

ЕКОЛОГІЯ ТА РЕСУРСОЗБЕРЕЖЕННЯ

УДК 504.064:504.4.062.2

ВЕМБЕР В. В.^{1*}, ГЛУШКО О. В.¹, ЛАВРИНЕНКО О. М.², ІСНЮК С. Ю.¹

¹Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

²Інститут проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України

ВИКОРИСТАННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ В ПРОЦЕСІ ЕКОЛОГІЧНОГО МОНІТОРИНГУ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД

Робота присвячена пошуку перспективних тест-систем для проведення екологічного моніторингу поверхневих вод шляхом порівняння ефективності виявлення низьких концентрацій пестицидів різного типу у водному середовищі традиційними морфологічними та біохімічними методами дослідження.

В якості тест-об'єктів використовували Allium sera L. (цибулю городню) та рослину-гідаофіт Elodea canadensis Michx. (елодою канадську), оскільки вона протягом усього життєвого циклу занурена у водне середовище та найбільш повно контактує з усіма присутніми у воді токсикантами.

Досліджено можливість використання каталазної активності в якості чутливого біотеста на присутність у водному середовищі низьких концентрацій гербіцидних препаратів з різним механізмом дії.

Проведено кореляційний аналіз та розраховано коефіцієнти Пірсона для кількісної оцінки залежності між концентрацією присутніх у воді гербіцидів та ступенем прояву тест-реакцій об'єктами дослідження.

Найвищий рівень кореляції між зростанням концентрації у воді гербіцидів та тест-реакціями елодеї продемонстрували біохімічні показники, причому більш висока значущість кореляції спостерігалась при 4-добовій експозиції рослин в присутності гербіциду.

Ключові слова: екологічний моніторинг, поверхневі води, біотестування, гербіциди, біохімічні показники, елодея

DOI: 10.20535/2617-9741.4.2023.294327

* Corresponding author: vvember@gmail.com

Received 24 October 2023; Accepted 30 November 2023

Моніторинг поверхневих вод є критично важливим для забезпечення екологічної стабільності водних ресурсів та оцінки загроз забруднення водних систем. Значення цього процесу полягає у вчасному виявленні джерел забруднення та відслідковуванні змін у якості водних ресурсів, що дозволяє вживати заходів для їх збереження та відновлення.

Актуальність впровадження моніторингу поверхневих вод виходить за межі простого визначення якості води. Це стає необхідним для забезпечення здоров'я громадськості, збереження біорізноманіття та підтримки екосистем. Крім того, в умовах зростаючого антропогенного впливу на навколишнє середовище, моніторинг стає невід'ємною складовою екологічної політики для забезпечення сталого використання водних ресурсів [1].

Визначення інтегрального рівня токсичності води за допомогою біоіндикації та біотестування на сьогодні визнається ефективним методом. Біоіндикація використовує живі організми для виявлення погіршення якості навколишнього середовища. Різноманітні види рослин та тварин реагують на забруднення, виявляючи зміни у своїй поведінці, ростових процесах, морфо-фізіологічних показниках, рівні смертності та ін. [2–4].

Біотестування полягає у використанні організмів або їх частин для оцінки впливу забруднюючих речовин на водні ресурси. Цей метод дає можливість швидко та точно визначати рівень токсичності водних середовищ та виявляти небезпеку для живих організмів.

Важливість використання цих методів полягає у їхній спроможності показати не лише наявність забруднюючих речовин, але й оцінити їхній вплив на екосистеми в цілому. Здійснюючи оцінку ступеня токсичності води, біоіндикація та біотестування надають додаткову інформацію про можливі наслідки для біорізноманіття, визначаючи потенційні ризики для всіх складових екосистеми водойми [5].

Основними перевагами методу біомоніторингу в порівнянні з традиційними інструментальними методами є його здатність реагувати на інтегральний рівень забруднення середовища та виявляти саме біодоступну частину ксенобіотиків в навколишньому середовищі, допомагати виявляти джерела забруднення та контролювати їхній вплив на воду. Застосування біохімічних показників може значно полегшити розуміння стану довкілля, оцінки рівня забруднення та ідентифікації джерел забруднення поверхневих вод, а також допомогти оцінити наслідки забруднення для водних організмів та здоров'я людей [6].

Метою даного дослідження стало порівняння ефективності виявлення низьких концентрацій пестицидів різного типу у водному середовищі традиційними та біохімічними методами дослідження.

Об'єкти та методи дослідження.

У роботі було використано гербіциди, що мають різний механізм 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 переміщується по флоємі 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 водойм – 0,002 мг/дм³.

В процесі тестування підслідні рослини елодеї утримувалися в розчинах, виготовлених шляхом додавання до еталонної води гербіцидних препаратів. Умови утримання під час процедури біотестування контрольних і підслідних груп тест-організмів не відрізнялися за фізико-хімічними параметрами за винятком відсутності або наявності гербіциду. Час експозиції елодеї в розчинах гербіцидів становив від 1-єї доби (для визначення гострої токсичності) до 7-ми (хронічна токсичність) діб. Досліди проводили в 3–5-кратній повторюваності.

В роботі використовували концентрації гербіцидів, що відповідали 0,5–2,5 ГДК, які склали:

- для гліфосату: 0,01 мг/дм³ – 0,5 ГДК, 0,02 мг/дм³ – 1 ГДК, 0,03 мг/дм³ – 1,5 ГДК, 0,04 мг/дм³ – 2 ГДК, 0,05 мг/дм³ – 2,5 ГДК;
- для клетодиму: 0,001 мг/дм³ – 0,5 ГДК, 0,002 мг/дм³ – 1 ГДК, 0,003 мг/дм³ – 1,5 ГДК, 0,004 мг/дм³ – 2 ГДК, 0,005 мг/дм³ – 2,5 ГДК.

В якості тест-об'єктів були обрані рослини, оскільки саме рослини є мішенню для впливу гербіцидних препаратів.

Allium cepa L. (цибуля городня) дозволяє досить швидко та ефективно оцінити негативні впливи на живі організми. Тестування на цибулі є широко використовуваним методом в екотоксикології та дослідженнях токсичності хімічних речовин, оскільки дозволяє визначити гостру та хронічну токсичність для широкого кола токсикантів: важких металів, пестицидів, гербіцидів та інших сполук. Основними тест-реакціями цибулі, за допомогою яких рослина реагує на несприятливі впливи, є руйнування клітинної мембрани, зміна форми та кольору клітин, а також порушення метаболічних та ростових процесів [7].

Elodea canadensis Michx. (елодія канадська) відноситься до видів-гідратофітів, контакт яких з водним середовищем та розчиненими в ньому речовинами є більш повним, ніж у наземних рослин. Елодея є видом-космополітом, ареал її існування охоплює значні території, що є важливим фактором при виборі цього організму в якості біоіндикатора [8, 9].

Елодея канадська визначається як популярний тест-організм у вивченні екотоксикології та інших біологічних аспектів. Серед переваг цього виду можна зазначити наступні:

- широкий ареал поширення, оскільки існує він у водоймах по всьому світу, що робить його доступним для наукових досліджень у різних регіонах;
- швидкий ріст, що дозволяє виміряти токсичність речовин за короткий період;
- простота в використанні, так як цей організм досить простий у догляді та не вимагає складних умов вирощування та може існувати в умовах акваріуму;

- має високу чутливість до забруднень, тому її можна використовувати для виявлення широкого спектра забрудників та токсикантів;

- реагує на забруднення швидше за інші рослини, оскільки повністю занурена у воду на відміну від рослин, що контактують з водою лише через кореневі системи [10].

Для визначення каталазної активності використовували безклітинні екстракти елодеї канадської.

Ферментативну активність ендогенної каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за зниженням екстинкції розчину, що містив H_2O_2 у якості субстрату, при додаванні до нього безклітинного екстракту за 1 хв при температурі 25 ± 2 °C та довжині хвилі 240 нм [11, 12]. Виміри проводили на спектрофотометрі СФ-26. Каталазну активність виражали у мкмольх H_2O_2 перетворених за 1 хв та віднесених до вмісту білка у реакційній суміші. Білок визначали за методом Лоурі [13].

Зміни у клітинній проникності для тканин елодеї визначали спектрофотометричним методом за наявності в середовищі інкубації азотистих сполук, амінокислот та нуклеотидвмісних продуктів при довжині хвилі 260 нм.

Одержані дані обробляли статистично за допомогою пакету Microsoft Excel.

Коефіцієнт кореляції розраховували за формулою

$$\text{Correl}(X, Y) = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}}$$

Експериментальна частина. На першому етапі досліджень нами було визначено вплив обраних пестицидів на ростові параметри кореневої системи цибулі ріпчастої. Даний тест є традиційним при тестуванні води на токсичність. Як можна побачити (рис. 1), довжина корінців цибулі знаходиться в лінійній залежності від концентрації гліфосату в діапазоні від 1,0 до 2,5 ГДК, що дозволяє виявляти даний гербіцид в поверхневих водах у мінімальних концентраціях. Єдиним недоліком даного підходу є тривалий час, необхідний для пророщування цибулі (7 діб), а також висока трудомісткість реєстрації експериментальних даних, яка не може бути автоматизована.

Що стосується впливу клетодиму на даний показник (рис. 1), то мінімальна концентрація, яка призводить до статистично значимих змін в довжині корінців цибулі (порівняно з контролем) – 2,5 ГДК.

Особливо непоказовим щодо виявлення взаємозв'язку між дозою токсиканта та тест-реакцією виявився тест на біомасу корінців (рис. 2). Більше того, впродовж експерименту спостерігалось явище одночасного зменшення довжини корінців та збільшення їхньої маси. Це явище потребує подальшого дослідження та може бути пояснене збільшенням щільності меристематичних тканин коренів цибулі. Подібна реакція рослин на присутність в середовищі вирощування токсиканта може бути необхідною для потенційного захисту клітин, які знаходяться в стані активного поділу.

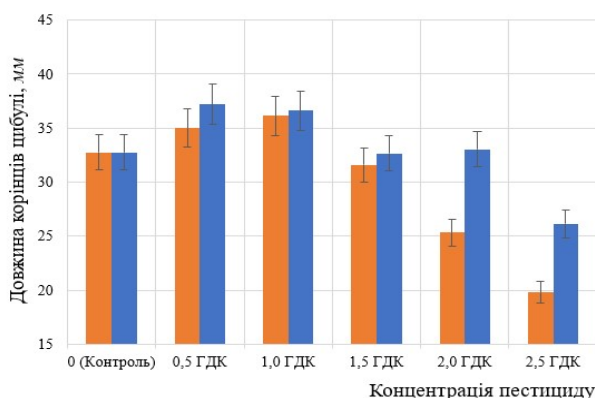


Рис. 1 – Залежність довжини корінців цибулі від концентрації у воді гліфосату (■) та клетодиму (■)

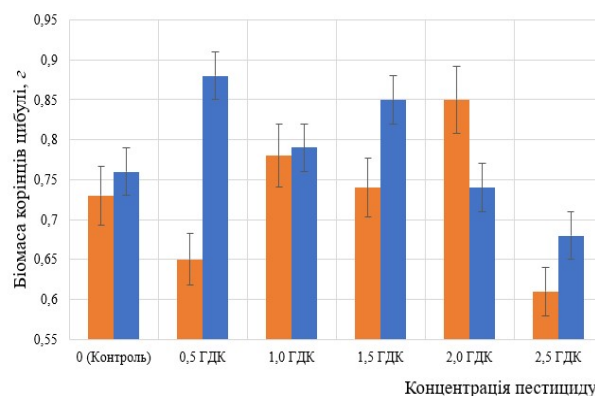


Рис. 2 – Залежність біомаси корінців цибулі від концентрації у воді гліфосату (■) та клетодиму (■)

Таким чином, традиційно використовувані тест-реакції рослин не завжди можуть відображати потенційно небезпечне перевищення ГДК токсикантів у водному середовищі. Тому наступним кроком нашої

роботи стало дослідження можливості використання для екологічного моніторингу поверхневих вод біохімічних показників, які вважають найбільш чутливими індикаторами токсичного впливу на організм.

Однією з найбільш реактивних систем організму є система антиокислювальних ферментів, яка чутливо реагує на будь-які стресові впливи [14]. Серед численних ланок, що входять до її складу, найбільш активним ферментом є каталаза, яка дозволяє розкласти перекис водню, що утворюється в клітинах в аеробних умовах. Тому подальші дослідження були проведені на повністю зануреній у водне середовище рослині – елодеї канадській. В якості тест-реакції використовували зміни каталазної активності елодеї, яка знаходилась у водному розчині пестицидів впродовж 1–4 діб (рис. 3, 4).

Перевагою даного методу біотестування в порівнянні з реєстрацією морфологічних показників рослин, є наявність швидкої відповіді на присутність токсиканта в середовищі. Проте статистично значимі зміни каталазної активності елодеї канадської в присутності гліфосату (рис. 3) реєструвались лише на рівні 2,5 ГДК. Зниження активності ферменту при даній концентрації становило майже 20 %.

Що стосується клетодиму, то статистично значиме зниження ферментативної активності в його присутності (рис. 3) реєструвались вже на рівні 1,5 ГДК та коливалось на рівні 10–14 % по відношенню до контролю.

При підвищенні тривалості контакту рослин з пестицидами в їхніх організмах відбуваються численні морфологічні та біохімічні перебудови, які сприяють адаптації клітин до токсиканту. Тому важливим є визначення токсичності як в гострому, так і в хронічному експериментах.

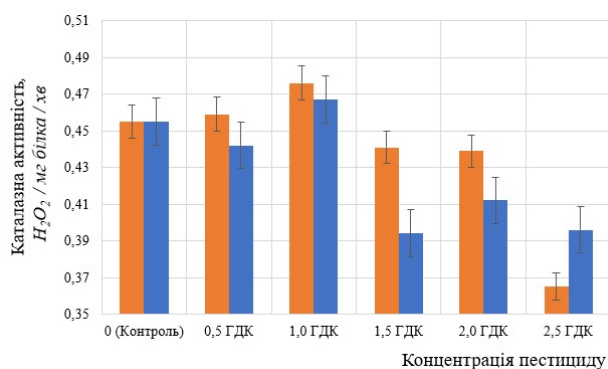


Рис. 3 – Залежність каталазної активності елодеї канадської від концентрації у воді гліфосату (■) та клетодиму (■). Тривалість контакту з пестицидами – 1 доба

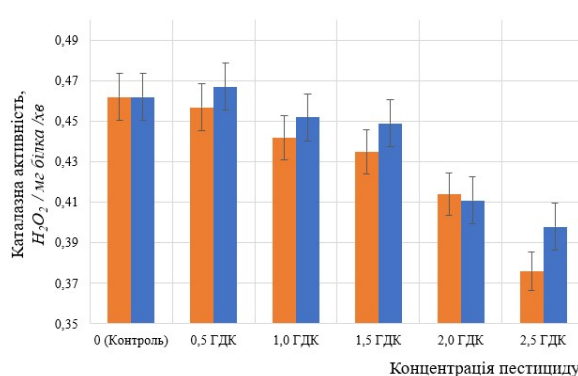


Рис. 4 – Залежність каталазної активності елодеї канадської від концентрації у воді гліфосату (■) та клетодиму (■). Тривалість контакту з пестицидами – 4 доби

Можна констатувати, що у вивченому діапазоні концентрацій пестицидів, саме 4-денна експозиція призвела до отримання більш лінійного відгуку тест-системи на концентрацію пестицидів. Особливо помітно це на прикладі гліфосату: нами зареєстроване поступове зниження каталазної активності при збільшенні концентрації даного гербіциду в середовищі вирощування: до 19 % в порівнянні з контрольним значенням (рис. 4).

Зниження активності каталази в присутності клетодиму статистично достовірно відбулося на рівні 2 ГДК та склало біля 14 %.

Гомеостаз внутрішнього середовища організму є обов'язковою умовою його виживання та адаптації до несприятливих факторів середовища. Ключову роль у цьому відіграє мембранний апарат клітини, який забезпечує реалізацію вибіркової проникності для різноманітних сполук. Цитоплазматична мембрана виступає не лише як бар'єр, але здатна забезпечувати активний транспорт поживних речовин у клітину та видалення продуктів метаболізму в навколишнє середовище. Зміни в проникності мембранних структур можуть бути викликані модифікацією будь-якого з її компонентів: ліпідів, полісахаридів та білків під впливом різноманітних факторів довкілля. Дефекти, що виникають в будь-якому з мембранних компонентів, призводять до збільшення її проникності, особливо для низькомолекулярних сполук (азотистих основ, амінокислот та ін.). Тому про ступінь ураження організму різноманітними токсикантами можна судити по збільшенню рівня його клітинної проникності.

Як показано на рис. 5, рівень клітинної проникності тканин елодеї канадської не перевищував норму при концентрації обох досліджених гербіцидів на рівні 0,5–1 ГДК. При подальшому збільшенні концентрації гербіцидів спостерігалось лінійне зростання клітинної проникності, більш виражене при експозиції рослин з гліфосатом. Так, при концентрації гліфосату на рівні 2,5 ГДК клітинна проникність зростала на 32 % в порівнянні з контрольним значенням.

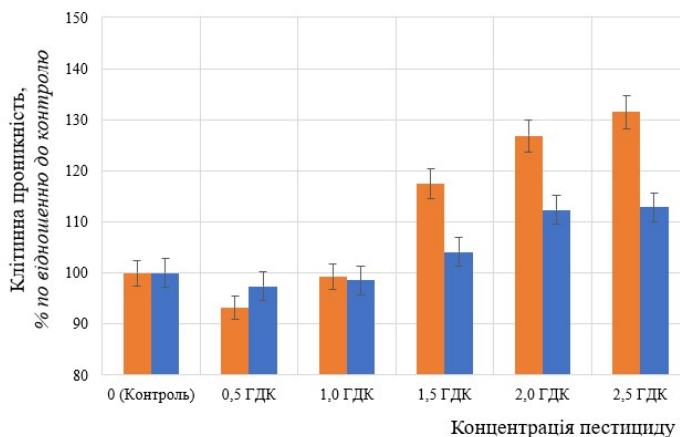


Рис. 5 – Залежність клітинної проникності елодеї канадської від концентрації у воді гліфосату (■) та клетодиму (■)

Для відбору найбільш перспективних методів щодо виявлення низьких концентрацій пестицидів різного типу у водному середовищі зручно скористатися методом кореляційного аналізу та знайти залежність між концентрацією присутніх у воді гербіцидів та ступенем прояву тест-реакцій об'єктами дослідження.

Результати визначення кореляційних залежностей наведені у таблиці 1.

Таблиця 1 – Значення коефіцієнту Пірсона для визначених показників

№	Показник	Коефіцієнт Пірсона		Значущість кореляції	
		в присутності гліфосату	в присутності клетодиму	в присутності гліфосату	в присутності клетодиму
1	Довжина корінців <i>Allium cepa</i> L.	-0,834	-0,671	висока	висока
2	Біомаса корінців <i>Allium cepa</i> L.	-0,025	-0,554	відсутня	висока
3	Каталазна активність <i>Elodea canadensis</i> Michx. (1-добова експозиція)	-0,752	-0,784	висока	висока
4	Каталазна активність <i>Elodea canadensis</i> Michx. (4-добова експозиція)	-0,948	-0,923	висока	висока
5	Клітинна проникність елодеї <i>Elodea canadensis</i> Michx.	0,922	0,891	висока	висока

Як видно з представленої таблиці, найвищий рівень кореляції між зростанням концентрації у воді гербіцидів та тест-реакціями елодеї продемонстрували саме біохімічні показники, причому більш висока значущість кореляції спостерігалась при 4-добовій експозиції рослин в присутності гербіциду.

Тому в подальшому доцільно зосередитись на пошуку біохімічних показників, які зможуть забезпечити більш швидкий відгук на присутність у воді пестицидів.

Отже, при порівняння ефективності виявлення низьких концентрацій пестицидів різного типу у водному середовищі морфологічними та біохімічними методами дослідження слід віддати перевагу біохімічним тест-реакціям елодеї канадської.

Список використаної літератури

1. Лотоцька О. В., Бищора Л. О. Моніторинг поверхневих водних ресурсів в Україні та його законодавча основа. Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2021. № 2(88). С. 79–84.
2. Крайнюкова А. Н. Система інтегральної токсикологічної оцінки природних і стічних вод. Східно-європейський журнал передових технологій. 2009. №1(37). С. 30–34.
3. Багдай Т. В., Панас Н. С., Антоняк Г. Л., Бубис О. Є. Біомоніторинг екологічного стану природних водойм. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. 2016. Т. 18, №1 (3). С. 190-194.
4. Zhou Q., Zhang J., Fu J., Shi J., Jiang G. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. Anal. Chim. Acta. 2008. № 606. P. 135-150.
5. Дідух Я. П. Основи біоіндикації : монографія. Київ : Наук. думка НАН України, 2012. 344 с.
6. Вембер В. В., Шаблій О. В., Бассак А. О., Антоненко Д. І. Використання показника супероксиддисмутазної активності в системі екологічного моніторингу поверхневих вод // Вісник Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», Серія «Хімічна інженерія, екологія та ресурсозбереження». 2022. № 1 (21). С. 80-87. DOI:10.20535/2617-9741.1.2022.254162
7. Верголяс М. Р., Луценко Т. В., Гончарук В. В. Цитотоксичний вплив хлорфенолів на клітини кореневої меристеми насіння цибулі батуну (*Allium fistulosum* L.) // Цитология и генетика. – 2013. – Т.6, № 1. – С. 44-49.
8. 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.
9. Мазепа А. М., Золотарьова Л. В. Біоіндикація та біотестування в оцінці якості водного середовища. Вісник Донецького національного університету. Серія: геологія, географія. 2014. № 2. С. 63–68.
10. Іванова О. О., Ткачук О. М., Яценко В. М. Використання елодеї в якості тест-організації при визначенні токсичності водних середовищ. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. 2014. № 16(4). С. 117–120.
11. Vasylykiv Olena Yu., Kubrak Olga I., Storey Kenneth B., Lushchak Volodymyr I. Catalase activity as a potential vital biomarker of fish intoxication by the herbicide aminotriazole / Olena Yu. Vasylykiv, Olga I. Kubrak, Kenneth B. Storey, Volodymyr I. Lushchak // Pesticide Biochemistry and Physiology. – 101 (1). – P. 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.05.005>
12. Ali A. Farman, Mahmoud Hussein Hadwan. Simple kinetic method for assessing catalase activity in biological samples, MethodsX, Volume 8, 2021, 101434, ISSN 2215-0161, <https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101434>.
13. 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)
14. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>

Valeriia Vember, Olena Hlushko, Olena Lavrynenko, Sofiia Isniuk

BIOCHEMICAL INDICATORS USED IN ECOLOGICAL MONITORING OF SURFACE WATERS

The work is devoted to the search for promising test systems for ecological monitoring of surface waters by comparing the effectiveness of detecting low concentrations of various types of pesticides in the aquatic environment by traditional morphological and biochemical research methods.

Allium cepa L. and the hydatophyte plant Elodea canadensis Michx. were used as test objects because it is immersed in the aquatic environment during its entire life cycle and is in the most complete contact with all the toxicants present in the water.

It was found that the traditionally used test reactions of plants cannot always reflect a potentially dangerous exceedance of the MPC of toxicants in the aquatic environment.

The possibility of using catalase activity as a sensitive bioassay for the presence of low concentrations of herbicides with different mechanisms of action in the water environment was investigated.

Correlation analysis has been conducted, and Pearson's coefficients have been calculated to quantify the relationship between the concentration of herbicides present in water and the degree of manifestation of test reactions by the research objects.

The highest level of correlation between the increase in the concentration of herbicides in water and the test reactions of elodea was demonstrated by biochemical indicators, and the higher significance of the correlation was observed at 4-day exposure of plants in the presence of the herbicide.

Keywords: environmental monitoring, surface waters, biotesting, herbicides, biochemical indicators, elodea

References

1. Lototska, O. V., Bytsiura, L. O. (2021). Monitoryng poverkhnevyykh vodnykh resursiv v Ukraini ta yoho zakonodavcha osnova. [Monitoring of surface water resources in Ukraine and its legislative basis]. *Visnyk sotsialnoi hihieny ta orhanizatsii okhorony zdorovia Ukrainy*. No. 2 (88). P. 79–84. (Ukr.)
2. Krainiukova, A. N. (2009). Systema intehranoi toksykolohichnoi otsinky pryrodnykh i stichnykh vod. [System of integrated toxicological assessment of natural and wastewater]. *Skhidno-yevropeyskyi zhurnal peredovykh tekhnolohii*. No. 1 (37). P. 30–34. (Ukr.)
3. Bahdai, T. V., Panas, N. Ye., Antoniak, H. L., Bubys, O. Ye. (2016). Biomonitoryng ekolohichnoho stanu pryrodnykh vodoim. [Biomonitoring of the ecological state of natural water bodies]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. Hzhyskoho*. Vol. 18, No. 1 (3). P. 190–194. (Ukr.)
4. Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G. (2008). Biomonitoryng: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal. Chim. Acta*. No. 606. P. 135–150.
5. Didukh, Ya. P. (2012). Osnovy bioindykatsii : monohrafiia. [Basics of bioindication : monograph]. Kyiv : Nauk. dumka NAN Ukrainy. 344 p. (Ukr.)
6. Vember, V. V., Shablii, O. V., Bassak, A. O., Antonenko, D. I. (2022). Vykorystannia pokaznyka superoksyddysmutaznoi aktyvnosti v systemi ekolohichnoho monitoryngu poverkhnevyykh vod. [Use of superoxide dismutase activity indicator in the ecological monitoring system of surface waters]. *Visnyk Natsionalnoho tekhnichnoho universytetu Ukrainy «Kyivskyi politekhnichnyi instytut imeni Ihoria Sikorskoho», Serii «Khimichna inzheneriia, ekolohiia ta resursozberezhennia»*. No. 1 (21). P. 80–87. <https://doi.org/10.20535/2617-9741.1.2022.254162> (Ukr.)
7. Verholias, M. R., Lutsenko, T. V., Honcharuk, V. V. (2013). Tsytotoksychnyi vplyv khlorfenoliv na klityny korenevoi merystemy nasinnia tsybuli batuna (*Allium fistulosum* L.). [Cytotoxic effect of chlorophenols on root meristem cells of Batun onion seeds (*Allium fistulosum* L.)]. *Tsytolohiia y henetyka*. Vol. 6, No. 1. P. 44–49. (Ukr.)
8. Vember, V. V., Ditiashova, I. H. (2016). Vplyv herbicydnykh preparativ na katalaznu aktyvnist *Elodea canadensis* Michx. [Effect of herbicides on catalase activity of *Elodea canadensis* Michx.]. *Visnyk Natsionalnoho tekhnichnoho universytetu Ukrainy «Kyivskyi politekhnichnyi instytut»*. Serii «Khimichna inzheneriia, ekolohiia ta resursozberezhennia». No. 1 (15). P. 55–60. (Ukr.)
9. Mazepa, A. M., Zolotarova, L. V. (2014). Bioindykatsiia ta biotestuvannia v otsyntsi yakosti vodnoho seredovyscha. [Bioindication and biotesting in the assessment of the quality of the aquatic environment]. *Visnyk Donetskoho natsionalnoho universytetu. Serii: heolohiia, heohrafiia*. No. 2. P. 63–68. (Ukr.)
10. Ivanova, O. O., Tkachuk, O. M., Yatsenko, V. M. (2014). Vykorystannia elodei v yakosti test-orhanizatsii pry vyznachenni toksychnosti vodnykh seredovysch. [The use of elodea as a test organism in determining the toxicity of aquatic environments]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhyskoho*. No. 16 (4). P. 117–120. (Ukr.)
11. Vasylykiv, Olena Yu., Kubrak, Olga I., Storey, Kenneth B., Lushchak, Volodymyr I. (2011). Catalase activity as a potential vital biomarker of fish intoxication by the herbicide aminotriazole. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 101 (1). P. 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.05.005>
12. Ali, A. Farman, Mahmoud, Hussein Hadwan. (2021). Simple kinetic method for assessing catalase activity in biological samples. *MethodsX*. Vol. 8, 101434. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101434>.
13. 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*. Vol. 193. P. 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
14. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>