

УДК 504.4:574.58:581.6

DOI <https://doi.org/10.32782/wba.2024.1.11>

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ РОСЛИН *CERATOPHYLLUM DEMERSUM* ЗА ДІЇ ТРОТИЛУ В МОДЕЛЬНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

Хромих Н.О. – к. б. н., с. н. с.,
Шарамок Т.С. – к. б. н., доцент,
Єсінова Н.Б. – к. б. н., доцент,

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
Khromykh2012@gmail.com

Тривалі масштабні воєнні дії на території України призводять до руйнації і деградації водних екосистем, які часто є кінцевими поглиначами різноманітних забруднювачів, у тому числі вибухових речовин. Необхідність відновлення водних екосистем диктує пошук ефективних та екологічно безпечних способів елімінації вибухових речовин, зокрема тротилу. Заселення макрофітів, здатних до детоксикації тротилу, може стати шляхом до відновлення забруднених водойм через процеси біологічного очищення. У даній роботі за характером змін фотосинтетичного апарату та активності глутатіон-S-трансферази (GST) оцінено адаптивний потенціал поширеної рослини куширу зануреного (*Ceratophyllum demersum* L.) до впливу тротилу в концентраціях 25 мг/л і 50 мг/л у модельних умовах забруднення водойми.

Встановлено дозозалежні зміни вмісту хлорофілу a, хлорофілу b, їх сумарного вмісту, а також співвідношення пігментів у рослин *C. demersum* за дії тротилу. Активація процесів біосинтезу стосувалась обох фотосинтетичних пігментів, однак більшою мірою хлорофілу b. Сумарний вміст хлорофілів за дії низької і високої концентрацій тротилу мав два максимуми: на четверту (відповідно, 13 % і 33 % вище контролю) та на 72-у (46 % і 31 % вище контролю) години експерименту. За дії обох концентрацій тротилу рослини *C. demersum* виявили здатність до гнучкої регуляції вмісту і співвідношення пігментів, що вказує на можливість адаптації фотосинтетичного апарату рослин до впливу токсиканта.

Зміни активності глутатіон-S-трансферази у рослин *C. demersum* за дії тротилу були дозозалежними, а їх динаміка мала два максимуми: на другу годину (5 % і 47 % вище контролю, відповідно за низької і високої концентрацій) та на 24-у годину (17 % вище контролю) за високої і на 72-у годину (26 % вище контролю) за низької концентрації тротилу. Активація GST за впливу тротилу, що супроводжувалась зростанням вмісту нітритів у водному середовищі, розцінена як ймовірна участь ферменту в детоксикації тротилу шляхом його кон'югації з глутатіоном. Загалом отримані дані вказують на ефективну регуляцію і захист фотосинтетичного процесу та активацію ферментативної детоксикації тротилу у рослинах *C. demersum*, що свідчить про їх потенційну придатність до очищення і відновлення водних екосистем, забруднених вибуховими речовинами.

Ключові слова: кушир занурений, тротил (2,4,6-тринітротолуол), забруднення водних екосистем, детоксикація, біологічне очищення.

Постановка проблеми. Одним із чисельних негативних екологічних наслідків масштабних воєнних дій, що тривають на території України, є забруднення водного середовища вибуховими речовинами та продуктами їх перетворення. Використовуваний у більшості порохових сумішей тротил (2,4,6-тринітротолуол) та його похідні 2,4-динітротолуол, 2,6-динітротолуол й інші потрапляють у повітря, ґрунт, поверхневі та підземні води. Розчиняючись у воді, вказані нітроароматичні сполуки створюють токсичне середовище для гідробіонтів, тому важливо встановити адаптаційні можливості водних організмів і виявити серед них такі, що здатні до біологічного знешкодження токсикантів і очищення та відновлення забруднених водойм.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Водні екосистеми є дуже уразливими до впливу воєнних дій, які можуть призвести до їх деградації. Наприклад, через знищення російськими військами греблі Оскільського водосховища у Харківській області (березень 2022 р.) відбулось практично повне обміління водойми, руйнація екосистеми водосховища, знищення цінних видів риб та іншої водної біоти [1]. Крім того, застосування вибухових речовин має пролонговані наслідки на водні ресурси, серед яких основними є забруднення важкими металами та азотовмісними сполуками [2], зокрема тротилом і продуктами його трансформації.

У країнах із масштабним промисловим виробництвом та переробкою боеприпасів проведені чисельні дослідження впливу 2,4,6-тринітротолуолу на біоту і виявлено, що відносно висока розчинність у воді в межах 70–120 мг/л [3] провокує його поглинання водними організмами, зокрема, у невеликих кількостях він може накопичуватися в рибах і рослинах [4]. Навіть у низьких концентраціях (менше 10 мг/л) тротил виявляє токсичну та мутагенну дію на різні організми, від мікробів до людини [5]. Потрапивши у водне середовище, тротил здатен до міграції по харчових ланцюгах, що становить значну загрозу для екосистеми в цілому і здоров'я споживачів морепродуктів зокрема [6]. Прояви токсичної дії тротилу на людський організм включають висипання, токсичний гепатит, дерматит, ціаноз, чхання, кашель, периферичний неврит, катаракту, біль у м'язах, апластичну анемію та ураження нирок [4].

Впродовж останніх десятиліть дослідниками з різних країн значна увага була приділена проблемі очищення забруднених вибуховими речовинами територій і пошуку економічних технологій їх відновлення, серед яких фітореMediaція розглядалась як важлива стратегія відновлення ґрунту і води [7, 8]. У результаті досліджень була встановлена здатність організмів різних таксономічних груп до біологічного розщеплення молекул тротилу або їх акумуляції, що забезпечує знешкодження токсиканта. Наприклад, ефективність деградації тротилу бактеріями *Pseudomonas aeruginosa*

становила 46–59 % зниження його вмісту після 48 годин експозиції [9]. Показано високу здатність синьо-зеленої водорості *Spirulina platensis* адсорбувати 2,4,6-тринітротолуол, поглинаючи близько 87 % його вмісту з забрудненої води протягом 15 днів [10]. У наших попередніх дослідженнях встановлено здатність прісноводної водорості *Rhizoclonium* sp. до зниження кількості тротилу на 66,4 % від початкової концентрації 100 мг/л протягом 48 годин перебування у забрудненій тротилом модельній водоймі [11]. Серед вищих водних рослин, занурена рослина водопериця колосіста (*Myriophyllum spicatum*) є найбільш перспективним видом, який показав ефективне поглинання тротилу [12].

Кушир занурений (*Ceratophyllum demersum* L.) є повсюдно поширеним у водоймах північної півкулі рослинним видом, що характеризується невимогливістю до освітлення та конкурентоздатністю. Кушир занурений часто використовують як тест-об'єкт для біоіндикації, зокрема у випадку забруднення водойм мікроелементами [13]. *C. demersum* вважається типовим представником занурених макрофітів у водоймах України, забруднених промисловими стоками [14]. З урахуванням зазначених властивостей, ми припустили можливість існування в рослин куширу зануреного ефективних механізмів детоксикації для знешкодження тротилу та очищення водойм, що визначає доцільність проведення дослідження.

Формулювання цілей статті. Метою нашої роботи було встановлення характеру змін фотосинтетичного апарату та процесів ферментативної детоксикації за участі глутатіон-S-трансферази у рослинах куширу зануреного внаслідок дії тротилу в модельному забрудненому водному середовищі.

Матеріали і методи дослідження. Експерименти проводили в жовтні 2023 року в лабораторіях НДІ біології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара. Тест-об'єктом слугували надані НВК «Акваріум» рослини куширу зануреного (*Ceratophyllum demersum* L.), які витримувались у відстояній водопровідній воді в акваріумах упродовж 10 діб перед дослідями. Забруднення водного середовища моделювали додаванням тротилу (в кінцевих концентраціях 25 мг/л і 50 мг/л) в акваріуми.

Тротил (2,4,6-тринітротолуол) виготовляли в аналітичних кількостях згідно з описаним методом [15] і підтверджували його ідентичність методом газової хроматографії – мас-спектрометрії.

Вміст хлорофілу а (Chla) і хлорофілу b (Chlb) та сумарну кількість пігментів у рослинах *C. demersum* визначали спектрофотометричним методом [16], вимірюючи оптичну густину фільтрованих екстрактів рослин (2 г сирової маси на 25 мл 96 % етанолу) при довжинах хвиль 649 нм і 665 нм. Результати вираховували за відповідними формулами, вміст фотосинтетичних пігментів виражали в мг/г сирого рослинного матеріалу.

Активність глутатіон-S-трансферази (GST) у рослинах визначали спектрофотометричним методом [17] при 340 нм за зміною оптичної густини реакційної суміші, яка містила рослинний екстракт у калій-фосфатному буфері, рН 8,0, відновлений глутатіон (GSH) та 2,4-динітрохлорбензол (DNCB) як субстрат. Ферментативну активність GST виражали в мкМ DNCB, перетвореного за одну секунду, на грам сирової маси рослин (мккат/г).

Концентрацію нітритів (мг/л) у модельному водному середовищі вимірювали за допомогою набору експрес-тестів для швидкого визначення якості води TESTLAB (JBL, Німеччина).

Усі аналізи проводили щонайменше тричі. Обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою статистичного програмного забезпечення Statistica 7.1 StatSoft, використовуючи ANOVA для аналізу всіх даних; результати були представлені як середнє значення \pm стандартне відхилення ($x \pm SD$). Відмінності вважалися достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень. За дії тротилу в концентрації 25 мг/л сумарний уміст хлорофілів у рослинах *C. demersum* зростав до 12,9 % вище контролю на четверту годину експерименту, після чого показник знижувався до 95,0 % від контролю на шосту годину, однак надалі зростав, і за 72 години перевищував контрольний рівень на 45,6 % (рисунок 1).

Зі дії тротилу в концентрації 50 мг/л (рисунок 2) сумарний уміст хлорофілів у рослинах куширу зануреного на четверту годину перебільшував контроль на 33,2 %, зниження показника зафіксовано на 24 годину, після чого він зростав, перевищивши контроль на 30,7 % на 72 годину експерименту.

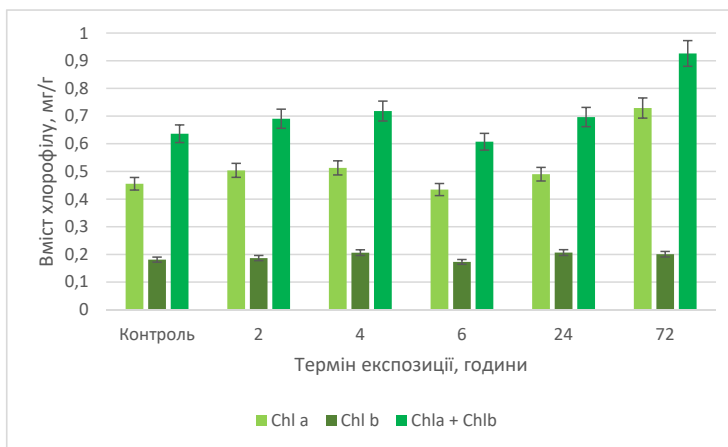


Рис. 1. Вміст хлорофілу в рослинах *C. demersum* за дії тротилу в концентрації 25 мг/л

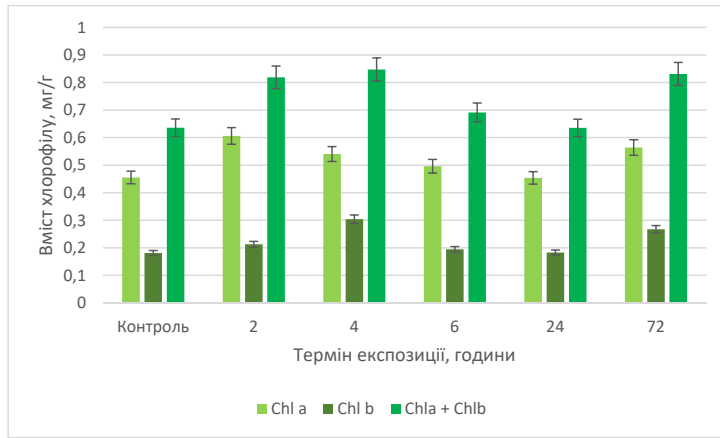


Рис. 2. Вміст хлорофілу в рослинах *C. demersum* за дії тротилу в концентрації 50 мг/л

Співвідношення Chla / Chlb у рослинах куширу зануреного впродовж експерименту також змінювалось упродовж дії тротилу. На початку експерименту за обох концентрацій тротилу більший внесок у зростання сумарного вмісту пігментів робив Chla. Однак надалі за низької концентрації тротилу більшою була частка Chlb, аж до 72-ї години експерименту, коли зафіксовано значне зростання частки Chla. За впливу високої концентрації тротилу частка Chla зменшувалась після другої години і залишалась низькою до кінця експерименту, за виключенням шостої години.

Отже, за дії тротилу в обох концентраціях у рослинах *C. demersum* відбувалась активація процесів біосинтезу хлорофілу, яка мала дозозалежний характер і стосувалась обох фотосинтетичних пігментів, однак більшою мірою хлорофілу b. Очевидно, подібна закономірність вказує на компенсаторні механізми для підтримки рівня фотосинтезу за дії токсиканта, оскільки Chlb відіграє допоміжну роль у фотосинтетичному процесі.

Вміст хлорофілу та стан пластидних пігментів є одними з найбільш інформативних показників для оцінки фізіологічного стану водних рослин, оскільки визначають їх стабільність, життєздатність і продуктивність [18]. Вміст пігментів та їх співвідношення в рослинах величина непостійна і варіює залежно від впливу чинників. Ступінь мінливості фотосинтетичного апарату залежить від генетичних особливостей рослин, вихідного складу та вмісту пігментів, а також регуляторних механізмів їх синтезу [19]. Зміну якісних та кількісних показників пігментного комплексу рослин за різних умов середовища розглядають як один із можливих шляхів адаптації. Результати експерименту вказують, що за дії обох концентрацій тротилу у модельній водоймі рослини *C. demersum* виявили здатність до

гнучкої регуляції вмісту і співвідношення пігментів, що вказує на можливість адаптації фотосинтетичного апарату рослин до впливу токсиканта.

Зростання активності глутатіон-S-трансферази (GST) у рослинах *C. demersum* спостерігалось уже на другу годину експерименту за дії обох концентрацій тротилу (рисунок 3).

За низької концентрації тротилу на другу годину активація GST у рослин *C. demersum* була незначною, надалі активність ферменту поступово знижувалась до 68,7 % від контролю на 24 години, після чого зростала на 26,1 % вище контролю на 72 години експерименту. За дії високої концентрації тротилу активність GST на другу годину перевищувала контроль на 46,5 %, далі знижувалась до 62,8 % від контролю на шосту годину, після чого зростала до 17,0 % вище контролю в період від 24 до 72 години експерименту.

Динаміка дозозалежних змін активності GST у рослин *C. demersum* за дії тротилу мала максимуми на другу годину експерименту за обох концентрацій тротилу та на 24 і 72 години, відповідно, за високої і низької концентрації. Тобто, в перші години контакту рослин з тротилом відбулась індукція активності GST, далі спостерігалось інгібування активності ферменту токсикантом, для подолання якого рослини куширу, ймовірно, здійснили перебудови ферментативного захисту, відновили і підвищили активність GST.

Подібне посилення експресії генів двох ізоформ глутатіон-S-трансферази після 24 годин експозиції до тротилу, виявлене [20] у гідропонних

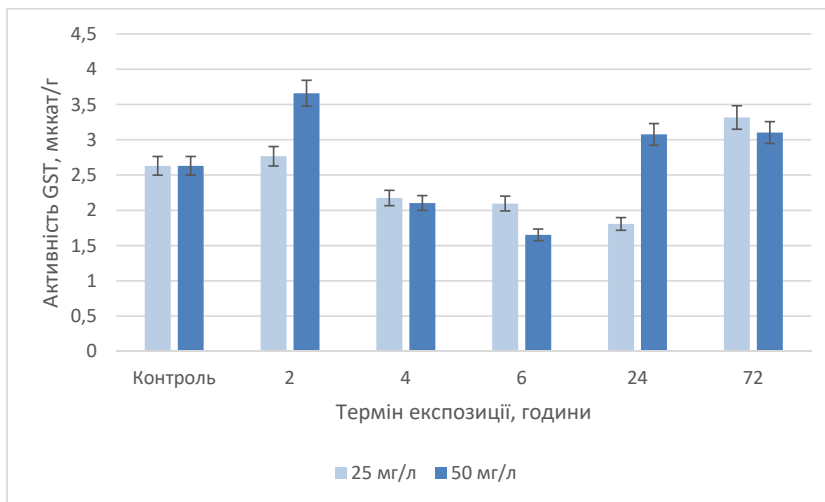


Рис. 3. Динаміка активності глутатіон-S-трансферази в рослинах *C. demersum* за дії тротилу в модельній забрудненій водоймі

саджанців тополі (*Populus trichocarpa*), стало підставою для припущення, що саме кон'югація 2,4,6-тринітротолуолу з GSH, яку каталізує глутатіон-S-трансфераза, призводить до інактивації тротилу і може бути шляхом його розкладання всередині рослинних клітин. На участь GST у детоксикації тротилу вказує також утворення 2-глутатіоніл-4,6-динітротолуолу та інших кон'югатів глутатіону, виявлене у рослинах *Arabidopsis thaliana* [21].

Зростання кількості нітритів у водоймі впродовж експозиції рослин *C. demersum* до тротилу становило 2,8 та 4,4 рази, відповідно за низької та високої концентрації токсиканта (таблиця 1).

Таблиця 1. Зміни вмісту нітритів у забрудненій тротилом модельній водоймі

Термін експозиції	Вміст нітритів, мг/л	
	25 мг/л тротилу	50 мг/л тротилу
Контроль	0,025 ± 0,001	0,025 ± 0,001
2 години	0,028 ± 0,001	0,030 ± 0,001
4 години	0,040 ± 0,001	0,059 ± 0,002
6 годин	0,049 ± 0,002	0,068 ± 0,002
24 години	0,058 ± 0,002	0,085 ± 0,003
72 години	0,069 ± 0,002	0,110 ± 0,003

Зростання вмісту нітритів може бути наслідком утворення в клітинах рослин куширу кон'югатів глутатіону з тротилом шляхом заміщення нітрогруп у молекулі 2,4,6-тринітротолуолу і подальшого видалення нітрогруп у середовище. Отримані дані опосередковано підтверджують можливість детоксикації тротилу в рослинах куширу зануреного за участі глутатіон-S-трансферази. Загалом, результати експерименту свідчать про можливість застосування рослин *C. demersum* для детоксикації тротилу та очищення і відновлення водних екосистем, забруднених вибуховими речовинами.

Висновки. В умовах забруднення водойми 2,4,6-тринітротолуолом у концентраціях 25 мг/л і 50 мг/л досліджено відповідні реакції рослин куширу зануреного на вплив токсиканта. Встановлено дозозалежні зміни вмісту Chla, Chlb, їх сумарного вмісту, а також співвідношення фотосинтетичних пігментів. За дії обох концентрацій тротилу рослини *C. demersum* були здатні до гнучкої регуляції вмісту і співвідношення пігментів, що вказує на можливість адаптації фотосинтетичного апарату рослин до впливу токсиканта.

Динаміка дозозалежних змін активності GST у рослин *C. demersum* свідчить, що активація ферменту в перші години контакту з тротилом супроводжувалось блокуванням активності за подальшої дії токсиканта,

для подолання якого рослини куширу, ймовірно, здійснили перебудови ферментативного захисту, відновили і підвищили активність GST. Значна активація GST та накопичення нітратів у водоймі впродовж експерименту розцінені як докази ймовірної участі ферменту в детоксикації тротилу.

Результати модельного експерименту вказують на здатність куширу зануреного до ефективної регуляції пігментного апарату і захисту фотосинтетичного процесу за дії тротилу, а також до активації механізмів ферментативної детоксикації, що свідчить про придатність рослин *C. demersum* до очищення і відновлення водних екосистем, забруднених вибуховими речовинами.

FUNCTIONAL CHANGES OF *CERATOPHYLLUM DEMERSUM* PLANTS DUE TO TNT ACTION IN A MODEL EXPERIMENT

Khromykh N.O. – PhD in Biology, Senior Researcher,
Sharamok T.S. – PhD in Biology, Associate Professor,
Yesipova N.B. – PhD in Biology, Associate Professor,
Oles Honchar National University,
Khromykh2012@gmail.com

Prolonged large-scale hostilities on the territory of Ukraine lead to the destruction and degradation of water ecosystems, which are often the ultimate absorbers of various pollutants, including explosives. The need to restore water ecosystems dictates the search for effective and environmentally safe ways to eliminate explosive substances, in particular TNT. Inhabiting with macrophytes capable of TNT detoxification can be a way to restore polluted water bodies through biological treatment processes. In this work, the adaptive potential of the common plant rigid hornwort (*Ceratophyllum demersum* L.) to the influence of TNT in model conditions of water pollution in concentrations of 25 mg/L and 50 mg/L was evaluated based on the nature of changes in the photosynthetic apparatus and the activity of glutathione-S-transferase (GST).

Dose-dependent changes in the content of chlorophyll a, chlorophyll b, their total content, as well as the ratio of pigments in *C. demersum* plants under the action of TNT were established. The activation of biosynthesis processes concerned both photosynthetic pigments, but to a greater extent chlorophyll b. The total content of chlorophylls under the influence of low and high TNT concentrations had two maxima: on the 4th (respectively, 13 % and 33 % above the control) and on the 72nd (46 % and 31 % above the control) hours of the experiment. Under the influence of both TNT concentrations, *C. demersum* plants showed the ability to flexibly regulate the content and ratio of photosynthetic pigments, which indicates the possibility of the plant photosynthetic apparatus adaptation to the effect of the toxicant.

Changes in glutathione-S-transferase activity in *C. demersum* plants under TNT influence were dose-dependent, and their dynamics had two maxima: at the 2nd hour (5 % and 47 % higher than the control, respectively, at low and high concentrations), and at the 24th hour (17 % above the control) at a high and at the 72nd hour (26 %

above the control) at a low TNT concentration. The GST activation under the influence of TNT, which was accompanied by an increase in the nitrites content in the aqueous medium, is regarded as the probable participation of the enzyme in the detoxification of TNT by its conjugation with glutathione. In general, the obtained data indicate flexible regulation and protection of the photosynthetic process and activation of the enzymatic detoxification of TNT in *C. demersum* plants, which indicates their potential suitability for cleaning and restoring aquatic ecosystems contaminated by explosives.

Keywords: rigid hornwort, TNT (2,4,6-trinitrotoluene), pollution of aquatic ecosystems, detoxification, biological purification.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дайджест ключових наслідків російської агресії для українського довкілля за 7–13 липня 2022 року: офіційний сайт Міністерства захисту довкілля та природних ресурсів України. URL: <https://mepr.gov.ua/news/39409.html>.
2. Schillinger J., Özerol G., Güven-Griemert Ş., Heldeweg M. Water in war: Understanding the impacts of armed conflict on water resources and their management. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*. 2020. Vol. 7. no. 6. P. 1480. URL: <https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/wat2.1480>
3. Lynch J. C., Myers K. F., Brannon J. M., Delfino J. J. Effects of pH and temperature on the aqueous solubility and dissolution rate of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX), and octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine (HMX). *Journal of Chemical & Engineering Data*. 2001. Vol. 46, no. 6. PP. 1549–1555. URL: <http://dx.doi.org/10.1021/je0101496>
4. Toxicological Profile for 2,4,6-trinitrotoluene (TNT). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1995. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. URL: <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=677&tid=125>
5. Lachance B., Renoux A. Y., Sarrazin M., Hawari J., et al. Toxicity and bioaccumulation of reduced TNT metabolites in the earthworm *Eisenia andrei* exposed to amended forest soil. *Chemosphere*. 2004. Vol. 55, no. 10. PP. 1339–1348. URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.11.049>
6. Xu M., He L., Sun P., Wu M., et al. Critical Role of Monooxygenase in Biodegradation of 2,4,6-Trinitrotoluene by *Buttiauxella* sp. S19-1. *Molecules*. 2023. Vol. 28, no. 4. P. 1969. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules28041969>
7. Snellinx Z., Nepovim A., Taghavi S., Vangronsveld J., et al. Biological remediation of explosives and related nitroaromatic compounds. *Environmental Science and Pollution Research International*. 2002. Vol. 9. no. 1. PP. 48–61. URL: <https://doi.org/10.1007/bf02987316>

8. Lewis T. A., Newcombe D. A., Crawford R. L. Bioremediation of soils contaminated with explosives. *Journal of Environment Management*. 2004. Vol. 70. no. 4. PP. 291–307. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2003.12.005>
9. Mercimek H. A., Dincer S., Guzeldag G., Ozsavli A., et al. Degradation of 2, 4, 6-Trinitrotoluene by *P. aeruginosa* and characterization of some metabolites. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2015. Vol. 46. no. 1. PP. 103–111. URL: <https://doi.org/10.1590/S1517-838246120140026>
10. Adamia G., Chogovadze M., Chokheli L., Gigolashvili G., et al. About possibility of alga *Spirulina* application for phytoremediation of water polluted with 2,4,6-trinitrotoluene. *Annals of Agrarian Science*. 2018. Vol. 16. no. 3. PP. 348–351. URL: <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.07.004>
11. Khromykh N. O., Marenkov O. M., Sharamok T. S., Anishchenko A. O., et al. Simulating TNT (2,4,6-trinitrotoluene) elimination in the water pond inhabited by freshwater alga of the Rhizoclonium genus. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. Vol. 14. no. 3. PP. 365–369. URL: <https://doi.org/10.15421/10.15421/022354>
12. Kiiskila J.D., Das P., Sarkar D., Datta R. Phytoremediation of Explosive-Contaminated Soils. *Current Pollution Report*. 2015. Vol. 1. PP. 23–34. <https://doi.org/10.1007/s40726-015-0003-3>
13. Polechońska L., Klink A., Dambiec M., Rudecki A. Evaluation of *Ceratophyllum demersum* as the accumulative bioindicator for trace metals. *Ecological Indicators*. 2018. Vol. 93. no. 4. PP. 274–281. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.05.020>
14. Marenkov O. M., Alexeyeva A. A., Khromykh N. O., Holub I.V. et al. Photosynthetic apparatus variability of the rigid hornwort (*Ceratophyllum demersum* L.) from the Saksagan River influenced by the mine activity. *Ecology and Noospherology*. 2023. Vol. 34. no.1. PP. 35–39. URL: <http://doi:10.15421/032305>
15. Kröger M., Fels G. ¹⁴C-TNT synthesis revisited. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. 2000. Vol. 43. no. 3. PP. 217–227. URL: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1344\(20000315\)43:3%3C217](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1344(20000315)43:3%3C217)
16. Wintermans J. F. G. M., De Mots A. Spectrophotometric Characteristics of Chlorophyll a and b and Their Phaeophytins in Ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1965. Vol. 109. no. 2. PP. 448–453. URL: [https://doi.org/10.1016/0926-6585\(65\)90170-6](https://doi.org/10.1016/0926-6585(65)90170-6)
17. Habig W. H., Jakoby W. B. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology*. 1981. Vol. 77. PP. 398–405. URL: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(81\)77053-8](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(81)77053-8)
18. Кияк Н. Фотосинтетична активність бріофітів в умовах засолення на території хвостосховища Стебницького ГХП “Полімінерал”. *Вісник*

- Львівського університету. Серія біологічна. 2018. Том 79. С. 184–194. URL: <http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/article/view/9362/9567>
19. Zhang H., Zhong H., Wang J., Sui X., et al. Adaptive changes in chlorophyll content and photosynthetic features to low light in *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* «Diabolo». *Peer J.* 2016. Vol. 4. P. 2125. URL: <https://doi.org/10.7717/peerj.2125>
 20. Brentner L. B., Tanaka S., Merchie K. M., Schnoor J. L., et al. Expression of glutathione S-transferases in poplar trees (*Populus trichocarpa*) exposed to 2,4,6-trinitrotoluene (TNT). *Chemosphere.* 2008. Vol. 73. no. 5. PP. 657–662. URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.059>
 21. Rylott E. L., Gunning V., Tzafestas K., Sparrow H., et al. Phytodetoxification of the environmental pollutant and explosive 2,4,6-trinitrotoluene. *Plant Signaling & Behavior.* 2015. Vol. 10. no. 1. P. 977714. URL: <https://doi.org/10.4161/15592324.2014.977714>.

REFERENCES

1. *Daidzhest ključovykh naslidkiv rosijskoi ahresii dlja ukrainskoho dovkillia za 7–13 lypnia 2022 roku* [Digest of the key consequences of Russian aggression for the Ukrainian environment for July 7–13, 2022] ofitsiyni sait Ministerstva zakhystu dovkillia ta pryrodnykh resursiv. [in Ukrainian].
2. Schillinger J., Özerol G., Güven-Griemert Ş., Heldeweg M. (2020). Water in war: Understanding the impacts of armed conflict on water resources and their management. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, Vol. 7, no. 6, 1480.
3. Lynch J. C., Myers K. F., Brannon J. M., Delfino J. J. (2001). Effects of pH and temperature on the aqueous solubility and dissolution rate of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX), and octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine (HMX). *Journal of Chemical & Engineering Data*, Vol. 46, no. 6, 1549–1555.
4. Toxicological Profile for 2,4,6-trinitrotoluene (TNT). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1995). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
5. Lachance B., Renoux A. Y., Sarrazin M., Hawari J., et al. (2004). Toxicity and bioaccumulation of reduced TNT metabolites in the earthworm *Eisenia andrei* exposed to amended forest soil. *Chemosphere*, Vol. 55, no. 10, 1339–1348.
6. Xu M., He L., Sun P., Wu M., et al. (2023). Critical Role of Monooxygenase in Biodegradation of 2,4,6-Trinitrotoluene by *Buttiauxella* sp. S19-1. *Molecules*, Vol. 28, no. 4, 1969.

7. Snellinx Z., Nepovím A., Taghavi S., Vangronsveld J., et al. (2002). Biological remediation of explosives and related nitroaromatic compounds. *Environmental Science and Pollution Research International*, Vol. 9, no. 1, 48–61.
8. Lewis T. A., Newcombe D. A., Crawford R. L. (2004). Bioremediation of soils contaminated with explosives. *Journal of Environment Management*, Vol. 70, no. 4, 291–307.
9. Mercimek H. A., Dincer S., Guzeldag G., Ozsavli A., et al. (2015). Degradation of 2, 4, 6-Trinitrotoluene by *P. aeruginosa* and characterization of some metabolites. *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol. 46, no. 1, 103–111.
10. Adamia G., Chogovadze M., Chokheli L., Gigolashvili G., et al. (2018). About possibility of alga *Spirulina* application for phytoremediation of water polluted with 2,4,6-trinitrotoluene. *Annals of Agrarian Science*, Vol. 16, no. 3, 348–351.
11. Khromykh N. O., Marenkov O. M., Sharamok T. S., Anishchenko A. O., et al. (2023). Simulating TNT (2,4,6-trinitrotoluene) elimination in the water pond inhabited by freshwater alga of the Rhizoclonium genus. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, Vol. 14, no. 3, 365–369.
12. Kiiskila J. D., Das P., Sarkar D., Datta R. (2015). Phytoremediation of Explosive-Contaminated Soils. *Current Pollution Report*, Vol. 1, 23–34.
13. Polechońska L., Klink A., Dambiec M., Rudecki A. (2018). Evaluation of *Ceratophyllum demersum* as the accumulative bioindicator for trace metals. *Ecological Indicators*, Vol. 93, no. 4, 274–281.
14. Marenkov O. M., Alexeyeva A. A., Khromykh N. O., Holub I.V. et al. (2023). Photosynthetic apparatus variability of the rigid hornwort (*Ceratophyllum demersum* L.) from the Saksagan River influenced by the mine activity. *Ecology and Noospherology*, Vol. 34, no. 1, 35–39.
15. Kröger M., Fels G. (2000). ¹⁴C-TNT synthesis revisited. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, Vol. 43, no. 3, 217–227.
16. Wintermans J. F. G. M., De Mots A. (1965). Spectrophotometric Characteristics of Chlorophyll a and b and Their Phaeophytins in Ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 109, no. 2, 448–453.
17. Habig W. H., Jakoby W. B. (1981). Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology*, Vol. 77, 398–405.
18. Kiyak N. (2018). *Fotosintetychna aktyvnist briofitiv v umovakh zasolennya na terytoriyi khvostoskhovyscha Stebnytskoho GHP "Polimineral"* [Photosynthetic activity of bryophytes in conditions of salinity on the territory of the Stebnytskyi tailings storage facility "Polymineal"]. *Bulletin of Lviv University. Biological series*, Vol. 79, 184–194. [in Ukrainian].

19. Zhang H., Zhong H., Wang J., Sui X., et al. (2016). Adaptive changes in chlorophyll content and photosynthetic features to low light in *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* “Diabolo”. *Peer J*, Vol. 4, 2125.
20. Brentner L. B., Tanaka S., Merchie K. M., Schnoor J. L., et al. (2008). Expression of glutathione S-transferases in poplar trees (*Populus trichocarpa*) exposed to 2,4,6-trinitrotoluene (TNT). *Chemosphere*, Vol. 73, no. 5, 657–662.
21. Rylott E. L., Gunning V., Tzafestas K., Sparrow H., et al. (2015). Phytodetoxification of the environmental pollutant and explosive 2,4,6-trinitrotoluene. *Plant Signaling & Behavior*, Vol. 10, no. 1, 977714.