállítását hidráknál a csíravonal összejték révén történik, melyek a multipotens összejtekből származtathatóak (Nishimiya-Fujisawa & Kobayashi, 2012), melyek egyszerre a szomatikus sejtek (csalán-, mirigy és idegsejtek) képzéséért is felelősek. Ebből adódóan, az ivaréres következtében a multipotens összejtek differenciálódása a szomatikus sejtek helyett az ivarsejt képzési útvonal felé tolódhat. Ezen csökkent elérhetősége az összejteknek a szomatikus funkciók felé az ivaros szaporodás egyik fő költségét is jelentheti, mivel a szomatikus sejtek felelősek a regenerációért, ivartalan szaporodásért és általánosságban a test fenntartásáért is (Nishimiya-Fujisawa & Kobayashi, 2012). Nőstény nyeles hidrák esetében korábban dokumentáltak már korrallal növekvő csíravonal összejt számot (Littlefield, 1991), mely egy bizonyos készütséget jelez az ivaros szaporodásra. Ennek fényében lehetséges, hogy kísérletünkben a fiatalabb állatok a megfelelő mennyiségű csíravonal összejt hiányában nem voltak képesek nagy számú ivarsejt produkcióra sem. Az ivarsejtek és összejtek időbeli dinamikája, a regenerációs mérésekkel együtt eredményeink további lehetséges magyarázataként az ontogenetikus hatás szerepét is felvetik. A fiatalabb, '1 hetes' csoportban ugyanis ezen változók értékeiben egy 3 hét csúszás figyelhető meg a '4 hetes' csoporthoz képest. Ugyanakkor, ha az állatok abszolút (szülő állatról való leválás időpontjától számított) korára is kontrollálunk, az ivaros szaporodás indukálása szerinti életkor csoportjuk hatása így is megmarad. Így összességében megállapítható, hogy az ontogenetikus hatás és kor függő plaszticitás együttesen játszhatott szerepet a nyeles hidrák életmenet stratégiáiban tapasztalt eltéréseiben.

Az életkor előrehaladtával, az öregedés során csökkenő tendencia tapasztalható a fiziológiás regenerációban (Yun, 2015), mely a túlélés egyik kulcsa. Az életkor

hatását az öregedés elméletek is figyelembe veszik, a források elérhetősége ilyen szempontból azonban kisebb tudományos figyelmet kap (Baudisch & Vaupel, 2012). Az allokációs elmélet szerint, a táplálék jelenti az életmenet jellegek kifejeződésének és működésének egyik alapvető forrását, ami a hidrák érdekes életmenet stratégiáival is összefüggésben állhat. Ezt vizsgáltuk meg harmadik kísérletünkben (III), melyben méréseink a poszt-reproduktív öregedéssel rendelkező nyeles hidra faj ivaros szaporodására és az azt követő túlélésére irányultak 4 táplálék szint bevonásával, 10 ivartalanul felszaporított vonal esetében.

Kísérletünkben az elérhető táplálék mennyiségének növekedésével az ivarszervek száma is növekedett, azonban a gonadogenezis megkezdése a táplálék-elérhetőségtől függetlennek bizonyult, ahogyan az ivaros szaporodást követő túlélés is. Ezek alapján megállapítható, hogy - az alkalmazott táplálékszintek esetében - a nyeles hidrák képesek megőrizni túlélési képességüket ivaros szaporodás esetén is. Ezen eredményeink több szempontból is meglepőek. Egyfelől, nyeles hidráknál az ivaros szaporodás egyfajta vészhelyzeti stratégia, és a kitartó peték létrehozását a fagy és/vagy az éhezés miatti magas mortalitás teszi szükségessé. Azonban, kísérletünk megfigyelései alapján ez a hipotézis nem magyarázhatja teljesen a jelenséget, mivel a táplálék mennyisége nem volt hatással az ivaros szaporodás megkezdésének valószínűségére (Kaliszewicz és Lipinska (2012) eredményeihez hasonlóan). Az sem támogatja a fenti hipotézist, hogy hideg hőmérsékleten az ivartalan szaporodás nem volt folyamatosan gátolt, és az ivaros szaporodás megkezdése előtt is képesek voltak az ivartalan utódok vagyis bimbók létrehozására. Ez azt sugallja, hogy a hőmérséklet csökkenés inkább jelként szolgál az ökológiailag optimális ivaros szaporodás megkezdésére, mintsem fiziológiai kényszer lenne (Reisa, 1973).

Meglepő továbbá, hogy a vizsgálatban szereplő kísérleti állatoknál tapasztalható volt a korábban leírtakhoz (Yoshida et al., 2006) hasonló ivaros szaporodást követő degeneráció, test- és tapogatókar méretbeli csökkenés és elhalálozás, azonban az állatok jelentős része ezt követően túlélte, regenerálódott és újra ivartalanul szaporodott. Ez a mintázat nem magyarázható sem a “terminal investment”, sem a “dietary restriction” jelenségeivel”, valamint olyan modellel sem, melyben a szaporodás és a túlélés egyaránt függ a táplálék elérhetőségétől. Ahogy az előző kísérleteknél (I és II) említésre került, az intenzív poszt-reproduktív degeneráció fő oka valószínűleg az összejtek kimerülése (Bosch, 2008; Brien, 1953; Reisa, 1973; Tardent, 1974; Yoshida et al., 2006). A “gametikus krízis” elmélete alapján a magas poszt-reproduktív túlélési rátára kézenfekvő magyarázat, hogy ezeknél a vonalaknál valószínűleg az összejtek kisebb arányban köteleződtek el a csírvonal útvonal felé és az összejtek egy kellően nagy populációja megmaradt ahhoz, hogy a teljes test regenerációját lehetővé tegye. Tekintve a hidrák teljes test regenerációjához szükséges igen alacsony szövet méretét (Shimizu et al., 1993), ez egy potenciális magyarázatnak tekinthető.

Harmadsorban, eredményeink nem támogatják azt a hipotézist, miszerint a poszt-reproduktív degeneráció a táplálék források szomatikus funkciók ellátására történő csökkent allokáció következménye. A túlélési rátára ugyanis nem volt hatással az elérhető táplálék mennyisége, valamint nem találtunk egyedi szintű összefüggést az ivarszervek száma és a túlélés között, ami pedig a kulcs eleme a csereviszonyi kapcsolatra épülő hipotézisnek. Lehetséges azonban, hogy a mintázott vonalak száma nem volt elegendő egy ilyen kapcsolat detektálásához.

Mindazonáltal, a vizsgálatba bevont tíz, azonos populációból származó nyeles hidra vonal rávilágít a fajon belüli eltérő életmenet stratégiák lehetséges jelenlétére. Még ezen a viszonylag korlátozott vonal számon belül is akadt olyan klónokból álló vonal, amely nagy arányban szaporodott ivaroson és előfordult olyan is, ami végig csak ivartalanul (a kizárólag ivartalan vonalak adatai nem kerültek bemutatásra). Továbbá, egyes vonalak túlélési valószínűsége igen magas volt, míg másoké kevesebb mint 25%. Ezek az eltérések részét képezhetik eltérő életmenet stratégiáknak vagy lehetséges, hogy az időszakosan változó, életmenet jellegekre ható szelekciónak köszönhető (Mojica et al., 2012). A sok vonalnál tapasztalt, ivaros szaporodást követő magas túlélési arány inkább az iteropár szervezetekre jellemző, melyeknél gyakran dokumentált, hogy a szomatikus funkciók fenntartása akár a szaporodási ráta csökkentése révén is biztosított például táplálék szempontjából kihívást jelentő körülmények esetén (például: Gaillard et al., 2000; Therrien et al., 2008). Ez alapján a táplálék elérhetőség, túlélés és szaporodás kapcsolata is eltérhet az iteropár és az alacsony túlélést mutató szemelpár vonalak/populációk között. Habár két korábbi kutatásnál (Tomczyk et al., 2015; Yoshida et al., 2006) is megjelenik ez a két mortalitási mintázat, a fenti hipotézis tesztelése különböző vonalak és populációk szélesebb körű tesztelésére lenne szükség a jövőben.

Mindent egybevetve, diszetációs munkám révén a regeneráció több aspektusával kapcsolatban is újabb összefüggéseket sikerült felfedezni, melyek további kutatási irányokat is segíthetnek. A csökkent regenerációs képességek és az összegek kimerülése alapján az ivaros szaporodás visszafordíthatatlan szaporodási stratégiának tűnik, mely az ivarsejt képzést helyezi előtérbe a szomatikus funkciók helyett. A nyeles hidrák klón vonalon belül mutatott jelentős korfüggő plaszticitása rámutathat a laborban tartott, klonális vagy parciálisan klonális fajokon végzett kutatások ismételhetségének egy fejlesztési irányára. Meglepő módon, ivaros szaporodás utáni degenerációt követően az állatok egy része képes volt regenerálódni, így felvetették egy újabb, iteropár szaporodási stratégia meglétét ennél a fajnál. A különböző vonalak között is markáns eltérések mutatkoztak mind az ivaros szaporodás indukálhatóságának, mind a túlélésének tekintetében, mely különbségek egy széleskörű populáció vizsgálat szükségességét vetítik előre. Összességében azonban elmondható, hogy a regeneráció mint fontos életmenet jelleg vizsgálata segíthet jobban megérteni az élőlények csereviszonyi hálózatának

kapcsolatait, az eltérő öregedési mintázatok okait és ezek fiziológiai hátterét, mely vizsgálati célokra a nyeles hidrák igen alkalmasnak bizonyultak.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretném megköszöni témavezetőmnek, Tökölyi Jácintnak a sok évnyi készséges támogatását és segítségét, nélküle nem kezdtem volna bele. Hálával tartozom a labor és terepi munka hatékonyra és élvezetessé tételéért a hidrás labor tagjainak, Miklós Máténak, Kozma Beatrixnak, Gergely Rékának, Nehéz Erzsébet Ágnesnek, Ngo Khanak, Iván Katalinnak és Tenkei Dávidnak. Köszönöm tanszékvezetőnknek, Dr. Barta Zoltánnak az észrevételeit és támogatását, valamint az Evolúciós Állattani Tanszék munkatársainak amiért jó munka légkört biztosítottak. Freytag Csongor fáradhatatlanul állt rendelkezésemre bármilyen kérdéssel, eszmeifutattással és támogatással kapcsolatban, amiért hálám örökké üldözni fogja. A doktori munkám az Emberi Erőforrások Minisztériumnak Új Nemzeti Kiválóság Programjának (ÚNKP-18-3) támogatásával készült.

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények

- I** Sebestyén, F., Barta, Z., & Tökölyi, J. (2018). Reproductive mode, stem cells and regeneration in a freshwater cnidarian with postreproductive senescence. *Functional Ecology*, 32(11), 2497-2508.
- II** Sebestyén, F., Miklós, M., Iván, K., & Tökölyi, J. (2020). Age-dependent plasticity in reproductive investment, regeneration capacity and survival in a partially clonal animal (*Hydra oligactis*). *Journal of Animal Ecology*, 89(10), 2246-2257.
- III** Tökölyi, J., Ósz, Z., Sebestyén, F., & Barta, Z. (2017). Resource allocation and post-reproductive degeneration in the freshwater cnidarian *Hydra oligactis* (Pallas, 1766). *Zoology*, 120, 110-116.



Nyilvántartási szám: DEENK/412/2021.PL
Tárgy: PHD Publikációs Lista

Jelölt: Sebestyén Flóra
Doktori Iskola: Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10063980

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (3)

1. **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
2. **Sebestyén, F.**, Barta, Z., Tökölyi, J.: Reproductive mode, stem cells and regeneration in a freshwater cnidarian with postreproductive senescence. *Funct. Ecol.* 32 (11), 2497-2508, 2018. ISSN: 0269-8463.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2435.13189>
IF: 5.037
3. Tökölyi, J., Ósz, Z., **Sebestyén, F.**, Barta, Z.: Resource allocation and post-reproductive degeneration in the freshwater cnidarian Hydra oligactis (Pallas, 1766). *Zoology.* 120, 110-116, 2017. ISSN: 0944-2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.zool.2016.06.009>
IF: 1.938

További közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

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





Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (4)

5. 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)
6. **Sebestyén, F.**, Póliska, S., Rác, R., Bereczki, J., Lénárt, K., Barta, Z., Lendvai, Á. Z., Tökölyi, J.: Insulin/IGF Signaling and Life History Traits in Response to Food Availability and Perceived Density in the Cnidarian Hydra vulgaris.
Zool. Sci. 34 (4), 318-325, 2017. ISSN: 0289-0003.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2108/zs160171>
IF: 0.906
7. 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
8. Tökölyi, J., Bradács, F., Hóka, N., Kozma, N., Máté, 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: 22,541

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 12,066

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

Debrecen, 2021.08.23.



Short thesis for the degree of doctor of philosophy (PhD)

**Regeneration and senescence in freshwater hydras:
life history decisions and their physiological background**

by Flóra Zsuzsa Sebestyén

Supervisor: Dr. Tökölyi Jácint



UNIVERSITY OF DEBRECEN
Juhász-Nagy Pál Doctoral School

Debrecen, 2021

2.1. Introduction

Wounds, environmental factors, diseases or stress pose a constant threat to multicellular organisms. To cope with the ensuing damages, two main processes have evolved: scar formation and regeneration (Stocum, 2018). Scar formation is completed without the replacement of the lost body part, and preserves the integrity of the given area (Stocum, 2018) In contrast, regeneration includes restorative processes against the negative impacts (Stocum, 2018). According to the prevalent definition, regeneration implies the restoration of lost body parts, but even this narrow phrasing can refer to regeneration at a cellular, tissue, organ or whole-body level (Bely & Nyberg, 2010).

Related to regeneration, some fundamental questions arise such as what is behind the special phylogenetic distribution of regeneration (Bely & Nyberg, 2010) or what are the factors which inhibit or prohibit regeneration ability in some species and individuals? In order to answer these wider, more general questions we should inspect regeneration as a *life history trait*, i.e. as a factor influencing reproduction and survival. In order to do this, it is important to consider that in spite of its unambiguous advantages, regeneration has disadvantages as well. Hence, via its energy and resource allocation cost, regeneration can affect several other traits of organisms belonging to their life history. This is an exceedingly significant feature, since the life history of an individual covers its time spent from birth to death, including the age- and state-dependents patterns which determine sexual maturity, reproduction, survival and death (Flatt & Heyland, 2011).

Resources used by life history traits are limited, hence negative linkages and trade-offs between them inevitably occur (Flatt & Heyland, 2011). Limiting factors can be macro- and micronutrients (Catoni et al., 2008; Cotter et al., 2011; Zera & Zhao, 2006), metabolic reserves (Ellers, 1995), but any substance can be a subject of trade-offs, if it is required by multiple life history traits. In animals with high tissue plasticity (e.g. sponges, corals, cnidarians and flatworms) the availability of stem cells can be such a limiting factor (Rinkevich, 1996). The body of these animals consists of stem cells at a high proportion, which on the one hand can be responsible for the shaping of a wide variety of traits related to survival, like growth, food capturing stinging cell production and their role in regeneration is important too as described above (Gold & Jacobs, 2013; Henry & Hart, 2005). On the other hand, it is also known that these stem cells can be responsible for the production of sexual and asexual reproductive cells (e.g. Simpson, 1984, Gahan et al., 2016, Newmark et al., 2008). Based on the shared stem cell pool, it is theoretically expectable, that if the investment into reproduction is intensive for example, its physiological cost also increases which results in the decrease of stem cell differentiation to somatic functions such as regeneration due to the existing trade-off (Henry & Hart, 2005;

Rinkevich, 1996).

However, the trade-off between reproduction and self-maintenance can be influenced by the mode of reproduction, which can be sexual or asexual as well. The reproductive value of offspring can play an important role in which reproductive mode is more successful, due to the survival probability of the offspring being different in given circumstances for instance. If the sexual and asexual offsprings' reproductive values are different, the amount of resources invested should also differ, and indeed, this is commonly described in animals (e.g. tunicatas: (Yund et al., 1997), aphids: (Nespolo et al., 2009), *Daphnia*: (Innes & Singleton, 2000), hydra: (Kaliszewicz, 2011)). At the same time, we know much less about the physiological consequences of differential investment of resources depending on reproductive modes, as well as how animal regeneration and other self-maintenance traits are affected by this. To support former theories, studies investigating the mediator role of stem cells are especially lacking, which is a central topic of the research in **the first study (I)**. **In this part of my dissertation, I set the objective of mapping the trade-off net between sexual and asexual reproduction, availability of stem cells and its dependent traits as regeneration and stinging cell number.**

Besides limiting physiological factors, age and life stage are also possible inner regulators of regeneration and main lever for phenotypic plasticity (Fischer et al., 2014). Generally, the rate of restoration and regeneration of somatic damages is higher at a younger age, decreases after maturation and completely stops before the maximum expected lifespan (Cichoń & Kozłowski, 2000). Considering that regeneration is related to other traits because of the resource limitation, to understand its regulation, we should examine the reproductive patterns as well. It is often true to both determinate and indeterminate growers, that their fecundity increases with age (Clutton-Brock, 1984; Martin, 1995). In clonal and partially clonal animals (capable of both sexual and asexual reproduction), however, age-dependent patterns can be much more complex and can differ from what is observed in non clonal organisms (Clutton-Brock, 1984; Engen & Saether, 1994; Stearns, 1992), therefore their integration into life history models involving self-maintenance is complicated (Glazier & Calow, 1992). According to conventional life history predictions, organisms favour growth at first, then growth stops and they start reproduction (Cichoń, 1997). In spite of this, research results of clonal animals shows that reproduction at early life stages and later growth is also possible, if the individuals are in good conditions (Glazier & Calow, 1992). In partially clonal animals another important decision is to switch from asexual to sexual reproduction, the timing of which can be flexible and might be triggered only when clonal reproduction is limited by exogenous factors (Burke & Bonduriansky, 2018; Gerber et al., 2018; Harvell & Grosberg, 1988)

While the differences between sexual and asexual reproduction are better known (reviewed for example in: Meirmans et al., 2012; Neiman et al., 2014), the age-dependent changes in reproduction *in parallel with* regeneration and other traits responsible for regeneration are much less studied. Regeneration also shows differences in relation to reproductive mode, which is usually characterized with higher regeneration capability in asexual individuals (for example Krois et al., 2013; Saccucci et al., 2016). It is also clear that unusual patterns in age-dependent changes in regeneration are also possible, hence in young sponges regeneration can be completely blocked (likely due to the intensive involvement of stem cells in growth, (Simpson, 1984) and in certain partially clonal species regeneration ability does not decrease with age (Bodnar & Coffman, 2016; Yun, 2015). Asexual individuals are generally characterized with high self-maintenance traits (Sköld & Obst, 2011), at the same time a decrease with age in regeneration (Meesters & Bak, 1995), survival (Orive, 1995) and telomerase activity (Sköld et al., 2011) is also observed. As the sometimes controversial examples above demonstrate, we are far from completely understanding age-dependent changes in regeneration, and we know particularly little about resource allocation patterns between changing reproductive modes and regeneration (or other traits responsible for self-maintenance) in clonal and partially clonal animals. Our **second study** serves to broaden our knowledge in this topic. **We investigated age-dependent plasticity in traits related to reproduction (gametogenesis and asexual reproduction) and self-maintenance (head regeneration and survival) in brown hydras.**

A wide variety of regeneration processes can relate to not just age-dependent changes, but to the phenomena of senescence as well. Based on Stocum's (2018) description, beside injury-induced regeneration another regeneration type is definable, the *physiological or maintenance regeneration*. During physiological regeneration, the replacement of old cells with new ones (called cell turnover) is a homeostatic process, which maintains and ensures the normal tissue structure and function (Stocum, 2018). This invisible process can be found in all multicellular organisms, in the form of epidermis, blood and gastric cell replacement for instance (Kostyuchenko et al., 2016). Beside the injury induced regeneration, aging mechanisms influence this physiological regeneration as well.

Most studies until now confirms that a decrease in physiological regeneration processes in parallel with aging is a generally appearing phenomena (Yun, 2015). Accordingly, some theories suppose that aging is a result of the decline in regeneration ability and maintenance of properly functioning cells and tissues (Sharpless & DePinho, 2004). A reversed scenario also confirms this concept by the existence of organisms having remarkable regeneration capabilities and lacking measurable functional decline, which are the sign of negligible senescence (Finch, 1994). Moreover, in species with high reparative and regeneration capabilities even

negative senescence can occur, usually paired with such characteristics as continuous oogenesis, high amount of stem cells, lack of somatic and germline differentiation or the ability to asexual reproduction (Vaupel et al., 2004).

However, forces favouring and disfavouring senescent and non senescent patterns are not unambiguously understood (Baudisch & Vaupel, 2012). Such a force can be minimum required metabolic investment to survival or the availability of resources (Davison et al., 2014). The availability and limitation of resources can be related to various changes in survival or reproduction. Insufficient food can be a sign of an opposite phenomena, since during terminal investment survival is reduced while energy investment is focused on increasing reproduction (Clutton-Brock, 1984; Fischer et al., 2009). But different responses to the same impact are not unique among animals. Possibly, the increased investment into repairing and maintenance mechanisms reduces fecundity in some species or has a weak effect in other cases, while reduces present and increases future fecundity in yet another species (Baudisch, 2012). The investigation of these species specific “option sets” can help to understand the evolution of senescent and non senescent aging patterns and the evolution of senescence, therefore they should have higher research interest (Baudisch & Vaupel, 2012). The genus *Hydra* is potentially appropriate for the investigation of different “option sets”, since the members of the genus are generally thought to have negligible senescence (Daňko et al., 2015), but one species shows intensive degeneration and reduced survival following sexual reproduction, which are characteristics of senescence (Yoshida et al., 2006). For this reason, it is important to widen our knowledge about resource allocation, reproduction and survival in parallel with our research investigating a member of *Hydra*, a genus eligible for studying “option sets” **(third study (III))**. **In this part of my dissertation work, we examined the effect of food availability on sexual reproduction and survival in species showing intense postreproductive degeneration.**

Regeneration is a plastic trait in hydras as well, and well demonstrated in the brown hydra species (*Hydra oligactis*), which shows delayed or arrested regeneration in sexual individuals (Galliot et al., 2018; Tomczyk et al., 2017). The loss of their regeneration ability is likely explained by their reproductive mode: they switch from asexual to sexual reproduction to the stimuli of temperature drop in autumn, in order to produce eggs resistant to the harsh environment at a high number compared to other *Hydra* species (Reisa, 1973; Schuchert, 2010). Differently from other species, significant changes can be observed in brown hydras during and following sexual reproduction, because their interstitial stem cell number strongly decreases with increase of reproductive cell number, then following sexual reproduction their body degenerates and they die (Tardent, 1974; Yoshida et al., 2006). Because of these drastic changes the senescence after sexual reproduction is thought to be a

consequence of “genetic crisis”, which can be caused by the exhaustion of their stem cells during the intensive differentiation to germ cells and hence their ability to maintain somatic functions is probably inhibited (Bosch, 2009; Brien, 1966; Tardent, 1974). Although we have to notice the facts that these studies contain observations about a few laboratory strains, without investigating the influential factors (e.g. food or age). Researches of hydras so far studied mainly the physiological, developmental and molecular aspects of this phenomena (Bode, 2003; Kemmner & Chica Schaller, 1984; Tardent, 1974) and we much less understand the nexus of regeneration as a life history trait, therefore I focused on this area with my work. Furthermore, we do not understand the reproductive strategies in natural populations and the regulatory roles of competition for cellular resources therein, which questions are raised and studied in **studies I, II and III**. Considering that the investigation of senescent and non senescent pathways is possible in closely related hydra species and even within species in brown hydra, they can serve as ideal model organisms to study regeneration, senescence and their consequences related to life history traits, which are fundamental topics in my dissertation.

Material and methods

(I) We collected brown hydras from their natural habitat (an oxbow lake near Tiszadorogma) on four occasions in the reproductive period during autumn and fall. We gathered individuals from submerged vegetation, placed them into Eppendorf tubes, then brought back to the laboratory in a cooling box. The following day, I began the head regeneration experiment on a randomized half of the individuals. I cut the head region of the animals as a first step, then I measured regeneration with a binary code system, based upon the presence or absence of newly emerged tentacles after four days. We kept animals in climate chambers during this experiment, according to temperatures measured in their natural habitat. Another part of the animals participated in cellular measurements. We macerated the animals following the standard procedure on the first day after collection, and counted the following cell types later: epithelial cells, interstitial stem cells, nematoblast (stinging cells) cell clusters, and reproductive cells (sperm precursor clusters in males and nurse cells in females). For statistical analyses, I used Generalized Linear Mixed Models (GLMMs), with error distributions according to the data (and performed in a Bayesian environment if it was needed).

(II) The male and female strains used in this experiment originated from an oxbow lake near Tiszadorogma, then kept in strain cultures for one year prior to the experiment. We kept the animals in standard conditions, constant temperature at 18 °C in a climate chamber. We used freshly detached buds for the experiment. As an experimental treatment, we reduced the temperature to 7 °C, 3 or 24 days after the beginning of the experiment. We examined the animals several times a week, to

record their asexual reproduction rate and the number of sexual organs. I measured regeneration weekly for two months at a subgroup of animals. I binary coded the emergence of new tentacles following decapitation. We also performed cellular measurements approximately weekly for two months, counting epithelial cells, interstitial stem cells, sperm precursor cell clusters and nurse cells. We kept the experimental animals for 5 months, recording death events, then binary coding survival. To analyze our data, I used GLMMS with proper error distributions, then performed Likelihood Ratio Tests (LRTs).

(III) The 10 used brown hydras originated from the oxbow lake near Tiszadorogma. Firstly, we collected 10 animals then kept under standard conditions at 20 °C for two months for asexual propagation. We fed the animals three times a week during the experiment, according to 4 food levels giving 3, 6, 10 or 20 µl *Artemia*. Two weeks after the beginning of the experiment, we reduced the temperature to 7 °C to induce sexual reproduction. In order to measure sexual reproduction rate, we counted sexual organs (detached eggs in females and testes in males). We recorded the death of animals if they disintegrated or disappeared. We were especially careful to retain animals shrank to a really small size. We kept the animals for 150 days, until most animals were dead or regenerated after sexual reproduction and produced at least one asexual offspring. For the statistical analyses we used Generalized Linear Models (GLMs) or Generalized Linear Mixed Models (GLMMs), followed by Likelihood Ratio Tests with Poisson or Binomial error distribution.

Major results

(I) In our study we found that sexual individuals had reduced regeneration ability and stinging and interstitial stem cell pool, compared to asexually reproducing polys of brown hydras, but we found no difference between asexual and nonreproductive individuals. The number of germ cells measured in sexual individuals negatively correlated with the number of interstitial stem cells and stinging cells. Our results of regeneration ability and cell composition confirms the differing physiological costs of sexual and asexual reproduction. Our measurements containing germ cell and interstitial stem cell data support the theory, according to which the competition for stem cell resources has a mediator role in life history decisions. The intensive post reproductive senescence is also likely caused by the exhaustion of cellular (stem cell) resources. An important result of our research is that we confirmed the previously observed cell types patterns in animals collected from a natural population, yet known from only a few, long-term laboratory kept strains.

(II) We confirmed the presence of age-dependent plasticity in all of our measured traits (head regeneration rate, asexual reproduction rate, number of sexual organs, start of sexual reproduction, survival, number of reproductive cells, number of stem

cells). Younger individuals had higher asexual reproduction, while older animals shower more intense gametogenesis and reproductive cell production in our experiment. In parallel with the differences in reproduction, we observed differences in self-maintenance traits as well: older individuals had lower head regeneration ability, survival and stem cell number. The changes in head regeneration rate and stem cell number also imply ontogenetic effects, besides the impact of plasticity.

(III) In our experiment, sexual reproduction was followed by reduced survival in brown hydras, but in spite of previous studies, a significant proportion of animals regenerated following degeneration after sexual reproduction, and they even started asexual reproduction. Food availability didn't have an impact on the start of sexual reproduction, but had an effect on the number of sexual organs, resulting in sexual organ production at a high rate. Survival rate was not influenced by the amount of available food, suggesting that survival is a conserved trait, and its maintenance is important even at a low food level. There was no linkage between the number of sexual organs and survival at individual levels. We observed a difference between brown hydra strains involved in our experiment in the aspects of the propensity to sexual reproduction, number of sexual organs and survival. We also found strains with lacking or low propensity to initiate sexual reproduction.

Discussion

In my dissertation work, I studied regeneration as a widespread life history trait, investigating it in parallel with traits related to reproduction and somatic maintenance. I studied regeneration and related traits in freshwater hydras, in accordance with three main factors: stem cell resources, age and food availability. We discovered strong relations between regeneration and traits related to opposing life history components in all cases, furthermore we described differences between sexual and asexual reproductive modes as well.

Regarding stem cells, we found marked differences in regeneration and other traits, depending on reproductive modes in hydras collected from their natural habitat **(I)**. Compared to the nonreproductive group, sexual individuals showed lower head regeneration ability, reduced stem cell and food capturing stinging cell pool, while asexuals did not differ. The evolutionary cause of reduced somatic functions related to sexual reproduction might be an effect of selection, prioritizing reproduction instead of long term survival. Several evolutionary theories of aging say that mutations deleterious to survival can spread in a population, if the externally caused mortality is high (mutation accommodation theory: Medawar, 1952, antagonistic pleiotropy theory: Kirkwood & Rose, 1991, disposable soma theory: Williams, 1957). The potentially high mortality risk is true for hydras living in the temperate zone, because the onset of cold weather and frost is especially dangerous in shallow

water bodies. In these cases, the production of frost resistant resting eggs can have a higher reproductive value than asexual offsprings, therefore an intensive investment into sexual reproduction could spread under a selection pressure, even at the expense somatic maintenance. In contrast, the strategy of asexual individuals can be based upon that the production of offsprings with low reproductive value has a low cost as well. In the light of this, the trade-off between reproduction and survival prospectively highlighted in sexual individuals, and can be a major cause of the aging and somatic maintenance patterns in brown hydras. A possible physiological explanation for the described phenomenon might be found in the availability of limited stem cell resources.

Multipotent stem cells contribute to several life functions in animals with high tissue plasticity, hence intense investment into one function can lead to reduction in other functions, due to the depletion of the stem cell pool. During higher reproductive investment for instance, the production of gametes at high numbers requires a commitment of stem cells into the germline pathway at a high proportion, which due to the limitation of stem cells, can reduce the number of cells involved in somatic maintenance and the stem cell pool itself. This is supported by the results of our cell number measurements, because we found a negative correlation between the number of reproductive cells and stem cells together with stinging cells in males.

In parallel with the stem cell pool, regeneration ability was also decreased in sexually reproducing individuals, while it was maintained in asexuals. The changes in stem cells and regeneration ability can be strongly related, since the role of stem cells is critical in the formation of new body parts, either by their proliferation or movement to the wound (Alvarado, 2000; Bely & Nyberg, 2010; Sugimoto et al., 2011). However, if any physiological process decreases the availability of stem cells, regeneration is also prospectively restricted (Henry & Hart, 2005; Kramarsky-Winter & Loya, 2000). As previous researches support as well, regeneration is part of the allocation strategy and trade-offs (Gross, 1925; Rinkevich & Loyal, 1989; Zattara & Bely, 2013), and the role of available cellular resources is a possible explanation for the restrained regeneration of hydras following subsequent regeneration events (Martinez, 1996; Tardent, 1963). Our investigation confirmed this relatedness, and even highlighted that reproductive modes can differently affect regeneration ability, probably because of the different stem cell requirements of these reproduction modes.

Since regeneration is a plastic trait, age can be one of its influential factors. Prioritized life history traits can change with advancing age, which is a particularly complex phenomena in partially clonal animals, because different reproductive modes (sexual and asexual) can appear during their lifetime. We put this topic under the microscope in our other experimental research (II). Our results showed that life

history traits are significantly influenced by age in brown hydras. Via the experimental induction of sexual reproduction, we discovered that age-dependent reproductive strategies are paired with different somatic maintenance rates. This relation is likely an important part of senescent patterns as well. Although previous studies suggests a tendency describing animals capable of asexual reproduction as organisms with negligible or negative senescence (Vaupel et al., 2004), while the self-maintenance of sexually reproducing animals decline with age (Kirkwood & Rose, 1991), our study shows that these patterns can change during their lifetime.

To understand allocation patterns and priorities of traits affecting major life history components in clonal and non clonal organisms, such as growth, reproduction, regeneration and self-maintenance, we have to consider a substantial difference between the two groups. Importantly, growth is not just an increase in size in clonal and partially clonal organisms, but it means production of offspring from the body and somatic cells as well (Harvell & Grosberg, 1988). Asexual reproduction enables genotype adapted to local conditions to quickly colonize a habitat at a low expense (Rispe et al., 1998). Therefore in contrary with non clonal organisms, an investment into asexual reproduction can be advantageous early in life, in case of good condition (Burke & Bonduriansky, 2018). In partially clonal organisms, the increase of genetic diversity via sexual reproduction might become beneficial only later in life (Burke & Bonduriansky, 2018). Our research support this hypothesis, since we found that asexual reproduction is more important early in life in brown hydras, while sexual reproduction is prioritized later. Although there are examples of age-dependent changes (Burke & Bonduriansky, 2018; Kai & Sakai, 2008; Olive, 2002), the reproductive patterns and experimental induction of change between reproductive modes is much less studied, albeit, these are indispensable to evaluate the influential factors and costs and benefits of reproductive mode switch.

As age and senescence progresses, there is a decreasing tendency in physiological regeneration (Yun, 2015), which is a key for survival. The effect of age is considered by aging theories, but the availability of resources receives little scientific interest (Baudisch & Vaupel, 2012). According to the allocation theory, food is one of the fundamental resources for the expression and function of life history traits, and it is probably in relation to the interesting life history strategy of hydras. We investigated this in our third experiment (III), in which we measured sexual reproduction and following survival at 4 food levels in 10 asexually propagated strains of the species *Hydra oligactis* with post-reproductive senescence.

In our experiment, the number of sexual organs increased with amount of food, however, gonadogenesis and survival after sexual reproduction were independent from food levels. Based on our results, it seems that - at the used food levels - brown hydras are able to preserve survival ability, even in case of sexual reproduction.

These results are surprising in many aspects. Firstly, sexual reproduction is thought to be a type of escaping strategy in brown hydras, and the production of resting eggs is required because of frost and/or starvation causing high mortality. Our observation does not confirm this hypothesis, since the amount of food did not have an effect on the probability of sexual reproduction initiation (similar to Kaliszewicz & Lipińska (2012)). The hypothesis above is also not confirmed by the fact that asexual reproduction was not constantly impeded at low temperature, and animals were able to produce asexual offsprings (namely buds) before the initiation of sexual reproduction. This suggests that temperature drop is rather cue to ecologically optimal sexual reproduction, than a physiological constraint (Reisa, 1973).

Furthermore, it is also surprising that although we observed the degeneration, body and tentacle size shrinkage and death after sexual reproduction as previously reported (Yoshida et al., 2006), a substantial proportion of animals were able to regenerate, survive and reproduce asexually. This pattern is not explainable by either the phenomenon of terminal investment or dietary restriction, or by a model in which both reproduction and survival are dependent on food availability. Like I mentioned related to the previous experiments (**I** and **II**), the main cause of intensive post-reproductive degeneration is probably the exhaustion of stem cells (Bosch, 2008; Brien, 1953; Reisa, 1973; Tardent, 1974; Yoshida et al., 2006). Based on the theory of “gametic crisis”, a plausible explanation for the high post-reproductive survival rate is that in these strains, stem cells were likely committed to the germline pathway at a lower rate. Therefore, a sufficiently big population of stem cells remained, and was able to regenerate the whole body. Considering that the minimum tissue size required for whole body regeneration is really small in hydras (Shimizu et al., 1993), this is a potential explanation.

Thirdly, our results do not support the hypothesis, according to which post-reproductive degeneration is a consequence of reduced allocation of food resources to somatic functions. Food availability did not have an effect on survival rate, and we did not find a relation between the number of sexual organs and survival at an individual level, what would be a key component of the hypothesis relying on trade-offs. However, it is possible that the number strains involved in our experiment was not enough to detect such a relation.

Nevertheless, the 10 strains involved in our investigation highlight the possible presence of different life history strategies within the species. Even within this relatively restricted number of strains, there were strains consisting of clones, which reproduced sexually at a high rate and which remained asexuals during the measurements (results not shown). Furthermore, the survival probability of some strains was really high, while in others it was lower than 25 %. These differences can be a part of different life history strategies, or maybe caused by a periodically

changing selection pressure on life history traits (Mojica et al., 2012). The high survival rate following sexual reproduction observed in many strains, is rather a characteristic of iteroparous animals. In these animals the maintenance of somatic functions is often documented, even via the reduction of reproduction rate in challenging circumstances like in terms of food (e.g. Gaillard et al., 2000; Therrien et al., 2008). On that measure, the relation of food availability, survival and reproduction can differ between iteroparous strains/population and semelparous ones with low survival. Although these two mortality patterns are shown by a few former studies (Tomczyk et al., 2015; Yoshida et al., 2006), to test the hypothesis above, we need to investigate varying strains and populations at larger scale in the future.

Taking everything into account, in my dissertation work we could discover new relations in several aspects of regeneration, which may facilitate new research directions. Based on the reduced regeneration ability and depletion of stem cells, sexual reproduction seems to be an irreversible reproduction strategy, prioritizing gamete production at the expense of somatic functions. The significant age-dependent plasticity in brown hydra clones can highlight a new, improved direction of research enhancing repeatability of studies done with clonal or partially clonal species kept in the laboratory. Surprisingly, a notable proportion of animals were able to regenerate from degeneration after sexual reproduction, therefore raised the possibility of a subsequent, iteroparous strategy in this species. Overall, my dissertation work suggests that the investigation regeneration, as an important life history trait can help to understand trade-off networks, differing senescent patterns and their causes, and the physiological background of these. Via our researches, we have demonstrated that brown hydras are suitable for all of these study purposes.

Acknowledgement

I would like to thank my supervisor, Jácint Tökölyi for his accommodating support and help in so many years, I wouldn't have got started without him. I am grateful for the members of the hydra lab, namely Máté Miklós, Beatrix Kozma, Réka Gergely, Erzsébet Ágnes Nehéz, Kha Ngo, Katalin Iván and Dávid Tenkei for making lab and field work efficient and enjoyable. I thank the head of our department Dr. Zoltán Barta for his remarks and support and the workers of the Department of Evolutionary Zoology for making a good work environment. Csongor Freytag was tirelessly available for any question, wandering and assistance, I'll be forever in your debt. My doctoral work was supported by the ÚNKP New National Excellence Program of the Hungarian Ministry for Innovation and Technology (ÚNKP-18-3).

List of publications related to the thesis

I Sebestyén, F., Barta, Z., & Tökölyi, J. (2018). Reproductive mode, stem cells and regeneration in a freshwater cnidarian with postreproductive senescence. *Functional Ecology*, 32(11), 2497-2508.

II Sebestyén, F., Miklós, M., Iván, K., & Tökölyi, J. (2020). Age-dependent plasticity in reproductive investment, regeneration capacity and survival in a partially clonal animal (*Hydra oligactis*). *Journal of Animal Ecology*, 89(10), 2246-2257.

III Tökölyi, J., Ósz, Z., Sebestyén, F., & Barta, Z. (2017). Resource allocation and post-reproductive degeneration in the freshwater cnidarian *Hydra oligactis* (Pallas, 1766). *Zoology*, 120, 110-116.



Registry number: DEENK/412/2021.PL
Subject: PhD Publication List

Candidate: Flóra Sebestyén

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

MTMT ID: 10063980

List of publications related to the dissertation

Foreign language scientific articles in international journals (3)

1. **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
2. **Sebestyén, F.**, Barta, Z., Tökölyi, J.: Reproductive mode, stem cells and regeneration in a freshwater cnidarian with postreproductive senescence. *Funct. Ecol.* 32 (11), 2497-2508, 2018. ISSN: 0269-8463.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2435.13189>
IF: 5.037
3. Tökölyi, J., Ósz, Z., **Sebestyén, F.**, Barta, Z.: Resource allocation and post-reproductive degeneration in the freshwater cnidarian Hydra oligactis (Pallas, 1766). *Zoology.* 120, 110-116, 2017. ISSN: 0944-2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.zool.2016.06.009>
IF: 1.938

List of other publications

Hungarian scientific articles in Hungarian journals (1)

4. 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 (4)

5. 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)
6. **Sebestyén, F.**, Póliska, S., Rácz, R., Bereczki, J., Lénárt, K., Barta, Z., Lendvai, Á. Z., Tökölyi, J.: Insulin/IGF Signaling and Life History Traits in Response to Food Availability and Perceived Density in the Cnidarian Hydra vulgaris.
Zool. Sci. 34 (4), 318-325, 2017. ISSN: 0289-0003.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2108/zs160171>
IF: 0.906
7. 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
8. Tökölyi, J., Bradács, F., Hóka, N., Kozma, N., Máté, 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): 22,541

Total IF of journals (publications related to the dissertation): 12,066

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.

23 August, 2021



Irodalomjegyzék / References

- Alvarado, A.S., 2000. Regeneration in the metazoans: why does it happen? *BioEssays* 22, 578–590. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(200006\)22:6<578::AID-BIES11>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(200006)22:6<578::AID-BIES11>3.0.CO;2-#)
- Baudisch, A., 2012. Birds Do It, Bees Do It, We Do It: Contributions of Theoretical Modelling to Understanding the Shape of Ageing across the Tree of Life. *Gerontology* 58, 481–489. <https://doi.org/10.1159/000341861>
- Baudisch, A., Vaupel, J.W., 2012. Getting to the Root of Aging 3.
- Bely, A.E., Nyberg, K.G., 2010. Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. *Trends Ecol. Evol.* 25, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.08.005>
- Bode, H.R., 2003. Head regeneration in *Hydra*. *Dev. Dyn.* 226, 225–236. <https://doi.org/10.1002/dvdy.10225>
- Bodnar, A.G., Coffman, J.A., 2016. Maintenance of somatic tissue regeneration with age in short- and long-lived species of sea urchins. *Aging Cell* 15, 778–787. <https://doi.org/10.1111/accel.12487>
- Bosch, T.C.G., 2009. Hydra and the evolution of stem cells. *BioEssays* 31, 478–486. <https://doi.org/10.1002/bies.200800183>
- Bosch, T.C.G., 2008. Stem Cells in Immortal Hydra, in: Bosch, T.C.G. (Ed.), *Stem Cells*. Springer Netherlands, pp. 37–57.
- Brien, P., 1966. *Biologie de la reproduction animale*. Masson & Cie, Paris.
- Brien, P., 1953. La Pérennité Somatique. *Biol. Rev.* 28, 308–349. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1953.tb01381.x>
- Burke, N.W., Bonduriansky, R., 2018. The fitness effects of delayed switching to sex in a facultatively asexual insect. *Ecol. Evol.* 8, 2698–2711. <https://doi.org/10.1002/ece3.3895>
- Catoni, C., Peters, A., Martin Schaefer, H., 2008. Life history trade-offs are influenced by the diversity, availability and interactions of dietary antioxidants. *Anim. Behav.* 76, 1107–1119. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2008.05.027>
- Cichoń, M., 1997. Evolution of longevity through optimal resource allocation. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 264, 1383–1388. <https://doi.org/10.1098/rspb.1997.0192>
- Cichoń, M., Kozłowski, J., 2000. Ageing and typical survivorship curves result from optimal resource allocation. *Evol. Ecol. Res.* 2, 857–870.
- Clutton-Brock, T.H., 1984. Reproductive Effort and Terminal Investment in Iteroparous Animals. *Am. Nat.* 123, 212–229. <https://doi.org/10.1086/284198>
- Cotter, S.C., Simpson, S.J., Raubenheimer, D., Wilson, K., 2011. Macronutrient balance mediates trade-offs between immune function and life history traits. *Funct. Ecol.* 25, 186–198. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01766.x>
- Dańko, M.J., Kozłowski, J., Schaible, R., 2015. Unraveling the non-senescence phenomenon in Hydra. *J. Theor. Biol.* 382, 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.06.043>
- Davison, R., Boggs, C.L., Baudisch, A., 2014. Resource allocation as a driver of senescence: Life history tradeoffs produce age patterns of mortality. *J. Theor. Biol.* 360, 251–262. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.07.015>
- Ellers, J., 1995. Fat and Eggs: an Alternative Method To Measure the Trade-Off Between

- Survival and Reproduction in Insect Parasitoids. *Neth. J. Zool.* 46, 227–235. <https://doi.org/10.1163/156854295X00186>
- Engen, S., Saether, B.E., 1994. Optimal Allocation of Resources to Growth and Reproduction. *Theor. Popul. Biol.* 46, 232–248. <https://doi.org/10.1006/tpbi.1994.1026>
- Finch, C.E., 1994. Longevity, Senescence, and the Genome. University of Chicago Press.
- Fischer, B., Taborsky, B., Dieckmann, U., 2009. Unexpected Patterns of Plastic Energy Allocation in Stochastic Environments. *Am. Nat.* 173, E108–E120. <https://doi.org/10.1086/596536>
- Fischer, B., van Doorn, G.S., Dieckmann, U., Taborsky, B., 2014. The Evolution of Age-Dependent Plasticity. *Am. Nat.* 183, 108–125. <https://doi.org/10.1086/674008>
- Flatt, T., Heyland, A. (Eds.), 2011. Mechanisms of life history evolution: the genetics and physiology of life history traits and trade-offs, Oxford biology. Oxford University Press, Oxford ; New York.
- Gahan, J.M., Bradshaw, B., Flici, H., Frank, U., 2016. The interstitial stem cells in *Hydractinia* and their role in regeneration. *Curr. Opin. Genet. Dev., Cell reprogramming, regeneration and repair* 40, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.06.006>
- Gaillard, J.-M., Festa-Bianchet, M., Yoccoz, N.G., Loison, A., Toïgo, C., 2000. Temporal Variation in Fitness Components and Population Dynamics of Large Herbivores. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31, 367–393. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.367>
- Galliot, B., Buzgariu, W.C., Schenkelaars, Q., Wenger, Y., 2018. Non-developmental dimensions of adult regeneration in *Hydra*. *Int. J. Dev. Biol.* 62, 373–381. <https://doi.org/10.1387/ijdb.180111bg>
- Gerber, N., Kokko, H., Ebert, D., Booksmythe, I., 2018. *Daphnia* invest in sexual reproduction when its relative costs are reduced. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 285, 20172176. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.2176>
- Glazier, D.S., Calow, P., 1992. Energy allocation rules in *Daphnia magna*: clonal and age differences in the effects of food limitation. *Oecologia* 90, 540–549. <https://doi.org/10.1007/BF01875448>
- Gold, D.A., Jacobs, D.K., 2013. Stem cell dynamics in Cnidaria: are there unifying principles? *Dev. Genes Evol.* 223, 53–66. <https://doi.org/10.1007/s00427-012-0429-1>
- Harvell, C.D., Grosberg, R.K., 1988. The Timing of Sexual Maturity in Clonal Animals. *Ecology* 69, 1855–1864. <https://doi.org/10.2307/1941162>
- Henry, L.-A., Hart, M., 2005. Regeneration from Injury and Resource Allocation in Sponges and Corals - a Review. *Int. Rev. Hydrobiol.* 90, 125–158. <https://doi.org/10.1002/iroh.200410759>
- Innes, D.J., Singleton, D.R., 2000. Variation in allocation to sexual and asexual reproduction among clones of cyclically parthenogenetic *Daphnia pulex* (Crustacea: Cladocera). *Biol. J. Linn. Soc.* 71, 771–787. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2000.tb01290.x>
- Kai, S., Sakai, K., 2008. Effect of colony size and age on resource allocation between growth and reproduction in the corals *Goniastrea aspera* and *Favites chinensis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 354, 133–139. <https://doi.org/10.3354/meps07216>
- Kaliszewicz, A., 2011. Interference of asexual and sexual reproduction in the green hydra. *Ecol. Res.* 26, 147–152. <https://doi.org/10.1007/s11284-010-0771-6>
- Kaliszewicz, A., Lipińska, A., 2012. Maturation costs affect maturation timing: sexual reproduction in a heterogonic hydra. *Hydrobiologia* 679, 19–25.

- <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0840-z>
- Kemmner, W., Chica Schaller, H., 1984. Actions of head activator and head inhibitor during regeneration in hydra. *Differentiation* 26, 91–96.
- Kirkwood, T.B.L., Rose, M.R., 1991. Evolution of Senescence: Late Survival Sacrificed for Reproduction. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 332, 15–24. <https://doi.org/10.1098/rstb.1991.0028>
- Kostyuchenko, R.P., Kozin, V.V., Kupriashova, E.E., 2016. Regeneration and asexual reproduction in annelids: Cells, genes, and evolution. *Biol. Bull.* 43, 185–194. <https://doi.org/10.1134/S1062359016030067>
- Kramarsky-Winter, E., Loya, Y., 2000. Tissue regeneration in the coral *Fungia granulosa*: the effect of extrinsic and intrinsic factors. *Mar. Biol.* 137, 867–873. <https://doi.org/10.1007/s002270000416>
- Krois, N.R., Cherukuri, A., Puttagunta, N., Neiman, M., 2013. Higher rate of tissue regeneration in polyploid asexual versus diploid sexual freshwater snails. *Biol. Lett.*
- Littlefield, C.L., 1991. Cell lineages in *Hydra*: Isolation and characterization of an interstitial stem cell restricted to egg production in *Hydra oligactis*. *Dev. Biol.* 143, 378–388. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(91\)90088-K](https://doi.org/10.1016/0012-1606(91)90088-K)
- Martin, K., 1995. Patterns and Mechanisms for Age-dependent Reproduction and Survival in Birds. *Am. Zool.* 35, 340–348. <https://doi.org/10.1093/icb/35.4.340>
- Martinez, D.E., 1996. Rejuvenation of the disposable soma: repeated injury extends lifespan in an asexual annelid. *Exp. Gerontol.* 31, 699–704.
- Medawar, P., B., 1952. *An unsolved problem in biology*. H. K. Lewis, London, UK.
- Meesters, E., Bak, R., 1995. Age-related deterioration of a physiological function in the branching coral *Acropora palmata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 121, 203–209. <https://doi.org/10.3354/meps121203>
- Meirmans, S., Meirmans, P.G., Kirkendall, L.R., 2012. The Costs Of Sex: Facing Real-world Complexities. *Q. Rev. Biol.* 87, 19–40. <https://doi.org/10.1086/663945>
- Mojica, J.P., Lee, Y.W., Willis, J.H., Kelly, J.K., 2012. Spatially and temporally varying selection on intrapopulation quantitative trait loci for a life history trade-off in *Mimulus guttatus*. *Mol. Ecol.* 21, 3718–3728. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05662.x>
- Neiman, M., Sharbel, T.F., Schwander, T., 2014. Genetic causes of transitions from sexual reproduction to asexuality in plants and animals. *J. Evol. Biol.* 27, 1346–1359. <https://doi.org/10.1111/jeb.12357>
- Nespolo, R.F., Halkett, F., Figueroa, C.C., Plantegenest, M., Simon, J.-C., 2009. Evolution of trade-offs between sexual and asexual phases and the role of reproductive plasticity in the genetic architecture of aphid life histories. *Evolution* 63, 2402–2412. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00706.x>
- Newmark, P.A., Wang, Y., Chong, T., 2008. Germ Cell Specification and Regeneration in Planarians. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 73, 573–581. <https://doi.org/10.1101/sqb.2008.73.022>
- Nishimiya-Fujisawa, C., Kobayashi, S., 2012. Germline stem cells and sex determination in *Hydra*. *Int. J. Dev. Biol.* 56, 499–508. <https://doi.org/10.1387/ijdb.123509cf>
- Olive, P.J., 2002. Reproduction and Life Cycles in Invertebrates, in: John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, p. a0003649. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0003649>
- Orive, M.E., 1995. Senescence in Organisms with Clonal Reproduction and Complex Life

- Histories. *Am. Nat.* 145, 90–108. <https://doi.org/10.1086/285729>
- Reisa, J., 1973. Ecology of hydra, in: Burnett, A. (Ed.), *Biology of Hydra*. Academic Press, New York and London, pp. 59–105.
- Rinkevich and Loyla, 1989. Reproduction in regenerating colonies of the coral *Stylophora pistillata* [WWW Document]. ResearchGate. URL https://www.researchgate.net/publication/245023554_Reproduction_in_regenerating_colonies_of_the_coral_Stylophora_pistillata (accessed 3.19.17).
- Rinkevich, B., 1996. Do reproduction and regeneration in damaged corals compete for energy allocation? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 143, 297–302.
- Rispe, C., Pierre, J.-S., Simon, J.-C., Gouyon, P.-H., 1998. Models of sexual and asexual coexistence in aphids based on constraints. *J. Evol. Biol.* 11, 685–701. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1998.11060685.x>
- Saccucci, M.J., Denton, R.D., Holding, M.L., Gibbs, H.L., 2016. Polyploid unisexual salamanders have higher tissue regeneration rates than diploid sexual relatives. *J. Zool.* 300, 77–81. <https://doi.org/10.1111/jzo.12339>
- Schuchert, P., 2010. The European athecate hydroids and their medusae (Hydrozoa, Cnidaria): Capitata Part 2. *Rev. Suisse Zool.* 117, 337–555.
- Sharpless, N.E., DePinho, R.A., 2004. Telomeres, stem cells, senescence, and cancer. *J. Clin. Invest.* 113, 160–168. <https://doi.org/10.1172/JCI20761>
- Shimizu, H., Sawada, Y., Sugiyama, T., 1993. Minimum Tissue Size Required for Hydra Regeneration. *Dev. Biol.* 155, 287–296. <https://doi.org/10.1006/dbio.1993.1028>
- Simpson, T.L., 1984. *The Cell Biology of Sponges*. Springer-Verlag, New York.
- Sköld, H.N., Asplund, M.E., Wood, C.A., Bishop, J.D.D., 2011. Telomerase deficiency in a colonial ascidian after prolonged asexual propagation. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* 316B, 276–283. <https://doi.org/10.1002/jez.b.21399>
- Sköld, H.N., Obst, M., 2011. Potential for clonal animals in longevity and ageing studies. *Biogerontology* 12, 387–396. <https://doi.org/10.1007/s10522-011-9333-8>
- Stearns, S.C., 1992. *The Evolution of Life Histories*, 1 edition. ed. Oxford University Press, Oxford ; New York.
- Stocum, D.L., 2018. *Foundations of Regenerative Biology and Medicine*. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/978-0-7503-1626-2>
- Sugimoto, K., Gordon, S.P., Meyerowitz, E.M., 2011. Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation? *Trends Cell Biol.* 21, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.12.004>
- Tanner, J.E., 2001. The Influence of Clonality on Demography: Patterns in Expected Longevity and Survivorship. *Ecology* 82, 1971–1981. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2001\)082\[1971:TIOCOD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2001)082[1971:TIOCOD]2.0.CO;2)
- Tardent, P., 1974. Gametogenesis in the Genus *Hydra*. *Am. Zool.* 14, 447–456. <https://doi.org/10.1093/icb/14.2.447>
- Tardent, P., 1963. Regeneration in the Hydrozoa. *Biol. Rev.* 38, 293–333. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1963.tb00785.x>
- Therrien, J.-F., Côté, S.D., Festa-Bianchet, M., Ouellet, J.-P., 2008. Maternal care in white-tailed deer: trade-off between maintenance and reproduction under food restriction. *Anim. Behav.* 75, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.04.030>
- Tomczyk, S., Fischer, K., Austad, S., Galliot, B., 2015. Hydra , a powerful model for aging studies. *Invertebr. Reprod. Dev.* 59, 11–16. <https://doi.org/10.1080/07924259.2014.927805>

- Tomczyk, S., Schenkelaars, Q., Suknovic, N., Wenger, Y., Ekundayo, K., Buzgariu, W., Bauer, C., Fischer, K., Austad, S., Galliot, B., 2017. Deficient autophagy drives aging in Hydra. bioRxiv 236638. <https://doi.org/10.1101/236638>
- Vaupel, J.W., Baudisch, A., Dölling, M., A. Roach, D., Gampe, J., 2004. The case for negative senescence. *Theor. Popul. Biol.* 65, 339–351. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2003.12.003>
- Williams, G.C., 1957. Pleiotropy, Natural Selection, and the Evolution of Senescence. *Evolution* 11, 398–411. <https://doi.org/10.2307/2406060>
- Yoshida, K., Fujisawa, T., Hwang, J.S., Ikeo, K., Gojobori, T., 2006. Degeneration after sexual differentiation in hydra and its relevance to the evolution of aging. *Gene* 385, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.06.031>
- Yun, M.H., 2015. Changes in Regenerative Capacity through Lifespan. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 25392–25432. <https://doi.org/10.3390/ijms161025392>
- Yund, P.O., Marcum, Y., Stewart-Savage, J., 1997. Life-History Variation in a Colonial Ascidian: Broad-Sence Heritabilities and Tradeoffs in Allocation to Asexual Growth and Male and Female Reproduction. *Biol. Bull.* 192, 290–299. <https://doi.org/10.2307/1542722>
- Zattara, E.E., Bely, A.E., 2013. Investment choices in post-embryonic development: Quantifying interactions among growth, regeneration, and asexual reproduction in the annelid *Pristina leidy*: GROWTH, REGENERATION, AND FISSION IN AN ANNELID. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* 320, 471–488. <https://doi.org/10.1002/jez.b.22523>
- Zera, A.J., Zhao, Z., 2006. Intermediary Metabolism and Life-History Trade-Offs: Differential Metabolism of Amino Acids Underlies the Dispersal-Reproduction Trade-Off in a Wing-Polymorphic Cricket. *Am. Nat.* 167, 889–900. <https://doi.org/10.1086/503578>