

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

**TERMÉSZETES KÖRNYEZETI STRESSZOROK ÉS XENOBIOTIKUMOK
HATÁSA VÍZI MIKROSZERVEZETEKRE**

KÉSZÍTETTE:

LÁZÁR DIÁNA

KÉMIAI ÉS KÖRNYEZETTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

DOI:10.18136/PE.2026.989

TÉMAVEZETŐK:

DR. LENGYEL EDINA PHD

TUDOMÁNYOS FŐMUNKATÁRS

PROF. DR. SZÉKÁCS ANDRÁS PHD, DSC

EGYETEMI TANÁR, TUDOMÁNYOS TANÁCSADÓ

**PANNON EGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KÖZPONT**



**VESZPRÉM
2026**

TERMÉSZETES KÖRNYEZETI STRESSZOROK ÉS XENOBIOTIKUMOK HATÁSA
VÍZI MIKROSZERVEZETEKRE

Az értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében készült a Pannon Egyetem
Kémiai és Környezettudományi Doktori Iskolája keretében
Környezettudományok tudományágban

Írta: LÁZÁR DIÁNA

Témavezetők: Dr. Lengyel Edina, Prof. Dr. Székács András

Elfogadásra javaslom: igen / nem.

.....
témavezető

Elfogadásra javaslom: igen / nem.

.....
témavezető

Az értekezés bírálatra bocsátható.

.....
TDHT elnök

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján %-ot ért el.

A bíráló Bizottság tagjai:

elnök:.....

bírálok:.....

tagok:.....

Veszprém,

.....
Bíráló Bizottság elnök

A doktori (PhD) oklevél minősítése:.....

Veszprém,

.....
EDHT elnök

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	6
Kivonat.....	7
Abstract.....	8
Résumé.....	9
1. Általános bevezetés.....	12
1.1. Felszíni vizeket érintő antropogén hatások.....	12
1.1.1. Klímaváltozás.....	12
1.1.2. Szalinizáció.....	14
1.1.3. Eutrofizáció.....	15
1.1.4. Növényvédőszer-használat.....	17
1.2. Bioindikáció és bioindikátorok.....	18
1.2.1. Kovaalgák.....	19
1.2.2. Kék- és zöldalgák.....	22
1.2.3. Fotoszintézis, mint fiziológiai indikátor.....	24
1.3. Célkitűzés.....	28
2. A klímaváltozás lehetséges hatásainak előrejelzése kovaalgafajok fotoszintetikus aktivitása alapján.....	29
2.1. Bevezetés.....	29
2.2. Anyag és módszer.....	32
2.2.1. Izolálás és a tenyészetek fenntartása.....	32
2.2.2. Ökofiziológiai kísérlet.....	33
2.2.3. Modellezés.....	34
2.3. Eredmények.....	36
2.3.1. A fotoszintetikus jellemzők.....	36
2.3.2. Optimum és tolerancia.....	36
2.3.3. Modellezés.....	39
2.4. Diskusszió.....	41
2.4.1. A múlt (1970–2000).....	41
2.4.2. A közelmúlt (2005-2015).....	42
2.4.3. A jövő (2041-2060).....	43
3. Maleinsav-hidrazid hatása a teratogén formák kialakulására egy kovaalga-faj esetében.....	45
3.1. Bevezetés.....	45
3.2. Anyag és módszer.....	47
3.2.1. Tenyészet fenntartása.....	47
3.2.2. Kísérleti beállítások.....	47
3.2.3. Vizsgált fiziológiai paraméterek.....	48
3.2.4. Statisztikai elemzés.....	51

3.3. Eredmények.....	52
3.3.1. Sejtszámnövekedés.....	52
3.3.2. Pigmentek.....	53
3.3.3. Fotoszintetikus aktivitás.....	56
3.3.4. Enzimaktivitás.....	57
3.3.5. Lipidtartalom.....	58
3.3.6. Teratogén formák.....	59
3.3.7. A <i>G. parvulum</i> válaszreakcióinak analízise a MH-koncentráció és az expozíciós idő függvényében.....	62
3.4. Diskusszió.....	64
4. Fluoreszcencia alapú műszer fejlesztése és alkalmazhatósága gyomirtó szer ökotoxikológiai vizsgálatában.....	69
4.1. Bevezetés.....	69
4.2. Anyag és módszer.....	72
4.2.1. Algakultúrák fenntartása.....	72
4.2.2. A műszer.....	73
4.2.3. Mérési paraméterek optimalizációja.....	76
4.2.4. Összehasonlítás más módszerekkel.....	76
4.2.5. Alkalmazása édesvízben.....	77
4.2.6. Algacsoportok arányainak vizsgálata Dikroikus Fluorométer rendszerrel.....	78
4.2.7. FluoroMeter Modul alkalmazása ökotoxikológiai vizsgálatokban.....	78
4.2.8. Statisztikai értékelés.....	79
4.3. Eredmények.....	80
4.3.1. Az előkísérletek eredményei.....	80
4.3.2. A Különböző módszerek közötti korreláció, LOD, LLOQ és ULOQ meghatározása.....	81
4.3.3. Zöld- és kékalgák fluoreszcenciajelei édesvizekben Dichroikus Fluorométer Rendszerrel.....	83
4.3.4. Az algacsoportok arányainak vizsgálata a DFS rendszerrel.....	85
4.3.5. Potenciálisan vízszennyező gyomirtószer-hatóanyag lebomlásának vizsgálata és alगतoxicitásának értékelése FluoroMeter Modullal (FFM).....	86
4.4. Diskusszió.....	87
5. Összefoglalás.....	91
6. Tézispontok.....	94
7. Key Results in Thesis Points.....	96
8. Köszönetnyilvánítás.....	98
9. Irodalomjegyzék.....	99
10. Mellékletek.....	128

Rövidítések jegyzéke

ATP	Adenozin-trifoszfát
Chl-<i>a</i>	<i>a</i> Klorofill
FMM	FluoroMeter Module
F_v/F_p	A II. Fotokémiai rendszer (PSII) hatékonysága
F_0	Kezdeti fluoreszcenciaintenzitás
$F_p=F_m$	A fluoreszcenciaintenzitás maximuma
F_s	Állandósult (terminális) fluoreszcenciaintenzitás
HAB	Káros algavirágzás
I_k	Fényadaptációs paraméter
NADPH	Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
OD	Optikai sűrűség
PAP	Fotoszintetikusan aktív periódus
PAR	Fotoszintetikusan aktív sugárzás
PSI	I. Fotokémiai rendszer
PSII	II. Fotokémiai rendszer
Rfd	Fluoreszcencia-csökkenés
P_{max}	Maximális fotoszintézis
P_s	Biomassza-specifikus fotoszintetikus aktivitás

Kivonat

Az édesvízi rendszerek a földi ökoszisztéma alapvető elemei, amelyek az emberi társadalom számára is kiemelten fontos ökoszisztéma-szolgáltatásokat nyújtanak. Napjainkban ezekben a víztestekben számos biotikus és abiotikus változás megy végbe, melyek egyaránt eredhetnek természetes és antropogén folyamatokból. A földi vízkészletek gyorsan fogynak, a meglévők állapota pedig folyamatosan romlik. A vízi ökoszisztémák megóvása, állapotának vizsgálata és folyamatos monitorozása kiemelt jelentőségű. A jelen értekezésben bemutatott kutatás középpontjában a mikroszkópikus algák - mint az édesvizek fontos élőlénycsoportjai - állnak, melynek célja (i) a klímaváltozás és (ii) egy növényvédőszer algákra gyakorolt lehetséges hatásainak feltárása, valamint (iii) egy alga-biomassza detektálására alkalmas műszer fejlesztése.

Az eredmények egyértelműen jelzik, hogy az éghajlatváltozással járó hőmérsékletnövekedés számottevő hatást gyakorol a szikes tavak domináns elsődleges termelőinek számító *Nitzschia* fajok fotoszintézisére, továbbá a fotoszintetikusan aktív időszakuk hosszára: a fotoszintetikus teljesítmény növekedése, valamint vegetációs periódus két hónappal történő meghosszabbodása várható.

A maleinsav-hidrazid növényvédőszer alacsony és magas koncentrációban alkalmazva is teratogén morfológiai elváltozásokat idézett elő a *Gomphonema parvulum* tenyészetben anélkül, hogy annak szaporodási kapacitás csökkenését okozta volna. A gyomirtószerrel való kezelés kimutatható pozitív hatást gyakorolt a sejtek lipid-tartalmára és a POD-aktivitásra, míg a pigmenttartalom és a fotoszintetikus aktivitás tekintetében nem állapítható meg egyértelmű összefüggés.

A kutatásunk során egy moduláris felépítésű, fluoreszcencián alapuló műszeres rendszer prototípusának (FluoroMeter Modul) a kifejlesztése is megtörtént, amely alkalmas az algasűrűség *in situ* mérésére. A fluorométerrel kapott jelek jól korreláltak a hagyományos módszerekkel (pl. Bürker-kamrás sejt számlálással) és érzékenyebb kimutatási határértékeket értünk el. A kifejlesztett fluorométer gyakorlati alkalmazhatóságát tekintve kiválóan alkalmas algatoxicitási vizsgálatokra is, amelyet az *Raphidochelis subcapitata*-val végzett ökotoxikológiai teszttel demonstráltuk, az isoxaflutole gyomirtószer-hatóanyag felhasználásával.

Abstract

Freshwater systems represent fundamental components of terrestrial ecosystems and provide ecosystem services of outstanding importance to humans. Currently, numerous biotic and abiotic changes are taking place in these water bodies, driven by both natural and anthropogenic processes. Global freshwater reserves are rapidly diminishing, and the condition of existing resources is continuously deteriorating. Thus, the protection, assessment, and continuous monitoring of aquatic ecosystems are of paramount importance. Microscopic algae are key constituents of freshwater habitats and the present dissertation aims to (i) explore the potential impacts of climate change, (ii) investigate pesticide-induced morphological and physiological alterations in experiments with a representative species, and (iii) develop an instrument capable of detecting changes in algal biomass.

Our results indicate that climate change exerts a significant influence on the photosynthesis of *Nitzschia* species that are the dominant primary producers of soda pans, as well as on the duration of their photosynthetically active period (PAP). An increase in photosynthetic performance and an extension of the PAP by approximately two months are anticipated.

We examined the effects of the plant growth regulator maleic hydrazide on the diatom species *Gomphonema parvulum* under laboratory conditions. Our findings show that maleic hydrazide, at both low and high concentrations, induced teratogenic morphological abnormalities in *G. parvulum* cultures without reducing their reproductive capacity. Moreover, treatment with the herbicide exerted a detectable positive effect on cellular lipid content and POD activity, whereas no clear relationship could be established with respect to pigment content or photosynthetic activity.

As part of this research, we developed a modular, fluorescence-based instrumental system prototype (FluoroMeter Module) suitable for the in situ measurement of algal density. For the experiments, we employed a green alga (*Raphidocelis subcapitata*) and a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) as model organisms. Fluorescence-based determination of algal density was validated using conventional methods (e.g., Bürker chamber cell counting). Signals obtained with the fluorometer showed strong correlations with traditional techniques, while achieving more sensitive detection limits. The practical applicability of the FluoroMeter Module was demonstrated through a growth-inhibition

ecotoxicity assay with *R. subcapitata* using the herbicidal active ingredient isoxaflutole. The results indicate that the FluoroMeter Module is highly suitable for algal toxicity assessments.

Résumé

Les systèmes d'eau douce constituent des éléments fondamentaux des écosystèmes terrestres et fournissent des services écosystémiques d'une importance majeure pour les sociétés humaines. Actuellement, ces masses d'eau subissent de nombreux changements biotiques et abiotiques, résultant aussi bien de processus naturels que d'activités anthropiques. Les réserves mondiales d'eau douce s'amenuisent rapidement, tandis que l'état des ressources existantes se dégrade continuellement. La protection, l'évaluation et le suivi régulier des écosystèmes aquatiques revêtent ainsi une importance cruciale. Cette thèse porte sur les algues microscopiques — un groupe d'organismes essentiels dans les eaux douces — et vise (i) à analyser les effets potentiels du changement climatique, (ii) à étudier les altérations morphologiques et physiologiques induites par les pesticides, et (iii) à développer un instrument capable de détecter les variations de biomasse algale.

Les résultats de la modélisation indiquent clairement que le changement climatique exerce une influence significative sur la photosynthèse des espèces de *Nitzschia* — principaux producteurs primaires des lacs alcalins — ainsi que sur la durée de leur période d'activité photosynthétique. Une augmentation de leur performance photosynthétique et un prolongement d'environ deux mois de leur période végétative sont attendus.

Nous avons examiné les effets de l'hydrazide maléique, un régulateur de croissance végétal, sur l'espèce de diatomée *Gomphonema parvulum* dans des conditions de laboratoire. Nos résultats montrent que l'hydrazide maléique, appliqué à faibles comme à fortes concentrations, induit des anomalies morphologiques tératogènes au sein des cultures de *G. parvulum*, sans pour autant réduire leur capacité de reproduction. De plus, le traitement herbicide a exercé un effet positif détectable sur la teneur lipidique cellulaire et sur l'activité de la peroxydase (POD), tandis qu'aucune relation claire n'a pu être établie concernant la teneur en pigments ou l'activité photosynthétique.

Dans le cadre de cette recherche, nous avons développé un prototype de système instrumental modulaire basé sur la fluorescence (Module FluoroMeter), apte à mesurer in situ la densité algale. Pour les expérimentations, nous avons utilisé une algue verte (*Raphidocelis subcapitata*) et une cyanobactérie (*Microcystis aeruginosa*) comme organismes modèles. La détermination de la densité algale fondée sur la fluorescence a été validée à l'aide de méthodes conventionnelles (par ex. comptage cellulaire à l'aide d'une chambre de comptage Bürker). Les signaux obtenus avec le fluoromètre ont montré une forte corrélation avec les

méthodes traditionnelles, tout en permettant d'atteindre des limites de détection plus sensibles. L'applicabilité pratique du Module FluoroMeter a été démontrée à travers un test d'écotoxicité basé sur l'inhibition de la croissance de *R. subcapitata*, utilisant l'herbicide isoxaflutole comme substance active. Les résultats indiquent que le Module FluoroMeter est particulièrement approprié pour les études de toxicité algale.

1. Általános bevezetés

A víz szerepe kettős; néhány kivételes tulajdonsága miatt létfontosságú az élőlények számára, míg más tulajdonságai szabályozó funkciót látnak el (Pandey et al., 2017). Vízre van szükség a legtöbb élőlény szervezetében lejátszódó biokémiai folyamathoz a baktériumoktól a legfejlettebb szervezetekig egyaránt. A víz nem csak az élet alapja, de kétségtelenül a gazdasági-társadalmi fejlődés legfontosabb feltétele is.

A Föld felszínének 71%-át víz borítja, aminek csupán a 2,5%-a édesvíz. Ennek a mennyiségnek 1,2%-a az, ami felszíni édesvíznek tekinthető, a tengervízhez hasonlóan részt vesz a vízciklusban és az élőlények számára hozzáférhető (Oki & Kanae, 2006). Az édesvízi ökoszisztémák a legveszélyeztetettebbek a világon (Dudgeon et al., 2006), hiszen a földi vízkészletek gyorsan fogynak, a meglévők pedig koncentráltan helyezkednek el, szennyezettségük mértéke aggasztó. A vízi ökoszisztémák jelentősége megkérdőjelezhetetlen, ezért ezen élőhelyek megóvása kiemelt és sürgős feladataink közé tartozik. Ez viszont csak úgy lehetséges, ha pontosan ismerjük a bennük zajló biotikus és abiotikus folyamatokat, összefüggéseket.

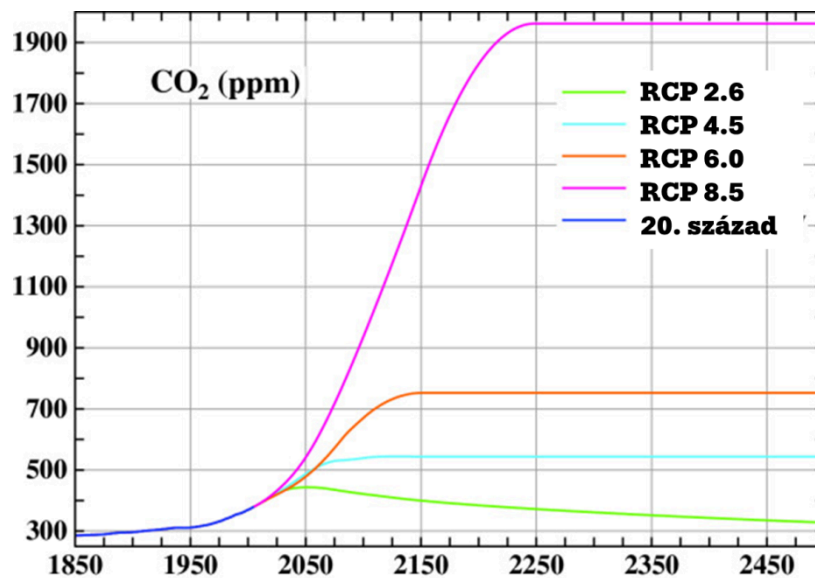
1.1. Felszíni vizeket érintő antropogén hatások

1.1.1. Klímaváltozás

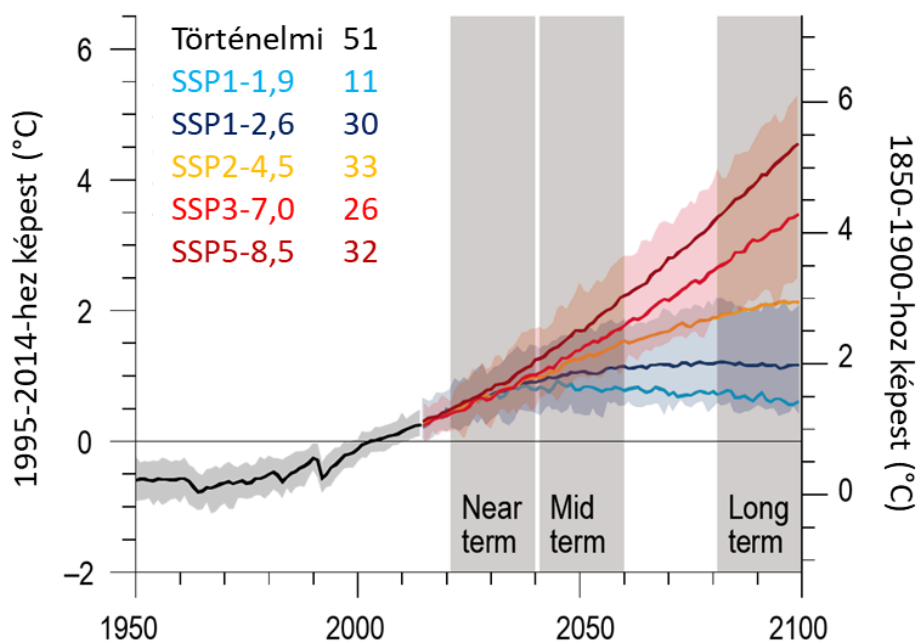
Az éghajlatváltozást a 21. század globális kihívásának tekintjük, amely hatással van mind a természetes, mind az emberi rendszerekre (Stocker et al., 2013; Hansen et al., 2015). Az ipari forradalom (1769) óta a légkör szén-dioxid-tartalma (280 ppm) rohamosan nő; a legfrissebb jelentés (2025. július) alapján ennek mennyisége már elérte a 427,87 ppm koncentrációt (Tans & Keeling, 2025). Ez az elmúlt 650 000 év legmagasabb értéke (Canadell et al., 2007). A globális szén-dioxid-koncentráció növekedése elsősorban a fosszilis tüzelőanyagok használatának, valamint a földhasználati szokások megváltozásának a következménye (Change, 2007). A CO₂ – mennyisége alapján – az egyik legjelentősebb üvegházhatású gáz, így koncentrációjának növekedése az atmoszféra átlaghőmérsékletének emelkedésének egyik fő oka.

Az IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change, Éghajlatváltozási Kormányközi Testület) 5. értékelő jelentésében (AR5) az RCP (Representative Concentration Pathways, Reprezentatív Koncentrációs Útvonalak) lehetséges forgatókönyvek előrejelzésére támaszkodik (1. ábra). A RCP-eket az alapján nevezték el, hogy mekkora lesz a sugárzási

kényszer (W/m^2) 2100-ra. A sugárzási kényszer azt adja meg, hogy egy adott tényező (pl. CO_2) mennyivel változtatja meg a Föld energia egyensúlyát. Az IPCC AR6-os jelentés már továbbfejlesztett forgatókönyvkeretet használ – az ún. SSP (Shared-Socio Pathways, Megosztott Társadalmi-Gazdasági Útvonalak) fogalmát –, amelyben nemcsak fizikai tulajdonságokat vesznek figyelembe, hanem társadalmi-szociális jellemzőket is (2. ábra).



1. ábra | Négy Reprezentatív Koncentrációs Útvonalak (RCP) 2100-ra becsült CO_2 -sugárzási kényszerének 2,6 és 8,5 Wm^2 közötti tartománya (Nazarenko et al., 2015)



2. ábra | A globális felszíni levegő-hőmérséklet lehetséges változásai az 1950 és 2014 közötti átlaghoz viszonyítva 2100-ig a különböző forgatókönyvek alapján.
<https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/figures/chapter-4/figure-4-2/>

A globális klímaváltozásnak nem csupán az atmoszférára van jelentős hatása, hanem kiterjed a Föld összes szférájára. A hidroszférán belül, a szárazföldi felszíni vizeket jelentős mértékben befolyásolja, mivel azok hőmérséklete közvetlen kapcsolatban áll az atmoszféra hőmérsékletével (Mccombie, 1959; Livingstone & Lotter, 1998). Mindemellett a tavak bonyolult összeköttetésben is állnak az éghajlati rendszerrel, hiszen vízháztartásuk stabilitása a befolyók (pl. csapadék, felszíni folyóvizek, felszíni lefolyás, a talajvíz-beáramlás) és kifolyók (pl. párolgás, felszíni kifolyás, a talajvíz feltöltődése) közötti egyensúlyban nyilvánul meg (Mason et al., 1994), így különösen érzékenyek az éghajlati változásokra (Winter & Woo, 1990). Összességében tehát az édesvízi ökoszisztémák erősen ki vannak szolgáltatva a klímaváltozásból eredő stresszhatásoknak, amelyek között említhetjük például a szalinizációt és az emelkedő vízhőmérséklet (Stenger-Kovács et al., 2023).

1.1.2. Szalinizáció

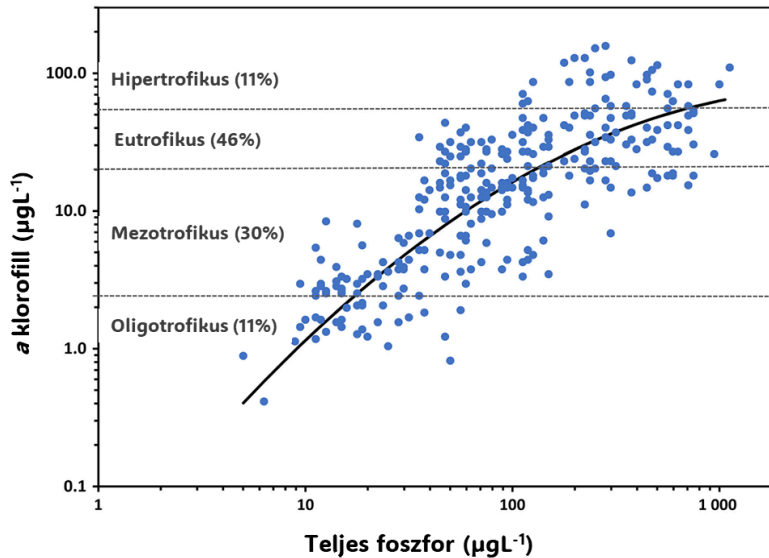
A felszíni vizek iontartalmát és a főbb ionok összetételét olyan természetes tényezők határozzák meg, mint a vízgyűjtő alapköze, a csapadék mennyisége és a légköri kiülepedés (Williams, 2002; Millán et al., 2011). A szárazföldi sós vizek összes sótartalmát $>3000 \text{ mg L}^{-1}$

ban határozták meg (Williams, 1967). A szikes tavak definíció szerint azok a sós tavak, amelyekben a Na^+ és a $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$ az elsők a domináns ionok sorában (Boros et al., 2018). A föld édesvizeinek természetes (elsődleges) szalinizációját a glaciális és interglaciális ciklusok (Herbert et al., 2015), valamint egyéb szezonális ciklusok, szeles, esős események okozzák (Rengasamy, 2006). Az éghajlatváltozás okozta globális hőmérséklet-emelkedés, a csapadék eloszlásának és intenzitásának változása, a fokozott párolgás a már megváltozott hidrológiai ciklus további változásait eredményezi, ami fokozza a vízi ökoszisztémák szalinizációját (Cañedo-Argüelles, 2020). Az emberi tevékenységek is jelentősen hozzájárulhatnak a felszíni vizek sótartalmának növekedéséhez, de akár még a sóösszetételt is módosíthatják, melyet másodlagos szalinizációnak nevezünk. A sok káros tevékenység közül például a műtrágyák használata vagy a mezőgazdasági szennyvizek kijuttatása a felszíni vizek oldott sótartalmát növelheti (Liu et al., 2020). A vízi ökoszisztémák között, az édesvizek kifejezetten érzékenyen reagálnak a sókoncentráció kismértékű változására, mivel élőviláguk viszonylag állandó ionkoncentrációhoz és arányokhoz szokott (Cañedo-Argüelles, 2016). A megnövekedett sótartalom továbbá más folyamatokra is hatással lehet, mint például serkentheti az eutrofizációt és súlyosan ronthatja a vízminőséget (Duan et al., 2012). A szalinizáció más környezeti stresszorokkal (szennyezés) kombinálva veszélyezteti az ökoszisztéma általános zavaró hatásokkal szembeni ellenálló képességét és funkcióit (Ondrasek & Rengel, 2021).

1.1.3. Eutrofizáció

A tápanyagok nélkülözhetetlenek a vízi táplálékhálózat fenntartásához (Bachmann et al., 1996). Azonban a vízi ökoszisztéma túlzott feldúsulása antropogén tápanyagforrásokkal – különösen nitrogénnel (N) és foszforral (P) – az oligotróf víztestek mezotróf, eutróf vagy hipertróf állapotának kialakulásához vezet, amely folyamatot eutrofizációnak nevezünk (3. ábra). A víztestek eutrofizációja tehát tápanyagokkal, elsősorban foszforral való dúsulás miatt következik be (Schindler, 2022). A mezőgazdasági területekről származó víz általában sokkal több nitrogént tartalmaz, mint foszfort, mert a foszfor a talajban marad a talaj összetevőihez kötődve. A Liebig-féle minimumtörvény miatt a növények a számukra szükséges tápanyagokat mindig a legkisebb mennyiségben rendelkezésre álló tápelem arányában veszik fel (de Baar, 1994), így csak akkor jelentkezik eutrofizáció, ha a talaj erodálása nyomán többletfoszfor kerül a vízbe. A foszfor felhalmozódását okozhatja a nem célszerű tápanyagbevitel, a túlzott műtrágyázás (Em, 2001). A növekvő népesség élelmiszer igényének

kielégítése érdekében nőtt a műtrágyák felhasználása, amelynek következtében 1960 és 1990 között a globális használaton belül a nitrogénműtrágyák felhasználása több mint hétszeresére, míg a foszforműtrágyáké a háromszorosára nőtt (Howarth et al., 2005).



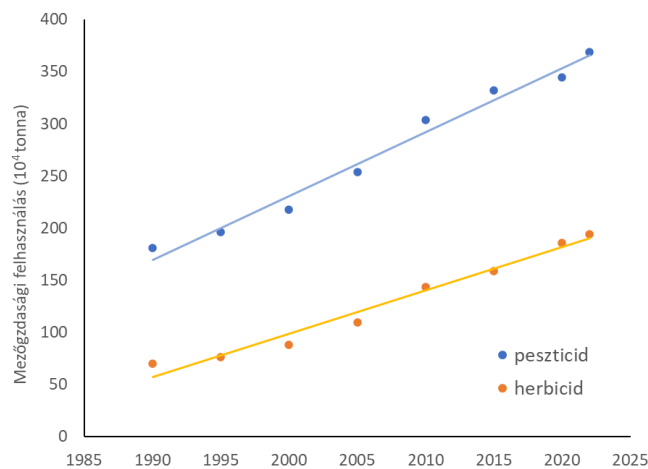
3.ábra | Az összfoszfor és a víz a klorofillkoncentrációja közötti összefüggés Észak-Amerika és Európa vízfolyásaiban (Wurtsbaugh et al., 2019)

Az eutrofizáció korlátozhatja a halászati, ipari, rekreációs és az ivóvíz célú vízhasználatot, mert hatására a nem kívánatos algák és vízinövények nagymértékben elszaporodhatnak, majd azok elpusztulása és lebomlása súlyos oxigénhiányhoz vezethet, ami más élőlénycsoportok pusztulását is eredményezheti (Khan & Mohammad, 2014). Az algapusztulást követően a süllyedő algák lebomlanak a mélyebb rétegekben, ahol a kialakult hypoxia csökkenti a redoxpotenciált a víz fenekén, ami pozitív visszacsatoláshoz vezet; az üledékből N és P jut vissza a tó vizébe (Dodds, 2002; Lewis et al., 2011). Az eutrofizáció során létrejövő nagy mennyiségű alga tömeg csökkenti a vízbe jutó fény mennyiségét is, amely a bevonatlakó algák és vízi növények növekedését is negatívan befolyásolja (O'Hare et al., 2018). A túlzott P- és N-terhelés továbbá serkentheti az olyan cianobaktérium-virágzásokat (HAB – Harmful Alga Bloom – káros algavirágzás), amelyek mérgező anyagokat – ún. toxinokat – termelhetnek, melyek pusztulást okozhatnak vagy bioakkumulálódhatnak a magasabb rendű élőlényekben, akár jelentős egészségügyi problémát okozva az emberek számára is (Davidson et al., 2012; Glibert, 2017). Könnyű tehát belátni, hogy a víztestek algamennyiségének nyomon követése rendkívül fontos, hiszen lehetőséget biztosít a szakemberek számára a negatív változások korai felismerésére és a megfelelő

intézkedési terv megtervezésére, mellyel közbe tudnak lépni a további változások elkerülése érdekében.

1.1.4. Növényvédőszer-használat

A vizek antropogén szennyezését az ipari és a kereskedelmi hulladékok, mezőgazdasági és antropogén tevékenységek okozzák (Owa, 2014). A népességnövekedés és a gyors iparosodás következményeként (Haseena et al., 2017) a szennyező anyagok változatossága és mennyisége évente növekszik (Abel, 2002). Naponta több millió tonna szennyvíz (WWAP, 2003), iparból származó vegyi anyag és a mezőgazdaságból eredő növényvédőszer, műtrágya kerül az édesvizekbe (Viman et al., 2010). A népesség növekedésével az élelmiszer és egyéb termékek iránti igény kielégítése érdekében megnövekedett a növényvédőszer, s ezen belül a gyomirtó szer használata a mezőgazdaságban a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations – az Egyesült Nemzetek Szervezetének Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Szervezete) adatbázisa alapján (4. ábra).



4. ábra | A növényvédőszer és ezen belül a gyomirtó szer használatának alakulása világszerte 1990 és 2022 között
(forrás: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP> FAO).

Egyre több kutatás jelzi a növényvédőszer jelenlétét a felszíni és felszín alatti vizekben is, sok esetben az alkalmazási helytől távol is (Louchart & Voltz, 2007; Gilliom 2007). Globálisan 3,5-4,6 millió tonna növényvédőszer juttatnak permetszer, granulátum, csávázószer és más kiszerelések formájában évente a környezetbe (Zhang et al. 2011), amely bekerülhet a folyókba és tavakba is egyaránt (Carter, 2000). A vizekbe bemosódó szennyező anyagok felhalmozódhatnak az ott élő növényekben és állatokban. Az édesvízi ökoszisztémák

a világ legváltozatosabb biológiai sokféleségével jellemezhetők (Dudgeon et al., 2006), és fontos ökoszisztéma-szolgáltatásokat nyújtanak az emberek számára (Baron et al., 2002), mely funkciókat súlyosan veszélyezteti a növényvédő szerek szennyezés (Stehle & Schulz, 2015; Bernhardt et al., 2017). Mindemellett a táplálékhálózat alján akkumulálódott szennyezőanyagok potenciálisan az emberi táplálkozás részét is képezhetik, amik később az emberi zsírszövetekben és szövetekben felhalmozódhatnak, mérgezést, gyulladást, allergiát és sok más betegséget okozhatnak (Owa, 2014).

1.2. Bioindikáció és bioindikátorok

A bioindikátorok olyan biológiai folyamatok, organizmusok vagy közösségek, amelyek a környezeti változások előrejelzésére szolgálnak (Holt & Miller, 2011). Minden élő szervezetet természetes módon befolyásolnak biotikus és abiotikus tényezők (hőmérséklet, fény, tápanyag, ragadozás, versengés stb.), melyekre adott válaszreakció a biológiai szerveződés különböző szintjén nyomon követhető (Markert et al., 2003). A bioindikátoron alapuló módszerek alapelve az élőlények ökológiai niche tere. Az ökológiai niche-t egy n-dimenziós hipertérnek tekintik, amelyben minden dimenzió egy-egy környezeti tényezőnek felel meg, amely meghatározza a fajok túlélési, szaporodási követelményeit és a populáció fennmaradását (Hutchinson, 1957). Egy jó bioindikátornak számos követelménynek kell megfelelnie. A gyakori, nagy egyedszámmal előforduló, de érzékeny fajok (mérsékelt tolerancia az adott környezeti tényezővel szemben) a jó indikátorok, melyek emellett jól tanulmányozottak és egyértelmű válaszreakciójuk van. A környezet minőségét hagyományosan fizikai és kémiai paraméterekkel (pl. a víz átlátszósága, hőmérséklet, szennyező anyagok, tápanyagok) értékelték. A bioindikátorok azonban olyan hatást is jeleznek, amit a hagyományos mérések nem képesek, például a szennyezőanyagok szervezetekben történő felhalmozódását. A bioindikátorok alkalmazhatóságának a felismerése vezetett olyan nagy biomonitoring rendszer létrehozásához, mint amelyet a Víz keretirányelv (VKI; Water Framework Directive – WFD) előír. A fizikai, kémiai és hidromorfológiai jellemzők mellett a VKI bioindikátorokat (Biológiai minőségelemek; Biological Quality Elements – BQE) használ a víztestek ökológiai minőségének értékelésében, amelyhez öt élőlénycsoportot javasol: halak, makrogerinctelenek, makrofita állomány, fitoplankton, fitobentosz. A BQE-k eltérő érzékenységgel rendelkeznek a különböző környezeti hatásokkal szemben. Például a fitoplankton és a fitobentosz gyorsabban és érzékenyebben reagál a tápanyag-elérhetőség változására, mint a magasabb szintű szervezetek. A trofitási hálózat

magasabb szintjei ezen elsődleges termelőkre épülnek, így a bennük végbemenő változások (például abundanciacsökkenés, bioakkumuláció) hatással vannak a magasabbrendű élőlénycsoportokra (B-Béres et al., 2023; Le et al., 2024).

A biomonitoring mellett a különböző mikroszennyező anyagoknak az emberre és az ökoszisztémára gyakorolt károsító hatását gyakran toxikológiai és ökotoxikológiai tesztekben is vizsgálják. Ezen vizsgálatok gyakori tesztorganizmusai az algák, melyek számos tulajdonságát használják a különböző környezeti stresszorok hatásának vizsgálatában (Round et al., 1990; Weiner et al., 2007). A rövid távú biológiai tesztekben és vizsgálatokban az algák fiziológiai tulajdonságait (pl. növekedési ráta, fotoszintetikus aktivitás, enzimaktivitás) mérik, hiszen a bekövetkező stresszre gyorsan reagálnak ezen a szerveződési szinten (Blanck, 1985). Hosszabb idő elteltével közösségi szinten képesek alkalmazkodni a környezeti stresszhez, amely folyamat már fajösszetétel-változásban nyilvánul meg (Stevenson, 1997).

A továbbiakban az algák jellemzésének rövid leírásában csak azokat az osztályokat veszem figyelembe, amelyek a jelen dolgozat vizsgálatában szerepelnek, úgymint a Bacillariophyceae, Chlorophyceae és a Cyanophyceae osztályokat.

1.2.1. Kovaalgák

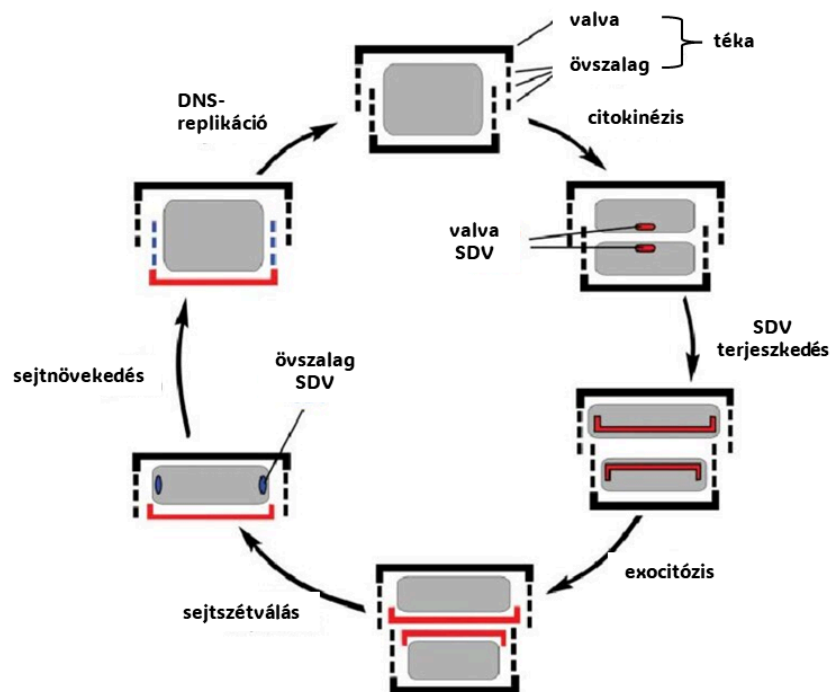
A kovaalgák (Bacillariophyceae, Mediophyceae és Coscinodiscophyceae osztályok) az eukarióta szervezetek közé tartoznak, széles körben elterjedt és jól tanulmányozott mikroalgák csoportját alkotják. Az élőhelyek széles skáláján képviseltetik magukat úgy, mint tengerek, édesvizek, vízfolyások, tavak. A kovaalgák többféle életformával rendelkeznek attól függően, hogy melyikkel tudnak alkalmazkodni a környezethez, és melyikkel tudják biztosítani a túlélésüket és szaporodásukat. Többnyire egysejtűek, de vannak kolóniaképző fajok is (Kooistra et al., 2007), illetve léteznek olyan fajok is, amelyek környezettől függően változtatják életformájukat (Rimet & Bouchez, 2012).

Fotoszintetikus szervezetek, kloroplasztiszuk *a* és *c* klorofillt tartalmaz. Fő járulékos pigmentjük a fukoxantin, amely a sejtek jellegzetes aranybarna színét adja. A kloroplasztiszok száma, alakja és elhelyezkedése a sejtben gyakran nemzetség-specifikus, ami segít az élő mintában történő azonosításukban (Cox, 1996). Biológiai jellemzőjük, ami megkülönbözteti őket más algacsoportoktól, a protoplazmát körülvevő merev, szilícium-dioxid-alapú sejtfa – más néven a frusztulum. A frusztulum két, a széleken átfedő félből, azaz a tékákból áll. A nagyobbik az epitéka a kisebbik a hipotéka. A hipotéka felszíni része a valva, oldalsó része a

cingulum (övzalagok). A frusztulumok morfológiája fajoként igen nagy változatosságot mutat, így mikroszkópos azonosításra használható.

Reprodukció

A legtöbb kovaalgának az életciklusában van egy vegetatív időszak, amely során mitotikus sejtosztódás zajlik, valamint egy ivaros szaporodási időszak, amelyben meiózis jön létre (Mann, 2011). Az időszakok váltakozása a sejt méretének változásával függ össze. A diatómáknál ugyanis az ivaros szaporodás a faj legkisebb sejtjeire jellemző, míg ugyanazon faj nagyobb egyedei általában ivartalanul szaporodnak (Round et al., 1990; Chepurnov et al., 2004).



5. ábra | Diatómák ivartalan szaporodási ciklusa (Sumper & Kröger, 2004).

A kovaalgák ivaros szaporodási fázisa a sejtméret helyreállítására szolgál, ugyanis a vegetatív fázis alatt a kovaalga sejtek osztódása fokozatos sejtméretcsökkenést okoz. Az ivartalan sejtosztódást a sejt térfogatának megnagyobbodása előzi meg oly módon, hogy a két téka egyre távolabb kerül egymástól. Új övzalagok képződnek a hipotékán, mígnem az felveszi az epitéka szerkezetét. Ezt követi a mitózis folyamata, és felépül az új hipotéka. Az anyasejt hipo- és epitékája lesz tehát a két új leánysejt epitékája (5. ábra) (Sumper & Kröger, 2004). A sejtosztódásnak ez az egyedülálló formája csak a kovaalgáknál tapasztalható, és sajátos következményekkel bír azok életciklusára és ökológiájára. A sejtíváz szerkezete miatt a

hipotéka kisebb az epitékánál, ami azt eredményezi, hogy generációról generációra a populációk átlagos sejtmérete időben csökken, valamint a sejt formája is változik. A Pennales morfológiai csoportba (kétoldalú szimmetriával jellemezhetők) tartozó kovaalgáknál például a sejt hossza a szélességénél jobban csökken, így az átlagos hosszúság–szélesség-arány megváltozik a populáció öregedése során (Mann, 2011), mely a morfológiai alapú fajmeghatározást is nehezíti. A maximális méret létrehozásához egy speciális sejtet hoznak létre, az ún. auxospórákat. Általában ez az a szakasz, amikor a meiosis és a szexuális rekombináció is megtörténik (Round et al., 1990; Mann, 2011).

Metamorfózis, szilifikáció

A kovaalgák sejtfalának egyik fő összetevője hidratált amorf szilícium-dioxid $\text{Si}(\text{OH})_4$. A frusztulum egyrészt azért alakult ki, hogy megvédje a kovaalgát a fogyasztók általi kifalástól, a lehetséges enzimátikus támadásoktól (Hamm et al., 2003), másrészt, hogy interakciót teremtsen a környezettel. Számos funkciót ellát, például a különböző felületeken való mozgáshoz szükséges nyálkát választ ki (Higgins et al., 2003). Mivel minden frusztulum fajspecifikus, ezért feltételezik, hogy a morfogenezis genetikailag kontrollált, azaz változatai gének által meghatározottak; azonban erre vonatkozó adatok még nem állnak rendelkezésre (Seckbach & Gordon, 2019). A frusztulum elemei sejten belül egy szilícium-dioxid-lerakódási vezikulumban jönnek létre (Reimann, 1964), így nyilvánvaló, hogy morfogenezisüket sejtrendszeres és -mechanizmusok befolyásolják (Seckbach & Gordon, 2019).

A diatómák valva szimmetriája a morfogenezis legkorábbi stádiumában alakul ki. A valvák fejlődése a kovaalgák két fő morfológiai csoportjában (Centrales és Pennales) különböző struktúrákból indul ki (Mann, 1984). A valva morfogenézise a Centrales kovaalgákban egy gyűrű kialakulásával veszi kezdetét, melyből az ún. bordák sugárirányban képződnek, majd a gyűrűnyílást szilícium-dioxid tölti a (Mann, 1984; Pickett-Heaps, 1990). A Pennales csoportba tartozó kovaalgák szimmetriáját a 'rafé' néven ismert hosszanti gerinc határozza meg.

Ökológia

A kovaalgák értékes indikátorai a folyók és tavak környezeti állapotának, mert érzékenyek és gyorsan reagálnak számos fizikai, kémiai, és biológiai változóra, mint például a

hőmérsékletre (Squires et al., 1979; Descy & Mouvet, 1984), a tápanyag-koncentrációra (Pringle & Bowers, 1984; Pan & Stevenson, 1996) és a herbivorákra (Steinman et al., 1987; McCormick & Stevenson, 1989). A kovaalgák érzékenysége biomasszájuk és a közösség fajösszetételének változásában nyilvánul meg (Patrick, 1961).

1.2.2. Kék- és zöldalgák

A kékalgák (Cyanophyceae osztály) vagy más néven cianobaktériumok a többi algacsoporttól eltérően prokarióták, így például nem rendelkeznek sejtszervecskékkel, mint a mitokondrium, Golgi-apparátus, endoplazmatikus retikulum, kettős membránnal körülvett sejtmag (Saad & Atia, 2014). A cianobaktériumok lehetnek egysejtűek, élhetnek kolóniában nyálkás burokból zárva vagy fonalas formában (trichoma), ahol a fonalak a sejtek egyirányú osztódásaként jönnek létre, amit szintén nyálkás burok vesz körül. A sejtek által kiválasztott nyálka legtöbbször poliszacharid (Büdel, 2024). A cianobaktériumok sejtfala a Gram-negatív baktériumokéhoz hasonló, de peptidoglikán rétege vastagabb (Lee, 2018). Egyes cianobaktériumok képesek siklani, vagyis ezek az élőlények aktív mozgásra képesek a szilárd szubsztrátumon (Glagoleva et al., 1980). A cianobaktériumok citoplazmájában található gázvakuólumokat (Oliver, 1994; Walsby, 1994). Ezen gázhólyagok fala 2 nm vastag fehérjerétegből áll, feladatuk a sejt fajsúlyának szabályozása, ami elősegíti a sejt lebegését a vízoszlopban (Lee, 2018). A fonalas kékalgák egyik csoportja (Nostocales rend) speciális sejteket fejleszt ki, mint például a nitrogénfixációban szerepet játszó heterociták, melyek a vegetatív sejtek differenciálódásával válnak képessé a légköri N_2 megkötésére. A heterociták színtelenek és nagyobbak, mint a vegetatív sejtek. A nitrogénmolekulát a nitrogenáz enzimkomplex közvetlenül ammóniumionná (NH_4^+) redukálja. A nitrogenáz nitrogénmegkötő enzim érzékeny az oxigén általi inaktivációra, így a heterocitákat egy glikolipid réteg veszi körül, ami áthatolhatatlan az oxigén számára (Staal et al., 2003). Sok heterocitás cianobaktérium akinétákat (nyugvó forma) is képez, melyek kiszáradással, fagyással szemben ellenálló cianoficin-szemcsékben, glikogénben, lipidekben, karotinoid pigmentekben gazdag képletek (Meeks et al., 2002). Az akinéta a túlélést teszi lehetővé kedvezőtlen tápanyagtartalmú és fénylimitált környezetben, valamint a levegőben való terjedésüket is segíti (Van Dok & Hart, 1996; Li & Qi, 1997).

Az egysejtű cianobaktériumok osztódással szaporodnak. A sejt középső része befűződik és a centripetális növekedéssel fokozatosan kialakul az új sejtfal. A kolóniás és fonalas formák hasonlóképpen szaporodnak, feldarabolódnak és különválnak. Mindegyik

esetben ivartalan szaporodásról van szó. A cianobaktériumoknak egyik életszakaszukban sincs ostoruk (Lee, 2018). A fő fotoszintetikus pigmentjük a tilakoid lemezen található *a* klorofill, valamint a kiegészítő pigmentek, amelyek fikobiliprotein formában vannak jelen a lemezen (fikobiliszómákban). Pigmenttartalmuk miatt a sejtek színe széles skálán mozog. A cianobaktériumok négy fikobiliproteinnel rendelkezhetnek: C-fikocianin, allofikocianin, C-fikoeritrin, fikoeritrocianin. Az első kettő minden cianobaktériumban megtalálható, míg a C-fikoeritrin és a fikoeritrocianin csak néhány fajban fellelhető. A fikobiliproteinek koncentrációja cianobaktériumok esetében a fényminőségtől és a növekedési körülményektől függően változik (De Marsac & Cohen-bazire, 1977), következésképpen a színük is változik annak megfelelően, hogy melyik pigment a dominánsabb. Zöld színért az *a* klorofill a felelős, azonban piros és kék színük is lehet, ami a kiegészítő pigmenteknek (fikoeritrin, fikocianin vagy az allofikocianin) köszönhető (Lee, 2018).

A kékalgák ubikvisták, gyakorlatilag minden víztípusban megtalálhatóak (Gerrath, 2000). A kékalgák lehetnek planktonikus és bentikusak is, így megtalálhatóak a vízoszlopban vagy valamilyen szubsztrát felületén a bentikus közösség tagjaként. Elsősorban a gázvakuóllumal rendelkező fajok okoznak vízvirágzást (pl. *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Lyngbia*, *Oscillatoria*). Vannak olyan fajok, amelyek egész évben okozhatnak vízvirágzást, de általában a nyár késői időszakában, valamint kora ősszel a leggyakoribbak. A nagyfokú vízvirágzási hajlandóságukat több tényezőnek is köszönhetik: nitrát tápanyagforrás hiányában képesek megkötni a levegő nitrogénjét, ami által jó kompetítorok lehetnek; a gázvakuóllum segítségével képesek mozogni a vízoszlopban és megtalálni a fotoszintézishez szükséges mennyiségű fényt vagy a szaporodáshoz szükséges megfelelő tápanyagokat (Tang et al., 1997). A cianobaktérium-virágzások egyik jelentős ökológiai következménye, hogy kialakulásuk során az élő szervezetekre mérgező vegyületek jöhetnek létre. Ezeket a mérgező vegyületeket cianotoxinoknak nevezzük.

A zöldalgák (Chlorophyceae osztály) eukarióta szervezetek, így számos sejtalkotóval rendelkeznek (Lewis & McCourt, 2004). Sejtfaluk általában cellulózt tartalmaz (Huizing et al., 1979). Osztályukra jellemzőek az ostorok (flagellák), amelyek általában párban vagy a kettő többszörösével fordulnak elő. A zöldalgák mozgásának két formája lehet: ostorok segítségével vagy nyálka kiválasztásával létrejött mozgás (Lewis & McCourt, 2004). A zöldalgák meglepő mértékű táplálkozási variációt mutatnak: vannak közöttük fagotrófok (szerves anyagot kebeleznek be) és mixotrófok (heterotrófok és autotrófok) is. Számos zöldalga képes kiegészíteni fotoszintézisét exogén oldott szerves szén felvételével és

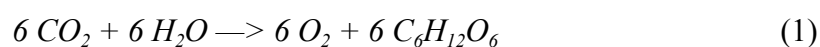
hasznosításával (Lee, 2018). A zöldalgákra az ivartalan szaporodás számos formája jellemző, a legegyszerűbb a kolóniák feldarabolódása két vagy több részre, amiből új kolóniák alakulnak ki. Zoosporogenezis is gyakran előfordul, általában az alga környezetében bekövetkezett kedvezőtlen változás hatására, amelyek következtében a zoospórák a vegetatív sejtekben általában a filamentumok fiatalabb részében képződnek. Ivaros szaporodásuk lehet izogám (ivarsejtek morfológiailag és fiziológiailag megegyeznek), anizogám (az ivarsejtek morfológiailag különböznek, de mindkettő mozgékony), oogám (az ivarsejtek közül a nagyobbik mozdulatlan a kisebb mozgékony) (Lee, 2018). A kéalgáktól eltérően ez a csoport az *a* klorofillon kívül *b* klorofillal is rendelkezik. A fő karotinoid a lutein. Karotinoid felhalmozódás történik nitrogénhiányos állapotban, magas besugárzás vagy magas sótartalom esetén (Hagen et al., 2000; Wang et al., 2003).

1.2.3. Fotoszintézis, mint fiziológiai indikátor

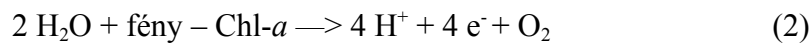
Az algák fiziológiai állapotát nagymértékben meghatározzák a környezeti körülmények. Az algák egyik legjellemzőbb közös fiziológiai tulajdonsága a fotoszintézis, aminek mérésével nyomon tudjuk követni a környezetben bekövetkező változásokat. Számos kutatásban használják ezt a fiziológiai tulajdonságot végpontként, hiszen gyorsan és érzékenyen reagál a stresszorokra, valamint hatékonysága objektíven mérhető.

Fotoszintézis

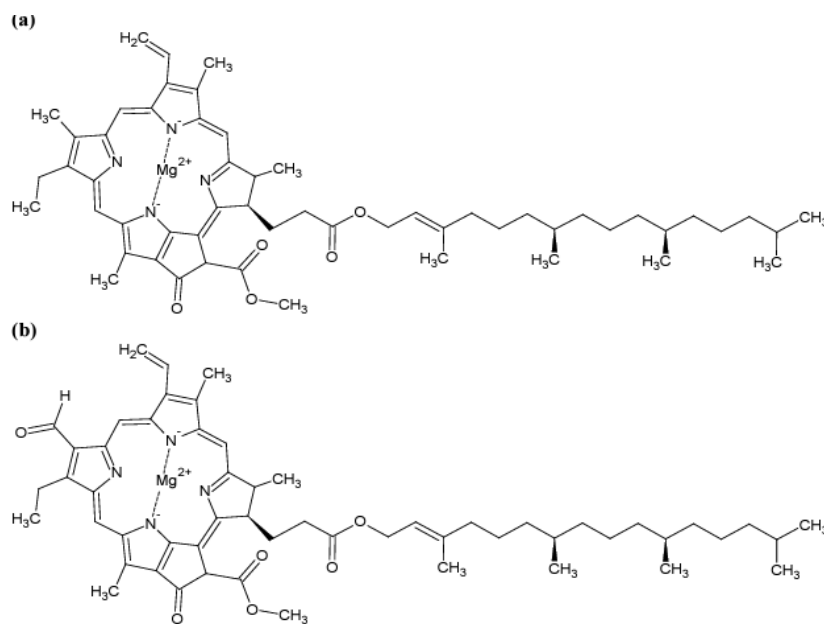
A földön élő szinte minden szervezet – akár vízi, akár szárazföldi – a fotoszintézistől függ. Ez olyan alapvető biokémiai folyamat, amelynek során a növények vagy algák az oxigéntermelő fotoszintézis során a fény energiáját kémiai energiává alakítják miközben szerves anyagot és oxigént állítanak elő (Hatch, 2005; Falkowski & Raven, 2013). Az algák fontos szerepei között említhetjük a jelentős mértékű oxigénprodukciónkat, ugyanis a Föld légköri oxigéntartalmának 40-50%-át ők állítják elő (Bell et al., 1980; Falkowski, 1994; Antoine et al., 1996; Field et al., 1998; Hatch, 2005). A napfény energiát felhasználva a felvett szén-dioxidból és oxigénből cukrot állítanak elő. Ennek a folyamatnak az egyszerűsített egyenlete a következő:



CO₂ felvétele során a NADPH oxidálódik, és energia (ATP formájában) felhasználásával cukor képződik. A fotoszintézis első lépéseként a fényt, mint energiaforrást el kell nyelni, abszorbeálni, ahonnan majd az energia a reakcióközpontba továbbítódik és elektromos töltések szétválasztása történik meg (Falkowski & Raven, 2013). A fényelnyelésért a kloroplasztiszban található klorofill (6. ábra) a felelős, amit 1817-ben izoláltak és neveztek el először (Govindjee et al., 2024). A klorofill reakciót vagy reakciósorozatot katalizál, ahol fényenergiát használ fel a víz bontására:



A klorofill a kloroplasztiszok tilakoid membránjában található porfirinváz, négy pirrolgyűrűből álló molekula, mely közepén egy Mg²⁺-iont tartalmaz (Humphrey, 1980).



6. ábra | A két leggyakoribb klorofilltípus szerkezeti képlete: (a) a klorofill, (b) b klorofill (Smith et al., 2020)

Fluoreszcencia

A klorofillból kibocsátott fluoreszcencia detektálása a fotoszintézis-kutatás széles körben alkalmazott eszköze. A kibocsátott fluoreszcencia fontos információt ad a fotoszintetikus pigmentek és pigmentkomplexek szerveződéséről, a közöttük lévő gerjesztési energia átadásáról és az elektrontranszfer reakciókról. A gerjesztés hatására a pigmentek a

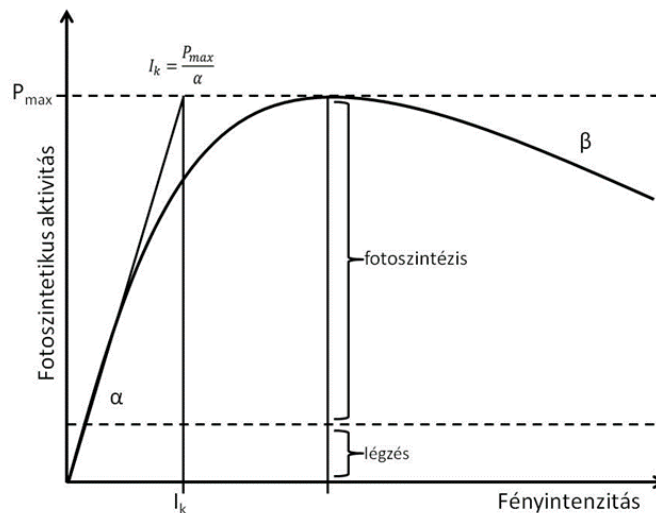
gerjesztő fényenél nagyobb hullámhosszúságú fényt bocsátanak ki (Brewster, 1846). Ha sötétben adaptált leveleket világítunk meg, a klorofill-fluoreszcencia jellegzetes intenzitása először a maximumára emelkedik, majd pár perc múlva egyensúlyi értékre csökken. A jelenség felfedezője Hans W. Kautsky, a Heidelbergi Egyetem osztrák születésű vegyész volt, akiről a nevét is kapta az effektus (Kautsky & Hirsch, 1931). Az *a* klorofill-fluoreszcencia jellegzetes változásait mutatja be a gerjesztett fluoreszcencia jelintenzitását leíró kinetikai görbe, ahol a megvilágítást követő hirtelen növekedést *gyors fázisnak* (~1 mp-ig) (F_p), majd az ezután következő szakaszt *lassú fázisnak* (*steady-state*, F_s) nevezzük, ami akár több percig is tarthat (Krause & Weis, 1984; Govindjee, 1995). UV-gerjesztés hatására a fotoszintetizáló szervezetek abszorpciós maximumot mutatnak kék (430 nm) és vörös (660 nm) fényben, emissziós maximumuk pedig a vörös tartományban jelentkezik 680 és 485 nm között (Lenk et al., 2016). A fotoszintézis helye a kloroplasztisz belső tilakoid membránjába ágyazott fotokémiai rendszer. Ennek a fontos fotokémiai rendszernek elemei a pigmentmolekulák, amelyek kölcsönhatásba lépnek a beeső fényvel. A reakciócentrum körül lévő több száz klorofillmolekula felelős a fény gyűjtéséért, átvételéért, ami az energiát továbbítja gerjesztett elektron formájában átmenetileg a további fotokémiai reakcióhoz. Az I. típusú (PSI) és a II. típusú (PSII) fotokémiai rendszer sorozatban működnek, hogy a gerjesztett elektronokat a megfelelő helyre juttassák. Az *a* klorofill-fluoreszcenciát főleg a PSII bocsátja ki. A klorofillok széles sávú fluoreszcens emissziója 650 nm és 800 nm között van, amelyből a legintenzívebb az *a* klorofillból származik (Buschmann, 2007). A *b* klorofill is a fotorendszer részeként fényenergiát nyelve segíti a fotoszintézist, azonban a fluoreszcens emissziója elhanyagolható (Lenk et al., 2016).

1930-ben Kautsky és Hirsch felfedezték, hogy az *a* klorofill fluoreszcenciája információt szolgáltat a fotoszintetikus apparátus működéséről (Kautsky & Hirsch, 1931). A stressz hatására a fotoszintetikus apparátus közvetve vagy közvetlenül módosul, vagy akár károsodhat. A fluoreszcencia jellemzőit alkalmazzák a fotoszintetikus apparátus jellemzésére. Ezekkel a technikákkal olyan paraméterek is jellemezhetők, mint a PSII maximális kvantumhatékonyságot jelző F_v/F_m paraméter. Algaközösségek fiziológiai állapotát és a fotoszintetikus folyamataiban történt változást tudjuk nyomon követni a paraméterek változásával (Mueller et al., 1992; Hunsche et al., 2011; Lenk et al., 2016). Alapvetően az F_v/F_m paraméter azt írja le, hogy a növényi stressz hatással van-e a PSII-re sötéthez alkalmazkodott állapotban, ahol az F_m a maximális klorofill-fluoreszcencia egy telítő sugárzási impulzusnál sötéthez alkalmazkodott állapotban (Lichtenthaler et al., 2005; Kalaji et

al., 2017). Ha az optikai behatás maximális aktinikus szintje nem telíti a PSII-t, az F_p -t használják az F_m megkülönböztetésére, amely a maximális fluoreszcencia értéke teljesen telített folyamatos gerjesztés mellett (Barócsi et al., 2000; Lichtenthaler et al., 2005). Az Rfd egyenlő az F_d/F_s aránnyal, ahol az F_s a megfigyelt egyensúlyi fluoreszcencia és az F_d a fluoreszcencia csökkenése az F_p -tól az F_s -ig (Lichtenthaler et al., 2005).

Fotoszintetikus aktivitás

A fotoszintézist számos más módszerrel is nyomon tudjuk követni: az O_2 -koncentráció változásával (Odum & Odum, 1955; Thomas & O'Connell, 1966; Hansmann et al., 1971; Lamberti et al., 1987), a CO_2 -fluxusváltozással (Seuront & Strutton, 2003; Spilmont et al., 2006) vagy a ^{14}C -felvétel nyomon követésével (Nielsen, 1952; Ostrofsky et al., 1998). A fotoszintetikus aktivitás szemléltetésére az ún. P-I görbe szolgál, ami a fényintenzitás és fotoszintézis viszonyát írja le (7. ábra).



7. ábra | P-I görbe. P_{max} - maximális fotoszintézis; I_k -fényadaptációs paraméter; α -fényhasznosítási tényező; β -fotoinhibíciós paraméter

A fényintenzitás és a fotoszintézis közötti kapcsolat nem írható le egyszerű lineáris összefüggéssel. A kezdeti növekvő fényintenzitással lineárisan emelkedik a fotoszintézis mértéke – amiről a fényhasznosítási tényező (α) ad információt –, majd az ezt követő szakaszt telítődésnek vagy szaturációnak nevezzük. A fotoszintézis egy bizonyos fényintenzitásnál (I_k) eléri maximumát (P_{max}), ami után a további fényintenzitás növelésével a fotoszintézis tartja az

elért maximumértéket ($\beta=0$), vagy fénygátlás miatt a fotoszintetikus aktivitás csökken ($\beta > 0$) (Hill, 1996).

1.3. Célkitűzés

A felszíni vizeinket sújtó globális környezeti stresszorok – úgymint a növekvő szalinizáció, vízhőmérséklet és a gyomirtó szerek mennyisége – tekintetében sok élőlény esetében hiányos vagy konszenzust nélkülöző a tudásunk. Éppen ezért a doktori kutatásom alapvető célja hozzájárulni ezen hiányos, sokszor ellentétes álláspontok feloldásához a vízi mikroszkopikus algák vizsgálatán keresztül. A kutatásom során specifikus célkitűzéseink közé tartozott, hogy

I. megvizsgáljuk a klímaváltozás bevonatlakó kovaalga fajokra kifejtett lehetséges hatásait (2. alfejezet).

A kutatás során az éghajlatváltozásnak a Kárpát-medencében található szikes tavak legjellemzőbb bevonatlakó kovaalga fajainak fotoszintézisére gyakorolt hatásait vizsgáltuk. A kutatásban a hőmérséklet és sótartalom – mint globálisan is a legjelentősebb hatást kifejtő környezeti paraméterek – növekedésének három domináns kovaalgafajra gyakorolt lehetséges hatásait modelleztük egy klímaforgatókönyv alapján.

II. megvizsgáljuk egy növényvédőszer lehetséges hatásait egy bevonatlakó kovaalga példáján keresztül (3. alfejezet).

A kutatás során a maleinsav-hidrazid növényvédőszer szubletális hatását vizsgáltuk egy kozmopolita kovaalga faj, a *Gomphonema parvulum* teratogén formájának kialakulási folyamatán keresztül. Továbbá vizsgáltuk, hogy a megjelenő teratogén elváltozás együtt jár-e más fiziológiai tulajdonságok megváltozásával.

III. kifejlesszünk egy mérőműszert algák mennyiségi becslésére (4. alfejezet).

Az Aquafluosense projekt (NVKP_16-1-2016-0049) keretein belül indukált klorofill-fluoreszcencián alapuló eszközt fejlesztettünk algasűrűség és -összetétel becslésére. A kutatás során vizsgáltuk a műszer ökotoxikológiai vizsgálatokban történő felhasználásnak hatékonyságát és érzékenységét is.

2. A klímaváltozás lehetséges hatásainak előrejelzése kovaalgafajok fotoszintetikus aktivitása alapján

2.1. Bevezetés

A felszíni vizek egy csoportját alkotják a zárt medencével, kis mélységgel és térfogattal rendelkező sós víztestek. Asztatikus jellegük, nagyfokú hidrológiai érzékenyséjük, magas vezetőképességük, nagy napi hőmérséklet-ingadozásuk, valamint magas pH-juk és TP-tartalmuk (összes foszfor) miatt extrém élőhelynek számítanak (Horváth et al., 2013; Stenger-Kovács et al., 2014). A szárazföldi sós tavak világszerte előfordulnak (Williams 2005), többnyire száraz és félszáraz régiókban (Williams, 2002): Euráziában, Ausztráliában Afrikában és Észak-Amerikában. A sós tavak között a szikes tavak sajátos csoportot alkotnak, mivel ezekben a nátrium-hidrogén-karbonát dominál a nátrium-klorid helyett. Közép-Európában számos ilyen kis szikes élőhely található, melyeknek nagy része Magyarországon helyezkedik el, főként a Duna-Tisza közén és a Fertő-Hanságon (Keresztes et al., 2012; Horváth et al., 2013; Somogyi et al., 2014; Stenger-Kovács et al., 2014).

A sótartalmuk alapján különböző kategóriákba sorolhatjuk ezen élőhelyeket (Hammer, 1986):

- 3000 - 20000 mg L⁻¹ (3-20 ‰; 5500-30000 μS cm⁻¹ (hiposzalin)
- 20000 - 50000 mg L⁻¹ (20-50 ‰; 30000-70000 μS cm⁻¹ (mezoszalin)
- > 50000 mg L⁻¹ (>50 ‰; >70000 μS cm⁻¹ (hiperszalin)

A domináns ionok aránya tavanként és időszakonként viszonylag állandónak mondható, a szikes tavakban általában az uralkodó ionok a Na⁺, CO₃²⁻ és a HCO₃⁻. A többi ion (Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻) mennyiségének alakulása tavanként változó (Megyeri, 1999). A rendkívül magas sókoncentráció nem az egyetlen környezeti stresszfaktor. A legtöbb sóstó száraz és félszáraz régiókban (Williams, 2002) található (pl. Nagy-sóstó). Emiatt kevés csapadékot kapnak, valamint sekélységük miatt magas napi hőmérséklettel ingadozással rendelkeznek.

A sóstavak ki- és befolyó hiányában nagy érzékenységet mutatnak a kiszámíthatatlan időjárással és a klímaváltozással szemben. Ezeken az élőhelyeken a környezeti paraméterek viszonylag kismértékű változásai is jelentősek lehetnek, sok esetben visszafordíthatatlan következményekkel járhatnak (Hammer, 1990). A vizes élőhelyek és a sóstavak száma világszerte drasztikusan csökken az emberi tevékenység és az extrém időjárási események következtében (Mitsch & Jørgensen, 2003; Mitsch, 2013), amelyek alól a magyar

ökoszisztémák sem képeznek kivételt. Ilyen szélsőséges körülmények ellenére is a sóstavakban rendkívül nagy a produktivitás és jelentős a különböző mikrobiális közösség, melyek felelősek az elemek körforgásáért (Duckworth et al., 1996; Jones et al., 1998; Scholten et al., 2005; Zhang & Fang, 2006).

A klímaváltozás gyors lefolyása tehát komoly kihívás elé állítja a környezetváltozáshoz lassan adaptálódó ökoszisztémát és élőlényközösséget (Allan, 2004). A klímakutatás előrejelzései szerint a növekvő hőmérséklettel a párolgás fokozódása, a csapadék mennyiségének csökkenése és eloszlásának változása várható (Fritz et al., 2010; Dokulil, 2014), ami a kis sóstavak vízszintjének csökkenését, fizikai és kémiai paramétereinek megváltozását vonja maga után, aminek köszönhetően még szélsőségesebb élőhelyekké alakulhatnak. A sótartalomnak, hőmérsékletnek, pH-nak és a vezetőképességnek egyaránt közvetett és közvetlen hatása van a vízi élőlényekre, legyenek azok baktériumok, gombák (Castro et al., 2010), fitoplankton- (Hammer, 1986) vagy fitobentosz-közösségek (Sullivan & Currin, 2002; Harley et al., 2006; Anneville et al., 2015), Cladocera rákok (Molinero et al., 2007) vagy halak (Roessig et al., 2004).

Számos forgatókönyv létezik a klímaváltozás hatásának tekintetében, amelyekhez különböző modelleket használtak fel (Räisänen et al., 2004; Christensen & Christensen, 2007). Ezek a modellek Közép-Európában szelesebb, enyhébb teleket, növekvő hőmérsékletet, nyugodtabb, melegebb és hosszabb nyarakat és csökkenő éves csapadékot jósolnak, amelyek együttesen számos biotikus és abiotikus változást eredményezhetnek a tavi ökoszisztémákban (Dokulil et al., 2010; George, 2010; Dokulil, 2014). Az abiotikus változások között említhetjük a csökkenő vízszintet és növekvő vízhőmérsékletet, amelyek viszont közvetlen és közvetett módon további fizikai és kémiai paraméterekben bekövetkező változások során generálhatják, többek között a növekvő vezetőképességet és ionkoncentrációt (Lengyel et al., 2019). A különböző sók oldhatósága nagyfokú változékonyságot mutat, melynek köszönhetően folyamatosan változik a vizekben az ionok aránya és koncentrációja a kicsapódási sorrend alapján, mely folyamatot többek között a hőmérséklet is jelentősen befolyásolja (Warren, 2006). Általában a sós vízi ökoszisztémák közvetlenebben reagálnak az uralkodó időjárási viszonyokra köszönhetően sekély jellegűnek. Így az éghajlat kismértékű változása is jelentős változásokat okozhat ezen szélsőséges ökoszisztémákban, ami ökológiai állapotuk romlását vagy akár a tavak eltűnését is eredményezheti, amely folyamat már világszerte megfigyelhető (Williams, 2002; Alcocer és Escobar, 1990). Az éghajlatváltozás tavakra gyakorolt hatásai közül a szikes tavak esetében

kettő a leginkább hangsúlyos: a növekvő vízhőmérséklet és a vezetőképesség. A magas léghőmérséklet intenzívebb párolgáshoz és magasabb vezetőképességhez vezet, ami biotikus változásokat generál, például szezonális dinamikai és florisztikai változást, algavirágzás kialakulását (Dokulil, 2014).

A hőmérséklet és a vezetőképesség különböző szerveződési szinteken közvetlenül és közvetve is befolyásolja az algákat, pl a közösség (Hasegawa et al., 2000) vagy a sejtek szintjén (Davison, 1991; Sudhir & Murthy, 2004). A hőmérsékletnek nagy szerepe van a fotoszintézisben a membránok fluiditásának, az enzimek és a PSII fotoszintetikus rendszer aktivitásának, valamint az oxigént fejlesztő komplexek szabályozása révén (Falkowski és Raven 1997; Hopkins és Hüner 2004; Davison, 1991). Ami a vezetőképességet illeti, az algák eloszlása nem csak a vezetőképesség mértékével, hanem az ionösszetétellel is erősen korrelál (Blinn, 1993). A vezetőképesség fotoszintézisre gyakorolt hatásai között említhetjük az elektrotranszportlánc aktivitásának szabályozását (mivel ozmotikus és ionos stresszt okoz), és a fotoszintetikus pigmenttartalom megváltoztatását (Sudhir & Murthy, 2004). Az algák fotoszintézisének ökológiai jelentősége a globális biogeokémiai ciklusban betöltött szerepükből adódik (Tréguer et al., 2018). Tekintve az algák fontos elsődleges termelői szerepét, a kovaalgák a fotoautotróf szervezetek egyik fő csoportját alkotják a szikes vízi ökoszisztémákban (De Deckker, 1988; Saros & Fritz, 2000; Stenger-Kovács et al., 2014; Stenger-Kovács & Lengyel, 2015). Az ökológiai niche koncepció szerint (amit n-dimenziós hipertérnek definiálnak) a fajok képesek az együttélésre, köszönhetően a tápanyag-felhasználásban és az élőhelyeloszlásban megmutatkozó különbségeknek (Hutchinson, 1957). Ez az ökológiai elmélet alkalmazható a klímaváltozás hatásainak előrejelzéséhez is (Wiens et al., 2009). A realizált ökológiai niche-alapú modellek egy adott faj terjedése és abundanciája közötti összefüggéssel foglalkoznak (Peterson et al., 1999) az adott faj niche-szélességének és helyzetének meghatározása által (Heino, 2005; Teittinen et al., 2018). A szikes tavi környezetben élő kovaalgáknak ellenállónak kell lenniük a kedvezőtlen környezeti paraméterekkel szemben, és képesnek kell lenniük túlélni a rendkívül durva körülményeket is (Stenger-Kovács et al., 2014, 2018). Ezeken a szélsőséges élőhelyeken a kompetíció elhanyagolható, s az ilyen, fizikailag kontrollált ökoszisztémákban egy faj sikere annak fundamentális niche-terétől függ. Annak ellenére, hogy általában fiziológiai folyamatok állnak a közösség szinten megjelenő mintázatok mögött, a kovaalgák fundamentális niche-terének megismerésére irányuló ökofiziológiai kísérletek igen ritkák, és

csak egy vagy két környezeti változó vizsgálatára korlátozódnak (Dauta et al., 1990; Souffreau et al., 2010).

Jelen kutatásban az éghajlatváltozásnak (RCP60 scenárió) a Kárpát-medencében található szikes tavak kovaalgafajainak fotoszintézisére gyakorolt hatásait modelleztük. A modellezéshez a három legjellemzőbb szikes vízi kovaalgafajnak négy környezeti gradiens mentén végzett ökofiziológiai kísérlet eredményeit, illetve a Kárpát-medence (Közép-Európa) közepes felbontású klimatikus adatait alkalmaztuk. Figyelembe véve az elkövetkező évtizedek éghajlatváltozásának veszélyét, feltételeztük, hogy a növekvő vízhőmérséklet és vezetőképesség (különösen a klorid- és szulfát-iontartalom) jelentős hatással lesz a szikes tavak legjellemzőbb kovaalgáinak élettani folyamataira, azáltal, hogy i) fokozni fogják fotoszintetikus aktivitásukat a 2041-2060 közötti időszakban és ii) hosszabb lesz fotoszintetikusan aktív periódusuk (PAP – photosynthetically active period).

2.2. Anyag és módszer

2.2.1. Izolálás és a tenyészetek fenntartása

Egy korábbi tanulmány alapján meghatározott (Stenger-Kovács & Lengyel, 2015), a szikes tavak legdominánsabb (átlagos relatív gyakoriság >10%) és legállandóbb (az adott faj a minták több mint 20% -ban jelen volt) bentikus kovaalga fajai közül hármat izoláltunk (1. Melléklet).

A három *Nitzschia*-fajt (2. Melléklet) mikromanipulátor (Narishige) és fénymikroszkóp (Zeiss, Axio Invert 40 C) alkalmazásával izoláltuk egysejtes izolálási módszerrel. A fajok monokultúráit módosított DIAT tápoldatban (3. Melléklet), Batch kultúrában tenyésztettük és növesztettük. A tápoldatot kéthetente frissítettük. A tenyészeteket 23 °C-on, ‘cool white’ és ‘daylight’ (1:1) típusú fénycsövekkel elért 15 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ fényintenzitáson (PAR), és 14 -10 óra világos-sötét fotoperiódus kialakításával tartottuk fenn (Lengyel et al., 2015).

A kovaalgákat fény- (Zeiss Axio 1) és pásztázó elektronmikroszkóppal (Hitachi S-2600N), valamint a megfelelő referencia-szakirodalmak felhasználásával (Földi et al., 2018) azonosítottuk fajszerint.

2.2.2. Ökofiziológiai kísérlet

A fajok ökofiziológiai vizsgálatát fotoszintetron (4. Melléklet) inkubációs rendszerben végeztük el (Üveges et al., 2011; Lengyel et al., 2015). Ez az inkubációs rendszer kilenc cellából áll, amely kilenc különböző besugárzási intenzitás egyidejű vizsgálatát teszi lehetővé. A PAR-t a fotoszintetron mindkét oldalán elhelyezett nappali típusú ('daylight') fénycsővek (Tungsram F74) biztosították. A cellák belső falai tükrökből vannak kialakítva, amely technikai megoldás megsokszorozza és egyenletessé teszi a besugárzási intenzitást. A cellák összeköttetésben állnak egymással, amely egy keringető vízfürdő (Neslab RTE-211) segítségével lehetővé teszi a különböző hőmérsékletek vizsgálatát is. A fajok fotoszintetikus jellemzőit összesen öt környezeti paraméter (négy közvetlen és egy közvetett) gradiense mentén határoztuk meg:

- 1, fény (közvetlen): 0 - 8 - 35 - 70 - 110 - 200 - 400 - 800 - 1200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
- 2, hőmérséklet: (közvetlen): 5 - 10 - 15 - 20 - 25 - 30 - 35 - 40 °C
- 3, kloridion-koncentráció (közvetlen): 0 - 36 - 437,5 - 875 - 1750 - 3500 - 5250 mg L⁻¹
- 4, szulfátion-koncentráció (közvetlen): 0 - 50 - 600 - 1200 - 2400 - 3600 - 4800 - 7200 mg L⁻¹
- 5, vezetőképesség (közvetett): 4000 és 12000 között $\mu\text{S cm}^{-1}$

Az ökofiziológiai kísérletek előtt a *Nitzsca frustulum* algatenyészetet 2-3 hétig szulfát- és kloridmentes, módosított DIAT-tápoldatban tartottuk, hogy a sejtek kiürítsék belső készleteiket. Az éheztetést követően friss módosított DIAT-tápoldatba helyeztük, és a kísérleteket akkor indítottuk el, amikor a tenyészet növekedési görbéje elérte a logaritmikus fázist, amit optikai sűrűségmérésekkel (OD750) követtünk nyomon. Az ötödik napon a kultúrát homogenizáltuk, és minden fotoszintetron-cellába három párhuzamos mintát helyeztünk Karlsruhe-lombikokban. A kísérlet 5°C-on indult, 1 órás sötét inkubálás után a mintákat 1 vagy 2 órán át inkubáltuk (Lengyel et al., 2015). LDO szenzorral (Hach Lange) meghatároztuk az oldott oxigén koncentrációját az inkubálás elején és végén, valamint kiszámoltuk a fotoszintetikus aktivitás bruttó értékét *a* klorofill egységre normalizálva, amit acetonos kivonásból határoztunk meg (Wetzel & Likens, 2000). Ezt a folyamatot minden vizsgált hőmérsékleten megismételtük. Az egész folyamatot elvégeztük mind a 8 szulfát- és 7 kloridkoncentráción. A két anion gradiensét MgSO₄ és MgCl₂ hozzáadásával hoztuk létre a módosított DIAT-tápoldatban, amelyek koncentrációját titrimetriás (Cl) és spektrofotometriás SO₄²⁻ módszerekkel ellenőriztük (APHA, 1998). A tápoldat vezetőképességét HQ40d Hach Lange multiméterrel mértük.

A maximális fotoszintetikus aktivitást (P_s) és a fotoadaptációs paramétert (I_k) a Platt 1981 (Platt et al., 1980) által leírt egyenlet segítségével határoztuk meg GraFit programban (Leatherbarrow, 2009). A maximális fotoszintetikus aktivitás értékeinek (P_s) kétdimenziós (hőmérséklet- és ionkoncentráció-skálán) ábrázolásához SURFER programot használtunk. Az optimumértékek és a toleranciatartományok meghatározása érdekében Gauss-görbét illesztettünk az adatokra, ahol a görbe közepének helyzete jelöli az optimum értéket, míg a haranggörbe szélessége (σ) a toleranciatartományt. A görbe tartományán belül három toleranciahatár különböztethető meg a szórások alapján: reprodukció (SD1: 1σ az optimum körül), növekedés (SD2: 2σ optimum körül) és túlélés (SD3: 3σ az optimum körül).

2.2.3. Modellezés

1. lépés: a változó és a modell kiválasztása

Függő változóként az ökofiziológiai kísérletekben a különböző ionkoncentrációk mentén mért maximális fotoszintetikus aktivitás P_s átlagértékeit, míg magyarázó változóként a hőmérsékletet használtuk a modellválasztásban és modellezésben egyaránt. A GraFit programban (Leatherbarrow, 2009) ötféle modellt futtattunk a vizsgált minden egyes szulfát- és kloridkoncentráción. Ezeket a modelleket a vizsgált paraméterek közötti kapcsolat leírásában a legrelevánsabb, illetve a leggyakrabban alkalmazott módszerek alapján választottuk ki (Webb et al., 1974; ter Braak & Looman, 1986; Sabour et al., 2009) másodfokú és harmadfokú polinom, valamint Gauss-eloszlás (Lehman et al., 1975; Platt et al., 1980) által leírt modellek szerint. Az illesztett görbék átlagos χ^2 -értékei alapján a harmadlagos polinommodellt találtuk a legjobban illeszkedőnek a vizsgált hőmérsékleti intervallumon belül.

2. lépés: modellazonosítás

A kiválasztott harmadlagos polinommodellek a következő általános egyenleten alapulnak:

$$P_s = a \times T_m^3 + b \times T_m^2 + c \times T_m + d \quad (3)$$

ahol,

P_s : a három kovaalgafaj maximális fotoszintetikus aktivitásának átlagos értéke

T_m : a klímaforgatókönyvek által jósolt havi átlaghőmérséklet

a, b, c: regressziós értékek

d: állandó érték az egyes ionkoncentrációk esetén (1. táblázat)

1. táblázat | A három diatóma faj átlagos maximális fotoszintetikus rátája (P_s) és a hőmérséklet közötti összefüggésekhez használt harmadfokú polinomiális modellek egyenleteinek összetevői (a: 3. szintű regressziós súlyok, b: 2. szintű regressziós súlyok, c: 1. szintű regressziós súlyok, d: konstansok).

Koncentráció		a	b	c	d
437,5 mg L ⁻¹	Cl ⁻	-0,06*10 ⁻³	0,32*10 ⁻²	-0,21*10 ⁻¹	0,04
1750 mg L ⁻¹		-0,08*10 ⁻³	0,49*10 ⁻²	-0,32*10 ⁻¹	0,08
5250 mg L ⁻¹		-0,21*10 ⁻³	1,38*10 ⁻²	-1,91*10 ⁻¹	0,79
600 mg L ⁻¹	SO ₄ ²⁻	-0,06*10 ⁻³	0,32*10 ⁻²	-0,19*10 ⁻¹	0,03
2400 mg L ⁻¹		-0,41*10 ⁻³	2,38*10 ⁻²	-3,10*10 ⁻¹	1,23
4800 mg L ⁻¹		-0,30*10 ⁻³	1,50*10 ⁻²	-1,34*10 ⁻¹	0,26

3. lépés: az időszakok és a klímaforgatókönyv kiválasztása

A hőmérséklet-előrejelzésekhez a RCP60 klímaszcenáriót választottuk ki, amelyet a Kárpát-medence térségén egy jövőbeli (2041-2060) és egy múlt (1970-2000) periódus modellezésére használtunk. Az éghajlati adatok forrása a WorldClim adatbázis volt (Hijmans 2005). A 2041-2060 közötti időszakra vonatkozó előrejelzéseket az IPCC5 jelentéshez készült Coupled Model Intercomparison Project (CMIP5) 5. szakaszát használtuk fel. A CMIP5 modellkísérlet a Community Climate System Model 4 (CCSM4) globális klímamodellen alapult.

4. lépés: modellezés

A 3. egyenletek (1. táblázat) és az RCP60 szcenárió alapján készített hőmérséklet-előrejelzések alapján a fajok átlagos fotoszintetikus aktivitását április és október között havonta modelleztük (PAP-fotoszintetikusan aktív időszakban) a kiválasztott múlt és a jövőbeli időszakban. A fotoszintetikus aktivitás leképezett modelljeit (mind a havi, mind az összesített PAP-értékeket) a QGIS3.2.3 szoftverben hoztuk létre és ábráztuk a Grass7.4.1 által a harmadfokú polinom modellek és a szoftverraszter számítási eszközének felhasználásával.

2.3. Eredmények

2.3.1. A fotoszintetikus jellemzők

A vizsgált kovaalgafajok fotoszintézise 3 és 435 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (I_k) értékek között vált telítetté. A fajok I_k értéknél számított maximális fotoszintetikus aktivitásait (P_s) ábrázoltuk a hőmérséklet és az ionkoncentrációk függvényében (5. Melléklet). Valamennyi faj fotoszintetikus aktivitása hasonló volt ($\sim 4 \text{ mg C mg Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$) a szulfátion-gradiens mentén. A kloridion skálájának tekintetében a *N. aurariae* (NAUR) fotoszintetikus aktivitása elérte az 5,4 $\text{mg C mg Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$ értéket, míg a *N. reskoi* (NRES) és *N. supralitorea* (NSUP) esetében szignifikánsan alacsonyabb értéket mértünk (1,7 illetve 2 $\text{mg C mg Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$). A fotoszintetikus aktivitás változásai világos és egyértelmű tendenciát követtek, függetlenül a fajtól, a hőmérséklettől vagy az ion összetételtől:

- (i) a fotoszintetikus aktivitás szintje az ionkoncentrációkkal (és ennek következtében vezetőképességgel) és a hőmérséklettel párhuzamosan nőtt;
- (ii) 30 és 35 °C, 2900 és 4200 $\text{mg L}^{-1} \text{Cl}^-$, valamint 3200 és 5300 $\text{mg L}^{-1} \text{SO}_4^{2-}$ -koncentráció között érte el a csúcst;
- (iii) a maximumértékek után a fotoszintetikus aktivitás csökkent.

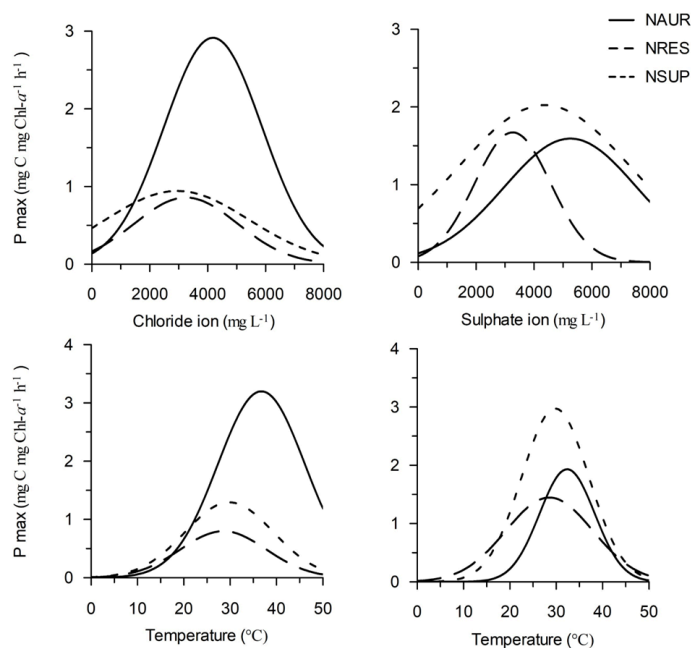
2.3.2. Optimum és tolerancia

Az átlagos P_s értékek és a Gauss-egyenlet alapján meghatározott optimum- és toleranciaértékeket a 2. táblázat foglalja össze, valamint a 8. ábra szemlélteti. Összefoglalva az eredményeket, a következők állapíthatók meg: az optimumértékek szórása soha nem haladta meg a 15%-ot; a NRES, a NSUP és a NAUR fotoszintetikus aktivitása 28,5; 29,8 és 34,5 °C-on tetőzött. Ezen kívül a NAUR magasabb optimummal jellemezhető mind a klorid-, mind a szulfátion-gradiens tekintetében (4182 és 5253 mg L^{-1} , ami 10405 $\mu\text{S cm}^{-1}$ -nek felel meg). Ezzel szemben a NRES optimális ionkoncentrációja 3248 $\text{mg L}^{-1} \text{Cl}^-$ és 3381 $\text{mg L}^{-1} \text{SO}_4^{2-}$ ($\sim 85394 \mu\text{S cm}^{-1}$) volt, míg a NSUP optimuma 2947 mg L^{-1} kloridion- és 4368 mg L^{-1} szulfátion-koncentrációnál ($\sim 8935 \mu\text{S cm}^{-1}$) volt.

2. táblázat | A vizsgált *Nitzschia*-fajok különböző környezeti paraméterek mentén mért optimum- és toleranciaértékei

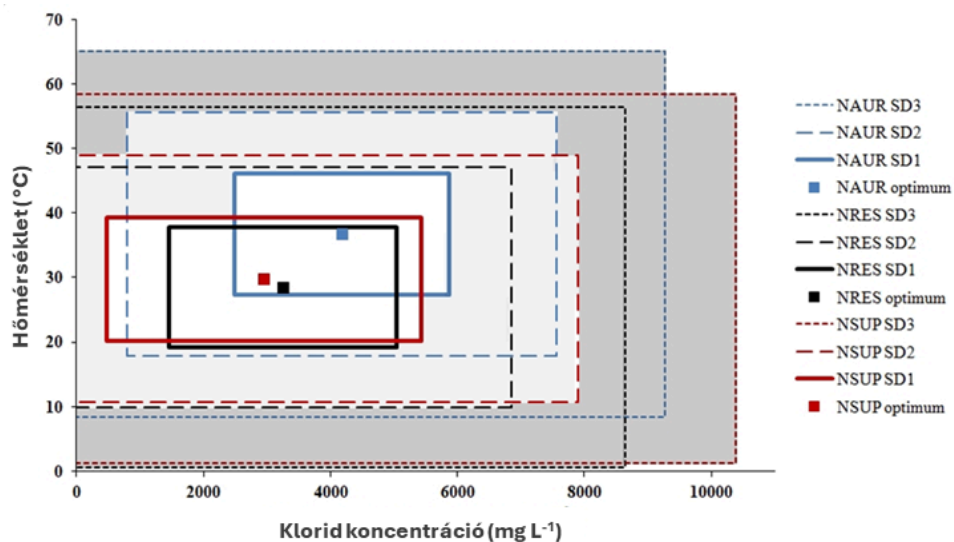
Környezeti változók		<i>N. aurariae</i> (NAUR)	<i>N. reskoi</i> (NRES)	<i>N. supralitorea</i> (NSUP)
Hőmérséklet (°C)	optimum	34,5±2,5	2,5±1,4	29,8±0,7
	tolerancia	7,7±2,2	9,4±1,6	8,5±0,8
Kloridion (mg L ⁻¹)	optimum	4182±436	3248±226	2947±398
	tolerancia	1693±491	1798±227	2481±680
Szulfácion (mg L ⁻¹)	optimum	5253±456	3381±148	4368±584
	tolerancia	2281±432	1074±145	3020±788
Vezetőképesség (μS cm ⁻¹)	optimum	10405±529	8539±274	8935±602
	tolerancia	2438±577	2012±273	3528±875

Az optimumokkal ellentétben a tolerancia értékek szórása nagyobb mértékű ingadozást mutatott, ugyanis 9-29% között változott. A toleranciatartományok fajtól függetlenül a hőmérséklet- és a vezetőképesség-gradienseknek megfelelően változtak: az optimális értékekig nőttek, majd ismét csökkentek. A NAUR mutatta a legalacsonyabb (7,7 °C), a NRES pedig a legmagasabb hőmérséklet-toleranciát (9,4 °C). A kloridion-gradiens tekintetében a NAUR mutatta a legalacsonyabb (1693 mg L⁻¹), míg a NSUP a legnagyobb toleranciát (2481 mg L⁻¹). A NRES mutatta a legalacsonyabb toleranciát a szulfácionnal szemben (1074 mg L⁻¹), míg a NSUP a legmagasabbat (3020 mg L⁻¹).

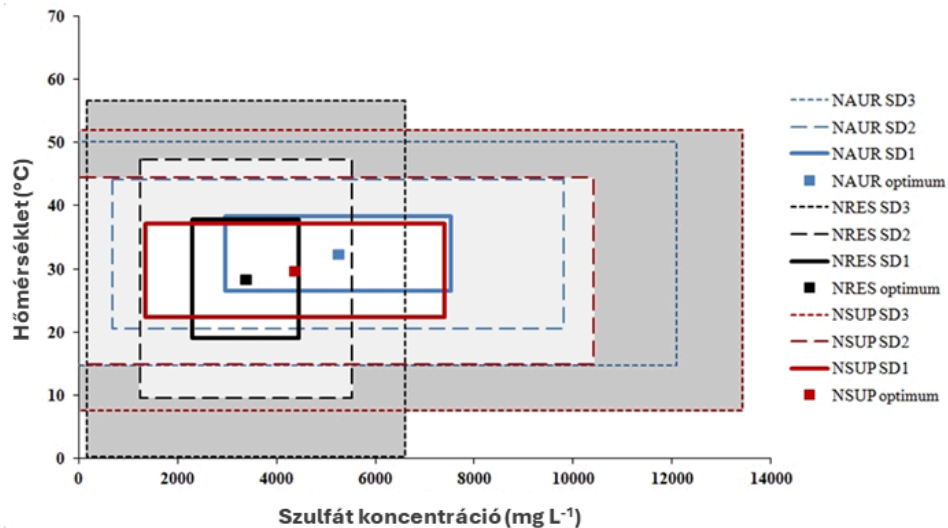


8. ábra | A *N. aurariae* (NAUR), a *N. reskoi* (NRES) és a *N. supralitorea* (NSUP) fajok hőmérséklet, klorid- és szulfácion gradiensek mentén mért optimumai

Összességében a NRES és a NSUP hőmérséklet-optimuma és toleranciatartománya nagyon hasonló volt a kloridion-gradiens mentén. Az alsó és felső tűréshatár a következő volt: 19,1 - 20,3 °C és 37,8 - 39,3 °C (SD1, reprodukciós határ); 9,8-10,7 °C és 47,1-48,8 °C (SD2, növekedési határ); 0,5 - 1,2 °C és 56,5 - 58,4 °C (SD3, túlélési határ). Ezzel szemben a NAUR optimum- és toleranciaértékei magasabbak voltak (9. ábra), így felső túlélési elméleti határ 65 °C volt. A kloridion-koncentrációt tekintve a NSUP rendelkezett a legalacsonyabb optimummal és a legmagasabb toleranciával: 5428 - 7909 - 10390 mg L⁻¹ (SD1 - SD2 - SD3 felső határa). Habár a NAUR-nak volt a legmagasabb optimuma, de ennek a fajnak volt a legalacsonyabb toleranciája (és tűréshatárai) is. A három faj együttes túlélési tartománya széles volt: 0,5-65 °C és 0-10390 mg L⁻¹ Cl⁻. A szulfátion-gradiens vonatkozásában (10. ábra) a fajok hőmérséklettel szembeni toleranciája hasonló volt, de értékei alacsonyabbak voltak, mint a kloridion-gradiens mentén tapasztalhatók: a felső túlélési határ csak 56,7 °C volt. A NRES rendelkezett a legalacsonyabb iontoleranciával, mivel szaporodási tartománya 2307 és 4456 mg L⁻¹, növekedési tartománya 1232 és 5530 mg L⁻¹, túlélési tartománya pedig 158 és 6604 mg L⁻¹ SO₄²⁻ között volt. A NAUR és a NSUP jobban hasonlítottak egymásra, hiszen mindketten széles toleranciahatárokkal jellemezhetők; képesek voltak túlélni a szulfátionnak még a 12097, illetve 13430 mg L⁻¹ koncentrációig is. A három faj együttesen széles környezeti tartományt fedett le: 0,3-56,7 °C és 0-13430 mg L⁻¹ SO₄²⁻.



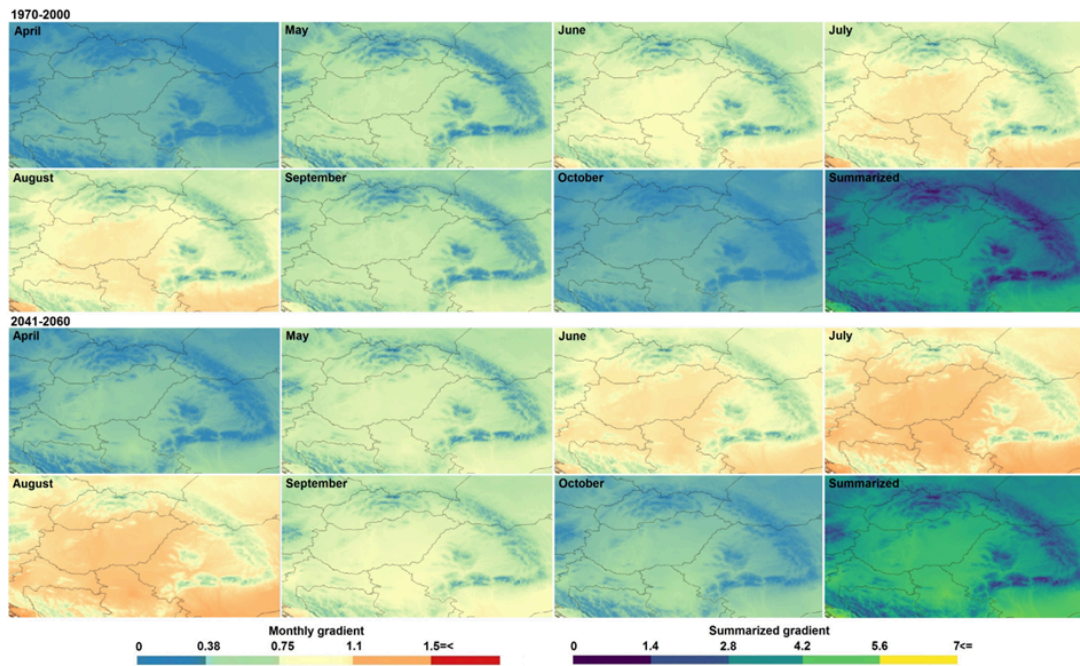
9. ábra | A vizsgált kovaalgafajok fundamentális niche tere a hőmérséklet és a kloridion-tartalom függvényében (SD1: reprodukciós határ, $\pm 1\sigma$ az optimum körül; SD2: növekedési határ, $\pm 2\sigma$ az optimum körül; SD3: túlélési határ, $\pm 3\sigma$ az optimum körül)



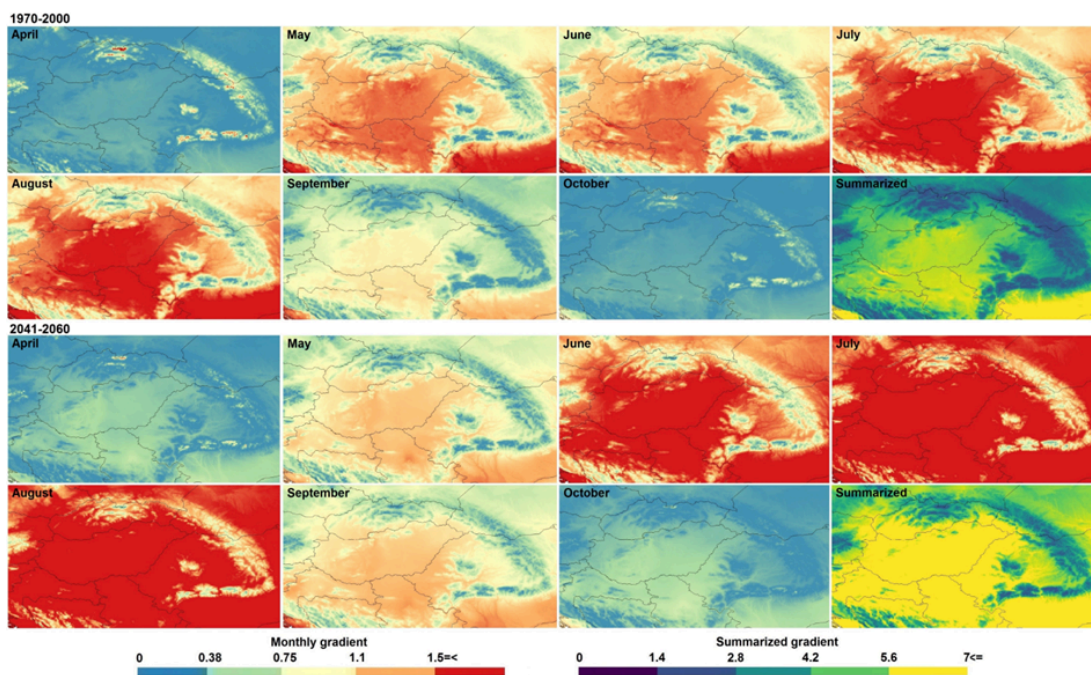
10. ábra | A vizsgált kovaalga fajok fundamentális niche tere a hőmérséklet és a szulfátion-tartalom függvényében (SD1: reprodukciós határ, $\pm 1\sigma$ az optimum körül; SD2: növekedési határ, $\pm 2\sigma$ az optimum körül; SD3: túlélési határ, $\pm 3\sigma$ az optimum körül).

2.3.3. Modellezés

A három faj átlagos fotoszintetikus aktivitása alapján fokozott fotoszintézis volt megfigyelhető az 1970-2000 közötti időszakban a Kárpát-medencében a növekvő kloridion-koncentrációval párhuzamosan (11. ábra és 6., 7. Melléklet). $437,5 \text{ mg L}^{-1}$ iontartalom mellett a fotoszintetikus aktivitás szintje április és október között alacsony volt ($<0,75 \text{ mg C mg Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$). Azonban magasabb kloridion-tartalom (5250 mg L^{-1}) esetében a fotoszintetikus aktivitás például júliusban és augusztusban kétszer olyan magasra emelkedett ($1,5 \text{ mg C mg Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$). Hasonló tendenciát jósoltak a modellek a 2041-2060 közötti időszakra is: minél magasabb az iontartalom, annál nagyobb a fotoszintetikus aktivitás. A szulfátion-gradiens tekintetében (12. ábra és 8., 9. Melléklet) a fotoszintetikus aktivitás tendenciája a kloridion-gradienshez hasonló volt. Mind a referencia-időszakban, mind a jövőben a fotoszintetikus aktivitás a szulfátion-koncentráció növekedésével párhuzamosan emelkedik. A két gradienst összehasonlítva elmondható, hogy a fotoszintézis intenzitása sokkal nagyobb volt a szulfátion-gradiens mentén ($> 1,5 \text{ mg C mg Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$), mint a kloridion tekintetében. A két időperiódust összehasonlítva megállapítható, hogy a 2041-2060 közötti időszakban a kovaalgefajok fotoszintézise valószínűleg intenzívebb lesz az ionok típusától és koncentrációjától függetlenül. Mindemellett a fotoszintetikusan aktív periódus (PAP) hosszának megnövekedése figyelhető meg a jövőben.



11. ábra | A vizsgált kovaalgafajok fotoszintetikus aktivitásának a modellezett átlagos havi (április - október), valamint ezek összesített értékei 1750 mg L^{-1} kloridion-koncentrációnál a múltban (1970-2000) és a jövőben (2041-2060) (skálák: a maximális fotoszintetikus aktivitás (P_s) értéke [$\text{mg C mg Chl-a}^{-1} \text{ h}^{-1}$])



12. ábra | A vizsgált kovaalgafajok fotoszintetikus aktivitásának a modellezett átlagos havi (április - október), valamint ezek összesített értékei 2400 mg L^{-1} szulfátion-koncentrációnál a múltban (1970-2000) és a jövőben (2041-2060) (skálák: a maximális fotoszintetikus aktivitás (P_s) értéke [$\text{mg C mg Chl-a}^{-1} \text{ h}^{-1}$])

2.4. Diszkusszió

A fajok ökológiai niche-ének megismerésére irányuló kutatások hozzájárulhatnak a klímaváltozás hatásainak megértéséhez és előrejelzéséhez (Wiens et al., 2009). A széles niche-sel jellemezhető fajok kevésbé érzékenyek a környezeti paraméterek változásaira (Irwin et al., 2012). Ez az összefüggés kulcsfontosságú lehet a szikes tavak esetében, ahol a környezeti paraméterek szélsőséges értékeket érhetnek el, és nagyfokú ingadozást mutathatnak a szélsőséges időjárási események miatt – beleértve a klímaváltozás által okozott változásokat is (Lengyel et al., 2019). Jelen munka hipotézisei helyesnek bizonyultak, miszerint a klímaváltozás valóban jelentős hatással van a szikes tavak legdominánsabb és legjellemzőbb kovaalgafajainak (*Nitzschia aurariae*, *N. reskoi* és *N. supralitorea*) (Stenger-Kovács & Lengyel, 2015) élettani folyamataira. A klímaváltozás által generált környezeti változások és azok ökofiziológiai következményei nagyon jól nyomon követhetők a múlt, a közelmúlt és a jövő időszakának jellemzésével és összehasonlításával, ahogy ez a következőkben látható:

2.4.1. A múlt (1970–2000)

1970 és 2000 között az átlagos hőmérséklet 20 °C körül volt, amely két fő következménnyel járt. Mivel ez az átlaghőmérséklet jóval a vizsgált *Nitzschia* fajok optimuma alatt volt (28-34 °C), így alacsonyabb fotoszintetikus aktivitást és rövidebb (június-augusztus) fotoszintetikusan aktív periódust (PAP) lehetett megfigyelni. A kárpát-medencei szikes tavak vezetőképességéről kevés adat áll rendelkezésünkre ebből az időszakból (1970 és 2000), mivel azok többnyire nem kerültek publikálásra (Schmidt and Fehér, 2001). A rendelkezésre álló kevés és szórványos információk alapján a szikes tavak átlagos vezetőképessége 500 és 32000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ között mozgott, 4000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ körüli átlagos értékkel (Kiss et al., 1994; Kiss et al., 1975; Schmidt and Fehér, 2001). Habár a tavak – kémiai összetétel alapján besorolt – típusainak előfordulása az adott időszakra vonatkozóan ismeretlen, de a jelenlegi eredmények alapján a fotoszintetikus aktivitás nagymértékben különbözhetett egymástól az egyes típusokban, mivel a vizsgált kovaalgák aktívabban fotoszintetizálhatnak olyan szikes tavakban, amelyekben a szulfátion dominál. Ez a különbség az ionok fiziológiai folyamatokban betöltött szerepének tulajdonítható, mivel a kén biokémiai szerepe fontosabb és változatosabb, mint a kloridé (Hopkins és Hüner, 2004b; Sudhir & Murthy, 2004). Mindazonáltal az átlagos elsődleges termelés ezekben a szikes vízi ökoszisztémákban a 2,6

mg C mg Chl- a^{-1} h $^{-1}$, míg összesített értéke (három faj fotoszintézisének összege) a 8 mg C mg Chl- a^{-1} h $^{-1}$ értéket is elérhette az ion típusától és koncentrációjától függően. Más sós ökoszisztémákkal összehasonlítva ezeket az értékeket megállapítható, hogy a három faj nagyban hozzájárulhatott a regionális és globális elsődleges termeléshez is – összehasonlításképpen 9,42 mg C mg Chl- a^{-1} h $^{-1}$ átlagértékek fordultak elő ausztrál, afrikai és amerikai sós tavakban (Hammer, 1981) és $2,6 \pm 1,0$ mg C mg Chl- a^{-1} h $^{-1}$ az óceánokban (Sarhou et al., 2005).

2.4.2. A közelmúlt (2005-2015)

Ebben az időszakban a kárpát-medencei szikes tavak intenzív vizsgálata indult meg, amely számos publikációt eredményezett limnológiájukkal és/vagy hidrobiológiájukkal kapcsolatban (Boros et al., 2013; Lengyel et al., 2019). A közzétett adatok alapján így tudhatjuk, hogy már ebben az időszakban extrém hőmérsékleti értékeket is rögzítettek egyes szikes tavakban: a Kirchsee-ben 35 °C, a Kardoskúti Fehér tóban 36 °C (Stenger-Kovács et al., 2014); 44 °C a Zab-székben (Boros et al., 2017). Ezek a környezeti feltételek alkalmanként akár fokozhatták, vagy fenntarhatták a vizsgált fajok fotoszintézisét, mivel ezek az értékek a fajok növekedési határain belülre esnek. A Kárpát-medencében található szikes tavak két kémiai típusának – a $\text{Na}^+(\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-})$ alapösszetétel mellett Cl^- , illetve SO_4^{2-} -dominanciájú tavaknak – az előfordulási gyakorisága ebben az időszakban megközelítőleg hasonló volt, mindkettő körülbelül 18% (Boros et al., 2014). Erre az időszakra jellemző átlagos vezetőképességüket ($5292 \mu\text{S cm}^{-1}$) és ionkoncentrációjukat (268 mg L^{-1} szulfátió és 1268 mg L^{-1} kloridion) tekintve megállapítható (Stenger-Kovács et al., 2014; Lengyel et al., 2016, 2019), hogy ezek az értékek jóval alacsonyabbak, mint a vizsgált fajok optimuma, ami a lehetséges maximumtól sokkal alacsonyabb fotoszintetikus aktivitást eredményezett. A hőmérséklet mellett ezekben az ökoszisztémákban kiemelkedő ionkoncentrációt és a vezetőképességet is megfigyeltek: a Kelemen-székben 2008-ban $17600 \mu\text{S cm}^{-1}$, 2013-ban a Sós-érben $41000 \mu\text{S cm}^{-1}$; $1567 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cl}^-$ a Böddi-székben 2006-ban, $19000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cl}^-$ a Sós-érben 2013-ban; (Stenger-Kovács et al., 2014; Lengyel et al., 2019). A vezetőképesség és a kloridion-koncentráció rendkívül magas értékei a fajok elsődleges termelését már akadályozhatták vagy alkalmanként le is állíthatták, mivel ezek az értékek meghaladják a túlélési határértéküket is ($14500\text{-}19600 \mu\text{S cm}^{-1}$, $8600\text{-}10400 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cl}^-$). Ezzel szemben az eddig megfigyelt maximális szulfátkoncentráció csak 2433 mg L^{-1} volt

(Stenger-Kovács et al., 2014), amely viszont még pozitívan befolyásolhatta a fajok fotoszintézisét.

2.4.3. A jövő (2041-2060)

Az alkalmazott RCP60 scenárió jóslata szerint a 2041-2060 közötti időszakra az átlagos hőmérséklet 22,5 °C-ra emelkedik, és ennek a múlthoz viszonyított 2,5 °C-os növekedésnek az eredményeink alapján jelentős hatása lesz a vizsgált fajok fotoszintézisre, valamint az azok vegetációs időszakára (PAP). A fotoszintézis fokozódása várható, míg az előrejelzések szerint a PAP két hónappal meghosszabbodik, így az májustól szeptemberig fog tartani. Habár általános megfigyelés az, hogy a kovaalgák inkább az alacsonyabb hőmérsékletet részesítik előnyben (Irwin et al., 2012), mégis az itt tárgyalt *Nitzschia*-fajok valószínűleg melegebb környezetet preferálnak (T_{opt} : 28-35 °C). A magas hőmérsékleti optimumuk hozzájárulhat a vegetációs időszakuk kiterjesztéséhez, mivel a megnövekedett jövőbeli átlaghőmérséklet (22,5 °C) még mindig a kovaalgafajok toleranciatartományán belül van, megközelítve az optimumértéküket. Viszont a jövőben is kell számítani szélsőséges hőmérsékleti értékekre, amelyek gyakorisága és intenzitása is növekedni fog az éghajlatváltozás hatására. Az itt vizsgált kovaalgafajok széles niche-t foglalnak el (a felső letális határ 50 és 65 °C között változik), amelyeket különféle fiziológiai stratégiák révén érhetnek el: például hősokkfehérjék és stresszhormonok szintjének (Kee & Nobel, 1986; Vierling, 1991; Kübler & Davison, 1993; Christov et al., 2001; Bajguz, 2009), membránösszetételnek (Somerville & Browse, 1991), klorofill-, karotinoid-, szacharid-, lipid- és cukortartalomnak (Christov et al., 2001) a megváltoztatásával. A növekedési határokat átlépve a fotoszintézis minimalizálódni fog a túlélés érdekében, így minden szélsőséges hőmérsékleti esemény – amelyre egyre gyakrabban és egyre nagyobb intenzitással számítani kell – a szikes tavi ökoszisztémák funkcionális szerepének elvesztését eredményezheti a jövőben.

A hőmérséklet mellett a vezetőképességnek és az ionösszetételnek is nagy szerepe van a jövőbeli folyamatok szabályozásában. Míg egy növekvő tendencia már megfigyelhető a vezetőképesség, a klorid- és a szulfátion-koncentráció átlagos és maximális értékének tekintetében is a Kárpát-medence szikes tavaiban (Stenger-Kovács et al., 2014; Lengyel et al., 2016, 2019), ez a jelenség a klímaváltozás hatására valószínűleg fokozódni és/vagy tipikusabbá fog válni. Általánosságban a kovaalgák jobban kedvelik az alacsonyabb vezetőképességű vizeket (Irwin et al., 2012), míg a magasabb vezetőképesség letális határt

jelent számukra, ahogyan ez számos más organizmusra is jellemző (pl. egyes planktonikus algák esetében $5 \text{ psu} = \sim 9000 \mu\text{S cm}^{-1}$ (Kies, 1997)). A vizsgált kovaalga-fajok magas optimummal és széles ökológiai niche-térrel jellemezhetők az ionok és a vezetőképesség tekintetében is, amelyek hőmérséklet-függőek (a hőmérsékleti optimumhoz közelítve szélesebb a niche). Jelen kutatás előrejelzései alapján az elsődleges termelés fokozódása várható a szikes vízi ökoszisztémákban az átlagos vezetőképesség és hőmérséklet növekedésével párhuzamosan. Azonban a fajok nem lesznek képesek elviselni és túlélni a környezet szélsőségeit annak ellenére, hogy a magas sótartalommal szemben számos fiziológiai stratégiával rendelkeznek; pl. különböző oldott anyagok előállítás (Joset et al., 1996) vagy fenotípusos plaszticitás (Trobajo et al., 2004).

Noha a szikes tavak két kémiai típusának előfordulási gyakorisága a közelmúltban megközelítőleg hasonló volt (Boros et al., 2014), a jövőben a klímaváltozás hatására ez az arány eltolódhat, amely az elsődleges termelés megváltozását is eredményezheti. Ez többféle módon is megtörténhet, melyek közül a következő kettő a legjellemzőbb a szikes tavak esetében: (i) szórványos, de intenzív esőzések kimossák az ionokat a környező mezőgazdasági területekről, amelyek így a tavakba jutnak; (ii) a csökkenő talajvízszinttel megszűnik az alsóbb hidrogeológiai rétegekből történő feláramlás, és ezáltal megszakad felszíni vizek ion utánpótlása. A szulfácion típusú ökoszisztémák felé eltolódó arány a jövőben pozitívan befolyásolhatja a vizsgált kovaalga fajok elsődleges termelését, mivel egyrészt fotoszintézisük aktívabb a szulfácionban gazdag vizekben, másrészt az eddig megfigyelt legmagasabb szulfácion-koncentráció még mindig a fajok optimuma alatt található. Ezzel szemben a kloridion típusú ökoszisztémák felé tolódó aránynak negatív és pozitív hatása is lehet a vizsgált kovaalgafajok elsődleges termelésére. Mivel a kloridion tekintetében széles toleranciával jellemezhetők (túlélési felső határ: $8600\text{-}10400 \text{ mg L}^{-1}$), a kloridion-koncentráció átlagos szintjének növekedése pozitívan befolyásolhatja fotoszintézisüket. Ennek ellenére a kloridion olyan magas koncentrációja, amit a közelmúltban már tapasztaltak, már mérgező lehet számukra (Sudhir & Murthy, 2004), mivel az túlmutat a fajok túlélési határán, így a fotoszintézisük csökkenését és a fajok pusztulását okozhatja. Összességében elmondható, hogy a jövőben egyre nagyobb gyakorisággal várhatók olyan időszakok, amelyek $1\text{-}1,5 \text{ mg C mg Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$ fölötti fotoszintetikus aktivitással jellemezhetők, így jelentős funkcionális értéket biztosítanak a szikes vízi tavaknak, mivel ezek az ökoszisztémák a globális elsődleges termelés potenciális forrásaként szolgálhatnak.

3. Maleinsav-hidrazid hatása a teratogén formák kialakulására egy kovaalga-faj esetében

3.1. Bevezetés

A Föld édesvizeit folyamatosan fenyegetik az ember által előidézett különféle szennyezések, amik súlyos következményekkel járnak az ökoszisztémákra nézve. Ezek a szennyező anyagok származhatnak ipari (például bányászat, élelmiszeripar) vagy mezőgazdasági tevékenységekből. Nehézfémek vagy más bányászatból származó melléktermékek, a növények növekedéséhez szükséges tápanyagok vagy a mezőgazdaságból származó növényvédő szerek szabadulhatnak fel. A mezőgazdasági területeken a használt növényvédő szerek negatív hatással lehetnek az ökoszisztémára. Az elmúlt évtizedekben a növényvédő szerek használata világszerte gyorsan megnövekedett a nagymértékű népességnövekedés és a klímaváltozás következtében (Hulme, 2017; Madhuri & Sharma, 2020). Globális szinten a növényvédőszer-használat 2020-ban összesen 2,7 millió tonna hatóanyagot tett ki, a készítmények pedig körülbelül 7,2 millió tonnát (Wisnujati, 2023). Ezek a szennyező anyagok nem csak a célszervezetekre, hanem a természetes édes vízi ökoszisztémákra is káros hatással vannak – beleértve a nem célszervezeteket is.

A növényvédő szerek káros hatásainak elterjedésével kapcsolatban különböző vízgazdálkodási tervek és jogi szabályozások születtek. Az ökológiai állapot meghatározására a Vízkereitirányelv (VKI) bioindikátorokat vezetett be, amelyek a környezetben bekövetkezett változásokat jelzik. Sokkal több információt nyújtanak, mint pusztán a fizikai és kémiai paraméterek mérése. Az alkalmazott bioindikátor-csoportok közül az egyik a fitobentosz, azon belül is a kovaalgák (Bacillariophyceae, Mediophyceae és Coscinodiscophyceae osztályok), amelyek a mikroalgák egyik széles körben elterjedt és jól tanulmányozott csoportját alkotják (McCormick & Cairns, 1994), továbbá fontos ökoszisztéma-szolgáltatásokat nyújtanak (B-Béres et al., 2023). Az ökológiai állapot felmérésére való alkalmassága abban rejlik, hogy kozmopolita élőlénycsoport, rövid generációs idővel rendelkezik, amely gyorsan reagál a természetes és antropogén hatásokra is. A kovaalgákat érzékenységüknek köszönhetően nemcsak ökológiai állapotfelmérésre, hanem ökotoxikológiai vizsgálatok tesztorganizetkeként is használják fémek (Gonçalves et al., 2019), nehézfémek (Canterford & Canterford, 1980; Falasco et al., 2009; Gautam et al., 2017), továbbá növényvédő szerek szennyeződések kimutatására.

A szennyező-anyagoknak való kitétség számos élettani tulajdonságot megváltoztat az intracelluláris szinten (Debenest et al., 2010). Megzavarhatja a citoszkeletont, ami más sejtkárosodáshoz vezet (Sampson & Pickett-Heaps, 2001; Yemets et al., 2008; Buschmann et al., 2016). Hatására számos sejtmag-lézió alakulhat ki, például DNS-diszperzió (Casotti et al., 2005; Debenest et al., 2008) és -fragmentáció (Aoyama et al., 2003; Desai et al., 2006; Prado et al., 2009). A kloroplasztiszok alakjának és az *a* klorofill mennyiségének változását is okozhatják, amely által a fotoszintézisre is kihatnak (Wang et al., 2020). Az oxidatív stressz enzimek termelésének, aktivitásának mérésével nyomon követhető a sejt állapota (Wang et al., 2020). A szennyezők az anyagcsere-folyamatokra is hatással vannak, mint például a fehérje-, lipid- és szénhidrát szintézisre (Weiner et al., 2007) vagy a tápanyagfelvételre (Krieger et al., 1988).

A kovaalga külső sejtfa (frusztulum) szilícium-dioxidot tartalmazó merev héj, amelynek tulajdonságai képezik a kovaalgák fajszintű meghatározásának alapjait (Round et al., 1990). Ezek a rögzített tulajdonságok bizonyos környezeti stressz hatására megváltozhatnak, és teratogén formák kialakulásához vezethetnek (Cattaneo et al., 2004; Cuna et al., 2014), mely folyamat a mai napig nem tisztázott még. Feltételezések szerint a szilifikáció kezdeti szakaszában a sejtmag helyzetéért felelős mikrotubulusok sérülnek, ami a váz abnormális elváltozását okozza (Schmid, 1980; Round et al., 1990). A deformációk természetes, egészséges környezetben is előfordulnak, de általános megjelenésük 0,5% alatt marad. A sejten megjelenő teratológiai elváltozás feltehetően nem gyengíti a szaporodási kapacitást és életképességet (Falasco et al., 2021). Azonban a témával foglalkozó szakirodalomban fellelhető cikkek többségében a kovaalga-szervezeteket viszonylag rövid ideig kezelték; néhány óráig (Debenest et al., 2008) vagy napig (Bedoshvili et al., 2018), illetve 1-2 hétig (Rimet et al., 2004; Coquillé & Morin, 2019; Gonçalves et al., 2019; Wang et al., 2020). Továbbá a teratogén formákat indukáló anyagok hatásának vizsgálata során kimutatták azt is, hogy a fajok érzékenysége különböző, s nem minden faj esetében jelenhetnek meg rendellenes változások (Rimet et al., 2004; Debenest et al., 2008).

Tanulmányunkban a maleinsav-hidrazid (MH, CAS No. 123-33-1), egy széles körben használt gyomirtó hosszú távú hatását vizsgáltuk. Az MH 1949-ben kifejlesztett növény-növekedésszabályozó (Schoene & Hoffmann, 1949), amely azóta számos növényvédő szer hatóanyagát képezi. Többnyire a burgonya és hagyma növekedés szabályozójaként használják mezőgazdasági területeken és kertekben egyaránt, annak ellenére, hogy genotoxikus hatása már ismert (Cotelle et al., 1999; Marcano et al., 2004). Tesztszervezetnek

a *Gomphonema parvulum*-ot, egy olyan kozmopolita kovaalga fajt választottunk, amely korábbi vizsgálatokban már mutatott rendellenes formákat egyéb toxikus anyagok hatására (Lange-Bertalot et al., 2017). Kutatásunk során vizsgáltuk az MH lehetséges hatásait a *Gomphonema parvulum* fotoszintézisére, növekedésére, színanyagainak (*a* klorofill, karotionidok és fukoxantin) mennyiségére, stressz-enzimtermelésre, a sejtekben található lipidtartalomra, valamint a teratogén formák kialakulására. A vizsgálatunk célja volt

(i) azt kimutatni, hogy a MH-kezelés hatására megfigyelhető-e növekedéscsökkenés, illetve ez együtt jár-e teratogén formák megjelenésével. Feltételezésünk szerint az alacsonyabb MH-koncentráció nem gátolja a szaporodási képességet felmutató kóros formákat;

(ii) megvizsgálni azt, hogyan változik a teratogén formák és típusok megjelenése a kezelési idő előrehaladtával, és ezt milyen mértékben befolyásolja az MH koncentrációja. Arra számítunk, hogy az idő múlásával a legnagyobb növekedést magasabb MH-koncentrációval ériük el. Feltételezésünk szerint több generáció után ezek a deformitások összetettebbé válnak, így a típus is változik;

(iii) azt feltárni, hogy a mért élettani tulajdonságok közül melyikkel mutat összefüggést a teratogén formák megjelenése. Azt feltételezzük, hogy a teratogén formák megjelenésével a fotoszintetikus aktivitásban negatív változást, valamint stressz-enzimaktivitásban növekedést tapasztalunk.

3.2. Anyag és módszer

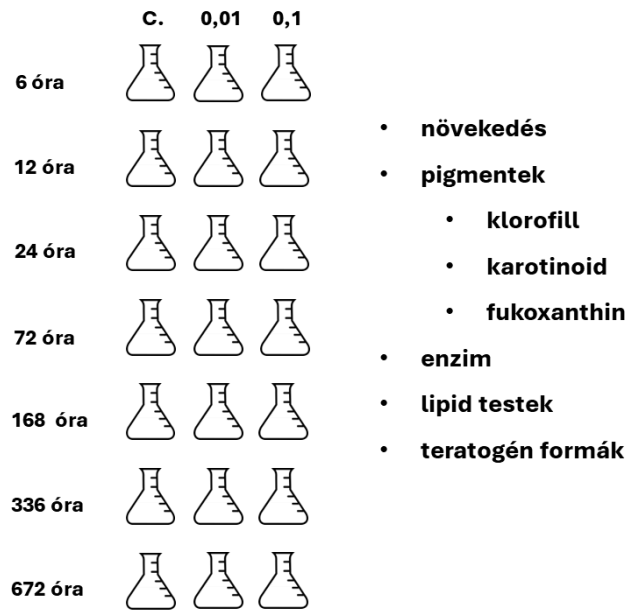
3.2.1. Tenyészet fenntartása

A *Gomphonema parvulum* monokultúrája a francia INRAE UMR CARTELE tudományos kutatóintézet algagyűjteményéből (TCC485) származik. A tenyészetet batch kultúrában szaporítottuk és tartottuk fent. A tenyésztés során DV (10. Melléklet; Hughes & Lund, 1962) tápoldatot használtunk, amelyet 2-3 hetente friss steril tápoldattal cseréltünk. A tenyészetet 23°C-on, 15 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ megvilágításon ('daylight' és 'cool light' fénycső), 14 óra megvilágítás :10 óra sötét fotoperiódus mellett tartottuk fenn.

3.2.2. Kísérleti beállítások

A kísérlet során az algatenyészeteket 250 ml-es Erlenmeyer-lombikban tartottuk a fent részletezett tenyésztési körülmények között. A kísérlethez exponenciális fázisban lévő

kovaalga tenyészetet használtunk. Az algatenyészeteket a MH-dal két koncentrációban kezeltük (0,1 és 0,01 mg L⁻¹), valamint kontroll tenyészetet is alkalmaztunk, amibe nem került növényvédő szer. Minden kezelést és mérést három párhuzamos ismétlésben végeztünk. A növényvédő szer hatását az alábbi kezelési idők után vizsgáltuk: 6, 12, 24, 72, 163, 336, 672 óra. Ezen időpontokban a homogenizált mintákból 100 ml-t vettünk ki különböző fiziológiai paraméterek vizsgálatához. A kísérleti beállítást a 13. ábra szemlélteti.



13. ábra | A kísérleti beállítás sematikus ábrája

3.2.3. Vizsgált fiziológiai paraméterek

Növekedés

A sejtszám-növekedés meghatározása céljából a minták egy részét Lugol-oldattal tartósítottuk, majd a sejtszámot Bürker-kamrában, 400×-os nagyításon számoltuk meg.

Színanyagok

A karotinoid- és a klorofillméréshez 15 ml homogenizált mintát használtunk a vonatkozó szabványnak (Wetzel & Likens, 2000) megfelelően, amelyből centrifugálást (MSE, Mistral 2000) követően (25 perc, 3700 percenkénti fordulatszám[rpm]) a felülúszót eltávolítottuk, majd 90%-os etanolt adtunk hozzá. Ezt egy 75°C-os inkubálás követte 15 percen keresztül a sejtek roncsolása és a pigmenttartalom extrahálása érdekében. Majd újabb centrifugálást (20 perc, 4700 rpm) követően a felülúszó abszorbanciáját 750, 665 és 480 nm

hullámhosszokon mértük meg. A pigmentkoncentrációkat az alábbi egyenletek segítségével számoltuk ki.

(Lorenzen, 1967)

$$Chl\ a \left(\frac{mg}{m^3} \right) = \frac{(k)(F)(E_{665_0} - E_{665_a})(v)}{(V)(Z)} \quad (4)$$

(Strickland & Parsons, 1968)

$$Car\ (\mu SPU/l) = \frac{(7.6)(E_{480_0})(v)}{(V)(Z)} \quad (5)$$

$$E_{480_0} = A_{480} - [(3)(A_{750})] \quad (6)$$

Fukoxantin

A minták fukoxantin-tartalmának meghatározásánál Wang et al. (2018) módszerét követtük. Megmértük a minták abszorbanciáját 750 nm hullámhosszon, majd centrifugálást (MSE, Mistral 2000; 4700 rpm, 5 perc) követően a pellethez etanolt adtunk. Etanollal való szuszpendálást követően a mintákat sötétben tartottuk két órán keresztül. Újabb centrifugálást (3000 rpm, 15 perc) követően megmértük az abszorbanciát 445 nm és 663 nm hullámhosszokon. A fukoxanthin koncentrációját az alábbi képlet segítségével számoltuk ki:

(Wang et al., 2018)

$$C_{fuc} = 6.39 \times [A_{445}(A_{750})] - 5.18 \times [A_{663}(A_{750})] \quad (7)$$

Fotoszintetikus aktivitás

A fotoszintetikus aktivitás méréséhez 100 ml-es boroszilikát Karlsruhe-lombikot használtunk, amely kémiaailag inert, és blokkolja az oxigén áramlását a környezet és a minta között. A fotoszintetikus aktivitást az oldott oxigén koncentrációjának mérésével határoztuk meg lumineszcens oldott oxigén (LDO) HQ-20, Hach Lange) szondával (Wetzel & Likens, 2000). Kísérleti körülmények között a minta kezdeti oldott koncentrációját mértük, majd a méréseket egy óra elteltével megismételtük. A nettó fotoszintetikus aktivitást egységnyi *a* klorofillra normalizálva számoltuk ki Wetzel & Likens (2000) által leírt módszer szerint.

Enzimaktivitás

A peroxidáz aktivitás és az összefehérje-tartalom méréséhez a kezelési idő letelte után minden párhuzamos mintából 100 ml-t szűrtünk 0,45 µm pórusátmérőjű filteren. A kivonat elkészítéséhez a filtert jéghideg mozsárban 2,8 ml 50 mmol L⁻¹ nátrium-foszfát puffer (pH=7), 100 µL 1 mmol L⁻¹ EDTA (etil-diamin-tetraecetsav) és 100 µL 0,5 mmol L⁻¹ PMSF (fenil-metil-szulfonil-fluorid) jelenlétében tártuk fel. A kapott mintákat 20 percig 12300 percenkénti fordulatszámom centrifugáltuk 4 °C-on (MSE, Mistral 2000). A TMB-peroxidáz-aktivitás mérése az Imberty et al. (1984) által alkalmazott módszer szerint történt kisebb módosításokkal. 200 µl mintához 650 µl nátrium-foszfát-citromsav puffert (90 mmol L⁻¹ Na₂HPO₄ és 55 mmol L⁻¹ citromsav, pH 4,5), 50 µL 20 mmol L⁻¹ TMB-t (3,3',5,5'-tetrametil-benzidin izopropil alkoholban oldva) és 100 µL 35 mmol L⁻¹ H₂O₂-t adtunk. Az oxidációs sebességet az A654 nm hullámhosszon az abszorbanciában 5 percen keresztül bekövetkező változás mérésével becsültük, az enzimaktivitást U µg⁻¹ fehérjében határoztuk meg. Az összfehérje-tartalom méréséhez a Lowry-módszert alkalmaztuk enyhe módosításokkal (Peterson, 1983). A fehérje mennyiségi meghatározása során a kalibráló görbét ismert koncentrációjú BSA (bovine serum albumin) oldattal vettük fel.

Lipidtartalom

A lipidtartalom méréséhez a sejtekben található egyéb sejt organelumoktól eltérően gömb alakú, lipidcseppek jellemzőit mértük fel, melyek vizsgálata a mintavételt követően azonnal megtörtént. A lipidcseppek méretét határoztuk meg mintánként legalább 10 sejtben, 1000× nagyításon Zeiss Axiovert 100 fénymikroszkóppal (Pandey & Bergey, 2016) kontraszt festés nélkül. A DIC (Differenciál Interferencia Kontraszt) egy kiváló roncsolásmentes módszer a lipidcseppek tanulmányozására, aminek alkalmazásával a lipidek fizikai tulajdonságai (sűrűség és törésmutató) miatt jól láthatóvá és könnyen mérhetővé válnak (e.g. Murphy & Davidson, 2012; Leyland et al., 2020).

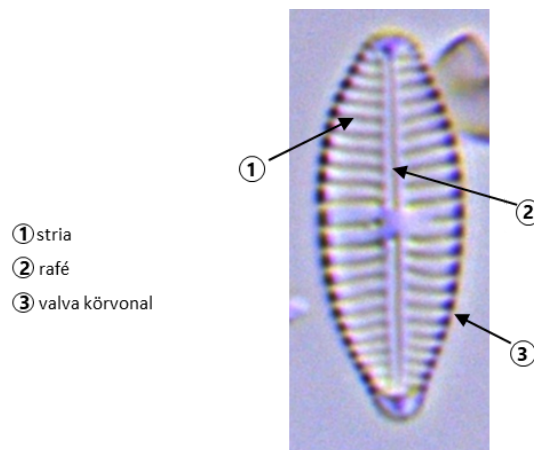
Teratogén formák

Az abnormális valvák gyakoriságának vizsgálata és különböző derformitási típusokba való sorolása érdekében a mintákból kovaalga-preparátumokat készítettünk. A minták roncsolására forró hidrogén-peroxidos módszert alkalmaztunk (Ács & Kiss, 2004), majd a tisztított kovaalgavázakat Zrax gyantába ágyasztuk. A kész preparátumokat Zeiss Axio 100

fénymikroszkóppal Plan Apochromat 100-s objektívvel vizsgáltuk 1000× nagyításon immerziós olaj használata mellett. Minden mintában 400 valvát számoltunk meg, majd a teratogén valvákat a Lavoie (2017) által definiált típusokba soroltuk be. A 14. ábra a *Gomphonema parvulum* kovaalgafaj valvájának főbb részeit mutatja be az abnormalitások azonosítása szempontjából. Végül meghatároztuk a teratogén formák relatív gyakoriságát a mintákban.

4. táblázat | Abnormális valvatípusok

típusok	jellemzők
1. típus	abnormális valvaforma
2. típus	abnormális stria
3. típus	abnormális rafé
4. típus	kevert abnormalitás



14. ábra | A *Gomphonema parvulum* kovaalgafaj valvájának legfőbb részei az abnormalitás meghatározásának tekintetében

3.2.4. Statisztikai elemzés

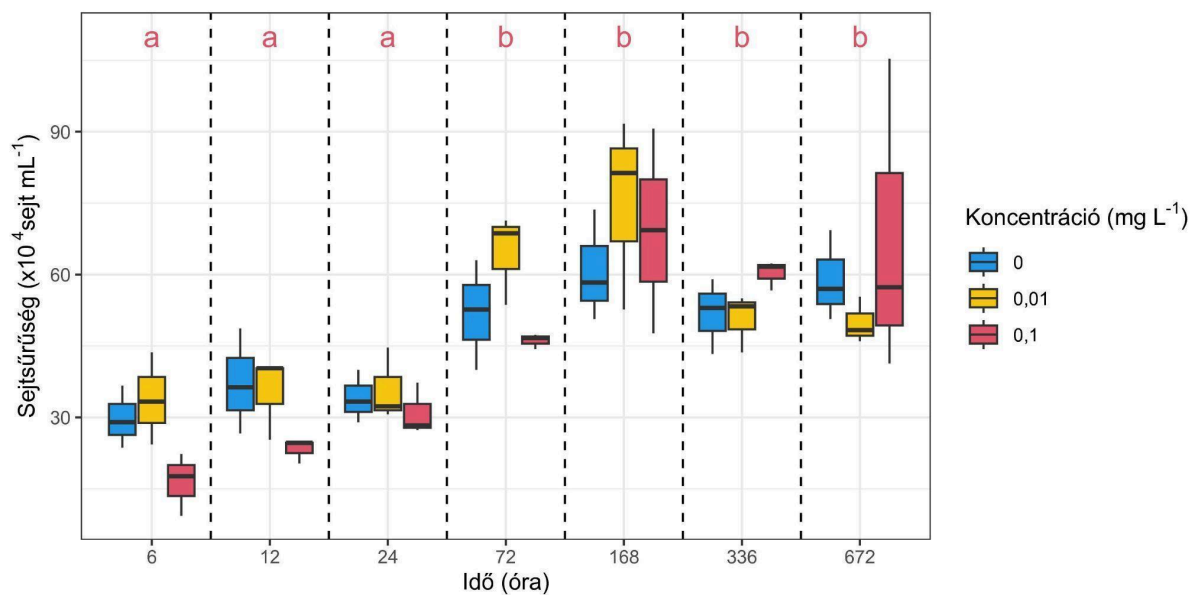
Kutatásunk során a fiziológiai változók adatainak normális eloszlását Shapiro–Wilk-teszt segítségével ellenőriztük, a szóráshomogenitás ellenőrzéséhez pedig Levene próbát végeztünk. A többváltozós mintázat vizsgálatához főkomponens-analízist (PCA) alkalmaztunk, melyet megelőzően a nem normális eloszlású változók esetében logaritmus-transzformációt végeztünk, majd a változókat a különböző mértékegységek

kiegyenlítése érdekében standardizáltuk úgy, hogy középértékük 0, szórásuk 1 legyen. A PCA főkomponenseit a magyarázott variancia alapján értékeltük. A kezelés idejének és az alkalmazott MH-koncentrációnak a fiziológiai változókra gyakorolt hatását varianciaanalízissel (ANOVA) vizsgáltuk a normális eloszlású paraméterek (teratogén formák, fajlagos *a* klorofill, fajlagos karotinoidok, fukoxantin) esetében. Ugyanezen összefüggéseket rang transzformációs varianciaanalízissel (ART ANOVA) vizsgáltuk a nem normális eloszlású változók (sejtsűrűség, *a* klorofill, karotinoidok, fotoszintézis, POD aktivitás, lipidek) esetében. A páronkénti összehasonlításokhoz mindkét esetben Tukey-féle post-hoc próbát végeztünk. Minden statisztikai elemzést és ábrázolást az R 3.2.2 programban (R Core Team, 2021) a vegan (Oksanen et al., 2022), tidyverse (Wickham et al., 2019), car (Fox & Weisberg, 2018), és ARTool (Wobbrock et al., 2011) programcsomagok használatával végeztük. A grafikus ábrázolásokat a ggplot2 (Wickham, 2016) csomaggal készítettük.

3.3. Eredmények

3.3.1. Sejtszámnövekedés

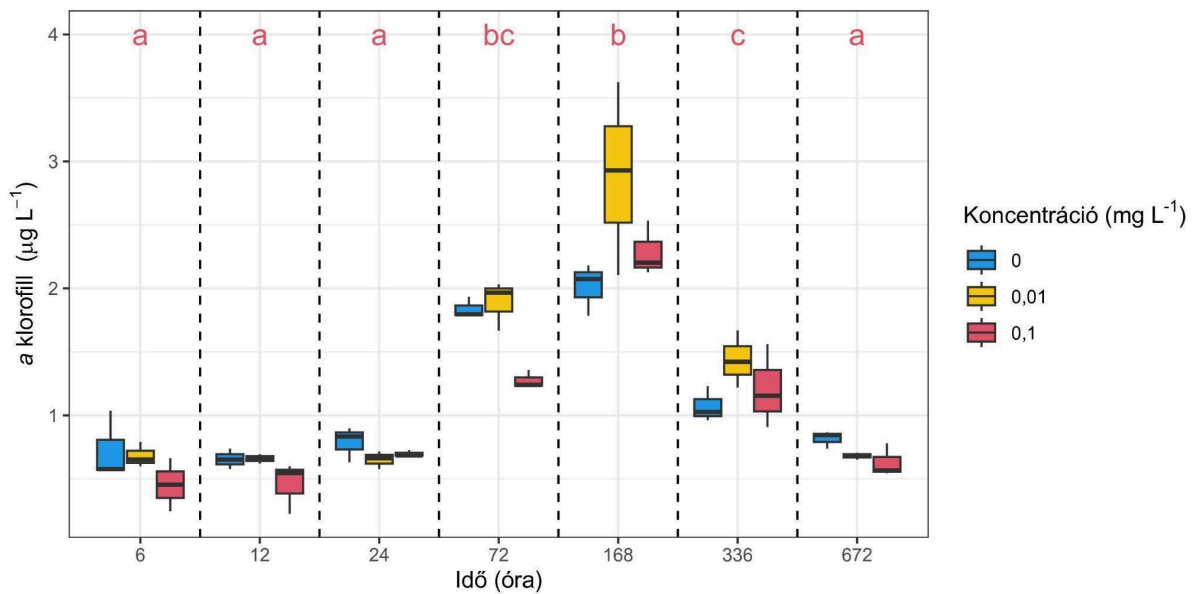
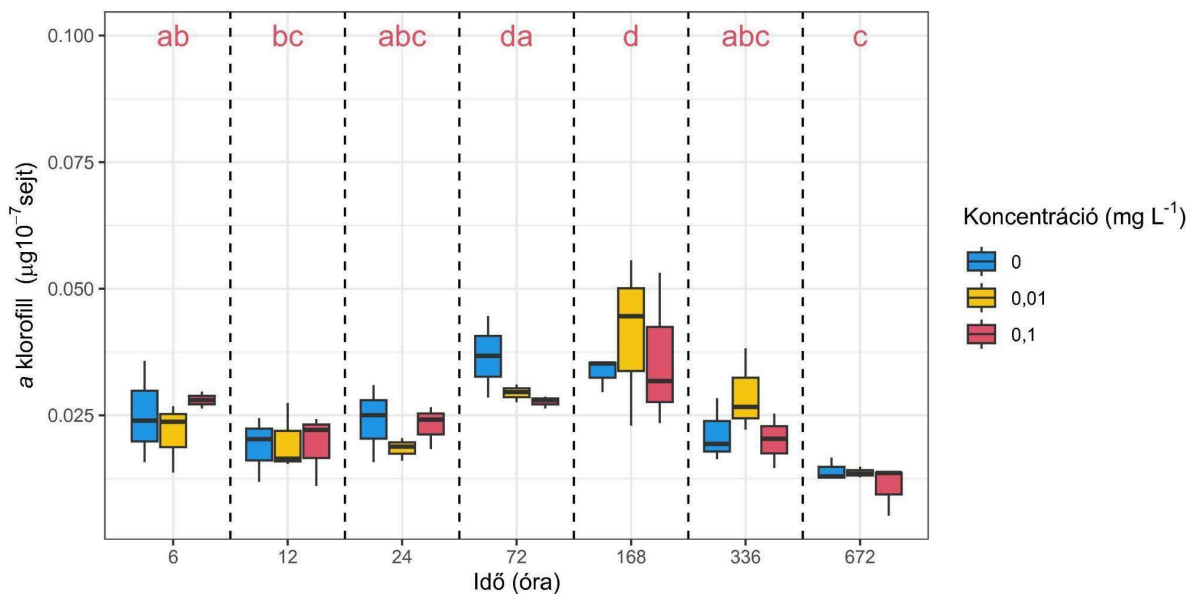
Általánosságban a *Gomphonema parvulum* milliliterenkénti sejtszáma 72 óra után növekedett meg szignifikánsan, majd változatlanul magas maradt a vizsgálat végéig a 6, 12, 24 órákban tapasztalt értékekhez képest. A legnagyobb sejtsűrűség 168 óra (1 hét) elteltével volt látható, itt érte el az algatenyészet a stacionárius állapotot. A koncentrációkat vizsgálva azonban a kontroll és a kezelt tenyészetek között statisztikailag szignifikáns különbséget nem találtunk sem a 0,01, sem a 0,1 mg L⁻¹ MH-koncentráció esetében. A vizsgálat elején (6, 12, 24 óra) a sejtszám 44,8; 37,6; 9% csökkenést mutatott a legmagasabb MH-koncentrációnál (0,1 mg L⁻¹), de ez nem volt szignifikáns (15. ábra).



15. ábra | A *Gomphonema parvulum* növekedésének ($\times 10^4$ sejt mL^{-1}) változása a kezelési idők és a különböző koncentrációjú maleinsav-hidrazid-kezelés függvényében. A kisbetűk a szignifikáns eltéréseket jelölik a kezelési idők között $p < 0,05$.

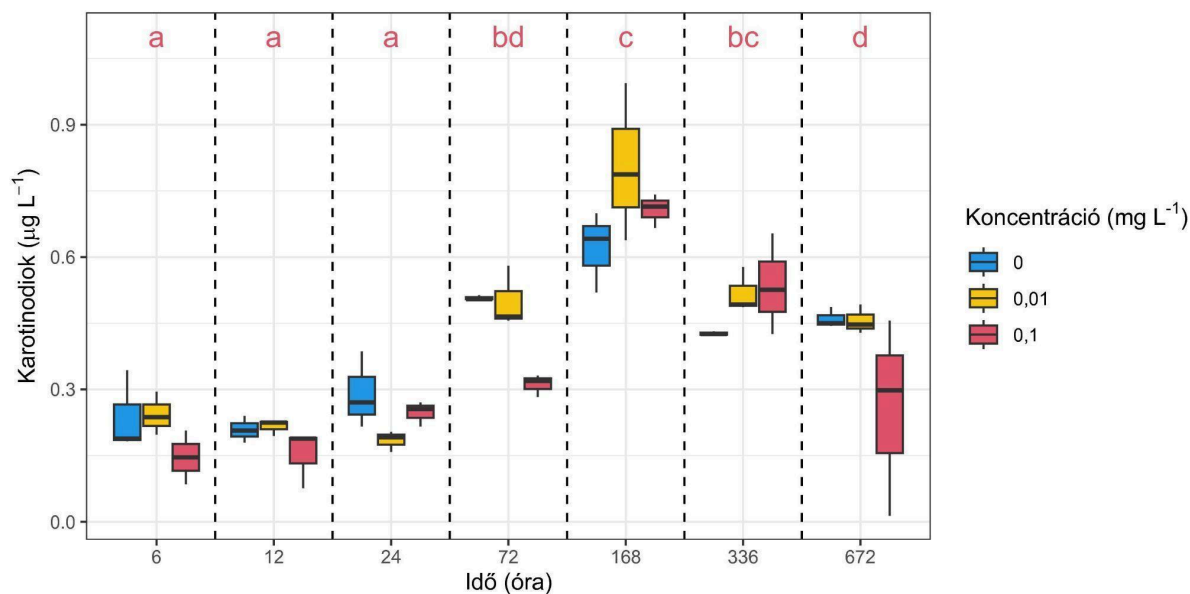
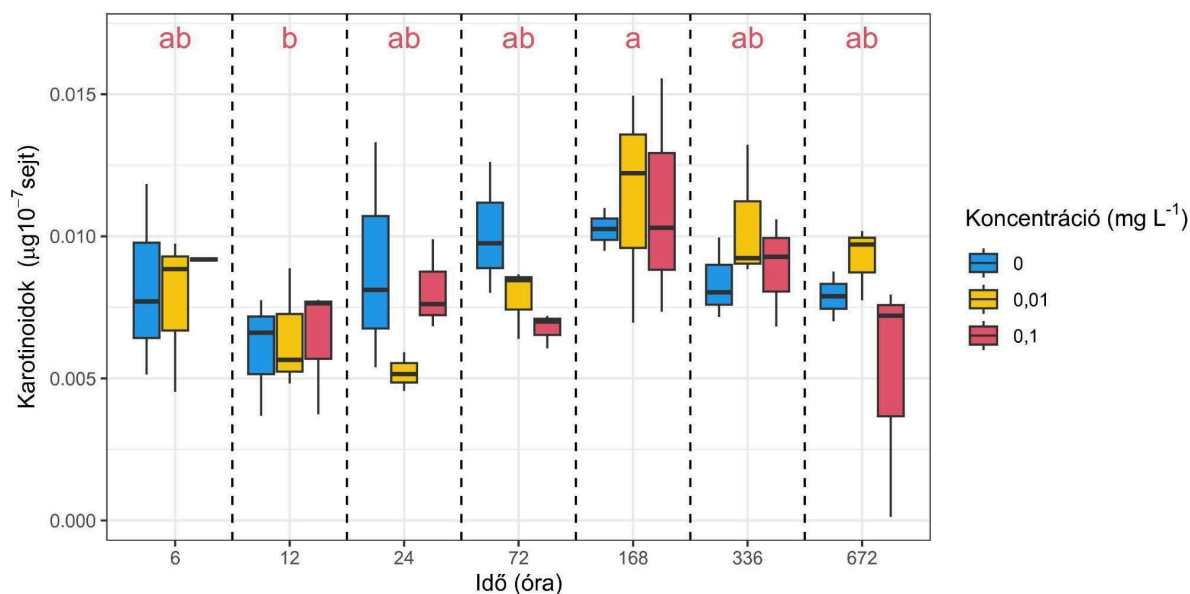
3.3.2. Pigmentek

Az algatenyészet *a* klorofill-tartalma (16a. ábra) 72 óra elteltével nőtt meg szignifikánsan, melyet követően az értéke csupán a 672 órában csökkent le. A kezelési koncentráció (0,01 és 0,1 $mg L^{-1}$) tekintetében általánosságban az mondható, hogy a teljes (16a. ábra) és a sejtszámra normalizált *a* klorofill-tartalom (16b. ábra) sem mutatott szignifikáns különbséget egyik kezelési idő után sem, néhány kivétellel. Az *a* klorofill-tartalom (16a. ábra) 168 óra elteltével magasabb volt mind a két kezelésben a kontrollhoz képest; azonban a kisebb (0,01 $mg L^{-1}$) MH-koncentrációval kezelt tenyészetben jóval nagyobb volt (43,4%) ez a különbség, mint a nagyobb (0,1 $mg L^{-1}$) koncentrációnál (13,7%). A legnagyobb koncentrációk közötti különbség, ha sejtszámra vonatkoztatjuk a klorofill-mennyiséget (16b. ábra), akkor 168 és 336 órás kezelés után mutatkozott, ahol a 0,01 $mg L^{-1}$ MH-koncentráció esetén tapasztaltuk a legnagyobb értéket. A magasabb MH-koncentrációval való kezelés során ez a növekedés kisebb mértékű volt (8%). 4 hét után mind a két MH-koncentráció esetében csökkent a teljes (16a. ábra) és a sejtszámra vonatkoztatott klorofill-tartalom is (16b. ábra), de jellemzően a magasabb koncentráció alkalmazásakor a változás nagyobb mértékű volt.

a**b**

16. ábra | A *Gomphonema parvulum* összes a klorofill ($\mu\text{g L}^{-1}$) (a), valamint algasejt mennyiségre normalizált a klorofill-tartalmának ($\mu\text{g } 10^{-7}$ sejt) (b) változása a kezelési idők és a különböző koncentrációjú maleinsav-hidrazid-kezelés függvényében. A kisbetűk a szignifikáns különbségeket jelzik a kezelési idők között $p < 0,05$.

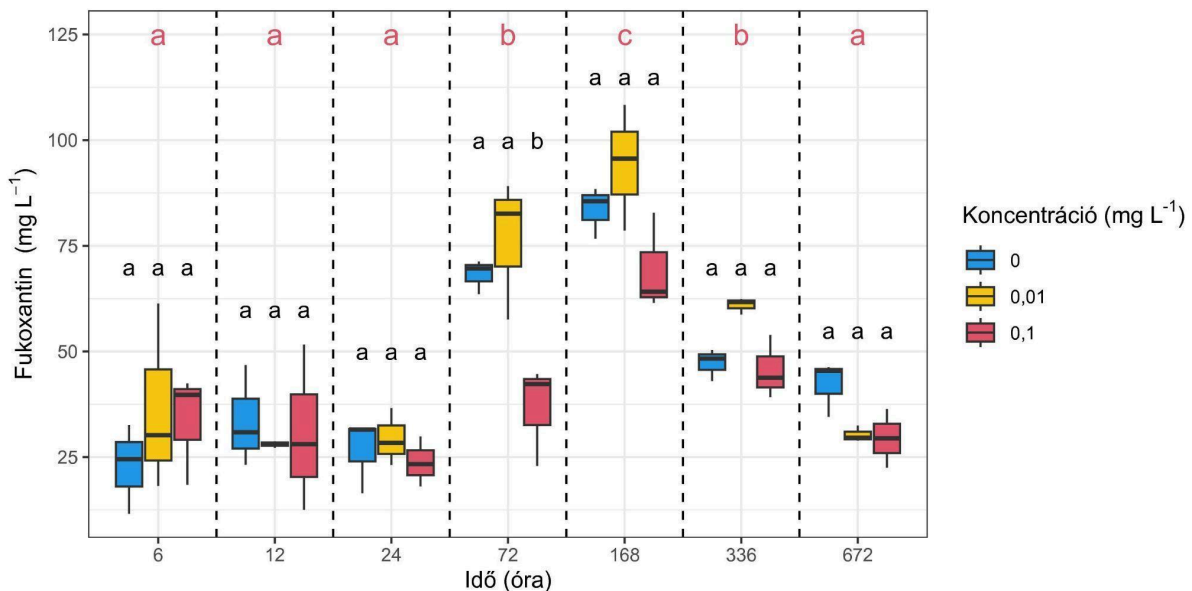
Hasonlóan a klorofill-tartalomhoz, a tenyészet karotinoid mennyisége (17a. ábra) is 72 óra után változott meg szignifikánsan. Ezzel szemben a fajlagos karotinoid mennyiség (17b. ábra) általánosságban nem mutatott jelentősebb változást sem a kezelési idő, sem az alkalmazott koncentrációk (0,01 és 0,1 mg L^{-1} MH) függvényében.

a**b**

17. ábra | A *Gomphonema parvulum* karotinoid ($\mu\text{g L}^{-1}$) (a) és algasejtsűrűsége normalizált karotinoid ($\mu\text{g } 10^{-7} \text{ sejt}$) (b) tartalmának változása a kezelési idők és a különböző koncentrációjú maleinsav-hidrazid-kezelés függvényében. A kisbetűk a szignifikáns különbségeket jelzik a kezelési idők között $p < 0,05$.

A fukoxantin mennyiségének szignifikáns változása is a 72. óra után következett be, melyet követően a megnövekedett érték 168 és 336 óra elteltével is változatlan maradt. Ezt követően, a 672 órában értéke a kezdeti koncentrációra csökkent le. A kezelési koncentrációk

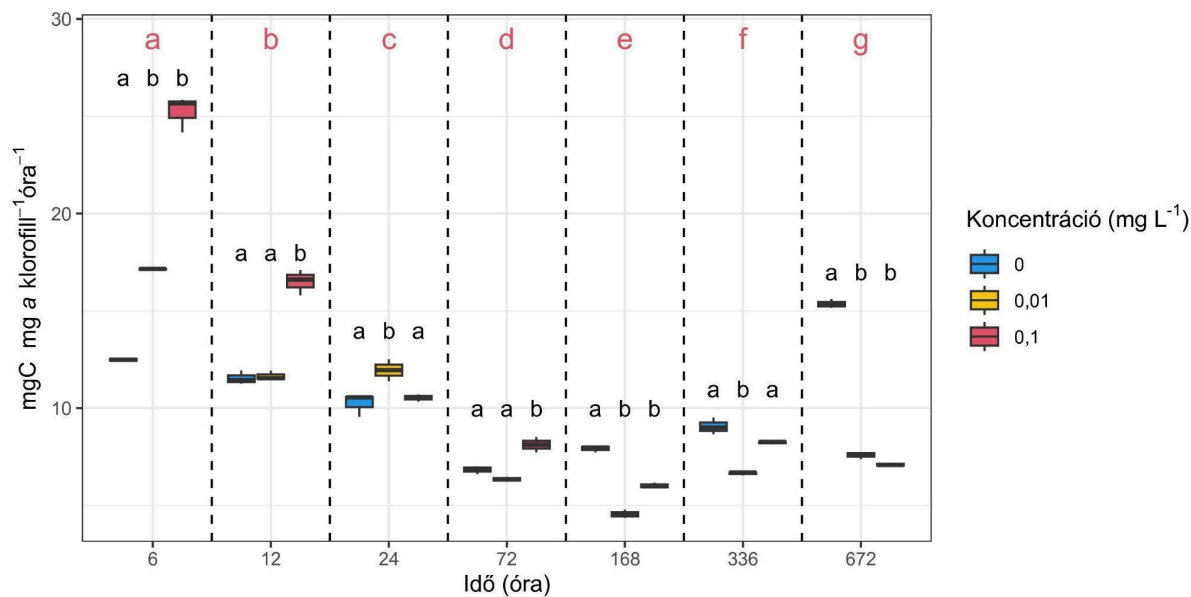
tekintetében szignifikáns különbségeket szintén a 72 órás kezelési időtől kezdve találtak. A 0,01 mg L⁻¹ MH-kezelés hatására a kontrollhoz képest megnövekedett a fukoxantin mennyisége, míg 0,1 mg L⁻¹ MH-koncentráció esetében szignifikáns csökkenés volt tapasztalható (18. ábra).



18. ábra | A *Gomphonema parvulum* fukoxantin (mg L⁻¹) mennyiség változása a kezelési idők és a különböző koncentrációjú maleinsav-hidrazid-kezelés függvényében. A kisbetűk a szignifikáns különbségeket jelzik a kezelési idők között (piros betűk) és a kezelési koncentrációk között (fekete betűk) $P < 0,05$.

3.3.3. Fotoszintetikus aktivitás

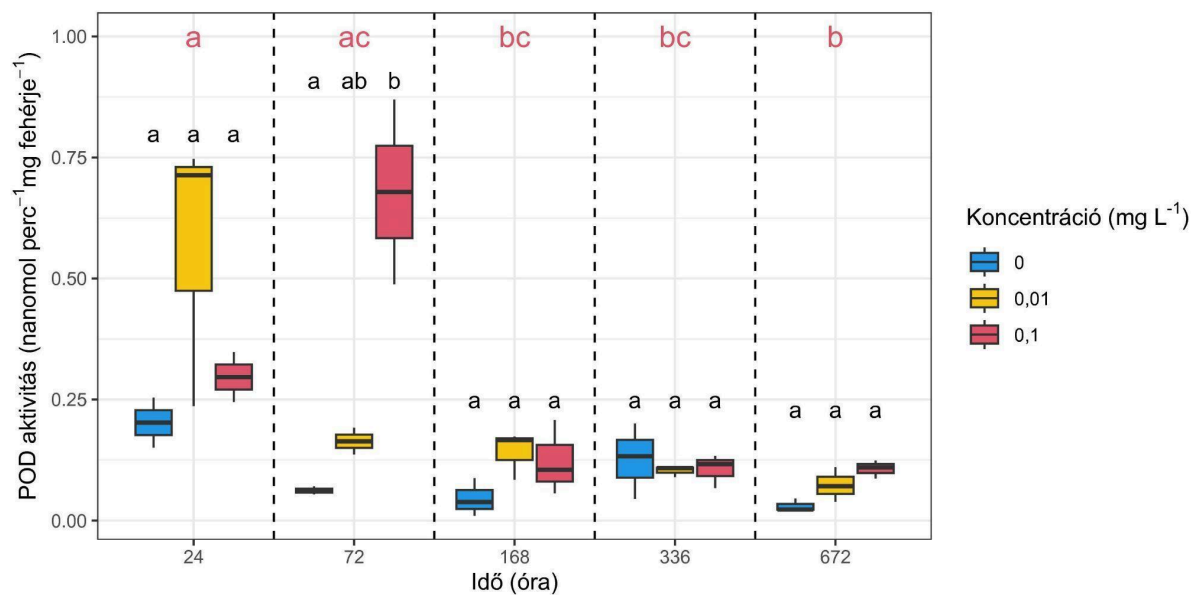
A fotoszintetikus aktivitás esetében mind az idő, mind az MH-koncentrációk függvényében szignifikáns különbséget tapasztaltunk. A fotoszintézis mértéke csökkenő tendenciát mutatott, mindegyik időpontban különbözött. A 6 órás kezelési idő elteltével volt a legmarkánsabb eltérés a koncentrációk között. A 0,01 mg L⁻¹ MH-koncentrációnál a fotoszintetikus aktivitás 37%-kal növekedett meg a kontrollhoz képest, míg a 0,1 mg L⁻¹ kezelésnél a növekedés mértéke 102% volt. 12 óra elteltével a magasabb MH-kezelés (0,1 mg L⁻¹) hatására a fotoszintetikus aktivitás még mindig 44%-os növekedést mutatott a kontrollhoz képest, mely különbség tovább csökkent egészen a 168 órás expozíciós időig, amelytől kezdődően a kontrollhoz képest mind a két koncentrációval kezelt tenyészet fotoszintetikus aktivitása szignifikánsan lecsökkent (50,6 és 53,8%)(19. ábra).



19. ábra | A *Gomphonema parvulum* fotoszintetikus aktivitása ($\text{mgC mg a klorofil}^{-1} \text{ óra}^{-1}$) a kezelési idők és a különböző koncentrációjú maleinsav-hidrazid-kezelés függvényében. A kisbetűk a szignifikáns különbségeket jelzik a kezelési idők között (piros betűk) és a kezelési koncentrációk között (fekete betűk) $P < 0,05$.

3.3.4. Enzimaktivitás

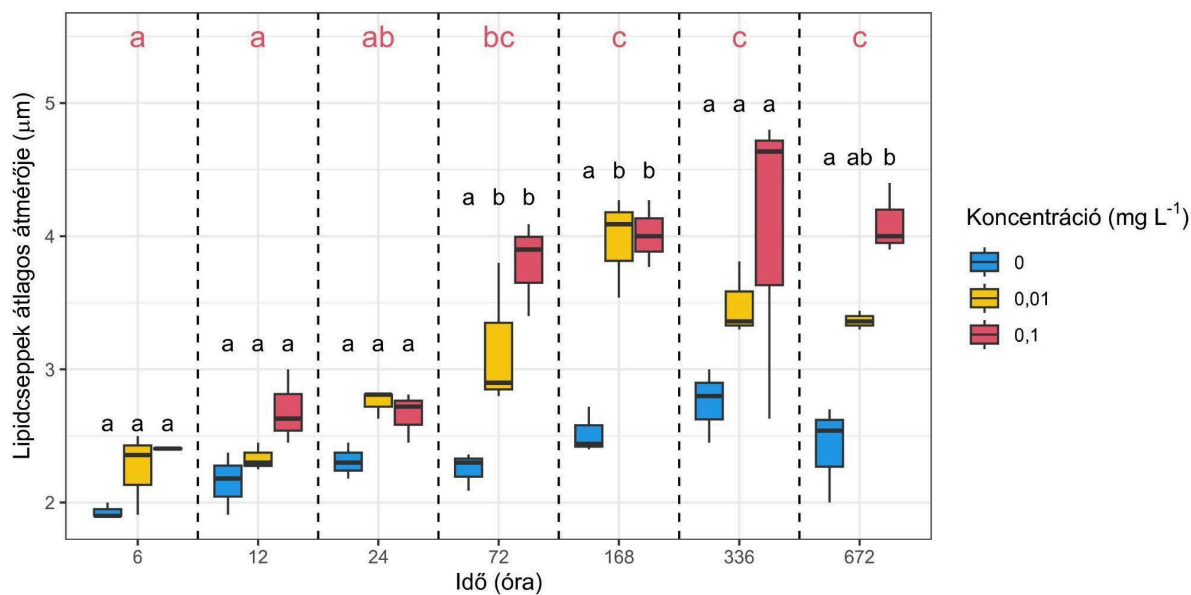
A *Gomphonema parvulum* tenyészeiben mért peroxidáz enzim aktivitás (POD) az idő függvényében szignifikáns különbségeket mutatott; értéke a kísérlet kezdetén (24 és 72 óra) magasabb volt. A MH-koncentrációk tekintetében 72 órás kezelés után jelentkezett szignifikáns különbség, ahol a peroxidáz enzim aktivitása növekedést mutatott a 0,1 mg L^{-1} MH-kezelés hatására. Ezt követően, a kísérlet további részében a kezelések hatására nem volt jelentős különbség a POD aktivitásban (20. ábra).



20. ábra | Peroxidáz (POD) enzimaktivitás (nanomol perc⁻¹ mg fehérje⁻¹) a kezelési idő (24 órától) függvényében a kontrollban, 0,01 és 0,1 mg L⁻¹ maleinsav-hidrazid-koncentrációban. A kisbetűk a szignifikáns különbségeket jelzik a kezelési idők között (piros betűk) és a kezelési koncentrációk között (fekete betűk) $P < 0,05$.

3.3.5. Lipidtartalom

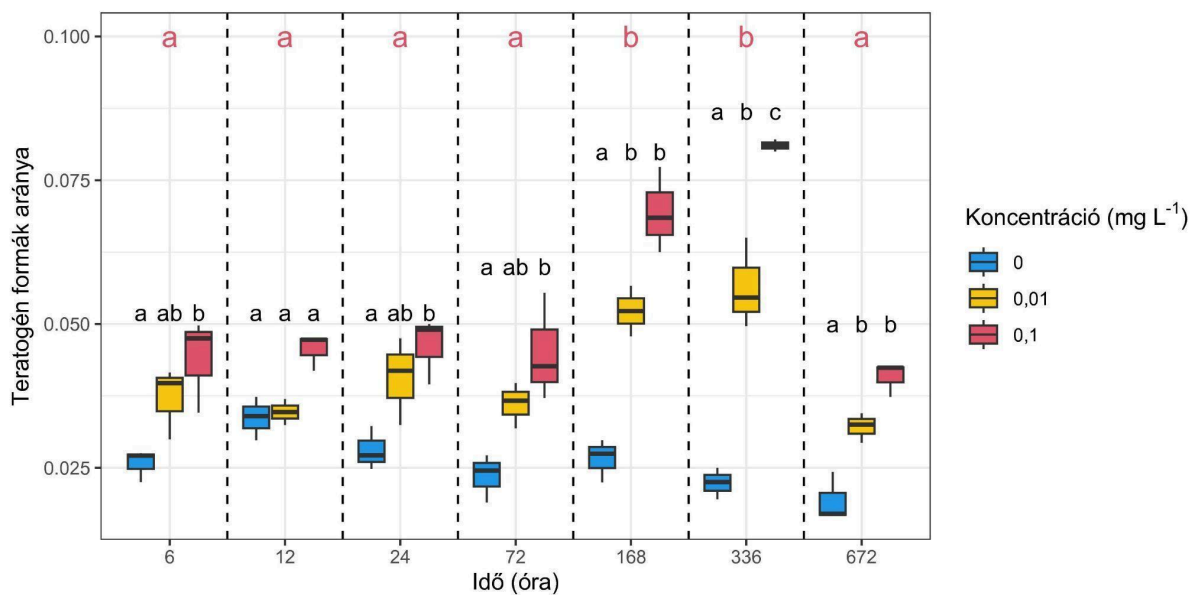
A lipidcseppek a kísérletsorozat folyamán a kontrollban egyenletesnek voltak mondhatók, idővel nem mutattak változást. A lipidcseppek átlagos átmérője 24 órától kezdett növekedni szignifikánsan, majd 168 óránál érte el maximumát. Az MH-kezelések tekintetében 72 órától kaptunk szignifikáns eltérést a kezelési koncentrációk között. 0,1 mg L⁻¹ MH-kezelésnél a lipidcseppek átlagos átmérője 40,7%-kal, míg a 0,1 mg L⁻¹ MH hatására pedig 68,7%-kal növekedett meg a kontrollhoz képest. Hasonló szignifikáns eltérések mutatkoztak a kezelések között 168 és 672 óra elteltével is (21. ábra).



21. ábra | A *Gomphonema parvulum* lipidcseppjeinek átlagos átmérőjének (μm) változása a kezelési idők és a különböző koncentrációjú maleinsav-hidrazid-kezelés függvényében. A kisbetűk a szignifikáns különbségeket jelzik a kezelési idők között (piros betűk) és a kezelési koncentrációk között (fekete betűk) $P < 0,05$.

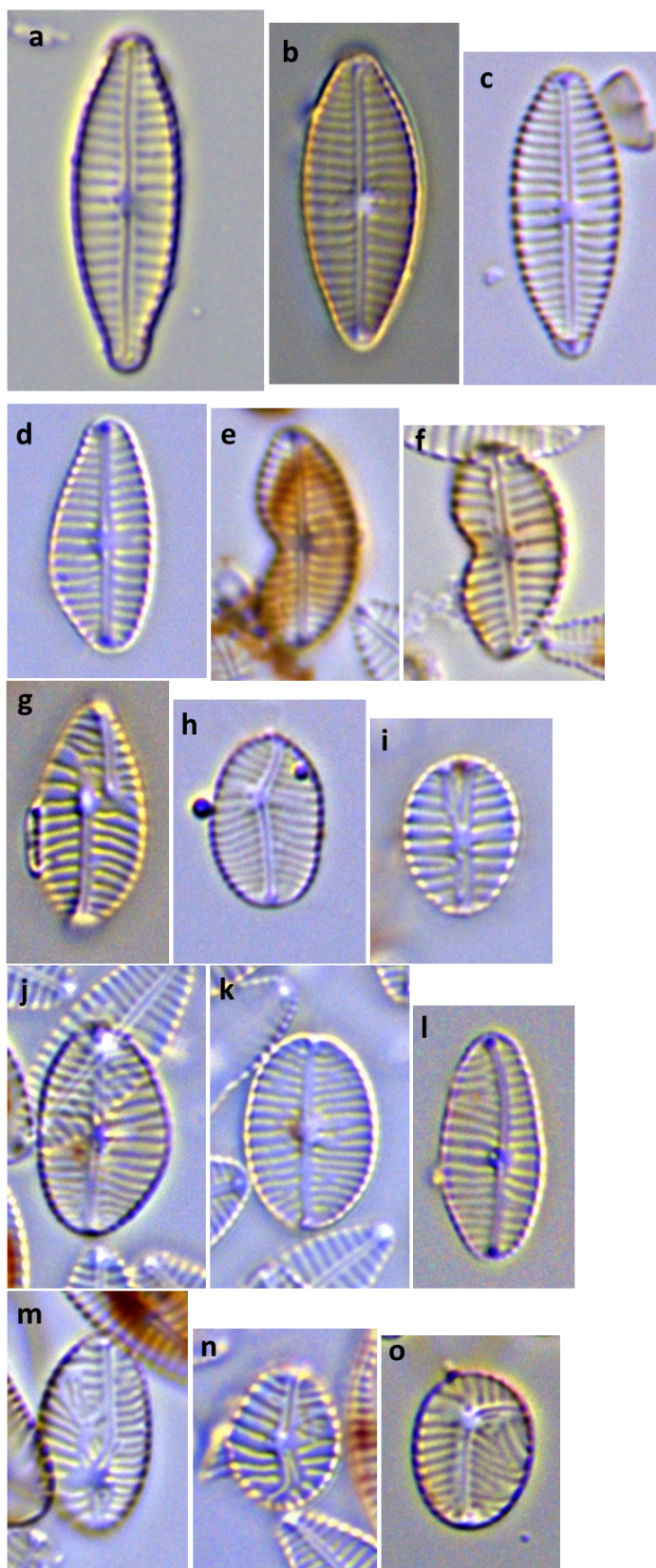
3.3.6. Teratogén formák

A teratogén formájú valvák a 168. órától jelentek meg szignifikáns mennyiségben az MH-val kezelt tenyészetekben. Azonban arányuk a kontrollhoz képest az MH-kezelések hatására szignifikánsan megnövekedett a 12 óránál hosszabb expozíció esetén. A kezelési idő előrehaladtával ezek a különbségek is egyre markánsabbak lettek, de a 672. órában hirtelen csökkenés volt tapasztalható a teratogén formák arányában (22. ábra).



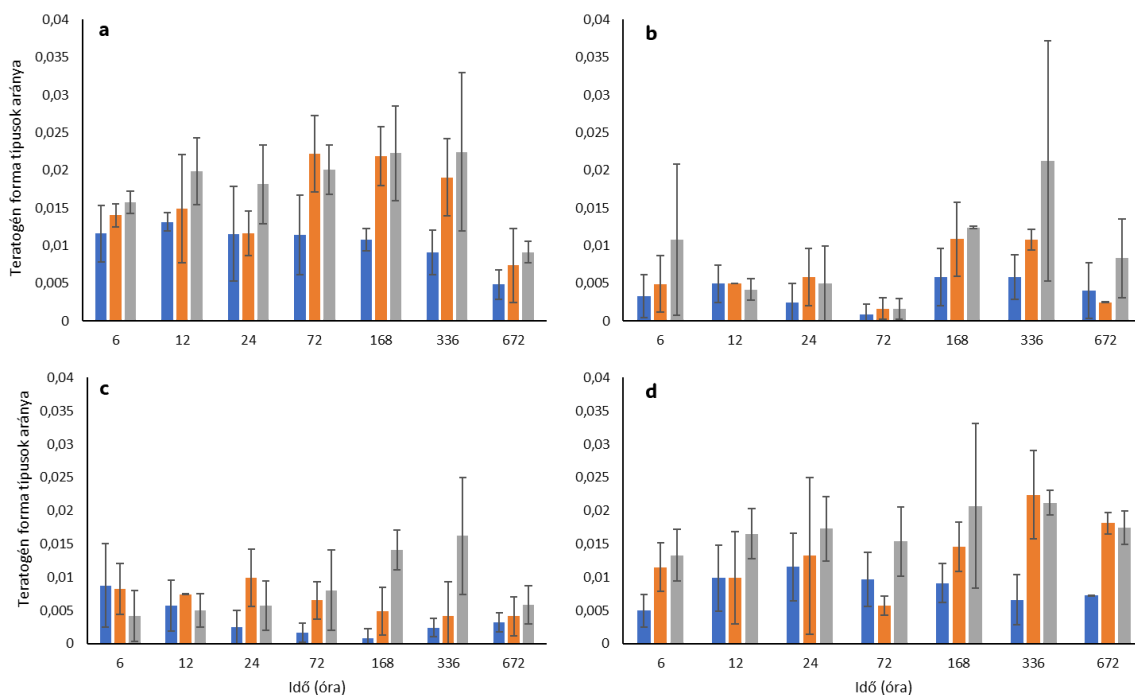
22. ábra | Teratogén formák aránya kezelési idő függvényében a maleinsav-hidrazid különböző koncentrációi mellett 0; 0,01; 0,1 (mg L⁻¹). A kisbetűk a szignifikáns különbségeket jelzik a kezelési idők között (piros színű betűk) és a kezelési koncentrációk között (fekete színű betűk) $P < 0,05$.

A teratogén formák megjelenése mellett a kialakult teratogén formák típusait is megvizsgáltuk. A 4. táblázatban definiált mind a négy típus előfordult a mintákban. A 23. ábrán látható a *Gomphonema parvulum* természetes kinézetű valvája (a - c), míg a d - o képek mutatják teratogén formák különböző típusait.



23. ábra | A *Gomphonema parvulum*nak a vizsgálat során előfordult természetes kinézetű (a-c) és különböző módon deformált valvái (d-o): d-f: abnormalis valva forma; g-i: abnormalis stria; j-l: abnormalis rafé ú; m-o: vegyes abnormalitású jellemzők

Mind a kontroll mintákban, mind a maleinsav-hidrazid kezelésekre hatására a legnagyobb arányban a valva formája károsodott (24. ábra). A valva károsodása mellett hasonlóan nagy százalékban találtunk a mintákban kevert deformitástípust is (a körvonal, rafé és a stria együttes károsodása). Ennek százalékos értéke 1,3 és 2,3 % között mozgott. A stria vagy a rafé deformitása általában kisebb arányban fordult elő a másik két típushoz viszonyítva. Az időt tekintve elmondható, hogy ennek a két típusnak az aránya inkább a kísérlet második felében növekedett meg jelentősebben.



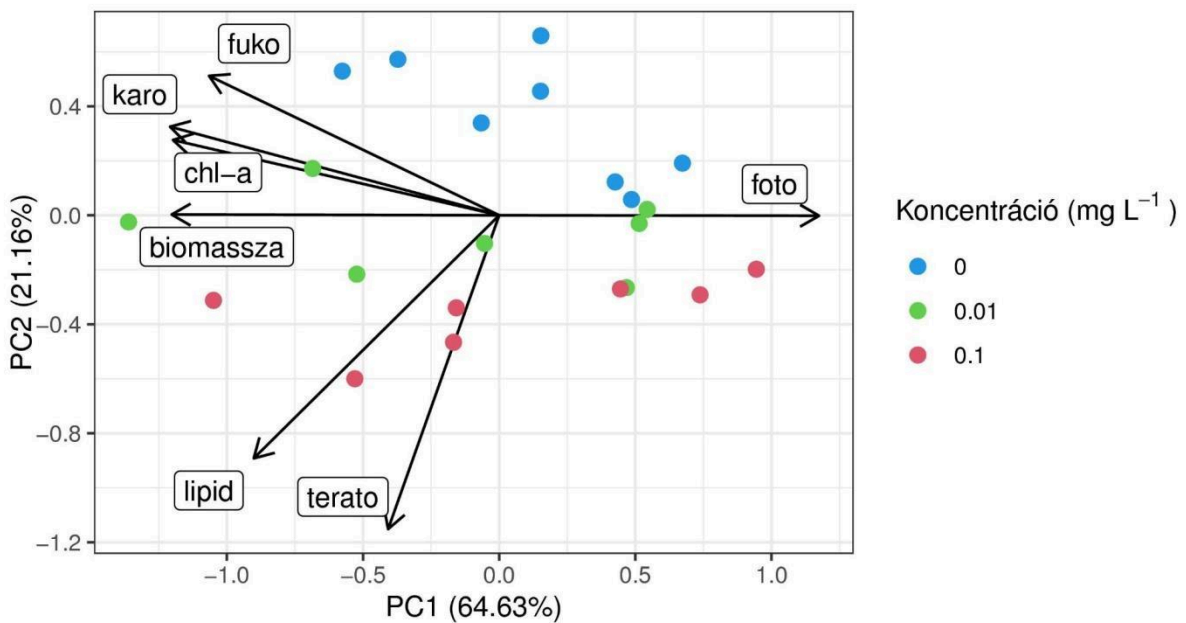
24. ábra | A különböző típusú teratogén formák relatív aránya (a: abnormalis valva forma, b: abnormalis stria, c: abnormalis rafé, d: kevert abnormalitás) a kontroll (kék), 0,01 (narancs) és 0,1 mg L⁻¹ (szürke) maleinsav-hidrazid-koncentrációjú mintákban. Hibasávok a szórást jelölik.

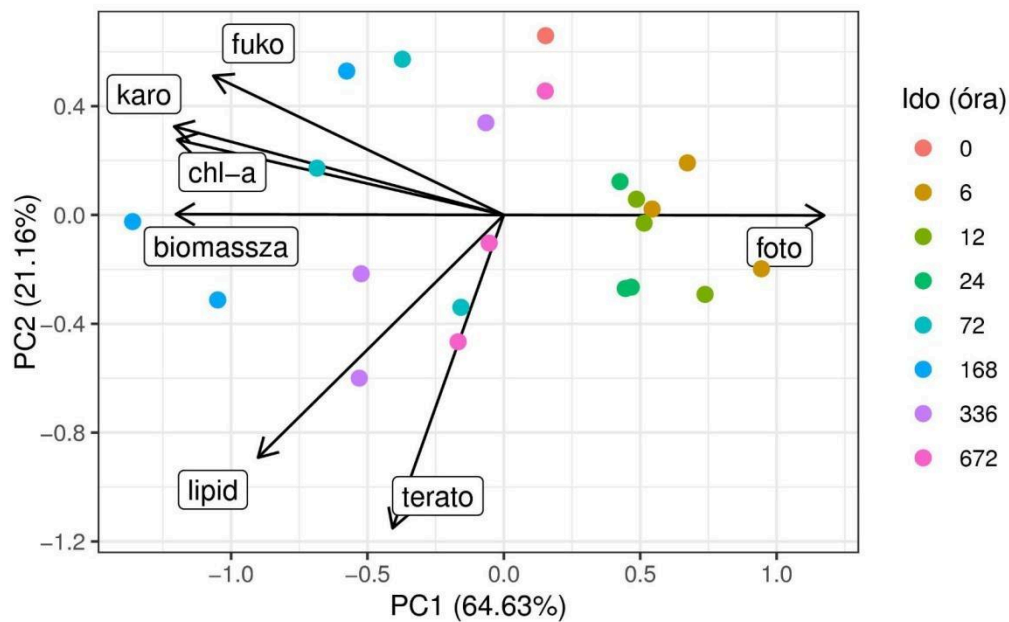
3.3.7. A *G. parvulum* válaszreakcióinak analízise a MH-koncentráció és az expozíciós idő függvényében

A főkomponens-analízist (PCA) alkalmaztuk a különböző MH-koncentrációk és az expozíciós idő, valamint a *G. parvulum* válaszreakciói (fukoxantin, *a* klorofill, fotoszintézis, karotinoid, lipid, biomassa, teratogén forma) közötti lehetséges összefüggések együttes vizsgálatára. (25. ábra). A PCA első két főkomponense az adatok variabilitásának jelentős részét magyarázta, összesen 85,8%-ot. A PCA egyértelmű elkülönülést mutatott ki a kontroll- és a kezelt csoportok között, valamint a kezelés idő tekintetében is. A PCA első tengelye

mentén az expozíciós idő alapján különültek el a minták. A vizsgált változók közül a fotoszintetikus aktivitás, a biomassza, a fukoxantin, a karotinoidok és az *a* klorofill mutatott erős hozzájárulást a minták szétválásához ezen tengely mentén. A magasabb fotoszintetikus aktivitás a korai időpontokban (6., 12. és 24. óra) vett mintákra volt jellemző, míg a többi paraméter pozitív összefüggést mutatott az idővel – azaz a mennyiségük megnövekedett az eltelt idővel. A második tengely mentén a minták egyértelműen az alkalmazott MH-koncentráció alapján különültek el, amelyhez a lipidcseppek méretének és a teratogén formák arányának változása járult hozzá a legjelentősebben. A lipidcseppek átlagos mérete és a teratogén formák gyakorisága a 0,01 és 0,1 mg L⁻¹ MH-koncentrációval nőtt. Eredményeink szerint az teratogén formák aránya összefügghet a lipidcseppek méretével MH hatására, ami hozzájárulhat a szervezet fokozott MH-toleranciájához.

a



b

25. ábra | A *Gomphonema parvulum* fiziológiai válaszváltozóin végzett főkomponens-analízis (PCA) eredménye. A pontok a mintákat, a nyilak a változók irányát és hozzájárulását jelzik. A pontok az expozíció során használt MH-koncentráció (a) és az expozíció időtartalma (b) alapján színezettek.

3.4. Diszkusszió

Kutatásunkban a maleinsav-hidrazid (MH), napjainkban is használatban lévő gyomirtószer-hatóanyag hatását vizsgáltuk meg négy héten keresztül a *Gomphonema parvulum* kovaalgafaj alkalmazásával (Bacillariophyceae). A vizsgálatban 0,1 és 0,01 mg L⁻¹ MH növényvédőszer-hatóanyag sejtszám-növekedésre, fotoszintetikus aktivitásra, különböző pigmenttartalmakra (a klorofill, karotinoid, fikoxantin), a peroxidáz-enzimaktivitásra és a teratogén formák megjelenésére gyakorolt hatásait teszteltük.

A maleinsav-hidrazid 1948-as felfedezése óta számos vizsgálat született a hatásának kutatására számos, sokszor nem a célszervezetekre vonatkozóan. Kezdetben csak növekedésgátló szerként emlegették, nem rendelve hozzá hatásmechanizmust – nem is próbálták meg megmagyarázni a bekövetkezett változások okát. A növekedés átmeneti gátlásának mértékét vizsgálták paradicsomon (Schoene & Hoffmann, 1949), ahol a gátlás arányosnak bizonyult az alkalmazott 2000 ppm (2000 mg L⁻¹) koncentrációval. Az átmeneti gátlásból arra következtettek, hogy a növekedés korlátozása alig látható károsodás mellett ment végbe. Azonban más vizsgálatokban 2400 mg L⁻¹ koncentráció mellett már maradandó

károsodásokat (a gyökérvég elhalása, oldalrügyek fejlődésének gátlása, barnulás, időszakos sterilitás) tapasztaltak, pl. pázsitfűfaj (*Muhlenbergia schreberi*), réti perje (*Poa pratensis*), virginiai napvirág (*Commelina virginica*), veteménybab (*Phaseolus vulgaris*), és hibrid édes kukoricánál (*Zea mays var. indentata*) (Moore, 1950). Egy másik vizsgálatban szintén rendszertanilag távoli növények esetében apikális dominancia elvesztésével járó eredményeket kaptak már 500 mg L⁻¹ MH-koncentrációval való kezelés következtében (Webber, 1955). Nemcsak növekedésgátlást mutattak ki a kezelt növényeken, hanem a kezelt levelek nagyobb kiterjedését vagy a sötétebb szín megjelenését (Webber, 1955).

Mivel a MH hatása kifejezetten a növekvő szövetekre, azaz a mitotikus sejtekre irányul, ezért a figyelem elsősorban mitózisra gyakorolt hatására összpontosult. 56 mg L⁻¹ MH-koncentrációnál a lóbab (*Vicia faba*) gyökerei nem mutattak mitózist, míg alacsonyabb koncentráció (11,2 mg L⁻¹) kromoszómatorést indukált (Darlington & McLeish, 1951). Magas szomatikus kromoszóma-aberrációt figyeltek meg dohányban és lóbab gyökereiben, de egyik növényben sem volt jelentős a DNS-károsodás mértéke (Gichner et al., 2000). Borsócsíra gyökereiben (Lobov, 1971; Swietlińska & Zuk, 1978). Kukoricában is DNS- és fehérjeszintézis-gátlást tapasztaltak (Nooden, 1972). Azt feltételezték, hogy növényi sejtekben az MH helyettesíti a DNS-prekursorokban (nukleozid, nukleotid) a pirimidin- vagy purinbázist, s a MH-t tartalmazó nukleotid blokkolhatja a DNS-polimeráz aktivitását, ezzel csökkentve a DNS-replikáció sebességét (Cradwick, 1975).

Az MH állatokban kiváltott kromoszómatorését először egerekben mutattak ki (Manna & Das, 1971). Sáskáknál kromoszóma-aberrációt találtak a hímivarsejtek fejlődésének egy köztes sejtjében (BB, 1972). Halaknál hosszú távú expozíció esetén is csak enyhe kromoszómakárosodást okozott, azonban ez dóziszfüggő mértékben változott (Kligerman & Bloom, 1975). Néhány kísérletben, mint a hörcsög-sejttenyészetben (Robinson, 1960; Kihlman et al., 1973) vagy patkánymájsejtekben (Hitachi et al., 1975) nem mutattak ki kromoszómakárosodást.

A MH gátló hatásait algáknál is igazolták néhány faj esetében. Egy páncélos ostoros (Dinoflagellata) algánál mitózisgátlást igen, de kromoszómaaberrációt nem mutattak ki 1120 mg L⁻¹ MH-koncentráció esetén sem (Dodge, 1964). Hasonlóképpen Sarma és Tripathi (1973) is gátló hatásról számoltak be az *Oedogonium acmandrium* zöldalga esetében, ahol a citológiai rendellenességek a kezelést követő 2 órával vagy annál később jelentkeztek. Jelen vizsgálat, amely a maleinsav-hidrazid hatását tanulmányozta a *Gomphonema parvulum* kovaalgafaj alkalmazásával szintén számos negatív hatást mutatott ki.

Első kutatási kérdésünk és hipotézisünk a szaporodási képesség változására irányult. Feltételeztük, hogy az alacsonyabb ($0,01 \text{ mg L}^{-1}$) koncentráció alkalmazása esetén, különösen a kísérlet kezdeti szakaszában a maleinsav-hidrazid nem gátolja a szaporodást. Azonban hosszabb idő után és magasabb ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$) koncentrációnál már kimutatható változás várható a sejtszám növekedésében. Ezt a feltételezést azonban nem sikerült igazolnunk, mert eredményeink szerint a sejtszámnövekedésben nem volt szignifikáns különbség a kontroll és a kezelt minták között sem az expozíció elején, sem a kísérlet végén. A főkomponens-analízis (PCA) azt mutatta, hogy a teratogén formák megjelenési gyakorisága növekedett, ám ezzel párhuzamosan a sejtszámban nem volt megfigyelhető változás. Eredményeink összhangban vannak Wang (2017), valamint Falasco és munkatársai (2021) konklúzióival, miszerint a valván megjelenő abnormalitás nem feltétlenül jár együtt a szaporodóképesség gyengülésével. Az, hogy a MH nem okoz számottevő növekedésgátlást, önmagában nem jelenti azt, hogy a kovaalgasejtek nem szenvedtek károsodást (Wang et al., 2020). Számos tanulmány rámutat arra, hogy a diatómák külső kovaváza megvédi őket a szennyező anyagokkal szemben (Soininen, 2007; Pajunen et al., 2020). Pelusi és munkatársai (2020) arra hívták fel a figyelmet, hogy bár a vegetatív sejtek kovaváza hatékonyan védi az algákat, a gaméták, zigóták és auxospórák e védelmi struktúra hiányában lényegesen érzékenyebbek lehetnek a környezeti stresszorokkal szemben.

Második kutatási kérdésünk a teratogén formák megjelenésének gyakoriságára irányult. Hipotézisünknek megfelelően, a teratogén valvák arányának növekedése egyértelműen jelezte a maleinsav-hidrazid-kezelés hatását. Ez a negatív hatás magasabb ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$) koncentráció esetén korábban jelentkezett, mint alacsonyabb koncentrációnál. Hasonló eredményre jutottak korábbi vizsgálatok is: Debenest és munkatársai (2008) MH által indukált abnormális frusztrumokat azonosítottak diatóma közösségekben, Gonçalves és munkatársai (2019) az abnormális alakok mintegy 5%-os növekedését jelentették magas kezelési koncentráció mellett, míg Schmidt-Jansen és Altenburger Jansen (2005) szerint a deformációk alkalmasak lehetnek indikátorként a környezet monitorozására. Véleményünk szerint figyelembe kell venni, hogy a különböző szennyezőanyagok eltérő módon idézhetnek elő morfológiai változásokat, így a deformitások hiánya nem feltétlenül jelenti a szennyezés hiányát.

A deformitásokon belül elkülönítettünk különböző típusokat is. Megállapítható, hogy minden típus nagyobb arányban jelent meg a MH-val kezelt tenyészetben, mint a kontrollban. A kísérlet során legnagyobb arányban a valva körvonala károsodott összhangban Falasco

(2009) eredményeivel. A kovaalga kultúrákban a teratogén formák előfordulása természetes módon is magasabb lehet (Lavoie et al., 2017; Falasco et al., 2021), amit a kontrollminták is alátámasztottak, ahol a valva körvonal károsodása jelent meg a legnagyobb arányban. A kísérlet során kisebb mértékben, de a striák és a rafék is mutattak károsodást. Hasonlóan az első típushoz, a kevert deformitástípus – a valva körvonala, a rafé és a stria is károsodott – is magasabb arányban jelent meg a kezelés hatására. Gonçalvesa és munkatársai (2019) Cu és Zn hatásait kutatták, ám típusbesorolás nélkül csak deformitás mértékét vizsgálták. Vizsgálatukban a Zn hatására szignifikánsan megnövekedett az extrém deformitások aránya, amelyek esetében a fajra jellemző bélyegek már alig vagy egyáltalán nem voltak felismerhetők, míg a Cu-kezelés hatására a magas fokú deformitások domináltak, ahol az eredeti szimmetria még felismerhető.

A harmadik kutatási kérdést tekintve azt kaptuk, hogy a teratogén formák megjelenése nem mutat szorosan összefüggést a pigmenttartalommal. A fotoszintetikus aktivitás a kezelési idő elején volt magasabb, azonban ekkor a teratogén formák nem jelentek meg olyan nagy mértékben. Hasonlóan más tanulmányokhoz (pl. Klátyik et al., 2024, Lengyel et al., 2025), a gyomirtószer hatására stimulált fotoszintézis volt megfigyelhető. Ez a hormézis, amely háttérben kompenzációs folyamat áll; azaz az erőforrások mozgósítása a kedvező állapot elérése érdekében (Calabrese et al., 2007). Azonban hosszú távon még az alacsony koncentrációban alkalmazott gyomirtó szer is gátló hatást okoz. A lipidtartalom pozitív összefüggést mutatott az abnormális formák megjelenésével, míg a POD enzim aktivitás csak az első 72 óráig mutatott szignifikáns eltéréseket, még a teratogén formák jelentősebb mennyiségben történő megjelenése előtt. Habár az *a* klorofill-tartalom érzékeny indikátornak számít és széles körben alkalmazzák a szennyezőanyagok fitotoxicitásának értékelésére (Bi et al., 2012), az MH-kezelést követően az abszolút *a* klorofill és a fajlagos *a* klorofill szintje is csak minimális változást mutatott a kontrollhoz képest. A MH nem fejtett ki jelentős hatást az *a* klorofill mennyiségére, ami arra utalhat, hogy a sejtek képesek fenntartani a fotoszintézisüket mérsékelt gyomirtószer-expedíció hatására (Seguin et al., 2002). Ugyanazt tapasztaltuk a karotinoid és a fukoxantin esetében is, azaz a koncentrációk (0,01; 0,1 mg L⁻¹) között nem volt szignifikáns különbség a kontrollhoz képest. A maleinsav-hidrazid diatómák karotinoid-bioszintézisére gyakorolt hatása ezidáig nem ismert, de hozzá hasonló sejtosztódásgátló gyomirtó szerek hatását már vizsgálták más algák esetében. Chlorpropham-kezelés irreverzibilisen fokozta a *Dunaliella salina* fitoin és fitofluén karotinoidjainak felhalmozódását (Mazzucchi et al., 2022).

A szennyezőanyagok jelentős hatást gyakorolhatnak a vízi szervezetek enzimaktivitására, amelyet többnyire az enzimrendszerek indukciója vagy gátlása jellemez, és ez rendellenesen megemelkedett vagy csökkent enzimaktivitást eredményezhet (Chen et al., 2016). Ennek következtében az antioxidáns enzimek aktivitása hatékony indikátorként használható a szennyezések mikroalgákra gyakorolt hatásának értékelésére. Az antioxidáns enzimek között a peroxidáz (POD) kulcsfontosságú enzim, mely meghatározó szerepet tölt be a fotoszintetikus szervezetek szabadgyök-semlegesítő és stressztűrő mechanizmusában (Bertrand et al., 2017). Vizsgálatunk is ezt támasztja alá, hiszen a kezelést követő már a 3. nap után szignifikáns növekedést tapasztaltunk a POD-aktivitásban. Hasonló eredményre jutott Wang (2020) is, aki szintén a 3. nap után figyelt meg szignifikáns POD-aktivitás-emelkedést trichlorfonos kezelés hatására.

A kovaalgák intracelluláris lipidek formájában tárolják a tartalék tápanyagot, amelyek mennyisége vagy összetétele a természetes és antropogén zavarások hatására megváltozhat (Pandey & Bergey, 2016). Jelen kutatásban a lipidcseppek átlagos átmérőjének megnövekedését tapasztaltuk a maleinsav-hidraziddal kezelt *Gomphonema parvulum*-kultúrában 3 napos expozíció után, amely összhangban van a teratogén formák megjelenésével is. Guatam (2017) is hasonló eredményre jutott: a nehézfém szennyezés, hatására a *Gomphonema pseudoaugur* nagymértékű deformitást mutatott, mely jelentős lipidcsepp-méret-növekedéssel járt együtt. Ez arra utalhat, hogy a lipidfelhalmozódás és a morfológiai rendellenességek közös válaszmechanizmus részeként jelentkezhetnek a szennyezett környezetben, ami hozzájárulhat a szervezet MH-toleranciájához.

A legtöbb kutatás, ami jelenleg a szakirodalomban fellelhető főleg nehézfémek teratogén formák kialakulására gyakorolt hatását taglalja. Ennek oka, hogy a nehézfém-szennyezés komolyabb kihívást jelent az ökoszisztéma számára, mivel felhalmozódás és biomagnifikáció révén hosszú távú toxicitást okozhat, ezért kutatása kiemelt prioritást kap (Kanvel, 2025). Azonban a jelen kutatás is bizonyítja, hogy a növényvédőszer teratogén hatása sem elhanyagolható, részletesebb kutatásuk a jövőben indokolt.

4. Fluoreszcencia alapú műszer fejlesztése és alkalmazhatósága gyomirtó szer ökotoxikológiai vizsgálatában

4.1. Bevezetés

A vízi élőlények különösen ki vannak téve a szennyezőanyagok káros hatásainak mivel a vízben jelenlévő xenobiotikumokkal való érintkezés elkerülhetetlen. Az antropogén eredetű vegyi anyagok közül a növényvédő szerek jelentős környezeti terhet jelentenek a felszíni vizekben. Maradványaik, bomlástermékeik és metabolitjaik könnyen bejuthatnak a természetes vízrendszerbe, felszíni lefolyás, bemosódás és a permetezés által (Verro et al., 2009; Brock, 2013; Silva et al., 2015). Az algák alapvető szerepet játszanak a vízi táplálékhálózatban és a tápanyagszállítási folyamatokban (Schaffer & Sebetich, 2004; Jyothi et al., 2016). A fototróf algaközösségek jelentősen hozzájárulnak a elsődleges oxigén- és biomassza-előállításához, így a káros hatás az élőhelyükön a fotoszintézis folyamatában vagy a magasabb trofikus szinten eredményez változásokat (Pesce et al., 2011). A növényvédő szerek mellett a műtrágyák is szennyezőként hatnak a vízi környezetre, aminek következtében a víztestek tápanyagban gazdagabbá válnak (eutrofizáció), így algavirágzás jöhet létre. A káros algavirágzás komoly problémát okoz világszerte (Sellner et al., 2003; Mirnasab et al., 2021; Naselli-Flores & Padišák, 2023). Az algák nagymértékű elszaporodása zavarhatja a vízi közösségek ökológiai folyamatait, tulajdonságait és az általuk nyújtott ökoszisztéma-szolgáltatásokat. Ennek eredményeként a növényvédelmi termékek és a műtrágyák alkalmazása rossz vízminőséghez és egészségügyi problémákhoz vezethet mind az állatok, mind az emberek számára (O'Neil et al., 2012; Klátyik et al., 2017; Wang et al., 2017). Ezért a természetes víztestek minősége és ökológiai állapota, valamint felhasználási lehetőségük nagymértékben függ az algabiomassza összetételétől és mennyiségétől, valamint a cianobaktérium-törzsek által termelt bioaktív metabolitok jelenlététől (O'Neil et al., 2012). Így az algaközösségek folyamatos minőségi és mennyiségi monitorozása nélkülözhetetlen a vízminőség-kezelésben.

Számos technika áll rendelkezésre az algabiomassza meghatározására. A leggyakrabban alkalmazott módszerek a fénymikroszkóppal történő sejtszámlálás (Bürker-kamra), az elektronikus részecskeszámláló vagy az áramlási citométer. A biomassza becslése azonban elvégezhető spektrofotométerrel is, mely során optikai denzitást vagy különféle alkoholos kezelés utáni klorofillmennyiséget mérnek (Butterwick et al., 1982; OECD, 2011; Chioccioli et al., 2014). Az algasejtek hagyományos egysejtes azonosítása

meglehetősen időigényes és nagyfokú taxonómiai szaktudást igényel. A fajösszetétel leírásának legpontosabb módszere a vizsgált fajok genomjában nagy mértékben konzervált, de a fajok között nagy variabilitást mutató rövid génszakaszok alapján az egyes fajok azonosítása helyett több taxon egyidejű azonosítását lehetővé tevő, még ma is fejlesztés alatt álló DNS-metabarkódolás, azonban ez még nem terjedt el olyan nagy mértékben a nagyfokú költség- és berendezésigénye miatt (Butterwick et al., 1982; OECD, 2011; Chioccioli et al., 2014; Kaplan-Levy et al., 2016; Catlett et al., 2023). Az áramlási citométer gyorsabb a hagyományos mikroszkópiás módszerhez képest, mivel a számolási folyamat automatizált. Ez a módszer szintén költséges, és a kapott jelet zavarhatja a szuszpendált törmelék és egyéb részecskék jelenléte (Butterwick et al., 1982; OECD, 2011; Chioccioli et al., 2014). Az algabiomassza becslése szárazanyag-tartalmából időigényesebb, mint a hagyományos mikroszkópos módszer, és pontossága is igen változó lehet, főleg kis mintaméret esetén. A sejtek szárazanyag-tartalma a fajok és populációk között nagy változatosságot mutat (Zhu & Lee, 1997; Jahnke et al., 2011). Az optikai denzitás mérése az algák mennyiségének becslésére egyszerű, gazdaságos, pontos és megbízható módszer. Azonban ez a módszer kevésbé érzékeny az alacsony algasejtsűrűség mérésére, valamint a jelet jelentősen zavarhatják a mintában jelen lévő szerves anyagok, szilárd anyagok és baktériumok (Chioccioli et al., 2014). A fotoszintézisért felelős klorofillok az algák endogén fluoreszcenciájának elsődleges forrásai. Számos *in vivo* módszert fejlesztettek ki, amelyek a klorofill-fluoreszcencia detektálásán alapulnak – spektrális (Suggett et al., 2010; Fernandez-Jaramillo et al., 2012; Kahlert & McKie, 2014; Lenk et al., 2016), időfelbontásos (Chorvatova et al., 2020) rendszerekben – az algabiomassza és a közösségi összetétel költséghatékony és gyors *in situ* meghatározására. A technikát gyakran használják gyomirtó szerek hatásának monitorozására fotoszintetikus folyamatokon (Mueller et al., 1992; Hunsche et al., 2011; Dayan & Zaccaro, 2012) vagy növényvédő szerek kimutatására (Levine, 2021). Ez a technika alkalmas a fotoszintetikus aktivitás és az algabiomassza gyors és nem invazív mérésére laborban és terepi körülmények között egyaránt. Képes gyorsan jelezni a fototoxikus hatások előfordulását, azonban ezek hatékonysága az algaközösség diverzitása tekintetében vitatható (Kahlert & McKie, 2014). Az adatok értelmezését tovább nehezíti az, hogy a fotoszintézis folyamata összefüggésbe hozható az algatenyészetek növekedésével és fiziológiai állapotával, valamint a tenyésztés körülményeivel (Malapascua et al., 2014).

A növényvédőszer-termékek hatékonyságuk és hatásmódjuk miatt kifejezetten veszélyesek a fotoautotróf algákra nézve, hatásukat gyakran a fotoszintetikus aktivitás

közvetlen vagy közvetett megzavarása alapján mutatják ki (Pallett, 2000; DeLorenzo et al., 2001; Trebst et al., 2004). Az isoxaflutole ((5-ciklopropil-1,2-oxazol-4-il)-[2-metilszulfonil-4-(trifluor-metil)fenil]-metanon) kereskedelmi forgalomba kapható, preemergens¹, szisztémás² talajon kijuttatott gyomirtó készítmény hatóanyaga (MacBean, 2012; Székács, 2021), amelyet széles körben alkalmaznak széleslevelű fűfélék irtására, különösen kukoricában, cukornádban. Hatékony olyan gyomok ellen, amelyek rezisztensek más típusú gyomirtószer-hatóanyagokkal, például az atrazine-nal vagy a glyphosate-tal szemben (Kaur et al., 2004). Az isoxaflutole a leveleken és a gyökereken szívódik fel, majd a növényen belül transzlokálódik. A felvétel során gyorsan hidrolizálódik biológiailag aktív diketonitrilszármazékká, amely blokkolja a karotinoidok bioszintézisét a 4-hidroxifenilpiruvát-dioxigenáz (HPPD) aktivitásának kompetitív gátlásával a növényekben (beleértve az algákat is).

Az isoxaflutole a metabolitjaival (diketonitril, diklór-acetonitril és benzoésav) együtt már felszíni és ivóvizekben is kimutatható növekvő felhasználása eredményeként (Meyer et al., 2007; Rogers et al., 2023). Vízben tartósan megmaradó, perzisztens szennyezőanyagnak számít (Ramanarayanan et al., 2005), amely potenciálisan a sekély talajvíz szennyezésére is képes. Felezési ideje (DT₅₀) a vízben hőmérséklettől és pH-tól függően 3,2 óra és 11 nap között lehet (MacBean, 2012), ami a talajban lényegesen rövidebb (0,5-14 nap) (Milan et al., 2013). Vízzeloldhatósága 6,2 mg L⁻¹ (20°C-on) (MacBean, 2012). Az isoxaflutole kedvezőtlen biológiai hatását a hidrolitikus bomlás során létrejövő cito- és genotoxikus diklór-acetonitril metabolitoknak köszönheti (Rogers et al., 2023).

Bár az isoxaflutole gyomirtó hatását 1991-ben azonosították, még mindig viszonylag új hatóanyagnak számít a gyomirtószerpiacon. Még mindig keveset tudunk a nem célszervezetekre gyakorolt lehetséges mellékhatásairól, különös tekintettel a ökotoxicitásra (King et al., 2017; Santo et al., 2020). A zöldalgákon (*Chlamydomonas reinhardtii*) végzett algatoxicitási vizsgálatokban a kloroplasztisz tilakoid membránjában található hatalmas tokoferol³-vesztéséget mutattak ki még az isoxaflutole rövid ideig tartó expozíciója esetén is, erős megvilágítás mellett (Trebst et al., 2002). Egy másik vizsgálatban azt figyelték meg, hogy a kovaalgák jobban tolerálják az isoxaflutole hatását, ami a fukoxantin jelenlétének lehet köszönhető: megvédi a plasztiszokat a fotooxidációt indukáló gyomirtó szerektől (Chamsi et

¹ Preemergens készítmény: A kijuttatása a vetés után, de még a kikelés előtt történik.

² Szisztémás készítmény: Hatásmódjuk szerint az általuk kiváltott tünetek csak később jelennek meg a kezelt növényen

³ Tokoferol: Kloroplasztisz tilakoid membránjában található antioxidáns, ami a fotooxidatív károsodás megelőzésében vesz részt (Fryer, 1992).

al., 2019). A 2016-os adatok alapján az isoxaflutole endokrin károsító képességét nem azonosították, de a reprodukciós toxicitását és rákkeltő hatását is a 2. kategóriába sorolta át az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság. Ugyanakkor alacsony toxicitást mutatott a talajban és vízben élő szervezetekre (EFSA, 2018). Potenciális toxicitása miatt az isoxaflutole-t az Egyesült Államok környezetvédelmi ügynöksége csupán szigorú korlátozásokkal, “korlátozott felhasználású növényvédő szerként” (a felhasználóknak speciális képzésben kell részt venniük) hagyhatja jóvá. Ennek ellenére előkelő helyre jutott az Egyesült Államok gyomirtószerpiacán, mivel 2017-ben 270 tonna kijuttatási mennyiséget ért el (U.S. Geological Survey, 2017).

A tanulmány célja az Aquafluosense projekt (NVKP_16-1-2016-0049) keretein belül egy indukált klorofillfluoreszcencián alapuló eszköz fejlesztése algasűrűség és -összetétel becslésére, amely moduláris szerkezetben kombinálva alkalmazható vízszennyezők detektálására szolgáló modulokkal vízminőség-vizsgálatokban (Gémes et al., 2021; Majer-Baranyi et al., 2022; Székács, 2022; Takács et al., 2022). Vizsgáltuk, hogy az elkészült prototípus és az eljárás mennyire alkalmazható a gyakran használt módszerekkel. Ennek tesztelésére az algabiomasszát sejtszámlálással, klorofill-extrakcióval, és optikai denzitással határoztuk meg, és összehasonlítottuk a gerjesztett algasejtek által kibocsátott *a* klorofill-fluoreszcencia erősségével.

Emellett meghatároztuk az isoxaflutole gyomirtószer-hatóanyag fitototoxikus hatásait a *R. subcapitata* tesztszervezeten az újonnan fejlesztett prototípus és a hagyományos módszerek segítségével. A kutatás kiterjedt az aktív hatóanyag vízi stabilitásának analitikai módszerekkel való értékelésére.

4.2. Anyag és módszer

4.2.1. Algakultúrák fenntartása

A modell algafajokat közintézményektől szereztük be. A zöldalga *Raphidocelis subcapitata* (26a. ábra), Korshikov (NIVA-CHL1), és a kékalga *Raphidiopsis raciborskii* (26b. ábra), Woloszynska (NIVA-CYA399), a Norvég Vízkutató Intézet algagyűjteményéből (NIVA) származott. A kékalga *Microcystis aeruginosa* (26c. ábra) Kützing (CCAP1450/1), a zöldalga *Desmodesmus subspicatus* Hegewald & Schmidt (26d. ábra) (CCAP276/20), valamint a *Scenedesmus bijugus var. obtusiusculus* Schmidt (26e. ábra) (CCAP 276/25) a Skót Algák és protozoák törzsgyűjteményéből (CCAP) származott. A kék- és

zöldalga-tenyészetekhez Allen (Allen, 1968) és Z8 (Andersen, 2005) tápoldatokat alkalmaztunk batch kultúrában, amelyeket kéthetente frissítettünk. Az algakultúrákat $23 \pm 1^\circ\text{C}$ hőmérsékleten tartottuk, 14 óra megvilágítás: 10 óra sötét fotoperiódusban, ‘cool-white’ típusú fluoreszcens fénycsövekkel megvilágítva ($15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

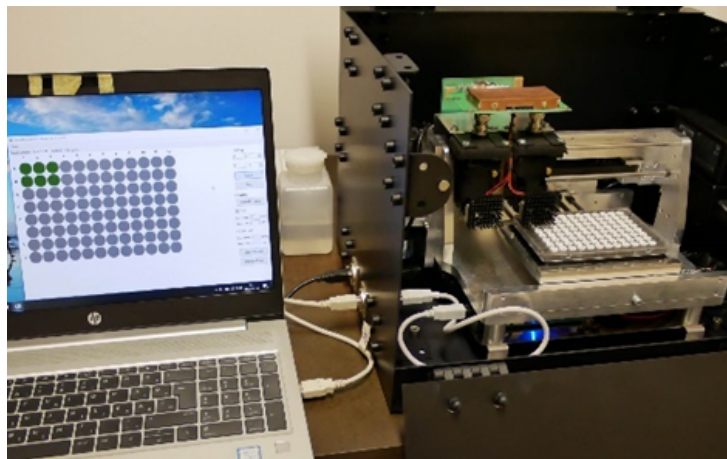


26. ábra | A fejlesztés során használt (a) *Raphidocelis subcapitata* (Krienitz et al., 2011); (b) *Raphidiopsis raciborskii* (Guiry & Guiry, 2025); (c) *Microcystis aeruginosa* (Guiry & Guiry, 2025); (d) *Desmodesmus subspicatus* (Guiry & Guiry, 2025); (e) *Scenedesmus bijugus* var. *obtusiusculus* (Culture Collection of Algae and Protozoa, 2025) képei

4.2.2. A műszer

Az Aquafluosense projekt keretein belül egy új eszközt, a Dichroic Fluorometer System-et (DFS) fejlesztettünk ki (27. ábra). Ez a fluorométer a folyékony fázisú közegben lévő alga detektálására alkalmas, amely egy erre a célra szolgáló mintatartóval (pl. kivetta) vagy szondával van ellátva. Más eszközzel összehasonlítva (pl. FluorPen, Photon Systems Instruments, Cseh Köztársaság, Drásov,) (Chekanov et al., 2016), az általunk fejlesztett eszközzel lehetőség nyílik az algák 96-cellás mikrolemezen történő detektálására, ami rendkívül gyors mérést biztosít. A műszerrel végezhető mérések ismételtetősége előre meghatározott mintavételi protokoll szerint automatikus léptetéssel és motorizált fejjel

biztosított. Az eszközt a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (Magyarország, Budapest) (detektor, LED-illesztő, vezérlő elektronika firmware kódokkal), az Optimal Optik Kft. (Magyarország, Budapest) (motor, optika és mintatartó) és más partnerekkel együttműködve fejlesztették ki a nemzeti Agrárkutatói és Innovációs Központ (NAIK) Agrár-Környezettudományi Kutatóintézetének (jogutód: Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Környezettudományi Intézet, Agrár-Környezettudományi Kutatóközpont) munkatársai. A fluoreszcencia intenzitása relatív fluoreszcenciaegységekben (RFU-ban) van megadva. A keresztzennyeződések minimalizálása érdekében a szomszédos mikrolemecellák között egy 3D-nyomtatott tartókeretet terveztünk és alkalmaztunk. A mintákat kétféjes konfigurációban gerjesztettük, minden fejben más LED-ekkel (LED1: csúcs hullámhossz: 630 nm; LED2: csúcs hullámhossz: 470 nm, Roithner Lasertechnik, Bécs, Ausztria). A kibocsátott fluoreszcenciát szilícium-fotodiódákkal mértük meg, a detektálás 716 nm és 708 nm hullámhosszokon történt. A DFS asztali rendszerként használható (28. ábra). A rendszer beágyazott mikrokontrolleren (Arduino Nano) és motorvezérlőn keresztül elérhető USB 2.0 csatlakozással, a felhasználói vezérlés és adatgyűjtő szoftver pedig Windows 10 környezetben futtatható számítógépen. A műszer részletesebb műszaki leírását Lázár és munkatársai közleményünk mutatja be (Lázár et al., 2023).



27. ábra | A Dikroikus Fluorométer Rendszer motorizált léptetőberendezéssel a fluoreszcens jelek olvasására 96 cellás mikrolemezen

A FluoroMeter Module (FMM) módosított verziójának részletes műszaki leírása Barócsi és munkatársai (2000) munkájában olvasható. A műszer képes mérni az *a* klorofillindukciós fluoreszcencia gerjesztési kinetikáját (Barócsi et al., 2009), valamint a hagyományos Kautsky-indukciós kinetikát (Kautsky & Hirsch, 1931; Huang et al., 2012; Vredenberg, 2018). Ez utóbbit használtuk a jelen doktori értekezésben bemutatott kísérletsorozathoz. A kinetikai görbéket egyidejűleg észleltük az *a* klorofill-fluoreszcencia két

maximumánál (a 690 nm hullámhosszú vörös és a 735 nm hullámhosszú távoli vörös sávoknál) folyamatos gerjesztés mellett, telítési impulzusok nélkül. Az FMM olyan berendezéssel is fel volt szerelve, amely képes szabványos méretű 96-cellás mikrolemezek tartására, és lehetővé teszi a cellák közötti kézi léptetést. Az FMM eszköz fényképe a 28. ábrán látható. Fényforrásként egy 635 nm hullámhosszú lézerciódát használtunk, amely 256-lépéses digitális optikai teljesítménybeállítással rendelkezik a teljes hullámhossztartományban (0–100%) lineáris válaszreakcióval.



28. ábra | FluoriMeter Modul (FMM) képe 96-cellás mikrolemez-tárolóval felszerelve

5. táblázat | Az FMM és a DFS műszertípusok technikai tulajdonságai.

Műszer	Gerjesztés forrása	Gerjesztési hullámhossz (nm)	Detektálási hullámhossz (nm)	Csatornák száma
FMM	Lézerciódá (10 mW)	635	690 ($\Delta\lambda = 10$) 735 ($\Delta\lambda = 10$)	2
DFS	LED	470, 630	716 ($\Delta\lambda = 10$) 708 ($\Delta\lambda = 10$)	2

A tanulmányban alkalmazott két műszerprototípus (DFS és FMM) műszaki paraméterei az 5. táblázatban láthatók. Mindkét műszer alkalmas 96-lyukú mikrolemezen történő mérésre, ami hatékony meghatározási eljárást eredményez, mivel lehetővé teszi 24 minta párhuzamos értékelését. Az egymás közötti áthallás elkerülése érdekében a mintákat egy üres lyukakkal körülvett tartóba helyeztük.

4.2.3. Mérési paraméterek optimalizációja

Reflexió

A mikrolemezek színe befolyásolhatja a detektált fluoreszcenciajelet. A megfelelő mikrolemez kiválasztása érdekében a visszaverődés jelenségét mértük az algák tenyésztéséhez használt tápoldatokban (Allen és Z8) és desztillált vízben a Dichroic Fluorometer System (DFS) 1-es csatornáján (gerjesztési hullámhossz: 630 nm, detekciós hullámhossz: 716 nm). A fluoreszcencia intenzitását relatív fluoreszcenciaegységekben (RFU) határoztuk meg. Két különböző színű mikrolemezre vonatkozóan (fekete: Microfluor 2 Black, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA; fehér: Microfluor 2 White, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) mértük meg és hasonlítottuk össze a fluoreszcenciajeleket. A fényintenzitást folyamatosan növeltük időközönként (120 mp) a mérések során.

Sötétakklimatizáció

A gerjesztés előtti sötétakklimatizáció szükségességét is megvizsgáltuk. Hét koncentrációból álló kétszeres hígítási sorozatot készítettünk az *R. subcapitata* alga monokultúrájából, melyet Z8 tápoldattal hígítottunk. Ezt követően mindegyik *R. subcapitata* hígításból $3 \times 250 \mu\text{l}$ térfogatot pipetáztunk a mikrolemez 3 cellájába, majd az eszközbe helyezést követően sötétben akklimatizáltuk. 10 perc elteltével a mintákat gerjesztettük és fluoreszcenciajelet mértünk. A fluoreszcencia intenzitását relatív fluoreszcenciaegységekben (RFU) határoztuk meg. Ugyanezt az eljárást sötétakklimatizáció nélkül is megismételtük, és az eredményeket összehasonlítottuk. Az egész kísérletet háromszor megismételtük.

4.2.4. Összehasonlítás más módszerekkel

Egy háromszoros hígítási sorozatot alkalmaztunk hat különböző koncentrációban a *M. aeruginosa* és a *R. subcapitata* esetében a különböző kvantitatív mérések összehasonlítása céljából. Minden koncentrációnál megmértük az optikai denzitást, *a* klorofilltartalmat és a sejtkoncentrációt Bürker-kamrában, valamint a fluoreszcenciajel intenzitását az FMM és a DFS műszerek prototípusaival. A fluoreszcencia intenzitását relatív fluoreszcenciaegységekben (RFU) határoztuk meg. Az optikai denzitásokat 750 nm hullámhosszon mértük egy CAM-Spec.M33 UV-látható spektrofotométerrel (Nikon Corporation., Japán, Tokyo). A *a* klorofillt Wetzel & Likens (2013) módszerével extraháltuk és mértük. A sejtszámláláshoz a *M. aeruginosa*-sejteket gondos homogenizálás után a

Bürker-kamrába helyeztük, és a sejteket Nikon Labophot 2 mikroszkóppal számoltuk 20× és 40× nagyítású objektívek alkalmazásával (Carvalho et al., 2013; Chorus & Welker, 2021; T-Krasznai et al., 2022). Továbbá, a fluoriméter műszerek kimutatási határát (*LOD*) és az alsó kvantifikálási határértékeket (*LLOQ*) a háttér háromszoros és ötszörös szórásának megfelelő minimális jelszintjeként határoztuk meg. A felső kvantifikálási határértéket (*ULOQ*) a DFS esetében a műszer felső határértékeként határoztuk meg. Az FMM műszert az ökototoxicitási vizsgálatban alkalmaztuk, ahol a kezdeti algakonzentrációt az OECD iránymutatás határozza meg, és a végső koncentrációt a vizsgálati feltételeknek megfelelően állapítjuk meg. A vizsgálatok során a legmagasabb koncentrációt a kezeletlen kontrollban detektáltuk, és ez a koncentráció nem érte el az FMM műszer felső határát. A különböző becslési módszerekkel nyert eredményeket lineáris illesztési módszerekkel és Pearson- vagy Spearman-korrelációval hasonlítottuk össze.

4.2.5. Alkalmazása édesvízben

Az *R. subcapitata* és *M. aeruginosa* algák monokultúráit három természetes víztestből vett vízzel hígítottuk annak érdekében, hogy meghatározzuk a természetes vizekben esetlegesen előforduló egyéb tényezők jelenlétét, amelyek zavarhatják az algák fluoreszcenciajelét. A három mintavételi hely két tavat és egy folyót foglalt magában: a Balatont Balatonfürednél (É 46.953349, K 17.894280), egy horgásztavat Várpalota közelében (É 47.178651, K 18.169382), valamint a Dunát Budapestenél (É 47.476750, K 19.062470). Mindhárom mintavételi helyen a vízminőség kulcsfontosságú kérdés, de a Balatonban és a Dunában a mikroalgák szintje szezonálisan alacsony, míg a horgásztóban egész évben nagy számban vannak jelen az algák. Ezzel szemben a szerves mikroszennyezők szintje ellentétes mintázatot mutat az ilyen típusú felszíni vizeknél (Székács et al., 2015). A kísérlethez szükséges mintákat 2020. decemberének közepén vettük. Az alगतápoldatokat (Z8 az *R. subcapitata* és Allen az *M. aeruginosa* számára) kontroll ('vak') mintaként használtuk a mérések során. A téli mintavétel miatt a vízmintákban várhatóan nagyon kevés alga található, kivéve az eutróf horgásztavat. Az algafajokat Zeiss Axiovert 100 típusú fordított mikroszkóppal (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Németország) 1000× nagyítással határoztuk meg, majd a biomasszát nemzetközi szabványok alapján számítottuk (Utermöhl, 1958).

4.2.6. Algacsoportok arányainak vizsgálata Dikroikus Fluorométer rendszerrel

Hígítási sort készítettünk *R. subcapitata* és az *M. aeruginosa* törzskultúráiból. A *R. subcapitata* és a *M. aeruginosa* sejtkoncentrációi a törzskultúrákban $2,99 \times 10^6$ és $3,17 \times 10^7$ sejt ml^{-1} voltak. Ezek a sejtszámok az *R. subcapitata* és az *M. aeruginosa* esetében $3,45 \times 10^2$ és $2,59 \times 10^2$ $\mu\text{g ml}^{-1}$ biomasszának feleltek meg. Mindkét alga hígítási sorozatát 0% és 100% között, 10%-os lépésekben készítettük el, tiszta alga tápoldattal hígítva. A két algakultúra különböző koncentrációit szisztematikusan kombináltuk, így összesen 121 mintát hoztunk létre. A kombinációk fluoreszcenciajeleit ezután kontúrtérképen (contour plot) jelenítettük meg, amelyet az R statisztikai szoftverrel készítettünk (R Core Team, 2013).

4.2.7. FluoroMeter Modul alkalmazása ökotoxikológiai vizsgálatokban

Az isoxaflutole gyomirtó hatóanyagának lebomlása

Az isoxaflutole (CAS 141112-29-0) gyomirtószer-hatóanyag bomlását desztillált vízben és az algák tenyészetének fenntartására alkalmazott Z8 táptalajban határoztuk meg. A hatóanyagot a Sigma-Aldrich cégtől szereztük be, aminek tisztasága 97,5% volt. Az analitikai méréseket nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával és ultraibolya detektálással (HPLC-UV) történtek (Youngin YL9100 HPLC, YL9150 autosamplerrel felszerelve) (Youngin Chromass, Anyang-si, Korea). Eluensként acetonitril és víz (70:30) keverékét használtuk, 1 ml perc^{-1} áramlási sebességgel. Az isoxaflutole-t egy PerfectSil 100 ODS-3 oszlopon választottuk el (MZ-Analysentechnik GmbH, Németország) ($150 \times 4,6$ mm i.d., 5 μm) 35°C -on, és az UV detektor jeleit 220 nm hullámhosszon rögzítettük. A hatóanyag koncentrációját a teszt kezdete után 0, 9, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 216, 264, 336, 384 és 504 órával gyűjtöttük hármas ismétlésben. Az isoxaflutole kezdeti koncentrációja $5 \mu\text{g ml}^{-1}$ volt.

Ökológiai tesztek

Ökotoxicitási teszteket végeztünk annak vizsgálatára, hogy az isoxaflutole gyomirtószer-hatóanyag milyen káros hatással lehet a zöld-, egysejtű, lebegő algafajokra. Az alganövekedés-gátlási teszteket az OECD 201 iránymutatása szerint végeztük el (OECD, 2011) *Raphidocelis subcapitata* zöldalgafajon. Ezt a fajt gyakran alkalmazzák tesztszervezetként a toxikus növényvédő szerek hatásainak vizsgálatához (pl. Ma et al., 2006; Carbajal-Hernández et al., 2022; Lanasa et al., 2022). A 72-órás vizsgálatokat monokultúrában végeztük Z8 tápoldat (Andersen, 2005) alkalmazásával. A teszteket rázó

inkubátorban (Witeg WIS-10RL, Wertheim, Németország) hajtottuk végre 23°C-on, folyamatos rázatás (100 rpm) mellett, folyamatos fényintenzitáson ($104,9 \pm 14,9 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A tesztelt vegyületeket sorozatos hígításban alkalmaztuk, és minden koncentrációra három ismétlést használtunk.

Az algasűrűséget és az a klorofill-tartalmat spektrofotométerrel (UV/VIS Camspec single beam M330, Leeds, U.K.) történő optikai denzitás méréssel határoztuk meg. Az algák fotoszintetikus rendszerének PSII kvantum hatékonyságát (F_v^*/F_p) és a fluoreszcencia intenzitásának változását (R_{fd}^*) az FMM modulral indukált fluoreszcencia meghatározással mértük. Ebben a kontextusban az F_p a fluoreszcenciaintenzitás csúcsertékét, míg az F_v^* a változó fluoreszcenciát jelenti.

4.2.8. Statisztikai értékelés

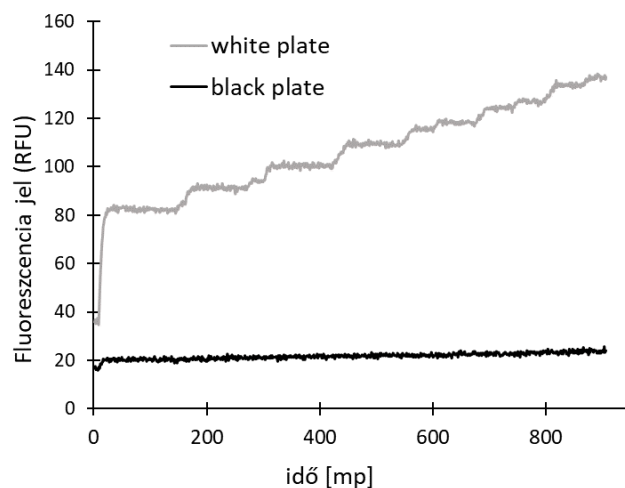
A statisztikai elemzéseket az R Statisztikai program 4.2.1. verziójával végeztük (R Core Team, 2013). Az optimalizált fluoreszcencia mérési módszerek (FMM és DFS prototípusok) és a kiválasztott egyéb módszerek (sejtszámlálás, a klorofillextrakció és OD-meghatározás) összehasonlítása során az algasejt-sűrűségek meghatározására kapott eredményeket lineáris és nemlineáris illesztési módszerekkel korreláltattuk egymással, a korrelációs együtthatókat korrelációs tesztekkel határoztuk meg. Az összefüggések értékeléséhez Pearson- és Spearman-korrelációs tesztek alkalmaztunk. A tesztek előtt az adatok normális eloszlását Shapiro–Wilk-tesztekkel ellenőriztük. Mivel a gyorsan indukált klorofill-fluoreszcencia értékei nem követik a Gauss-eloszlást (Sobiechowska-Sasim et al., 2014), ezért a korrelációs elemzések során, ha az összefüggés nem lineáris volt és az adatok nem voltak normális eloszlásúak, Spearman-rangkorrelációs tesztek alkalmaztunk. Az értékek közötti korrelációt (a korreláció erőssége és iránya) Pearson-korrelációs együtthatók (r) vagy Spearman ρ segítségével jellemeztük.

Az ökotoxicitási tesztek eredményei alapján az OD, a klorofill-tartalom és az R_{fd}^* fluoreszcencia paraméterekkel meghatározott EC_{50} értékek közötti különbségeket általános lineáris modellekkel értékeltük. A statisztikai elemzések előtt az adatok normalitását és a variancia homogenitását is ellenőriztük Shapiro–Wilk-, valamint Levene- vagy Bartlett-tesztekkel. Az illesztett modell alkalmazhatóságát minden esetben diagnosztikai ábrákkal (QQ-ábra, reziduális varianciák, Cook távolság) ellenőriztük. A csoportok közötti szignifikáns különbségek értékeléséhez Tukey's honest significant difference (HSD) tesztek végeztünk.

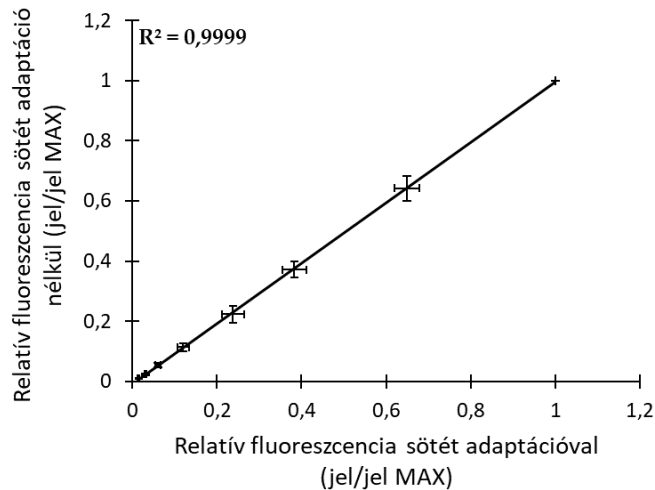
4.3. Eredmények

4.3.1. Az előkísérletek eredményei

A megfelelő mikrolemezek kiválasztásakor a fluoreszcencia-intenzitást relatív fluoreszcencia-egységekben (RFU) mértük a Dichroikus Fluorométer Rendszer (DFS) 1. csatornáján (gerjesztési hullámhossz: 630 nm, detektálási hullámhossz: 716 nm). Ahogy idővel nőtt a fényintenzitás, a jel intenzitása párhuzamosan nőtt a fehér mikrolemezek esetében. Ezzel szemben a jel állandó maradt a fekete mikrolemez esetében. Ez valószínűleg annak tudható be, hogy a fekete mikrolemez elnyeli a fényt, míg a fehér lemezek jól detektálható jelet állítanak elő. Ezen eredmények alapján a fehér mikrolemezeket választottuk a következő elemzésekhez. A mikrolemezek különböző színeinek (fekete és fehér) hatásait a fluoreszcenciajelre a 29. ábra mutatja.



A 29. ábra | A fekete (fekete vonal) és fehér (szürke vonal) mikrolemezen bekövetkező reflexió. A fokozatosan növekvő fényintenzitással besugárzott rendszerben a detektált fluoreszcenciajel folyamatosan növekszik a fehér színű tálcán, míg a fekete színűn nem növekszik a detektált jel erőssége.



30. ábra | Fluoreszcenciajelek közötti korreláció, amelyeket sötét akklimatizációval (x tengely) és nélküle (y tengely) mértünk. Az adatokat mind az x tengelyen, mind az y tengelyen átlag \pm szórás szerint adjuk meg, valamint a fluoreszcenciaintenzitást relatív fluoreszcenciaegységekben (RFU) mértük, amelyeket RFU_MAX értékéhez normalizáltunk

A 30. ábrán látható a *R. subcapitata*-minták sötétakklimatizáció nélküli és sötétakklimatizáció utáni fluoreszcenciajeleinek összefüggése. Az egyes kísérletekből származó adatok jobb összehasonlítása érdekében a normalizált fluoreszcencia-intenzitási értékek (RFU/RFUMAX) átlaga \pm szórás látható a 30. ábrán. Az maximális jel (RFU_MAX) a legnagyobb fluoreszcencia-intenzitás, amelyet a legnagyobb sejtsűrűségű algaszuszpenzió esetén mértünk. Mindkét adatkészlet ekvivalensnek bizonyult az intenzitási szintek tekintetében a hozzájuk tartozó maximális jelekhez viszonyítva. Erős korrelációt mutattak, ugyanis a meghatározási együtthatók (r^2) közelítik az 1-et. Ezek alapján arra a következtetésre jutottuk, hogy a sötétakklimatizáció nem befolyásolja számottevően a fluoreszcenciajel nagyságát. Ennek megfelelően a további kísérleteknél nem alkalmaztunk sötétakklimatizációt.

4.3.2. A Különböző módszerek közötti korreláció, LOD, LLOQ és ULOQ meghatározása

Ebben a kísérletben az algák biomasszájának meghatározásához használt különböző módszereket hasonlítottuk össze az általunk fejlesztett két műszerprototípussal, az FMM-mel és DFS-el. A két algafaj (*R. subcapitata* és *M. aeruginosa*) esetén meghatározott korrelációs együtthatókat (Pearson r együttható és Spearman ρ), valamint a meghatározott meghatározási együtthatókat (r^2) a 6. táblázat foglalja össze. Általában a meghatározott r^2 értékek 0,96

feletti voltak. Azonban a sejtszámlálás és a DFS 2. csatornájának fluoreszcenciaérzékelése közötti összehasonlítás során alacsonyabb r^2 érték (0,858) volt megfigyelhető.

6. táblázat | Módszerek közötti korrelációk r^2 értékei a két prototípus és a két vizsgált algafaj esetében

Prototípus	<i>Raphidocelis subcapitata</i>			<i>Microcystis aeruginosa</i>		
	FMM	DFS		FMM	DFS	
		1. csatorna	2. csatorna		1. csatorna	2. csatorna
OD	0,984	0,998	0,994	0,978	0,999	0,962
Sejtszám	0,984	0,998	0,996	0,978	0,987	0,858
<i>a</i> Klorofill	0,984	0,998	0,982	0,976	0,998	0,962

A mért értékek közötti korrelációk értékelése során általában lineáris összefüggést mutattak ki, és a meghatározott Pearson r együtthatók $\geq 0,988$ voltak, amelyek erős és pozitív összefüggést mutatnak az algasejtszám becslési módszerei között (lásd a 6. táblázatot) ($p \leq 0,002$). Azonban a magas sejtsűrűségek esetén fellépő reabszorpció miatt nem lineáris összefüggést mutattunk ki a DFS csatornáinak fluoreszcencia-érzékelése a mért optikai sűrűség (OD) értékei és az *a* klorofill-tartalmak között *M. aeruginosa* esetén. Ezeket az összefüggéseket Spearman ρ együtthatókkal jellemeztük.

A 7. táblázatban láthatók a prototípusok kimutatási értékeire vonatkozó fő paraméterei, a határérték meghatározási korlátai (limit of detection, LOD), az alsó (lower limit of quantification, LLOQ) és a felső kvantifikálási határok (upper limit of quantification, ULOQ) értékei. Ezek az értékek milliliterenkénti sejtszámok értelmezésben vannak kifejezve a *R. subcapitata* és *M. aeruginosa* esetében, a sejtszámlálási módszerekkel való korreláció alapján. A DFS modul alacsonyabb LOD és LLOQ értékeket mutatott, összehasonlítva az FMM-mel (7. táblázat).

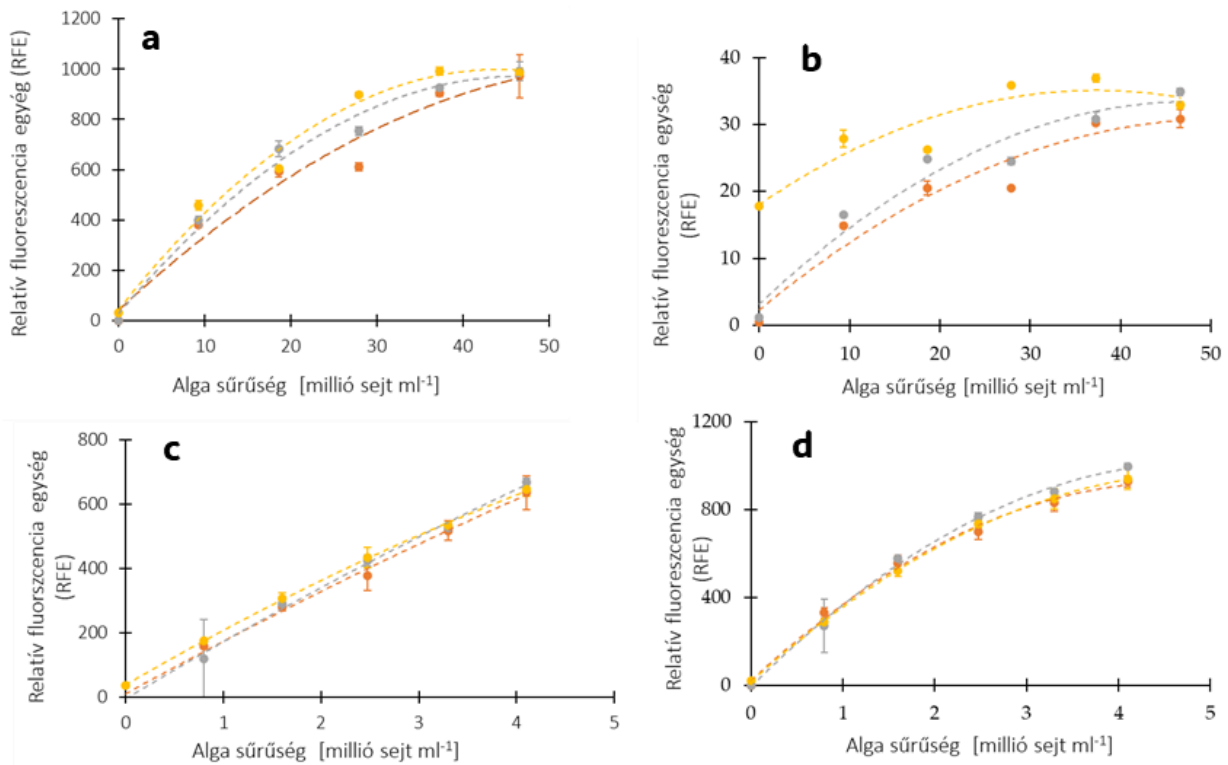
7. táblázat | Elérhető kimutatási és mérési határ a FMM és a DFS műszert használva.

	Sejtszám (sejt ml ⁻¹)					
	FMM		DFS			
	<i>R.subcapitata</i>	<i>M.aeruginosa</i>	<i>R.subcapitata</i>		<i>M.aeruginosa</i>	
			1 csatorna	2 csatorna	1 csatorna	2 csatorna
LOD	$4,01 \times 10^6$	$8,26 \times 10^7$	$7,58 \times 10^4$	$3,70 \times 10^3$	$3,80 \times 10^4$	$1,13 \times 10^5$
LLOQ	$8,12 \times 10^6$	$1,51 \times 10^8$	$9,34 \times 10^4$	$6,10 \times 10^3$	$8,72 \times 10^4$	$9,97 \times 10^5$
ULOQ	NA	NA	$7,22 \times 10^6$	$8,06 \times 10^6$	$1,27 \times 10^8$	$2,4 \times 10^9$

Megjegyzés: LOD: kimutatási határ; LLOQ: meghatározás alsó határa; ULOQ: meghatározás felső határa; NA: nincs adat

4.3.3. Zöld- és kéalgák fluoreszcenciajelei édesvizekben Dichroikus Fluorométer Rendszerrel

A téli időszakban a víztestekben mérhető alga biomasszák alacsonyak voltak. A 1. csatornán (gerjesztési hullámhossz: 630 nm, detektálási hullámhossz: 716 nm) mért fluoreszcenciajelek 29,00 RFU, 30,19 RFU és 64,35 RFU voltak a Balaton, a Duna és a horgásztó esetében. A 2. csatornán (gerjesztési hullámhossz: 470 nm, detektálási hullámhossz: 708 nm) mért fluoreszcenciajelek pedig 27,00 RFU, 27,99 RFU és 46,35 RFU voltak a Balaton, a Duna és a horgász-tó esetében. A háttér esetében a fluoreszcenciajelek 30,85 RFU és 28,85 RFU voltak a 1. és 2. csatornán. A Balatonból és a Dunából származó minták detektált fluoreszcencia-jelei hasonlóak voltak a tápoldat háttérjéhez, ezért arra lehet következtetni, hogy a Dunában és a Balatonban nem mérhető a klorofill-tartalom. Azonban a horgásztóban a háttérzaj értékének a kétszeresét mértük. A magasabb jel az 1. csatornában, mint a 2. csatornában azt jelzi, hogy a vízben a kéalgák aránya magasabb a zöldalgákhoz képest. *M. aeruginosa* esetében magasabb jeleket észleltünk az 1. csatornában (31. a ábra), mint a 2. csatornában (31. b ábra), míg az *R. subcapitata* mindkét csatornán detektálható volt (31. c, d ábra). Továbbá megállapítottuk, hogy a laboratóriumi algaminták hígítása tó- és folyóvízzel nem okozott interferenciát a fluoreszcencia-jelben.



31. ábra | Az algakoncentrációk fluoreszcencia-mérési eredményei, amelyeket a Balatonból (téglavörös), a Dunából (szürke), valamint egy horgásztóból (sárga) vett vízzel hígítottunk. A méréseket a *Microcystis aeruginosa* esetén az 1. csatornán (gerjesztési hullámhossz: 630 nm, detektálási hullámhossz: 708 nm) (a) és a 2. csatornán (gerjesztési hullámhossz: 470 nm, detektálási hullámhossz: 716 nm) (b), valamint *Raphidocelis subcapitata* esetén az 1. csatornán (c) és a 2. csatornán (d) a Dikroikus FluoroMéter Rendszerrel végeztük. Az adatokat átlag \pm szórás formájában adjuk meg minden felszíni vízre vonatkozóan. A fluoreszcencia-intenzitást relatív fluoreszcencia-egységekben (RFU) határoztuk meg.

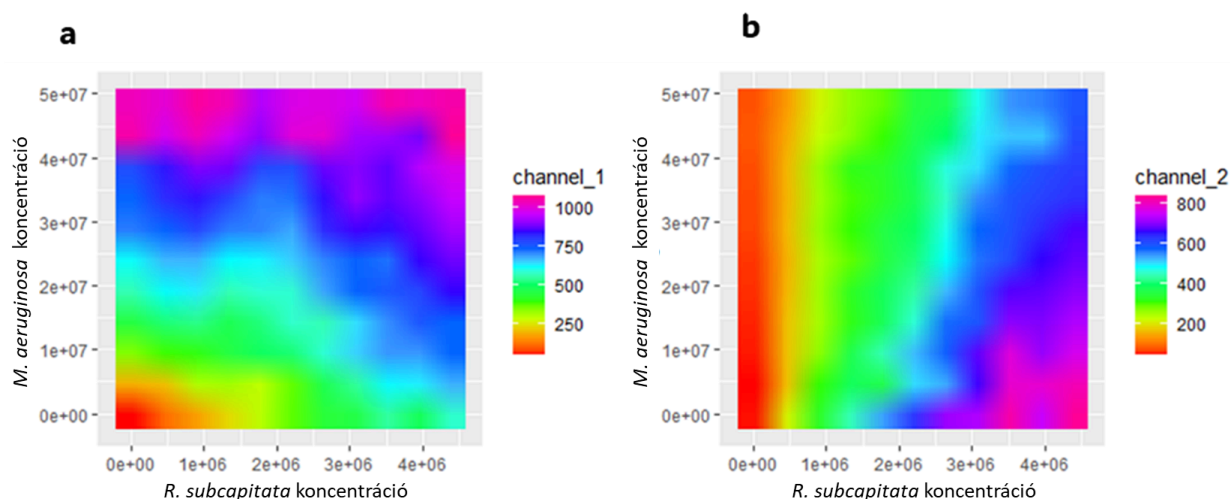
A horgásztó algafajainak mikroszkópos azonosítása (8. táblázat) alapján a kéalgák valóban nagyobb arányban voltak jelen. A Chlorophyta sejtek koncentrációja $5,24 \times 10^2$ sejt ml^{-1} volt, míg a Cyanobacteria mennyisége $1,37 \times 10^5$ sejt ml^{-1} volt. A sejtkoncentrációból történő átváltás alapján a biomaszáértékek a Chlorophyta és Cyanobacteria esetében $808,6 \text{ mg/m}^3$ és $8215,7 \text{ mg m}^{-3}$ voltak. A mikroszkópos elemzés alapján a teljes sejtkoncentráció a halastóban $1,53 \times 10^5$ sejt ml^{-1} volt, ami meghaladta az eszköz előre meghatározott *LOD* és *LLOQ* szintjeit, megerősítve a detektált emelkedett fluoreszcencia-jelet.

8. táblázat | Algafajok határozása fénymikroszkóp alatt a horgásztó vizében.

Taxon	Törzs	Koncentráció (10 ⁶ sejt m ⁻³)	Biomassza (mg m ⁻³)	Relatív biomassza (%)
<i>Chrysochromulina parva</i>	Haptophyta	916,30	989,60	8,31
<i>Keratococcus</i> sp.	Chlorophyta	257,12	168,29	1,41
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Chlorophyta	4,67	13,22	0,11
<i>Scenedesmus</i> sp.	Chlorophyta	23,37	13,22	0,11
<i>Monoraphidium</i> sp.	Chlorophyta	28,05	27,49	0,23
<i>Pediastrum duplex</i>	Chlorophyta	79,47	149,81	1,26
<i>Cryptomonas</i> sp.	Cryptista	0,93	53,97	0,45
<i>Rhodomonas</i> sp.	Cryptista	130,90	1605,11	13,48
<i>Geitlerinema</i> sp.	Cyanobacteria	37,40	25,07	0,21
<i>Glaucospira</i> sp.	Cyanobacteria	4,67	2,57	0,02
<i>Gloeocapsa</i> sp.	Cyanobacteria	902,27	896,88	7,53
<i>Limnothrix redekei</i>	Cyanobacteria	23,37	3,30	0,03
<i>Merismopedia</i> sp.	Cyanobacteria	1477,30	3828,88	32,15
<i>Merismopedia elegans</i>	Cyanobacteria	205,70	8,62	0,07
<i>Merismopedia glauca</i>	Cyanobacteria	247,77	162,17	1,36
<i>Planktolyngbya</i> <i>circumereta</i>	Cyanobacteria	9452,83	1336,36	11,22
<i>Planktolyngbya</i> <i>limnetica</i>	Cyanobacteria	579,70	227,65	1,91
<i>Planktothrix rubescens</i>	Cyanobacteria	776,05	1219,01	10,23
<i>Pseudanabaena</i> sp.	Cyanobacteria	37,40	505,23	4,24

4.3.4 Az algacsoportok arányainak vizsgálata a DFS rendszerrel

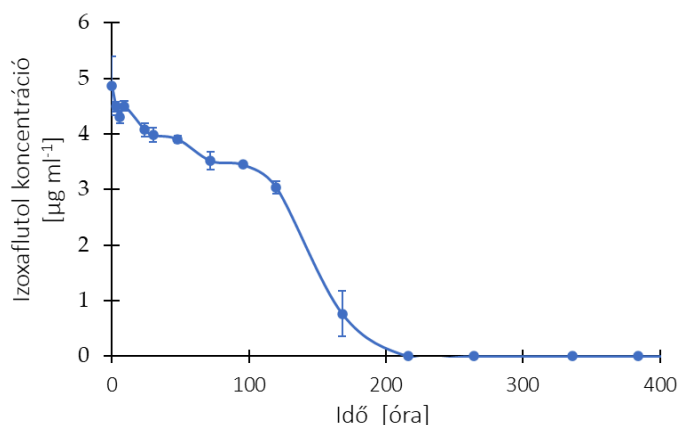
Az algakeverékek DFS által mért fluoreszcencia-jelei láthatóak a 32. ábrán, ahol az 1. csatorna 630 nm gerjesztési hullámhosszon és 708 nm detektálási hullámhosszon, míg a 2. csatorna 470 nm gerjesztési hullámhosszon és 716 nm detektálási hullámhosszon dolgozik. A 32. a ábra azt mutatja, hogy a jelintenzitás az 1. csatornán növekedett a kék- és zöldalgasejtek számának növekedésével. Azonban erőteljesebb növekedés mutatkozott a kékalgák növekedésével. A jel intenzitása a *M. aeruginosa* növekedésével közelített az 1200 RFU-hoz, míg *R. subcapitata* esetében csak körülbelül 600 RFU-t ért el. A 32. b ábrán látható, hogy a fluoreszcenciajel nem növekedett a *M. aeruginosa* sejtszámának növekedésével egyidejűleg abban az esetben, amikor a *R. subcapitata* alacsony koncentrációban volt jelen. A jel erősen növekedett a *R. subcapitata* sejtkoncentrációjának növekedésével, elérve körülbelül 1500 RFU-t. Azonban a *M. aeruginosa* magas koncentrációi mellett a jel gyengébben növekedett a zöldalgasejt koncentrációjának növekedésével. Magas *R. subcapitata* sejtkoncentráció esetén a fluoreszcenciajel csökkent a párhuzamosan növekvő *M. aeruginosa* mellett.



32. ábra | Fluoreszcenciajelek (RFU - relatív fluoreszcenciaegységek, színekkel jelölve) a *Microcystis aeruginosa* és *Raphidocelis subcapitata* sejtkoncentrációjának különböző keveréke függvényében, az 1. csatornán (channel_1) (gerjesztési hullámhossz: 630 nm, detektálási hullámhossz: 708 nm) (a) és a 2. csatornán (channel_2) (gerjesztési hullámhossz: 470 nm, detektálási hullámhossz: 716 nm) (b) mérve.

4.3.5. Potenciálisan vízszennyező gyomirtószer-hatóanyag lebomlásának vizsgálata és algatoxicitásának értékelése FluoroMeter Modullal (FFM)

Az algatoxicitási tesztek pontosságának biztosítása érdekében az anyag stabilitását a teszt során a desztillált vízben és Z8 tápoldatban mért különbségek meghatározásával ellenőriztük. Az eredmények szerint nem mutatkozott számottevő lebomlás az isoxaflutole esetében desztillált vízben 2 hét alatt, míg Z8 közegben a teljes lebomlást a kísérlet 216. órájában mértünk (33. ábra).



33. ábra | Isoxaflutole bomlása Z8 médiumban

A lebomlási vizsgálat szerint az isoxaflutole kezdeti mennyiségének 83–87%-a volt jelen az oldatban a kísérlet első 72 órájában, ami az ökototoxicitási vizsgálatok teljes időtartalma. Ezekben a vizsgálatokban az isoxaflutole *R. subcapitata* növekedésére gyakorolt hatásait vizsgáltuk optikai sűrűség és az *a* klorofill-tartalom mérésével. Nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget ($p = 0,797$) az optikai sűrűséggel ($EC_{50} = 0,034 \pm 0,0004 \mu\text{g ml}^{-1}$) és az *a* klorofill-tartalommal ($EC_{50} = 0,033 \pm 0,0003 \mu\text{g ml}^{-1}$) mért EC_{50} értékek között.

A két fluoreszcencia-paramétert (F_v/F_p és a Rfd) is meghatároztuk az ökotoxikológiai kísérletek során. Az isoxaflutole aktív hatóanyagának nem volt toxikus hatása a F_v/F_p paraméterre, ahol az értékek 0,856 és 0,976 között változtak. Ezek az eredmények nem mutattak dóziszfüggő kapcsolatot az isoxaflutole különböző koncentrációival. Ezzel ellentétben, az Rfd esetében erős dóziszfüggést tapasztaltunk. Az aktív hatóanyag tekintetében $0,015 \pm 0,0001 \mu\text{g m}^{-1}$ EC_{50} értéket számoltunk ki. Az Rfd mérések alapján meghatározott EC_{50} érték jelentősen alacsonyabb volt az OD ($p < 0,001$) és az *a* klorofill-tartalom ($p < 0,001$) EC_{50} értékeihez képest.

9. táblázat | Isoxaflutole ökotoxikológiai paramétereit (EC_{50} értékek optikai sűrűség, *a* klorofill-koncentráció és Rfd alapján)

	EC_{50} (mg L^{-1})	szórás (mg L^{-1})
Optikai sűrűség	0,034	0,0004
<i>a</i> klorofill koncentráció	0,033	0,0003
<i>Vitality index</i> (Rfd)	0,015	0,0001

4.4. Diszkusszió

Az Aquafluosense projekt keretein belül átalakításra került egy növényi fotoszintézis-aktivitás mérésére kialakított fluorométer (FluoroMeter Module, FMM) berendezés és továbbfejlesztett változata, a Dichroic Fluorometer System (DFS) műszer-prototípusokká, amely műszerek indukált fluoreszcencia alapján képesek az algabiomassza meghatározására. Az átalakított FMM-et felszereltük egy 96-lyukú mikrolemeztartó egységgel, és kiszámítottuk a F_v/F_p és Rfd paramétereket kinetikai alapokon. Továbbá alkalmazásra került ökotoxikológiai vizsgálatokban is, ahol az isoxaflutole hatásait *Raphidocelis subcapitata* algafajon vizsgáltuk. Az EC_{50} értékeket optikai sűrűség, *a* klorofill-tartalom, F_v/F_p és Rfd alapján határoztuk meg. Arra a következtetésre jutottunk, hogy

a F_v/F_p nem megfelelő paraméter az ökotoxikológiai vizsgálatokban, míg az R_{fd} alacsonyabb EC_{50} értékeket eredményezett, mint az optikai sűrűség vagy az a klorofill-tartalom, így nagyobb érzékenysége miatt az jobban alkalmazható ilyen típusú vizsgálatoknál.

A megfelelő mikrolemez kiválasztásánál azt tapasztaltuk, hogy a fehér mikrolemez jelentős mértékben kisebb fényvesztést mutatott a fekete színűnél. Ez valószínűleg annak tudható be, hogy a fekete mikrolemez elnyeli a fényt, míg a fehér tálcák jól detektálható jelet állítanak elő, ezért is alkalmazzák őket általában alga mennyiségi vizsgálatokban (Gregor & Maršálek, 2004; Volpe et al., 2021). Az eredmények alapján a fehér mikrolemezt választottuk a további elemzésekhez.

A sötétadaptáció alkalmazása nem szükséges a kifejlesztett műszereknél, ami azzal magyarázható, hogy a használt műszerek folyamatos gerjesztéssel működnek, telítési impulzusok nélkül. Ennek következtében a teljes mérési folyamat rövidebb, valamint így az alga ülepedése a mikrolemezben nem eredményezett instabilitást az analitikai jelben. A detektálási stabilitást az F_0 alapján határozható meg (Schreiber & Klughammer, 2021), amit a minták folyamatos keverésével lehet tovább javítani. Az ilyen, fluoreszcencia alapú módszerek előnyei közé tartozik a magas érzékenység és a jó mérési stabilitás. Mivel a műszert az algafajok PSII fotoszintetikus rendszerének jellemzésére használjuk adott időpontban (pl. ökotoxicitási vizsgálat végpontjaként), és nem folyamatos, hosszabb időtartamon keresztüli monitorozásra; ezért a detektálási stabilitás nem jelentett bizonytalansági tényezőt.

A továbbfejlesztett DFS olyan módszert eredményezett, amely alkalmas az algabiomassza meghatározására, $3,70 \times 10^3$ sejt ml^{-1} kimutatási határral. Erős és szignifikáns korrelációt mutattunk ki mindkét műszerrel (FMM és DFS), valamint a különböző biomassza-meghatározási módszerekkel (optikai sűrűség, a klorofill-tartalom, sejtszám Bürker-kamrával történő meghatározása) mért eredmények között. A lineáris illesztés korrelációs együtthatója (r^2) 0,858 és 0,999 között változott a *Microcystis aeruginosa* (kékalgá), valamint és 0,982 és 0,998 között a *Raphidocelis subcapitata* (zöldalga) esetében. A fluoreszcencia alapú és a hagyományos biomassza-meghatározási módszerek közötti korrelációt korábbi tanulmányok is dokumentálták (Siedlewicz et al., 2020; Albrecht et al., 2022; Cadondon et al., 2022); ugyanakkor ebben a kutatásban a korrelációt az FMM és DFS műszerek által meghatározott algabiomassza-eredmények validálására alkalmaztuk. Az *M. aeruginosa* és *R. subcapitata* fajok pigment összetételükben és azok elrendeződésében különböznek, ami eltérést mutat a spektrális fluoreszcencia-tulajdonságaikban is, amiket a

DFS használ (Cook, 1945; MacIntyre et al., 2010; Suggett et al., 2010; Hsieh-Lo et al., 2019; Pagels et al., 2021).

Az isoxaflutole-t egyre gyakrabban használják az atrazin helyettesítőjeként. Utóbbi széles körben használt gyomirtószer-hatóanyag volt, amelyet az Európai Unióban 2004-ben betiltottak. Az isoxaflutole-t jelenleg potenciális vízszennyező anyagként tartják számon mind az Egyesült Államokban, mind az Európai Unióban (Meyer et al., 2007; da Silva Santarossa et al., 2020), amelynek algatoxikus hatása is ismert már (Chamsi et al., 2019). Az isoxaflutole mechanizmusa a 4-hidroxifenil-piruvát-dioxidáz enzim gátlásán alapul, ezért az *R. subcapitatae* esetén megfigyelt viszonylag magas toxicitás nem meglepő, mivel az enzim minden növényi szervezetben megtalálható. Kimutatták, hogy az isoxaflutole toxikus hatást fejt ki zöld- és kovaalgákra is, EC_{50} értékei 0,003 és 0,38 mg L⁻¹ között mozognak (Lewis et al., 2016). *R. subcapitatae* esetében 120 órás expozíció esetén 0,12 mg L⁻¹ ez az érték. Az Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) a hatóanyag értékelése során az *R. subcapitatae*-ra vonatkozó EC_{50} értéket 1,71 µg ml⁻¹-ben állapította meg, ami 57-szer alacsonyabb toxicitást jelent, mint jelen tanulmány eredménye (EFSA, 2016).

Az ökotoxikológiai vizsgálatban kapott R_v/R_p és Rfd közötti különbség összeesng Schagerl et al. (2022) által kapott eredményekkel, ahol a F_v/F_m értékek *Chlorella vulgaris* optikai sűrűségének szinte teljes tartományában hasonlóak maradtak (Oláh et al., 2021; Schagerl et al., 2022). Jelen tanulmányban az Rfd paramétert a legérzékenyebb biomarkerként mutattuk be a gyomirtó hatásának vizsgálatához. Az általunk kapott erősen dóziszfüggő Rfd azt is bizonyítja, hogy az Rfd paramétert általában biotikus és abiotikus növényi stressz kimutatására használják (Lichtenthaler & Miehe, 1997; Lichtenthaler & Babani, 2000), a növények vitalitásának jó és gyors indikátoraként tartják számon. Számos esetben már bebizonyosodott, hogy érzékeny indikátora lehet a különböző stressztípusok által okozott anyagcserezavarokban (pl. sótartalom (Canora et al., 2022), tápanyagdúsulás (Fodorpataki et al., 2013), nehézfémek (Santos et al., 2022)). Az eddigi ismeretek szerint zavarja a II. fotoszintetikus rendszert, ami kevésbé hatékony fotoszintézist eredményez (Fodorpataki et al., 2013; Santos et al., 2022).

Az FMM alkalmazásának előnye az algafajokon végzett növekedésgátlási vizsgálatokban kettős. Egyrészt a fotokémiai paraméter érzékenyebb végpontot biztosít a hagyományos biomassza-meghatározási végpontokhoz képest (optikai sűrűség, *a* klorofill-tartalom, sejtszám meghatározása Bürker-kamrával). Másrészt a 96-cellás mikrolemes kivitel lehetőséget ad arra, hogy egyszerre 24 mintát gyorsan kiértékeljünk. Mivel

a sötét akklimatizáció nem szükséges a mérés előtt, az alga ülepedésének hatása elhanyagolható az eredményekre.

5. Összefoglalás

Napjainkban a vizes ökoszisztémák globális degradációjának, minőség-romlásának és biológiai sokféleségének rohamos csökkenésének vagyunk tanúi természetes és antropogén folyamatoknak köszönhetően egyaránt. Vizeink megóvásának fontossága megkérdőjelezhetetlen, amely azonban csak úgy lehetséges, ha pontosan ismerjük a bennük zajló biotikus és abiotikus folyamatokat. Jelen kutatások központjában a mikroszkópikus algák állnak, mely élőlények kulcsfontosságú szerepet töltenek be a vizes élőhelyeken, hiszen az emberiség számára számos ökoszisztéma szolgáltatást nyújtanak (elsődleges termeléstől a biotechnológiai felhasználásig). Disszertációmban a felszíni vizek domináns és jellegzetes mikroszervezeteire gyakorolt, természetes és antropogén eredetű környezeti faktorok lehetséges hatásait vizsgáltam, valamint összefoglaltam egy olyan módszertani eszköz fejlesztésének folyamatát, amely alkalmas az eltérő környezeti hatások által kiváltott algasűrűség-változások nyomon követésére.

A sós vizek egy sajátos csoportját képező szikes tavak – különösen a sekély, zárt vízgyűjtőjű– jelentős hidrológiai érzékenységük miatt a környezeti paraméterek gyors és gyakran szélsőséges ingadozásának vannak kitéve, beleértve az éghajlatváltozás hatásait is. Az emelkedő átlagos vízhőmérséklethez fokozott párolgás is társul, ami pedig a vezetőképesség növekedését eredményezi. Ezen abiotikus változások további biotikus átalakulásokat is előre vetítenek. Jelen kutatásunkban éppen ezért azt modelleztük, hogy a szikes tavi ökoszisztémák domináns és jellegzetes kovaalga fajainak *Nitzschia aurariae*, *N. supralitoria*, *N. reskoi*) fotoszintetikus aktivitása hogyan fog megváltozni a vízhőmérséklet és a vezetőképesség növekedésének – mint a legkiemelkedőbb globális folyamatok - hatására egy klímaforgatókönyv tükrében. A vizsgált kovaalga fajok fotoszintetikus aktivitás párhuzamosan nőtt ionkoncentrációk növekedésével, de a kloridion skáláján az egyik faj kiemelkedő fotoszintetikus aktivitást mutatott a többihez képest. Mind hőmérsékletben (30 és 35 °C) mind ionkoncentrációban (2900 és 4200 mg L⁻¹ Cl⁻, valamint 3200 és 5300 mg L⁻¹ SO₄²⁻) magas értékek között érték el maximális fotoszintetikus aktivitást. Az elemzett kovaalga fajok ökológiai-fiziológiai plaszticitásuk és generalista jellegük révén versenyelőnyre tehetnek szert más fajokkal szemben, amit a niche-átfedések és a niche-szélesség mintázatai is alátámasztanak. A fajok széles ökológiai niche-tartománya fokozott rugalmasságot biztosít az éghajlatváltozás által indukált környezeti változásokkal szemben; Ennek megfelelően a fajok várhatóan kedvezően reagálnak az RCP6.0 forgatókönyv

által előre jelzett környezeti feltételekre. Széles niche-tartományuk lehetővé teszi a magas hőmérséklet, vezetőképesség és ionkoncentrációk tolerálását, ami hozzájárul együttes előfordulásukhoz olyan környezetekben is, amelyek egyébként kedvezőtlennek tekinthetők. A vizsgált kovaalga fajok a Kárpát medencében a fokozott fotoszintetikus aktivitása várható, valamint a vegetációs periódus hosszabbodását jósolják a modellezéseink eredményei.

A klímaváltozás által generált jelentős környezeti problémák mellett, a mezőgazdaságban alkalmazott növényvédőszer használata is globális szinten hatalmas mértéket öltött az utóbbi évtizedben. Ezen vegyületek azonban nem csak a célszervezetekre vannak hatással, hanem a felszíni édesvízi ökoszisztémák számos élőlénycsoportjaira is, amely kifejezetten igaz a fotoszintetikus szervezetre. A kutatás során egy kereskedelmi forgalomban levő, gyakran használt növényvédőszer, a maleinsav-hidrazid szubletális hatását vizsgáltuk egy kozmopolita kovaalga faj, a *Gomphonema parvulum* teratogén formájának kialakulási folyamatán és fiziológiai tulajdonságainak megváltozásán keresztül. A teratogenitás a kovaalgák esetében egy olyan indukált tulajdonság lehet, ami nem csökkenti a szaporító képesség csökkenését valószínűleg a védelmet nyújtó kovaváz miatt. Ezt a hipotézist támasztja alá jelen kutatás is; A *G. parvulum* tenyészetekben az expozíciós idő előrehaladtával a teratogén formák kialakulása fokozódott. Ugyancsak elmondható ez a koncentrációk használatakor is, a nagyobb koncentrációban alkalmazott maleinsav-hidrazid kezelés esetén előbb jelentek meg és magasabb számban az teratogén sejtek. Ugyan a szaporodó képességet nem csökkentette a vizsgált növényvédő szer, de egyéb fiziológiai tulajdonságban változásokat generált. Míg a pigment tartalomban - a klorofill, karotinoid, fukoxantin - nem okozott változást, a fotoszintetikus aktivitásban egy pozitív változás volt látható. A peroxidáz enzim aktivitás és a lipid tartalom szintén pozitív összefüggést mutatott a maleinsav-hidrazid kezeléssel.

Kutatásaim során az Aquafluosense projekt keretein belül vizsgálatra és tovább fejlesztésre került egy növényi mérésekhez tervezett fluorométer (FluoroMeter Module, FMM) és átalakított változata, a Dichroic Fluorometer System (DFS) berendezés is. Mindkét műszerprototípus indukált fluoreszcencia alapján képes az algabiomassa meghatározására. A műszerfejlesztés első lépéseként megállapítottuk, hogy a fehér mikrolemez nagyobb érzékenységet biztosít a gerjesztő fény intenzitása által kiváltott fluoreszcenciajel detektálásában, továbbá azt is, hogy a méréseket megelőző sötétadaptáció alkalmazása nem szükséges. A konvencionális módszerek (klorofill extrakció, optikai denzitás mérés, Bürker-kamrás sejtszámolás) és a prototípusok általi fluoreszcencia jel összehasonlításánál

lineáris összefüggéseket kaptunk, az r^2 érték a legtöbb esetben 0,96 feletti volt. A fejlesztés során a kimutatási és meghatározás alsó határa jelentős javulást mutatott a két prototípus (FMM és DFS) között. Algakeveréket alkalmaztunk a DFS által mért fluoreszcencia jelintenzitás méréséhez, és azt tapasztaltuk, hogy a műszer két csatornája más pigment csoportokat detektálásra képes köszönhetően a különböző gerjesztési hullámhosszaknak. Az 1. csatorna az *a*- és *b* klorofillt is gerjeszti azonban a 2. csatorna csak a *b* klorofillt képes gerjeszteni. Az átalakított FMM-et felszereltük egy 96-lyukú mikrolemez tartóegységgel, és kiszámítottuk a F_v/F_p és Rfd paramétereket. A műszer alkalmazhatóságát is teszteltük ökotoxikológiai vizsgálatokban, amely során egy növényvédőszer hatóanyagának, az isoxaflutole-nak a *Raphidocelis subcapitata* algafajra gyakorolt hatásait vizsgáltuk. Az EC_{50} értékeket az optikai sűrűség, *a* klorofill-tartalom, F_v/F_p és Rfd alapján határoztuk meg. Arra a következtetésre jutottunk, hogy a F_v/F_p nem megfelelő paraméter az ökotoxikológiai vizsgálatokban, míg az Rfd alacsonyabb EC_{50} értékeket eredményezett, mint az optikai sűrűség vagy az *a* klorofill-tartalom, így nagyobb érzékenysége miatt az jobban alkalmazható ilyen típusú vizsgálatoknál.

6. Tézispontok

1. A klímaváltozás hatásainak vizsgálata

1.1. A *Nitzschia supralitorea* kovaalga faj ökofiziológiai jellemzése történt meg: a maximális fotoszintetikus aktivitása $\sim 4 \text{ mg C mg Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$; a hőmérsékleti optimuma $29,8 \text{ }^\circ\text{C}$, míg optimális ionkoncentrációja Cl^- tekintetében 2947 mg L^{-1} , SO_4^{2-} esetében 4368 mg L^{-1} ($\sim 8935 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$).

1.2. Szikes tavak három legdominánsabb kovaalga fajának (*Nitzschia aurariae*, *N. supralitorea* és *N. reskoi*) átlagos fotoszintetikus aktivitása alapján megállapítható, hogy a 2041-2060 közötti időszakban a kovaalga fajok fotoszintézise valószínűleg intenzívebb lesz az ionok típusától és koncentrációjától függetlenül az RCP60 klímaszcenárió által jósolt hőmérséklet emelkedés hatására. Mindemellett a fotoszintetikusan aktív periódusuk (PAP) két hónappal történő meghosszabbodása is várható a jövőben.

2. A maleinsav-hidrazid gyomirtószer hatásainak vizsgálata

2.1. A maleinsav-hidrazid gyomirtószer teratogén formák kialakulását indukálja a *Gomphonema parvulum* kovaalga faj esetében. Magasabb ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$) koncentráció alkalmazása során hamarabb jelennek meg ezek az elváltozások. A teratogén elváltozás főleg a kovaalga valvájának a károsodásában mutatkozik meg, ami mellett a kevert abnormális forma típusok is jelentős mennyiségben előfordulnak.

2.2. A sejtszámnövekedésre nincs szignifikáns hatással a maleinsav-hidrazid, a teratogén formák megjelenése nem von maga után szaporodóképesség gyengülést. Nincs kapcsolat a teratogén formák megjelenése és pigment tartalom között, sem az *a* klorofill, sem a karotinoid, sem pedig a fukoxantin tekintetében. A fotoszintetikus aktivitás esetében a hormézis jelensége figyelhető meg, azaz kezdetben a maleinsav-hidrazid kezelés pozitívan hatott rá. A POD enzim aktivitás is a kezelés elején növekedett meg. A lipidcseppek átlagos átmérője pozitív összefüggést mutat teratogén formák megjelenésének gyakoriságával.

3. Fluoriméter fejlesztése

3.1. A FluoroMeter használatánál a fehér mikrolemez bizonyult a megfelelő mintatartónak a fekete mikrolemezzel szemben. Továbbá megállapítható, hogy az alga minták mérése előtt nem szükséges sötétakklimatizáció alkalmazása.

3.2. A két prototípus a FMM (FluoroMeter Module) és a DFS (Dichroikus Fluorometer System) által mért alga biomassza erős pozitív korrelációt ($r^2 \sim 0,9$) mutat a hagyományos módszerekkel (a klorofil mennyiség, optikai denzitás és Bürker kamrás sejtszámolás) történt mérések eredményeivel. A továbbfejlesztett DFS alacsonyabb kimutatási határral (LOD) és meghatározási határral (LLOQ) rendelkezik, mint a korábbi FMM prototípus.

3.3. A kifejlesztett FluoroMeter alkalmasnak bizonyult ökotoxikológiai vizsgálatokban történő használatra. Az isoxaflutole ökotoxikológiai vizsgálatánál az Rfd (*Vitality index*) fluoreszcencia paraméter mutat erősebb dózisösszefüggést az EC_{50} meghatározása során, míg a F_v^*/F_p nem megfelelő végpont paraméter tekintve, hogy az isoxaflutole aktív hatóanyagának nincs toxikus hatása rá.

7. Key Results in Thesis Points

1. Assessment of the impacts of climate change

1.1. The ecophysiological characterization of the diatom species *Nitzschia supralitorea* was conducted. Its maximum photosynthetic activity was approximately $\sim 4 \text{ mg C mg Chl-a}^{-1} \text{ h}^{-1}$; the thermal optimum was $29.8 \text{ }^\circ\text{C}$, while the optimal ion concentrations were 2947 mg L^{-1} for Cl^- and 4368 mg L^{-1} for SO_4^{2-} (corresponding to $\sim 8935 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$).

1.2. Based on the average photosynthetic activity of the three most dominant diatom species in soda lakes (*Nitzschia aurariae*, *N. supralitorea*, and *N. reskoi*), it can be concluded that during the 2041–2060 period the photosynthesis of these diatom species will likely be more intensive, irrespective of ion type and concentration, as a result of the temperature increase projected by the RCP6.0 climate scenario. In addition, an extension of their photosynthetically active period (PAP) by approximately two months is expected in the future.

2. Assessment of the effects of the herbicide maleic hydrazide

2.1. The herbicide maleic hydrazide induces the formation of teratogenic morphotypes in the diatom species *Gomphonema parvulum*. When a higher concentration (0.1 mg L^{-1}) is applied, these abnormalities appear earlier. The teratogenic alterations are primarily manifested as damage to the diatom valve; in addition, mixed abnormal morphotype categories occur in considerable abundance.

2.2. Maleic hydrazide has no significant effect on cell number increase; the appearance of teratogenic forms does not entail a reduction in reproductive capacity. No relationship was detected between the occurrence of teratogenic forms and pigment content, including chlorophyll, carotenoids, or fucoxanthin. In terms of photosynthetic activity, a hormesis effect was observed, i.e., maleic hydrazide treatment initially exerted a stimulatory effect. The activity of the POD enzyme also increased at the beginning of the treatment. The average diameter of lipid droplets shows a positive correlation with the frequency of occurrence of teratogenic forms.

3. Development of a fluorimeter

3.1. During the application of the FluoroMeter, a white microplate proved to be a more suitable sample holder than a black microplate. Furthermore, it was established that dark acclimation is not required prior to the measurement of algal samples.

3.2. Algal biomass measured by the two prototypes, the FMM (FluoroMeter Module) and the DFS (Dichroic Fluorometer System), shows a strong positive correlation ($r^2 \sim 0.9$) with results obtained using conventional methods (chlorophyll content, optical density, and cell counting with a Bürker chamber). The improved DFS prototype exhibits lower limits of detection (LOD) and lower limits of quantification (LLOQ) than the earlier FMM prototype.

3.3. The developed FluoroMeter proved to be suitable for use in ecotoxicological studies. In the ecotoxicological assessment of isoxaflutole, the fluorescence parameter Rfd (vitality index) showed a stronger dose–response relationship during EC_{50} determination, whereas F_v^*/F_p proved to be an inappropriate endpoint parameter, given that the active ingredient of isoxaflutole does not exert a toxic effect on this parameter.

8. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném őszinte hálámat kifejezni témavezetőimnek, Lengyel Edinának és Székács Andrásnak, türelmükért, szakmai támogatásukért és útmutatásukért a kutatás minden fázisában. Köszönettel tartozom szüleimnek, akik állandó aggodalmukkal és szeretetükkel mindig mellettem álltak, gondoskodva arról, hogy én nyugodt maradhassak. Hálás vagyok férjemnek, Tapolczai Kálmánnak, aki szükség esetén éjszaka is elkísért az egyetemre, és folyamatosan támogatott mindenben. Külön köszönöm barátaimnak, Jánoshegyi Eszternek és Mészáros Boglárkának, akik már kiskutyát is ígértek, csak hogy haladjak a munkámmal, valamint Vörös Juditnak, aki lehetőséget biztosított számomra, hogy zavartalanul dolgozhassak a disszertációmon, anélkül, hogy stresszelne. Hálás vagyok Hubai Katalinnak és a Limnológiai Tanszék valamennyi munkatársának, akik bármilyen formában hozzájárultak kutatásom előrehaladásához.

9. Irodalomjegyzék

Abel, P. D., 2002. Water pollution biology. CRC Press.

Ács, É., & K. T. Kiss, 2004. Algológiai praktikum. ELTE Eötvös Kiadó.

Albrecht, M., S. Khanipour Roshan, L. Fuchs, U. Karsten, & R. Schumann, 2022. Applicability and limitations of high-throughput algal growth rate measurements using in vivo fluorescence in microtiter plates. *Journal of Applied Phycology* 34: 2037–2049. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02778-z>.

Alcocer, J., & Escobar, E. (1990). The drying up of the Mexican Plateau axalapazcos. *Salinet* 4: 46.

Allan, J. D., 2004. Landscapes and Riverscapes: The Influence of Land Use on Stream Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 257–284. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.35.120202.110122>.

Allen, M. M., 1968. Simple Conditions for Growth of Unicellular Blue-Green Algae on Plates 1, 2. *Journal of Phycology* 4: 1–4. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1968.tb04667.x>.

Andersen, R. A. (Ed.). 2005. Algal culturing techniques. Academic Press.

Anneville, O., I. Domaizon, O. Kerimoglu, F. Rimet, & S. Jacquet, 2015. Blue-Green Algae in a “Greenhouse Century”? New Insights from Field Data on Climate Change Impacts on Cyanobacteria Abundance. *Ecosystems* 18: 441–458. <https://doi.org/10.1007/s10021-014-9837-6>.

Antoine, D., J. André, & A. Morel, 1996. Oceanic primary production: 2. Estimation at global scale from satellite (Coastal Zone Color Scanner) chlorophyll. *Global Biogeochemical Cycles* 10: 57–69. <https://doi.org/10.1029/95GB02832>.

Aoyama, K., K. Iwahori, & N. Miyata, 2003. Application of *Euglena gracilis* cells to comet assay: evaluation of DNA damage and repair. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 538: 155–162. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(03\)00113-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(03)00113-X)

APHA, 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. American public health association

Bachmann, R. W., B. L. Jones, D. D. Fox, M. Hoyer, L. A. Bull, & D. E. Canfield, Jr., 1996. Relations between trophic state indicators and fish in Florida (U.S.A.) lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 842–855. <https://doi.org/10.1139/f95-236>.

Bajguz, A., 2009. Brassinosteroid enhanced the level of abscisic acid in *Chlorella vulgaris* subjected to short-term heat stress. *Journal of Plant Physiology* 166: 882–886. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.10.004>.

Barócsi, A., L. Kocsányi, S. Várkonyi, P. Richter, Z. Csintalan, & K. Szente, 2000. Two-wavelength, multipurpose, truly portable chlorophyll fluorometer and its application in field monitoring of phytoremediation. *Measurement Science and Technology* 11: 717–729. <https://doi.org/10.1088/0957-0233/11/6/315>.

- Barócsi, A., S. Lenk, L. Kocsányi, & C. Buschmann, 2009. Excitation kinetics during induction of chlorophyll a fluorescence. *Photosynthetica* 47: 104–111. <https://doi.org/10.1007/s11099-009-0016-5>.
- Baron, J. S., N. L. Poff, P. L. Angermeier, C. N. Dahm, P. H. Gleick, N. G. Hairston, R. B. Jackson, C. A. Johnston, B. D. Richter, & A. D. Steinman, 2002. Meeting Ecological And Societal Needs For Freshwater. *Ecological Applications* 12: 1247–1260. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2002\)012%255B1247:MEASNF%255D2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2002)012%255B1247:MEASNF%255D2.0.CO;2).
- BB, P., 1972. Differential Maleic hydrazide (MH) sensitivity shown by the spermatocyte chromosomes in five species of grasshoppers. *Cytologia* 37: 345–353.
- B-Béres, V., C. Stenger-Kovács, K. Buczkó, J. Padisák, G. B. Selmeczy, E. Lengyel, & K. Tapolczai, 2023. Ecosystem services provided by freshwater and marine diatoms. *Hydrobiologia* 850: 2707–2733. <https://doi.org/10.1007/s10750-022-04984-9>.
- Bedoshvili, Y., K. Gneusheva, M. Popova, A. Morozov, & Y. Likhoshway, 2018. Anomalies in the valve morphogenesis of the centric diatom alga *Aulacoseira islandica* caused by microtubule inhibitors. *Biology Open* 7: bio035519. <https://doi.org/10.1242/bio.035519>.
- Bell, E. A., B. V. Charlwood, & A. Pirson, 1980. Secondary plant products. *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, Vol. 8. Springer-Verlag.
- Bernhardt, E. S., E. J. Rosi, & M. O. Gessner, 2017. Synthetic chemicals as agents of global change. *Frontiers in Ecology and the Environment* 15: 84–90. <https://doi.org/10.1002/fee.1450>.
- Bertrand, L., D. J. Marino, M. V. Monferrán, & M. V. Amé, 2017. Can a low concentration of an organophosphate insecticide cause negative effects on an aquatic macrophyte? Exposure of *Potamogeton pusillus* at environmentally relevant chlorpyrifos concentrations. *Environmental and Experimental Botany* 138: 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.03.006>
- Bi, Y. F., S. S. Miao, Y. C. Lu, C. B. Qiu, Y. Zhou, & H. Yang, 2012. Phytotoxicity, bioaccumulation and degradation of isoproturon in green algae. *Journal of hazardous materials* 243: 242–249. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.021>
- Blanck, H., 1985. A simple, community level, ecotoxicological test system using samples of periphyton. *Hydrobiologia* 124: 251–261. <https://doi.org/10.1007/BF00015242>.
- Blinn, D. W., 1993. Diatom Community Structure Along Physicochemical Gradients in Saline Lakes. *Ecology* 74: 1246–1263. <https://doi.org/10.2307/1940494>.
- Boros, E., Z. Ecsedi, & J. Oláh, 2013. Ecology and management of soda pans in the Carpathian Basin. Hortobágy Environmental Association, Balmazújváros.
- Boros, E., Z. Horváth, G. Wolfram, & L. Vörös, 2014. Salinity and ionic composition of the shallow astatic soda pans in the Carpathian Basin. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*. 50: 59–69. <https://doi.org/10.1051/limn/2013068>

Boros, E., K. V.-Balogh, L. Vörös, & Z. Horváth, 2017. Multiple extreme environmental conditions of intermittent soda pans in the Carpathian Basin (Central Europe). *Limnologica* 62: 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2016.10.003>.

Boros, E., & Kolpakova, M., 2018. A review of the defining chemical properties of soda lakes and pans: An assessment on a large geographic scale of Eurasian inland saline surface waters. *PLoS One*, 13:, e0202205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202205>

Brewster, D., 1846. XIII.—On the decomposition and dispersion of light within solid and fluid bodies. *Earth and Environmental Science Transactions of The Royal Society of Edinburgh* 16: 111–121.

Brock, T. C., 2013. Priorities to improve the ecological risk assessment and management for pesticides in surface water. *Integrated Environmental Assessment and Management* 9: e64–e74. <https://doi.org/10.1002/ieam.1429>.

Büdel, B., 2024. Cyanobacteria/Blue-Green Algae. In Büdel, B., T. Friedl, & W. Beyschlag (eds) *Biology of Algae, Lichens and Bryophytes*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 25–99.

Buschmann, C., 2007. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves. *Photosynthesis Research* 92: 261–271. <https://doi.org/10.1007/s11120-007-9187-8>.

Buschmann, H., M. Holtmannspötter, A. Borchers, M.-T. O’Donoghue, & S. Zachgo, 2016. Microtubule dynamics of the centrosome-like polar organizers from the basal land plant *Marchantia polymorpha*. *New Phytologist* 209: 999–1013. <https://doi.org/10.1111/nph.13691>.

Butterwick, C., S. I. Heaney, & J. F. Talling, 1982. A comparison of eight methods for estimating the biomass and growth of planktonic algae. *British Phycological Journal* 17: 69–79. <https://doi.org/10.1080/00071618200650091>.

Cadondon, J. G., P. M. B. Ong, E. A. Vallar, T. Shiina, & M. C. D. Galvez, 2022. Chlorophyll-a Pigment Measurement of Spirulina in Algal Growth Monitoring Using Portable Pulsed LED Fluorescence Lidar System. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Sensors* 22: 2940. <https://doi.org/10.3390/s22082940>.

Calabrese, E. J., Bachmann, K. A., Bailer, A. J., Bolger, P. M., Borak, J., Cai, L., ... & Mattson, M. P., 2007. Biological stress response terminology: integrating the concepts of adaptive response and preconditioning stress within a hormetic dose–response framework. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 222: 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.02.015>

Canadell, J. G., C. Le Quéré, M. R. Raupach, C. B. Field, E. T. Buitenhuis, P. Ciais, T. J. Conway, N. P. Gillett, R. A. Houghton, & G. Marland, 2007. Contributions to accelerating atmospheric CO₂ growth from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 18866–18870. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702737104>.

Cañedo-Argüelles, M., C. P. Hawkins, B. J. Kefford, R. B. Schäfer, B. J. Dyack, S. Brucet, D. Buchwalter, J. Dunlop, O. Frör, J. Lazorchak, E. Coring, H. R. Fernandez, W. Goodfellow, A. L. G. Achem, S. Hatfield-Dodds, B. K. Karimov, P. Mensah, J. R. Olson, C. Piscart, N. Prat,

S. Ponsá, C.-J. Schulz & A. J. Timpano, 2016. Saving freshwater from salts. *Science* 351: 914–916.

Canora, D. D., L. L. Guasch, & R. S. Zuazo, 2022. Species-specific responses of Antarctic terrestrial microalgae to salinity stress. Comparative study in *Klebsormidium* sp. and *Stigeoclonium* sp. *Czech Polar Reports* 12: 89–102. <https://doi.org/10.5817/CPR2022-1-7>.

Canterford, G. S., & D. R. Canterford, 1980. Toxicity of Heavy Metals to the Marine Diatom *Ditylum Brightwellii* (West) Grunow: Correlation between Toxicity and Metal Speciation. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 60: 227–242. <https://doi.org/10.1017/S0025315400024280>.

Carbajal-Hernández, A. L., M. A. Arzate-Cárdenas, R. C. Valerio-García, & F. Martínez-Jerónimo, 2022. Commercial pesticides for urban applications induced population growth and sub-cellular alterations in *Raphidocelis subcapitata* (Chlorophyceae) at concerning environmental concentrations. *Ecotoxicology* 31: 1462–1476. <https://doi.org/10.1007/s10646-022-02596-6>.

Carter, A., 2000. How pesticides get into water-and proposed reduction measures. *Pesticide Outlook* 11: 149–156.

Carvalho, L., C. McDonald, C. de Hoyos, U. Mischke, G. Phillips, G. Borics, S. Poikane, B. Skjelbred, A. L. Solheim, J. Van Wichelen, & A. C. Cardoso, 2013. Sustaining recreational quality of European lakes: minimizing the health risks from algal blooms through phosphorus control. *Journal of Applied Ecology* 50: 315–323. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12059>.

Casotti, R., S. Mazza, C. Brunet, V. Vantrepotte, A. Ianora, & A. Miralto, 2005. Growth inhibition and toxicity of the diatom aldehyde 2- trans , 4- trans -decadienal on *Thalassiosira weissflogii* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology* 41: 7–20. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.04052.x>.

Castro, H. F., A. T. Classen, E. E. Austin, R. J. Norby, & C. W. Schadt, 2010. Soil Microbial Community Responses to Multiple Experimental Climate Change Drivers. *Applied and Environmental Microbiology* 76: 999–1007. <https://doi.org/10.1128/AEM.02874-09>.

Catlett, D., D. A. Siegel, P. G. Matson, E. K. Wear, C. A. Carlson, T. S. Lankiewicz, & M. D. Iglesias-Rodriguez, 2023. Integrating phytoplankton pigment and DNA meta-barcoding observations to determine phytoplankton composition in the coastal ocean. *Limnology and Oceanography* 68: 361–376. <https://doi.org/10.1002/lno.12274>.

Cattaneo, A., Y. Couillard, S. Wunsam, & M. Courcelles, 2004. Diatom taxonomic and morphological changes as indicators of metal pollution and recovery in Lac Dufault (Québec, Canada). *Journal of Paleolimnology* 32: 163–175. <https://doi.org/10.1023/B:JOPL.0000029430.78278.a5>.

Chamsi, O., E. Pinelli, B. Faucon, A. Perrault, L. Lacroix, J.-M. Sánchez-Pérez, & J.-Y. Charcosset, 2019. Effects of herbicide mixtures on freshwater microalgae with the potential effect of a safener. *EDP Sciences. Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 55: 3. <https://doi.org/10.1051/limn/2019002>.

Change, I. P. O. C., 2007. Climate change 2007: The physical science basis. *Agenda* 6: 333.

- Chekanov, K., A. Lukyanov, S. Boussiba, C. Aflalo, & A. Solovchenko, 2016. Modulation of photosynthetic activity and photoprotection in *Haematococcus pluvialis* cells during their conversion into haematocysts and back. *Photosynthesis Research* 128: 313–323. <https://doi.org/10.1007/s11120-016-0246-x>.
- Chen, S., Chen, M., Wang, Z., Qiu, W., Wang, J., Shen, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Li, J., Xu, L., Zhao, H., & Ge, S., 2016. Toxicological effects of chlorpyrifos on growth, enzyme activity and chlorophyll *a* synthesis of freshwater microalgae. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 45, 179–186.
- Chepurnov, V. A., D. G. Mann, K. Sabbe, & W. Vyverman, 2004. Experimental studies on sexual reproduction in diatoms. *International Review of Cytology* 237: 91–154. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(04\)37003-8](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(04)37003-8)
- Chioccioli, M., B. Hankamer, & I. L. Ross, 2014. Flow Cytometry Pulse Width Data Enables Rapid and Sensitive Estimation of Biomass Dry Weight in the Microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella vulgaris*. Public Library of Science. *PLOS ONE* 9: e97269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097269>.
- Chorus, I., & M. Welker, 2021. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003081449>
- Chorvatova, A. M., M. Uherek, A. Mateasik, & D. Chorvat, 2020. Time-resolved endogenous chlorophyll fluorescence sensitivity to pH: study on *Chlorella* sp. algae. *Methods and Applications in Fluorescence* 8: 024007. <https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab77f4>.
- Christensen, J. H., & O. B. Christensen, 2007. A summary of the prudence model projections of changes in European climate by the end of this century. *Climatic Change* 81: 7–30. <https://doi.org/10.1007/s10584-006-9210-7>.
- Christov, C., I. Pouneva, M. Bozhkova, T. Toncheva, S. Fournadzieva, & T. Zafirova, 2001. Influence of Temperature and Methyl Jasmonate on *Scenedesmus incrassulatus*. *Biologia Plantarum* 44: 367–371. <https://doi.org/10.1023/A:1012490610127>.
- Cook, A. H., 1945. Algal Pigments and Their Significance. *Biological Reviews* 20: 115–132. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1945.tb00445.x>.
- Coquillé, N., & S. Morin, 2019. Fitness of teratological morphotypes and heritability of deformities in the diatom *Gomphonema gracile*. *Ecological Indicators* 106: 105442. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105442>.
- Cotelle, S., J.-F. Masfaraud, & J.-F. Féraud, 1999. Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia micronucleus* and the *Tradescantia micronucleus* assays. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 426: 167–171. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00063-9](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00063-9).
- Cox, E. J., 1996. Identification of freshwater diatoms from live material. Chapman & Hall.
- Cradwick, P. D., 1975. Is maleic hydrazide a pyrimidine or purine analogue? *Nature* 258: 774–774.

Culture Collection of Algae and Protozoa, 2025. CCAP 276/25 *Scenedesmus bijugus* var. *obtusiusculus*. Available at: <https://www.ccap.ac.uk/catalogue/strain-276-25> (Accessed: 2025. december 4.).

Cuna, E., E. Zawisza, M. Caballero, A. C. Ruiz-Fernández, S. Lozano-García, & J. Alcocer, 2014. Environmental impacts of Little Ice Age cooling in central Mexico recorded in the sediments of a tropical alpine lake. *Journal of Paleolimnology* 51: 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10933-013-9748-0>.

da Silva Santarossa, M. A., A. C. Coleone, N. P. de Mello, N. F. Ignácio, A. A. Machado, J. R. Marques Silva, E. D. Velini, & J. G. Machado Neto, 2020. Contamination of fee-fishing ponds with agrochemicals used in sugarcane crops. *SN Applied Sciences* 2: 1498. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03274-0>.

Darlington, C. D., & J. McLeish, 1951. Action of Maleic Hydrazide on the Cell. *Nature* 167: 407–408. <https://doi.org/10.1038/167407a0>.

Dauta, A., J. Devaux, F. Piquemal, & L. Boumnic, 1990. Growth rate of four freshwater algae in relation to light and temperature. *Hydrobiologia* 207: 221–226. <https://doi.org/10.1007/BF00041459>.

Davidson, K., R. J. Gowen, P. Tett, E. Bresnan, P. J. Harrison, A. McKinney, S. Milligan, D. K. Mills, J. Silke, & A.-M. Crooks, 2012. Harmful algal blooms: how strong is the evidence that nutrient ratios and forms influence their occurrence? *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 115: 399–413. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2012.09.019>

Davison, I. R., 1991. Environmental Effects on Algal Photosynthesis: Temperature. *Journal of Phycology* 27: 2–8. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1991.00002.x>.

Dayan, F. E., & M. L. de M. Zaccaro, 2012. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 102: 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.01.005>.

de Baar, H. J. W., 1994. von Liebig's law of the minimum and plankton ecology (1899–1991). *Progress in Oceanography* 33: 347–386. [https://doi.org/10.1016/0079-6611\(94\)90022-1](https://doi.org/10.1016/0079-6611(94)90022-1).

De Deckker, P., 1988. Biological and sedimentary facies of Australian salt lakes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 62: 237–270.

De Marsac, N. T., & G. Cohen-bazire, 1977. Molecular composition of cyanobacterial phycobilisomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74: 1635–1639. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.4.1635>.

Debenest, T., J. Silvestre, M. Coste, F. Delmas, & E. Pinelli, 2008. Herbicide effects on freshwater benthic diatoms: Induction of nucleus alterations and silica cell wall abnormalities. *Aquatic Toxicology* 88: 88–94. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.03.011>.

Debenest, T., J. Silvestre, M. Coste, & E. Pinelli, 2010. Effects of Pesticides on Freshwater Diatoms. In Whitacre, D. M. (ed) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer, New York, NY. pp. 87–103.

- DeLorenzo, M. E., G. I. Scott, & P. E. Ross, 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20: 84–98. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200108>.
- Desai, S. R., X. N. Verlecar, Nagarajappa, & U. Goswami, 2006. Genotoxicity of cadmium in marine diatom *Chaetoceros tenuissimus* using the alkaline Comet assay. *Ecotoxicology* 15: 359–363. <https://doi.org/10.1007/s10646-006-0076-2>.
- Descy, J. P., & C. Mouvet, 1984. Impact of the Tihange nuclear power plant on the periphyton and the phytoplankton of the Meuse River (Belgium). *Hydrobiologia* 119: 119–128. <https://doi.org/10.1007/BF00011951>.
- Descy, J.-P., C. S. Reynolds, & J. Padisák, 2013. *Phytoplankton in Turbid Environments: Rivers and Shallow Lakes*. Springer Netherlands, Dordrecht. pp. 163–170.
- Dodds, W. K., 2002. *Freshwater ecology: concepts and environmental applications*. Elsevier.
- Dodge, J. D., 1964. Some effects of Maleic Hydrazide and other mutagens on the nucleus of a Dinoflagellate. *Protoplasma* 58: 312–317. <https://doi.org/10.1007/BF01252715>.
- Dokulil, M. T., 2014. Impact of climate warming on European inland waters. *Inland Waters* 4: 27–40. <https://doi.org/10.5268/IW-4.1.705>
- Dokulil, M. T., K. Teubner, A. Jagsch, U. Nickus, R. Adrian, D. Straile, T. Jankowski, A. Herzig, & J. Padisák, 2010. The Impact of Climate Change on Lakes in Central Europe. In George, G. (ed) *The Impact of Climate Change on European Lakes*. Springer Netherlands, Dordrecht. pp. 387–409.
- Duan, S., S. S. Kaushal, P. M. Groffman, L. E. Band, & K. T. Belt, 2012. Phosphorus export across an urban to rural gradient in the Chesapeake Bay watershed. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 117: G01025. <https://doi.org/10.1029/2011JG001782>.
- Duckworth, A. W., W. D. Grant, B. E. Jones, & R. Van Steenberg, 1996. Phylogenetic diversity of soda lake alkaliphiles. *FEMS Microbiology Ecology* 19: 181–191. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00211.x>
- Dudgeon, D., A. H. Arthington, M. O. Gessner, Z.-I. Kawabata, D. J. Knowler, C. Lévêque, R. J. Naiman, A.-H. Prieur-Richard, D. Soto, M. L. J. Stiassny, & C. A. Sullivan, 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews* 81: 163–182. <https://doi.org/10.1017/S1464793105006950>.
- Em, B., 2001. Human impact on erodible phosphorus and eutrophication: a global perspective. *BioScience*. 51: 227–234.
- European Food Safety Authority, 2018. The 2016 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA Journal* 16: 5348, 139 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5348>.
- European Food Safety Authority, 2016. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance isoxaflutole. *EFSA Journal* 14: 4416. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4416>

- Falasco, E., F. Bona, M. Ginepro, D. Hlúbiková, L. Hoffmann, & L. Ector, 2009. Morphological abnormalities of diatom silica walls in relation to heavy metal contamination and artificial growth conditions. *Water sa* 35:5. <https://doi.org/10.4314/wsa.v35i5.49185>
- Falasco, E., L. Ector, C. E. Wetzel, G. Badino, & F. Bona, 2021. Looking back, looking forward: a review of the new literature on diatom teratological forms (2010–2020). *Hydrobiologia* 848: 1675–1753. <https://doi.org/10.1007/s10750-021-04540-x>.
- Falkowski, P. G., 1994. The role of phytoplankton photosynthesis in global biogeochemical cycles. *Photosynthesis Research* 39: 235–258. <https://doi.org/10.1007/BF00014586>.
- Falkowski, P. G., & J. A. Raven, 2013. *Aquatic Photosynthesis: Second Edition*. Princeton University Press.
- Fernandez-Jaramillo, A. A., C. Duarte-Galvan, L. M. Contreras-Medina, I. Torres-Pacheco, R. de J. Romero-Troncoso, R. G. Guevara-Gonzalez, & J. R. Millan-Almaraz, 2012. Instrumentation in Developing Chlorophyll Fluorescence Biosensing: A Review. *Molecular Diversity Preservation International. Sensors* 12: 11853–11869. <https://doi.org/10.3390/s120911853>.
- Field, C. B., M. J. Behrenfeld, J. T. Randerson, & P. Falkowski, 1998. Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *Science* 281: 237–240. <https://doi.org/10.1126/science.281.5374.237>.
- Fodorpataki, L., J. Geráj, H. Deák, S. Barna, & B. Kovács, 2013. Influence of inorganic nutrients on parameters of biomass production in a local strain of the microalga *Scenedesmus acuminatus*. *Contribuții Botanice* 48: 83–94.
- Földi, A., É. Ács, I. Grigorszky, L. Ector, C. E. Wetzel, G. Várbiro, K. T. Kiss, P. Dobosy, Z. Trábert, A. K. Borsodi, & M. Duleba, 2018. Unexpected consequences of bombing. Community level response of epiphytic diatoms to environmental stress in a saline bomb crater pond area. *PLOS ONE* 13: e0205343. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205343>.
- Fox, J., & S. Weisberg, 2018. *An R companion to applied regression*. Sage publications.
- Fritz, S. C., B. F. Cumming, F. Gasse, & K. R. Laird, 2010. Diatoms as indicators of hydrologic and climatic change in saline lakes. In J. P. Smol & E. F. Stoermer (Eds.), *The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences* (pp. 186–208). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511763175.011>
- Fryer, M. J., 1992. The antioxidant effects of thylakoid Vitamin E (α -tocopherol). *Plant, Cell & Environment* 15: 381–392. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1992.tb00988.x>.
- Gautam, S., L. K. Pandey, V. Vinayak, & A. Arya, 2017. Morphological and physiological alterations in the diatom *Gomphonema pseudoaugur* due to heavy metal stress. *Ecological Indicators* 72: 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.08.002>.
- Gémes, B., E. Takács, P. Gádoros, A. Barócsi, L. Kocsányi, S. Lenk, A. Csákányi, S. Kautny, L. Domján, G. Szarvas, N. Adányi, A. Nabok, M. Mörtl, & A. Székács, 2021. Development of an Immunofluorescence Assay Module for Determination of the Mycotoxin Zearalenone in Water. *Toxins* 13: 182. <https://doi.org/10.3390/toxins13030182>.

- George, G., 2010. The Impact of Climate Change on European Lakes. In George, G. (ed) The Impact of Climate Change on European Lakes. Springer Netherlands, Dordrecht. pp. 1–13. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2945-4_1
- Gerrath, J.F., Gerrath, J.A., Mathhes, U., Larson, D.W. (2000) Endolithic algae and cyanobacteria from cliffs of the Niagara Escarpment, Ontario, Canada. *Canadian Journal of Botany* 78: 807–815. <https://doi.org/10.1139/b00-042>
- Gichner, T., M. Menke, D. A. Stavreva, & I. Schubert, 2000. Maleic hydrazide induces genotoxic effects but no DNA damage detectable by the Comet assay in tobacco and field beans. Oxford University Press. *Mutagenesis* 15: 385–389. <https://doi.org/10.1093/mutage/15.5.385>
- Gilliom, R. J. 2007. Pesticides in U.S. streams and groundwater. *Environmental Science & Technology*, 41(10), 3408–3414. <https://doi.org/10.1021/es072531u>
- Glagoleva, T. N., A. N. Glagolev, M. V. Gusev, & K. A. Nikitina, 1980. Protonmotive force supports gliding in cyanobacteria. *FEBS Letters* 117: 49–53.
- Glibert, P. M., 2017. Eutrophication, harmful algae and biodiversity—Challenging paradigms in a world of complex nutrient changes. *Marine Pollution Bulletin* 124: 591–606. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.027>
- Gonçalves, S., S. F. P. Almeida, E. Figueira, & M. Kahlert, 2019. Valve teratologies and Chl c in the freshwater diatom *Tabellaria flocculosa* as biomarkers for metal contamination. *Ecological Indicators* 101: 476–485. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.01.032>.
- Govindjee, G., 1995. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence. *Australian Journal of Plant Physiology* 22: 131–160. <https://doi.org/10.1071/PP9950131>
- Govindjee, G., A. Stirbet, J. S. Lindsey, & H. Scheer, 2024. On the Pelletier and Caventou (1817, 1818) papers on chlorophyll and beyond. *Photosynthesis Research* 160: 55–60. <https://doi.org/10.1007/s11120-024-01081-x>.
- Gregor, J., & B. Maršálek, 2004. Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a: a comparative study of in vitro, in vivo and in situ methods. *Water Research* 38: 517–522. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.033>.
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. 2025. *AlgaeBase*. National University of Ireland, Galway. Retrieved December 4, 2025, from <https://www.algaebase.org> (Accessed: 2026. január 28.).
- Hagen, C., K. Grunewald, S. Schmidt, & J. Müller, 2000. Accumulation of secondary carotenoids in flagellates of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyta) is accompanied by an increase in per unit chlorophyll productivity of photosynthesis. *European Journal of Phycology* 35: 75–82. <https://doi.org/10.1080/09670260010001735651>.
- Hamm, C. E., R. Merkel, O. Springer, P. Jurkojc, C. Maier, K. Prechtel, & V. Smetacek, 2003. Architecture and material properties of diatom shells provide effective mechanical protection. *Nature* 421: 841–843. <https://doi.org/10.1038/nature01416>

- Hammer, U. T., 1981. 5. Primary production in saline lakes - A review. *Hydrobiologia* 81–82: 47–57. <https://doi.org/10.1007/BF00048705>.
- Hammer, U. T., 1986. *Saline lake ecosystems of the world*. Springer Science & Business Media.
- Hammer, U. T., 1990. The effects of climate change on the salinity, water levels and biota of Canadian prairie saline lakes. *SIL Proceedings, 1922-2010* 24: 321–326. <https://doi.org/10.1080/03680770.1989.11898751>.
- Hansen, J., M. Sato, P. Hearty, R. Ruedy, M. Kelley, V. Masson-Delmotte, G. Russell, G. Tselioudis, J. Cao, & E. Rignot, 2015. Ice melt, sea level rise and superstorms: evidence from paleoclimate data, climate modeling, and modern observations that 2° C global warming is highly dangerous. *Atmospheric Chemistry & Physics Discussions* 15: 3761–3812. <https://doi.org/10.5194/acp-16-3761-2016>.
- Hansmann, E. W., C. B. Lane, & J. D. Hall, 1971. A Direct Method of Measuring Benthic Primary Production in Streams¹. *Limnology and Oceanography* 16: 822–826. <https://doi.org/10.4319/lo.1971.16.5.0822>.
- Harley, C. D. G., A. Randall Hughes, K. M. Hultgren, B. G. Miner, C. J. B. Sorte, C. S. Thornber, L. F. Rodriguez, L. Tomanek, & S. L. Williams, 2006. The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters* 9: 228–241. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00871.x>.
- Haseena, M., Malik, M. F., Javed, A., Arshad, S., Asif, N., Zulfiqar, S., & Hanif, J. 2017. Water pollution and human health. *Environmental Risk Assessment and Remediation* 1: 16–19. <https://doi.org/10.4066/2529-8046.100020>
- Hasegawa, P. M., R. A. Bressan, J.-K. Zhu, & H. J. Bohnert, 2000. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 463–499. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.463>.
- Hatch, M. D., 2005. C4 photosynthesis: discovery and resolution. In Govindjee, J. T. Beatty, H. Gest, & J. F. Allen (eds) *Discoveries in Photosynthesis*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg. pp. 875–880.
- Heino, J., 2005. Positive relationship between regional distribution and local abundance in stream insects: a consequence of niche breadth or niche position? *Ecography* 28: 345–354. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2005.04151.x>.
- Herbert, E. R., P. Boon, A. J. Burgin, S. C. Neubauer, R. B. Franklin, M. Ardón, K. N. Hopfensperger, L. P. M. Lamers, & P. Gell, 2015. A global perspective on wetland salinization: ecological consequences of a growing threat to freshwater wetlands. *Ecosphere* 6: art206. <https://doi.org/10.1890/ES14-00534.1>.
- Higgins, M. J., P. Molino, P. Mulvaney, & R. Wetherbee, 2003. The Structure and Nanomechanical Properties of the Adhesive Mucilage That Mediates Diatom-Substratum Adhesion and Motility. *Journal of Phycology* 39: 1181–1193. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2003.03-027.x>.

- Hill, W. R., 1996. Effects of light. In R. J. Stevenson, M. L. Bothwell & R. L. Lowe (Eds.), *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems* (pp. 121–148). Academic Press.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & Jarvis, A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology: A Journal of the Royal Meteorological Society* 25: 1965–1978. <https://doi.org/10.1002/joc.1276>
- Hitachi, P. M., K. Yamada, & S. Takayama, 1975. Brief Communication: Cytologic Changes Induced in Rat Liver Cells by ShortTerm Exposure to Chemical Substances. *Journal of the National Cancer Institute* 54: 1245–1247.
- Holt, E. A., & S. W. Miller, 2011. Bioindicators: Using organisms to measure. *Nature* 3: 8–13.
- Hopkins, W. G., & N. P. A. Hüner, 2004. *Plant environmental stress physiology. Introduction to plant physiology*. pp. 459-491.
- Horváth, Z., C. F. Vad, L. Vörös, & E. Boros, 2013. The keystone role of anostracans and copepods in European soda pans during the spring migration of waterbirds. *Freshwater Biology* 58: 430–440. <https://doi.org/10.1111/fwb.12071>.
- Howarth, R., K. Ramakrishna, E. Choi, R. Elmgren, L. Martinelli, A. Mendoza, W. Moomaw, C. Palm, R. Roy, & M. Scholes, 2005. *Nutrient management. Island Press Washington, DC. Ecosystems and human wellbeing: policy responses* 3: 295–2311.
- Hsieh-Lo, M., G. Castillo, M. A. Ochoa-Becerra, & L. Mojica, 2019. Phycocyanin and phycoerythrin: Strategies to improve production yield and chemical stability. *Algal Research* 42: 101600. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101600>.
- Huang, Y., S. Thomson, W. Molin, K. Reddy, & H. Yao, 2012. Early Detection of Soybean Plant Injury from Glyphosate by Measuring Chlorophyll Reflectance and Fluorescence. *Journal of Agricultural Science* 4: p117. <https://doi.org/10.5539/jas.v4n5p117>.
- Hughes, J. C., & J. W. G. Lund, 1962. The rate of growth of *asterionella formosa* Hass. in relation to its ecology. *Archiv für Mikrobiologie* 42: 117–129. <https://doi.org/10.1007/BF00408168>.
- Huizing, H. J., H. Rietema, & J. H. Sietsma, 1979. Cell wall constituents of several siphonous green algae in relation to morphology and taxonomy. *British Phycological Journal* 14: 25–32. <https://doi.org/10.1080/00071617900650051>.
- Hulme, P. E., 2017. Climate change and biological invasions: evidence, expectations, and response options. *Biological Reviews* 92: 1297–1313. <https://doi.org/10.1111/brv.12282>.
- Humphrey, A. M., 1980. Chlorophyll. *Food Chemistry* 5: 57–67. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(80\)90064-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(80)90064-3).
- Hunsche, M., K. Bürling, & G. Noga, 2011. Spectral and time-resolved fluorescence signature of four weed species as affected by selected herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 101: 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.07.002>.

Hutchinson, G. E., 1957. Concluding Remarks. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 22: 415–427. <https://doi.org/10.1101/SQB.1957.022.01.039>.

Imberty, A., R. Goldberg, & A.-M. Catesson, 1984. Tetramethylbenzidine and *p*-phenylenediamine-pyrocatechol for peroxidase histochemistry and biochemistry: Two new, non-carcinogenic chromogens for investigating lignification process. *Plant Science Letters* 35: 103–108. [https://doi.org/10.1016/0304-4211\(84\)90182-2](https://doi.org/10.1016/0304-4211(84)90182-2).

Irwin, A. J., A. M. Nelles, & Z. V. Finkel, 2012. Phytoplankton niches estimated from field data. *Limnology and Oceanography* 57: 787–797. <https://doi.org/10.4319/lo.2012.57.3.0787>.

Jahnke, J., D. M. Mahlmann, P. Jacobs, & U. B. Priefer, 2011. The influence of growth conditions on the cell dry weight per unit biovolume of *Klebsormidium flaccidum* (Charophyta), a typical ubiquitous soil alga. *Journal of Applied Phycology* 23: 655–664. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9557-z>.

Jones, B. E., W. D. Grant, A. W. Duckworth, & G. G. Owenson, 1998. Microbial diversity of soda lakes. *Extremophiles* 2: 191–200. <https://doi.org/10.1007/s007920050060>.

Joset, F., R. Jeanjean, & M. Hagemann, 1996. Dynamics of the response of cyanobacteria to salt stress: Deciphering the molecular events. *Physiologia Plantarum* 96: 738–744. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00251.x>.

Jyothi, K., M. Krishna Prasad, & G. Mohan Narasimha Rao, 2016. Algae in fresh water ecosystem. *Phykos* 46: 25–31.

Kahlert, M., & B. G. McKie, 2014. Comparing new and conventional methods to estimate benthic algal biomass and composition in freshwaters. *Environmental Science: Processes & Impacts* 16: 2627–2634. <https://doi.org/10.1039/C4EM00326H>.

Kalaji, H. M., G. Schansker, M. Brestic, F. Bussotti, A. Calatayud, L. Ferroni, V. Goltsev, L. Guidi, A. Jajoo, P. Li, P. Losciale, V. K. Mishra, A. N. Misra, S. G. Nebauer, S. Pancaldi, C. Penella, M. Pollastrini, K. Suresh, E. Tambussi, M. Yannicari, M. Zivcak, M. D. Cetner, I. A. Samborska, A. Stirbet, K. Olsovska, K. Kunderlikova, H. Shelonzek, S. Rusinowski, & W. Bąba, 2017. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynthesis Research* 132: 13–66. <https://doi.org/10.1007/s11120-016-0318-y>.

Kanwel, S., Gulzar, F., Atofaysan, H., Tanriverdiyev, S., & Jing, H. (2025). Toxic metal pollution in freshwater ecosystems: A systematic review of assessment methods using environmental and statistical indices. *Marine Pollution Bulletin* 218: 118028. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118028>

Kaplan-Levy, R. N., A. Alster-Gloukhovski, Y. Benyamini, & T. Zohary, 2016. Lake Kinneret phytoplankton: integrating classical and molecular taxonomy. *Hydrobiologia* 764: 283–302. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2517-5>.

Kaur, H., Inderjit, & P. C. Bhowmik, 2004. Phytotoxicity of isoxaflutole to *Phalaris minor* Retz. *Plant and Soil* 258: 161–168. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000016547.02218.c8>.

- Kautsky, H., & A. Hirsch, 1931. Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation. *Naturwissenschaften* 19: 964–964. <https://doi.org/10.1007/BF01516164>.
- Kee, S. C., & P. S. Nobel, 1986. Concomitant Changes in High Temperature Tolerance and Heat-Shock Proteins in Desert Succulents 1. *Plant Physiology* 80: 596–598. <https://doi.org/10.1104/pp.80.2.596>.
- Keresztes, Z. G., T. Felföldi, B. Somogyi, G. Székely, N. Dragoş, K. Márialigeti, C. Bartha, & L. Vörös, 2012. First record of picophytoplankton diversity in Central European hypersaline lakes. *Extremophiles* 16: 759–769. <https://doi.org/10.1007/s00792-012-0472-x>.
- Khan, M. N., & F. Mohammad, 2014. Eutrophication: Challenges and Solutions. In Ansari, A. A., & S. S. Gill (eds) *Eutrophication: Causes, Consequences and Control: Volume 2*. Springer Netherlands, Dordrecht. pp. 1–15. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7814-6_1
- Kies, L., 1997. Distribution, biomass and production of planktonic and benthic algae in the Elbe Estuary. *Oceanographic Literature Review*. 11, 1328.
- Kihlman, B. A., Hartley-Asp, H. B., Nilsson, K., & Sturelid, S. 1973. Caffeine potentiation of chromosome damage induced in plant and animal cells by chemical and physical agents. *Mutation Research* 17: 271–275. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(73\)90177-2](https://doi.org/10.1016/0027-5107(73)90177-2)
- King, O., R. Smith, R. Mann, & M. Warne, 2017. Proposed aquatic ecosystem protection guideline values for pesticides commonly used in the Great Barrier Reef catchment area: Part 1 – 2,4-D, Ametryn, Diuron, Glyphosate, Hexazinone, Imazapic, Imidacloprid, Isoxaflutole, Metolachlor, Metribuzin, Metsulfuron-methyl, Simazine and Tebuthiuron. Department of Science, Information Technology and Innovation, Brisbane, Australia.
- Kiss, K. T., É. Ács, & A. Kovács, 1994. Ecological observations on *Skeletonema potamos* (Weber) Hasle in the River Danube, near Budapest (1991–92, daily investigations). *Hydrobiologia* 289: 163–170.
- Klátyik, S., E. Takács, M. Mörtl, A. Földi, Z. Trábert, É. Ács, B. Darvas, & A. Székács, 2017. Dissipation of the herbicide active ingredient glyphosate in natural water samples in the presence of biofilms. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 97: 901–921. <https://doi.org/10.1080/03067319.2017.1373770>.
- Klátyik, S., Takács, E., Barócsi, A., Lenk, S., Kocsányi, L., Darvas, B. and Székács, A. 2024: Hormesis, the individual and combined phytotoxicity of the components of glyphosate-based formulations on algal growth and photosynthetic activity. – *Toxics* 12: 257. <https://doi.org/10.3390/toxics12040257>
- Kligerman, A. D., & S. E. Bloom, 1975. A cytogenetics model for the study of chromosome aberrations in fishes. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects* 31: 334–335.
- Kooistra, W. H. C. F., Gersonde, R., Medlin, L. K., & Mann, D. G., 2007. The origin and evolution of the diatoms: Their adaptation to a planktonic existence. In P. G. Falkowski & A. H. Knoll (Eds.), *Evolution of Primary Producers in the Sea* (pp. 207–249). Elsevier/Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012370518-1/50012-6>

- Krause, G. H., & E. Weis, 1984. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology: II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynthesis Research* 5: 139–157. <https://doi.org/10.1007/BF00028527>.
- Krieger, K. A., D. B. Baker, & J. W. Kramer, 1988. Effects of herbicides on stream Aufwuchs productivity and nutrient uptake. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 17: 299–306. <https://doi.org/10.1007/BF01055166>.
- Krienitz, L., C. Bock, H. Nozaki, & M. Wolf, 2011. SSU rRNA gene phylogeny of morphospecies affiliated to the bioassay alga “*Selenastrum capricornutum*” recovered the polyphyletic origin of crescent-shaped chlorophyta. *Journal of Phycology* 47: 880–893. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01010.x>.
- Kübler, J. E., & I. R. Davison, 1993. High-temperature tolerance of photosynthesis in the red alga *Chondrus crispus*. *Marine Biology* 117: 327–335. <https://doi.org/10.1007/BF00345678>.
- Lamberti, G. A., L. R. Ashkenas, S. V. Gregory, & A. D. Steinman, 1987. Effects of Three Herbivores on Periphyton Communities in Laboratory Streams. *Journal of the North American Benthological Society* 6: 92–104. <https://doi.org/10.2307/1467219>.
- Lanasa, S., M. Niedzwiecki, K. P. Reber, A. East, J. D. Sivey, & C. J. Salice, 2022. Comparative Toxicity of Herbicide Active Ingredients, Safener Additives, and Commercial Formulations to the Nontarget Alga *Raphidocelis subcapitata*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 41: 1466–1476. <https://doi.org/10.1002/etc.5327>.
- Lange-Bertalot, H., G. Hofmann, M. Werum, M. Kelly, & M. Cantonati, 2017. Freshwater benthic diatoms of Central Europe: over 800 common species used in ecological assessment. Koeltz Botanical Books Schmitten-Oberreifenberg.
- Lavoie, I., P. B. Hamilton, S. Morin, S. Kim Tiam, M. Kahlert, S. Gonçalves, E. Falasco, C. Fortin, B. Gontero, D. Heudre, M. Kojadinovic-Sirinelli, K. Manoylov, L. K. Pandey, & J. C. Taylor, 2017. Diatom teratologies as biomarkers of contamination: Are all deformities ecologically meaningful? *Ecological Indicators* 82: 539–550. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.06.048>.
- Lázár, D., E. Takács, M. Mörtl, S. Klátyik, A. Barócsi, L. Kocsányi, S. Lenk, L. Domján, G. Szarvas, E. Lengyel, & A. Székács, 2023. Application of a Fluorescence-Based Instrument Prototype for Chlorophyll Measurements and Its Utility in an Herbicide Algal Ecotoxicity Assay. *Water* 15: 1866. <https://doi.org/10.3390/w15101866>.
- Le, V.-G., M.-K. Nguyen, H.-L. Nguyen, V.-A. Thai, V.-R. Le, Q. M. Vu, P. Asaithambi, S. W. Chang, & D. D. Nguyen, 2024. Ecotoxicological response of algae to contaminants in aquatic environments: a review. *Environmental Chemistry Letters* 22: 919–939. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01680-5>.
- Leatherbarrow, R., 2009. GraFit data analysis software for Windows. 7.0. Erithacus Software Ltd. Horley.
- Lee, R. E., 2018. *Phycology*. Cambridge University Press.

- Lehman, J. T., D. B. Botkin, & G. E. Likens, 1975. The assumptions and rationales of a computer model of phytoplankton population dynamics. *Limnology and Oceanography* 20: 343–364. <https://doi.org/10.4319/lo.1975.20.3.0343>.
- Lengyel, E., A. W. Kovács, J. Padisák, & C. Stenger-Kovács, 2015. Photosynthetic characteristics of the benthic diatom species *Nitzschia frustulum* (Kützing) Grunow isolated from a soda pan along temperature-, sulfate- and chloride gradients. *Aquatic Ecology* 49: 401–416. <https://doi.org/10.1007/s10452-015-9533-4>.
- Lengyel, E., J. Padisák, É. Hajnal, B. Szabó, A. Pellingner, & C. Stenger-Kovács, 2016. Application of benthic diatoms to assess efficiency of conservation management: a case study on the example of three reconstructed soda pans, Hungary. *Hydrobiologia* 777: 95–110. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2768-9>.
- Lengyel, E., T. Pálmai, J. Padisák, & C. Stenger-Kovács, 2019. Annual hydrological cycle of environmental variables in astatic soda pans (Hungary). *Journal of Hydrology* 575: 1188–1199. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2019.06.015>.
- Lengyel, E.; Zsuga-Biró, R.; Hubai, K., 2025. Physiological and ecotoxicological effects of glyphosate on the green algae *Raphidocelis subcapitata*. *Studia Botanica Hungarica* 56: 141–154. <https://doi.org/10.17110/StudBot.2025.56.1.141>
- Lenk, S., P. Gádoros, L. Kocsányi, & A. Barócsi, 2016. Teaching laser-induced fluorescence of plant leaves. *European Journal of Physics* 37: 064003. <https://doi.org/10.1088/0143-0807/37/6/064003>.
- Levine, M., 2021. Fluorescence-Based Sensing of Pesticides Using Supramolecular Chemistry. *Frontiers in Chemistry* 9:616815. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.616815>.
- Lewis, K. A., J. Tzilivakis, D. J. Warner, & A. Green, 2016. An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 22: 1050–1064. <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>.
- Lewis, L. A., & R. M. McCourt, 2004. Green algae and the origin of land plants. *American Journal of Botany* 91: 1535–1556. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.10.1535>.
- Lewis, W. M., W. A. Wurtsbaugh, & H. W. Paerl, 2011. Rationale for Control of Anthropogenic Nitrogen and Phosphorus to Reduce Eutrophication of Inland Waters. *Environmental Science & Technology* 45: 10300–10305. <https://doi.org/10.1021/es202401p>.
- Leyland, B., Boussiba, S., & Khozin-Goldberg, I., 2020. A review of diatom lipid droplets. *Biology* 9: 38. <https://doi.org/10.3390/biology9020038>.
- Lichtenthaler, H. K., & F. Babani, 2000. Detection of photosynthetic activity and water stress by imaging the red chlorophyll fluorescence. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 889–895. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)01199-2](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)01199-2).
- Lichtenthaler, H. K., C. Buschmann, & M. Knapp, 2005. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio

- RFd of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica* 43: 379–393. <https://doi.org/10.1007/s11099-005-0062-6>.
- Lichtenthaler, H. K., & J. A. Miehe, 1997. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends in Plant Science* 2: 316–320. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)89954-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)89954-2).
- Liu, X., G. Zhang, J. Zhang, Y. J. Xu, Y. Wu, Y. Wu, G. Sun, Y. Chen, & H. Ma, 2020. Effects of Irrigation Discharge on Salinity of a Large Freshwater Lake: A Case Study in Chagan Lake, Northeast China. *Water* 12: 2112. <https://doi.org/10.3390/w12082112>.
- Livingstone, D., & A. Lotter, 1998. The relationship between air and water temperatures in lakes of the Swiss Plateau. *Journal of Paleolimnology* 19: 181–198. <https://doi.org/10.1023/A:1007904817619>.
- Lobov, V. P., 1971. The effect of maleic hydrazide on the biosynthesis of protein, RNA and DNA in roots of pea seedlings. *Fiziologiya Rastenii* 18:116-120.
- Lorenzen, C. J., 1967. Determination of Chlorophyll and Pheo-Pigments: Spectrophotometric Equations. *Limnology and Oceanography* 12: 343–346. <https://doi.org/10.4319/lo.1967.12.2.0343>.
- Louchart, X., & M. Voltz, 2007. Aging Effects on the Availability of Herbicides to Runoff Transfer. American Chemical Society. *Environmental Science & Technology* 41: 1137–1144. <https://doi.org/10.1021/es061186q>.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, & R. J. Randall, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193: 265–275.
- Ma, J., S. Wang, P. Wang, L. Ma, X. Chen, & R. Xu, 2006. Toxicity assessment of 40 herbicides to the green alga *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63: 456–462. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.12.001>.
- MacBean, C., 2012. *The pesticide manual: a world compendium*. BCPC.
- MacIntyre, H. L., E. Lawrenz, & T. L. Richardson, 2010. Taxonomic Discrimination of Phytoplankton by Spectral Fluorescence. In Suggett, D. J., O. Prášil, & M. A. Borowitzka (eds) *Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications*. Springer Netherlands, Dordrecht. pp. 129–169. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9268-7_7.
- Madhuri, & U. Sharma, 2020. How do farmers perceive climate change? A systematic review. *Climatic Change* 162: 991–1010. <https://doi.org/10.1007/s10584-020-02814-2>.
- Majer-Baranyi, K., A. Barócsi, P. Gádoros, L. Kocsányi, A. Székács, & N. Adányi, 2022. Development of an immunofluorescent capillary sensor for the detection of zearalenone mycotoxin. *MDPI. Toxins* 14: 866. <https://doi.org/10.3390/toxins14120866>.
- Malapascua, J. R. F., C. G. Jerez, M. Sergejevová, F. L. Figueroa, & J. Masojídek, 2014. Photosynthesis monitoring to optimize growth of microalgal mass cultures: application of chlorophyll fluorescence techniques. *Aquatic Biology* 22: 123–140. <https://doi.org/10.3354/ab00597>.

- Mann, D. G., 1984. An ontogenetic approach to diatom systematics. In Proceedings of the 7th International Diatom Symposium. O. Koeltz Koenigstein.
- Mann, D. G., 2011. Size and Sex. In Seckbach, J., & P. Kociolek (eds) The Diatom World. Springer Netherlands, Dordrecht. pp. 145–166. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7_6.
- Manna, G. K., & R. K. Das, 1971. A study on the conjoint effects of two chemicals, ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) and maleic hydrazide (MH) on the bone marrow chromosomes of mice. Proceedings of the Indian Science Congress 58: 635–636.
- Marcano, L., I. Carruyo, A. Del Campo, & X. Montiel, 2004. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. Environmental Research 94: 221–226. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(03\)00121-X](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(03)00121-X).
- Markert, B. A., A. M. Breure, & H. G. Zechmeister, 2003. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. In Trace Metals and other Contaminants in the Environment. Elsevier. pp. 3–39. [https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80131-5](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80131-5).
- Mason, I. M., M. A. J. Guzkowska, C. G. Rapley, & F. A. Street-Perrott, 1994. The response of lake levels and areas to climatic change. Climatic Change 27: 161–197. <https://doi.org/10.1007/BF01093590>.
- Mazzucchi, L., Y. Xu, & P. J. Harvey, 2022. Evaluation of Cellular Uptake and Removal of Chlorpropham in the Treatment of *Dunaliella salina* for Phytoene Production. Marine Drugs 20: 367. <https://doi.org/10.3390/md20060367>.
- Mccombie, A. M., 1959. Some Relations Between Air Temperatures and the Surface Water Temperatures of Lakes. Limnology and Oceanography 4: 252–258. <https://doi.org/10.4319/lo.1959.4.3.0252>.
- McCormick, P. V., & J. Cairns, 1994. Algae as indicators of environmental change. Journal of Applied Phycology 6: 509–526. <https://doi.org/10.1007/BF02182405>.
- McCormick, P. V., & R. J. Stevenson, 1989. Effects of Snail Grazing on Benthic Algal Community Structure in Different Nutrient Environments. Journal of the North American Benthological Society 8: 162–172. <https://doi.org/10.2307/1467634>.
- Meeks, J., E. Campbell, M. Summers, & F. Wong, 2002. Cellular differentiation in the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. Archives of Microbiology 178: 395–403. <https://doi.org/10.1007/s00203-002-0476-5>.
- Megyeri, J. 1999. Szikes tavak és élőviláguk: vizsgálatok a Kiskunsági Nemzeti Park szikes tavain [Saline ponds and their living organisms: examinations on the saline ponds of the Kiskunság National Park – in Hungarian with English abstract]. Acta Biologica Debrecina – Oecologica Hungarica 9: 161–169.
- Meyer, M. T., E. A. Scribner, & S. J. Kalkhoff, 2007. Comparison of Fate and Transport of Isoxaflutole to Atrazine and Metolachlor in 10 Iowa Rivers. American Chemical Society. Environmental Science & Technology 41: 6933–6939. <https://doi.org/10.1021/es070903t>.

- Milan, M., A. Ferrero, M. Letey, F. De Palo, & F. Vidotto, 2013. Effect of buffer strips and soil texture on runoff losses of flufenacet and isoxaflutole from maize fields. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 48: 1021–1033. <https://doi.org/10.1080/03601234.2013.824239>.
- Millán, A., J. Velasco, C. Gutiérrez-Cánovas, P. Arribas, F. Picazo, D. Sánchez-Fernández, & P. Abellán, 2011. Mediterranean saline streams in southeast Spain: What do we know? *Journal of Arid Environments* 75: 1352–1359. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2010.12.010>.
- Mirnasab, M. A., H. Hashemi, M. R. Samaei, & A. Azhdarpoor, 2021. Advanced removal of water NOM by Pre-ozonation, Enhanced coagulation and Bio-augmented Granular Activated Carbon. *International Journal of Environmental Science and Technology* 18: 3143–3152. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-03039-7>.
- Mitsch, W. J., 2013. Wetland Creation and Restoration. In Levin, S. A. (ed) *Encyclopedia of Biodiversity (Second Edition)*. Academic Press, Waltham. pp. 367–383.
- Mitsch, W. J., & S. E. Jørgensen, 2003. *Ecological engineering and ecosystem restoration*. John Wiley & Sons.
- Molinero, J. C., O. Anneville, S. Souissi, L. Lainé, & D. Gerdeaux, 2007. Decadal changes in water temperature and ecological time series in Lake Geneva, Europe—relationship to subtropical Atlantic climate variability. *Climate Research* 34: 15–23. <https://doi.org/10.3354/cr034015>.
- Moore, R. H., 1950. Several Effects of Maleic Hydrazide on Plants. *American Association for the Advancement of Science. Science* 112: 52–53. <https://doi.org/10.1126/science.112.2898.52>.
- Mueller, T. C., T. B. Moorman, & M. A. Locke, 1992. Detection of Herbicides Using Fluorescence Spectroscopy. *Weed Science* 40: 270–274. <https://doi.org/10.1017/S0043174500057337>.
- Murphy, D. B., & Davidson, M. W., 2012. *Fundamentals of light microscopy and electronic imaging*. John Wiley & Sons.
- Naselli-Flores, L., & J. Padisák, 2023. Ecosystem services provided by marine and freshwater phytoplankton. *Hydrobiologia* 850: 2691–2706. <https://doi.org/10.1007/s10750-022-04795-y>.
- Nazarenko, L., G. A. Schmidt, R. L. Miller, N. Tausnev, M. Kelley, R. Ruedy, G. L. Russell, I. Aleinov, M. Bauer, S. Bauer, R. Bleck, V. Canuto, Y. Cheng, T. L. Clune, A. D. Del Genio, G. Faluvegi, J. E. Hansen, R. J. Healy, N. Y. Kiang, D. Koch, A. A. Lacis, A. N. LeGrande, J. Lerner, K. K. Lo, S. Menon, V. Oinas, J. Perlwitz, M. J. Puma, D. Rind, A. Romanou, M. Sato, D. T. Shindell, S. Sun, K. Tsigaridis, N. Unger, A. Voulgarakis, M.-S. Yao, & J. Zhang, 2015. Future climate change under RCP emission scenarios with GISS ModelE2. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems* 7: 244–267. <https://doi.org/10.1002/2014MS000403>.
- Nielsen, E. S. 1952. The use of radio-active carbon (^{14}C) for measuring organic production in the sea. *Journal du Conseil / ICES Journal of Marine Science* 18: 117–140. <https://doi.org/10.1093/icesjms/18.2.117>

- Nooden, L. D., 1972. Inhibition of nucleic acid synthesis by maleic hydrazide. *Plant and cell physiology* 13: 609–621.
- Odum, H. T., & E. P. Odum, 1955. Trophic structure and productivity of a windward coral reef community on Eniwetok Atoll. *Ecological monographs* 25: 291–320.
- OECD, F., 2011. alga and cyanobacteria, growth inhibition test, Test Guideline 201. *Oecd Guidel. Test. Chem.*
- O’Hare, M. T., A. Baattrup-Pedersen, I. Baumgarte, A. Freeman, I. D. Gunn, A. N. Lázár, R. Sinclair, A. J. Wade, & M. J. Bowes, 2018. Responses of aquatic plants to eutrophication in rivers: a revised conceptual model. *Frontiers Media SA. Frontiers in Plant Science* 9: 451. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00451>
- Oki, T., & S. Kanae, 2006. Global Hydrological Cycles and World Water Resources. American Association for the Advancement of Science. *Science* 313: 1068–1072. <https://doi.org/10.1126/science.1128845>.
- Oksanen, J., G. L. Simpson, F. G. Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin, R. B. O’Hara, P. Solymos, M. H. H. Stevens, & E. Szoecs, 2022. Ordination methods, diversity analysis and other functions for community and vegetation ecologists. *Vegan: Community Ecology Package*.
- Oláh, V., A. Hepp, M. Irfan, & I. Mészáros, 2021. Chlorophyll Fluorescence Imaging-Based Duckweed Phenotyping to Assess Acute Phytotoxic Effects. *Plants* 10: 2763. <https://doi.org/10.3390/plants10122763>.
- Oliver, R. L. 1994. Floating and sinking in gas-vacuolate cyanobacteria. *Journal of Phycology* 30: 161–173. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1994.00161.x>.
- Ondrasek, G., & Z. Rengel, 2021. Environmental salinization processes: Detection, implications & solutions. *Science of The Total Environment* 754: 142432. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142432>.
- O’Neil, J. M., T. W. Davis, M. A. Burford, & C. J. Gobler, 2012. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 14: 313–334. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.027>.
- Ostrofsky, M. L., D. E. Weigel, C. K. Hasselback, & P. A. Karle, 1998. The significance of extracellular production and winter photosynthesis to estimates of primary production in a woodland stream community. *Hydrobiologia* 382: 87–96. <https://doi.org/10.1023/A:1003441206055>.
- Owa, F. W. 2014. Water pollution: Sources, effects, control and management. *International Letters of Natural Sciences* 3: 1–6.
- Pagels, F., R. N. Pereira, A. A. Vicente, & A. C. Guedes, 2021. Extraction of Pigments from Microalgae and Cyanobacteria—A Review on Current Methodologies. *Applied Sciences* 11: 5187. <https://doi.org/10.3390/app11115187>.

- Pajunen, V., Kahlert, M., & Soininen, J. 2020. Stream diatom assemblages as environmental indicators – A cross-regional assessment. *Ecological Indicators* 113: 106183. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106183>.
- Pallett, K. E. 2000. The mode of action of isoxaflutole: A case study of an emerging target site. In A. H. Cobb & R. C. Kirkwood (Eds.), *Herbicides and their mechanisms of action* (pp. 215–238). Sheffield Academic Press / CRC Press.
- Pan, Y., & R. J. Stevenson, 1996. Gradient analysis of diatom assemblages in western Kentucky wetlands. *Journal of Phycology* 32: 222–232. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1996.00222.x>.
- Pandey, L. K., & E. A. Bergey, 2016. Exploring the status of motility, lipid bodies, deformities and size reduction in periphytic diatom community from chronically metal (Cu, Zn) polluted waterbodies as a biomonitoring tool. *Science of The Total Environment* 550: 372–381. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.151>.
- Pandey, S., A. Singh, & S. Mishra, 2017. Dynamism of structure and properties of water molecule. *International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education* 3: 2395–2436.
- Patrick, R., 1961. A study of the numbers and kinds of species found in rivers in eastern United States. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 113: 215–258.
- Pelusi, A., F. Rotolo, A. Gallo, M. I. Ferrante, & M. Montesor, 2020. Effects of elutriates from contaminated coastal sediments on different life cycle phases of planktonic diatoms. *Marine Environmental Research* 155: 104890. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.104890>.
- Pesce, S., A. Bouchez, & B. Montuelle, 2011. Effects of Organic Herbicides on Phototrophic Microbial Communities in Freshwater Ecosystems. In Whitacre, D. M. (ed) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer, New York, NY. pp. 87–124. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0668-6_5.
- Peterson, A. T., J. Soberón, & V. Sánchez-Cordero, 1999. Conservatism of Ecological Niches in Evolutionary Time. *Science* 285: 1265–1267. <https://doi.org/10.1126/science.285.5431.1265>.
- Peterson, G. L., 1983. Determination of total protein. In *Methods in Enzymology*. Academic Press. pp. 95–119.
- Pickett-Heaps, J., 1990. The cell biology of diatom valve formation. *Progress in phycological research* 7: 1–168.
- Platt, T., Gallegos, C. L., & Harrison, W. G. 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *Journal of Marine Research* 38: 687–701.
- Prado, R., R. García Díaz, C. Rioboo, J. Abalde, C. Herrero, & Á. Cid, 2009. Use of the comet assay to evaluate pesticide toxicity on non-target microalgae. Nova Science Publishers.

Pringle, C. M., & J. A. Bowers, 1984. An In Situ Substratum Fertilization Technique: Diatom Colonization on Nutrient-Enriched, Sand Substrata. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 41: 1247–1251. <https://doi.org/10.1139/f84-150>.

R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria.

R Core Team, 2021. R: a language and environment for statistical computing. R Fondation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Räisänen, J., U. Hansson, A. Ullerstig, R. Döscher, L. P. Graham, C. Jones, H. E. M. Meier, P. Samuelsson, & U. Willén, 2004. European climate in the late twenty-first century: regional simulations with two driving global models and two forcing scenarios. *Climate Dynamics* 22: 13–31. <https://doi.org/10.1007/s00382-003-0365-x>.

Ramanarayanan, T., B. Narasimhan, & R. Srinivasan, 2005. Characterization of Fate and Transport of Isoxaflutole, a Soil-Applied Corn Herbicide, in Surface Water Using a Watershed Model. American Chemical Society. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 8848–8858. <https://doi.org/10.1021/jf0508596>.

Reimann, B. E. F., 1964. Deposition of silica inside a diatom cell. *Experimental cell research* 34: 605–608.

Rengasamy, P., 2006. World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany* 57: 1017–1023. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj108>.

Rimet, F., & Bouchez, A. 2012. Life-forms, cell-sizes and ecological guilds of diatoms in European rivers. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 406: 1. <https://doi.org/10.1051/kmae/2012018>

Rimet, F., Ector, L., Dohet, A., & Cauchie, H. M. 2004. Impacts of fluoranthene on diatom assemblages and frustule morphology in indoor microcosms. *Vie et Milieu – Life and Environment* 54: 145–156.

Robinson, A. G., 1960. Effect of maleic hydrazide and other plant growth regulators on the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris), caged on broad bean, *Vicia faba* L. *The Canadian Entomologist* 92: 494–499.

Roessig, J. M., C. M. Woodley, J. J. Cech, & L. J. Hansen, 2004. Effects of global climate change on marine and estuarine fishes and fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 14: 251–275. <https://doi.org/10.1007/s11160-004-6749-0>.

Rogers, J., M. Chen, K. Yang, J. Graham, & K. M. Parker, 2023. Production of Dichloroacetonitrile from Derivatives of Isoxaflutole Herbicide during Water Treatment. *Environmental Science & Technology* 57: 18443–18451. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c06376>.

Round, F. E., R. M. Crawford, & D. G. Mann, 1990. Diatoms: biology and morphology of the genera. Cambridge University Press.

- Saad, A., & Atia, A. 2014. Review on freshwater blue-green algae (Cyanobacteria): occurrence, classification and toxicology. *Bioscience Biotechnology Research Asia* 11: 1319–1325. <https://doi.org/10.13005/bbra/1522>.
- Sabour, B., B. Sbiyyaa, M. Loudiki, B. Oudra, M. Belkoura, & V. Vasconcelos, 2009. Effect of light and temperature on the population dynamics of two toxic bloom forming Cyanobacteria – *Microcystis ichthyoblabe* and *Anabaena aphanizomenoides*. *Chemistry and Ecology* 25: 277–284. <https://doi.org/10.1080/02757540903062525>.
- Sampson, K., & J. D. Pickett-Heaps, 2001. Phallacidin stains the kinetochore region in the mitotic spindle of the green algae *Oedogonium* spp. *Protoplasma* 217: 166–176. <https://doi.org/10.1007/BF01283397>.
- Santo, F. B. de, G. A. Ramos, A. M. R. Filho, C. A. Marchioro, & J. C. Niemeyer, 2020. Ecotoxicity of the isoxaflutole herbicide to soil invertebrates. *Revista de Ciências Agroveterinárias* 19: 217–223. <https://doi.org/10.5965/223811711922020217>.
- Santos, A. M. dos, L. C. Vitorino, B. G. Cruvinel, R. G. Ávila, S. de C. Vasconcelos Filho, P. F. Batista, & L. A. Bessa, 2022. Impacts of Cd Pollution on the Vitality, Anatomy and Physiology of Two Morphologically Different Lichen Species of the Genera *Parmotrema* and *Usnea*, Evaluated under Experimental Conditions. *Diversity* 14: 926. <https://doi.org/10.3390/d14110926>.
- Sarma, Y., & S. N. Tripathi, 1973. Some observations on the effect of colchicine and maleic hydrazide on the karyology of a green alga *Oedogonium acmandrium*. *Elfing. Phykos* 12: 28–35.
- Saros, J. E., & S. C. Fritz, 2000. Changes in the growth rates of saline-lake diatoms in response to variation in salinity, brine type and nitrogen form. *Journal of Plankton Research* 22: 1071–1083. <https://doi.org/10.1093/plankt/22.6.1071>.
- Sarthou, G., K. R. Timmermans, S. Blain, & P. Tréguer, 2005. Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research* 53: 25–42. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2004.01.007>.
- Schaffer, J. D., & M. J. Sebetich, 2004. Effects of Aquatic Herbicides on Primary Productivity of Phytoplankton in the Laboratory. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 72: 1032–1037. <https://doi.org/10.1007/s00128-004-0347-7>.
- Schagerl, M., R. Siedler, E. Konopáčová, & S. S. Ali, 2022. Estimating Biomass and Vitality of Microalgae for Monitoring Cultures: A Roadmap for Reliable Measurements. *Cells* 11: 2455. <https://doi.org/10.3390/cells11152455>.
- Schindler, D. W., 2022. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Limnology and Oceanography* 67: 1234–1248.
- Schmid, A. M. M., 1980. Valve morphogenesis in diatoms: A pattern-related filamentous system in pennates and the effect of APM, colchicines and osmotic pressure. *Nova Hedwigia* 33: 811–847.
- Schmidt, A., Fehér, G., 2001. Kiskunsági szikes tavak (KNP II) vízkémiai és algológiai

vizsgálata (1998–1999). *Hidrológiai Közlöny* 81: 455–456.

Schmitt-Jansen, M., & R. Altenburger, 2005. Toxic effects of isoproturon on periphyton communities—a microcosm study. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 62: 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.09.016>

Schoene, D. L., & O. L. Hoffmann, 1949. Maleic Hydrazide, a Unique Growth Regulant. *Science* 109: 588–590. <https://doi.org/10.1126/science.109.2841.588.b>.

Scholten, J. C. M., S. B. Joye, J. T. Hollibaugh, & J. C. Murrell, 2005. Molecular Analysis of the Sulfate Reducing and Archaeal Community in a Meromictic Soda Lake (Mono Lake, California) by Targeting 16S rRNA, *mcrA*, *apsA*, and *dsrAB* Genes. *Microbial Ecology* 50: 29–39. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0085-8>.

Schreiber, U., & C. Klughammer, 2021. Evidence for variable chlorophyll fluorescence of photosystem I in vivo. *Photosynthesis Research* 149: 213–231. <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00814-y>.

Seckbach, J., & R. Gordon (eds), 2019. *Diatoms: Fundamentals and Applications*. Wiley.

Seguin, F., F. Le Bihan, C. Lebouranger, & A. Bérard, 2002. A risk assessment of pollution: induction of atrazine tolerance in phytoplankton communities in freshwater outdoor mesocosms, using chlorophyll fluorescence as an endpoint. *Water Research* 36: 3227–3236. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00013-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00013-1).

Sellner, K. G., G. J. Doucette, & G. J. Kirkpatrick, 2003. Harmful algal blooms: causes, impacts and detection. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 30: 383–406. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0074-9>.

Seuront, L., & P. G. Strutton, 2003. Multiscale in Situ Measurements of Intertidal Benthic Production and Respiration. In *Handbook of Scaling Methods in Aquatic Ecology*. CRC Press. pp. 117–128.

Siedlewicz, G., A. Żak, L. Sharma, A. Kosakowska, & K. Pazdro, 2020. Effects of oxytetracycline on growth and chlorophyll *a* fluorescence in green algae (*Chlorella vulgaris*), diatom (*Phaeodactylum tricoratum*) and cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa* and *Nodularia spumigena*). *Oceanologia* 62: 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.oceano.2019.12.002>.

Silva, E., M. A. Daam, & M. J. Cerejeira, 2015. Predicting the aquatic risk of realistic pesticide mixtures to species assemblages in Portuguese river basins. *Journal of Environmental Sciences* 31: 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.11.006>.

Smith, M. B., J. N. Glover, S. M. Eismeier, S. M. Ellis, E. M. Lee, T. A. Lee, K. T. Lewis, N. W. Smith, K. Link, & B. W. Hicks, 2020. Detection of nitroaromatics by quenching of fluorescence from chloro-phyll in detergent micelles. *Journal of Undergraduate Chemistry Research* 19: 1.

Sobiechowska-Sasim, M., J. Stoń-Egiert, & A. Kosakowska, 2014. Quantitative analysis of extracted phycobilin pigments in cyanobacteria—an assessment of spectrophotometric and

- spectrofluorometric methods. *Journal of Applied Phycology* 26: 2065–2074. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0244-3>.
- Soininen, J., 2007. Environmental and spatial control of freshwater diatoms—a review. *Diatom Research* 22: 473–490. <https://doi.org/10.1080/0269249X.2007.9705724>.
- Somerville, C., & J. Browse, 1991. Plant Lipids: Metabolism, Mutants, and Membranes. *Science* 252: 80–87. <https://doi.org/10.1126/science.252.5002.80>.
- Somogyi, B., L. Vörös, K. Pálffy, G. Székely, C. Bartha, & Z. G. Keresztes, 2014. Picophytoplankton predominance in hypersaline lakes (Transylvanian Basin, Romania). *Extremophiles* 18: 1075–1084. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0685-2>.
- Souffreau, C., P. Vanormelingen, E. Verleyen, K. Sabbe, & W. Vyverman, 2010. Tolerance of benthic diatoms from temperate aquatic and terrestrial habitats to experimental desiccation and temperature stress. *Phycologia* 49: 309–324. <https://doi.org/10.2216/09-30.1>.
- Spilmont, N., D. Davoult, & A. Migné, 2006. Benthic primary production during emersion: in situ measurements and potential primary production in the Seine Estuary (English Channel, France). *Marine Pollution Bulletin* 53: 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.09.016>.
- Squires, L. E., S. R. Rushforth, & J. D. Brotherson, 1979. Algal response to a thermal effluent: study of a power station on the provo river, Utah, USA. *Hydrobiologia* 63: 17–32. <https://doi.org/10.1007/BF00021013>.
- Staal, M., F. J. Meysman, & L. J. Stal, 2003. Temperature excludes N₂-fixing heterocystous cyanobacteria in the tropical oceans. *Nature* 425: 504–507. <https://doi.org/10.1038/nature01999>
- Stehle, S., & R. Schulz, 2015. Agricultural insecticides threaten surface waters at the global scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112: 5750–5755. <https://doi.org/10.1073/pnas.1500232112>.
- Steinman, A. D., C. D. McIntire, S. V. Gregory, G. A. Lamberti, & L. R. Ashkenas, 1987. Effects of Herbivore Type and Density on Taxonomic Structure and Physiognomy of Algal Assemblages in Laboratory Streams. *Journal of the North American Benthological Society* 6: 175–188. <https://doi.org/10.2307/1467509>.
- Stenger-Kovács, C., V. B. Béres, K. Buczkó, K. Tapolczai, J. Padisák, G. B. Selmečzy, & E. Lengyel, 2023. Diatom community response to inland water salinization: a review. *Hydrobiologia* 850 : 1–37. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05167-w>
- Stenger-Kovács, C., K. Körmendi, E. Lengyel, A. Abonyi, É. Hajnal, B. Szabó, K. Buczkó, & J. Padisák, 2018. Expanding the trait-based concept of benthic diatoms: Development of trait- and species-based indices for conductivity as the master variable of ecological status in continental saline lakes. *Ecological Indicators* 95: 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.07.026>.

Stenger-Kovács, C., E. Lengye, K. Buczkó, F. M. Tóth, L. O. Crossetti, A. Pellingner, Z. Z. Doma, & J. Padisák, 2014. Vanishing world: alkaline, saline lakes in Central Europe and their diatom assemblages. *Inland Waters* 4: 383–396. <https://doi.org/10.5268/IW-4.4.722>.

Stenger-Kovács, C., & E. Lengyel, 2015. Taxonomical and distribution guide of diatoms in soda pans of Central Europe. *Studia Botanica Hungarica* 46: 3–203. <https://doi.org/10.17110/StudBot.2015.46.Suppl.3>.

Stevenson, R. J., 1997. Scale-Dependent Determinants and Consequences of Benthic Algal Heterogeneity. *Journal of the North American Benthological Society* 16: 248–262. <https://doi.org/10.2307/1468255>.

Stocker, B. D., R. Roth, F. Joos, R. Spahni, M. Steinacher, S. Zaehle, L. Bouwman, Xu-Ri, & I. C. Prentice, 2013. Multiple greenhouse-gas feedbacks from the land biosphere under future climate change scenarios. *Nature Climate Change* 3: 666–672. <https://doi.org/10.1038/nclimate1864>.

Strickland, J. D. H., & T. R. Parsons, 1968. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. Fisheries Research Board of Canada.

Sudhir, P., & S. D. S. Murthy, 2004. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica* 42: 481–486. <https://doi.org/10.1007/S11099-005-0001-6>.

Suggett, D. J., O. Prášil, & M. A. Borowitzka, 2010. *Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications*. Springer.

Sullivan, M. J., & C. A. Currin, 2002. Community Structure and Functional Dynamics of Benthic Microalgae in Salt Marshes. In Weinstein, M. P., & D. A. Kreeger (eds) *Concepts and Controversies in Tidal Marsh Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 81–106.

Sumper, M., & N. Kröger, 2004. Silica formation in diatoms: The function of long-chain polyamines and silaffins. *Journal of Materials Chemistry*. 14: 2059–2065. <https://doi.org/10.1039/B401028K>.

Swietlińska, Z., & J. Zuk, 1978. Cytotoxic effects of maleic hydrazide. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 55: 15–30.

Székács, A. 2021. Herbicide mode of action. In R. Mesnage & J. G. Zaller (Eds.), *Herbicides: Chemistry, Efficacy, Toxicology, and Environmental Impacts* (pp. 41–86). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823674-1.00008-0>

Székács, A., 2022. Development of a Modular, Induced Fluorescence-based Instrument Family–The Aquafluosense Project. *Journal of Central European Green Innovation* 10: 3–13. <https://doi.org/10.33038/jcegi.3483>

Székács, A., M. Mörtl, & B. Darvas, 2015. Monitoring Pesticide Residues in Surface and Ground Water in Hungary: Surveys in 1990–2015. *Journal of Chemistry* 2015: e717948. <https://doi.org/10.1155/2015/717948>.

Takács, E., B. Gémes, F. Szendrei, C. Keszei, A. Barócsi, S. Lenk, L. Domján, M. Mörtl, & A. Székács, 2022. Utilization of a novel immunofluorescence instrument prototype for the

determination of the herbicide glyphosate. *Molecules* 27: 6514. <https://doi.org/10.3390/molecules27196514>

Tang, E. P. Y., W. F. Vincent, D. Proulx, P. Lessard, & J. D. L. Noüe, 1997. Polar cyanobacteria versus green algae for tertiary waste-water treatment in cool climates. *Journal of Applied Phycology* 9: 371–381. <https://doi.org/10.1023/A:1007987127526>.

Tans, P., Keeling, R., NOAA/ESRL (www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/), Scripps Institution of Oceanography. scrippsco2.ucsd.edu/ (Accessed: 2026. január 28.).

Teittinen, A., J. Weckström, & J. Soininen, 2018. Cell size and acid tolerance constrain pond diatom distributions in the subarctic. *Freshwater Biology* 63: 1569–1578. <https://doi.org/10.1111/fwb.13186>.

ter Braak, C. J. F., & C. W. N. Looman, 1986. Weighted averaging, logistic regression and the Gaussian response model. *Vegetatio* 65: 3–11. <https://doi.org/10.1007/BF00032121>.

Thomas, N. A., & R. L. O’Connell, 1966. A Method For Measuring Primary Production By Stream Benthos. *Limnology and Oceanography* 11: 386–392. <https://doi.org/10.4319/lo.1966.11.3.0386>.

T-Krasznai, E., V. Lerf, I. Tóth, T. Kisantal, G. Várbiro, G. Vasas, V. B-Béres, J. Görgényi, Á. Lukács, Z. Kókai, & G. Borics, 2022. Uncertainties of cell number estimation in cyanobacterial colonies and the potential use of sphere packing. *Harmful Algae* 117: 102290. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2022.102290>.

Trebst, A., B. Depka, & H. Holländer-Czytko, 2002. A specific role for tocopherol and of chemical singlet oxygen quenchers in the maintenance of photosystem II structure and function in *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Letters* 516: 156–160. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)02526-7](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)02526-7).

Trebst, A., B. Depka, J. Jäger, & W. Oettmeier, 2004. Reversal of the inhibition of photosynthesis by herbicides affecting hydroxyphenylpyruvate dioxygenase by plastoquinone and tocopheryl derivatives in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Pest Management Science* 60: 669–674. <https://doi.org/10.1002/ps.847>.

Tréguer, P., C. Bowler, B. Moriceau, S. Dutkiewicz, M. Gehlen, O. Aumont, L. Bittner, R. Dugdale, Z. Finkel, & D. Iudicone, 2018. Influence of diatom diversity on the ocean biological carbon pump. *Nature Geoscience* 11: 27–37. <https://doi.org/10.1038/s41561-017-0028-x>

Trobajo, R., E. J. Cox, & X. D. Quintana, 2004. The effects of some environmental variables on the morphology of *Nitzschia frustulum* (Bacillariophyta), in relation its use as a bioindicator. *Schweizerbart’sche Verlagsbuchhandlung. Nova Hedwigia* 79: 433–445. <https://doi.org/10.1127/0029-5035/2004/0079-0433>.

US Geological Survey. Estimated Annual Agricultural Pesticide Use. Pesticide Use Maps—Isoxaflutole. United States US Geological Survey: Reston, VA, USA, 2022. Available online:https://water.usgs.gov/nawqa/pnsp/usage/maps/show_map.php?year=2017&map=ISOXAFLUTOLE&hilo=L&disp=Isoxaflutole (Accessed: 2026. január 28.).

Utermöhl, H., 1958. Methods of collecting plankton for various purposes are discussed. SIL Communications, 1953-1996 9: 1–38. <https://doi.org/10.1080/05384680.1958.11904091>.

Üveges, V., L. Vörös, J. Padisák, & A. W. Kovács, 2011. Primary production of epipsammic algal communities in Lake Balaton (Hungary). *Hydrobiologia* 660: 17–27. <https://doi.org/10.1007/s10750-010-0396-3>.

Van Dok, W., & B. T. Hart, 1996. Akinete Differentiation In *Anabaena Circinalis* (Cyanophyta)¹. *Journal of Phycology* 32: 557–565. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1996.00557.x>.

Verro, R., A. Finizio, S. Otto, & M. Vighi, 2009. Predicting pesticide environmental risk in intensive agricultural areas. II: Screening level risk assessment of complex mixtures in surface waters. *Environmental Science & Technology* 43: 530–537. <https://doi.org/10.1021/es801858h>.

Vierling, E., 1991. The Roles of Heat Shock Proteins in Plants. *Annual Review of Plant Biology* 42: 579–620. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.003051>.

Viman, O. V., I. Oroian, & A. Fleşeriu, 2010. Types of water pollution: point source and nonpoint source. *Bioflux SRL. Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 3: 393–397.

Volpe, C., O. Vadstein, G. Andersen, & T. Andersen, 2021. Nanocosm: a well plate photobioreactor for environmental and biotechnological studies. *The Royal Society of Chemistry. Lab on a Chip* 21: 2027–2039. <https://doi.org/10.1039/D0LC01250E>.

Vredenberg, W. J., 2018. On the quantitative relation between dark kinetics of NPQ-induced changes in variable fluorescence and the activation state of the CF0.CF1.ATPase in leaves. *Photosynthetica* 56: 139–149. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0772-1>.

Walsby, A. E., 1994. Gas vesicles. *Microbiological Reviews* 58: 94–144. <https://doi.org/10.1128/mr.58.1.94-144.1994>.

Wang, B., A. Zarka, A. Trebst, & S. Boussiba, 2003. Astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) As an active photoprotective process under high irradiance *Journal Of Phycology* 39: 1116–1124. <https://Doi.Org/10.1111/J.0022-3646.2003.03-043.X>.

Wang, L., X. Wang, X. Jin, J. Xu, H. Zhang, J. Yu, Q. Sun, C. Gao, & L. Wang, 2017. Analysis of algae growth mechanism and water bloom prediction under the effect of multi-affecting factor. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24: 556–562. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.01.026>.

Wang, L.-J., Y. Fan, R. L. Parsons, G.-R. Hu, P.-Y. Zhang, & F.-L. Li, 2018. A Rapid Method for the Determination of Fucoxanthin in Diatom. *Marine Drugs* 16: 33. <https://doi.org/10.3390/md16010033>.

- Wang, Y., W. Mu, X. Sun, X. Lu, Y. Fan, & Y. Liu, 2020. Physiological response and removal ability of freshwater diatom *Nitzschia palea* to two organophosphorus pesticides. *Chemistry and Ecology* 36: 881–902. <https://doi.org/10.1080/02757540.2020.1784883>.
- Warren, J. K., 2006. *Evaporites: Sediments, Resources and Hydrocarbons*. Springer Science & Business Media.
- Webb, W. L., M. Newton, & D. Starr, 1974. Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*. *Oecologia* 17: 281–291. <https://doi.org/10.1007/BF00345747>.
- Webber, E. R., 1955. Maleic hydrazide as a plant-growth inhibitor. *Plant Physiology* 30: 17-27.
- Weiner, J. A., M. E. DeLorenzo, & M. H. Fulton, 2007. Atrazine induced species-specific alterations in the subcellular content of microalgal cells. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 87: 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2006.06.003>
- Wetzel, R. G., & G. Likens, 2000. *Limnological Analyses*. Springer Science & Business Media.
- Wetzel, R. G., & G. E. Likens, 2013. *Limnological analyses*. Springer Science & Business Media.
- Wickham, H., 2016. Data Analysis. In Wickham, H. (ed) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer International Publishing, Cham. pp. 189–201.
- Wickham, H., M. Averick, J. Bryan, W. Chang, L. McGowan, R. François, G. Grolemond, A. Hayes, L. Henry, J. Hester, M. Kuhn, T. Pedersen, E. Miller, S. Bache, K. Müller, J. Ooms, D. Robinson, D. Seidel, V. Spinu, K. Takahashi, D. Vaughan, C. Wilke, K. Woo, & H. Yutani, 2019. Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software* 4: 1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>.
- Wiens, J. A., D. Stralberg, D. Jongsomjit, C. A. Howell, & M. A. Snyder, 2009. Niches, models, and climate change: Assessing the assumptions and uncertainties. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 19729–19736. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901639106>.
- Williams, W. D., 1967. *The chemical characteristics of lentic surface waters in Australia. Australian inland waters and their fauna*. Australian National University Press, Canberra, 18-77.
- Williams, W. D., 2002. Environmental threats to salt lakes and the likely status of inland saline ecosystems in 2025. *Environmental Conservation* 29: 154–167. <https://doi.org/10.1017/S0376892902000103>.
- Williams, W. D., 2005. Lakes in arid environments. In *The Lakes Handbook: Lake Restoration and Rehabilitation* (Vol. 2, pp. 200–240). Wiley-Blackwell.
- Winter, T. C., & M.-K. Woo, 1990. *Hydrology of lakes and wetlands*. Geological Society of America.

Wisnujati, N. S., 2023. Unveiling the Epoch: Exploring Pesticide Utilization and Trade Trends Globally and Regionally from 1990 to 2020. *SCIENTIA: Journal of Multi Disciplinary Science* 2: 108–121.

Wobbrock, J. O., L. Findlater, D. Gergle, & J. J. Higgins, 2011. The aligned rank transform for nonparametric factorial analyses using only anova procedures. In *Proceedings of the SIGCHI Conference on Human Factors in Computing Systems*. ACM, Vancouver BC Canada. pp. 143–146.

Wurtsbaugh, W. A., H. W. Paerl, & W. K. Dodds, 2019. Nutrients, eutrophication and harmful algal blooms along the freshwater to marine continuum. *WIREs Water* 6: e1373. <https://doi.org/10.1002/wat2.1373>.

WWAP, U., 2003. United Nations world water assessment programme. The world water development report 1: Water for people, water for life. UNESCO: Paris, France . (Accessed: 2026. január 28.).

Yemets, A., O. Stelmakh, & Y. B. Blume, 2008. Effects of the herbicide isopropyl-*N*-phenyl carbamate on microtubules and MTOCs in lines of *Nicotiana sylvestris* resistant and sensitive to its action. *Cell Biology International* 32: 623–629. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2008.01.012>.

Zhang, T., & H. H. P. Fang, 2006. Applications of real-time polymerase chain reaction for quantification of microorganisms in environmental samples. *Applied Microbiology and Biotechnology* 70: 281–289. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0333-6>.

Zhu, C. J., & Y. K. Lee, 1997. Determination of biomass dry weight of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology* 9: 189–194. <https://doi.org/10.1023/A:1007914806640>.

10. Mellékletek

1. Melléklet | Mintavételi helyek és a fajok elterjedésére vonatkozó adatok. (Referencia: fajok azonosításához használt referenciák; Állandóság: a minták százalékos aránya, amelyben a faj előfordult; Dominancia: az adott faj relatív gyakoriságának átlaga/ maximuma).

Név	Hely	GPS	Dátum	Referencia	Állandóság	Dominancia
<i>Nitzschia aurariae</i> Cholnoky	Legény-tó	N47°39,793' / E 16° 48,802'	27.05.2013	Stenger-Kovács and Lengyel, 2015	2 (24,8%)	29,4% / 92,8%
<i>Nitzschia reskovii</i> Ács, Duleba, C.E.Wetzel & Ector	Borsodi-dűlő	N 47°06,815' / E 16°84,000'	20.01.2012	Földi et al., 2018; as <i>Nitzschia</i> <i>frustulum</i> in Stenger-Kovács and Lengyel, 2015, and in Lengyel et al., 2015	4 (78,6%)	17,2% / 93,9%
<i>Nitzschia</i> <i>supralitorea</i> Lange-Bertalot	Böddi-szék	N 46°45,389' / E 9° 08,373'	26.11.2013	Stenger-Kovács and Lengyel, 2015	3 (44,4%)	10% / 56,4%



2. Melléklet | A *Nitzschia*-fajok izolálására használt mikromanipulátor

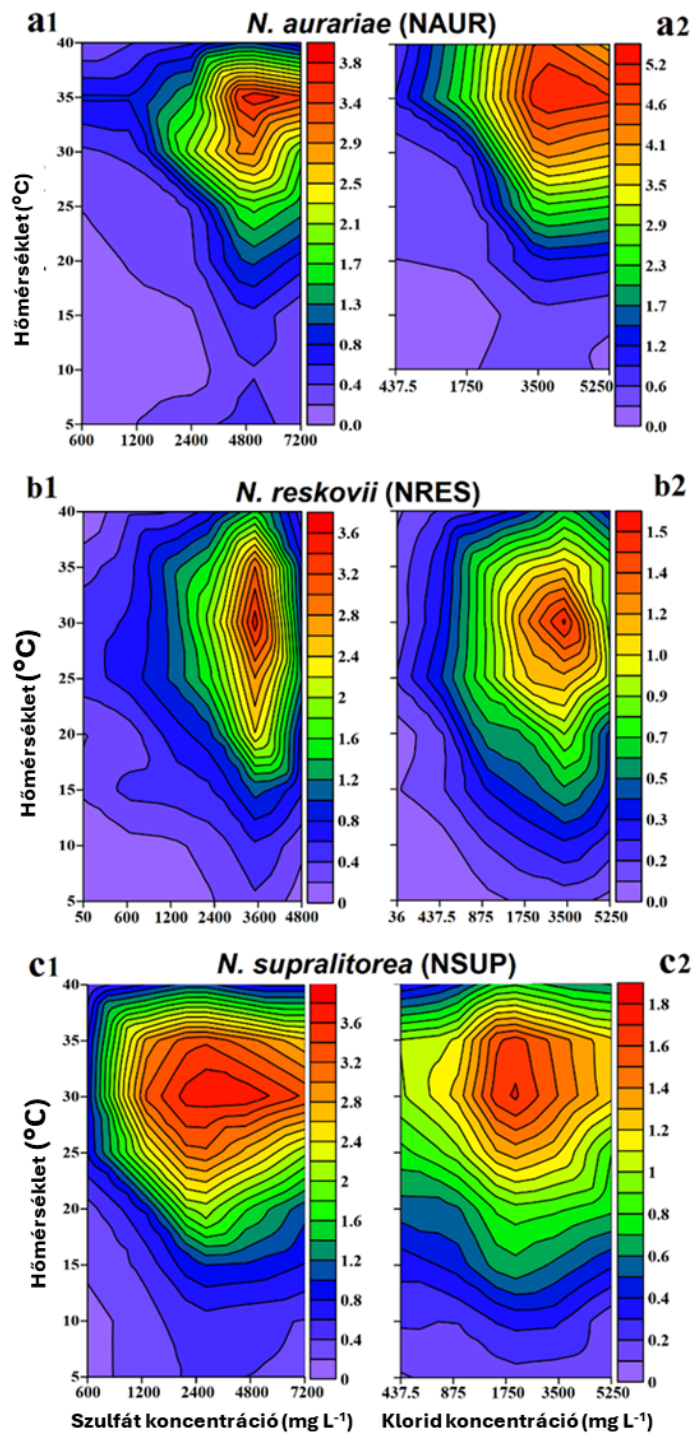
3. melléklet | Módosított Diatóma-tápanyag és -mikrotápanyag

	Törzsoldat (g 100ml ⁻¹)	Tápanyag (ml L ⁻¹)
desztillált víz	-	805
citromsav	0,1	10
földkivonat	-	30
Fe-citrát	0,1	10
K ₂ HPO ₄	0,1	10
Ca(NO ₃) ₂ x 4H ₂ O	0,4	10
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0,25	10
Na ₂ SiO ₃ x H ₂ O	0,5	10
NaHCO ₃	-	5,5g
B ₁₂	-	5 x 10 ⁻⁶ gL ⁻¹

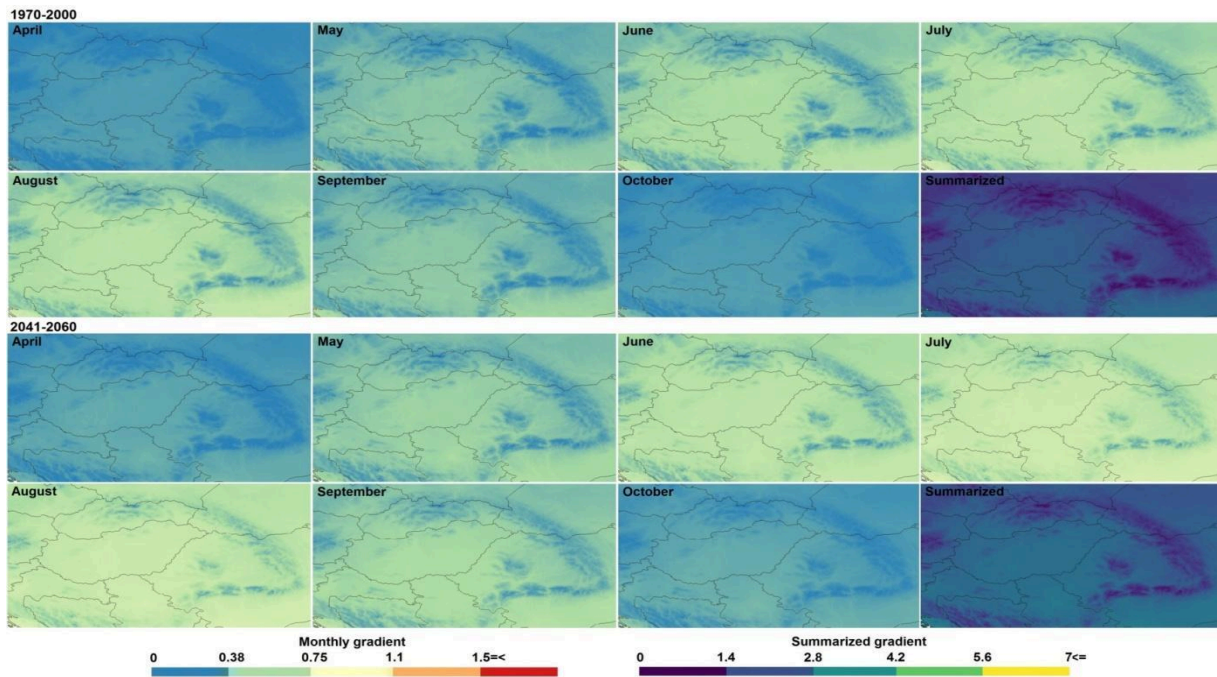
A mikrotápanyag összetevői	Törzsoldat (g 100 mL ⁻¹)	Mikrotápanyag (ml L ⁻¹)
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	0,1	1
MnSO ₄ x 4H ₂ O	0,1	2
H ₃ BO ₃	0,2	5
Co(NO ₃) ₂ x 6H ₂ O	0,02	5
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	0,02	5
CuSO ₄ x 5H ₂ O	0,0005	1
desztillált víz		981
FeSO ₄ x 7H ₂ O		0,7 g
EDTA		0,8 g



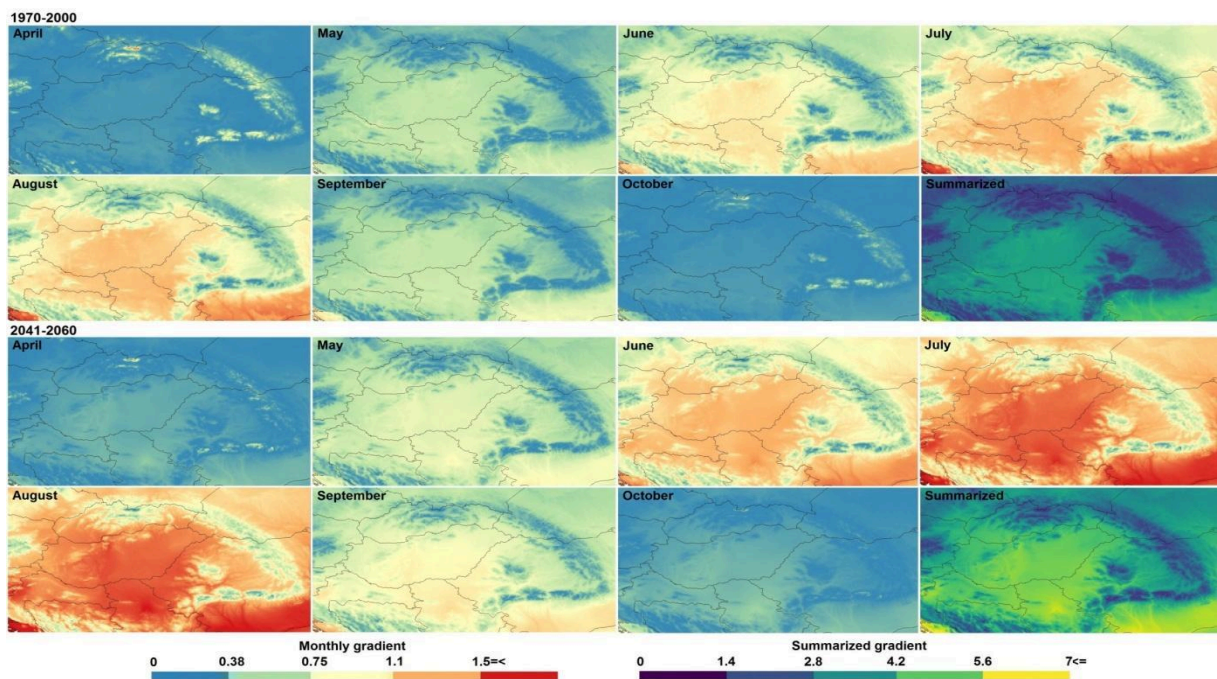
4. Melléklet | *Fotoszintetron inkubációs rendszer*



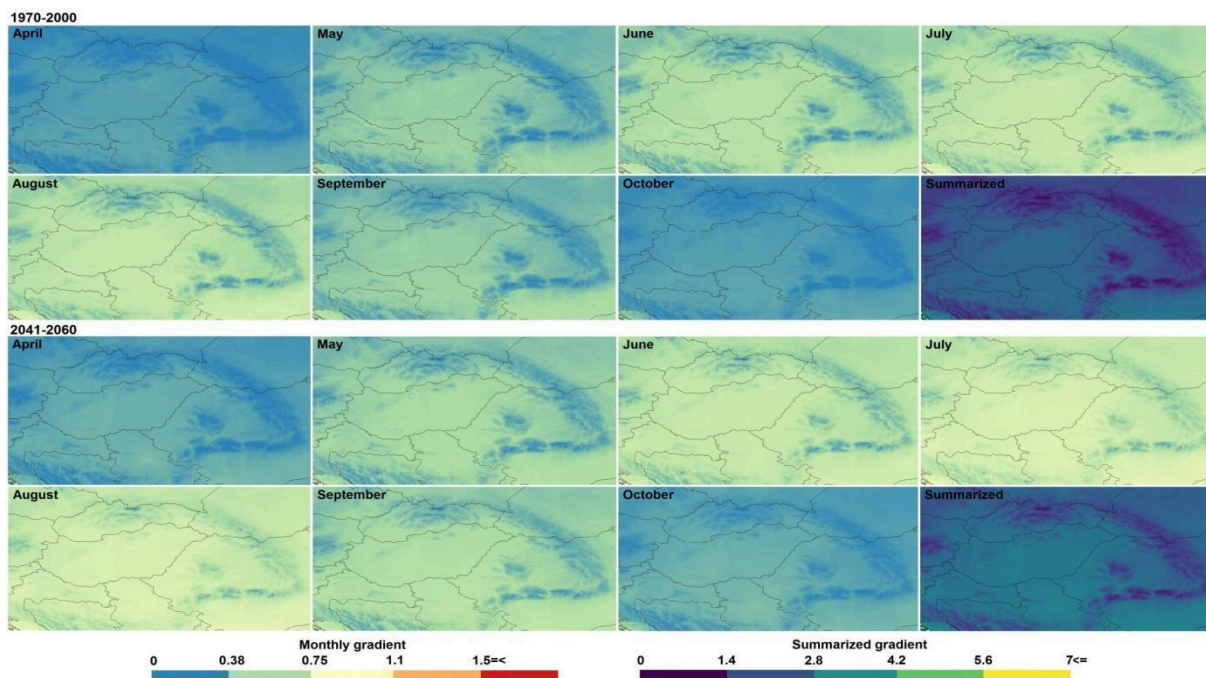
5. Melléklet | A három kovaalgafaj (a: *N. aurariae*, b: *N. reskoi*, c: *N. supralitorea*) bruttó fotoszintetikus aktivitásának változása a hőmérséklet (temperature) és az egyes ionok koncentrációjának függvényében (a1, b1, c1: szulfátion – sulphate concentration; a2, b2, c2: kloridion – chloride concentration; skála: maximális fotoszintetikus aktivitás (P_s) értéke mg C mg Chl-a⁻¹ h⁻¹).



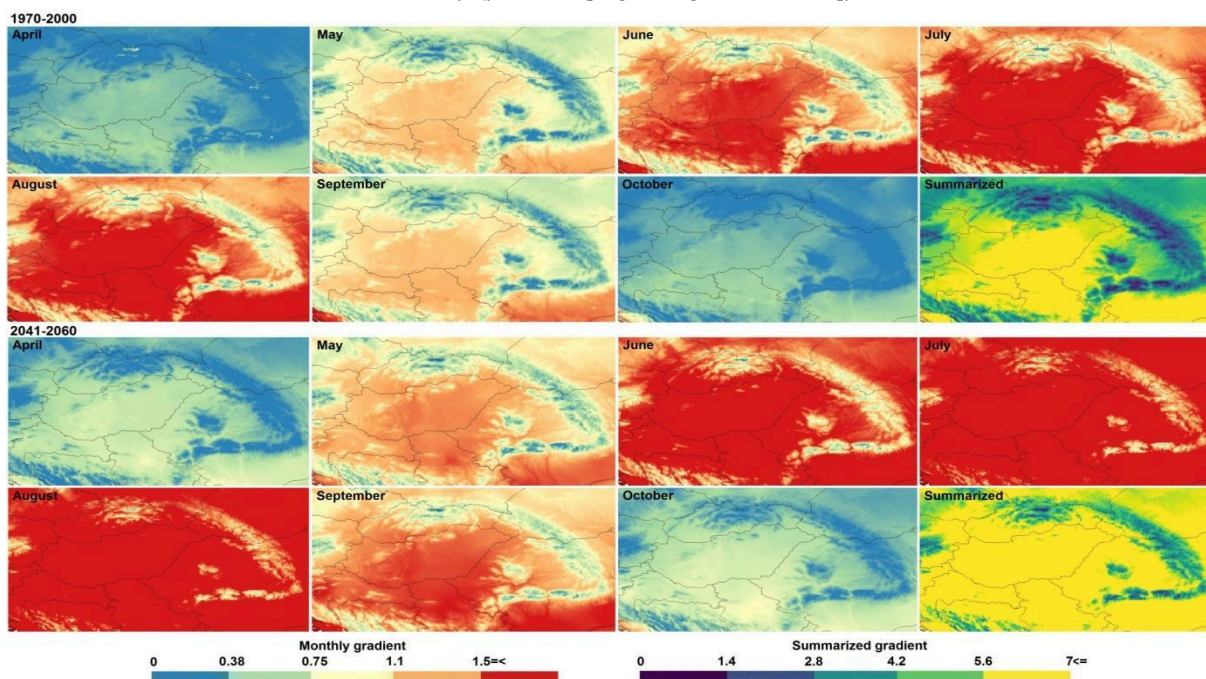
6. Melléklet | A vizsgált kovaalgafajok fotoszintetikus aktivitásának a modellezett átlagos havi (április - október), valamint ezek összesített értékei 437 mg L^{-1} kloridion-koncentrációnál a múltban (1970-2000) és a jövőben (2041-2060) (skálák: a maximális fotoszintetikus aktivitás (P_s) értéke [$\text{mg C mg Chl-a}^{-1} \text{ h}^{-1}$])



7. Melléklet | A vizsgált kovaalgafajok fotoszintetikus aktivitásának a modellezett átlagos havi (április - október), valamint ezek összesített értékei 5250 mg L^{-1} kloridion-koncentrációnál a múltban (1970-2000) és a jövőben (2041-2060) (skálák: a maximális fotoszintetikus aktivitás (P_s) értéke [$\text{mg C mg Chl-a}^{-1} \text{ h}^{-1}$])



8. Melléklet | A vizsgált kovaalgafajok fotoszintetikus aktivitásának a modellezett átlagos havi (április - október), valamint ezek összesített értékei 600 mg L^{-1} szulfátion-koncentrációnál a múltban (1970-2000) és a jövőben (2041-2060) (skálák: a maximális fotoszintetikus aktivitás (P_s) értéke [$\text{mg C mg Chl-a}^{-1} \text{ h}^{-1}$])



9. Melléklet | A vizsgált kovaalgafajok fotoszintetikus aktivitásának a modellezett átlagos havi (április - október), valamint ezek összesített értékei 4800 mg L^{-1} szulfátion-koncentrációnál a múltban (1970-2000) és a jövőben (2041-2060) (skálák: a maximális fotoszintetikus aktivitás (P_s) értéke [$\text{mg C mg Chl-a}^{-1} \text{ h}^{-1}$])

10. Melléklet | DV-tápanyag és -mikrotápanyag

	Törzsoldat-koncentráció (g L ⁻¹)	Tápanyag (ml L ⁻¹)
Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	20	2
K ₂ HPO ₄ x 3H ₂ O	40,62	0,323
MgSO ₄ x 7H ₂ O	25	1
Na ₂ CO ₃	21	0,95
Na ₂ SiO ₃ x 5H ₂ O	21,2	2
Fe-EDTA oldat	-	10
mikrotápanyag	-	0,1
B ₁₂	0,0001	1
Biotin	0,01	0,05
tiamin	0,1	1

A mikrotápanyag összetevői	Koncentráció (mg L ⁻¹)
H ₃ BO ₃	3100
MnSO ₄ x H ₂ O	1717
Na ₂ WO ₄ x 2H ₂ O	33
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ x 4H ₂ O	88
KBr	119
KI	83
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	287
Cd(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	154
Co(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O	146
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	125
Ni(NO ₃) ₃ x 6H ₂ O	145,8
Cr(NO ₃) ₃ x 9H ₂ O	40,6
NH ₄ VO ₃	11
Al(SO ₄) ₂ K x 12H ₂ O	474