

УДК 504.064.3:504.4.062.2

ВЕМБЕР В. В.*, ШАБЛІЙ О. В., БАССАК А. О., АНТОНЕНКО Д. І.
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

ВИКОРИСТАННЯ ПОКАЗНИКА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНОЇ АКТИВНОСТІ В СИСТЕМІ ЕКОЛОГІЧНОГО МОНІТОРИНГУ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД

*В роботі досліджена можливість використання супероксиддисмутазної активності в якості чутливого тесту на присутність у водному середовищі гербіцидних препаратів з різним механізмом дії. В якості тест-об'єкту була обрана *Elodea canadensis* Michx. (елодія канадська), оскільки дана рослина протягом усього життєвого циклу занурена у водне середовище, а отже найбільш повно контактує з усіма присутніми у воді токсикантами. Виявлена реакція на вплив досліджених гербіцидів дозволяє рекомендувати розроблений тест при проведенні комплексного моніторингу водних об'єктів.*

Ключові слова: екологічний моніторинг, супероксиддисмутазна активність, біотестування, пестициди

DOI: 10.20535/2617-9741.1.2022.254162

*Corresponding author: vvember@gmail.com

Received 21 November 2021; Accepted 14 January 2022

Постановка проблеми. Забруднення водойм ксенобіотиками різноманітної природи є характерною ознакою сучасності. Особливе місце серед забруднюючих речовин посідають пестициди, впровадження яких у сільськогосподарську практику неухильно розповсюджується як у світі так і в межах України [1, 2]. В загальному об'ємі пестицидів, що використовуються сьогодні в світовому масштабі, доля гербіцидних препаратів та дефоліантів наближається до 70 %. Одним з найнебезпечніших наслідків їхнього використання є те, що більшість гербіцидів можуть не лише концентруватися в межах сільськогосподарських угідь, але й поширюватись на значні території і досить тривалий час циркулювати у біосфері. У водойми вони надходять з поверхневими і підґрунтовими стоками із забруднених природно-територіальних комплексів [2, 3]. Одним з напрямків підтримання екологічної безпеки в подібній ситуації є безперервний моніторинг даного виду полютантів в різноманітних об'єктах довкілля і, особливо, в поверхневих водах, потрапляння та накопичення в яких гербіцидів знищує водяну рослинність та призводить до прискореної деградації аквальної системи [3].

Враховуючи широкий спектр і різноманітність механізмів дії сучасних гербіцидів, методи, за допомогою яких можна виявити їх надмірні концентрації в навколишньому середовищі, повинні забезпечувати високий рівень чутливості та низьку специфічність [4].

Сучасні тенденції в екологічному контролі шкідливих впливів все більше відображають біотичний підхід [5, 6]. Хімічний аналіз засвідчує лише наявність «маркерів» – певних концентрацій забруднювачів, проте не говорить про стан та перспективи розвитку різних компонентів біоти та екосистеми в цілому в умовах забруднення. Тому гострою та актуальною проблемою екологічного контролю є вибір інформативних біологічних показників та адаптація біологічних методів для екоконтролю. Для своєчасного відслідковування забруднення водойм гербіцидами необхідно впроваджувати методи біоіндикації та біотестування, які вирізнялися б експресністю, дешевизною, простотою, гарною відтворюваністю та достатнім рівнем специфічності.

Характеристики рівня токсичного забруднення водойм можна одержати з використанням аналітичних хімічних, фізико-хімічних та фізичних методів. Але оскільки спектр речовин антропогенного походження, які потрапляють у природні водойми, постійно розширюється, контроль, що ґрунтується на використанні методів традиційного аналізу, стає все більш проблематичним. Складнощі полягають не лише у збільшенні кількості різноманітних ксенобіотиків, які доводиться контролювати, але і в специфічному для водного середовища явищі трансформації полютантів (внаслідок фізичних, хімічних та біологічних процесів), а також у факті їхньої взаємодії, яка може призводити до синергізму, антагонізму або адитивності при сумісному впливі на природні екосистеми та їх окремі ланки. Найефективнішою стратегією у вирішенні даної проблеми є

доповнення існуючих методів аналітичного та апаратного контролю методами біоіндикації та біотестування. До їхніх основних переваг можна віднести можливість оцінки рівня лише біологічно значимих токсикогенних навантажень. Видами-моніторами, як правило, виступають гідробіонти здатні накопичувати токсичні речовини, або чутливо реагувати на їх присутність у водному середовищі [7]. Основним завданням біоіндикації на сучасному етапі є розробка методів та критеріїв, які могли б адекватно відобразити рівень антропогенного впливу з урахуванням комплексного характеру забруднень та діагностувати ранні порушення у найбільш чутливих компонентах біотичних співтовариств. Особливе місце серед подібних критеріїв належить біохімічним показникам екологічного стану водних об'єктів, оскільки вони відносяться до базових та найчутливіших ланок підтримання гомеостазу клітини. Насьогодні в системі біомоніторингових досліджень в якості маркерів системних пошкоджень вже використовується ряд біохімічних показників, найбільш розповсюдженими з яких є загальний вміст хлорофілу у рослинних тканинах, відношення хлорофілу а до хлорофілу b та дегідрогеназна активність [4, 5].

Аналіз попередніх досліджень. Для того, щоб бути придатними для вирішення комплексу сучасних завдань, методи біотестування, що використовуються для оцінки стану оточуючого природного середовища, повинні відповідати наступним умовам: бути придатними для оцінки будь-яких екологічних змін середовища існування живих організмів; характеризувати найбільш загальні та важливі параметри життєдіяльності біоти; бути достатньо чутливими для виявлення навіть початкових екологічних змін; бути зручними не лише для лабораторного моделювання але і для польових досліджень; бути достатньо простими та не надмірно вартісними для широкого використання.

Отже, **невирішеною та дискусійною частиною наукової проблеми** залишається підбір комплексу тест-об'єкту та тест-реакції, який би найповніше задовольняв умовам проведення екологічного моніторингу водних об'єктів.

В результаті аналізу літературних даних та проведення пошукових досліджень [7-9], нами була запропонована тест-система, яка задовольняє наведеним вище умовам проведення екологічного моніторингу водних об'єктів. Вона складається з рослини-макрофіта – елодеї канадської (*Eloдея canadensis* Michx.), що відноситься до видів-гідратофітів, контакт яких з водним середовищем та розчиненими в ньому речовинами є найбільш повним, ніж у вищих рослин, які широко використовуються нині для біотестування (цибуля, крес-салат і т.д.). Крім того, елодея є видом-космополітом, область її існування охоплює величезні території, що є важливим фактором при обранні організму в якості біоіндикаторного виду.

Проведене нами раніше дослідження впливу пестицидів на каталазну активність елодеї канадської [8, 9] продемонструвало здатність даного показника чутливо реагувати на різноманітні зміни токсикологічної обстановки водного середовища та дозволило рекомендувати використання змін активності ферментів антиокислювального захисту рослин-гідратофітів у біомоніторингових дослідженнях поверхневих вод. Каталаза та супероксиддисмутаза належать до антиокислювальних ферментів, основною функцією яких є запобігання нарощуванню окиснювального стресу в клітині, а отже їхня активність може виступати в якості інтегрального показника, що чутливо реагує на токсичний вплив різноманітних хімічних речовин та сигналізує про нарощування патології на клітинному рівні [10].

Тому **метою даної роботи** стало виявлення специфічних змін у супероксиддисмутазній активності елодеї канадської (*Eloдея canadensis* Michx.) при біотестуванні гербіцидів різних груп. Досягнення поставленої мети реалізувалось через дослідження динамічних змін супероксиддисмутазної активності елодеї при контакті останньої з гербіцидами, що мають різний механізм дії та присутніх у середовищі культивування у широкому концентраційному діапазоні.

Методика роботи. Гербіциди, що використовувались у роботі, характеризуються різним механізмом дії.

Перший - гліфосат ($C_3H_8NO_5P$) – відноситься до фосфорорганічних контактних гербіцидів та має яскраво виражену системну дію. В роботі використовувалися розчини калієвої солі гліфосату – найпоширенішого гербіциду у світі за об'ємами використання. Препарати гліфосату, проникаючи в усі вегетативні органи, накопичуються в меристематичних тканинах, в зонах активного росту, де порушують фізіолого-біохімічні процеси, що призводить до загибелі рослин. У воді препарат стійкий. Зменшення рівня гліфосату в водній системі відбувається, в основному, за рахунок адсорбції діючої речовини донними відкладеннями, впливу водної мікрофлори та ультрафіолетового випромінювання. ГДК для води водойм – 0,02 мг/дм³.

В якості гербіциду, що має відмінний механізм дії, було обрано клетодим ($C_{17}H_{26}ClNO_3S$) – хлорорганічний гербіцид, який виступає інгібітором біосинтезу жирів. Після потрапляння на поверхню листа речовина абсорбується листовою поверхнею і переміщається по флоемі до меристемних регіонів. Препарат накопичується в тканинах, порушує біосинтез ліпідів, викликаючи загибель рослин. Нестабільно піддається

розкладанню при підвищеній температурі, під дією УФ світла, при екстремальних значеннях рН. Піддається окисленню і розкладанню в аеробних умовах, період напіврозпаду 1-3 дні. Клетодим стійкий при відсутності сонячного світла у водних розчинах з рН 7-10. ГДК для води водоєм – 0,002 мг/дм³.

В процесі тестування піддослідні рослини елодеї утримувалися в розчинах, виготовлених шляхом додавання до еталонної води гербіцидних препаратів до отримання наступних концентрацій діючої речовини: 1, 10 та 100 ГДК. Умови утримання під час процедури біотестування контрольних і піддослідних груп тест-організмів не відрізнялися за фізико-хімічними параметрами за винятком відсутності або наявності гербіциду. Час експозиції елодеї в розчинах гербіцидів становив від 1 доби (для визначення гострої токсичності) до 7 (хронічна токсичність) діб. Досліди проводили в 3-5-кратній повторюваності.

Для визначення супероксиддисмутази активності використовували безклітинні екстракти рослини, для отримання яких частину стебла елодеї разом з листками після експозиції в модельному розчині тричі відмивали в розчині 0,9% NaCl та подрібнювали. Відміту від модельного розчину рослинну біомасу піддавали гомогенізації, ступінь якої контролювали мікроскопічно. Усі операції проводили при +4°C. Отриманий гомогенат центрифугували 10 хв. при 3000 об./хв. Осад відкидали, а супернатант використовували в якості безклітинного екстракту. Екстракти заморожували та зберігали у замороженому вигляді до використання – для визначення в них біохімічних показників.

Ферментативну активність ендогенної супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) визначали за методом Чеварі та ін. [11]. Метод базується на здатності СОД інгібувати відновлення нітросинього тетразоліо радикалами супероксиду на світлі у присутності рибофлавіну та метніну. Виміри проводили на двопробеному спектрофотометрі СФ-26. За одиницю активності ензиму приймали 50%-е пригнічення утворення формагану. Супероксиддисмутази активність виражали в умовних одиницях активності, віднесених до вмісту білку у реакційній суміші. Білок визначали за методом Лоурі [12]. Одержані дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft Excel.

Для дослідження впливу гербіцидів на ферментативну активність використовували наступні їх концентрації:

- для гліфосату: 0,02 мг/дм³ – 1 ГДК, 0,2 мг/дм³ – 10 ГДК, 2 мг/дм³ – 100 ГДК;
- для клетодиму: 0,002 мг/дм³ – 1 ГДК, 0,02 мг/дм³ – 10 ГДК, 0,2 мг/дм³ – 100 ГДК.

Виклад основного матеріалу. На рисунках 1-3 представлено результати впливу гліфосату на супероксиддисмутази активність елодеї канадської з врахуванням різного часу експозиції рослини з пестицидом.

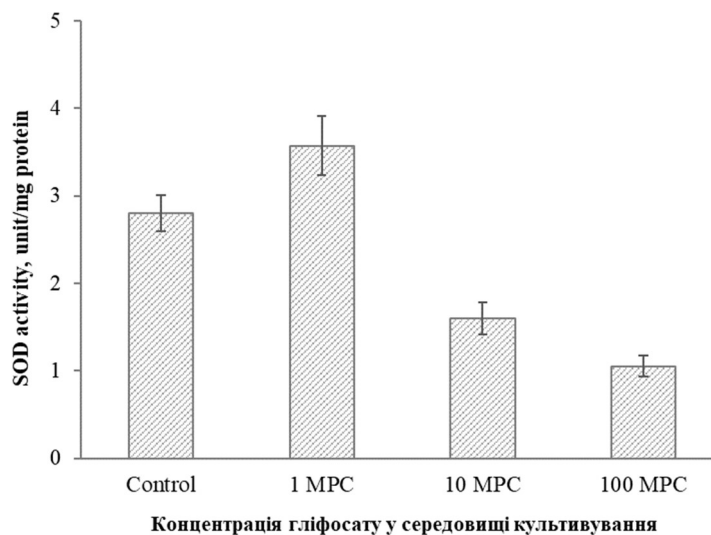


Рис. 1 – Залежність супероксиддисмутази активності *Elodea canadensis* Michx. від концентрації гліфосату у середовищі культивування. Тривалість експозиції - 1 доба

Як видно з представлених рисунків (рис. 1-3), вплив гліфосату на рівні 1 ГДК призводив до підвищення рівня супероксиддисмутазної активності на 27,5% у випадку контакту пестициду з рослиною протягом 1 доби. За більш тривалої експозиції рослини з пестицидом не спостерігалось статистично достовірних змін у ензиматичній активності в порівнянні з її контрольними значеннями (при вирощуванні елодеї в позбавленому пестицидів середовищі культивування).

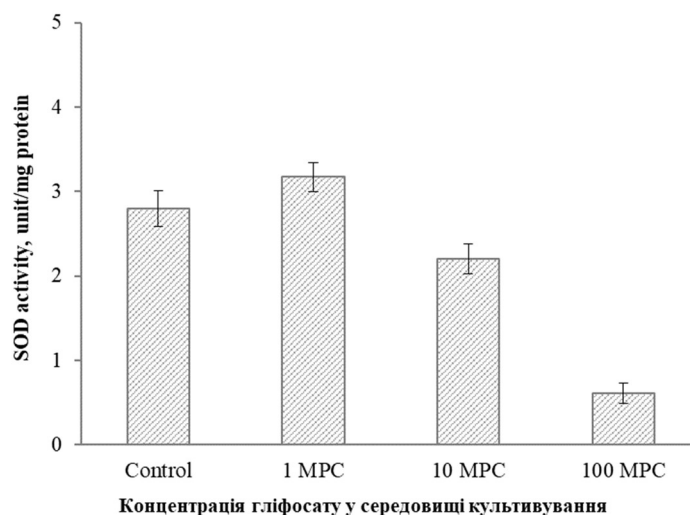


Рис. 2 – Залежність супероксиддисмутазної *Elodea canadensis* Michx. від концентрації гліфосату у середовищі культивування. Тривалість експозиції - 4 доби

При підвищенні концентрації гліфосату в середовищі культивування елодеї канадської до рівня 10-ти та 100 ГДК спостерігали зниження супероксиддисмутазної активності (рис. 1-3). Ступінь зниження залежав як від концентрації токсиканту, так і від тривалості контакту з ним рослини. Як правило, зміни ферментативної активності характеризувались негативною кореляційною залежністю від вищезазначених параметрів. Єдиним виключенням з даного правила стала реакція елодеї на 10-кратне перевищення ГДК гліфосату в середовищі культивування при 1-добовій експозиції, що може пояснюватись гострим стресовим впливом пестициду на рослину на початкових етапах контактної взаємодії при поступовій адаптації до даного виду токсиканту впродовж наступного періоду часу [10].

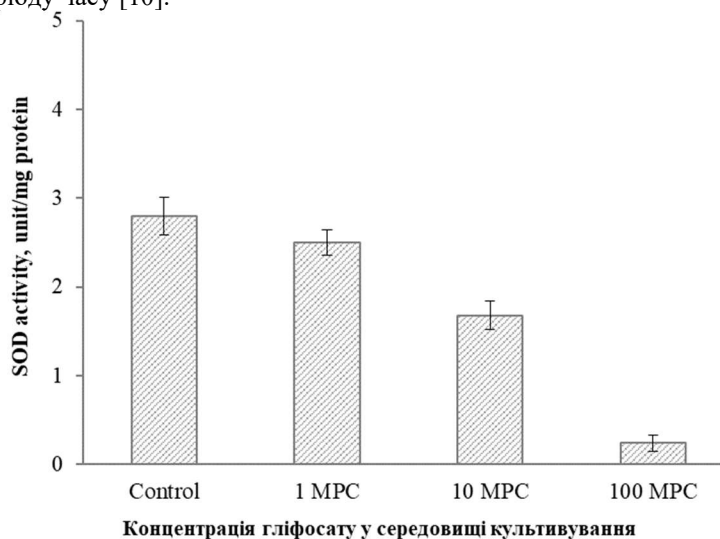


Рис. 3 – Залежність супероксиддисмутазної активності *Elodea canadensis* Michx. від концентрації гліфосату у середовищі культивування. Тривалість експозиції – 7 діб

Що стосується впливу клетодиму, то даний гербіцид продемонстрував своєрідний вплив на супероксиддисмутазну активність елодеї (рис. 4-6).

Впродовж першої та четвертої доби взаємодії з клетодимом, нами спостерігалася реакція, подібна до реакції елодеї канадської на гліфосат (рис. 1, 2, 4, 5). Відмінність полягала у вищих показниках супероксиддисмутазної активності при вирощуванні елодеї в присутності клетодиму в порівнянні з відповідними показниками, отриманими після контакту рослини з гліфосатом.

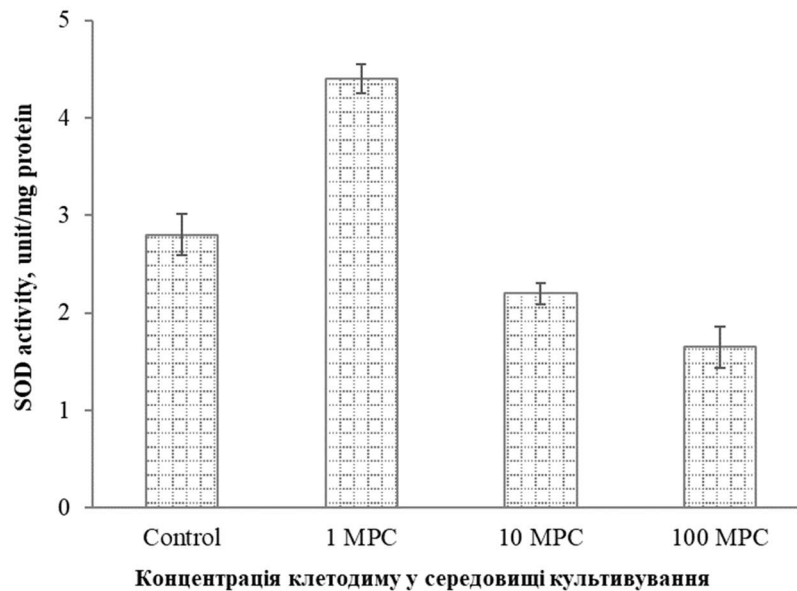


Рис. 4 – Залежність супероксиддисмутазної активності *Elodea canadensis* Michx. від концентрації клетодиму у середовищі культивування. Тривалість експозиції - 1 доба

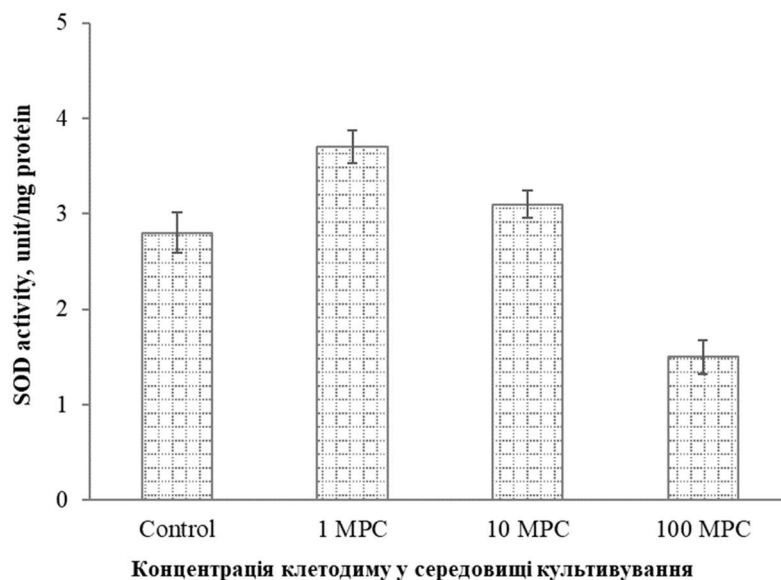


Рис. 5 – Залежність супероксиддисмутазної активності *Elodea canadensis* Michx. від концентрації клетодиму у середовищі культивування. Тривалість експозиції - 4 доби

При хронічному впливі (протягом 7 діб, рис. 6) клетодим продемонстрував суттєвий стимулюючий вплив на супероксиддисмутазну активність порівняно з контрольним значенням лише при концентрації 10 ГДК. Пояснення подібної нестандартної поведінки дослідженої системи може бути пов'язане зі швидким розкладанням даного пестициду у водному середовищі та одночасній адаптаційній реакції на хронічний стресовий вплив [10].

Таким чином, нами виявлена висока чутливість супероксиддисмутазної активності елодеї канадської до присутності у середовищі її культивування гербіцидів різного механізму дії, що робить можливим використання подібного тесту при визначенні забрудненості водних об'єктів пестицидами.

Вивчення динамічних змін ферментативної активності елодеї канадської дозволяє рекомендувати 1-добову тривалість періоду її експозиції з пестицидом. Ці дані корелюють з отриманими нами раніше результатами щодо реакції каталази на присутність в середовищі культивування пестицидів [9].

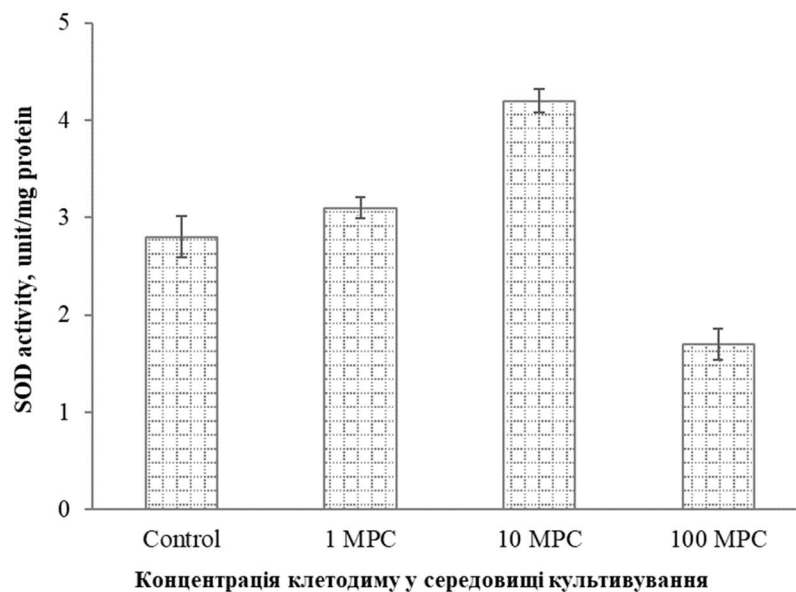


Рис. 6 – Залежність супероксиддисмутазної активності *Elodea canadensis* Michx. від концентрації клетодиму у середовищі культивування. Тривалість експозиції - 7 діб

Висновки. В роботі досліджено зміни динаміки супероксиддисмутазної активності елодеї канадської під впливом гербіцидних препаратів різного механізму дії – гліфосату та клетодиму. Діапазон досліджених концентрацій гербіцидів становив від 1 до 100 ГДК.

Встановлено, що найбільші виражені зміни у супероксиддисмутазній активності, що характеризувалися також лінійною залежністю, спостерігались впродовж першої доби контакту елодеї з обома дослідженими гербіцидами, що дозволяє рекомендувати даний термін експозиції для біотестування з використанням запропонованої системи біотест-біомаркер.

При хронічному впливі (протягом 7 діб, рис. 6) клетодим продемонстрував суттєвий стимулюючий вплив на супероксиддисмутазну активність порівняно з контрольним значенням лише при концентрації 10 ГДК. Пояснення подібної нестандартної поведінки дослідженої системи може бути пов'язане зі швидким розкладанням даного пестициду у водному середовищі та одночасній адаптаційній реакції на хронічний стресовий вплив [10].

Показана висока чутливість супероксиддисмутазної активності елодеї канадської до присутності у середовищі її культивування гербіцидів різного механізму дії, що робить можливим використання даного тесту при визначенні забрудненості водних об'єктів пестицидами.

Отже, до переваг розробленого методу біотестування можна віднести його експресність, доступність та чутливість. Відсутність специфічності при подібних дослідженнях в деяких випадках може розглядатися як недолік, але при проведенні скринінгу на широке коло забруднювачів, відсутність специфічності можна віднести до переваг.

Перспективи подальших досліджень. Для використання обраної системи біоіндикації в подальших моніторингових дослідженнях необхідно з'ясувати діапазон природної варіативності (мінливості) її параметрів внаслідок сезонних, кліматичних та географічних змін стану оточуючого середовища. Для цього

треба визначити параметри, що дозволять із заданим рівнем точності та достовірності оцінити зміни у супероксиддисмутазній активності, що були викликані впливом саме антропогенних факторів. На основі проведеного аналізу до найбільш перспективних показників, рівень мінливості яких має бути оцінений в подальших дослідженнях, були віднесені: температура, рівень рН, зміни сольового складу та жорсткості води, присутність у воді різної концентрації сполук нітрогену, сульфуру та іонів важких металів, а також вік організму, що використовується в якості біотеста.

Список використаної літератури

1. Relyea, R. A. The Impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities / Rick A. Relyea // *Ecological Applications*. – 2005 – 15(6). – P. 618-627.
2. Коваль В. В. Динаміка залишкових кількостей пестицидів у водах сільськогосподарського призначення в умовах Полтавщини / В. В. Коваль, В. О. Наталочка, С. К. Ткаченко, О. В. Міненко // *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. – 2011. – № 1. – С. 22-26.
3. Писаренко В. М. Агроекологія / В. М. Писаренко, П. В. Писаренко, В. В. Писаренко. – Полтава, 2008. – 255 с.
4. Біотестування як метод оцінки якості питних вод // *Вісник НАН України*. – 2006. – № 10. – С. 54-57.
5. Ляшенко О. А. Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды / О. А. Ляшенко. – СПб: ГТУРП, 2012. – 67 с.
6. Бубнов А. Г. Биотестовый анализ – интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды: учебно-методическое пособие / А. Г. Бубнов, С. А. Буймова, А. А. Гушин, Т. В. Извекова; под общей ред. В.И. Гриневича. – Иваново: ГОУ ВПО Иван. гос. хим.-технол. ун-т., 2007. – 112 с.
7. Vasylykiv O. Yu. Catalase activity as a potential vital biomarker of fish intoxication by the herbicide aminotriazole / Olga I. Kubrak, Kenneth B. Storey, Volodymyr I. Lushchak // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 101 (1). – P. 1-5.
8. Дітяшова І. Г., Вембер В. В. Каталазна активність як індикаторна ознака чутливості тест-рослин до дії гербіцидів // XVIII Міжнар. наук.-практич. конф. «Екологія. Людина. Суспільство» (Київ, 27-29 травня 2015 р.). – К.: НТУУ «КПІ», 2015. – С. 22-23.
9. Вембер В.В., Дітяшова І.Г. Вплив гербіцидних препаратів на каталазну активність *Elodea canadensis* Michx. // *Вісник Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут»*. Серія «Хімічна інженерія, екологія та ресурсозбереження». – 2016. – № 1 (15). – С. – 55-60.
10. Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology // *Environmental and Experimental Botany*. – 2015, V. 109. – P. 212-228.
11. Weydert Ch. J., Cullen J. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue // *Nat Protoc*. 2010; 5 (1): 51–66. Published online 2009 Dec 17. doi: 10.1038/nprot.2009.197
12. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr L. A., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1952. – V. 193. – P.265-275. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6).

Valeriia Vember, Oleksandra Shablii, Anastasiia Bassak, Denys Antonenko

USE OF SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY INDICATOR IN THE SYSTEM OF SURFACE WATER ECOLOGICAL MONITORING

*The usage of herbicides is increasingly spreading both in the world and in Ukraine. Constant monitoring of this type of the polluting substances is one of the areas for maintaining the ecological security. It is significant for diverse environmental objects, especially for the surface water sources. Contemporary herbicides have a wide range of various mechanisms of action. In this regard, applied methods have to ensure the high level of sensitivity and reasonable specificity for measuring the excessive concentrations of herbicides in the environment. Besides, it is considerable to choose appropriate test organisms. They have to satisfy the list of requirements, while the most important one is that it would be a hydrophyte that has full contact with water. Therefore, the *Elodea canadensis* Michx. has been chosen by us as a test object. This species is a cosmopolitan and is widely used for the bioassay procedure.*

The system of biochemical transformations is one of the most sensitive links for the maintenance of the cell homeostasis. Typically, enzymes react to the stress-induced variation in environmental situation by modification of their activity. Consequently, this fact is used for the stress assessment of the organism. We have offered to measure the enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD) as the most remarkable system biomarker on the toxic impact of the herbicides. The main function of SOD is the prevention of the growing oxidative stress in the cell. Thus, it can serve as an integral index that acts on the influence of varied chemical substances.

For this reason, the aim of the research paper is to indicate the specific changes in the SOD activity of the *Elodea canadensis* cells in conducting the bioassay of the herbicides of varied groups.

The aim was achieved through the investigation of the dynamical changes in the SOD activity of *Elodea canadensis*. The water plant had contact with varied groups of the herbicides in different concentrations.

As a result, we have discovered the high sensitivity of the SOD activity of *Elodea canadensis* while being immersed into water with different herbicides. Hence, this test can be recommended for use to determine the contamination of water with pesticides.

We recommend using a one-day experiment for the most representative results to explore the dynamical changes in the enzyme activity of elodea in herbicide solution.

The elaborated bioassay method has the following advantages: quickness, accessibility and sensitivity. The absence of the specificity in similar studies can refer to disadvantages. Howsoever, it can also refer to advantages if the screening is conducted for a wide range of contaminations.

Keywords: environmental monitoring, superoxide dismutase activity, bioassay, pesticides

References

1. Relyea, R. A. (2005). «The Impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities». *Ecological Applications*. 15(6), 618-627.
2. Koval, V. V., Natalochka, V. O., Tkachenko, S. K., Minenko, O. V. (2011). «Dynamika zalyshkovykh kilkostei pestytsydiv u vodakh silskohospodarskoho pryznachennia v umovakh Poltavshchyny» [Dynamics of pesticide residues in agricultural waters in Poltava region]. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii*. 1. 22-26.
3. Pysarenko, V. M., Pysarenko, P. V., Pysarenko, V. V. (2008). «*Ahroekolohiia*», Poltava. 255.
4. «Biotestuvannja jak metod ocinky jakosti pytnykh vod» (2006). [Biotesting as a method of assessing drinking water quality]. *Visnyk NAN Ukrainy*. 10. 54-57.
5. Liashenko, O. A. (2012). «Byoindykatsiya y byotestyrovanye v okhrane okruzhaiushchei sredy». [Bioindication and biotesting in environmental protection]. SPb: HTURP, 67.
6. Bubnov, A. H., Buimova, S. A., Hushchyn, A. A., Yzvekova, T. V. (2007). «Byotestovnyi analiz – yntehrалnyi metod otsenky kachestva ob'ektov okruzhaiushchei sredy: uchebno-metodycheskoe posobyе», Yvanovo: HOU VPO Yvan. hos. khym.-tekhnoł. un-t. 112.
7. Vasylykiv, O. Yu. «Catalase activity as a potential vital biomarker of fish intoxication by the herbicide aminotriazole». Olga I. Kubrak, Kenneth B. Storey, Volodymyr I. Lushchak. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 101 (1). 1-5.
8. Vember, V. V., Ditiashova, I. H. (2015). «Katalazna aktyvnist yak indykatorna oznaka chutlyvosti test-roslyn do dii herbitysydiv». [Catalase activity as an indicator of the sensitivity of test plants to the herbicides action]. *Handbook of the XVIII International Science Conference «Ecology. Human. Society»* (27-29 May, 2015, Kyiv, Ukraine). 22-23.
9. Vember, V. V., Ditiashova, I. H. (2016). «Vplyv herbitysydiv na katalaznu aktyvnist *Elodea canadensis* Michx.» [Influence of herbicides on catalase activity of *Elodea canadensis* Michx.]. *Bulletin of National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»*, Series «Chemical engineering, ecology and resource saving». 1 (15). 55-60.
10. Demidchik, V. (2015). «Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology». *Environmental and Experimental Botany*. 109. 212-228.
11. Weydert, Ch. J., Cullen, J. J. (2009/2010). «Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue». *Nat Protoc*. 2010; 5 (1): 51–66. Published online 2009 Dec 17. doi: 10.1038/nprot.2009.197
12. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, L. A., Randall, R. J. (1952). «Protein measurement with the Folin phenol reagent». *The Journal of Biological Chemistry*. 193. 265-275. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6).