

Potential of the green microalgae *Tetraselmis viridis* and *Dunaliella salina* for bioremediation of aquatic ecosystems from the organophosphorus herbicide glyphosate

Solomonova E.S.*, Shoman N.Yu., Akimov A.I., Borovkov A.B.

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Federal Research Center, Sevastopol, Russia

ABSTRACT. Agricultural activities in Crimea and Sevastopol lead to contamination of aquatic ecosystems with herbicides, particularly glyphosate. A comparative assessment of the physiological response of the green microalgae *Tetraselmis viridis* and *Dunaliella salina* to glyphosate exposure (0–2100 µg/L) under optimal (45 µE m⁻² s⁻¹) and high (500 µE m⁻² s⁻¹) irradiance was conducted. The dynamics of algal abundance, physio-biochemical parameters of cells (chlorophyll *a* content, photosynthetic apparatus efficiency, cell size and granularity, reactive oxygen species production), and the abundance of associated bacteria were evaluated using microscopy, flow cytometry, and PAM fluorometry. It was found that glyphosate stimulates the growth of *T. viridis* and *D. salina*, which is reflected in high photosynthetic activity of cells, low oxidative stress levels, and increased biomass production. Under optimal irradiance, *T. viridis* exhibits growth stimulation at low and intermediate glyphosate concentrations (up to 700 µg/L) and inhibition at high doses. In contrast, *D. salina* demonstrates exceptional tolerance over a wide range of herbicide concentrations (up to 2100 µg/L). High irradiance enhances both the stimulatory and toxic effects of glyphosate on *T. viridis* while narrowing the tolerance range of *D. salina*, reducing the toxicity threshold of cells to the herbicide. It was shown that glyphosate addition stimulates the growth of associated bacteria. However, intensive algal growth outpaces bacterial population growth, indicating direct glyphosate uptake by microalgae as a nutrient source. The ability of both species to directly metabolize glyphosate and the possibility of controlling their physiological state through light conditions determine the high potential of these microalgae for application in biological wastewater treatment systems contaminated with herbicides. The feasibility of using *T. viridis* for rapid removal of low to moderate glyphosate doses (up to 700 µg/L) is demonstrated. *D. salina* can be used for the treatment of waters contaminated with high glyphosate concentrations.

Keywords: herbicides, glyphosate, microalgae, bioremediation, hormetic growth

For citation: Solomonova E.S., Shoman N.Yu., Akimov A.I., Borovkov A.B. Potential of the green microalgae *Tetraselmis viridis* and *Dunaliella salina* for bioremediation of aquatic ecosystems from the organophosphorus herbicide glyphosate // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 470-487. DOI: [10.31951/2658-3518-2026-A-4-470](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2026-A-4-470)

1. Introduction

In Crimea and Sevastopol, agricultural activities impose a significant burden on aquatic ecosystems. The major rivers of Crimea — the Salgir, Alma, Kacha, and Chernaya — carry various pollutants into the Black and Azov Seas, including the coastal waters off Sevastopol. It has previously been shown that significant amounts of pesticides and nutrients enter the sea through agricultural runoff, as well as through groundwater flowing beneath intensive farming areas (e.g., the Baydar

Valley) (Malakhova et al., 2023). Glyphosate-based herbicides are the most common non-selective, post-emergence, broad-spectrum herbicides used worldwide for controlling annual and perennial weeds in agroecosystems, home gardens, ornamental horticulture, and aquatic ecosystems (Battaglin et al., 2014). Over recent decades, there has been a significant increase in glyphosate consumption, making it one of the most widely used agrochemicals globally (Mercurio et al., 2014). The mechanism of action of glyphosate involves

*Corresponding author. E-mail address: solomonov83@mail.ru (E.S. Solomonova)

Received: June 04, 2026;

Accepted after revised: July 28, 2026;

Available online: August 28, 2026

© Author(s) 2026. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



competitive inhibition of the enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), which catalyzes a key reaction in the shikimate pathway of aromatic amino acid biosynthesis (Romano-Armada and Rajal, 2022).

Currently, the main approaches for pesticide removal from water bodies include physicochemical and biological methods. Among physicochemical methods, adsorption onto porous materials is characterized by high target compound removal efficiency; however, it is associated with significant operational costs (Le et al., 2023). Oxidation and photocatalytic degradation methods demonstrate high efficacy in the destruction of organic pollutants but require the use of substantial amounts of catalysts and chemical reagents, which not only increases treatment costs but also poses risks of secondary environmental contamination (Kang et al., 2012; Tang et al., 2016). Among biological methods, activated sludge systems are widely used (Liu et al., 2025).

A promising direction in biological wastewater treatment is the use of microalgae (Ramanan et al., 2016; Semple et al., 1999). This approach not only ensures pollutant removal and carbon dioxide sequestration but is also characterized by high resource efficiency, which determines its significant potential (Cáceres et al., 2008). The authors of the study (Cáceres et al., 2008) showed that ten different species of microalgae and cyanobacteria are capable of oxidizing the nematocide fenamiphos, belonging to the group of organophosphorus compounds, with *Chlorella* sp. and *Anabaena* sp. achieving 99% detoxification of this compound. The same research group found that the freshwater microalga *P. subcapitata* and the soil alga *Chlorococcum* sp. accumulate and transform fenamiphos by 100% and 62%, respectively, suggesting higher efficiency when using a liquid suspension (Cáceres et al., 2008a). The cyanobacterium *Anabaena azotica*, isolated from rice paddies, exhibited tolerance and bioremediation potential for γ -HCH (Gamma-hexachlorocyclohexane, a preparation containing 99–100% of this substance, is widely known as lindane) degradation, removing nearly 50% of this compound within 5 days (Zhang et al., 2012). Another study documented a spontaneous mutation that enabled *S. intermedius* to acquire lindane resistance as well as demonstrate potential for its removal from aquatic systems (González et al., 2012). *Chlorococcum* sp. and *Scenedesmus* sp. were found to be capable of endosulfan degradation both in liquid medium and in soil (Sethunathan et al., 2004). However, not all algal species possess the ability to degrade herbicides. As previously noted in the scientific literature, their responses to glyphosate exposure show high species specificity (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024a). The key factor in bioremediation of water bodies from glyphosate is not merely herbicide-tolerant species, but rather species capable of utilizing it. Numerous studies have recorded massive cyanobacterial growth upon glyphosate addition to culture media (Chorus and Welker, 2021; Qiu et al., 2013), indicating the potential use of these microorganisms as degraders. Studies (Vera et al., 2012; Gattás et al., 2016; Vera et al., 2010; Pizarro et

al., 2016; Wang et al., 2016) have also demonstrated a hormetic effect of glyphosate on various phytoplankton representatives, expressed as stimulation of growth processes at certain concentrations, which can be used to intensify bioremediation.

Strains of the genus *Tetraselmis* attract researchers' attention due to their high halo- and eurythermal-ity, efficient removal of nutrients (Amit et al., 2017), as well as their ability to accumulate lipids and biologically active compounds, making them promising for the circular bioeconomy (Pereira et al., 2018; 2019; Goswami et al., 2022). These microalgae are successfully used for the treatment of various types of wastewater (urban, municipal, industrial, aquaculture) and for heavy metal remediation (Naorbe and Serrano, 2018; Pérez-Rama et al., 2002), and the resulting biomass can serve as feedstock for biofuel production (Goswami et al., 2022). Green microalgae of the genus *Dunaliella* can also be used for wastewater treatment due to their high ability to assimilate nutrients from the environment (Oren, 2005). Previous studies have also revealed the potential of *Dunaliella* biomass as an alternative to fossil fuels, since under stress conditions such as nutrient deficiency, these microalgae accumulate chemical energy in the form of neutral lipids (triglycerides) (Wijffels and Barbosa, 2010).

However, although representatives of the genera *Tetraselmis* and *Dunaliella* have proven themselves as effective bioremediation agents, their potential for glyphosate degradation and removal remains largely unexplored. Meanwhile, the efficiency of pesticide bioremediation using microalgae is determined by multiple factors: the toxicity and concentration of the pollutant, the nature of contamination (localization), as well as abiotic environmental parameters — temperature, pH, light intensity, and water availability — which collectively influence the ability of autotrophic microorganisms to accumulate or transform xenobiotics (Zhang et al., 2014; Fang et al., 2016). In this regard, identifying the resistance and bioremediation potential of green microalgae towards glyphosate represents a relevant and promising direction requiring further experimental research, especially in the context of the combined effects of abiotic environmental factors and anthropogenic pollutants.

The main objective of this study is to assess the resistance and bioremediation potential of microalgae of the genera *Tetraselmis* and *Dunaliella* towards glyphosate under optimal and high light intensity, in order to substantiate the feasibility of their application in technologies for the tertiary treatment of aquatic environments contaminated with herbicides.

2. Materials and methods

2.1. Materials and algal incubation

Axenic cultures of the green microalgae *Dunaliella salina* (Teod.), strain IBSS-1, and *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) R.E. Norris, Hori & Chihara were obtained from the Collection of Living Cultures of Marine Planktonic Microalgae of the Joint Use Center “Hydrobionts of the World Ocean” (WDCM No. 1201) at

the A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (IBSS). Prior to the experiment, the cultures were in the stationary growth phase, which made it possible to assess the ability of *D. salina* and *T. viridis* to grow using glyphosate as the sole nutrient source. During the experiment, microalgae were cultivated in pure sterile seawater without the addition of nutrient medium. For this purpose, water from the open part of the Black Sea (salinity 18‰) was used, which was pre-filtered through Whatman glass fiber filters (GF/C) (Sartorius Stedim Biotech, France) with a pore diameter of 1 µm and sterilized three times at 85°C. The initial cell density in all experimental variants was 28×10^4 cells/mL. The microalgae were cultivated at optimal ($45 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and high ($500 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) light intensities, a temperature of 20°C, and a light:dark cycle of 14:10 hours. A light panel with cool-white LEDs was used to illuminate the flasks. Light intensity was measured using a 4π quantum scalar irradiance sensor (QSL 2101, Biospherical Instruments Inc., USA). Cultures were aerated using aquarium compressors, and the pH of the culture medium was 8.2–8.5.

2.2. Experimental procedures

During the experiments, the effect of the herbicide glyphosate on the growth, cytometric and fluorescent parameters of *D. salina* and *T. viridis* was studied. Technical-grade glyphosate (CAS 1071-83-6, 95% purity) obtained from Hubei Novcare Pharmaceutical Co., Ltd. (China) was used to prepare toxicant solutions. Glyphosate was added to the experimental flasks at concentrations of 350, 700, 1050 (for *T. viridis* only), 1400, and 2100 µg/L. The selection of concentrations was based on the results of preliminary experiments that allowed us to establish the range of toxic action of the herbicide (Solomonova et al., 2024a; Solomonova et al., 2024b). Microalgae cultivated without glyphosate were used as a control. Each experimental variant was performed in triplicate. After glyphosate addition, the microalgae were cultivated in batch mode under two light intensities for 6 days.

2.3. Analytical methods

Cytometric analysis of samples. The abundance of microalgae in the samples was determined by flow cytometry based on forward light scattering (FS) and red chlorophyll autofluorescence of individual cells (FL4, 655 nm). Sample analysis was performed on a MACS Quant Analyzer flow cytometer (Miltenyi Biotec, Germany) at the Joint Use Center “Spectrometry and Chromatography” of the FRC IBSS. Data processing was carried out using FCS Express 7 Research Edition software.

Reactive oxygen species (ROS) production was assessed by measuring the fluorescence of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCF-DA; Merck, Germany) on cytograms based on forward light scattering (FS) and cell fluorescence at a wavelength of 525 nm. The autofluorescence of *D. salina* and *T. viridis* cells in this spectral region was subtracted beforehand.

Staining of microalgae was performed for 35 minutes in the dark after adding 5 µL of H2DCF-DA working solution (5 mg mL^{-1}) per 1 mL of culture suspension immediately before measurement (Wang and Joseph, 1999).

Bacterial abundance was determined in samples stained with SYBR Green I (Molecular Probes, USA) by gating the cell population on two-parameter cytograms of forward light scattering (FS) and SYBR Green I fluorescence in the green spectral region (FL1 channel, 525 nm) on dimensionless logarithmic scales. Staining with SYBR Green I was performed in the dark for 40 minutes immediately before measurement according to Marie et al. (1997).

PAM fluorimetry method. Fluorescence measurements of the microalgal pigment complex were performed using a pulse-amplitude modulation fluorimeter “Mega-25m” (LLC “Gene and Cell Therapy,” Russia) with excitation light at a wavelength of 455 nm. A detailed description of the methodology and characteristics of this fluorimeter is presented in Pogosyan et al. (2009). The efficiency of photosynthetic apparatus operation after dark adaptation of cells (F_v/F_m) was calculated using the formula:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_o}{F_m},$$

where F_o is the chlorophyll *a* fluorescence level with open reaction centers, and F_m is the maximum chlorophyll *a* fluorescence level with closed reaction centers.

The relative maximum electron transport rate of photosystem II at a light intensity of $I = 500 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and an exposure duration of 40 s was calculated using the formula:

$$rETR = \frac{F_m' - F_o'}{F_m'} \cdot I,$$

where F_m' is the maximum chlorophyll *a* fluorescence under continuous illumination, and F_o' is the minimum (baseline) chlorophyll *a* fluorescence under continuous illumination.

Statistical analysis. Statistical data processing was performed using Microsoft Office and Golden Software Grapher-16 software. Data points in the graphs and table represent mean values of three replicates. Bars indicate standard deviations of the obtained values. The significance of differences between samples was assessed using Student's t-test at $p < 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Comparative analysis of the effect of glyphosate on the growth of *T. viridis* and *D. salina* and their associated microflora under different light intensities

The combined effect of the herbicide glyphosate (0–2100 µg/L) and light intensity (optimal / high light) on the population dynamics of the microalgae *T. viridis* and *D. salina* was assessed. In control samples (0 µg/L glyphosate) under optimal light conditions, *T. viridis* showed a decrease in cell abundance from 28×10^4 cells/mL to 12×10^4 cells/mL by day 6 of cultivation, while *D. salina* decreased from 28×10^4 cells/mL to 25

$\times 10^4$ cells/mL. This is due to the transition of the cultures into the stationary growth phase, which is accompanied by subsequent algal degradation resulting from nutrient depletion in the medium. When microalgae were grown under high light intensity, the cell abundance of *T. viridis* decreased to 7.2×10^4 cells/mL by day 6, whereas *D. salina* decreased to 15×10^4 cells/mL. This result indicates greater resistance of *D. salina* to high light intensity, which is consistent with previously published data (Borovkov et al., 2020).

Glyphosate addition at concentrations of 350–1050 $\mu\text{g/L}$ under optimal light conditions induced hormetic growth of *T. viridis* cells. The maximum increase in cell abundance (75.2×10^4 cells/mL) was observed at 700 $\mu\text{g/L}$ glyphosate. At a pollutant concentration of 350 $\mu\text{g/L}$, this value reached 33×10^4 cells/mL, and at 1050 $\mu\text{g/L}$ — 54×10^4 cells/mL (Fig. 1a). Increasing the light intensity to $500 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ shifted the hormetic effect to lower glyphosate concentrations: the maximum increase in *T. viridis* abundance (85×10^4 cells/mL) was achieved at 350 $\mu\text{g/L}$ glyphosate, which is 13% higher than the value under optimal light conditions (Fig. 1c). At 700 $\mu\text{g/L}$ glyphosate, the maximum culture abundance was 52×10^4 cells/mL, which is 34% lower than the values at the same herbicide concentration under optimal light conditions. At 1050 $\mu\text{g/L}$ herbicide, conversely, a gradual decline in culture suspension density to 25×10^4 cells/mL was observed by day 6 of the experiment. High glyphosate doses (1400 and 2100 $\mu\text{g/L}$) exerted acute toxic effects on *T. viridis* growth. The severity of the effect increased with increasing light intensity. Under optimal light

conditions, *T. viridis* abundance decreased to 0.2×10^4 cells/mL and to 0 by day 6 at 1400 and 2100 $\mu\text{g/L}$ glyphosate, respectively. Under high light intensity ($500 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$), culture death at both concentrations occurred as early as day 3 of the experiment. Thus, increased light intensity enhances both the stimulatory effect of moderate herbicide concentrations (likely due to more active metabolism and phosphorus utilization from glyphosate) and the toxicity of high doses.

D. salina also exhibited growth stimulation upon glyphosate addition. Under optimal light conditions, high cell resistance to elevated herbicide concentrations was observed. At 1400 and 2100 $\mu\text{g/L}$, the culture abundance reached 81 and 93×10^4 cells/mL, respectively, by day 6 (Fig. 1b). At 350 and 700 $\mu\text{g/L}$ glyphosate, the growth increase of *D. salina* was significantly lower, reaching 58 – 65×10^4 cells/mL. Under high light intensity, the growth dynamics of *D. salina* changed substantially. The absolute maximum increase in cell abundance (91×10^4 cells/mL) was observed at 1400 $\mu\text{g/L}$ glyphosate. Meanwhile, at 2100 $\mu\text{g/L}$, culture elimination was observed (Fig. 1d). At concentrations of 350 and 700 $\mu\text{g/L}$, *D. salina* abundance reached maximum values of 47 and 63×10^4 cells/mL, respectively, as early as day 2 of the experiment. Upon further cultivation under these conditions, a decrease in this parameter to 21 – 23×10^4 cells/mL was observed by day 6. This result indicates that the stimulatory effect of moderate herbicide doses under light stress conditions is preserved but occurs more rapidly due to the higher growth rate of the cells.

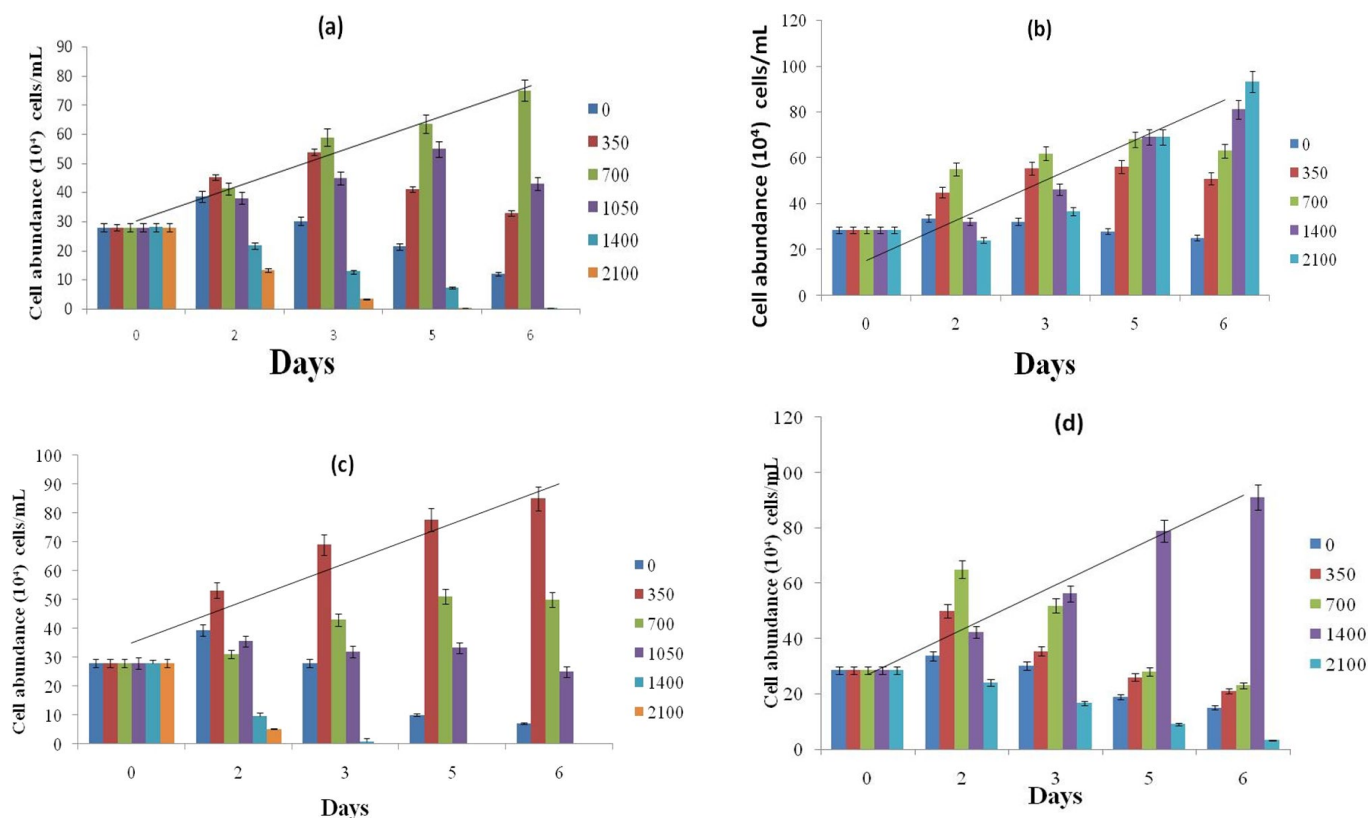


Fig.1. Effect of glyphosate on changes in cell number of *T. viridis* (a, c) and *D. salina* (b, d). a, b – light intensity of $45 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$; c, d – light intensity of $500 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Bars show the mean ($n = 3$) cell density (cells/mL) in the control sample and for each evaluated glyphosate concentration ($\mu\text{g/L}$). Error bars represent the standard error.

Thus, glyphosate exerts a stimulatory effect on the growth of both cultures — *T. viridis* and *D. salina*. At the same time, *D. salina* demonstrates higher resistance to high herbicide concentrations. Light intensity acts as a key modulator of algal sensitivity: elevated light intensity accelerates metabolic processes, thereby potentiating both the stimulatory and toxic effects of glyphosate.

Obviously, the observed hormesis effect in *T. viridis* and *D. salina* is related to their ability to use glyphosate as a source of mineral nutrition, as has been previously shown for other species of phototrophic microorganisms (Maršálek and Rojíčková, 1996; Qiu et al., 2013). It is known that many microalgae can utilize dissolved organic phosphorus compounds through hydrolysis by extracellular enzymes, such as alkaline phosphatase (Dyhrman and Ruttenberg, 2006). Some microalgal species actively synthesize and release these enzymes into the environment when inorganic phosphate is deficient (Dabney and Patiño, 2018). Phosphatases hydrolyze the ester bond in organic phosphorus molecules and cleave inorganic phosphate (PO_4^{3-}) from the organic molecule. The released inorganic phosphate is then transported into the cell via specific transporter proteins (Wang et al., 2024). This key adaptation allows algae to survive under conditions of inorganic phosphate (PO_4^{3-}) deficiency, which is the preferred form of phosphorus for most algae (Harke and Gobler, 2013). In previous reports, we have shown an increase in the cell abundance of the dinoflagellates *Prorocentrum cordatum* and *P. micans* and the haptophyte *Isochrysis galbana* upon glyphosate addition to the medium (Solomonova et al., 2024a; Solomonova et al., 2024b). It was determined that the strategy for utilizing the herbicide is not universal among different algal species. For example, *P. cordatum* is capable of growing using glyphosate as the sole source of phosphorus immediately after it enters the medium. In contrast, *P. micans* utilizes phosphorus from glyphosate after its mineralization by bacteria (Solomonova et al., 2024a). The stimulation of microalgal growth by

glyphosate has also been previously reported in (Wang et al., 2016; Zhang et al., 2016; Dabney and Patiño, 2018). The authors also explain the observed effect by the phosphorus content in glyphosate, which is necessary for algal growth.

To elucidate whether the hormesis effect in *T. viridis* and *D. salina* is due to direct uptake of glyphosate as a nutrient substrate or its mineralization by bacterial microflora, we determined the bacterial abundance in the cultures under optimal light conditions. The results are presented in Table 1. In the control sample, the bacterial abundance in the *T. viridis* culture reached a maximum (4.66 ± 0.4 million cells/mL) on day 3 of the experiment. For *D. salina*, steady growth of the bacterial microflora was observed throughout the experiment, reaching 9.1 ± 0.3 million cells/mL on day 9. The observed increase in bacterial abundance in the cultures is associated with the transition of the algae into the stationary growth phase, which is a well-known fact (Kharchuk et al., 2022).

For *T. viridis* at a glyphosate concentration of 350 $\mu\text{g/L}$, which stimulated algal growth, the bacterial abundance in the culture did not significantly differ from the control throughout the experiment. At 700 $\mu\text{g/L}$, bacterial abundance already significantly exceeded the values in the control sample. At 1400–2100 $\mu\text{g/L}$ of the herbicide, the bacterial count in the culture media was twice as high as the control values, which is evidently due to the elimination of algal cells at these herbicide concentrations. A similar result was obtained for *D. salina*. A significant increase in bacterial abundance in the culture was observed at glyphosate concentrations above 700 $\mu\text{g/L}$. In contrast, hormetic algal growth was already observed at 350 $\mu\text{g/L}$.

Thus, glyphosate addition stimulated bacterial development in both cultures, and the effect intensified with increasing herbicide concentration. The obtained results confirm that a portion of glyphosate is mineralized by bacteria, but this process takes time (Sun et al., 2019; Singh et al., 2020). Since algal growth was observed immediately after the herbicide addition, and

Table 1. Effect of glyphosate on bacterial abundance in the culture suspension under optimal light intensity of 45 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Concentration, $\mu\text{g/L}$	<i>Tetraselmis viridis</i> , days				
	0	2	3	5	6
0	1.5 ± 0.2	1.9 ± 0.2	4.7 ± 0.4	4.3 ± 0.5	4.7 ± 0.2
350	1.5 ± 0.2	2 ± 0.1	5.5 ± 0.4	4.4 ± 0.4	5.4 ± 0.2
700	1.5 ± 0.2	3.2 ± 0.2	7.2 ± 0.6	6.2 ± 0.6	6.5 ± 0.5
1400	1.5 ± 0.2	3.4 ± 0.1	7 ± 1.1	7.1 ± 0.8	7.3 ± 0.7
2100	1.5 ± 0.2	4.5 ± 0.5	8.1 ± 1.4	8.3 ± 0.8	9.6 ± 0.6
	<i>Dunaliella salina</i> , days				
	0	2	3	5	6
0	2.2 ± 0.16	3.2 ± 0.4	5.8 ± 0.7	7.1 ± 0.9	9.1 ± 0.3
350	2.2 ± 0.16	3.5 ± 0.12	6.3 ± 0.81	8.3 ± 0.7	10.1 ± 1.1
700	2.2 ± 0.16	4.2 ± 0.17	8.3 ± 0.62	8.9 ± 1	10.7 ± 0.9
1400	2.2 ± 0.16	5.1 ± 0.2	8.8 ± 1.07	9.7 ± 0.9	12.1 ± 1.2
2100	2.2 ± 0.16	5.9 ± 0.4	9.1 ± 1.2	13 ± 1.2	13.9 ± 1.5

at 350 µg/L bacterial activity did not differ from the control, we believe that at the initial stage, the algae utilize glyphosate directly. At later growth stages, combined nutrition likely occurs: the algae consume both inorganic phosphorus resulting from mineralization and the organic phosphorus of glyphosate.

3.2. Effect of glyphosate on the physiological and biochemical parameters of the microalgae *T. viridis* and *D. salina* under different light intensities

Tetraselmis viridis.

Analysis of the physiological and biochemical parameters of *T. viridis* after 72 hours of cultivation without glyphosate addition showed that increasing light intensity from 45 to 500 µE m⁻² s⁻¹ exerts a moderate photoinhibitory effect on the cells (Table 2). A decrease in chlorophyll content per cell (FL4) by 13%, a significant reduction in the quantum efficiency of photosynthesis (Fv/Fm) to 0.56 relative units, and an increase in reactive oxygen species production (D₂CFH-DA fluorescence) by 30% were observed. Cell volume did not change, whereas their granularity significantly increased. The side scatter (SS) parameter, characterizing intracellular “complexity,” increased by 38%, indicating substantial changes in intracellular morphology.

Changes in the physiological and biochemical parameters of cells under glyphosate exposure correlated with the growth characteristics of the algae. At herbicide concentrations that stimulated growth (350–700 µg/L), the physiological parameters of the cells improved compared to the control under both optimal and high light intensities (Table 2). In particular, a marked reduction in ROS production (by a factor of 2–7) and an increase in cell photosynthetic activity were observed. Fv/Fm values of 0.6–0.7 relative units indicate highly efficient photochemical conversion and the absence of significant physiological stress in the cells at these glyphosate concentrations (Maxwell and Johnson, 2000).

At 1400 and 2100 µg/L, the inhibitory effect of glyphosate on growth was accompanied by a deterioration in cellular parameters. Under optimal light intensity, signs of acute toxic effects were observed in the algae: a decrease in photosynthetic activity (Fv/Fm = 0.47–0.53 relative units, rETR = 0.12–0.16 relative units), an increase in ROS production (2–3 times higher than the control), a decrease in specific chlorophyll content, and an increase in cell granularity (SS = 43–49 relative units). Increasing the light intensity enhanced the toxic effect of the herbicide on the algae. Thus, at 1400 µg/L glyphosate and a high light intensity of 500 µE m⁻² s⁻¹, a critical depression of photosynthesis was observed in *T. viridis*: Fv/Fm decreased to 0.41 relative units, and rETR to 0.11 relative units. At the

Table 2. – Effect of glyphosate on the physiological and biochemical parameters of *Tetraselmis viridis* and *Dunaliella salina* at a light intensity of 45 µE m⁻² s⁻¹ (blue numbers) and 500 µE m⁻² s⁻¹ (red numbers) after 72 hours of cultivation. Data are presented as mean ± standard error (SE).

Glyphosate µg·L ⁻¹	FL4 r.u.	FS r.u.	SS r.u.	Fv/Fm	rETR. r.u.	D2CFH-DA. r.u.
<i>Tetraselmis viridis</i>						
0	112±3 98±5	20±2 21±2	30±2 48±5	0.61 0.56	0.2 0.16	110±12 158±17
350	113±5 93±7	22±3 23±2	28±1 71±7	0.65 0.68	0.22 0.17	56±7 23±3
700	126±4 88±5	21±3 23±3	26±0.7 32±4	0.7 0.6	0.21 0.17	19±1 29±4
1400	110±7 81±4	22±2 27±3	43±0.5 51±3	0.53 0.41	0.16 0.11	210±11 348±13
2100	100±9 -	22±3 -	49±0.7 -	0.47 -	0.12 -	311±10 -
<i>Dunaliella salina</i>						
0	52±5 34±3	19±3 21±2	47±5 57±7	0.72 0.52	0.19 0.12	107±10 138±15
350	54±9 30±2	21±3 20±3	45±4 52±8	0.69 0.56	0.18 0.13	95±8 190±22
700	56±6 38±3	21±3 21±2	40±3 50±5	0.7 0.56	0.17 0.15	85±7 240±17
1400	58±5 46±5	19±3 22±3	40±3 44±6	0.68 0.63	0.17 0.15	23±3 42±5
2100	58±7 48±3	21±2 29±3	38±2 80±9	0.66 0.26	0.13 0.05	19±2 264±22

Note: D₂CFH-DA — fluorescence of D₂CFH-DA at 525 nm wavelength, reflects the production of reactive oxygen species (ROS) in cells; FL4 — autofluorescence of chlorophyll a per cell at 680 nm wavelength; FS — forward scatter (cell volume); SS — side scatter (granularity); Fv/Fm — efficiency of light energy use by the photosystem II photosynthetic complex; rETR — relative electron transport rate; r.u. — relative units.

same time, D₂CFH-DA fluorescence, which is proportional to ROS production in the cells, sharply increased to 348 ± 13 relative units. At a glyphosate concentration of 2100 µg/L and high light intensity, algal death was observed.”

Dunaliella salina.

The lighting regime during cultivation caused pronounced differences in the physiological parameters of *D. salina*, which were associated with cell photoacclimation processes. In particular, after 72 hours of growth at high light intensity without glyphosate addition, a decrease in cellular chlorophyll content, quantum efficiency of photosynthesis, and relative electron transport rate by a factor of 1.4–1.6 was observed. A tendency toward increased cell granularity (SS) and ROS production was noted, indicating moderate oxidative stress and activation of antioxidant defense mechanisms.

At 350 and 700 µg/L, despite hormetic cell growth, their physiological parameters did not differ significantly from the control. Only an increase in ROS production at high light intensity was observed. The best physiological parameters of the cells were observed at 1400 µg/L glyphosate. Under both optimal and high light intensities, the cells were characterized by high photosynthetic activity (Fv/Fm = 0.63–0.68 r.u., rETR = 0.15–0.17 r.u.), high specific chlorophyll content (FL4 = 46–58 r.u.), low cell granularity (SS = 40–44 r.u.), and low ROS production (D₂CFH-DA fluorescence was recorded in the range of 23–42 r.u.). These data indicate that a high concentration of glyphosate creates favorable conditions for the growth of *D. salina*. At 2100 µg/L and optimal light intensity, the resistance of *D. salina* to herbicide exposure was maintained: FL4 remained at 58.7 ± 7.0 r.u., Fv/Fm at 0.66 r.u., rETR at 0.13 r.u., and ROS production remained low (19 ± 2 r.u.). Under high light intensity, conversely, critical inhibition of cell physiological parameters was observed. Fv/Fm and rETR values decreased to 0.26 and 0.05, respectively, indicating almost complete suppression of photosynthesis. At the same time, ROS generation increased many times over, reaching 264 ± 22 r.u., indicating a rapid increase in oxidative stress and insufficiency of cellular compensatory mechanisms.

The results of the study showed that both algal species have a high bioremediation potential, as they are capable of removing glyphosate from the medium and using it as a nutrient substrate for growth. However, the efficiency of herbicide removal varies depending on the abiotic conditions of algal cultivation. The obtained data indicate a complex interaction between light intensity and herbicide load. Light acts as a modulator of cellular metabolic activity: at moderate glyphosate concentrations, high light intensity enhances growth stimulation in *T. viridis*, whereas at high concentrations, light stress potentiates the toxic effect of the herbicide, reducing the lethal threshold for both species, but to a greater extent for *T. viridis*. *D. salina* demonstrates the ability to remove high concentrations of the herbicide (1400–2100 µg/L) from the medium, which exert acute toxic effects on *T. viridis*. These differences are important to consider when developing technolo-

gies for the post-treatment of waters contaminated with herbicides. The results indicate the feasibility of using *T. viridis* for the rapid removal of low and moderate doses of glyphosate (up to 700 µg/L), whereas *D. salina* is more effective for the removal of high concentrations. Furthermore, the presented data underscore the necessity of considering abiotic factors in the environmental forecasting of the consequences of glyphosate pollution in water bodies.

4. Conclusion

Glyphosate stimulates the growth of *T. viridis* and *D. salina*, which is expressed in high photosynthetic activity of the cells, low levels of oxidative stress, and increased biomass. The observed hormesis effect is associated with the ability of the algae to use glyphosate as a source of mineral nutrition, making them potential targets for bioremediation of waters contaminated with the herbicide. Light intensity acts as a key modulator of algal sensitivity to the pollutant: increased light intensity accelerates metabolic processes in the cells, potentiating both the stimulatory and toxic effects of glyphosate. The feasibility of using *T. viridis* for the rapid removal of low and moderate doses of glyphosate (up to 700 µg/L) has been demonstrated. *D. salina*, in turn, is characterized by a wider amplitude of adaptation to the combined effects of herbicide load and light stress, which allows this species to be used for the removal of high concentrations of glyphosate from waters.

Acknowledgements

The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 26-26-20041 “Using the potential of authentic microalgae strains from the Sevastopol region for bioremediation of aquatic ecosystems from herbicides and antibiotics” with the support of the Government of Sevastopol.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval

This study does not require ethics committee approval because the organism under study is a microalga.

References

- Amit, Chandra R., Ghosh U.K., Nayak J.K. et al. 2017. Phycoremediation potential of marine microalga *Tetraselmis indica* on secondary treated domestic sewage for nutrient removal and biodiesel production. Environmental Science and Pollution Research 24(26): 20868–20875. DOI: [10.1007/s11356-017-9734-6](https://doi.org/10.1007/s11356-017-9734-6)
- Battaglin W.A., Meyer M.T., Kuivila K.M. et al. 2014. Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in US soils, surface water, groundwater, and precipitation. JAWRA Journal of the American Water Resources Association 50: 275–290. DOI: [10.1111/jawr.12159](https://doi.org/10.1111/jawr.12159)

- Borovkov A.B., Gudvilovich I.N., Avsiyan A.L. et al. 2020. Scale-up of *Dunaliella salina* cultivation: from strain selection to open ponds. *Journal of Applied Phycology* 32(3): 1545–1558. DOI: [10.1007/s10811-020-02104-5](https://doi.org/10.1007/s10811-020-02104-5)
- Cáceres T.P., Megharaj M., Naidu R. et al. 2008. Biodegradation of the pesticide fenamiphos by ten different species of green algae and cyanobacteria. *Current Microbiology* 57(6): 643–646. DOI: [10.1007/s00284-008-9293-7](https://doi.org/10.1007/s00284-008-9293-7)
- Chorus I., Welker M. 2021. Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management (2nd ed.). CRC Press. DOI: [10.1201/9781003081449](https://doi.org/10.1201/9781003081449)
- Dabney B.L., Patiño R. et al. 2018. Low-dose stimulation of growth of the harmful alga, *Prymnesium parvum*, by glyphosate and glyphosate-based herbicides. *Harmful Algae* 80: 130–139. DOI: [10.1016/j.hal.2018.11.004](https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.11.004)
- Dyhrman S.T., Ruttnerberg K.C. et al. 2006. Presence and regulation of alkaline phosphatase activity in eukaryotic phytoplankton from the coastal ocean: Implications for dissolved organic phosphorus remineralization. *Limnology and Oceanography* 51(3): 1381–1390. DOI: [10.4319/lo.2006.51.3.1381](https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.3.1381)
- Fang T.Y., Praveena S.M., deBurbure C. et al. 2016. Analytical techniques for steroid estrogens in water samples - a review. *Chemosphere* 165: 358–368. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2016.09.051](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.051)
- Gattás F., Vinocur A., Graziano M. et al. 2016. Differential impact of *Limnoperna fortunei*-herbicide interaction between Roundup Max® and glyphosate on freshwater microscopic communities. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 18869–18882. DOI: [10.1007/s11356-016-7005-6](https://doi.org/10.1007/s11356-016-7005-6)
- González R., García-Balboa C., Rouco M. et al. 2012. Adaptation of microalgae to lindane: a new approach for bioremediation. *Aquatic Toxicology* 109: 25–32.
- Goswami R.K., Agrawal K., Mehariya S. et al. 2022. Current perspective on wastewater treatment using photobioreactor for *Tetraselmis* sp.: an emerging and foreseeable sustainable approach. *Environmental Science and Pollution Research* 29(41): 61905–61937. DOI: [10.1007/s11356-021-16860-5](https://doi.org/10.1007/s11356-021-16860-5)
- Harke M.J., Gobler C.J. et al. 2013. Global transcriptional responses of the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to nitrogen stress, phosphorus stress, and growth on organic matter. *PLoS One* 8(7): e69834. DOI: [10.1371/journal.pone.0069834](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069834)
- Kang H.J., Lim M.Y., Kwon J.H. et al. 2012. Effects of adsorption onto silica sand particles on the hydrolysis of tetracycline antibiotics. *Journal of Environmental Monitoring* 14(7): 1853–1859. DOI: [10.1039/C2EM10961A](https://doi.org/10.1039/C2EM10961A)
- Kharchuk I.A., Rylkova O.A., Beregovaya N.M. et al. 2022. State of cyanobacteria *Arthrospira platensis* and of associated microflora during long-term storage in the state of anhydrobiosis. *Microbiology* 91(6): 704–712. DOI: [10.1134/S0026261722601786](https://doi.org/10.1134/S0026261722601786)
- Le V.V., Tran Q.G., Ko S.R. et al. 2023. How do freshwater microalgae and cyanobacteria respond to antibiotics? *Critical Reviews in Biotechnology* 43(2): 191–211. DOI: [10.1080/07388551.2022.2026870](https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2026870)
- Liu J., Qi M., Qiu X. et al. 2025. Physiological characteristics of microalgae in response to glyphosate and tetracycline regulated by exogenous melatonin. *Algal Research* 89: 104081. DOI: [10.1016/j.algal.2025.104081](https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.104081)
- Malakhova L.V., Voitsekhovskaia V.V., Malakhova T.V. et al. 2023. organochlorine pollutants in components of the black sea coastal areas ecosystem of crimea from 2010 to 2022. *oceanology* 63(Suppl 1): S165–S173. DOI: [10.1134/S0001437023070093](https://doi.org/10.1134/S0001437023070093)
- Marie D., Partensky F., Jacquet S. et al. 1997. Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 186–193. DOI: [10.1128/aem.63.1.186-193.1997](https://doi.org/10.1128/aem.63.1.186-193.1997)
- Maršálek B., Rojíčková R. et al. 1996. Stress factors enhancing production of algal exudates: a potential self-protective mechanism? *Zeitschrift für Naturforschung C* 51(9-10): 646–650. DOI: [10.1515/znc-1996-9-1009](https://doi.org/10.1515/znc-1996-9-1009)
- Maxwell K., Johnson G.N. et al. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345): 659–668. DOI: [10.1093/jxb/51.345.659](https://doi.org/10.1093/jxb/51.345.659)
- Mercurio P., Flores F., Mueller J.F. et al. 2014. Glyphosate persistence in seawater. *Marine Pollution Bulletin* 85(2): 385–390. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2014.01.021](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.021)
- Naorbe M.C., Serrano Jr A.E. et al. 2018. Effects of heavy metals on cell density, size, specific growth rate and chlorophyll a of *Tetraselmis tetrahele* under controlled laboratory conditions. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 11(3): 589–597.
- Oren A. et al. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905–2005. *Saline Systems* 1(1): 2. DOI: [10.1186/1746-1448-1-2](https://doi.org/10.1186/1746-1448-1-2)
- Pereira H., Páramo J., Silva J. et al. 2018. Scale-up and large-scale production of *Tetraselmis* sp. CTP4 (Chlorophyta) for CO2 mitigation: From an agar plate to 100-m3 industrial photobioreactors. *Scientific Reports* 8(1): 1–11. DOI: [10.1038/s41598-018-23340-3](https://doi.org/10.1038/s41598-018-23340-3)
- Pereira H., Silva J., Santos T. et al. 2019. Nutritional potential and toxicological evaluation of *Tetraselmis* sp. CTP4 microalgal biomass produced in industrial photobioreactors. *Molecules* 24(17): 3192. DOI: [10.3390/molecules24173192](https://doi.org/10.3390/molecules24173192)
- Pérez-Rama M., Alonso J.A., López C.H. et al. 2002. Cadmium removal by living cells of the marine microalga *Tetraselmis suecica*. *Bioresource Technology* 84(3): 265–270. DOI: [10.1016/S0960-8524\(02\)00045-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00045-7)
- Pizarro H., Vera M.S., Vinocur A. et al. 2016. Glyphosate input modifies microbial community structure in clear and turbid freshwater systems. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 5143–5153. DOI: [10.1007/s11356-015-5748-0](https://doi.org/10.1007/s11356-015-5748-0)
- Pogosyan S.I., Gal'chuk S.V., Kazimirko Yu.V. et al. 2009. The use of the fluorimeter “MEGA-25” to determine the amount of phytoplankton and assess the state of its photosynthetic apparatus. *Water: Chemistry and Ecology* 6: 34–40.
- Qiu H., Geng J., Ren H. et al. 2013. Physiological and biochemical responses of *Microcystis aeruginosa* to glyphosate and its Roundup® formulation. *Journal of Hazardous Materials* 248: 172–176. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2012.12.033](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.12.033)
- Ramanan R., Kim B.H., Cho D.H. et al. 2016. Algae–bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnology Advances* 34(1): 14–29. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2015.12.003](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.003)
- Romano-Armada N., Rajal V.B. et al. 2022. Following the steps towards glyphosate bioremediation. How close are we to field success? In: Siddiqui S., Meghvansi M.K., Chaudhary K.K. (Eds.) *Pesticides bioremediation*. Springer, Cham. DOI: [10.1007/978-3-030-97000-05](https://doi.org/10.1007/978-3-030-97000-05)
- Semple K.T., Cain R.B., Schmidt S. et al. 1999. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. *FEMS Microbiology Letters* 170(2): 291–300. DOI: [10.1111/j.1574-6968.1999.tb13386.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13386.x)
- Sethunathan N., Megharaj M., Chen Z.L. et al. 2004. Algal degradation of a known endocrine disrupting insecticide, α -endosulfan, and its metabolite, endosulfan sulfate, in liquid medium and soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(10): 3030–3035. DOI: [10.1021/jf035173x](https://doi.org/10.1021/jf035173x)
- Singh S., Kumar V., Gill J.P.K. et al. 2020. Herbicide glyphosate: toxicity and microbial degradation. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(20): 7519. DOI: [10.3390/ijerph17207519](https://doi.org/10.3390/ijerph17207519)

Solomonova E., Shoman N., Akimov A. et al. 2024. Differential responses of diatom and dinophyte microalgae to the presence of glyphosate herbicide in the medium. *Regional Studies in Marine Science* 73: 103514. DOI: [10.1016/j.rsma.2024.103514](https://doi.org/10.1016/j.rsma.2024.103514)

Solomonova E.S., Shoman N.Yu., Akimov A.I. et al. 2024. Hormesis effect of the herbicide glyphosate on growth and lipid synthesis in the microalga *Isochrysis galbana*, an object of industrial cultivation. *Aquaculture International* 32(6): 7253–7261. DOI: [10.1007/s10499-024-01512-5](https://doi.org/10.1007/s10499-024-01512-5)

Sun M., Li H., Jaisi D.P. et al. 2019. Degradation of glyphosate and bioavailability of phosphorus derived from glyphosate in a soil-water system. *Water Research* 163: 114840. DOI: [10.1016/j.watres.2019.07.007](https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.07.007)

Tang L., Wang J., Zeng G. et al. 2016. Enhanced photocatalytic degradation of norfloxacin in aqueous Bi2WO6 dispersions containing nonionic surfactant under visible light irradiation. *Journal of Hazardous Materials* 306: 295–304. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2015.12.044](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.12.044)

Vera M.S., Di Fiori E., Lagomarsino L. et al. 2012. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor® on freshwater microbial communities. *Ecotoxicology* 21: 1805–1816. DOI: [10.1007/s10646-012-0915-2](https://doi.org/10.1007/s10646-012-0915-2)

Vera M.S., Lagomarsino L., Sylvester M. et al. 2010. New evidences of Roundup® (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. *Ecotoxicology* 19: 710–721. DOI: [10.1007/s10646-009-0446-7](https://doi.org/10.1007/s10646-009-0446-7)

Wang H., Joseph J.A. 1999. Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate

reader. *Free Radical Biology and Medicine* 27(5-6): 612–616 DOI: [10.1016/S0891-5849\(99\)00107-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00107-0)

Wang C., Lin X., Li L. et al. 2016. Differential growth responses of marine phytoplankton to herbicide glyphosate. *PLoS ONE* 11: e0151633. DOI: [10.1371/journal.pone.0151633](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151633)

Wang C., Li J., Li S. et al. 2024. Effects and mechanisms of glyphosate as phosphorus nutrient on element stoichiometry and metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Applied and Environmental Microbiology* 90(2): e02131-23. DOI: [10.1128/aem.02131-23](https://doi.org/10.1128/aem.02131-23)

Wijffels R.H., Barbosa M.J. 2010. An outlook on microalgal biofuels. *Science* 329(5993): 796–799. DOI: [10.1126/science.1189003](https://doi.org/10.1126/science.1189003)

Zhang H., Hu C., Jia X. et al. 2012. Characteristics of γ -hexachlorocyclohexane biodegradation by a nitrogen-fixing cyanobacterium, *Anabaena azotica*. *Journal of Applied Phycology* 24(2): 221–225. DOI: [10.1007/s10811-011-9670-5](https://doi.org/10.1007/s10811-011-9670-5)

Zhang Y., Habteselassie M.Y., Resurreccion E.P. et al. 2014. Evaluating removal of steroid estrogens by a model alga as a possible sustainability benefit of hypothetical integrated algae cultivation and wastewater treatment systems. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 2: 2544–2553. DOI: [10.1021/sc5004538](https://doi.org/10.1021/sc5004538)

Zhang Q., Zhou H., Li Z. et al. 2016. Effects of glyphosate at environmentally relevant concentrations on the growth of and microcystin production by *Microcystis aeruginosa*. *Environ. Monit. Assess.* 188: 1–7. DOI: [10.1007/s10661-016-5627-2](https://doi.org/10.1007/s10661-016-5627-2)

Потенциал зеленых микроводорослей *Tetraselmis viridis* и *Dunaliella salina* для биоремедиации водной экосистемы от органофосфорного гербицида глифосата

Оригинальная статья

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Соломонова Е.С.*, Шоман Н.Ю., Акимов А.И., Боровков А.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр “Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Российской академии наук”, Севастополь, Россия

АННОТАЦИЯ. Сельскохозяйственная деятельность в Крыму и Севастополе приводит к загрязнению водных экосистем гербицидами, в частности глифосатом. Проведена сравнительная оценка физиологического отклика зеленых микроводорослей *Tetraselmis viridis* и *Dunaliella salina* на воздействие глифосата (0–2100 мкг/л) в условиях оптимальной (45 мкЭ м⁻² с⁻¹) и высокой (500 мкЭ м⁻² с⁻¹) освещенности. Оценена динамика численности водорослей, физиолого-биохимические параметры клеток (содержание хлорофилла *a*, эффективность работы фотосинтетического аппарата, размеры и гранулярность, продукция активных форм кислорода) и численности ассоциированных бактерий с использованием методов микроскопии, проточной цитометрии и РАМ-флуорометрии. Установлено, что глифосат стимулирует рост *T. viridis* и *D. salina*, что выражается в высокой фотосинтетической активности клеток, низком уровне окислительного стресса и увеличении биомассы. При оптимальной освещенности у *T. viridis* наблюдается стимуляция роста при низких и средних концентрациях глифосата (до 700 мкг/л) и угнетение при высоких дозах. *D. salina*, напротив, проявляет исключительную устойчивость в широком диапазоне концентраций гербицида (до 2100 мкг/л). Высокая освещенность усиливает как стимулирующее, так и токсическое действие глифосата на *T. viridis*, а для *D. salina* сужает диапазон толерантности, снижая порог токсичности клеток к гербициду. Показано, что добавление глифосата стимулирует рост ассоциированных бактерий. Однако интенсивное развитие водорослей опережает рост бактериальной популяции, что указывает на прямое потребление глифосата водорослями как источника питания. Способность обоих видов к прямому метаболизму глифосата и возможность управления их состоянием через световой режим определяют высокий потенциал применения данных видов водорослей в системах биологической очистки сточных вод от гербицидных загрязнений. Показана целесообразность применения *T. viridis* для быстрого удаления низких и умеренных доз глифосата (до 700 мкг/л). *D. salina* может использоваться для очистки вод от высоких концентраций глифосата.

Ключевые слова: гербициды, глифосат, микроводоросли, биоремедиация, гормезисный рост

Для цитирования: Соломонова Е.С., Шоман Н.Ю., Акимов А.И., Боровков А.Б. Потенциал зеленых микроводорослей *Tetraselmis viridis* и *Dunaliella salina* для биоремедиации водной экосистемы от органофосфорного гербицида глифосата // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 470–487. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-470

1. Введение

В Крыму и Севастополе сельскохозяйственная деятельность создает значительную нагрузку на водные экосистемы. Основные реки Крыма — Салгир, Альма, Кача и Чёрная — несут различного рода загрязнители в Черное и Азовское моря, включая акваторию у побережья Севастополя. Ранее было показано, что через сельскохозяйственный сток, а также подземные воды, проходящие под районами

интенсивного земледелия (например, Байдарская долина), в море поступают значительные количества пестицидов и биогенных элементов (Malakhova et al., 2023). Гербициды на основе глифосата представляют собой наиболее распространенные в мировой практике неселективные послевсходовые гербициды широкого спектра действия, применяемые для контроля однолетних и многолетних сорных растений в агроценозах, приусадебных и декоративных садоводствах, а также в водных экосистемах

*Автор для переписки. Адрес e-mail: solomonov83@mail.ru (Е.С. Соломонова)

Поступила: 04 июня 2026;

Принята после доработки: 28 июля 2026;

Опубликована online: 28 августа 2026

© Автор(ы) 2026. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



(Battaglin et al., 2014). В течение последних десятилетий наблюдался значительный рост объемов потребления глифосата, что позволило ему занять позицию одного из наиболее востребованных агрохимикатов в глобальном масштабе (Mercurio et al., 2014). Механизм действия глифосата заключается в конкурентном ингибировании фермента 5-енолпирувилшикимат-3-фосфатсинтазы (EPSPS), катализирующего одну из ключевых реакций в шикиматном пути биосинтеза ароматических аминокислот (Romano-Armada and Rajal, 2022).

В настоящее время основными подходами к удалению пестицидов из водных объектов являются физико-химические и биологические методы. Среди физико-химических способов адсорбция на пористых материалах характеризуется высокой эффективностью элиминации целевых соединений, однако сопряжена со значительными эксплуатационными затратами (Le et al., 2023). Методы окисления и фотокаталитической деградации демонстрируют высокую результативность в отношении деструкции органических поллютантов, но требуют применения значительных количеств катализаторов и химических реагентов, что не только повышает стоимость обработки, но и несет риски вторичного загрязнения окружающей среды (Kang et al., 2012; Tang et al., 2016). Среди биологических методов широкое распространение получили системы с активным илом (Liu et al., 2025).

Перспективным направлением биологической очистки сточных вод является использование микроводорослей (Ramanan et al., 2016; Semple et al., 1999). Данный подход обеспечивает не только удаление загрязняющих веществ, но и секвестрацию углекислого газа, а также характеризуется высокой ресурсоэффективностью, что обуславливает его значительный потенциал (Cáceres et al., 2008). Авторами в работе (Cáceres et al., 2008) было показано, что десять различных видов микроводорослей и цианобактерий способны к окислению нематоцида фенамифоса, относящегося к группе фосфорорганических соединений, при этом *Chlorella* sp. и *Anabaena* sp. обеспечивали детоксикацию 99% данного вещества. Эта же исследовательская группа установила, что пресноводная микроводоросль *P. subcapitata*, а также почвенная водоросль *Chlorococcum* sp. накапливают и трансформируют фенамифос на 100% и 62% соответственно, что позволяет предположить более высокую эффективность при использовании жидкой суспензии (Cáceres et al., 2008). Цианобактерия *Anabaena azotica*, выделенная с рисовых полей, проявила толерантность и потенциал к биоремедиационной деградации γ -ГХЦГ (гамма-гексахлорциклогексана, препарат, содержащий 99–100% этого вещества, широко известен как линдан), удаляя почти 50% этого соединения в течение 5 суток (Zhang et al., 2012). В другом исследовании была зафиксирована случайная мутация, благодаря которой вид *S. intermedius* приобрел устойчивость к линдану, а также продемонстрировал потенциал для его удаления из водных систем (González et al., 2012). Виды *Chlorococcum* sp. и *Scenedesmus* sp. оказались способны к деградации эндосульфана как

в жидкой среде, так и в почве (Sethunathan et al., 2004). Однако не все виды водорослей обладают способностью к деградации гербицидов. Как ранее отмечалось в научной литературе, их реакции на воздействие глифосата демонстрируют высокую видоспецифичность (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024a). Ключевое значение в биоремедиации водных объектов от глифосата имеют не просто толерантные к гербициду виды, а именно виды, способные его утилизировать. Многочисленными исследованиями зарегистрирован массовый рост цианобактерий при внесении глифосата в культуральную среду (Chorus and Welker, 2021; Qiu et al., 2013), что указывает на возможность использования этих микроорганизмов в качестве деструкторов. В работах (Vera et al., 2012; Gattás et al., 2016; Vera et al., 2010; Pizarro et al., 2016; Wang et al., 2016) также показан горметический эффект глифосата для различных представителей фитопланктона, выражающийся в стимуляции ростовых процессов при определенных концентрациях, что может быть использовано для интенсификации биоремедиации.

Штаммы рода *Tetraselmis* привлекают внимание исследователей благодаря высокой гало- и эвритермальности, эффективному удалению биогенных элементов (Amit et al., 2017), а также способности накапливать липиды и биологически активные соединения, что делает их перспективными для циркулярной биоэкономики (Pereira et al., 2018; 2019; Goswami et al., 2022). Данные микроводоросли успешно применяются для очистки различных типов сточных вод (городских, муниципальных, промышленных, аквакультуры) и ремедиации тяжёлых металлов (Naorbe and Serrano, 2018; Pérez-Rama et al., 2002), а полученная биомасса может служить сырьём для производства биотоплива (Goswami et al., 2022). Зеленые микроводоросли рода *Dunaliella* также могут использоваться для очистки сточных вод благодаря высокой способности ассимилировать питательные вещества из среды (Oren, 2005). Ранее проведённые исследования также выявили потенциал биомассы *Dunaliella* в качестве альтернативы ископаемому топливу, поскольку для преодоления стрессовых условий, таких как недостаток питательных веществ, эти микроводоросли накапливают химическую энергию в форме нейтральных липидов (триглицеридов) (Wijffels and Barbosa, 2010).

Однако, не смотря на то, что представители родов *Tetraselmis* и *Dunaliella* зарекомендовали себя как эффективные биоремедиационные агенты, их потенциал в отношении деградации и удаления глифосата остаётся практически не изученным. Между тем эффективность биоремедиации пестицидов с использованием микроводорослей определяется множеством факторов: токсичностью и концентрацией поллютанта, характером загрязнения (локализация), а также абиотическими параметрами среды — температурой, pH, освещённостью и доступностью воды, которые в совокупности влияют на способность автотрофных микроорганизмов накапливать или трансформировать ксенобиотики (Zhang et al., 2014; Fang et al., 2016). В связи с этим

выявление устойчивости и биоремедиационного потенциала зеленых микроводорослей в отношении глифосата представляет собой актуальное и перспективное направление, требующее дальнейших экспериментальных исследований, особенно в контексте комплексного воздействия абиотических факторов среды и антропогенных поллютантов.

Основная цель исследования — оценить устойчивость и биоремедиационный потенциал микроводорослей родов *Tetraselmis* и *Dunaliella* по отношению к глифосату в условиях оптимальной и высокой освещенности для обоснования их применения в технологиях доочистки водных сред от загрязнения гербицидами.

2. Материал и методы

2.1. Материалы и культивирование водорослей

Альгологически чистые культуры зеленых микроводоросли *Dunaliella salina* (Teod.), штамм IBSS-1 и *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen), R.E. Norris, Hori и Chihara, были получены из коллекции живых культур морских планктонных микроводорослей центра коллективного пользования “Гидробионты мирового океана” (WDCM № 1201) of A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (IBSS). До эксперимента культуры предварительно находились в стационарной фазе роста, что позволило оценить способность *D. salina* и *T. viridis* расти за счет глифосата как единственного источника питания. В ходе эксперимента водоросли выращивали на чистой стерилизованной морской воде без добавления питательной среды. Для этого использовали воду из открытой части Черного моря (соленость 18 ‰), которую предварительно фильтровали через стекловолокнистые фильтры Whatman (GF/C) (Sartorius Stedim Biotech, Франция) с диаметром пор 1 мкм и стерилизовали 3 раза при 85°C. Начальная плотность культур во всех вариантах эксперимента составляла $28 \cdot 10^4$ кл./мл. Водоросли культивировали при оптимальной ($45 \text{ мкЭ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$) и высокой ($500 \text{ мкЭ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$) интенсивностях света, температуре 20 °C и свето-темновом периоде 14/10 ч. Для освещения колб использовалась световая решетка со светодиодами холодного света. Уровень освещенности определяли зондирующим 4π датчиком квантометра QSL 2101 (Biospherical Instruments Inc., США). Барботаж культур осуществляли аквариумными компрессорами, pH культуральной среды составляла 8,2–8,5.

2.2. Методика эксперимента

В ходе экспериментов исследовалось влияние гербицида глифосата на рост, цитометрические и флуоресцентные параметры *D. salina* и *T. viridis*. Для приготовления растворов токсикантов использовали технический глифосат (CAS 1071-83-6, 95% purity), который был получен от Hubei Novcare Pharmaceutical Co., Ltd. (Китай). Добавка глифосата в экспериментальные колбы составила

350, 700, 1050 (только для *T. viridis*), 1400 и 2100 мкг/л. Выбор концентраций основан на результатах предварительных экспериментов, позволивших установить диапазон токсического действия гербицида (Solomonova et al., 2024a; Solomonova et al., 2024b). Водоросли, культивируемые без глифосата, использовались как контроль. Каждый вариант эксперимента дублировался в 3 повторностях. После внесения глифосата водорослей культивировали в накопительном режиме при двух интенсивностях света в течение 6 суток.

2.3. Методы анализа

Цитометрический анализ проб. Численность водорослей в пробах определяли методом проточной цитометрии по прямому светорассеянию (FS) и автофлуоресценции хлорофилла отдельных клеток в красной спектральной области (FL4, 655 нм). Анализ проб проводили на проточном цитометре MACS Quant Analyzer (Miltenyi Biotec, Германия) в центре коллективного пользования «Спектрометрия и хроматография» ФИЦ ИнБЮМ. Для обработки данных использовали FCS Express 7 Research Edition software.

Продукцию активных форм кислорода оценивали по флуоресценции 2-7-дихлорфлуоресцеиндиацетата (H2DCF-DA; Merck, Германия) на цитограммах по прямому светорассеянию FS и флуоресценции клеток на длине волны 525 нм. Предварительно вычитали значение автофлуоресценции клеток *D. salina* и *T. viridis* в данной области спектра. Окрашивание водорослей проводили в течение 35 минут в темноте после добавления 5 мкл рабочего раствора H2DCF-DA (5 мг мл^{-1}) на 1 мл культуральной суспензий непосредственно перед измерением (Wang and Joseph, 1999).

Численность бактерий определяли в пробах, окрашенных SYBR Green I (Molecular Probes, США), с помощью гейтинга популяции клеток на 2-параметрических цитограммах прямого светорассеяния (FS) и флуоресценции SYBR Green I в зелёной области спектра (канал FL1, 525 нм) на безразмерных логарифмических шкалах. Окраску бактерий SYBR Green I проводили в темноте в течение 40 мин непосредственно перед измерением в соответствии с (Marie et al., 1997).

Метод РАМ-флуориметрии. Измерение флуоресценции пигментного комплекса водорослей проводили на флуориметре с импульсной модуляцией возбуждающего света на длине волны 455 нм «Мега-25м» (ООО «Генная и клеточная терапия», Россия). Подробное описание методики и характеристики данного флуориметра представлены в работе (Pogosyan et al., 2009). Эффективность работы фотосинтетического аппарата водорослей после адаптации клеток к темноте (Fv/Fm) рассчитывали по формуле:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_o}{F_m},$$

где F_o – величина флуоресценции хлорофилла *a* при открытых реакционных центрах; F_m – макси-

мальная флуоресценция хлорофилла *a* при закрытых реакционных центрах.

Относительную максимальную скорость электронного транспорта фотосистемы 2 при интенсивности света $I = 500 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и длительности экспозиции 40 с рассчитывали по формуле:

$$rETR = \frac{Fm' - F_0'}{Fm'} \cdot I,$$

где Fm' – максимальная флуоресценция хлорофилла *a* на фоне постоянного освещения; F_0' – нулевая флуоресценция хлорофилла *a* при постоянном освещении.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ Microsoft Office и Golden Software Grapher-16. Точки на графиках и в таблице представляет собой среднее значение 3 повторностей. Бары обозначают стандартное отклонение полученных значений. Значимость различий между выборками оценивалась с помощью *t*-критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Сравнительный анализ влияния глифосата на рост *T. viridis* и *D. salina* и ассоциированной с ними микрофлоры при разной освещенности

Проведена оценка совместного влияния гербицида глифосата (0–2100 мг/л) и уровня освещенности (оптимальный / высокий свет) на динамику численности микроводорослей *T. viridis* и *D. salina*.

В контрольных образцах (0 мкг/л глифосата) при оптимальном уровне освещенности у *T. viridis* к 6 суткам культивирования наблюдалось снижение численности клеток с 28×10^4 кл./мл до 12×10^4 кл./мл, а у *D. salina* – с 28×10^4 кл./мл до 25×10^4 кл./мл. Это обусловлено переходом культур в стационарную фазу роста, которая сопровождается последующей деградацией водорослей вследствие истощения питательных веществ в среде. При выращивании водорослей в условиях высокой освещенности численность клеток *T. viridis* на 6 сутки культивирования снижалась до $7,2 \times 10^4$ кл./мл, тогда как у *D. salina* – до 15×10^4 кл./мл. Такой результат указывает на большую устойчивость *D. salina* к действию высокой освещенности, что согласуется с ранее полученными литературными данными (Borovkov et al., 2020).

Добавление глифосата в концентрации 350–1050 мкг/л в условиях оптимальной освещенности приводило к гормезисному росту клеток *T. viridis*. При этом максимальный прирост численности ($75,2 \times 10^4$ кл./мл) наблюдался при 700 мкг/л глифосата. При концентрации поллютанта 350 мкг/л данная величина достигала 33×10^4 кл./мл, а при 1050 мкг/л – 54×10^4 кл./мл (Рис. 1а). Увеличение интенсивности света до $500 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ приводило к сдвигу гормезисного эффекта в область более низких концентраций глифосата: максимальный прирост численности *T. viridis* (85×10^4 кл./мл) достигался при 350 мкг/л глифосата, что на 13% выше значения при оптимальной освещенности (Рис. 1с). При 700 мкг/л глифосата максимальная численность культуры составила 52×10^4 кл./мл, что на

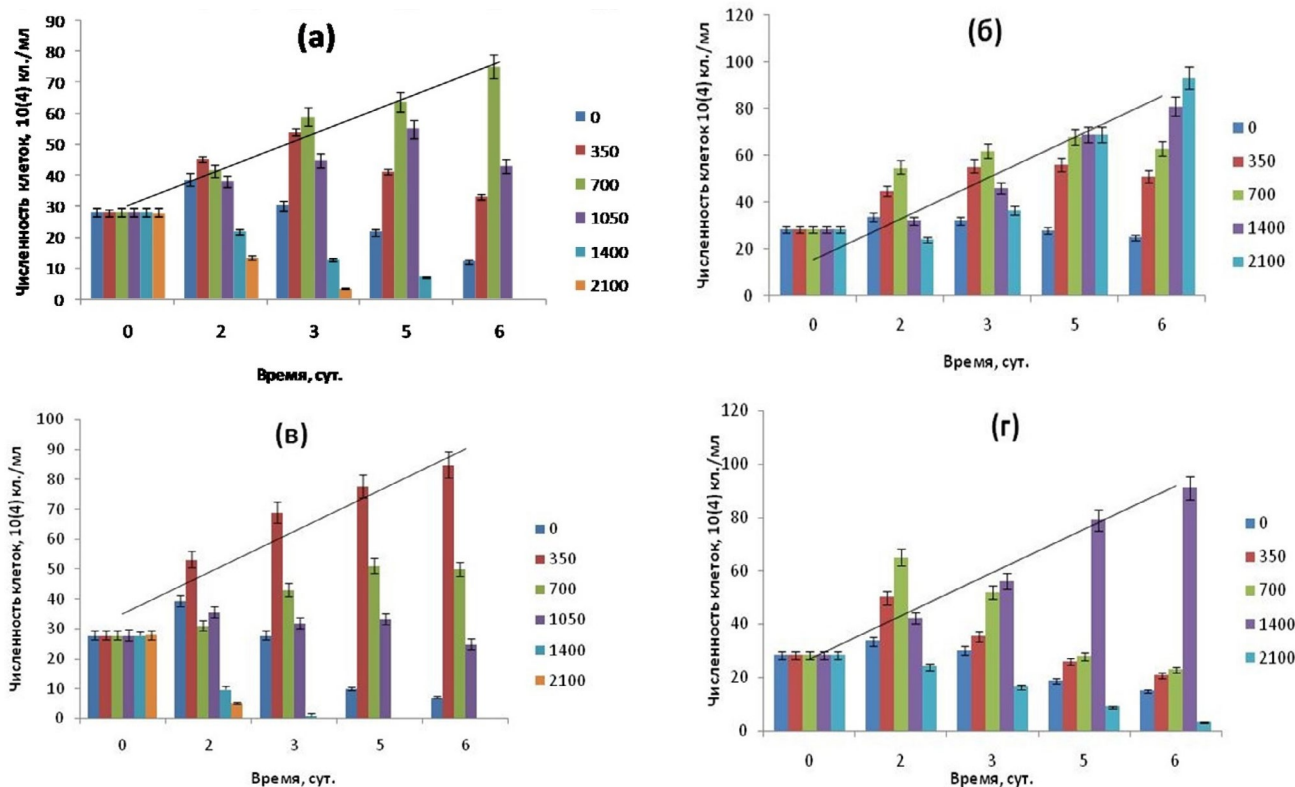


Рис.1. Влияние глифосата на изменение численности клеток *T. viridis* (а, в) и *D. salina* (б, г). а, б – интенсивность света $45 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, в, г – интенсивность света $500 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Столбцы показывают среднюю ($n = 3$) плотность клеток (кл./мл) в контрольном образце и для каждой оцененной концентрации глифосата (мкг/л). Полоски ошибок представляют стандартную ошибку.

34% ниже значений при аналогичной концентрации гербицида, но в условиях оптимального освещения. При 1050 мкг/л гербицида, наоборот, наблюдалось постепенное снижение плотности культуральной суспензии до 25×10^4 кл./мл на 6 сутки эксперимента. Высокие дозы глифосата (1400 и 2100 мкг/л) оказывали острое токсическое действие на рост *T. viridis*. При этом выраженность эффекта возрастала при повышении освещенности. Так, при оптимальном уровне света численность *T. viridis* к 6-м суткам культивирования снижалась до $0,2 \times 10^4$ кл./мл и до 0 при 1400 и 2100 мкг/л глифосата соответственно. Тогда как при $500 \text{ мкг м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ гибель культуры при обеих концентрациях наступала уже на 3 сутки эксперимента. Таким образом, повышение освещенности усиливает как стимулирующий эффект умеренных концентраций гербицида (вероятно, за счет более активного метаболизма и утилизации фосфора из глифосата), так и токсичность высоких доз.

У *D. salina* также наблюдалось стимулирование роста культуры при добавлении глифосата. При оптимальной освещенности отмечена высокая устойчивость клеток к высоким концентрациям гербицида. При 1400 и 2100 мкг/л численность культуры к 6-м суткам достигала 81 и 93×10^4 кл./мл соответственно (Рис. 16). При 350 и 700 мкг/л глифосата прирост культуры *D. salina* был значительно ниже и составлял $58\text{--}65 \times 10^4$ кл./мл. При высокой интенсивности света динамика роста *D. salina* существенно изменялась. Абсолютный максимум прироста численности (91×10^4 кл./мл) наблюдался при 1400 мкг/л глифосата. Тогда как при 2100 мкг/л отмечена элиминация культуры (Рис. 1д). При концентрациях 350 и 700 мкг/л численность *D. salina* достигала максимальных значений - 47 и 63×10^4 кл./мл соответственно – уже на 2 сутки эксперимента. При дальнейшем культивировании в этих условиях наблюдалось снижение показателя до $21\text{--}23 \times 10^4$ кл./мл к 6-м суткам. Данный результат указывает на то, что стимулирующий эффект умеренных доз гербицида в условиях светового стресса сохраняется, но реализуется быстрее благодаря более высокой скорости роста клеток.

Таким образом, глифосат оказывает стимулирующее действие на рост обеих культур - *T. viridis* и *D. salina*. При этом *D. salina* демонстрирует более высокую устойчивость к высоким концентрациям гербицида. Интенсивность света выступает ключевым модулятором чувствительности водорослей: повышенная освещенность ускоряет метаболические процессы, что потенцирует как стимулирующий, так и токсический эффект глифосата.

Очевидно, наблюдаемый эффект гормезиса у *T. viridis* и *D. salina* связан с их способностью использовать глифосат в качестве источника минерального питания, как это было показано ранее с другими видами фототрофных микроорганизмов (Maršálek and Rojíčková, 1996; Qiu et al., 2013). Известно, что многие микроводоросли могут утилизировать растворенные органические соединения фосфора путем гидролиза их внеклеточными ферментами, такими как щелочная фосфатаза

(Dyhrman and Ruttenberg, 2006). Некоторые виды микроводорослей при дефиците неорганического фосфата активно синтезируют и выделяют эти ферменты в окружающую среду (Dabney and Patiño, 2018.). Фосфатазы гидролизуют сложноэфирную связь в молекулах органического фосфора и высвобождает неорганический фосфат (PO_4^{3-}) от органической молекулы. Освободившийся неорганический фосфат затем транспортируется в клетку через специфические транспортные белки-переносчики (Wang et al., 2024). Это ключевая адаптация позволяет водорослям выживать в условиях дефицита неорганического фосфата (PO_4^{3-}), который является предпочтительной формой фосфора для большинства водорослей (Harke and Gobler, 2013). В предыдущих отчетах нами показано увеличение численности динофлагеллят *Prorocentrum cordatum* и *P. micans* и гаптофитовой *Isochrysis galbana* при добавлении глифосата в среду (Solomonova et al., 2024a; Solomonova et al., 2024b). При этом было установлено, что стратегия усвоения гербицида не универсальна для разных видов водорослей. К примеру, *P. cordatum* способен расти за счет глифосата как единственного источника фосфора сразу после его попадания в среду. В то время как *P. micans* использует фосфор из глифосата после его минерализации бактериями (Solomonova et al., 2024a). О стимулировании роста микроводорослей глифосатом ранее сообщалось также в работах (Wang et al., 2016; Zhang et al., 2016; Dabney and Patiño, 2018). Наблюдаемый эффект авторы также объясняют содержанием фосфора в глифосате, который необходим для роста водорослей.

Для выяснения вопроса, обусловлен ли гормезисный эффект у *T. viridis* и *D. salina* прямым усвоением глифосата в качестве питательного субстрата или его минерализацией бактериальной микрофлорой, нами была определена численность бактерий в культурах в условиях оптимальной освещенности. Результаты представлены в Таблице 1. В контрольном образце численность бактерий в культуре *T. viridis* достигала максимума ($4,66 \pm 0,4$ млн кл./мл) на 3-и сутки эксперимента. У *D. salina* устойчивый рост бактериальной микрофлоры наблюдался на протяжении всего эксперимента и составлял $9,1 \pm 0,3$ млн кл./мл на 9 сутки. Наблюдаемое увеличение численности бактерий в культурах связано с переходом водорослей в стационарную фазу роста, что является общеизвестным фактом (Kharchuk et al., 2022).

У *T. viridis* при концентрации глифосата 350 мкг/л, стимулирующей рост водорослей, количество бактерий в культуре достоверно не отличалось от контроля на протяжении всего эксперимента. При 700 мкг/л численность бактерий уже значительно превышала значения в контрольном образце. При 1400-2100 мкг/л гербицида число бактерий в культуральных средах двукратно превышало контрольные значения, что, очевидно, обусловлено элиминацией клеток водорослей при этих концентрациях гербицида. Аналогичный результат получен и с *D. salina*. Достоверное увеличение количества бактерий в культуре отмечено при концентрациях глифо-

Таблица 1. Влияние глифосата на численность бактерий в культуральной суспензии в условиях оптимальной освещенности 45 мкЭ м⁻² с⁻¹

Концентрация мкг/л	<i>Tetraselmis viridis</i> , сутки				
	0	2	3	5	6
0	1,5 ± 0,2	1,9 ± 0,2	4,7 ± 0,4	4,3 ± 0,5	4,7 ± 0,2
350	1,5 ± 0,2	2 ± 0,1	5,5 ± 0,4	4,4 ± 0,4	5,4 ± 0,2
700	1,5 ± 0,2	3,2 ± 0,2	7,2 ± 0,6	6,2 ± 0,6	6,5 ± 0,5
1400	1,5 ± 0,2	3,4 ± 0,1	7 ± 1,1	7,1 ± 0,8	7,3 ± 0,7
2100	1,5 ± 0,2	4,5 ± 0,5	8,1 ± 1,4	8,3 ± 0,8	9,6 ± 0,6
	<i>Dunaliella salina</i> , сутки				
	0	2	3	5	6
0	2,2 ± 0,16	3,2 ± 0,4	5,8 ± 0,7	7,1 ± 0,9	9,1 ± 0,3
350	2,2 ± 0,16	3,5 ± 0,12	6,3 ± 0,81	8,3 ± 0,7	10,1 ± 1,1
700	2,2 ± 0,16	4,2 ± 0,17	8,3 ± 0,62	8,9 ± 1	10,7 ± 0,9
1400	2,2 ± 0,16	5,1 ± 0,2	8,8 ± 1,07	9,7 ± 0,9	12,1 ± 1,2
2100	2,2 ± 0,16	5,9 ± 0,4	9,1 ± 1,2	13 ± 1,2	13,9 ± 1,5

сата выше 700 мкг/л. В то время как гормезисный рост водорослей наблюдается уже при 350 мкг/л.

Таким, образом, добавление глифосата стимулировало развитие бактерий в обеих культурах, причём эффект усиливался с повышением концентрации гербицида. Полученные результаты подтверждают, что часть глифосата минерализуется бактериями, однако этот процесс требует времени (Sun et al., 2019; Singh et al., 2020). Поскольку рост водорослей наблюдался сразу после внесения гербицида, а при 350 мкг/л бактериальная активность не отличалась от контроля, мы полагаем, что на начальном этапе водоросли используют глифосат напрямую. На более поздних этапах роста, вероятно, происходит комбинированное питание: водоросли потребляют как неорганический фосфор, образовавшийся в результате минерализации, так и органический фосфор глифосата.

3.2. Влияние глифосата на физиолого-биохимические показатели микроводорослей *T. viridis* и *D. salina* при разной интенсивности света

Tetraselmis viridis.

Анализ физиолого-биохимических показателей *T. viridis* через 72ч культивирования без добавления глифосата показал, что повышение интенсивности света от 45 до 500 мкЭ м⁻² с⁻¹ оказывает умеренное фотоингибирующее действие на клетки (Таблица 2). Отмечено уменьшение содержания хлорофилла на клетку (FL4) на 13%, достоверное снижение квантовой эффективности фотосинтеза (Fv/Fm) до 0,56 отн.ед. и повышение продукции активных форм кислорода (D2CFH-DA флуоресценция) на 30%. При этом объём клеток не изменялся, тогда как их гранулярность достоверно увеличивалась. Показатель бокового светорассеяния (SS), характеризующий внутриклеточную «сложность», возрастал на 38%, что указывает на существенные

изменения внутриклеточной морфологии.

Изменение физиолого-биохимических показателей клеток при воздействии глифосата коррелировало с ростовыми характеристиками водорослей. При стимулирующих рост концентрациях гербицида (350-700 мкг/л) физиологические показатели клеток улучшались по сравнению с контролем как при оптимальной, так и при высокой освещенности (Таблица 2). В частности, отмечено выраженное снижение продукции АФК (в 2-7 раз) и повышение фотосинтетической активности клеток. Значения показателя Fv/Fm = 0,6-0,7 отн.ед. указывают на высокоэффективную фотохимическую конверсию и отсутствие значительного физиологического стресса клеток при этих концентрациях глифосата (Maxwell and Johnson, 2000).

При 1400 и 2100 мкг/л ингибирующее действие глифосата на рост сопровождалось ухудшением показателей клеток. При оптимальной освещенности у водорослей отмечены признаки острого токсического воздействия: снижение фотосинтетической активности (Fv/Fm = 0,47-0,53 отн. ед., rETR = 0,12-0,16 отн. ед.), увеличение продукции АФК (в 2-3 раза выше контроля), снижение удельного содержания хлорофилла, увеличение гранулярности клеток (SS = 43-49 отн. ед.). Повышение освещенности усиливало токсическое действие гербицида на водоросли. Так, при 1400 мкг/л глифосата и высокой освещенности 500 мкЭ м⁻² с⁻¹ наблюдалась критическая депрессия фотосинтеза у *T. viridis*: Fv/Fm снизился до 0,41 отн. ед., rETR – до 0,11 отн. ед. При этом D2CFH-DA флуоресценция, пропорциональная продукции АФК в клетках, резко возрастала до 348 ± 13 отн. ед. При концентрации глифосата 2100 мкг/л и высокой интенсивности света отмечена гибель водорослей.

Dunaliella salina.

Режим освещения при культивировании обусловил выраженные различия в физиологических показателях *D. salina*, которые были связаны с процессами фотоадаптации клеток. В частности, через

Таблица 2. – Влияние глифосата на физиологические и биохимические параметры *Tetraselmis viridis* и *Dunaliella salina* при интенсивности света 45 мкЭ м⁻² с⁻¹ (синие цифры) и 500 мкЭ м⁻² с⁻¹ (красные цифры) через 72ч культивирования. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка (SE).

Концентрация мкг/л	FL4 отн.ед.	FS отн.ед.	SS отн.ед.	Fv/Fm	rETR. отн.ед.	D2CFH-DA. отн.ед.
<i>Tetraselmis viridis</i>						
0	112 ± 3 98 ± 5	20 ± 2 21 ± 2	30 ± 2 48 ± 5	0,61 0,56	0,2 0,16	110 ± 12 158 ± 17
350	113 ± 5 93 ± 7	22 ± 3 23 ± 2	28 ± 1 71 ± 7	0,65 0,68	0,22 0,17	56 ± 7 23 ± 3
700	126 ± 4 88 ± 5	21 ± 3 23 ± 3	26 ± 0,7 32 ± 4	0,7 0,6	0,21 0,17	19 ± 1 29 ± 4
1400	110 ± 7 81 ± 4	22 ± 2 27 ± 3	43 ± 0,5 51 ± 3	0,53 0,41	0,16 0,11	210 ± 11 348 ± 13
2100	100 ± 9 -	22 ± 3 -	49 ± 0,7 -	0,47 -	0,12 -	311 ± 10 -
<i>Dunaliella salina</i>						
0	52 ± 5 34 ± 3	19 ± 3 21 ± 2	47 ± 5 57 ± 7	0,72 0,52	0,19 0,12	107 ± 10 138 ± 15
350	54 ± 9 30 ± 2	21 ± 3 20 ± 3	45 ± 4 52 ± 8	0,69 0,56	0,18 0,13	95 ± 8 190 ± 22
700	56 ± 6 38 ± 3	21 ± 3 21 ± 2	40 ± 3 50 ± 5	0,7 0,56	0,17 0,15	85 ± 7 240 ± 17
1400	58 ± 5 46 ± 5	19 ± 3 22 ± 3	40 ± 3 44 ± 6	0,68 0,63	0,17 0,15	23 ± 3 42 ± 5
2100	58 ± 7 48 ± 3	21 ± 2 29 ± 3	38 ± 2 80 ± 9	0,66 0,26	0,13 0,05	19 ± 2 264 ± 22

Примечание: D2CFH-DA — флуоресценция D2CFH-DA при длине волны 525 нм, отражает продукцию активных форм кислорода (АФК) в клетках; FL4 — аутофлуоресценция хлорофилла а на одну клетку при длине волны 680 нм; FS — прямое светорассеяние (объём клетки); SS — боковое светорассеяние (гранулярность); Fv/Fm — эффективность использования энергии света фотосинтетическим комплексом фотосистемы II; rETR — относительная скорость транспорта электронов; отн.ед. — относительные единицы.

72ч роста при высокой освещенности без добавления глифосата отмечено снижение содержания хлорофилла в клетках, квантовой эффективности фотосинтеза и относительной скорости электронного транспорта в 1,4-1,6 раза. Отмечена тенденция к повышению гранулярности клеток (SS) и продукции АФК, что указывает на умеренный окислительный стресс и активацию механизмов антиоксидантной защиты.

При 350 и 700 мкг/л, несмотря на гормонический рост клеток, их физиологические параметры существенно не отличались от контроля. Отмечено только повышение продукции АФК при высокой освещенности. Лучшие физиологические показатели клеток наблюдались при 1400 мкг/л глифосата. Как при оптимальной, так и высокой освещенности клетки характеризовались высокой фотосинтетической активностью (Fv/Fm = 0,63-0,68 отн.ед., rETR = 0,15-0,17 отн.ед.), высоким удельным содержанием хлорофилла (FL4 = 46-58 отн.ед.), низким уровнем гранулярности клеток (SS = 40-44 отн.ед.) и низкой продукцией АФК (D2CFH-DA флуоресценция регистрировалась в пределах 23-42 отн.ед.). Эти данные свидетельствуют о том, что высокая концентрация глифосата создает благоприятные условия для роста *D. salina*. При 2100 мкг/л и оптимальной освещенности устойчи-

вость *D. salina* к воздействию гербицида сохранялась: FL4 поддерживалась на уровне 58,7 ± 7,0 отн.ед., Fv/Fm – 0,66 отн.ед., rETR – 0,13 отн.ед., продукция АФК оставалась низкой (19 ± 2 отн.ед.). При высокой освещенности, наоборот, наблюдалось критическое угнетение физиологических параметров клеток. Значения Fv/Fm и rETR снизились до 0,26 и 0,05, что указывает на практически полное угнетение фотосинтеза. При этом генерация АФК многократно увеличивалась, достигая 264 ± 22 отн.ед., что свидетельствует о быстром нарастании окислительного стресса и недостаточности компенсаторных механизмов клеток.

Результаты исследования показали, что оба вида водорослей обладают высоким биоремедиационным потенциалом, поскольку способны удалять глифосат из среды и использовать его в качестве питательного субстрата для роста. Однако эффективность удаления гербицида варьирует в зависимости от абиотических условий культивирования водорослей. Полученные данные свидетельствуют о сложном взаимодействии между освещенностью и гербицидной нагрузкой. Свет выступает модулятором метаболической активности клеток: при умеренных концентрациях глифосата высокая освещенность усиливает стимуляцию роста *T. viridis*, тогда как при высоких концентрациях световой стресс

потенцирует токсическое действие гербицида, снижая порог летальности для обоих видов, но в большей степени для *T. viridis*. *D. salina* демонстрирует способность удалять из среды высокие концентрации гербицида (1400–2100 мкг/л), которые оказывают острое токсическое действие на *T. viridis*. Эти различия важно учитывать при разработке технологий доочистки вод от гербицидов. Результаты указывают на целесообразность применения *T. viridis* для быстрого удаления низких и умеренных доз глифосата (до 700 мкг/л), тогда как для очистки от высоких концентраций более эффективна *D. salina*. Кроме того, представленные данные подчеркивают необходимость учета абиотических факторов при экологическом прогнозировании последствий загрязнения водоемов глифосатом.

4. Заключение

Глифосат стимулирует рост *T. viridis* и *D. salina*, что выражается в высокой фотосинтетической активности клеток, низком уровне окислительного стресса и увеличении биомассы. Наблюдаемый эффект гормезиса связан со способностью водорослей использовать глифосат в качестве источника минерального питания, что делает их потенциальными объектами биоремедиации вод от гербицида. Интенсивность света выступает ключевым модулятором чувствительности водорослей к поллютанту: повышенная освещённость ускоряет метаболические процессы в клетках, потенцируя как стимулирующий, так и токсический эффект глифосата. Показана целесообразность применения *T. viridis* для быстрого удаления низких и умеренных доз глифосата (до 700 мкг/л). *D. salina*, в свою очередь, характеризуется более широкой амплитудой адаптации к сочетанному действию гербицидной нагрузки и светового стресса, что позволяет использовать этот вид для очистки вод от высоких концентраций глифосата.

Благодарности

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 26-26-20041 «Использование потенциала аутентичных штаммов микроводорослей Севастопольского региона для биоремедиации водных экосистем от гербицидов и антибиотиков» при поддержке правительства Севастополя.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм

Настоящее исследование не требует одобрения этического комитета, поскольку изучаемым организмом является микроводоросль.

Список литературы

- Amit, Chandra R., Ghosh U.K., Nayak J.K. et al. 2017. Phycoremediation potential of marine microalga *Tetraselmis indica* on secondary treated domestic sewage for nutrient removal and biodiesel production. *Environmental Science and Pollution Research* 24(26): 20868–20875. DOI: [10.1007/s11356-017-9734-6](https://doi.org/10.1007/s11356-017-9734-6)
- Battaglin W.A., Meyer M.T., Kuivila K.M. et al. 2014. Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in US soils, surface water, groundwater, and precipitation. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* 50: 275–290. DOI: [10.1111/jawr.12159](https://doi.org/10.1111/jawr.12159)
- Borovkov A.B., Gudvilovich I.N., Avsiyan A.L. et al. 2020. Scale-up of *Dunaliella salina* cultivation: from strain selection to open ponds. *Journal of Applied Phycology* 32(3): 1545–1558. DOI: [10.1007/s10811-020-02104-5](https://doi.org/10.1007/s10811-020-02104-5)
- Cáceres T.P., Megharaj M., Naidu R. et al. 2008. Biodegradation of the pesticide fenamiphos by ten different species of green algae and cyanobacteria. *Current Microbiology* 57(6): 643–646. DOI: [10.1007/s00284-008-9293-7](https://doi.org/10.1007/s00284-008-9293-7)
- Chorus I., Welker M. 2021. Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management (2nd ed.). CRC Press. DOI: [10.1201/9781003081449](https://doi.org/10.1201/9781003081449)
- Dabney B.L., Patiño R. et al. 2018. Low-dose stimulation of growth of the harmful alga, *Prymnesium parvum*, by glyphosate and glyphosate-based herbicides. *Harmful Algae* 80: 130–139. DOI: [10.1016/j.hal.2018.11.004](https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.11.004)
- Dyhrman S.T., Ruttenberg K.C. et al. 2006. Presence and regulation of alkaline phosphatase activity in eukaryotic phytoplankton from the coastal ocean: Implications for dissolved organic phosphorus remineralization. *Limnology and Oceanography* 51(3): 1381–1390. DOI: [10.4319/lo.2006.51.3.1381](https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.3.1381)
- Fang T.Y., Praveena S.M., deBurbure C. et al. 2016. Analytical techniques for steroid estrogens in water samples - a review. *Chemosphere* 165: 358–368. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2016.09.051](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.051)
- Gattás F., Vinocur A., Graziano M. et al. 2016. Differential impact of *Limnoperna fortunei*-herbicide interaction between Roundup Max® and glyphosate on freshwater microscopic communities. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 18869–18882. DOI: [10.1007/s11356-016-7005-6](https://doi.org/10.1007/s11356-016-7005-6)
- González R., García-Balboa C., Rouco M. et al. 2012. Adaptation of microalgae to lindane: a new approach for bioremediation. *Aquatic Toxicology* 109: 25–32.
- Goswami R.K., Agrawal K., Mehariya S. et al. 2022. Current perspective on wastewater treatment using photobioreactor for *Tetraselmis* sp.: an emerging and foreseeable sustainable approach. *Environmental Science and Pollution Research* 29(41): 61905–61937. DOI: [10.1007/s11356-021-16860-5](https://doi.org/10.1007/s11356-021-16860-5)
- Harke M.J., Gobler C.J. et al. 2013. Global transcriptional responses of the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to nitrogen stress, phosphorus stress, and growth on organic matter. *PLoS One* 8(7): e69834. DOI: [10.1371/journal.pone.0069834](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069834)
- Kang H.J., Lim M.Y., Kwon J.H. et al. 2012. Effects of adsorption onto silica sand particles on the hydrolysis of tetracycline antibiotics. *Journal of Environmental Monitoring* 14(7): 1853–1859. DOI: [10.1039/C2EM10961A](https://doi.org/10.1039/C2EM10961A)
- Kharchuk I.A., Rylkova O.A., Beregovaya N.M. et al. 2022. State of cyanobacteria *Arthrospira platensis* and of associated microflora during long-term storage in the state of anhydrobiosis. *Microbiology* 91(6): 704–712. DOI: [10.1134/S0026261722601786](https://doi.org/10.1134/S0026261722601786)
- Le V.V., Tran Q.G., Ko S.R. et al. 2023. How do freshwater microalgae and cyanobacteria respond to antibiotics? *Critical Reviews in Biotechnology* 43(2): 191–211. DOI: [10.1080/07388551.2022.2026870](https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2026870)

- Liu J., Qi M., Qiu X. et al. 2025. Physiological characteristics of microalgae in response to glyphosate and tetracycline regulated by exogenous melatonin. *Algal Research* 89: 104081. DOI: [10.1016/j.algal.2025.104081](https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.104081)
- Malakhova L.V., Voitsekhovskaia V.V., Malakhova T.V. et al. 2023. organochlorine pollutants in components of the black sea coastal areas ecosystem of crimea from 2010 to 2022. *oceanology* 63(Suppl 1): S165-S173. DOI: [10.1134/S0001437023070093](https://doi.org/10.1134/S0001437023070093)
- Marie D., Partensky F., Jacquet S. et al. 1997. Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 186–193. DOI: [10.1128/aem.63.1.186-193.1997](https://doi.org/10.1128/aem.63.1.186-193.1997)
- Maršálek B., Rojíčková R. et al. 1996. Stress factors enhancing production of algal exudates: a potential self-protective mechanism? *Zeitschrift für Naturforschung C* 51(9-10): 646–650. DOI: [10.1515/znc-1996-9-1009](https://doi.org/10.1515/znc-1996-9-1009)
- Maxwell K., Johnson G.N. et al. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345): 659–668. DOI: [10.1093/jxb/51.345.659](https://doi.org/10.1093/jxb/51.345.659)
- Mercurio P., Flores F., Mueller J.F. et al. 2014. Glyphosate persistence in seawater. *Marine Pollution Bulletin* 85(2): 385–390. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2014.01.021](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.021)
- Naorbe M.C., Serrano Jr A.E. et al. 2018. Effects of heavy metals on cell density, size, specific growth rate and chlorophyll a of *Tetraselmis tetrahele* under controlled laboratory conditions. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 11(3): 589–597.
- Oren A. et al. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905–2005. *Saline Systems* 1(1): 2. DOI: [10.1186/1746-1448-1-2](https://doi.org/10.1186/1746-1448-1-2)
- Pereira H., Páramo J., Silva J. et al. 2018. Scale-up and large-scale production of *Tetraselmis* sp. CTP4 (Chlorophyta) for CO₂ mitigation: From an agar plate to 100-m³ industrial photobioreactors. *Scientific Reports* 8(1): 1–11. DOI: [10.1038/s41598-018-23340-3](https://doi.org/10.1038/s41598-018-23340-3)
- Pereira H., Silva J., Santos T. et al. 2019. Nutritional potential and toxicological evaluation of *Tetraselmis* sp. CTP4 microalgal biomass produced in industrial photobioreactors. *Molecules* 24(17): 3192. DOI: [10.3390/molecules24173192](https://doi.org/10.3390/molecules24173192)
- Pérez-Rama M., Alonso J.A., López C.H. et al. 2002. Cadmium removal by living cells of the marine microalga *Tetraselmis suecica*. *Bioresource Technology* 84(3): 265–270. DOI: [10.1016/S0960-8524\(02\)00045-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00045-7)
- Pizarro H., Vera M.S., Vinocur A. et al. 2016. Glyphosate input modifies microbial community structure in clear and turbid freshwater systems. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 5143–5153. DOI: [10.1007/s11356-015-5748-0](https://doi.org/10.1007/s11356-015-5748-0)
- Pogosyan S.I., Gal'chuk S.V., Kazimirko Yu.V. et al. 2009. The use of the fluorimeter “MEGA-25” to determine the amount of phytoplankton and assess the state of its photosynthetic apparatus. *Water: Chemistry and Ecology* 6: 34–40.
- Qiu H., Geng J., Ren H. et al. 2013. Physiological and biochemical responses of *Microcystis aeruginosa* to glyphosate and its Roundup® formulation. *Journal of Hazardous Materials* 248: 172–176. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2012.12.033](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.12.033)
- Ramanan R., Kim B.H., Cho D.H. et al. 2016. Algae-bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnology Advances* 34(1): 14–29. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2015.12.003](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.003)
- Romano-Armada N., Rajal V.B. et al. 2022. Following the steps towards glyphosate bioremediation. How close are we to field success? In: Siddiqui S., Meghvansi M.K., Chaudhary K.K. (Eds.) *Pesticides bioremediation*. Springer, Cham. DOI: [10.1007/978-3-030-97000-05](https://doi.org/10.1007/978-3-030-97000-05)
- Semple K.T., Cain R.B., Schmidt S. et al. 1999. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. *FEMS Microbiology Letters* 170(2): 291–300. DOI: [10.1111/j.1574-6968.1999.tb13386.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13386.x)
- Sethunathan N., Megharaj M., Chen Z.L. et al. 2004. Algal degradation of a known endocrine disrupting insecticide, α -endosulfan, and its metabolite, endosulfan sulfate, in liquid medium and soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(10): 3030–3035. DOI: [10.1021/jf035173x](https://doi.org/10.1021/jf035173x)
- Singh S., Kumar V., Gill J.P.K. et al. 2020. Herbicide glyphosate: toxicity and microbial degradation. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(20): 7519. DOI: [10.3390/ijerph17207519](https://doi.org/10.3390/ijerph17207519)
- Solomonova E., Shoman N., Akimov A. et al. 2024. Differential responses of diatom and dinophyte microalgae to the presence of glyphosate herbicide in the medium. *Regional Studies in Marine Science* 73: 103514. DOI: [10.1016/j.rsma.2024.103514](https://doi.org/10.1016/j.rsma.2024.103514)
- Solomonova E.S., Shoman N.Yu., Akimov A.I. et al. 2024. Hormesis effect of the herbicide glyphosate on growth and lipid synthesis in the microalga *Isochrysis galbana*, an object of industrial cultivation. *Aquaculture International* 32(6): 7253–7261. DOI: [10.1007/s10499-024-01512-5](https://doi.org/10.1007/s10499-024-01512-5)
- Sun M., Li H., Jaisi D.P. et al. 2019. Degradation of glyphosate and bioavailability of phosphorus derived from glyphosate in a soil-water system. *Water Research* 163: 114840. DOI: [10.1016/j.watres.2019.07.007](https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.07.007)
- Tang L., Wang J., Zeng G. et al. 2016. Enhanced photocatalytic degradation of norfloxacin in aqueous Bi₂WO₆ dispersions containing nonionic surfactant under visible light irradiation. *Journal of Hazardous Materials* 306: 295–304. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2015.12.044](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.12.044)
- Vera M.S., Di Fiori E., Lagomarsino L. et al. 2012. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor® on freshwater microbial communities. *Ecotoxicology* 21: 1805–1816. DOI: [10.1007/s10646-012-0915-2](https://doi.org/10.1007/s10646-012-0915-2)
- Vera M.S., Lagomarsino L., Sylvester M. et al. 2010. New evidences of Roundup® (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. *Ecotoxicology* 19: 710–721. DOI: [10.1007/s10646-009-0446-7](https://doi.org/10.1007/s10646-009-0446-7)
- Wang H., Joseph J.A. 1999. Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. *Free Radical Biology and Medicine* 27(5-6): 612–616. DOI: [10.1016/S0891-5849\(99\)00107-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00107-0)
- Wang C., Lin X., Li L. et al. 2016. Differential growth responses of marine phytoplankton to herbicide glyphosate. *PLoS ONE* 11: e0151633. DOI: [10.1371/journal.pone.0151633](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151633)
- Wang C., Li J., Li S. et al. 2024. Effects and mechanisms of glyphosate as phosphorus nutrient on element stoichiometry and metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Applied and Environmental Microbiology* 90(2): e02131-23. DOI: [10.1128/aem.02131-23](https://doi.org/10.1128/aem.02131-23)
- Wijffels R.H., Barbosa M.J. 2010. An outlook on microalgal biofuels. *Science* 329(5993): 796–799. DOI: [10.1126/science.1189003](https://doi.org/10.1126/science.1189003)
- Zhang H., Hu C., Jia X. et al. 2012. Characteristics of γ -hexachlorocyclohexane biodegradation by a nitrogen-fixing cyanobacterium, *Anabaena azotica*. *Journal of Applied Phycology* 24(2): 221–225. DOI: [10.1007/s10811-011-9670-5](https://doi.org/10.1007/s10811-011-9670-5)
- Zhang Y., Habteselassie M.Y., Resurreccion E.P. et al. 2014. Evaluating removal of steroid estrogens by a model alga as a possible sustainability benefit of hypothetical integrated algae cultivation and wastewater treatment systems. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 2: 2544–2553. DOI: [10.1021/sc5004538](https://doi.org/10.1021/sc5004538)
- Zhang Q., Zhou H., Li Z. et al. 2016. Effects of glyphosate at environmentally relevant concentrations on the growth of and microcystin production by *Microcystis aeruginosa*. *Environ. Monit. Assess.* 188: 1–7. DOI: [10.1007/s10661-016-5627-2](https://doi.org/10.1007/s10661-016-5627-2)