

Tolerance of regional microalgae strains from the Republic of Tatarstan to heavy metal and acid gas contaminants: implications for carbon capture applications

Galieva G.Sh.*, Khlebova D.L., Kornilova D.N.,
Galitskaya P.Y., Selivanovskaya S.Y.

Kazan Federal University, Kazan, Republic of Tatarstan, 420008, Russia

ABSTRACT. Green microalgae are attractive biological agents for capturing carbon dioxide from industrial flue gas and for growth on partially treated wastewater, but this dual-source cultivation strategy exposes cultures to heavy metals and the acidic gases sulfur dioxide (SO₂) and nitrogen oxides (NO_x). This study assessed the lead (Pb), cadmium (Cd), SO₂, and NO_x tolerance of nine microalgal strains (*Chlamydomonas* sp., *Chlorococcum* sp., *Edaphochlamys debaryana*, *Chlorella* sp., *Chlamydomonas moewusii*, *Chlorella vulgaris*, and *Spongiosarcinopsis* sp.), isolated in 2024 from various water bodies and surfaces in the Republic of Tatarstan, Russia, and was aimed at selecting the most tolerant strain for further development as a carbon-sequestering candidate. Sampling sites were characterized by redox potential (EMF, 27–1518 mV), pH (6.4–8.0) and spectral absorption coefficient (color of water). EC₅₀ values, determined by dose-response assays, ranged from 31.1 to 238.5 mg/L for Pb and from 8.3 to 176.3 mg/L for Cd, generally exceeding literature values reported for the same or related taxa. Sensitivity to 50 ppm SO₂ and 50 ppm NO_x was low across all isolates, whereas 100 ppm NO_x and 100 ppm NO₂ produced significant growth inhibition in three and five isolates, respectively. A point-scoring procedure integrating Pb, Cd, and gas tolerance identified *Chlorella vulgaris* (isolate 14) as the best-performing strain overall (35 of a maximum 36 points), combining the highest Pb tolerance, a near-maximum Cd tolerance, and complete tolerance across all tested gas conditions. These findings support *Chlorella vulgaris* as the primary candidate among the isolates examined for further evaluation in the flue gas- and wastewater-based microalgal cultivation systems.

Keywords: microalgae, heavy metal tolerance, EC50, flue gas, SO₂/NO_x toxicity, carbon sequestration

For citation: Galieva G.Sh., Khlebova D.L., Kornilova D.N., Galitskaya P.Y., Selivanovskaya S.Y. Tolerance of regional microalgae strains from the Republic of Tatarstan to heavy metal and acid gas contaminants: implications for carbon capture applications // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - P. 420–436. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-420

1. Introduction

Mitigating climate change has stimulated the active development of carbon capture and storage technologies, ranging from geological CO₂ storage to biological sequestration approaches. Among the latter, green microalgae (*Chlorophyta*) are regarded as particularly promising carbon sequestrators because they accumulate biomass considerably faster than terrestrial plants. Under optimal conditions, microalgae convert solar energy into biomass several times more efficiently than terrestrial crops and forests, owing to the absence of non-photosynthetic structural tissue, the

possibility of year-round growth, and highly efficient CO₂-concentrating mechanisms (Subramanian and Sayre, 2022). This higher productivity, together with the capacity of microalgae to assimilate CO₂ directly from concentrated industrial flue gas streams, makes them attractive candidates for the biological capture of carbon from industrial emissions, supplementing the currently used physicochemical carbon capture technologies.

The scale of the problem that such technologies should address is substantial. Global energy- and industry-related CO₂ emissions reached a new record of 37.8 gigatons in 2024, with the combustion of fossil

*Corresponding author. E-mail address: goolnaz0708@yandex.ru (G.Sh. Galieva)

Received: July 02, 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.



fuels at thermal power plants and other industrial facilities accounting for most of this volume (IEA, 2025). Diverting even a modest share of these emissions into microalgal biomass production therefore represents a meaningful contribution to climate change mitigation, provided that the cultivation process itself remains both technically feasible and economically viable.

A widely adopted strategy for improving the economic feasibility of microalgae-based carbon capture is to combine flue gas utilization with the use of partially treated (undertreated) municipal or industrial wastewater as a cultivation medium, since wastewater simultaneously supplies the nitrogen, phosphorus, and trace elements required for microalgal growth while reducing the cost of conventional tertiary wastewater treatment (Wang et al., 2022; Lee et al., 2022).

This dual-source cultivation strategy, however, inevitably exposes microalgal cultures to a range of toxicants present in both flue gas and undertreated wastewater, most notably heavy metals and acidic gases such as sulfur dioxide (SO_2) and nitrogen oxides (NO_x). Heavy metals such as chromium, lead, cadmium, arsenic, nickel, and zinc enter flue gas during the combustion of coal and other solid or liquid fuels, with documented sources, including coal-fired thermal power plants, metal sintering, and smelting operations, as well as municipal solid waste incineration (Chen et al., 2021; Wang and Zhang, 2021; Zhao et al., 2024), while their accumulation in microalgal cultivation media supplied with flue gas was quantified directly in dedicated process studies (Napan et al., 2015). Elevated concentration of the same metals, together with copper and mercury, are commonly found in industrial wastewater originating from electroplating, mining, tanning, and battery manufacturing and metal-finishing industries (Oladimeji et al., 2024). Sulfur and nitrogen oxides, in turn, are generated mainly through fossil fuel combustion at thermal power plants and in vehicle exhaust. Their presence in flue gas is a recognized constraint on the CO_2 bio-fixation by microalgae and was reported to inhibit or, depending on concentration and exposure time, stimulate algal growth (Singh et al., 2019; Taştan et al., 2012).

For the practical development of microalgae-based carbon capture technologies, it is therefore expedient to rely not only on widely used laboratory reference strains but also on regional strains naturally adapted to local conditions of irradiance, temperature and seasonality, since such adaptation can improve outdoor cultivation performance even though large-scale cultivation is ultimately conducted under at least partially controlled conditions (Cheregi et al., 2019; Subramanian and Sayre, 2022). Accordingly, the bio-prospecting and isolation of new, locally adapted microalgal strains with strong carbon-sequestering potential remain an important research direction (Lee et al., 2022).

In line with this approach, the Institute of Biotechnology, Ecology and Nature Management of Kazan Federal University has conducted long-term isolation and characterization of microalgal strains inhabiting the temperate climate zone of central Russia,

resulting in a substantial museum collection of efficient carbon-sequestering isolates. The next stage of this work requires selecting among the sequestrator strains obtained those that combine high biomass productivity with tolerance to the toxicants that typically present in flue gas- and wastewater-based cultivation media, since the tolerance of microalgae to heavy metals and acidic gases vary considerably between, and even within, genera, and is therefore amenable to targeted laboratory screening and strain selection (Zhang et al., 2021; Abinandan et al., 2021; Bashir et al., 2021; Li et al., 2021).

The aim of the present study was to select the most tolerant strains to heavy metal (Pb and Cd) and SO_2/NO_x exposure among nine microalgal strains, which were isolated from various water bodies and surfaces in the Republic of Tatarstan in 2024.

2. Materials and methods

2.1. Isolation and origin of microalgal strains

The nine microalgal strains (isolates No. 1, 4, 6, 9, 10, 13, 14, 15, and 16) were obtained in 2024 from various freshwater bodies and solid surfaces within the Republic of Tatarstan, Russia (Table 1). Surface water was sampled in accordance with GOST 17.1.5.05-85; strains were isolated into monoculture on solid (2% agar) Tamiya medium by repeated plating and single-colony isolation, and decontaminated using the antibiotic/antifungal/fungicide protocol of Mustapa et al. (2016).

2.2. Cultivation conditions

Strains were screened on a wastewater-relevant nutrient medium prepared from the complex granular fertilizer «Fertika Universal» (5 g/L in distilled water; composition: N 12%, P_2O_5 8%, K_2O 14%, MgO 2%, S 8%, B 0.1%, Cu 0.1%, Fe 0.1%, Mn 0.2%, Mo 0.01%, and Zn 0.1%), reflecting the cultivation-parameter rationale of Singh et al. (2019), under illumination from Solar LED Light S04 fixtures (5000 lux, 16:8 h photoperiod) in a temperature-controlled climate chamber (25 °C).

2.3. Heavy metal (Pb and Cd) and SO_2/NO_x tolerance assay

Pb and Cd tolerance was determined as EC_{50} values using the stock-solution/dilution-series, OD-based growth-inhibition approach in Li et al. (2021). Strains were exposed for 10 days (conditions as in Section 2.2) to a concentration series of PbCl_2 or CdCl_2 (0.5, 5, 10, 20, 50, 75, 100, 125, 150, 175, and 200 mg/L in «Fertika» medium, plus a metal-free control; additional intermediate/extended dilutions were prepared where this series did not capture ~50% inhibition). Growth inhibition was calculated from OD620 (721NVIS spectrophotometer) relative to the control, and EC_{50} was obtained by non-linear regression as described by Li et al. (2021).

Table 1. Origin of the nine microalgal isolates analyzed in this study

Isolate No.	Taxonomic assignment	Sampling site	Coordinates (lat., long.)
1	<i>Chlamydomonas</i> Ehrenberg, 1833 sp.	Lake Shankhai, Kazan, Republic of Tatarstan	55.687040, 49.075503
4	<i>Chlorococcum</i> Meneghini, 1842 sp.	Lake in Pobedy Park, Kazan, Republic of Tatarstan	55.830979, 49.109349
6	<i>Edaphochlamys debaryana</i> (Goroschankin) Pröschold et Darienko, 2018	Circulation channel (part of the cooling-water discharge system of a thermal power plant)	55.753878, 49.130386
9	<i>Chlamydomonas</i> Ehrenberg, 1833 sp.	Lake Marino, Kazan, Republic of Tatarstan	55.832808, 49.103063
10	<i>Chlorella</i> Beijerinck, 1890 sp.	Kazanka River, Gavrilov St., Kazan, Republic of Tatarstan	55.833304, 49.166199
13	<i>Chlamydomonas moewusii</i> Gerloff, 1940	Volga River, river port area, Kazan, Republic of Tatarstan	55.776893, 49.095229
14	<i>Chlorella vulgaris</i> Beijerinck, 1890	Lake Uritskogo, Kazan, Republic of Tatarstan	55.837827, 49.066470
15	<i>Spongiosarcinopsis</i> Temraleeva et al., 2018 sp.	Lake Nizhny Kaban, Kazan, Republic of Tatarstan	55.777503, 49.123895
16	<i>Chlamydomonas</i> Ehrenberg, 1833 sp.	Scraping from the inner wall of an iron barrel containing standing artesian water	not recorded

Tolerance to SO_2 and NO_x was assessed by continuous gas sparging of pre-cultivated strains (Section 2.2), following the methods of Lee et al. (2002) for SO_2 (0–150 ppm, as used for *Chlorella* sp.) and Radmann et al. (2011) for NO_x (30–100 ppm), with CO_2 as the carbon source and an air-only treatment as control. After 10 days, growth inhibition (OD₆₂₀; 721NVIS spectrophotometer) and EC₅₀ were determined as in Section 2.3.

2.4. Determination of redox potential (EMF), pH, and color of water

Redox potential (EMF) and pH of the culture medium were measured potentiometrically with an ANION-410 multi-parameter ion analyzer (Infraspak-Analit, Russia), following ISO 10523:2008 (pH) and ASTM D1498 (redox potential/ORP), with routine calibration against standard buffers and Zobell's solution, respectively.

Color of water was determined by the spectral absorption coefficient (SAC) method of DIN EN ISO 7887:2011, from absorbance measured at 436, 525 and 620 nm (1 cm cuvettes; distilled-water blank) as $\text{SAC}(\lambda) [\text{m}^{-1}] = 2.303 \times A(\lambda) / d$ ($d = 0.01 \text{ m}$).

2.5. Molecular identification of strains

Strains were identified by Sanger sequencing of amplified marker regions (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit; capillary electrophoresis on a NanoFor-05 system), following standard microalgal barcoding procedures (cf. Khaw et al., 2020), with taxonomic assignment via NCBI BLAST and MEGA X. Genomic DNA was extracted with the FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals) and quantified on a Qubit 3.0 fluorometer.

2.6. Statistical analysis

All experiments were performed in at least three independent replicates. Mean values, standard deviations, and standard errors were calculated from the replicate measurements. Differences between treatments and controls were assessed using the Mann–Whitney U test (Happ et al., 2019).

3. Results

3.1. Characteristics of sampling sites: redox potential (EMF), pH, and color of water

The nine sampling sites, from which the microalgal isolates were obtained (Table 1), ranged in freshwater habitats within the Republic of Tatarstan, including two rivers (Volga and Kazanka), five lakes (Shankhai, Marino, Uritskogo, Nizhny Kaban, and the lake in Pobedy Park), an industrial circulation channel forming part of a thermal power plant cooling-water discharge system, and standing artesian water accumulated in an iron barrel. Fig. 1(a-c) shows the redox potential (EMF), pH, and color of the water at each site.

Redox potential varied widely among the sampling sites, from 27.1 mV in the enclosed barrel sample to 1518 mV in Lake Nizhny Kaban (Fig. 1a), reflecting the contrast between the stagnant, oxygen-limited conditions of the closed container and the well-aerated, oxidizing conditions of the open lake. Most natural water bodies (lakes and rivers) showed EMF values above 700 mV, except for the Volga River site (317.5 mV). pH values across all sites ranged from 6.417 (barrel) to 7.9765 (Pobedy Park lake), i.e., from near-neutral to slightly alkaline (Fig. 1b), consistent with typical values for temperate freshwater bodies in the region.

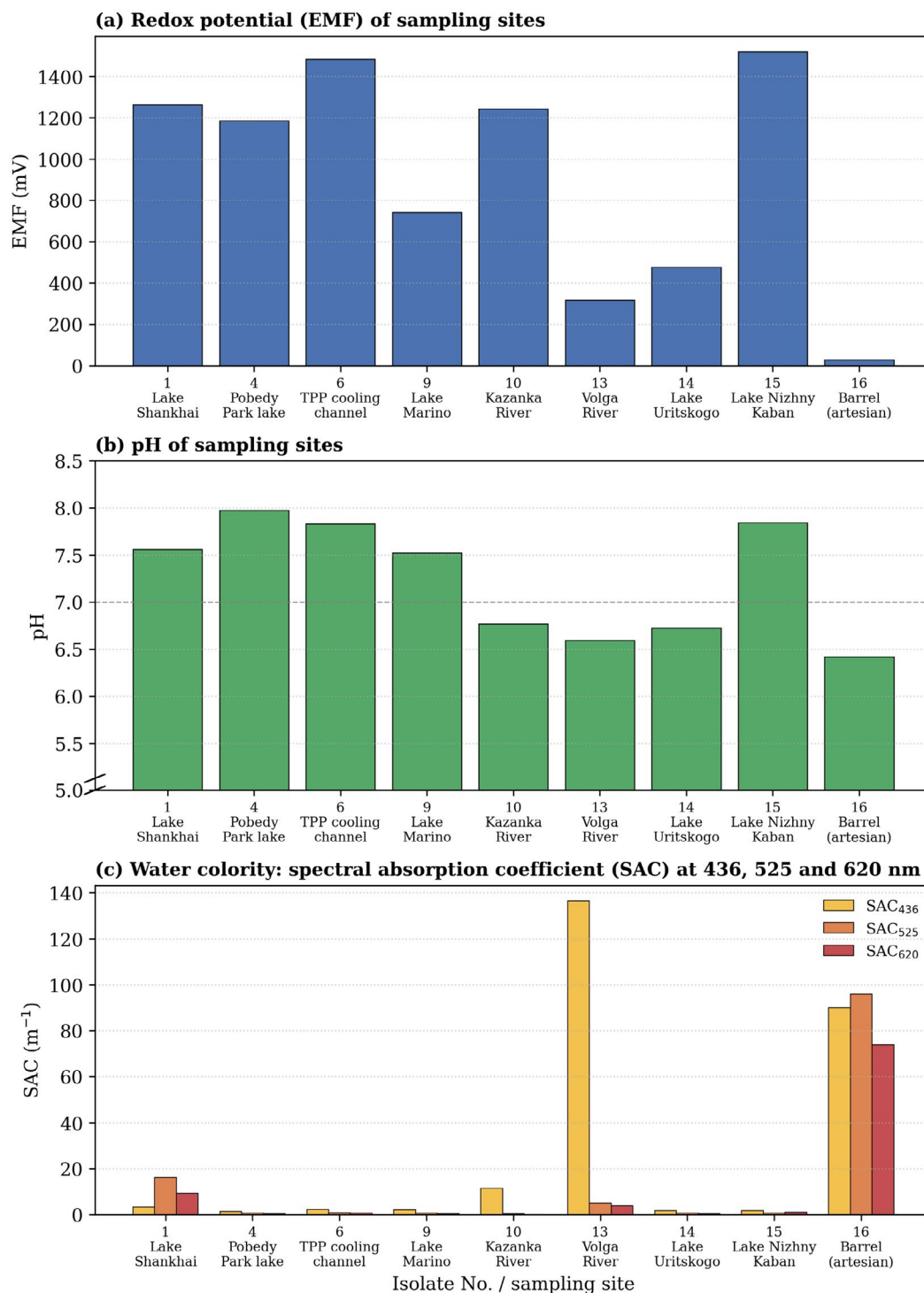


Fig.1. Characteristics of the sampling sites for the nine microalgal isolates: (a) redox potential (EMF, mV); (b) pH; (c) color of water, expressed as the spectral absorption coefficient (SAC, m⁻¹) at 436, 525 and 620 nm (DIN EN ISO 7887:2011).

Color of water, expressed as the spectral absorption coefficient (SAC, m⁻¹) at 436, 525, and 620 nm (Fig. 1c), was low (SAC ≤ 16 m⁻¹ at all three wavelengths) at six of the nine sites (isolates 4, 6, 9, 10, 14, and 15), indicating a low content of colored dissolved organic matter. Two sites showed markedly elevated SAC values: the Volga River sample (SAC₄₃₆ = 136.3 m⁻¹, with lower values at 525 and 620 nm: 5.1 and 3.9 m⁻¹, respectively) and the barrel sample (SAC₄₃₆ = 90.1, SAC₅₂₅ = 96.0, SAC₆₂₀ = 73.9 m⁻¹), the latter showing elevated absorption across the entire measured spectral range. The Shankhai lake sample

(isolate 1) showed a moderate, comparatively uniform SAC (3.5-16.1 m⁻¹). These results are consistent with a higher content of suspended and/or dissolved (including colored) matter in a large lotic system (the Volga River) and in stagnant, long-standing water in a closed metal container, respectively; the near-equal SAC across all three wavelengths for the barrel sample, in contrast to the strongly wavelength-dependent SAC of the Volga sample, further suggests a qualitatively different (less selectively yellow-brown) colored matter composition in the former.

3.2. Tolerance of microalgal isolates to Cd and Pb

Fig. 2 shows EC_{50} values for Cd and Pb, determined for each of the nine isolates, following the approach of Li et al. (2021) (Section 2.3). Tolerance to both metals varied considerably among isolates. For Pb, EC_{50} values ranged from 31.1 mg/L (isolate 1, *Chlamydomonas* sp.) to 238.5 mg/L (isolate 14, *Chlorella vulgaris*), an approximately 7.7-fold range. For Cd, EC_{50} values ranged from 8.3 mg/L (isolate 6, *Edaphochlamys debaryana*) to 176.3 mg/L (isolate 4, *Chlorococcum* sp.), an approximately 21-fold range.

Isolate 14 (*Chlorella vulgaris*) combined the highest Pb EC_{50} with a comparatively high Cd EC_{50} (129.7 mg/L), making it the most Pb/Cd-tolerant isolate overall. Isolate 4 (*Chlorococcum* sp.) showed the highest Cd EC_{50} (176.3 mg/L) together with a comparatively high Pb EC_{50} (113.7 mg/L). In contrast, isolate 6 (*Edaphochlamys debaryana*) and isolate 13 (*Chlamydomonas moewusii*) showed among the lowest EC_{50} values for both metals (Cd: 8.3 and 17.5 mg/L; Pb: 56.2 and 34.1 mg/L, respectively), indicating comparatively high sensitivity. For all isolates, Pb EC_{50} exceeded the corresponding Cd EC_{50} , consistent with the generally lower toxicity of Pb relative to Cd commonly reported for green microalgae.

3.3. Sensitivity to sulfur dioxide and nitrogen oxides

Sensitivity of the nine isolates to SO_2 and NO_x was assessed at fixed test concentrations selected within the ranges used by Lee et al. (2002) for *Chlorella* sp. KR-1 (SO_2 , 0-150 ppm) and by Radmann et al. (2011) for SO_x/NO_x -resistant microalgae (NO_x , 30-100 ppm): 50 and 100 ppm NO_x , 50 ppm SO_2 , and 100 ppm NO_2 . As in these reference studies, our isolates were classified, based on growth relative to the gas-free control (Mann-Whitney U test), as non-toxic (nt, no statistically significant growth inhibition) or toxic (t, statistically significant inhibition) at each test concentration (Table 2).

At the lower test concentrations—50 ppm NO_x and 50 ppm SO_2 —all nine isolates were classified as non-toxic, indicating a broad general tolerance to both pollutants at these levels, comparable to the tolerance reported for *Chlorella* sp. KR-1 at low-to-moderate SO_2 concentrations (Lee et al., 2002) and for SO_x/NO_x -resistant strains at concentrations ≤ 60 ppm SO_x (Radmann et al., 2011).

Higher test concentrations exhibited isolate-specific sensitivity. At 100 ppm NO_x , three isolates—6 (*Edaphochlamys debaryana*), 13 (*Chlamydomonas moewusii*), and 15 (*Spongiosarcinopsis* sp.)—showed statistically significant growth inhibition (t), while the remaining six isolates remained non-toxic, placing the sensitivity threshold of these three isolates within the 30-100 ppm NO_x range described by Radmann et al. (2011). At 100 ppm NO_2 , five isolates (1, 4, 9, 13, and 15) were classified as toxic, whereas four isolates (6, 10, 14, and 16) remained non-toxic. Isolates 10 (*Chlorella* sp.) and 14 (*Chlorella vulgaris*) were non-toxic at every test concentration, consistent with the comparatively high SO_x/NO_x tolerance previously reported for *Chlorella* species (Lee et al., 2002; Radmann et al., 2011); isolates 13 and 15 were the most broadly sensitive, showing toxicity at both elevated NO_x and NO_2 concentrations.

4. Discussion

The Pb EC_{50} values obtained in this study (31.1–238.5 mg/L; Fig. 2) were, for most isolates, higher than the values reported in the literature for the same or closely related taxa. For *Chlorella vulgaris* (isolate 14), the Pb EC_{50} of 238.5 mg/L exceeded the 48.4–73.2 mg/L range reported for this species (Expósito et al., 2021) by a factor of 3.3–4.9, and the Cd EC_{50} of 129.7 mg/L exceeded the 0.9–7.5 mg/L range reported for *C. vulgaris* (Hussain et al., 2021; Expósito et al., 2021) by more than an order of magnitude. A similar pattern was observed for isolate 10 (*Chlorella* sp.: Pb EC_{50} = 137.3 mg/L; Cd EC_{50} = 101.7 mg/L). This degree of divergence from published EC_{50} values for the genus *Chlorella* suggests either an unusually high intrinsic tol-

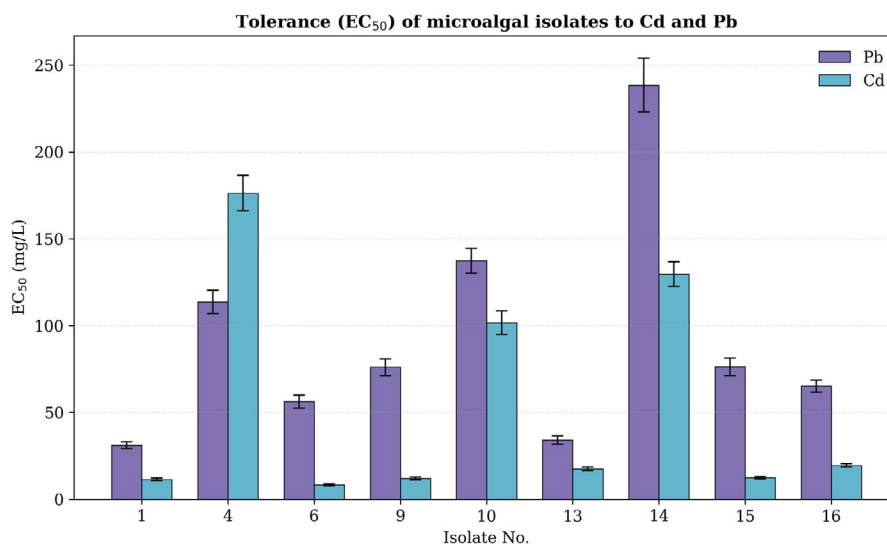


Fig.2. EC_{50} values (mg/L) for Pb and Cd for the nine microalgal isolates. Error bars represent the standard error of the mean (SE, ≈ 5 -7% of the EC_{50} value).

Table 2. Sensitivity of the nine microalgal isolates to SO₂ and NO_x (nt–non-toxic, no significant growth inhibition relative to the gas-free control; t–toxic, statistically significant growth inhibition, Mann-Whitney U test).

Isolate No.	Taxonomic assignment	50 ppm NO _x	100 ppm NO _x	50 ppm SO ₂	100 ppm NO ₂
1	<i>Chlamydomonas</i> sp.	nt	nt	nt	t
4	<i>Chlorococcum</i> sp.	nt	nt	nt	t
6	<i>Edaphochlamys debaryana</i>	nt	t	nt	nt
9	<i>Chlamydomonas</i> sp.	nt	nt	nt	t
10	<i>Chlorella</i> sp.	nt	nt	nt	nt
13	<i>Chlamydomonas moewusii</i>	nt	t	nt	t
14	<i>Chlorella vulgaris</i>	nt	nt	nt	nt
15	<i>Spongiosarcinopsis</i> sp.	nt	t	nt	t
16	<i>Chlamydomonas</i> sp.	nt	nt	nt	nt

erance of these two isolates, or the influence of experimental factors (medium composition, pH, or exposure duration) not fully comparable between studies, and should be treated with caution pending independent confirmation.

For the *Chlamydomonas* group (isolates 1, 9, 16, and *C. moewusii*, isolate 13), agreement with literature EC₅₀ values for the reference species, *C. reinhardtii*, (Pb: 19.99–29.48 mg/L; Cd: 12.48 mg/L; Li et al., 2021) was considerably closer. Cd EC₅₀ values for isolates 1 and 9 (11.41 and 12 mg/L, respectively) were nearly identical to the literature value for *C. reinhardtii*, while Pb EC₅₀ values for the same isolates (31.1 and 76.1 mg/L) bracketed or moderately exceeded it. Isolate 13 (*C. moewusii*) showed Pb and Cd EC₅₀ values (34.1 and 17.5 mg/L) reasonably close to the *C. reinhardtii* benchmark. Isolate 6 (*Edaphochlamys debaryana*), for which no species-specific literature exists, showed a Cd EC₅₀ (8.3 mg/L) close to, and a Pb EC₅₀ (56.2 mg/L) roughly twice, the *C. reinhardtii* benchmark used as the nearest phylogenetic proxy.

No quantitative EC₅₀ data are available in the literature for *Chlorococcum* (isolate 4) or *Spongiosarcinopsis* (isolate 15). The only relevant published information for *Chlorococcum* is the qualitative observation that *Chlorococcum dorsiventrals* tolerates Cd, Cr(VI), and Pb exposure without loss of viability over 14 days (Hmani et al., 2024), which is at least directionally consistent with the comparatively high Pb and Cd EC₅₀ values found here for isolate 4 (113.7 and 176.3 mg/L, respectively—the highest Cd EC₅₀ among all nine isolates).

Individual examination of EC₅₀ values revealed that isolate 14 (*Chlorella vulgaris*, 238.5 mg/L) was the most Pb-tolerant, and isolate 4 (*Chlorococcum* sp., 176.3 mg/L) was the most Cd-tolerant.

The finding that all nine isolates were non-toxic (nt) at 50 ppm NO_x and 50 ppm SO₂ is consistent with the tolerance of SO_x/NO_x-resistant *Chlorella vulgaris* to SO_x ≤ 60 ppm and NO_x ≤ 100 ppm reported by Radmann et al. (2011), and with the moderate (≈ 25%) growth inhibition reported for *Chlorella* sp. KR-1 at a comparable SO₂ concentration (60 ppm) by Lee et al. (2002). In other words, growth was reduced but not abolished at these concentrations, even in the more sensitive strains of the present study, so that none reached the significance threshold used to classify a strain as toxic (t).

At the higher NO_x (100 ppm) and NO₂ (100 ppm) concentrations, the emergence of toxicity in a subset of isolates (6, 13, and 15 at 100 ppm NO_x; 1, 4, 9, 13, and 15 at 100 ppm NO₂) falls within the range, over which Radmann et al. (2011) observed a transition from tolerance to inhibition (30–100 ppm NO_x), and parallels the concentration-dependent decline in growth rate of *Chlorella* sp. KR-1 with increasing SO₂ reported by Lee et al. (2002). Isolates 10 (*Chlorella* sp.), 14 (*Chlorella vulgaris*), and 16 (*Chlamydomonas* sp.) remained non-toxic across all four test conditions. For the two *Chlorella* isolates this is consistent with the comparatively high SO_x/NO_x tolerance reported for this genus in both reference studies, whereas the equally complete tolerance of isolate 16 (*Chlamydomonas* sp.) is not directly supported by, but also does not contradict, the literature, since neither Lee et al. (2002) nor Radmann et al. (2011) examined *Chlamydomonas* species. Taken together, isolates 10, 14, and 16 were the most SO_x/NO_x-tolerant strains, i.e. co-equal in gas tolerance.

To identify the isolate that combines the highest overall tolerance to heavy metals and acidic gases, a point-scoring procedure was applied. For each metal (Pb and Cd), the nine isolates were ranked by EC₅₀ value and assigned an integer score from 1 (lowest EC₅₀, i.e. the most sensitive/least tolerant isolate) to 9 (highest EC₅₀, the most tolerant isolate), with no ties. For each of the four gas exposure conditions (50 ppm NO_x, 100 ppm NO_x, 50 ppm SO₂, and 100 ppm NO₂), an isolate scored 4.5 points if classified as non-toxic (nt) and 1 point if classified as toxic (t) (Table 2). The total score for each isolate was calculated as the sum of its Pb score, Cd score, and the four gas scores (maximum attainable total = 9 + 9 + 4 × 4.5 = 36). The results are summarized in Table 3.

Isolate 14 (*Chlorella vulgaris*) obtained the highest total score (35.0 out of a theoretical maximum of 36), combining the highest Pb tolerance rank (9), a near-maximum Cd tolerance rank (8) and complete tolerance (nt) across all four gas exposure conditions. Isolate 10 (*Chlorella* sp.) ranked second (33.0), also with complete gas tolerance but slightly lower Pb and Cd ranks. Isolate 4 (*Chlorococcum* sp.) combined the single highest Cd tolerance rank (9) with a high Pb rank (7), but its total score (30.5) was reduced by toxicity at 100 ppm NO₂. On this basis, isolate 14 (*Chlorella vulgaris*) was identified as the best-performing strain

Table 3. Point-scoring assessment of the tolerance of the nine microalgal isolates to Pb, Cd, SO₂, and NO_x (Pb and Cd: 1 = most sensitive, 9 = most tolerant; gas conditions: 4.5 = non-toxic (nt), 1 = toxic (t)), ranked by total score.

Isolate No.	Taxonomic assignment	Pb score	Cd score	50 ppm NO _x	100 ppm NO _x	50 ppm SO ₂	100 ppm NO ₂	Total score
14	<i>Chlorella vulgaris</i>	9	8	4.5	4.5	4.5	4.5	35.0
10	<i>Chlorella sp.</i>	8	7	4.5	4.5	4.5	4.5	33.0
4	<i>Chlorococcum sp.</i>	7	9	4.5	4.5	4.5	1	30.5
16	<i>Chlamydomonas sp.</i>	4	6	4.5	4.5	4.5	4.5	28.0
9	<i>Chlamydomonas sp.</i>	5	3	4.5	4.5	4.5	1	22.5
15	<i>Spongiosarcinopsis sp.</i>	6	4	4.5	1	4.5	1	21.0
6	<i>Edaphochlamys debaryana</i>	3	1	4.5	1	4.5	4.5	18.5
13	<i>Chlamydomonas moewusii</i>	2	5	4.5	1	4.5	1	18.0
1	<i>Chlamydomonas sp.</i>	1	2	4.5	4.5	4.5	1	17.5

overall with respect to combined tolerance to Pb, Cd, SO₂, and NO_x, and is recommended as the primary candidate for further evaluation as a carbon-sequestering strain intended for cultivation on flue gas- and wastewater-derived nutrients under the conditions examined in this study.

5. Conclusions

Nine regional microalgal isolates from the Republic of Tatarstan showed wide variation in tolerance to Pb, Cd, SO₂, and NO_x, with EC₅₀ values for Pb and Cd spanning almost an order of magnitude and, for most isolates, exceeding literature values reported for the same or related taxa, although this divergence should be verified by independent bioassays. All isolates tolerated the lowest test concentrations of SO₂ and NO_x, whereas isolate-specific sensitivity emerged at higher concentrations, particularly among isolates of *Chlamydomonas moewusii*, *Edaphochlamys debaryana*, and *Spongiosarcinopsis sp.*

A combined point-scoring assessment identified *Chlorella vulgaris* (isolate 14) as the strain with the highest overall tolerance to the toxicants examined, closely followed by *Chlorella sp.* (isolate 10). Both outperformed the remaining isolates, including two other *Chlamydomonas*-affiliated strains that showed complete gas tolerance but lower metal tolerance. These results support *Chlorella vulgaris* as the primary candidate for further development as a carbon-sequestering strain intended for cultivation on industrial flue gas and partially treated wastewater under the conditions of the Republic of Tatarstan. Future work should verify the comparatively high metal EC₅₀ values against independent bioassays, extend gas tolerance testing to a wider concentration range and longer exposure duration, and evaluate the biomass productivity and CO₂ fixation capacity of the selected strain under pilot-scale, flue gas- and wastewater-fed cultivation conditions.

Acknowledgements

This work was funded by the subsidy allocated to Kazan Federal University for the state assignment in the sphere of scientific activities, project No. FZSM-2024-0004.

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

- Abinandan S., Venkateswarlu K., Megharaj M. 2021. Phenotypic changes in microalgae at acidic pH mediate their tolerance to higher concentrations of transition metals. *Current Research in Microbial Sciences* 2: 100081. DOI: [10.1016/j.crmicr.2021.100081](https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100081)
- Bashir K.M.I., Lee H.-J., Mansoor S. et al. 2021. The effect of chromium on photosynthesis and lipid accumulation in two chlorophyte microalgae. *Energies* 14: 2260. DOI: [10.3390/en14082260](https://doi.org/10.3390/en14082260)
- Chen Y., Zhang F., Liu Y. et al. 2021. Study on the removal efficiency of heavy metals in flue gas of small sintering machines. *Advances in Transdisciplinary Engineering* 17: 580-587. DOI: [10.3233/ATDE210324](https://doi.org/10.3233/ATDE210324)
- Cheregi O., Ekendahl S., Engellbrektsson J. et al. 2019. Microalgae biotechnology in Nordic countries - the potential of local strains. *Physiologia Plantarum* 166(1): 438-450. DOI: [10.1111/ppl.12950](https://doi.org/10.1111/ppl.12950)
- DIN EN ISO 7887:2011. 2011. Water quality - Examination and determination of colour. German version EN ISO 7887:2011.
- Expósito N., Carafa R., Kumar V. et al. 2021. Performance of *Chlorella vulgaris* exposed to heavy metal mixtures: linking measured endpoints and mechanisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18(3): 1037. DOI: [10.3390/ijerph18031037](https://doi.org/10.3390/ijerph18031037)
- Hmani R., Elleuch J., Elleuch F. et al. 2024. Molecular and enzymatic responses of *Chlorococcum dorsiventrals* to heavy metal exposure: implications for their removal. *Applied Sciences* 14: 8551. DOI: [10.3390/app14188551](https://doi.org/10.3390/app14188551)
- Happ M., Bathke A.C., Brunner E. 2019. Optimal sample size planning for the Wilcoxon-Mann-Whitney-test. *Statistics in Medicine* 38(3): 363-375. DOI: [10.1002/sim.7983](https://doi.org/10.1002/sim.7983)
- Hussain F., Eom H., Toor U.A. et al. 2021. Rapid assessment of heavy metal-induced toxicity in water using micro-algal bioassay based on photosynthetic oxygen evolution. *Environmental Engineering Research* 26(6): 200391. DOI: [10.4491/eer.2020.391](https://doi.org/10.4491/eer.2020.391)
- IEA. 2025. CO₂ Emissions - Global Energy Review 2025. International Energy Agency, Paris.
- Khaw Y.S., Khong N.M.H., Shaharuddin N.A. et al. 2020. A simple 18S rDNA approach for the identification of cultured eukaryotic microalgae with an emphasis on primers. *Journal of Microbiological Methods* 172: 105890. DOI: [10.1016/j.mimet.2020.105890](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105890)

Lee J.-C., Joo J.-H., Chun B.H. et al. 2022. Isolation and screening of indigenous microalgae species for domestic and livestock wastewater treatment, biodiesel production, and carbon sequestration. *Journal of Environmental Management* 318: 115648. DOI: [10.1016/j.jenvman.2022.115648](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115648)

Lee J.S., Kim D.K., Lee J.P. et al. 2002. Effects of SO₂ and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1. *Bioresource Technology* 82(1): 1-4. DOI: [10.1016/s0960-8524\(01\)00158-4](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(01)00158-4)

Li C., Zheng C., Fu H. et al. 2021. Contrasting detoxification mechanisms of *Chlamydomonas reinhardtii* under Cd and Pb stress. *Chemosphere* 274: 129771. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2021.129771](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129771)

Mustapa M., Sallehudin N.J., Mohamed M. et al. 2016. Decontamination of *Chlorella* sp. culture using antibiotics and antifungal cocktail treatment. *ARNP Journal of Engineering and Applied Sciences* 11(1): 104-109.

Napan K., Teng L., Quinn J.C. et al. 2015. Impact of heavy metals from flue gas integration with microalgae production. *Algal Research* 8: 83-88. DOI: [10.1016/j.algal.2015.01.003](https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.003)

Oladimeji T.E., Oyedemi M., Emeteri M.E. et al. 2024. Review on the impact of heavy metals from industrial wastewater effluent and removal technologies. *Heliyon* 10(21): e40370. DOI: [10.1016/j.heliyon.2024.e40370](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40370)

Radmann E.M., Camerini F.V., Santos T.D. et al. 2011. Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants. *Energy Conversion and Management* 52: 3132-3136. DOI: [10.1016/j.enconman.2011.04.021](https://doi.org/10.1016/j.enconman.2011.04.021)

Singh H.M., Kothari R., Gupta R. et al. 2019. Biofixation of flue gas from thermal power plants with algal biomass: overview and research perspectives. *Journal of*

Environmental Management 245: 519-539. DOI: [10.1016/j.jenvman.2019.01.043](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.01.043)

Subramanian S., Sayre R.T. 2022. The right stuff; realizing the potential for enhanced biomass production in microalgae. *Frontiers in Energy Research* 10: 979747. DOI: [10.3389/fenrg.2022.979747](https://doi.org/10.3389/fenrg.2022.979747)

Taştan B.E., Duygu E., Atakol O. et al. 2012. SO₂ and NO₂ tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators. *Energy Conversion and Management* 64: 28-34. DOI: [10.1016/j.enconman.2012.05.019](https://doi.org/10.1016/j.enconman.2012.05.019)

Wang H., Zhang P. 2021. Emission characteristics of PM, heavy metals, and dioxins in flue gases from sintering machines with wet and semi-dry flue gas desulfurization systems. *Environmental Science and Pollution Research* 28(34): 46089-46099. DOI: [10.1007/s11356-020-11500-w](https://doi.org/10.1007/s11356-020-11500-w)

Wang Q., Wang X., Hong Y. et al. 2022. Microalgae cultivation in domestic wastewater for wastewater treatment and high value-added production: species selection and comparison. *Biochemical Engineering Journal* 185: 108493. DOI: [10.1016/j.bej.2022.108493](https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108493)

Zhang B., Wu J., Meng F. 2021. Adaptive laboratory evolution of microalgae: a review of the regulation of growth, stress resistance, metabolic processes, and biodegradation of pollutants. *Frontiers in Microbiology* 12: 737248. DOI: [10.3389/fmicb.2021.737248](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.737248)

Zhao B., Liu W., Wang X. et al. 2024. Emission characteristics and removal of heavy metals in flue gas: a case study in waste incineration and coal-fired power plants. *Environmental Science and Pollution Research* 31(6): 8883-8897. DOI: [10.1007/s11356-023-31678-z](https://doi.org/10.1007/s11356-023-31678-z)

Толерантность региональных штаммов микроводорослей Республики Татарстан к тяжёлым металлам и кислым газам: значение для технологий улавливания углерода



Галиева Г.Ш.*, Хлебова Д.Л., Корнилова Д.Н.,
Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю.

Казанский федеральный университет, г. Казань, Республика Татарстан, 420008, Россия

АННОТАЦИЯ. Зелёные микроводоросли являются перспективными биологическими агентами для улавливания диоксида углерода из промышленных дымовых газов и для выращивания на частично очищенных сточных водах, однако такая стратегия культивирования с двумя источниками неизбежно подвергает культуры воздействию тяжёлых металлов и кислых газов - диоксида серы (SO_2) и оксидов азота (NO_x). В настоящей работе оценена толерантность девяти штаммов микроводорослей (*Chlamydomonas* sp., *Chlorococcum* sp., *Edaphochlamys debaryana*, *Chlorella* sp., *Chlamydomonas moewusii*, *Chlorella vulgaris* и *Spongiosarcinopsis* sp.), выделенных в 2024 г. из различных водоёмов и поверхностей Республики Татарстан, к свинцу (Pb), кадмию (Cd), SO_2 и NO_x , с целью отбора наиболее толерантного штамма для дальнейшей разработки в качестве кандидата-секвестратора углерода. Места отбора проб характеризовались по окислительно-восстановительному потенциалу (ЭДС, 27-1518 мВ), pH (6,4-8,0) и спектральному коэффициенту поглощения (цветность воды). Значения EC_{50} , определённые по кривым «доза-эффект», составили от 31,1 до 238,5 мг/л для Pb и от 8,3 до 176,3 мг/л для Cd, в большинстве случаев превышая литературные значения для тех же или родственных таксонов. Чувствительность к 50 ppm SO_2 и 50 ppm NO_x была низкой у всех изолятов, тогда как 100 ppm NO_x и 100 ppm NO_2 вызывали значимое ингибирование роста у трёх и пяти изолятов соответственно. Балльная оценка, объединяющая толерантность к Pb, Cd и газам, определила *Chlorella vulgaris* (изолят 14) как штамм с наилучшими показателями в целом (35 из максимальных 36 баллов), сочетающий наивысшую толерантность к Pb, близкую к максимальной толерантность к Cd и полную толерантность по всем протестированным газовым условиям. Полученные результаты позволяют рекомендовать *Chlorella vulgaris* в качестве основного кандидата среди исследованных изолятов для дальнейшей оценки в системах культивирования микроводорослей на основе дымовых газов и сточных вод.

Ключевые слова: микроводоросли, толерантность к тяжёлым металлам, EC_{50} , дымовые газы, токсичность SO_2/NO_x , секвестрация углерода

Для цитирования: Галиева Г.Ш., Хлебова Д.Л., Корнилова Д.Н., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Толерантность региональных штаммов микроводорослей Республики Татарстан к тяжёлым металлам и кислым газам: значение для технологий улавливания углерода // Limnology and Freshwater Biology. 2026. - № 4. - С. 420-436. DOI: 10.31951/2658-3518-2026-A-4-420

1. Введение

Смягчение последствий изменения климата стимулировало активное развитие технологий улавливания и хранения углерода - от геологического хранения CO_2 до методов биологической секвестрации. Среди последних зелёные микроводоросли (*Chlorophyta*) рассматриваются как особенно пер-

спективные секвестраторы углерода, поскольку они накапливают биомассу значительно быстрее наземных растений: в оптимальных условиях микроводоросли преобразуют солнечную энергию в биомассу в несколько раз эффективнее наземных культур и лесов - благодаря отсутствию нефотосинтезирующей структурной ткани, возможности круглогодичного роста и высокоэффективным механизмам

*Автор для переписки. Адрес e-mail: goolnaz0708@yandex.ru (Г.Ш. Галиева)

Поступила: 02 июля 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.



концентрирования CO_2 (Subramanian and Sayre, 2022). Эта более высокая продуктивность в сочетании со способностью микроводорослей усваивать CO_2 непосредственно из концентрированных потоков промышленных дымовых газов делает их привлекательными кандидатами для биологического улавливания углерода из промышленных выбросов, дополняя преимущественно физико-химические технологии улавливания углерода, используемые в настоящее время.

Масштаб проблемы, на решение которой направлены такие технологии, значителен. Мировые выбросы CO_2 , связанные с энергетикой и промышленностью, достигли нового рекордного значения - 37,8 гигатонны в 2024 г., при этом основная доля этого объёма приходится на сжигание ископаемого топлива на тепловых электростанциях и других промышленных объектах (IEA, 2025). Перенаправление даже небольшой доли этих выбросов на производство биомассы микроводорослей, таким образом, представляет собой значимый вклад в смягчение последствий изменения климата при условии, что сам процесс культивирования остаётся технически осуществимым и экономически целесообразным.

Широко применяемой стратегией повышения экономической целесообразности улавливания углерода на основе микроводорослей является сочетание использования дымовых газов с применением частично очищенных (недоочищенных) коммунальных или промышленных сточных вод в качестве среды культивирования, поскольку сточные воды одновременно обеспечивают азот, фосфор и микроэлементы, необходимые для роста микроводорослей, снижая при этом затраты на традиционную третичную очистку сточных вод (Wang et al., 2022; Lee et al., 2022).

Однако такая стратегия культивирования с двумя источниками неизбежно подвергает культуры микроводорослей воздействию ряда токсиантов, присутствующих как в дымовых газах, так и в недоочищенных сточных водах, в первую очередь тяжёлых металлов и кислых газов - диоксида серы (SO_2) и оксидов азота (NO_x). Тяжёлые металлы, такие как хром, свинец, кадмий, мышьяк, никель и цинк, попадают в дымовые газы при сжигании угля и других видов твёрдого или жидкого топлива; документированные источники включают угольные тепловые электростанции, агломерационные и плавильные металлургические производства, а также сжигание твёрдых бытовых отходов (Chen et al., 2021; Wang and Zhang, 2021; Zhao et al., 2024), при этом их накопление в средах культивирования микроводорослей, снабжаемых дымовыми газами, было непосредственно количественно оценено в специализированных технологических исследованиях (Naran et al., 2015). Те же металлы, наряду с медью и ртутью, часто обнаруживаются в повышенных концентрациях в промышленных сточных водах гальванических, горнодобывающих, кожевенных, аккумуляторных и металлообрабатывающих производств (Oladimeji et al., 2024). Оксиды серы и азота, в свою очередь, образуются главным образом при сжигании ископаемого топлива на тепловых

электростанциях и в выхлопах автотранспорта; их присутствие в дымовых газах является признанным ограничивающим фактором биофиксации CO_2 микроводорослями. Эти вещества, как было показано, могут либо ингибировать, либо, в зависимости от концентрации и продолжительности воздействия, стимулировать рост водорослей (Singh et al., 2019; Taştan et al., 2012).

Поэтому для практического развития технологий улавливания углерода на основе микроводорослей целесообразно опираться не только на широко используемые лабораторные референсные штаммы, но и на региональные штаммы, естественным образом адаптированные к местным условиям освещённости, температуры и сезонности. Такая адаптация может повышать эффективность культивирования в открытых условиях, даже несмотря на то, что крупномасштабное культивирование осуществляется, как минимум, в частично контролируемых условиях (Cheregi et al., 2019; Subramanian and Sayre, 2022). Соответственно, биопроспектинг и выделение новых, локально адаптированных штаммов микроводорослей с высоким потенциалом секвестрации углерода остаётся важным направлением исследований (Lee et al., 2022).

В (русле этого подхода) связи с этим Институт биотехнологии, экологии и природопользования Казанского федерального университета проводит долгосрочную работу по выделению и характеристике штаммов микроводорослей, обитающих в зоне умеренного климата центральной России. В результате была создана музейная коллекция эффективных штаммов-секвестраторов углерода. Следующий этап этой работы - отбор среди полученных штаммов-секвестраторов тех, которые сочетают высокую биомассопродуктивность с толерантностью к токсикантам, присутствующим в средах культивирования на основе дымовых газов и сточных вод. Поскольку толерантность микроводорослей к тяжёлым металлам и кислым газам, как известно, значительно варьирует между родами и даже внутри них, поэтому возможен направленный лабораторный скрининг и отбор штаммов (Zhang et al., 2021; Abinandan et al., 2021; Bashir et al., 2021; Li et al., 2021).

Целью настоящей работы являлся отбор среди девяти штаммов микроводорослей, выделенных из различных водоёмов и с различных поверхностей в Республике Татарстан в 2024 г., культур, наиболее толерантных к тяжёлым металлам (Pb, Cd) и кислым газам (SO_2/NO_x).

2. Материалы и методы

2.1. Изоляция штаммов микроводорослей

Девять штаммов микроводорослей, проанализированных в настоящем исследовании (изоляты № 1, 4, 6, 9, 10, 13, 14, 15 и 16), были получены в 2024 г. из различных пресноводных водоёмов и поверхностей на территории Республики Татарстан, Россия (Таблица 1). Отбор проб поверхностных вод

проводили в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05-85; штаммы выделяли в монокультуру на твердой (2% агар) среде Тамия путем многократного пересева и выделения отдельных колоний, деконтаминацию проводили по антибактериальной - фунгицидной схеме Mustapa et al. (2016).

2.2. Условия культивирования

Скрининг штаммов проводили на питательной среде, сопоставимой по условиям с богатыми биогенными элементами сточной воде - комплексном гранулированном удобрении «Фертика Универсал» (5 г удобрения растворяли в 1000 мл дистиллированной воды; состав: N 12%, P₂O₅ 8%, K₂O 14%, MgO 2%, S 8%, B 0,1%, Cu 0,1%, Fe 0,1%, Mn 0,2%, Mo 0,01%, Zn 0,1%), следуя логике подбора параметров культивирования Singh et al. (2019), при освещении светодиодными прожекторами Solar LED Light S04 (5000 люкс, световой режим 16:8 ч) в термостатируемой климатической камере (25 °C).

2.3. Оценка толерантности к тяжелым металлам (Pb, Cd) и SO₂/NO_x

Толерантность к Pb и Cd определяли как значения EC₅₀ с использованием подхода Li et al. (2021) (сток-раствор/серия разведений, ингибирование роста по OD). Штаммы экспонировали в течение 10 суток (условия - как в разделе 2.2) в серии концентраций PbCl₂ или CdCl₂ (0,5, 5, 10, 20, 50, 75, 100, 125, 150, 175 и 200 мг/л в среде Фертика, а также контроль без металла; при непопадании ~50%-ного ингибирования в эту серию готовили дополнительные промежуточные/расширенные разведения). Ингибирование роста рассчитывали

по OD₆₂₀ (спектрофотометр 721NVIS) относительно контроля, значения EC₅₀ получали методом нелинейной регрессии, как описано Li et al. (2021).

Толерантность к SO₂ и NO_x оценивали методом непрерывного барботирования предварительно культивированных штаммов (раздел 2.2) по методикам Lee et al. (2002) для SO₂ (0–150 ppm, как для *Chlorella* sp.) и Radmann et al. (2011) для NO_x (30–100 ppm), с подачей CO₂ в качестве источника углерода и контролем без газа (только воздух). Через 10 суток ингибирование роста (OD₆₂₀, спектрофотометр 721NVIS) и EC₅₀ определяли как описано выше.

2.4. Определение окислительно-восстановительного потенциала (ЭДС), pH и цветности воды

ЭДС и pH культуральной среды измеряли потенциометрически с помощью ионметра АНИОН-410 (Инфраспек-Аналит, Россия) в соответствии с ISO 10523:2008 (pH) и ASTM D1498 (ОВП), с рутинной калибровкой по стандартным буферным растворам и раствору Зобелла соответственно.

Цветность воды определяли методом спектрального коэффициента поглощения (SAC) по DIN EN ISO 7887:2011, по оптической плотности при 436, 525 и 620 нм (кюветы 1 см, бланк — дистиллированная вода) как $SAC(\lambda) [m^{-1}] = 2,303 \times A(\lambda) / d$ ($d = 0,01$ м).

2.5. Идентификация штаммов

Штаммы идентифицировали методом секвенирования по Сэнгеру ампликонов маркерных участков (набор BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit; капиллярный электрофорез на при-

Таблица 1. Происхождение девяти штаммов микроводорослей, проанализированных в настоящем исследовании

№ изолята	Таксономическая принадлежность	Место отбора	Координаты (широта, долгота)
1	<i>Chlamydomonas</i> Ehrenberg, 1833 sp.	озеро Шанхай, г. Казань, Республика Татарстан	55.687040, 49.075503
4	<i>Chlorococcum</i> Meneghini, 1842 sp.	озеро в парке Победы, г. Казань, Республика Татарстан	55.830979, 49.109349
6	<i>Edaphochlamys debaryana</i> (Goroschankin) Pröschold et Darienko, 2018	Циркуляционный канал (часть системы сброса охлаждающей воды ТЭЦ)	55.753878, 49.130386
9	<i>Chlamydomonas</i> Ehrenberg, 1833 sp.	озеро Марьино, г. Казань, Республика Татарстан	55.832808, 49.103063
10	<i>Chlorella</i> Beijerinck, 1890 sp.	река Казанка, ул. Гаврилова, г. Казань, Республика Татарстан	55.833304, 49.166199
13	<i>Chlamydomonas moewusii</i> Gerloff, 1940	река Волга, район речного порта, г. Казань, Республика Татарстан	55.776893, 49.095229
14	<i>Chlorella vulgaris</i> Beijerinck, 1890	озеро Урицкого, г. Казань, Республика Татарстан	55.837827, 49.066470
15	<i>Spongiosarcinopsis</i> Temraleeva et al., 2018 sp.	озеро Нижний Кабан, г. Казань, Республика Татарстан	55.777503, 49.123895
16	<i>Chlamydomonas</i> Ehrenberg, 1833 sp.	Соскоб с внутренней стенки железной бочки с отстойной артезианской водой	данные отсутствуют

боре Нанофор-05), следуя стандартным процедурам штрихкодирования микроводорослей (ср. Khaw et al., 2020), с таксономическим отнесением по NCBI BLAST и MEGA X. Геномную ДНК выделяли набором FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals) и определяли на флуориметре Qubit 3.0.

2.6. Статистическая обработка результатов

Все эксперименты проводили не менее чем в трёх независимых повторностях. Средние значения, стандартное отклонение и стандартную ошибку рассчитывали по данным повторностей. Различия между вариантами воздействия и контролем оценивали с помощью критерия Манна-Уитни (Harr et al., 2019).

3. Результаты

3.1. Характеристика точек отбора проб: окислительно-восстановительный потенциал (ЭДС), pH и цветность воды

Девять точек отбора проб, из которых были получены проанализированные в настоящем исследовании штаммы микроводорослей (Таблица 1), охватывали ряд пресноводных местообитаний на территории Республики Татарстан, включая две реки (Волга, Казанка), пять озёр (Шанхай, Марьино, Урицкого, Нижний Кабан и озеро в парке Победы), промышленный циркуляционный канал, являющийся частью системы сброса охлаждающей воды ТЭЦ, и стоячую артезианскую воду, накопившуюся в железной бочке. Окислительно-восстановительный потенциал (ЭДС), pH и цветность воды в каждой точке представлены на Рисунке 1(а-в).

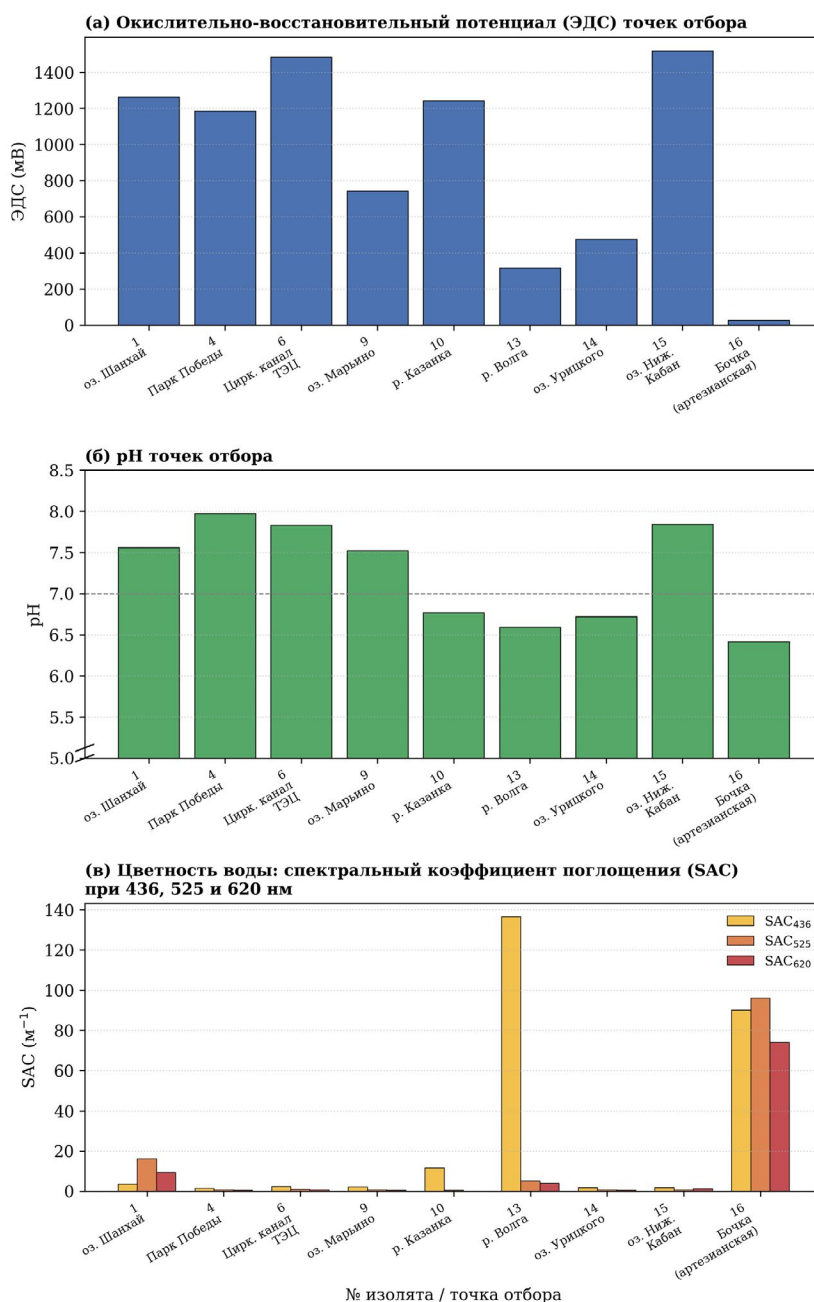


Рис.1. Характеристика точек отбора проб для девяти штаммов микроводорослей: (а) окислительно-восстановительный потенциал (ЭДС, мВ); (б) pH; (в) цветность воды, выраженная как спектральный коэффициент поглощения (SAC, м⁻¹) при 436, 525 и 620 нм (DIN EN ISO 7887:2011).

Окислительно-восстановительный потенциал широко варьировал между точками отбора - от 27,1 мВ в пробе из закрытой бочки до 1518 мВ в озере Нижний Кабан (Рис. 1а), что отражает контраст между застойными, лимитированными по кислороду условиями закрытой ёмкости и хорошо аэрируемыми, окислительными условиями открытого озера. Большинство природных водоёмов (озёра и реки) показали значения ЭДС выше 700 мВ, за заметным исключением точки на реке Волге (317,5 мВ). Значения pH во всех точках варьировали от 6,417 (бочка) до 7,9765 (озеро в парке Победы), т. е. от близких к нейтральным до слабощелочных (Рис. 1б), что соответствует типичным значениям для пресноводных водоёмов умеренной климатической зоны региона.

Цветность воды, выраженная как спектральный коэффициент поглощения (SAC, м⁻¹) при 436, 525 и 620 нм (Рис. 1в), была низкой (SAC ≤ 16 м⁻¹ на всех трёх длинах волн) в шести из девяти точек (изоляты 4, 6, 9, 10, 14 и 15), что указывает на низкое содержание окрашенного растворённого органического вещества. В двух точках отмечены заметно повышенные значения SAC: проба из реки Волги (SAC₄₃₆ = 136,3 м⁻¹, при более низких значениях на 525 и 620 нм - 5,1 и 3,9 м⁻¹ соответственно) и проба из бочки (SAC₄₃₆ = 90,1, SAC₅₂₅ = 96,0, SAC₆₂₀ = 73,9 м⁻¹), причём последняя демонстрировала повышенное поглощение во всём измеренном спектральном диапазоне. Проба из озера Шанхай (изолят 1) показала умеренный, сравнительно равномерный SAC (3,5-16,1 м⁻¹). Эти результаты согласуются с более высоким содержанием взвешенного и/или растворённого (в том числе окрашенного) вещества в крупной лотической системе (река Волга) и в застойной, долго стоявшей воде в закрытой металлической ёмкости соответственно; практически одинаковый SAC на всех трёх длинах волн для пробы из бочки, в отличие от сильно зависящего от длины волны SAC пробы

из Волги, дополнительно указывает на качественно различный состав окрашенного растворённого органического вещества. В первом случае - соединения с широкополосным поглощением без явного максимума в синей области, во втором - гумусоподобные вещества с характерным максимумом поглощения в коротковолновом диапазоне.

3.2. Толерантность изолятов микроводорослей к Cd и Pb

Значения EC₅₀ для Cd и Pb, определённые для каждого из девяти изолятов, представлены на Рисунке 2. Толерантность к обоим металлам значительно варьировала между изолятами. Для Pb значения EC₅₀ варьировали от 31,1 мг/л (изолят 1, *Chlamydomonas* sp.) до 238,5 мг/л (изолят 14, *Chlorella vulgaris*) - приблизительно 7,7-кратный диапазон. Для Cd значения EC₅₀ варьировали от 8,3 мг/л (изолят 6, *Edaphochlamys debaryana*) до 176,3 мг/л (изолят 4, *Chlorococcum* sp.) - приблизительно 21-кратный диапазон.

Изолят 14 (*Chlorella vulgaris*) сочетал наивысшее значение EC₅₀ по Pb со сравнительно высоким значением EC₅₀ по Cd (129,7 мг/л), что делает его наиболее толерантным к Pb/Cd изолятом в целом. Изолят 4 (*Chlorococcum* sp.) показал наивысшее значение EC₅₀ по Cd (176,3 мг/л) наряду со сравнительно высоким значением EC₅₀ по Pb (113,7 мг/л). Напротив, изолят 6 (*Edaphochlamys debaryana*) и изолят 13 (*Chlamydomonas moewusii*) показали одни из самых низких значений EC₅₀ по обоим металлам (Cd: 8,3 и 17,5 мг/л; Pb: 56,2 и 34,1 мг/л соответственно), что указывает на сравнительно высокую их чувствительность. У всех изолятов EC₅₀ по Pb превышало соответствующее значение EC₅₀ по Cd, что согласуется с более низкой токсичностью Pb по сравнению с Cd, обычно описываемой для зелёных микроводорослей.

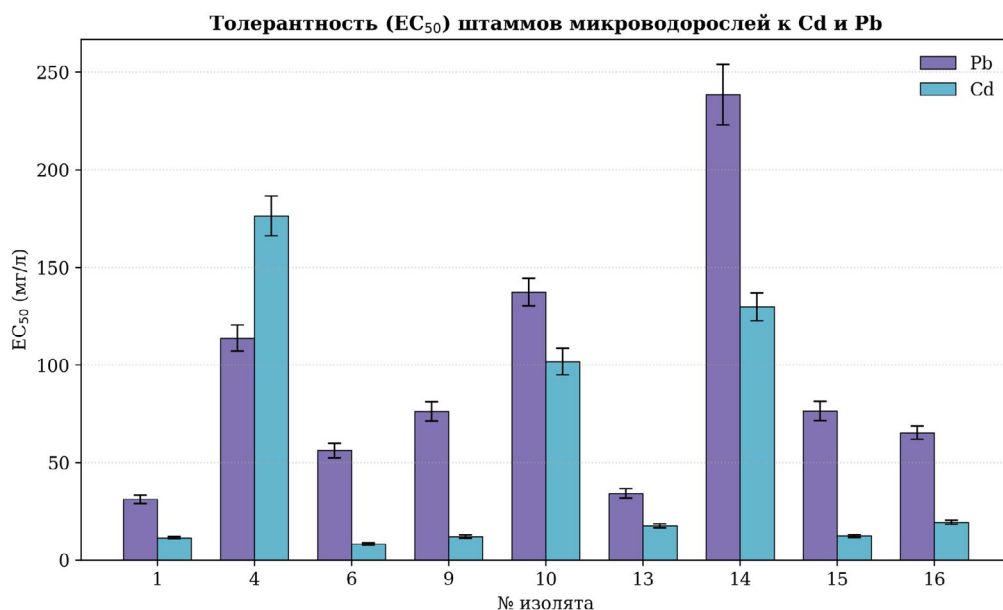


Рис.2. Значения EC₅₀ (мг/л) для Pb и Cd для девяти штаммов микроводорослей. Планки погрешностей отражают стандартную ошибку среднего (SE, ≈ 5-7% от значения EC₅₀).

3.3. Чувствительность к диоксиду серы и оксидам азота

Чувствительность девяти изолятов к SO_2 и NO_x оценивали при испытательных концентрациях, выбранных в пределах диапазонов, использованных Lee et al. (2002) для *Chlorella* sp. KR-1 (SO_2 , 0-150 ppm) и Radmann et al. (2011) для устойчивых к SO_x/NO_x микроводорослей (NO_x , 30-100 ppm): 50 и 100 ppm NO_x , 50 ppm SO_2 и 100 ppm NO_2 . Как и в этих референсных исследованиях, изоляты классифицировали, на основании роста относительно контроля без газа (критерий Манна-Уитни), как нетоксичные (nt - отсутствие статистически значимого ингибирования роста) или токсичные (t - статистически значимое ингибирование) при каждой испытательной концентрации (Таблица 2).

При более низких испытательных концентрациях - 50 ppm NO_x и 50 ppm SO_2 - все девять изолятов были классифицированы как нетоксичные, что указывает на широкую общую толерантность к обоим поллютантам при этих уровнях, сопоставимую с толерантностью, описанной для *Chlorella* sp. KR-1 при низких и умеренных концентрациях SO_2 (Lee et al., 2002) и для устойчивых к SO_x/NO_x штаммов при концентрациях ≤ 60 ppm SO_x (Radmann et al., 2011).

Специфичная для изолятов чувствительность проявилась при более высоких испытательных концентрациях. При 100 ppm NO_x три изолята - 6 (*Edaphochlamys debaryana*), 13 (*Chlamydomonas moewusii*) и 15 (*Spongiosarcinopsis* sp.) - показали статистически значимое ингибирование роста (t), тогда как остальные шесть изолятов оставались нетоксичными, что помещает порог чувствительности этих трёх изолятов в диапазон 30-100 ppm NO_x , описанный Radmann et al. (2011). При 100 ppm NO_2 пять изолятов (1, 4, 9, 13 и 15) были классифицированы как токсичные, тогда как четыре изолята (6, 10, 14 и 16) оставались нетоксичными. Изоляты 10 (*Chlorella* sp.) и 14 (*Chlorella vulgaris*) были нетоксичными при всех испытательных концентрациях, что согласуется со сравнительно высокой толерантностью к SO_x/NO_x , ранее описанной для рода *Chlorella* (Lee et al., 2002; Radmann et al., 2011); изоляты 13 и 15 оказались наиболее широко чувствительными,

показав токсичность как при повышенных концентрациях NO_x , так и NO_2 .

4. Обсуждение

4.1. Сравнение толерантности к Pb и Cd с литературными данными

Значения EC_{50} по Pb, полученные в настоящем исследовании (31,1-238,5 мг/л; Рис. 2), у большинства изолятов оказались выше значений, описанных в литературе для тех же или близкородственных таксонов. Для *Chlorella vulgaris* (изолят 14) значение EC_{50} по Pb (238,5 мг/л) превысило диапазон 48,4-73,2 мг/л, описанный для этого вида (Expósito et al., 2021), в 3,3-4,9 раза, а значение EC_{50} по Cd (129,7 мг/л) превысило диапазон 0,9-7,5 мг/л, описанный для *C. vulgaris* (Hussain et al., 2021; Expósito et al., 2021), более чем на порядок. Схожая картина наблюдалась для изолята 10 (*Chlorella* sp.: EC_{50} по Pb = 137,3 мг/л, EC_{50} по Cd = 101,7 мг/л). Такая степень расхождения с опубликованными значениями EC_{50} для рода *Chlorella* указывает либо на необычно высокую собственную толерантность этих двух изолятов, либо на влияние экспериментальных факторов (состав среды, pH, продолжительность экспозиции), не полностью сопоставимых между исследованиями, и должна восприниматься с осторожностью до независимого подтверждения.

Для группы *Chlamydomonas* (изоляты 1, 9, 16 и *C. moewusii*, изолят 13) соответствие литературным значениям EC_{50} для референсного вида *C. reinhardtii* (Pb: 19,99-29,48 мг/л; Cd: 12,48 мг/л; Li et al., 2021) оказалось значительно более близким. Значения EC_{50} по Cd для изолятов 1 и 9 (11,41 и 12 мг/л соответственно) были практически идентичны литературному значению для *C. reinhardtii*, тогда как значения EC_{50} по Pb для тех же изолятов (31,1 и 76,1 мг/л) охватывали его или умеренно превышали. Изолят 13 (*C. moewusii*) показал значения EC_{50} по Pb и Cd (34,1 и 17,5 мг/л), достаточно близкие к ориентиру *C. reinhardtii*. Изолят 6 (*Edaphochlamys debaryana*), для которого видоспецифичная литература отсутствует, показал значение EC_{50} по Cd (8,3 мг/л), близкое к ориентиру *C. reinhardtii*, использованному как ближайший филогенетический аналог, и значение

Таблица 2. Чувствительность девяти штаммов микроводорослей к SO_2 и NO_x (nt - нетоксично, отсутствие значимого ингибирования роста относительно контроля без газа; t - токсично, статистически значимое ингибирование роста, критерий Манна-Уитни).

№ изолята	Таксономическая принадлежность	50 ppm NO_x	100 ppm NO_x	50 ppm SO_2	100 ppm NO_2
1	<i>Chlamydomonas</i> sp.	nt	nt	nt	t
4	<i>Chlorococcum</i> sp.	nt	nt	nt	t
6	<i>Edaphochlamys debaryana</i>	nt	t	nt	nt
9	<i>Chlamydomonas</i> sp.	nt	nt	nt	t
10	<i>Chlorella</i> sp.	nt	nt	nt	nt
13	<i>Chlamydomonas moewusii</i>	nt	t	nt	t
14	<i>Chlorella vulgaris</i>	nt	nt	nt	nt
15	<i>Spongiosarcinopsis</i> sp.	nt	t	nt	t
16	<i>Chlamydomonas</i> sp.	nt	nt	nt	nt

EC₅₀ по Pb (56,2 мг/л), примерно вдвое превышающее этот ориентир.

Количественные данные EC₅₀ в литературе отсутствуют для *Chlorococcum* (изолят 4) и *Spongiosarcinopsis* (изолят 15); единственная значимая опубликованная информация для *Chlorococcum* - качественное наблюдение о том, что *Chlorococcum dorsiventrale* переносит воздействие Cd, Cr(VI) и Pb без потери жизнеспособности в течение 14 суток (Hmani et al., 2024), что по крайней мере по направленности согласуется со сравнительно высокими значениями EC₅₀ по Pb и Cd, обнаруженными здесь для изолята 4 (113,7 и 176,3 мг/л соответственно - наивысшее значение EC₅₀ по Cd среди всех девяти изолятов). EC₅₀ и рассматривать значения EC₅₀ по отдельности, наиболее толерантным к Pb оказался изолят 14 (*Chlorella vulgaris*, 238,5 мг/л), а наиболее толерантным к Cd - изолят 4 (*Chlorococcum* sp., 176,3 мг/л).

4.2. Сравнение чувствительности к SO₂/NO_x с литературными данными

Тот факт, что все девять изолятов оказались нетоксичными (nt) при 50 ppm NO_x и 50 ppm SO₂, согласуется с толерантностью устойчивых к SO_x/NO_x штаммов *Chlorella vulgaris* к SO_x ≤ 60 ppm и NO_x ≤ 100 ppm, описанной Radmann et al. (2011), а также с умеренным (≈ 25%) ингибированием роста, описанным Lee et al. (2002) для *Chlorella* sp. KR-1 при сопоставимой концентрации SO₂ (60 ppm). Результаты показали, что рост снижался, но не полностью подавлялся при этих концентрациях даже у более чувствительных штаммов настоящего исследования, вследствие чего ни один из них не достиг порога значимости, использованного для классификации штамма как токсичного (t).

При более высоких концентрациях NO_x (100 ppm) и NO₂ (100 ppm) появление токсичности у части изолятов (6, 13 и 15 при 100 ppm NO_x; 1, 4, 9, 13 и 15 при 100 ppm NO₂) попадает в диапазон, в котором Radmann et al. (2011) наблюдали переход от толерантности к ингибированию (30-100 ppm NO_x). Полученные результаты также согласуются с данными Lee et al. (2002), показавшими концентрационно-зависимое снижение скорости роста

Chlorella sp. KR-1 при увеличении концентрации SO₂. Изоляты 10 (*Chlorella* sp.), 14 (*Chlorella vulgaris*) и 16 (*Chlamydomonas* sp.) оставались нетоксичными при всех четырёх испытательных условиях. Для двух изолятов *Chlorella* это согласуется со сравнительно высокой толерантностью к SO_x/NO_x, описанной для этого рода в обоих референсных исследованиях, тогда как столь же полная толерантность изолята 16 (*Chlamydomonas* sp.) прямо не подтверждается, но и не противоречит литературе, поскольку ни Lee et al. (2002), ни Radmann et al. (2011) не изучали виды *Chlamydomonas*. Таким образом, изоляты 10, 14 и 16 оказались наиболее толерантными к SO_x/NO_x штаммами, т. е. равнозначными по толерантности к газам.

4.3. Комплексная оценка толерантности и выбор наилучшего штамма

Для выбора изолята, сочетающего наивысшую общую толерантность к тяжёлым металлам и кислым газам, была применена балльная процедура оценки. Для каждого металла (Pb, Cd) девять изолятов были ранжированы по значению EC₅₀, что позволило получить целочисленный балл от 1 (наименьшее значение EC₅₀, т. е. наиболее чувствительный/наименее толерантный изолят) до 9 (наибольшее значение EC₅₀, наиболее толерантный изолят), без совпадений. Для каждого из четырёх условий газового воздействия (50 ppm NO_x, 100 ppm NO_x, 50 ppm SO₂, 100 ppm NO₂) изолят получал 4,5 балла при классификации как нетоксичный (nt) и 1 балл - как токсичный (t) (Таблица 2). Итоговый балл для каждого изолята рассчитывали, как сумму его баллов по Pb, Cd и четырёх баллов по газам (максимально достижимый итог = 9 + 9 + 4 × 4,5 = 36); результаты обобщены в Таблице 3.

Изолят 14 (*Chlorella vulgaris*) набрал наивысший итоговый балл (35,0 из теоретического максимума 36), сочетая наивысший ранг толерантности к Pb (9), близкий к максимальному ранг толерантности к Cd (8) и полную толерантность (nt) по всем четырём условиям газового воздействия. Изолят 10 (*Chlorella* sp.) занял второе место (33,0), также с полной толерантностью к газам, но несколько более низкими рангами по Pb и Cd. Изолят 4 (*Chlorococcum*

Таблица 3. Балльная оценка толерантности девяти штаммов микроводорослей к Pb, Cd, SO₂ и NO_x (Pb, Cd: 1 = наиболее чувствительный, 9 = наиболее толерантный; газовые условия: 4,5 = нетоксично (nt), 1 = токсично (t)), ранжированные по итоговому баллу.

№ изолята	Таксономическая принадлежность	Балл Pb	Балл Cd	50 ppm NO _x	100 ppm NO _x	50 ppm SO ₂	100 ppm NO ₂	Итоговый балл
14	<i>Chlorella vulgaris</i>	9	8	4.5	4.5	4.5	4.5	35.0
10	<i>Chlorella</i> sp.	8	7	4.5	4.5	4.5	4.5	33.0
4	<i>Chlorococcum</i> sp.	7	9	4.5	4.5	4.5	1	30.5
16	<i>Chlamydomonas</i> sp.	4	6	4.5	4.5	4.5	4.5	28.0
9	<i>Chlamydomonas</i> sp.	5	3	4.5	4.5	4.5	1	22.5
15	<i>Spongiosarcinopsis</i> sp.	6	4	4.5	1	4.5	1	21.0
6	<i>Edaphochlamys debaryana</i>	3	1	4.5	1	4.5	4.5	18.5
13	<i>Chlamydomonas moewusii</i>	2	5	4.5	1	4.5	1	18.0
1	<i>Chlamydomonas</i> sp.	1	2	4.5	4.5	4.5	1	17.5

sp.) сочетал единственный наивысший ранг толерантности к Cd (9) с высоким рангом по Pb (7), однако его итоговый балл (30,5) был снижен из-за токсичности при 100 ppm NO₂. На этом основании изолят 14 (*Chlorella vulgaris*) определён как штамм с наилучшими показателями в целом с точки зрения комплексной толерантности к Pb, Cd, SO₂ и NO_x, и рекомендован в качестве основного кандидата для дальнейшей оценки в качестве штамма-секвестратора углерода, предназначенного для культивирования на питательных веществах дымовых газов и сточных вод, в условиях, исследованных в настоящей работе.

5. Заключение

Девять региональных штаммов микроводорослей из Республики Татарстан показали широкую вариацию толерантности к Pb, Cd, SO₂ и NO_x: значения EC₅₀ по Pb и Cd охватывали диапазон почти на порядок и у большинства изолятов превышали литературные значения, описанные для тех же или родственных таксонов, хотя это расхождение следует подтвердить независимыми биотестами. Все изоляты переносили наименьшие испытательные концентрации SO₂ и NO_x, тогда как специфичная для отдельных изолятов чувствительность проявлялась при более высоких концентрациях, в частности у штаммов *Chlamydomonas moewusii*, *Edaphochlamys debaryana* и *Spongiosarcinopsis* sp.

Комплексная балльная оценка определила *Chlorella vulgaris* (изолят 14) как штамм с наивысшей общей толерантностью к исследованным токсикантам, за которым с небольшим отрывом следует *Chlorella* sp. (изолят 10); оба превзошли остальные изоляты, включая два других штамма из рода *Chlamydomonas*, которые показали полную толерантность к газам, но более низкую толерантность к металлам. Эти результаты позволяют рекомендовать *Chlorella vulgaris* в качестве основного кандидата для дальнейшей разработки в качестве штамма-секвестратора углерода, предназначенного для культивирования на промышленных дымовых газах и частично очищенных сточных водах в условиях Республики Татарстан. Дальнейшая работа должна включать подтверждение сравнительно высоких значений EC₅₀ по металлам независимыми биотестами, расширение тестирования газовой толерантности на более широкий диапазон концентраций и большую продолжительность экспозиции, а также оценку биомассопродуктивности и способности к фиксации CO₂ отобранного штамма в условиях пилотного культивирования на дымовых газах и сточных водах.

Благодарности

Работа выполнена за счёт средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Abinandan S., Venkateswarlu K., Megharaj M. 2021. Phenotypic changes in microalgae at acidic pH mediate their tolerance to higher concentrations of transition metals. *Current Research in Microbial Sciences* 2: 100081. DOI: [10.1016/j.crmicr.2021.100081](https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100081)
- Bashir K.M.I., Lee H.-J., Mansoor S. et al. 2021. The effect of chromium on photosynthesis and lipid accumulation in two chlorophyte microalgae. *Energies* 14: 2260. DOI: [10.3390/en14082260](https://doi.org/10.3390/en14082260)
- Chen Y., Zhang F., Liu Y. et al. 2021. Study on the removal efficiency of heavy metals in flue gas of small sintering machines. *Advances in Transdisciplinary Engineering* 17: 580-587. DOI: [10.3233/ATDE210324](https://doi.org/10.3233/ATDE210324)
- Cheregi O., Ekendahl S., Engelbrektsson J. et al. 2019. Microalgae biotechnology in Nordic countries - the potential of local strains. *Physiologia Plantarum* 166(1): 438-450. DOI: [10.1111/ppl.12950](https://doi.org/10.1111/ppl.12950)
- DIN EN ISO 7887:2011. Water quality - Examination and determination of colour. German version EN ISO 7887:2011.
- Expósito N., Carafa R., Kumar V. et al. 2021. Performance of *Chlorella vulgaris* exposed to heavy metal mixtures: linking measured endpoints and mechanisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18(3): 1037. DOI: [10.3390/ijerph18031037](https://doi.org/10.3390/ijerph18031037)
- Hmani R., Elleuch J., Elleuch F. et al. 2024. Molecular and enzymatic responses of *Chlorococcum dorsiventrals* to heavy metal exposure: implications for their removal. *Applied Sciences* 14: 8551. DOI: [10.3390/app14188551](https://doi.org/10.3390/app14188551)
- Happ M., Bathke A.C., Brunner E. 2019. Optimal sample size planning for the Wilcoxon-Mann-Whitney-test. *Statistics in Medicine* 38(3): 363-375. DOI: [10.1002/sim.7983](https://doi.org/10.1002/sim.7983)
- Hussain F., Eom H., Toor U.A. et al. 2021. Rapid assessment of heavy metal-induced toxicity in water using micro-algal bioassay based on photosynthetic oxygen evolution. *Environmental Engineering Research* 26(6): 200391. DOI: [10.4491/eer.2020.391](https://doi.org/10.4491/eer.2020.391)
- IEA. 2025. CO₂ Emissions - Global Energy Review 2025. International Energy Agency, Paris.
- Khaw Y.S., Khong N.M.H., Shaharuddin N.A. et al. 2020. A simple 18S rDNA approach for the identification of cultured eukaryotic microalgae with an emphasis on primers. *Journal of Microbiological Methods* 172: 105890. DOI: [10.1016/j.mimet.2020.105890](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105890)
- Lee J.-C., Joo J.-H., Chun B.H. et al. 2022. Isolation and screening of indigenous microalgae species for domestic and livestock wastewater treatment, biodiesel production, and carbon sequestration. *Journal of Environmental Management* 318: 115648. DOI: [10.1016/j.jenvman.2022.115648](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115648)
- Lee J.S., Kim D.K., Lee J.P. et al. 2002. Effects of SO₂ and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1. *Bioresource Technology* 82(1): 1-4. DOI: [10.1016/s0960-8524\(01\)00158-4](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(01)00158-4)
- Li C., Zheng C., Fu H. et al. 2021. Contrasting detoxification mechanisms of *Chlamydomonas reinhardtii* under Cd and Pb stress. *Chemosphere* 274: 129771. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2021.129771](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129771)
- Mustapa M., Sallehudin N.J., Mohamed M. et al. 2016. Decontamination of *Chlorella* sp. culture using antibiotics and antifungal cocktail treatment. *ARNP Journal of Engineering and Applied Sciences* 11(1): 104-109.
- Napan K., Teng L., Quinn J.C. et al. 2015. Impact of heavy metals from flue gas integration with microalgae production. *Algal Research* 8: 83-88. DOI: [10.1016/j.algal.2015.01.003](https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.003)

Oladimeji T.E., Oyedemi M., Emetere M.E. et al. 2024. Review on the impact of heavy metals from industrial wastewater effluent and removal technologies. *Heliyon* 10(21): e40370. DOI: [10.1016/j.heliyon.2024.e40370](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40370)

Radmann E.M., Camerini F.V., Santos T.D. et al. 2011. Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants. *Energy Conversion and Management* 52: 3132-3136. DOI: [10.1016/j.enconman.2011.04.021](https://doi.org/10.1016/j.enconman.2011.04.021)

Singh H.M., Kothari R., Gupta R. et al. 2019. Biofixation of flue gas from thermal power plants with algal biomass: overview and research perspectives. *Journal of Environmental Management* 245: 519-539. DOI: [10.1016/j.jenvman.2019.01.043](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.01.043)

Subramanian S., Sayre R.T. 2022. The right stuff; realizing the potential for enhanced biomass production in microalgae. *Frontiers in Energy Research* 10: 979747. DOI: [10.3389/fenrg.2022.979747](https://doi.org/10.3389/fenrg.2022.979747)

Taştan B.E., Duygu E., Atakol O. et al. 2012. SO₂ and NO₂ tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators. *Energy Conversion and Management* 64: 28-34. DOI: [10.1016/j.enconman.2012.05.019](https://doi.org/10.1016/j.enconman.2012.05.019)

Wang H., Zhang P. 2021. Emission characteristics of PM, heavy metals, and dioxins in flue gases from sintering machines with wet and semi-dry flue gas desulfurization systems. *Environmental Science and Pollution Research* 28(34): 46089-46099. DOI: [10.1007/s11356-020-11500-w](https://doi.org/10.1007/s11356-020-11500-w)

Wang Q., Wang X., Hong Y. et al. 2022. Microalgae cultivation in domestic wastewater for wastewater treatment and high value-added production: species selection and comparison. *Biochemical Engineering Journal* 185: 108493. DOI: [10.1016/j.bej.2022.108493](https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108493)

Zhang B., Wu J., Meng F. 2021. Adaptive laboratory evolution of microalgae: a review of the regulation of growth, stress resistance, metabolic processes, and biodegradation of pollutants. *Frontiers in Microbiology* 12: 737248. DOI: [10.3389/fmicb.2021.737248](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.737248)

Zhao B., Liu W., Wang X. et al. 2024. Emission characteristics and removal of heavy metals in flue gas: a case study in waste incineration and coal-fired power plants. *Environmental Science and Pollution Research* 31(6): 8883-8897. DOI: [10.1007/s11356-023-31678-z](https://doi.org/10.1007/s11356-023-31678-z)