

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

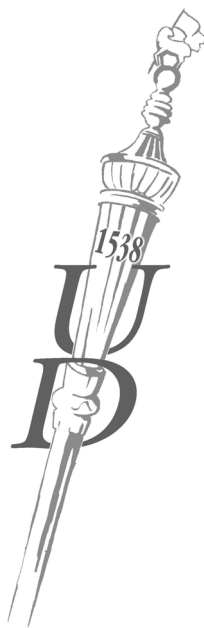
**ZÖLDALGÁK LEHETSÉGES SZEREPE FÉMSZENNYEZŐK BIOLÓGIAI
MÓDSZEREKKEL TÖRTÉNŐ ELTÁVOLÍTÁSÁBAN**

Thesis of PhD dissertation

**THE POSSIBLE ROLE OF GREEN ALGAE IN THE BIOLOGICAL REMOVAL OF
METAL CONTAMINANTS**

Novák Zoltán

Témavezető: Dr. Bácsi István



DEBRECENI EGYETEM
Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

Debrecen, 2017

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A XXI. század egyik legfőbb gazdasági-társadalmi problémája a környezetszennyezés. Az antropogén tevékenységek következtében jelentősen megnövekedett a környezetünket terhelő szennyezőanyagok mennyisége, amelyek közül a nehézfémek biológiailag nem bontható tulajdonságuk révén komoly ökológiai kockázatot jelentenek a bioszféra élőlényközösségeire, valamint az emberi egészségre egyaránt (Kotrba et al., 2011). A nehézfémek a Föld biogeokémiai körfolyamatának természetes alkotóelemei, azonban a szennyezések következtében mennyiségük drasztikusan emelkedik. A fő kibocsátók az ipar, a mezőgazdaság, valamint a nem megfelelően kezelt települési- és ipari szennyvizek, szennyvíziszapok (Papp, 2011; Tercier-Waeber és Taillefert, 2008). A nehézfémek eltávolítását hagyományosan fizikai, kémiai és fizikai-kémiai módszereken alapuló eljárásokkal végzik. Az alkalmazott módszerek közül ipari méretekben elterjedt eljárások a kicsapás, derítés, flotálás, adszorpció és a különböző membrános eljárások. A hagyományos módszerek hátránya, hogy 100 mg l^{-1} fémkoncentráció alatt túl költségesek és/vagy nem elég hatékonyak, illetve kevésbé szelektívek lehetnek, ezért az elmúlt évtizedekben egyre inkább előtérbe kerültek a biológiai módszereken alapuló eljárások. A folyamatot elsősorban mikroorganizmusokkal (baktériumok, gombák, algák) és anyagcseretermékeikkel végzik. A mikroorganizmusok közül az eukarióta zöldalgák jól alkalmazhatók fémszennyezők vizes oldatból történő eltávolítására, mivel több képviselőjük jó adaptív kapacitással és fémmegkötő képességgel rendelkezik (Volesky, 1990; Naja et al., 2010).

Munkánk célja, hogy különböző zöldalga taxonok nehézfém bioszorpció és/vagy bioakkumulációs sajátságait jellemezzük. Munkánkhoz olyan zöldalga taxonokat (*Monoraphidium pusillum*, *Monoraphidium griffithii*, *Desmodesmus communis*) választottunk, amelyek hazai felszíni vizeinkben széles körben elterjedtek, viszonylag könnyen izolálhatók és olcsón fenntarthatók laboratóriumi körülmények között. Kísérleteink során az élő szervezetek számára esszenciális, azonban nagyobb koncentrációkban toxikussá válható nehézfémek (cink és réz) hatásait vizsgáltuk, amelyek gyakran előforduló szennyezőanyagok felszíni vizekben és a szennyvizek állandó összetevői.

Munkánk során viszonylag nagyobb ($5\text{--}40 \text{ mg l}^{-1}$) cink koncentráció mellett vizsgáltuk a cink hatásait a három zöldalga faj növekedésére, morfológiájára és tanulmányoztuk a fém által kiváltott oxidatív stressz mértékét, illetve az eltávolított fém mennyiségét és az eltávolítás módját (3.1 és 3.2. fejezetek). A következő kérdésekre kerestük a választ:

- A különböző koncentrációk hogyan hatnak a kezelt tenyészetek növekedésére?
- Specifikus morfológiai változások megjelennek-e az algasejteken a fémek hatására?
- Milyen koncentrációk mellett alakul ki oxidatív stressz a sejtekben?
- A vizsgált tenyészetek mekkora mennyiségű fém eltávolítására képesek?
- A fémmegkötés szempontjából az extracelluláris szorpciónak vagy az intracelluláris akkumulációnak van nagyobb szerepe?

Kisebbségi fém koncentrációk (0,2-5,0 mg l⁻¹) mellett a *M. pusillum* és a *D. communis* esetén azt is tanulmányoztuk, hogy a fém minősége, koncentrációja illetve az algafaj hogyan befolyásolja a megkötés mértékét és módját (3.3. fejezet). Ebben a megközelítésben a következők voltak a megválaszolandó kérdések:

- A vizsgált tartományban hogyan befolyásolják a fémek az algák növekedését?
- Befolyásolja-e, és ha igen, hogyan a fém minősége, koncentrációja és az algafaj a fémtávolítás mértékét és módját?

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Tenyésztési és kísérleti körülmények

Kísérleteinkhez a Debreceni Egyetem Hidrobiológiai Tanszékének alga-törzsgyűjteményben fenntartott *Monoraphidium pusillum* (Printz) Komárková-Legnerová (ACCDH-UD0911), *Monoraphidium griffithii* (Berkeley) Komárková-Legnerová (ACCDH-UD1008), és *Desmodesmus communis* (E.Hegewald) E.Hegewald (ACCDH-UD1004) laboratóriumi törzseket használtuk. A tenyészeteket Jaworski tápoldatban (pH: 7-7,5), állandó hőmérsékleten (24°C), állandó fényintenzitáson (45-50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 3330-3700 Lux), steril levegővel buborékolgatva tartottuk fent.

A kísérletek során a fent említett tenyésztési körülményeket alkalmaztuk. A szükséges koncentrációk (0,2; 0,8; 1,0; 1,4; 2,0; 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0; 40,0; 80,0; 120,0; 160,0 mg l⁻¹) eléréséhez a médiumhoz cink-szulfát ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) és réz-szulfát ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) törzsoldatot adtunk. A kísérletek során minden esetben kontroll, hozzáadott fémet nem tartalmazó tenyészeteket is alkalmaztunk. A pontos kiindulási koncentrációkat a kísérletek kezdete előtt (Jaworski médium + fém, algatörzsek nélkül) minden esetben ellenőriztük.

2.2. A tenyészetek növekedésének nyomon követése

A tenyészetek növekedésének nyomon követéséhez a sejtszám/cönóbiumszám, a szárazanyag-tartalom, valamint a klorofill-tartalom változásait mértük.

2.2.1. A sejtszám/cönóbiumszám változások nyomon követése

A sejtek és cönóbiumok számlálását Olympus BX50F-3 fluoreszcens mikroszkóppal, 400×-os nagyításon, Bürker kamrában végeztük az MSZ EN 15204:2006 szabvány szerint.

2.2.2. A száraz tömeg és a klorofill-tartalom meghatározása

A tenyészetekből naponta vett mintákat centrifugáltuk majd liofilezés (fagyasztva szárítás) után visszamértük a tömegüket analitikai mérlegen, ezeket az adatokat felhasználtuk az egységnyi száraz tömegre vonatkoztatott fémmegkötés kiszámításához is (ld. 2.4. fejezet).

A szárazanyag tartalom méréséhez vett mintákat használtuk fel a klorofill-tartalom meghatározásához. A tömegmérés után a liofilizált mintákat forrásban lévő metanollal tártuk fel, a kioldott pigmentek mennyiségét spektrofotométerrel mértük. A minták klorofill-tartalmát Felföldy (1987) alapján számítottuk ki.

2.3. Morfológiai változások

A morfológiai változásokat a 10-40 mg l⁻¹ cinkkel kezelt *M. pusillum* és *M. griffithii*, valamint a 2,5-15 mg l⁻¹ cinkkel kezelt *D. communis* tenyészetekben vizsgáltuk (ld. 3.1. és 3.2. fejezetek). A sejtek illetve cönóbiumok morfológiájában bekövetkező változásokat a fent említett (2.2.1. fejezet) mikroszkóppal 1000× nagyításon követtük nyomon.

2.4. A lipid-peroxidáció mértékének meghatározása

A lipid-peroxidáció mértékét a 10-40 mg l⁻¹ cinkkel kezelt *M. pusillum* és *M. griffithii*, valamint a 2,5-15 mg l⁻¹ cinkkel kezelt *D. communis* tenyészetekben vizsgáltuk (ld. 3.1. és 3.2. fejezetek). A nehézfémek okozta oxidatív stressz kimutatását Verma és Dubey (2003) módszere alapján a tiobarbitursav reaktív anyagcseretermékek (TBARS) mennyiségének

meghatározásával mértük. A lipidperoxidáció mértékét a 0. napon a kontrollban mért értékhez (100%) viszonyítva %-ban adtuk meg.

2.5. A fémek mennyiségi meghatározása

A felülúszók fémtartalmának csökkenéséből számítottuk ki az összes megkötött nehézfém mennyiségét, illetve a szárazanyag adatokat felhasználva kiszámoltuk az egységnyi száraz tömegre vonatkoztatott fémmegkötést is. Az extracellulárisan megkötött nehézfém mennyiségi meghatározásához a Tripathi és Gaur (2006) által használt módszert alkalmaztuk. Előzetes méréseink (az összegyűjtött biotömeg roncsolásos feltárása) alapján az intracellulárisan megkötött nehézfém mennyisége egyezik az összes megkötött és az extracellulárisan megkötött mennyiségek különbségével.

2.5.1. Az eltávolított cink mennyiségi meghatározása (3.1. és 3.2. fejezetek)

A felülúszók cinktartalmának meghatározása láng-atomszorbciós spektrometriás (FAAS) eljárással (AAS, UNICAM 969; GF90 plus kemence és FS90 plus mintaadagoló egység) történt, magyar szabvány szerint (MSZ 1484-3:2006 5.) a Tiszántúli Környezetvédelmi és Természetvédelmi Felügyelőség Mérőállomásának laboratóriumában.

2.5.2. Az eltávolított cink, illetve réz mennyiségi meghatározása (3.3. fejezet)

A nehézfémek mennyiségi meghatározása mikrohullámú plazma atomemissziós spektrometriás (MP-AES) módszerrel, MP-AES 4100 készülékkel (Agilent Technologies) történt. A méréseket a Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék laboratóriumában végeztük, a készüléket a mérésekhez a Novo-Lab Kft. biztosította.

2.6. Statisztikai elemzés

A növekedési görbék tendenciáinak összehasonlításához a variancia-kovariancia-elemzés (ANCOVA) módszerét alkalmaztuk. A morfológiában és az oxidatív stressz mértékében bekövetkezett változások statisztikai elemzését a kétszemponos varianciaanalízis (two-way ANOVA) módszerével végeztük. Az eltávolított fémek mennyiségi változásainak statisztikai értékeléséhez az egyszemponos varianciaanalízis (One-way ANOVA) és az

ismételt méréses varianciaanalízis (repeated measures ANOVA) módszereket használtuk. Az alkalmazott algafaj, a nehézfémek minősége és mennyisége, valamint az eltávolítás mechanizmusa közötti összefüggések (3.3. fejezet) statisztikai elemzéséhez a háromszempontos varianciaanalízis (three-way ANOVA) módszerét alkalmaztuk (Zar, 1996; Hammer et al., 2001).

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Kísérleteink során egy nagyobb ($5\text{--}40\text{ mg l}^{-1}$) koncentráció tartományban két *Monoraphidium* faj és a *Desmodesmus communis* esetében vizsgáltuk a nehézfémek növekedésre (sejt/cönóbiumszám, klorofill-tartalom), morfológiára gyakorolt hatásait, a nehézfémek toxicitását (EC_{50}), az általuk okozott oxidatív stressz (TBARS) mértékét, az eltávolított fém mennyiségét, valamint azt, hogy az extracelluláris szorpció vagy az intracelluláris akkumuláció játszik nagyobb szerepet a nehézfémek megkötésében.

A sejtszám- és klorofill-tartalom változásai alapján a két *Monoraphidium* faj közül a *M. griffithii* tenyészetek érzékenyebben reagáltak az alkalmazott cink-kezelésre, mint a *M. pusillum*. A klorofill-tartalom mindkét faj esetében érzékenyebben reagált a kezelésekre, mint a sejtszám. Az akut toxicitás jellemzésére használt EC_{50} értékeket meghatároztuk a sejtszám és a klorofill mennyisége alapján is, ezek alapján a két vizsgált faj cink-toleránsnak tekinthető, azonban vannak lényegesen nagyobb koncentrációk mellett is életképes taxonok (Travieso et al., 1999; Nishikawa és Tominaga 2001). A *D. communis* zöldalga faj érzékenyebb a nagy cink-koncentrációkra ($>15\text{ mg l}^{-1}$), mint más *Scenedesmus* fajok, valamint a cönóbiumszám és a klorofill-a tartalom alapján is elmondható, hogy a *Monoraphidium* fajokhoz képest érzékenyebben reagált a cinkkel való kezelésekre.

A sejtek morfológiájában és a lipidperoxidációban bekövetkező változásokat azokban a tenyészetekben követtük nyomon, amelyekben a hozzáadott cink jelentősen befolyásolta a növekedést, de még élő, növekedőképes tenyészetek voltak. Mindkét *Monoraphidium* tenyészetben magasabb volt a deformálódott sejtek aránya a kezelt tenyészetekben, mint a kontroll tenyészetekben, azonban a cink által okozott morfológiai változások a *M. pusillum* tenyészetek esetében markánsabban jelentkeztek. A *M. griffithii* tenyészetben magasabb volt a lipidperoxidáció mértéke a *M. pusillum* tenyészetéhez képest. A vizsgált morfológiai és stressz-fiziológiai változások nem tekinthetők specifikusnak, és csak nagyobb cink koncentrációk mellett figyelhetők meg, vagyis a vizsgált fajok – viszonylag jó toleranciájuk miatt – nem jó indikátorai a fém- (cink) szennyezésnek. A cink-kezelés hatással volt a *D.*

communis morfológiájára is, a sejtek a normálistól (2-4-8 sejtés cönóbiumok) eltérő számban jelentek meg a cönóbiumokban, valamint megfigyelhetőek voltak a rendellenes sejtosztódásra utaló morfológiai jelek. A cink a *D. communis* morfológiáját szignifikáns mértékben, de nem specifikus módon változtatja meg, a megfigyelhető deformitások más stressz-faktorok által kiváltott változásokhoz hasonlóak (Morin és Coste, 2006; Pawlik-Skowrońska, 2003). A *Monoraphidium* fajok esetében bekövetkezett enzimológiai változásokhoz képest a *D. communis* tenyészetekben általánosságban mérsékeltebb aktivitásnövekedés volt tapasztalható, azonban ez már 2,5, illetve 5 mg l⁻¹ cink jelenlétében bekövetkezett, 10 mg l⁻¹-nél pedig magasabb volt a lipidperoxidáció mértéke, mint a *Monoraphidium* fajokban ugyanezen koncentrációnál, vagyis a *D. communis* nagyobb érzékenysége az oxidatív stressz esetén is megnyilvánult.

A cink eltávolítást is azokban a tenyészetekben vizsgáltuk, amelyekben a hozzáadott cink mennyisége a növekedést nem gátolta teljes mértékben, azaz élő tenyészeteknek voltak tekinthetők. Tudomásunk szerint ezek az első adatok a *M. pusillum* és *M. griffithii* zöldalga fajok cink megkötésével kapcsolatban. Az irodalmi adatok ismeretében elmondhatjuk, hogy mindkét faj közepes cink-eltávolítási potenciállal jellemezhető más vizsgált algafajokkal összevetve (Ahuja et al., 2001; Romera et al., 2007). Akár a kiindulási fémmennyiség %-ában, akár száraz tömegre vonatkoztatva adjuk meg az eltávolított cink mennyiségét, azt mondhatjuk, hogy a vizsgált fajok cink toleranciája és cinkeltávolító képessége alkalmassá teszi őket 20-30 mg l⁻¹ cink koncentrációjú vizek kezelésére. Mindkét tenyészet esetében elmondhatjuk, hogy az extracellulárisan megkötött cink mennyisége minden kezelésben nagyobb volt, mint az intracellulárisan megkötött mennyiség. Az általunk vizsgált zöldalgák közül a *D. communis* tenyészet érzékenyebbnek mutatkozott a cink jelenlétére, mint a vizsgált *Monoraphidium* fajok, azonban 15 mg l⁻¹ cink-koncentrációig hatékony cink-eltávolítással jellemezhető (Perales-Vela, 2006; Monteiro et al., 2009; 2011a). A *Monoraphidium* tenyészetekhez hasonlóan a *D. communis* tenyészetek esetében is elmondható, hogy az extracellulárisan megkötött cink mennyisége minden kezelésben nagyobb volt.

A holt *D. communis* biomasza cink-kötése is jelentősnek mondható, mivel az összes bemért cinkmennyiség ~50%-a adszorbeálódott, azonban az élő biomaszához képest kevesebb cink megkötésére képes. Az ugyan annyi száraz tömegnek megfelelő mennyiségű élő sejtek több mint 30%-kal nagyobb mennyiségű fémet kötöttek meg, ami arra utal, hogy az élő sejtekben, illetve az élő sejtek felszínén lejátszódó folyamatoknak nagy jelentősége van a cink megkötésében.

Kisebb koncentrációk esetében vizsgáltuk az alkalmazott algafaj, a nehézfémek minősége és mennyisége, valamint az eltávolítás mechanizmusa közötti összefüggéseket. Kísérleteink során vizsgáltuk a nehézfémek növekedésre (sejt/cönóbiumszám, klorofill-tartalom) gyakorolt hatásait, a nehézfémek toxicitását (EC_{50}), valamint mértük az összes, az extracellulárisan és/vagy intracellulárisan eltávolított fém mennyiségét.

A sejt- és cönóbiumszámok alapján elmondható, hogy a cinkhez viszonyítva a rézzel történő kezelésekre mindkét tenyészet érzékenyebben reagált, valamint, hogy a *D. communis* a *M. pusillum*-hoz viszonyítva kevésbé toleráns mindkét vizsgált fém jelenlétére egyaránt. A sejt- és cönóbiumszám változásaihoz hasonlóan a klorofill mennyiségében bekövetkezett változások is alátámasztják, hogy a *D. communis* érzékenyebb mind a cinkkel, mind a rézzel történő kezelésekre, valamint, hogy a réz jelenlétére mindkét faj érzékenyebb.

A két faj cink megkötési sajátosságai hasonlóak: a cink kis koncentrációban (50%-os növekedésgátlást okozó koncentráció alatt) is főként extracellulárisan kötődik meg. Általánosságban elmondható, hogy mindkét faj esetén nő az eltávolított mennyiség a koncentráció növelésével. A cink eltávolítása egy kezdeti gyors szakasszal jellemezhető, amely esetén kisebb koncentrációban ($0,2-1,4 \text{ mg l}^{-1}$) az intracelluláris felhalmozás felülmúlhatja az extracelluláris adszorpciót. A réz esetében általánosságban nagyobb mennyiség kerül intracelluláris felhalmozásra, mint cink esetében. $2,0 \text{ mg l}^{-1}$ illetve nagyobb réz koncentrációk mellett a *D. communis* esetében nem lehet egyértelműen élő tenyészet réz-eltávolításáról beszélni, elsősorban már a holt biomasszát jellemző folyamatok lehetnek uralkodóak.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Viszonylag nagy ($5-40 \text{ mg l}^{-1}$) cink koncentráció mellett vizsgáltuk a cink hatásait három zöldalga faj növekedésére, morfológiájára, tanulmányoztuk a fém által kiváltott oxidatív stressz mértékét, illetve az eltávolított fém mennyiségét és az eltávolítás módját. A munka ezen része során született új tudományos eredmények a következők:

- Meghatároztuk az akut toxicitás jellemzésére használt EC_{50} értékeket cinkre a sejtszám, valamint a klorofill mennyisége alapján a *Monoraphidium pusillum* és a *Monoraphidium griffithii* zöldalga fajokra vonatkozóan.

- Ugyancsak az EC₅₀ érték alapján az irodalmi adatokkal összevetve megállapítottuk, hogy ugyanazon faj (*Desmodesmus communis*) eltérő izolátumai eltérő toleranciával rendelkezhetnek. A három fajt összevetve megállapítottuk, hogy ugyanazon víztérből izolált fajok eltérő érzékenységet mutathatnak.
- Tudomásunk szerint ezek az első adatok a *M. pusillum* és *M. griffithii* zöldalga fajok cink megkötésével kapcsolatban. Eredményeink alapján azt mondhatjuk, a vizsgált *Monoraphidium* fajok cink-eltávolító képessége alkalmassá teszi őket 20-30 mg l⁻¹ cink koncentrációjú vizek kezelésére, míg a *D. communis* érzékenyebbnek mutatkozott a cink jelenlétére, mint a vizsgált *Monoraphidium* fajok, azonban 15 mg l⁻¹ cink-koncentrációig hatékony cink-eltávolítással volt jellemezhető, kisebb cink-koncentrációkkal szennyezett vizek esetében jelentősnek tekinthető fémeltávolító kapacitással rendelkezik.
- A holt *D. communis* biomassa cink-kötése is jelentősnek mondható, mivel az összes bemért cinkmennyiség ~50%-át eltávolította, azonban ugyan annyi száraz tömegnek megfelelő mennyiségű élő sejt több mint 30%-kal nagyobb mennyiségű fémeket kötött meg, ami arra utal, hogy az élő sejtben, illetve az élő sejtek felszínén lejátszódó folyamatoknak nagy jelentősége van a cink megkötésében.

Kis fém koncentrációk (0,2-5,0 mg l⁻¹) mellett a *M. pusillum* és a *D. communis* esetén azt is tanulmányoztuk, hogy a fém minősége, a koncentráció, illetve az algafaj hogyan befolyásolja a megkötés mértékét és módját. A munka ezen része kapcsán az alábbi eredményeket emeljük ki:

- Az akut toxicitásra vonatkozó adatok (EC₅₀ értékek) alapján elmondható, hogy a *Monoraphidium pusillum* és a *Desmodesmus communis* fajok a cinkhez képest érzékenyebbek a réz jelenlétére, illetve, hogy az ugyanabból a víztérből izolált *D. communis* lényegesen érzékenyebb a rézre, mint a *M. pusillum*, azaz ugyanazon víztérből izolált fajok eltérő érzékenységet mutathatnak.
- Eredményeink alapján azt mondhatjuk, hogy a vizsgált fajok egységnyi száraz tömegre vonatkoztatva rézből nagyobb mennyiséget távolítottak el, mint cinkből (5 mg l⁻¹ oldatból). Kisebb koncentrációknál egyes esetekben az intracelluláris

felhalmozás felülmúlhatja az extracelluláris adszorpciót, azonban főként az extracelluláris megkötődés a meghatározó folyamat.

Eredményeinket azonban egyik fajra nézve sem tekinthetjük általános érvényűnek, mivel adott taxon toleranciáját, ellenállóképességét elsősorban a genetikai adaptáció és az őt körülvevő környezet fizikai és kémiai tulajdonságai határozzák meg. Eredményeink a Debreceni Egyetem Hidrobiológiai Tanszékének törzsgyűjteményében (Algal Culture Collection, Department of Hydrobiology, University of Debrecen) fenntartott *Monoraphidium pusillum* ACCDH-UD0911, *Monoraphidium griffithii* ACCDH-UD1008, és *Desmodesmus communis* ACCDH-UD1004 zöldalga fajokra érvényesek, ezen fajok más izolátumai más cink- és réz-toleranciával, illetve eltávolító képességgel lehetnek jellemezhetők.

1. INTRODUCTION

Environmental pollution has become one of the most important social and economic problem of the 21st century. Amounts of pollutants increased significantly as a result of anthropogenic activities. Among the contaminants, heavy metals are metabolically non-degradable. Due to this property, they present a serious risk for the ecosystems and also for human health (Kotrba et al., 2011). Heavy metals are naturally involved in the biogeochemical cycle, however amount of metals increase dramatically due to anthropogenic sources. Industry, agriculture and inadequately treated urban and industrial wastewater and sewage sludge are the primary emitters (Papp, 2011; Tercier-Waeber and Taillefert, 2008). Conventionally, physical, chemical and physico-chemical methods are used for heavy metal removal. Precipitation, flotation, clarification and different membrane technologies are widely used in industrial scale to remove heavy metals from waters and wastewaters. These conventional processes may be ineffective and/or rather expensive, when the concentration of dissolved metal ions is lower than 100 mg l⁻¹ so biological methods for metal removal became of interest in the past decades. Microorganisms (bacteria, fungi and algae) and their metabolites are used for metal removal processes. Among microorganisms, eukaryotic green algae are able to remove metal ions from aquatic solutions, due to their high phenotypic plasticity and high sorption or uptake capacity (Volesky, 1990; Naja et al., 2010).

In my Thesis I focused on characteristics of heavy metal biosorption and/or bioaccumulation by green algae taxa (*Monoraphidium pusillum*, *Monoraphidium griffithii*, *Desmodesmus communis*), which commonly occur in Hungarian surface waters, they can be easily isolable and their cultures are cheaply maintainable. Effects of essential metals (copper and zinc) were tested, which can be toxic from certain concentrations and are constant components of Hungarian surface waters and urban, industrial and agricultural wastewaters.

The effects of zinc on growth (cell and coenobia number, chlorophyll a content) and cell morphology, its toxicity (EC₅₀), oxidative stress responses of the algae, and amounts as well as characteristic (extracellular sorption and/or intracellular accumulation) of bound metal of the biomass by common phytoplankton species *Monoraphidium* spp. and *D. communis* were investigated from 5 to 40 mg l⁻¹ concentration. The aim of this study:

- How can different concentrations affect the treated cultures?
- Are there any specific morphological changes due to the impacts of metals on/in the cells and coenobia?

- What concentration of metals can cause oxidative stress in the investigated species?
- How many metals can the investigated species remove?
- Extracellular sorption or intracellular accumulation plays a key role in metal removal?

Correlations among the algal species, quality and quantity of metals and characteristics of metal removal mechanisms were investigated at lower metal concentrations. The effects of metals on growth (cell and coenobia number, chlorophyll a content), toxicity (EC_{50}), and the amount of total, extracellularly and intracellularly removed metal were studied. The following questions have arisen:

- How can metals influence the growth of the algal cultures in the studied concentrations?
- Can algal species and quality and quantity of metals influence the amount of removed metals and the metal removal mechanisms, and if yes, how?

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Culturing conditions and experimental design

Monoraphidium pusillum (Printz) Komárková-Legnerová (ACCDH-UD0911), *Monoraphidium griffithii* (Berkeley) Komárková-Legnerová (ACCDH-UD1008) and *Desmodesmus communis* (E.Hegewald) E.Hegewald (ACCDH-UD1004) are maintained in the Algal Culture Collection of Department of Hydrobiology, University of Debrecen (ACCDH-UD). Cultures are maintained in Jaworski's medium (pH: 7–7.5), bubbled with sterile air, at 24°C, under continuous irradiation ($45\text{--}50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 3330–3700 Lux).

Treatments were achieved within the same conditions, in 500 ml Erlenmeyer flasks (400 ml culture per flask). Control cultures contained no added zinc or copper, CuSO_4 or ZnSO_4 was added to the treated cultures to reach the required concentrations (0.2; 0.8; 1.0; 1.4; 2.0; 2.5; 5.0; 10.0; 15.0; 20.0; 30.0; 40.0; 80.0; 120.0 and 160.0 mg l^{-1}). Exact initial metal concentrations were always checked before the inoculation.

2.2. Measurement of cultures growth

Growth of the control and treated cultures were followed by counting the cell and coenobia number, measuring the chlorophyll-a content and dry mass of the samples.

2.2.1. Counting of cell and coenobia number

Cell and coenobia numbers were counted according to the European Standard EN 15204 (2006) using an Olympus BX50F-3 fluorescent microscope at 400× magnification.

2.2.2. Measurement of chlorophyll-a content and dry mass of the cells and coenobia

For chlorophyll-a content and dry mass measurements, samples were collected daily, centrifuged and after removal of supernatants, pellets were lyophilized and weighed. These data were used to give the amounts of removed metal in unit of dry mass. Chlorophyll a contents were measured from the weighed samples spectrophotometrically, applying the methanolic extraction method according to Felföldy (1987).

2.3. Measurement of morphological changes

Morphological changes were measured in 10-40 mg l⁻¹ treated *M. pusillum* and *M. griffithii* cultures and in 2.5-15 mg l⁻¹ treated *D. communis* cultures. Changes in cells and coenobia morphology were followed by the above-mentioned (2.2.1.) microscope at 1,000× magnification.

2.4. Measurement of changes in lipid peroxidation

Lipid peroxidation levels were measured in 10-40 mg l⁻¹ treated *M. pusillum* and *M. griffithii* cultures and in 2.5-15 mg l⁻¹ treated *D. communis* cultures as the amount of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), according to the method of Verma and Dubey (2003). Results were given in percentage, 100% was the value measured in control culture at the beginning of the treatments.

2.5. Measurement of the total amount of removed metals

Total amounts of removed metals were calculated based on decreasing zinc contents of the supernatants and dry mass data were used to calculate the results to unit of dry mass. Extracellular bound metal content was measured according to the method described by Tripathi and Gaur (2006). According to previous measurements (HNO_3 (70 %), H_2O_2 (30 %), and deionised water at a 1:1:3 ratio digestion mixture), the intracellular metal level is equal to the difference of the amount of total and extracellular metal levels.

2.5.1. Measurement of the amount of removed zinc (chapters 3.1 and 3.2)

Zinc contents of the cell-free supernatants were measured according to the Hungarian Standard MSZ 1484-3:2006 5. by Atom Absorption Spectrometry (AAS, UNICAM 969 with GF90 plus oven transformer and FS90 plus oven sample tray unit), in the laboratory of Environmental Protection, Nature Conservation and Water Authority, Trans-Tisza Region.

2.5.2. Measurement of the removed zinc and copper (chapter 3.3)

The amounts of metals were measured by Microwave Plasma Atomic Emission Spectroscopy (Agilent 4100 MP-AES) in the laboratory of University of Debrecen, Department of Inorganic and Analytical Chemistry. The instrument for the measures was supported by Novo-Lab Ltd.

2.6. Statistical analyses

One-way analysis of variance-covariance (ANCOVA) was used to determine the significances among the tendency differences of growth curves of control and treated cultures. For statistics of morphology changes and oxidative stress, data were subjected to analysis of variance (two-way ANOVA). One-way ANOVA and repeated measures ANOVA were used for the analyses of metal removal data. Three-way ANOVA was used to analyse the correlations among the algal species, quality and quantity of metals and characteristic of metal removal mechanisms (Zar, 1996; Hammer et al., 2001).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Results of *Monoraphidium* spp. and *D. communis* zinc treatments in 5-40 mg l⁻¹ concentration can be summarized as the followings: On the basis of cell number and chlorophyll a content *M. griffithii* was more sensitive to zinc than *M. pusillum*. Chlorophyll a contents responded more sensitively to treatments than cell numbers in the case of both isolates. EC₅₀ values used to characterize acute toxicity were calculated both on the basis of cell number and chlorophyll a content. According to these data, the studied green algae can be characterized as zinc-tolerant ones, however, there are more tolerant species (Travieso et al., 1999; Nishikawa és Tominaga 2001). *D. communis* was more sensitive to high zinc concentrations (>15 mg l⁻¹), than other *Scenedesmus* species, and on the basis of coenobia numbers and chlorophyll-a content, it was more sensitive to zinc treatments than *Monoraphidium* species.

The changes of morphology and lipid peroxidation were followed in significantly affected, but considered as living cultures. The numbers of deformed cells were higher in treated *Monoraphidium* cultures than in control culture, the changes were more enhanced in the case of *M. pusillum*. Initially added zinc caused significantly higher increase in TBARS levels (referring to increased lipid peroxidation) in *M. griffithii* cultures than in *M. pusillum* cultures. The studied morphological and enzymological changes appeared only at high zinc concentrations, and were not specific, so the studied species are not suitable to indicate metal (zinc) contamination due to their tolerance. Zinc treatment affected *D. communis* morphology, cells appeared in unusual numbers (differently from 2–4–8 cells per coenobia) and appeared in changed morphology referring to abnormal cell division. Morphological changes of *D. communis* were significant, but these changes seemed not to be highly specific or characteristic to zinc treatment, contaminants affecting cell division other than zinc may cause similar morphological changes (Morin és Coste, 2006; Pawlik-Skowrońska, 2003). The observed enzymological changes were more moderate in *D. communis* cultures than in *Monoraphidium* cultures, however these moderate changes appeared already at 2.5 and 5 mg l⁻¹ zinc concentration, while higher degree of lipid peroxidation were observed at 10 mg l⁻¹ zinc concentration, so it seems that *D. communis* was more sensitive than *Monoraphidium* species also from oxidative stress aspects.

Zinc removal was followed in significantly affected, but considered as living cultures. According to our knowledge, the data presented here are new for the zinc removal ability of the green algae *M. pusillum* and *M. griffithii*. Comparing the literature data with each other

and with our results, it seems that zinc-binding ability of the studied species is in the “medium range” (Ahuja et al., 2001; Romera et al., 2007). Whether the result were interpreted in percentage of the initial zinc content or in unit of dry mass, they show that the studied *Monoraphidium* species are suitable to treat waters up to 20-30 mg l⁻¹ zinc contamination, due to their zinc tolerance and removal ability. The results show that the amount of extracellularly removed zinc was higher than intracellular accumulation in treated cultures in the case of both studied strains. Among the studied species, *D. communis* was more sensitive to the presence of zinc than *Monoraphidium* ssp., however it could be able to effectively remove zinc up to 15 mg l⁻¹ concentration (Perales-Vela, 2006; Monteiro et al., 2009; 2011a). The results show that a larger proportion of removed zinc is bound by adsorption onto the cell surface, similarly to *Monoraphidium* species.

Substantial quantities of zinc could be removed by dried biomass of *D. communis*, since 50% of removed zinc in proportion of initial zinc concentration was removed; however removal ability was higher in the case of living biomass. The removal ability (percentage of removed zinc in proportion of initial zinc concentration) was 30% higher in the case of the same amount of living biomass, these phenomena suggest that living cell processes have high importance in zinc sequestration.

Correlations among the algal species, quality and quantity of metals and characteristic of metal removal mechanisms were investigated at lower metal concentrations. The effects of metals on growth (cell and coenobia number, chlorophyll a content), toxicity (EC₅₀), and the amount of total, extracellularly and intracellularly removed metal were studied.

On the basis of cell and coenobia number both *D. communis* and *M. pusillum* were more sensitive to copper treatment compared to zinc, and *D. communis* was less tolerant to both studied metals than *M. pusillum*. Changes of chlorophyll a content proved that *D. communis* was more sensitive to zinc- and copper treatment, and both cultures responded more sensitively to the presence of copper.

The zinc binding characteristics of the two species were similar: at low concentration (below 50% growth inhibition) zinc was mainly removed extracellularly. The amount of removed zinc increased with increasing concentrations in the case of both species. The zinc removal activity can be characterized with an initial rapid phase, in this case the intracellular accumulation may exceed the extracellular adsorption at lower concentrations (0.2-1.4 mg l⁻¹). Larger quantity of copper was accumulated into cells and coenobia than in the case of zinc. The process of removal can not be clearly discussed as removal of living *D. communis* from

2.0 mg l⁻¹ copper concentration cultures, primarily the removal processes characteristic to dead biomass could be dominant.

4. NEW SCIENTIFIC RESULTS

The effects of zinc on growth, cell morphology, level of oxidative stress, and amounts as well as characteristics of metal removal were investigated to three green algae species at relatively high (from 5 to 40 mg l⁻¹) zinc concentration. New scientific results are summarized in the followings:

- On the basis of cell and coenobia number and chlorophyll-a content, acute toxicity (EC₅₀) was determined to *Monoraphidium pusillum* and *Monoraphidium griffithii* cultures.
- According to EC₅₀ results of this study and literature data, it was established that different strains of the same species (*Desmodesmus communis*) could be characterized with different zinc tolerance. Comparing of the sensitivity of three green algal species, different isolations from the same water body have different sensitivity.
- To our knowledge, our results provide new data for the zinc removal ability of the green algae *M. pusillum* and *M. griffithii*. Based on these results, zinc-binding ability of the studied *Monoraphidium* species makes them feasible in treatment of wastewaters up to 20-30 mg l⁻¹ zinc contamination. *D. communis* was less tolerant to the presence of zinc than *Monoraphidium* species, however it could effectively remove zinc up to 15 mg l⁻¹ zinc concentration, so this strain also can be used successfully in removal of zinc from less contaminated water.
- Substantial quantities of zinc could be removed by dried biomass of *D. communis*, since 50% of removed zinc in proportion of initial zinc concentration was removed; however removal ability was higher in the case of living biomass, which suggest that living cell processes have high importance in zinc sequestration.

Correlations among the algal species, quality and quantity of metals and characteristics of metal removal mechanisms were investigated at relatively low (0,2-5,0 mg l⁻¹) metal concentration. New scientific results are summarized in the followings:

- On the basis of acute toxicity (EC₅₀) it can be concluded that both studied strains were more sensitive to copper treatment compared to zinc, and *D. communis* was less tolerant to both metals than *M. pusillum*. Isolated species from the same water body had different sensitivity.
- It can be also concluded that larger quantity of copper was removed by cells and coenobia calculated to unit of dry mass than zinc. At lower concentrations (0.2-1.4 mg l⁻¹) the intracellular accumulation may exceed the extracellular adsorption; however the latter was the main process.

Our results can not be considered as general, because tolerance and resistance of different species are determined by the genetic adaptation and physical and chemical circumstances of the surrounded environment. Our results are applicable to *Monoraphidium pusillum* ACCDH-UD0911, *Monoraphidium griffithii* ACCDH-UD1008 and *Desmodesmus communis* ACCDH-UD1004 cultures maintained in the Algal Culture Collection of Department of Hydrobiology, niversity of Debrecen (ACCDH-UD), other strains of these cultures could be characterised different zinc and copper tolerances and removal abilities.

5. IRODALOMJEGYZÉK/REFERENCES

- Ahuja P, Mohapatra H, Saxena RK, Gupta R (2001) Reduced uptake as a mechanism of zinc tolerance in *Oscillatoria angustissima*. Curr. Microbiol. 43: 305–310.
- Felföldy L (1987) A biológiai vízminősítés (4. kiad.). In: Vízügyi Hidrobiológia 16. VGI, Budapest, Magyarország.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontol. Electron. 4: 9.
- Kotrba P, Mackova M, Urbánek V (2011) Microbial Biosorption of Metals. Springer, New York, NY, USA.
- Monteiro CM, Castro PML, Malcata FX (2011a) Capacity of simultaneous removal of zinc and cadmium from contaminated media, by two microalgae isolated from a polluted site. Environ. Chem. Lett. 9: 511–517.
- Monteiro CM, Marques AP, Castro PM, Malcata FX (2009) Characterization of *Desmodesmus pleiomorphus* isolated from a heavy metal-contaminated site: biosorption of zinc. Biodegradation 20(5): 629–41.
- Morin S, Coste M (2006) Metal-induced shifts in the morphology of diatoms from Riou Mort and Riou Vioi streams (South West France). Arch. Hydrobiol. Suppl. 97–101.
- Naja GM, Volesky B, Murphy V (2010) Biosorption, metals. In: Flickinger MC (ed.) Encyclopedia of Industrial Biotechnology. John Wiley & Sons, Inc. New York, NY, USA.
- Nishikawa K, Tominaga N (2001) Isolation, growth, ultrastructure, and metal tolerance of the green alga *Chlamydomonas acidophila* (Chlorophyta). Biosci. Biotechnol. Biochem. 65: 2650–2656.
- Omar HH (2002a) Bioremoval of zinc ions by *Scenedesmus obliquus* and *Scenedesmus quadricauda* and its effect on growth and metabolism. Int Biodeter. Biodegr. 50: 95–100.
- Omar HH (2002b) Adsorption of zinc ions by *Scenedesmus obliquus* and *S. quadricauda* and its effect on growth and metabolism. Biol. Plant. 45(2): 261–266.
- Papp S (2011) Környezeti kémia. Környezetmérnöki Tudástár 9. kötet, 3. javított kiadás. Pannon Egyetem–Környezetmérnöki Intézet, Veszprém.
- Pawlik-Skowrońska B (2003) Resistance, accumulation and allocation of zinc in two ecotypes of the green alga *Stigeoclonium tenue* Kütz. coming from habitats of different heavy metal concentrations. Aquatic Botany 75(3): 189–198.

- Perales-Vela HV, Peña-Castro JM, Cañizares-Villanueva RO (2006) Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere* 64(1): 1-10.
- Romera E, González F, Ballester A, Blázquez ML, Muñoz JA (2007) Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. *Bioresour. Technol.* (98)17: 3344–3353.
- Tercier-Waeber ML, Taillefert M (2008) Remote in situ voltammetric techniques to characterize the biogeochemical cycling of trace metals in aquatic systems. *J. Environ. Monit.* 10(1): 30-54.
- Travieso L, Canizares RO, Borja R, Benitez F, Dominguez AR, Dupeyron R, Valiente V (1999) Heavy metal removal by microalgae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62: 144–151.
- Tripathi BN, Mehta SK, Amar A, Gaur JP (2006) Oxidative stress in *Scenedesmus* sp. during short- and long-term exposure to Cu^{2+} and Zn^{2+} . *Chemosphere* 62(4): 538-44.
- Verma S, Dubey RS (2003) Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science* 164: 645-655.
- Volesky B (1990) *Biosorption of Heavy Metals*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Zar JH (2009) *Biostatistical analysis* (5th ed.). Pearson PLC, London, UK.

6. A JELÖLT TUDOMÁNYOS TEVÉKENYSÉGE

Az értekezés témájában megjelent közlemények (IF: 3,599):

Referált folyóiratokban megjelent közlemények idegen (angol) nyelven:

Bácsi I, **Novák Z**, Jánószky M, B-Béres V, Grigorszky I, Nagy SA (2015) The sensitivity of two *Monoraphidium* species to zinc - their possible future role in bioremediation. International Journal of Environmental Science and Technology 12(8): pp. 2455-2466.
IF: 2.344

Novák Z, Jánószky M, B-Béres V, Nagy SA, Bácsi I (2014) Zinc Tolerance and Zinc Removal Ability of Living and Dried Biomass of *Desmodesmus communis*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 93(6): pp. 676-682. **IF: 1.255**

Referált folyóiratokban megjelent közlemények magyar nyelven:

Novák Z, Szemán A, Jánószky M, Nagy SA, Bácsi I (2014) A *Desmodesmus communis* zöldalga rézzel szembeni érzékenysége és réz-akkumulációjának jellemzése. Hidrológiai Közlöny 94(5-6): pp. 70-73.

Novák Z, Jánószky M, Nagy SA, Bácsi I (2013) A *Scenedesmus quadricauda* zöldalga faj élő és holt biomasszájának cink akkumulációs sajátosságai. Hidrológiai Közlöny 93(5-6): pp. 105-108.

Külföldi konferenciák, poszterek:

Novák Z, Jánószky M, Nagy SA, Bácsi, I (2013) Zinc tolerance of *Desmodesmus quadricaudatus* (Turpin) Hegewald and zinc removal ability of living and dead biomass of the green alga. III. Fresh Blood for FreshWater - Young Aquatic Science, 2013. február 27. – március 1. Lunz, Ausztria.

B-Béres V, Szabó G, **Novák Z**, Vitál Z, Bácsi I (2011) The sensitivity of two *Monoraphidium* species to zinc: their possible role in bioremediation. The 16th Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy and Ecology (IAP), 2011. augusztus 21-28. S. Michele all'Adige, Olaszország.

Hazai konferenciák, posztterek:

Novák Z, Szemán A, Jánószky M, Nagy SA, Bácsi I (2013) A *Desmodesmus communis* zöldalga rézzel szembeni érzékenysége és réz-akkumulációjának jellemzése. LV. Hidrobiológus Napok, 2013. október 2-4. Tihany.

Novák Z, Jánószky M, Nagy SA, Bácsi I (2012) A *Scenedesmus quadricauda* zöldalga faj élő és holt biomasszájának cink akkumulációs sajátosságai. LIV. Hidrobiológus Napok, 2012. október 3-5. Tihany.

Egyéb megjelent közlemények (IF: 10,358)

Referált folyóiratokban megjelent közlemények idegen (angol) nyelven:

B-Béres V, Lukács Á, Török P, Kókai Zs, **Novák Z**, T-Krasznai E, Tóthmérész B, Bácsi I (2016) Combined eco-morphological functional groups are reliable indicators of colonisation processes of benthic diatom assemblages in a lowland stream. *Ecological Indicators* 64: pp. 31-38. **IF: 3,190**

Bácsi I, B-Béres V, Kókai Z, Gonda S, **Novák Z**, Nagy SA, Vasas G (2016) Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on cyanobacteria and algae in laboratory strains and in natural algal assemblages. *Environmental Pollution* 212: pp. 508-518. **IF: 4,839**

Bácsi I, Gonda S, B-Béres V, **Novák Z**, Nagy SA, Vasas G (2015) Alterations of phytoplankton assemblages treated with chlorinated hydrocarbons: Effects of dominant species sensitivity and initial diversity. *Ecotoxicology* 24(4): pp. 823-834. **IF: 2,329** (2015)

Külföldi konferenciák, előadások:

Bácsi I, Gonda S, B-Béres V, **Novák Z**, Nagy SA, Vasas G (2015) Responses of diatom taxa to the presence of non steroid anti inflammatory drugs in natural algal assemblages. 9th Central European Diatom Meeting, 2015. március 10.-13. Bremerhaven, Németország.

Külföldi konferenciák, posztterek:

Novák Z, Bácsi I, Gonda S, B-Béres V, Nagy SA, Vasas G (2014) Various effects of non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on the growths of cyanobacteria and eukaryotic algae. The 17th Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy and Ecology (IAP), 2014. szeptember 14-21. Kastoria, Görögország.

Bácsi I, **Novák Z**, Gonda S, B-Béres V, Nagy SA, Vasas G (2014) Effects of non steroid anti inflammatory drugs on the composition of natural algal assemblages. The 17th Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy and Ecology (IAP), 2014. szeptember 14-21. Kastoria, Görögország.

Bácsi I, B-Béres V, Vasas G, Gonda S, **Novák Z**, Nagy SA (2013) Changes in composition of phytoplankton assemblages due to organic contaminants depending on the sensitivity of dominant species. 4th Croatian Botanical Symposium, 2013. szeptember 27-29. Split, Horvátország.

Hazai konferenciák, előadások:

Bácsi I, Gonda S, B-Béres V, **Novák Z**, Nagy SA, Vasas G (2015) Nem szteroid gyulladáscsökkentők hatása természetes algaközösségek összetételére. VII. Algológus Találkozó és Továbbképzés, 2015. május 27. Budapest,

Bácsi I, B-Béres V, Gonda S, **Novák Z**, Vasas G (2013) Fitoplankton közösség összetételének változása szerves szennyező hatására a közösség diverzitásának és a domináns faj érzékenységeinek függvényében. IV. Algológus Találkozó és Továbbképzés, 2013. november 27. Budapest.

Hazai konferenciák, poszterek:

B-Béres V, Lukács Á, Török P, Kókai Zs, **Novák Z**, T-Krasznai E, Tóthmérész B, **Bácsi I** (2015) Ökológiai csoportok szerepe alföldi kisvízfolyás kovaalgáinak kolonizációs vizsgálataiban – holisztikus szemléletű kombinált ökológiai csoportok használhatósága. 10. Magyar Ökológus Kongresszus, 2015. augusztus 12-14. Veszprém.



Nyilvántartási szám: DEENK/245/2017.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Novák Zoltán

Neptun kód: GNRKVD

Doktori Iskola: Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (2)

1. **Novák, Z.**, Szemán, A., Jánószky, M., Nagy, S. A., Bácsi, I.: A *Desmodesmus communis* zöldalga rézzel szembeni érzékenysége és réz-akkumulációjának jellemzése.
Hidrol. Közöny. 94 (5-6), 70-73, 2014. ISSN: 0018-1323.
2. **Novák, Z.**, Jánószky, M., Nagy, S. A., Bácsi, I.: A *Scenedesmus quadricauda* zöldalga faj élő és holt biomasszájának cink akkumulációs sajátosságai.
Hidrol. Közöny. 93 (5-6), 105-108, 2013. ISSN: 0018-1323.

Idgen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

3. Bácsi, I., **Novák, Z.**, Jánószky, M., B-Béres, V., Grigorszky, I., Nagy, S. A.: The sensitivity of two *Monoraphidium* species to zinc - their possible future role in bioremediation.
Int. J. Environ. Sci. Technol. 12 (8), 2455-2466, 2015. ISSN: 1735-1472.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13762-014-0647-3>
IF: 2.344
4. **Novák, Z.**, Jánószky, M., B-Béres, V., Nagy, S. A., Bácsi, I.: Zinc tolerance and zinc removal ability of living and dried biomass of *Desmodesmus communis*.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 93 (6), 676-682, 2014. ISSN: 0007-4861.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-014-1374-7>
IF: 1.255





További közlemények

Idegén nyelvű közlemények külföldi folyóiratban (3)

5. B-Béres, V., Lukács, Á., Török, P., Kókai, Z., **Novák, Z.**, Krasznai, E., Tóthmérész, B., Bácsi, I.:
Combined eco-morphological functional groups are reliable indicators of colonisation
processes of benthic diatom assemblages in a lowland stream.
Ecol. Indic. 64 (1), 31-38, 2016. ISSN: 1470-160X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.12.031>
IF: 3.898
6. Bácsi, I., B-Béres, V., Kókai, Z., Gonda, S., **Novák, Z.**, Nagy, S. A., Vasas, G.: Effects of non-
steroidal anti-inflammatory drugs on cyanobacteria and algae in laboratory strains and in
natural algal assemblages.
Environ. Pollut. 212, 508-518, 2016. ISSN: 0269-7491.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.031>
IF: 5.099
7. Bácsi, I., Gonda, S., B-Béres, V., **Novák, Z.**, Nagy, S. A., Vasas, G.: Alterations of phytoplankton
assemblages treated with chlorinated hydrocarbons: Effects of dominant species sensitivity
and initial diversity.
Ecotoxicology. 24, 823-834, 2015. ISSN: 0963-9292.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-015-1427-7>
IF: 2.329

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 14,925

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
3,599**

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

Debrecen, 2017.07.17.





Registry number: DEENK/245/2017.PL
Subject: PhD Publikációs Lista

Candidate: Zoltán Novák
Neptun ID: GNRKVD
Doctoral School: Pál Juhász-Nagy Doctoral School of Biology and Environmental Sciences
MTMT ID: 10047879

List of publications related to the dissertation

Hungarian scientific articles in Hungarian journals (2)

1. **Novák, Z.**, Szemán, A., Jánószky, M., Nagy, S. A., Bácsi, I.: A *Desmodesmus communis* zöldalga rézzel szembeni érzékenysége és réz-akkumulációjának jellemzése.
Hidrol. Közlöny. 94 (5-6), 70-73, 2014. ISSN: 0018-1323.
2. **Novák, Z.**, Jánószky, M., Nagy, S. A., Bácsi, I.: A *Scenedesmus quadricauda* zöldalga faj élő és holt biomasszájának cink akkumulációs sajátosságai.
Hidrol. Közlöny. 93 (5-6), 105-108, 2013. ISSN: 0018-1323.

Foreign language scientific articles in international journals (2)

3. Bácsi, I., **Novák, Z.**, Jánószky, M., B-Béres, V., Grigorszky, I., Nagy, S. A.: The sensitivity of two *Monoraphidium* species to zinc - their possible future role in bioremediation.
Int. J. Environ. Sci. Technol. 12 (8), 2455-2466, 2015. ISSN: 1735-1472.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13762-014-0647-3>
IF: 2.344
4. **Novák, Z.**, Jánószky, M., B-Béres, V., Nagy, S. A., Bácsi, I.: Zinc tolerance and zinc removal ability of living and dried biomass of *Desmodesmus communis*.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 93 (6), 676-682, 2014. ISSN: 0007-4861.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-014-1374-7>
IF: 1.255





List of other publications

Foreign language scientific articles in international journals (3)

5. B-Béres, V., Lukács, Á., Török, P., Kókai, Z., **Novák, Z.**, Krasznai, E., Tóthmérész, B., Bácsi, I.:
Combined eco-morphological functional groups are reliable indicators of colonisation
processes of benthic diatom assemblages in a lowland stream.
Ecol. Indic. 64 (1), 31-38, 2016. ISSN: 1470-160X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.12.031>
IF: 3.898
6. Bácsi, I., B-Béres, V., Kókai, Z., Gonda, S., **Novák, Z.**, Nagy, S. A., Vasas, G.: Effects of non-
steroidal anti-inflammatory drugs on cyanobacteria and algae in laboratory strains and in
natural algal assemblages.
Environ. Pollut. 212, 508-518, 2016. ISSN: 0269-7491.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.031>
IF: 5.099
7. Bácsi, I., Gonda, S., B-Béres, V., **Novák, Z.**, Nagy, S. A., Vasas, G.: Alterations of phytoplankton
assemblages treated with chlorinated hydrocarbons: Effects of dominant species sensitivity
and initial diversity.
Ecotoxicology. 24, 823-834, 2015. ISSN: 0963-9292.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-015-1427-7>
IF: 2.329

Total IF of journals (all publications): 14,925

Total IF of journals (publications related to the dissertation): 3,599

The Candidate's publication data submitted to the iDEa Tudóstér have been validated by DEENK on the basis of Web of Science, Scopus and Journal Citation Report (Impact Factor) databases.

17 July, 2017

