

Департамент образования и науки города Севастополя
Государственное бюджетное образовательное учреждение
Центр дополнительного образования
«Малая академия наук»

**Показатели кресс салата как индикаторы загрязнения
сигаретными отходами**

Работу выполнила:
Ковыршина Екатерина Максимовна
Учащаяся творческого объединения
«Экотоксикология» ГБОУ
ЦДО «Малая академия наук»»,
ГБОУ СОШ № 4, 6 класс

Научный руководитель:
Скуратовская Е.Н.,
педагог д. о. творческого объединения
«Экотоксикология» ГБОУ ЦДО
«Малая академия наук»», к.б.н., с.н.с.
ФИЦ ИнБЮМ

Севастополь, 2020 г

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
РАЗДЕЛ 1 ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	6
1.1. Химический состав сигарет и сигаретных отходов	6
1.2. Применение семян кресс салата для оценки токсичности субстрата	6
1.3. Флуктуирующая асимметрия билатеральных признаков листьев растений, как индикатор загрязнения среды	7
1.4. Показатели прооксидантно-антиоксидантной системы листьев кресс салата для оценки загрязнения среды	8
РАЗДЕЛ 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	9
2.1. Характеристика объекта исследований	9
2.2. Ход эксперимента. Приготовление водных экстрактов сигаретных окурков	9
2.3. Методы исследования	12
РАЗДЕЛ 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	13
3.1. Влияние водных экстрактов сигаретных окурков на прорастание семян кресс салата, их рост и выживаемость (Этап 1)	13
3.2. Показатели кресс салата как индикаторы загрязнения сигаретными отходами (Этап 2)	17
РАЗДЕЛ 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	26
ВЫВОДЫ	28
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	29

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. В настоящее время, одной из актуальных проблем мировой общественности является употребление табачных изделий, негативно влияющих на здоровье человека. По данным [1], количество курящих чрезвычайно велико и продолжает расти с каждым годом. Так, мировое потребление сигарет в 2009 г. составило порядка 6 трлн штук, при этом Россия вышла на второе место (390,0 млрд шт./год), обогнав США (315,7 млрд шт./год) [1]. С 2013 года в России действует антитабачный закон. Однако, как и раньше, Россия входит в пятерку самых курящих стран мира (данные 2015 г.) [2].

В то же время большие количества курящих приводит к росту числа сигаретных отходов, отравляющих окружающую среду и снижающих ее внешнюю привлекательность. Согласно исследованию Итальянского агентства по новым технологиям, энергетике и экономическому развитию (ENEA), общая масса окурков на Земле за год составляет более 2,5 млн. тонн, из-за которых ежегодно в окружающую среду поступают свыше 300 тонн никотина, 1800 тонн бензола, около 22 тонн токсичных газов и более 1400 тонн конденсированного гудрона [3].

Опыт иностранных государств показал, что для решения данной проблемы важен комплексный подход – развитие нормативно-правовой базы, повышение культурного уровня граждан и, несомненно, развитие инфраструктуры и технологий для утилизации сигаретных отходов [3].

Так, в 2013г. в канадском городе Ванкувере, была запущена программа по сбору и утилизации сигаретных отходов. Были созданы специальные бригады, занимающиеся агитацией курящих собирать окурки, установлены специальные мини-контейнеры для их переработки. Собранные сигаретные отходы шли на изготовление погрузочных поддонов, железнодорожных шпал, пластиковых стройматериалов и пепельниц [4].

В Париже были установлены подставки для сигаретных отходов, созданы специальные уборочные бригады. Для нарушителей, бросивших окурки мимо урны, власти города ввели штраф в размере 35 евро. Аналогичные меры были приняты в Риме и Сингапуре [3].

В Российской Федерации большое внимание уделяется пропаганде вреда курения, введены ограничения на потребление табачных изделий и их рекламу. В то же время проблема загрязнения сигаретными отходами в нашей стране остается открытой, а исследования, посвященные изучению их влияния на живые организмы и среду их обитания, практически отсутствуют.

Сигаретные отходы попадают в почву, городские сточные воды, и, наконец, в водоемы, приводя к загрязнению окружающей среды, интоксикации и гибели флоры и фауны.

Однако первыми действием сигаретных отходов подвергаются именно растения. Во время дождей, токсичные вещества, содержащиеся в сигаретных окурках, попадают в почву и, как следствие, растения. Токсичные компоненты, накапливаясь в их тканях, способны приводить к нарушению их развития и даже гибели. Кроме того, многие компоненты сигаретных отходов (тяжелые металлы) практически не подвергаются биотрансформации в живых организмах и, передаваясь по пищевым цепям, накапливаются в организме травоядных животных, представляя опасность и для человека [5].

Таким образом, рост числа сигаретных отходов требует детального изучения их влияния на живые организмы, а также поиска индикаторных видов растений, чувствительных к этому виду загрязнения и показателей, позволяющих эффективно оценить уровень токсичности субстрата (почв) и своевременно провести природоохранные мероприятия.

Цель и задачи исследования. В связи с этим, целью работы явилось изучить влияние водных экстрактов сигаретных окурков различных концентраций на прорастание семян кресс салата, их рост и выживаемость; показатели флуктуирующей асимметрии семядольных листьев растений;

показатели прооксидантно-антиоксидантной системы. В задачи исследования входило:

1. изучить влияние водных экстрактов сигаретных окурков различных концентраций на прорастание семян кресс салата, их рост и выживаемость;
2. изучить влияние водных экстрактов сигаретных окурков различных концентраций на показатели флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков семядольных листьев кресс салата;
3. изучить влияние водных экстрактов сигаретных окурков различных концентраций на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы листьев кресс салата.

Объект исследования – семена и побеги кресс салата.

Научная новизна. Впервые представлены данные о влиянии сигаретных отходов различных концентраций на прорастание семян кресс салата, их рост и выживаемость, а также показатели флуктуирующей асимметрии семядольных листьев растений и показатели прооксидантно-антиоксидантной системы.

Теоретическое и практическое значение полученных результатов. Результаты исследования позволили установить негативное влияние водных экстрактов сигаретных отходов на прорастание семян кресс салата, а также рост и выживаемость растений. Экспериментально установлена высокая чувствительность показателей асимметрии длины семядольных листьев кресс салата и прооксидантно-антиоксидантной системы к действию низких концентраций сигаретных отходов.

Полученные результаты имеют важное теоретическое и практическое значение для понимания негативного влияния сигаретных отходов на живые организмы (на примере кресс салата), а также для привлечения внимания общественности к решению проблемы загрязнения сигаретными отходами. Знания о вреде сигаретных отходов для живых организмов приведет к изменению отношения курильщиков к курению, повысит культуру их поведения.

РАЗДЕЛ 1

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1.1. Химический состав сигарет и сигаретных отходов

В настоящее время в сигаретах обнаружено около 4 тысяч различных веществ и соединений, среди которых: мышьяк, кадмий, свинец, никель, хром, бензол, формальдегид, аммиак, угарный газ, ацетон, стирол, полоний и многое другое. В процессе курения смолы, а также полоний, свинец, радий и торий частично задерживаются фильтром сигареты и накапливаются в нем [3].

Исследование водного экстракта сигаретных окурков с помощью инфракрасной спектроскопии и масс-спектрометрии позволило определить наличие девяти соединений, среди которых никотин, антрахинон и многие другие [6]. Токсичные соединения из сигаретных отходов со временем переходят в окружающую среду, негативно влияя на живые организмы, в том числе растения.

1.2. Применение семян кресс салата для оценки токсичности субстрата

Для постановки эксперимента необходимо было определить тест-растение, которое способно реагировать на внешние химические воздействия, что выражается в морфологических и физиологических изменениях при росте и развитии.

Согласно литературным данным, в качестве тест-растения для оценки токсичности сточных вод и почвы широко применяется кресс салат. Данный вид растения, наряду с редисом и горохом, отличается повышенной чувствительностью к загрязнениям почвы, быстрым прорастанием семян, а также всхожестью, которая уменьшается в зависимости от степени загрязнения [7]. В то же время побеги и корни кресс салата в присутствии

загрязнителей подвергаются значительным морфологическим изменениям (задержка роста и искривление побегов), что также является важным параметром при оценке токсичности субстрата.

Другим важным фактом, которым мы руководствовались при выборе кресс салата является возможность его выращивания не только в почве, но и открытым способом. В последнем случае в качестве субстрата подходит вата, губка и даже бумажное полотенце. Данный метод выращивания позволяет тестировать на токсичность не только твердые субстраты, но и жидкости, а также наблюдать развитие семян на ранних стадиях развития.

1.3. Флуктуирующая асимметрия билатеральных признаков листьев растений, как индикатор загрязнения среды

Как известно, строение живых тел в природе не бывает совершенным, и встречаются самые различные отклонения от билатеральной симметрии (асимметрия) [8].

Флуктуирующая асимметрия (ФА) – это незначительные отклонения от строгой билатеральной симметрии, являющаяся следствием изменения процессов развития организмов под действием внешних факторов.

В связи с этим ФА листа различных видов растений широко используется для оценки уровня загрязнения окружающей среды, а также для оценки токсичности тяжелых металлов и многих других загрязнителей [8, 9]. Результаты исследований демонстрировали увеличение показателя ФА листьев растений с увеличением уровня загрязнения.

Таким образом, показатель ФА билатеральных признаков листьев позволяет выявить незначительных обратимых изменений в состоянии растений до появления необратимых изменений и их гибели, и может быть использован для оценки токсичности субстрата.

1.4. Показатели прооксидантно-антиоксидантной системы листьев кресс салата для оценки загрязнения среды

Организмы, активно использующие в своих обменных процессах кислород, в том числе растения, имеют антиоксидантную (АО) защитную систему, обеспечивающую поддержание активных форм кислорода (АФК) в тканях на безопасном для организма уровне. Общая антиоксидантная система (АОС) живых организмов состоит из ферментов и низкомолекулярных соединений. АО ферменты характеризуются высокой специфичностью действия, направленного против определенных АФК [10].

Одним из важнейших ферментов АОС является каталаза (КФ 1.11.1.6). Каталаза представляет собой железосодержащий фермент, обезвреживающий перекись водорода [11]: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Как известно, изменения, происходящие на молекулярном и клеточном уровнях, проявляются и на более высоких уровнях организации (организменном, популяционном и т.д.), но имеют определенную задержку с момента воздействия. Так, действие негативных факторов, приводит к усилению образования АФК. Нарушение процессов их обезвреживания АОС приводит к сдвигу тканевого баланса антиоксидантов и прооксидантов в сторону последнего. Следствием являются срыв работы защитных систем и развитие окислительного повреждения ткани.

Наиболее информативным показателем окислительного повреждения тканей, является увеличение содержания ТБК-активных продуктов [12].

В настоящее время показатели прооксидантно-антиоксидантной системы тканей растений широко применяются для оценки качества среды их обитания, а также в лабораторных условиях, для оценки токсичности различных загрязнителей, или их смеси.

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Характеристика объекта исследований

В качестве объекта исследований нами были выбраны семена и побеги кресс салата *Lepidium sativum* «Весенний» торговой марки «Семена Крыма». Кресс салат – листовое однолетнее овощное растение семейства Капустные (Brassicaceae), характеризуется быстрым прорастанием семян и высоким процентом всхожести. Оптимальная температура для прорастания – 6–8 °С.

2.2. Ход эксперимента. Приготовление водных экстрактов сигаретных окурков

Эксперимент проводили в два этапа. В ходе *первого этапа* условно выделили средне загрязненный сигаретными окурками участок клумбы (около 40 шт. на м²) (рис. 2.1 А) и сильно загрязненный сигаретными окурками участок клумбы (около 70 шт. на м²) (рядом с урной) (рис. 2.1 Б).



Рис. 2.1 Участки сбора сигаретных окурков: средне загрязненный (А), сильно загрязненный (Б)

Фильтры от сигарет разных производителей собрали в полиэтиленовые пакеты с двух участков и приготовили их водные экстракты в двух

концентрациях: 40 шт. на 2 л водопроводной воды и 70 шт. на 2 л водопроводной воды соответственно (рис. 2.2).



Рис. 2.2 Приготовление экстрактов сигаретных окурков разной концентрации

В процессе выполнения первого этапа эксперимента семена кресс салата замочили в водопроводной воде и выложили на блюдца, выстланные ватой, по 15 штук в каждое (рис. 2.3). В эксперименте выделили три рассадника: один контрольный и два опытных. **Контрольный рассадник** поливали водопроводной водой. **Опытные рассадники:**

- *рассадник № 1* поливали экстрактом сигаретных окурков в концентрации 40 шт. на 2 л водопроводной воды;
- *рассадник № 2* поливали экстрактом сигаретных окурков в концентрации 70 шт. на 2 л водопроводной воды.



Рис. 2.3 Замачивание семян кресс салата в воде, высаживание на субстрат

На протяжении 7 дней осуществляли наблюдение за развитием семян кресс салата, отмечали количество проросших семян, остановившихся в развитии/ погибших растений. Измеряли длину растений (корень + побег, см).

В ходе *второго этапа* эксперимента были взяты сигаретные фильтры одной фирмы с одинаковым содержанием смол (6 мг), никотина (0,5 мг) и СО (5 мг) на сигарету для приготовления их водных экстрактов в трех концентрациях: 5, 10 и 20 шт. сигаретных окурков на 2 л водопроводной воды соответственно. По аналогии с первым этапом, семена кресс салата замочили в воде и выложили на тарелки, выложенные ватой, по 30 штук в каждую. В эксперименте выделяли четыре рассадника: один контрольный и три опытных. **Контрольный рассадник** поливали водопроводной водой.

Опытные рассадники:

- *рассадник № 1* поливали экстрактом сигаретных окурков в концентрации 5 шт. на 2 л водопроводной воды;
- *рассадник № 2* поливали экстрактом сигаретных окурков в концентрации 10 шт. на 2 л водопроводной воды;
- *рассадник № 3* поливали экстрактом сигаретных окурков в концентрации 20 шт. на 2 л водопроводной воды.

Эксперимент проводили в течение 9 дней, на протяжении которых осуществляли наблюдение за развитием семян кресс салата, отмечали количество проросших семян, остановившихся в развитии/ погибших растений. Измеряли длину побегов с 5 по 8 день эксперимента, вычисляя их средние значения в каждом рассаднике. На 9-й день эксперимента измеряли длину и ширину центральных листьев кресс салата с целью определения показателей флуктуирующей асимметрии. В гомогенатах листьев кресс салата определяли активность каталазы (КАТ) и уровень ТБК-активных продуктов.

Полив семян при проведении эксперимента проводили в одно и то же время одинаковым объемом жидкости.

2.3. Методы исследования

Для оценки показателя асимметрии (ПА) центральных семядольных листьев кресс салата измеряли их длину и ширину при помощи окуляр-метрометра. ПА длины и ширины листьев рассчитывали по формуле:

$$|L - R|/|L + R|$$

где, $|L - R|$ – модуль разности между величиной признака на левом и правом листе; $|L + R|$ – модуль суммы величин признака на обоих листьях [13].

В гомогенатах листьев определяли активность каталазы (КАТ) по реакции разложения перекиси водорода [14] и уровень ТБК-активных продуктов [15] спектрофотометрически. Активность КАТ и уровень ТБК-активных продуктов пересчитывали на мг белка.

Статистическую обработку данных (значений ПА; длины растений) проводили по Лакину [16]. Вычисляли среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (σ), ошибку среднего арифметического (m). Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми рядами считали достоверными и статистически значимыми при $p \geq 0,05$.

РАЗДЕЛ 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Влияние водных экстрактов сигаретных окурков на прорастание семян кресс салата, их рост и выживаемость (Этап 1)

В настоящее время применение методов биотестирования на основе определения процента всхожести и измерения длины растений являются общепринятыми для оценки токсичности того или иного субстрата. В связи с чем, изучали вышеперечисленные показатели на семенах кресс салата, подвергнутых действию водных экстрактов сигаретных окурков в концентрациях 40 и 70 шт. на 2 л воды.

Согласно данным рисунков 3.1 и 3.2, на второй день эксперимента в контрольном рассаднике появление корня отмечено у 100 % семян (15 шт.). В рассаднике № 1, из 15 семян, корень появился только у 7 (46,7 %), а в рассаднике № 2 – только у 1 семени (6,7 %).

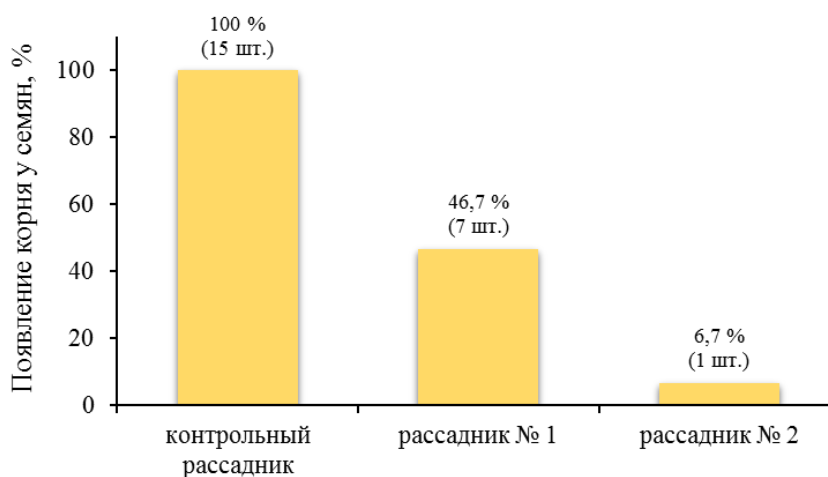


Рис. 3.1 Появление корня у семян кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на второй день эксперимента



Рис. 3.2 Развитие кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на второй день эксперимента

На третий день эксперимента отмечено появление стебля с листьями у всех семян кресс салата из контрольного рассадника (15 шт.). Длина побега с корнем составляла около 1,5 см (рис. 3.3, рис. 3.5). В опытных группах появление побегов не установлено (рис. 3.3). В тоже время на третий день эксперимента в рассадниках № 1 и № 2 корень появился еще у 7 семян. Таким образом, корень имели уже 14 шт. (93,3 %) семян из рассадника № 1 и 8 шт. (53,3 %) – из рассадника № 2 (рис. 3.4, рис. 3.5).

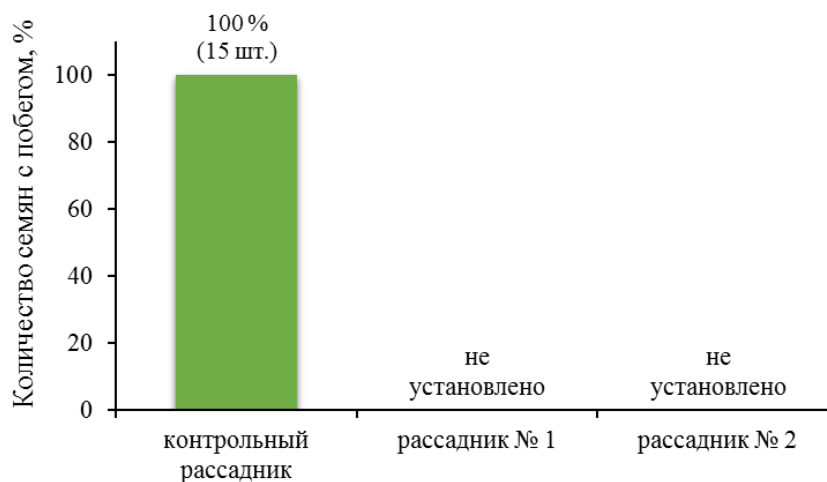


Рис. 3.3 Появление побегов кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на третий день эксперимента

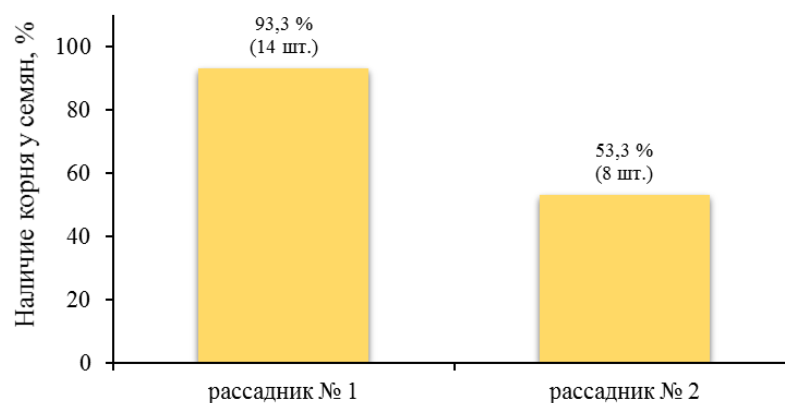


Рис. 3.4 Наличие корня у семян кресс салата в рассадниках № 1 и № 2 на третий день эксперимента

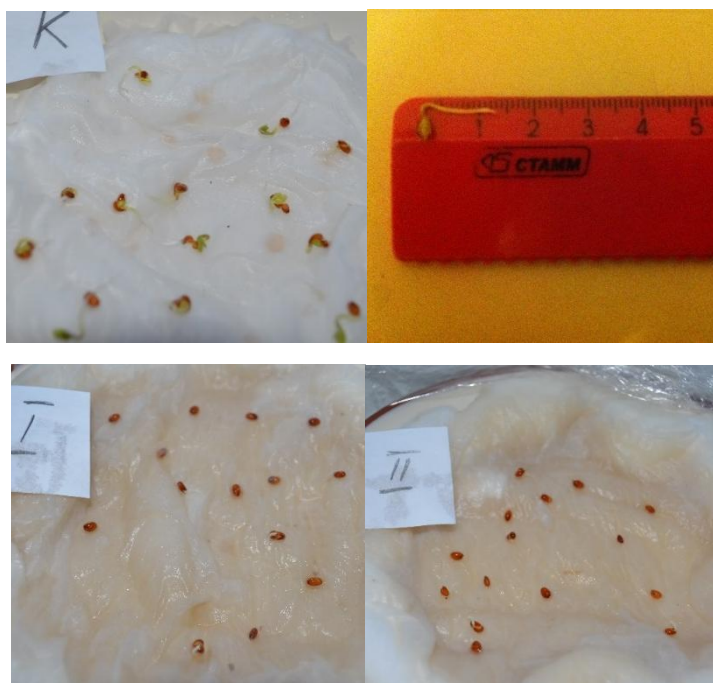


Рис. 3.5 Развитие кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на третий день эксперимента

На четвертый день эксперимента контрольная группа растений имела среднюю длину около 4,0 см. В опытных рассадниках отмечено появление побегов у 4 из проросших семян. Длина растений с корнем в рассадниках № 1 и № 2 составила 1,5 см и 1,0 см соответственно (рис. 3.6). При этом остановка развития установлена у 8 и 4 семян из выпустивших корень в рассадниках № 1 и № 2 соответственно (табл. 3.1, рис. 3.7).

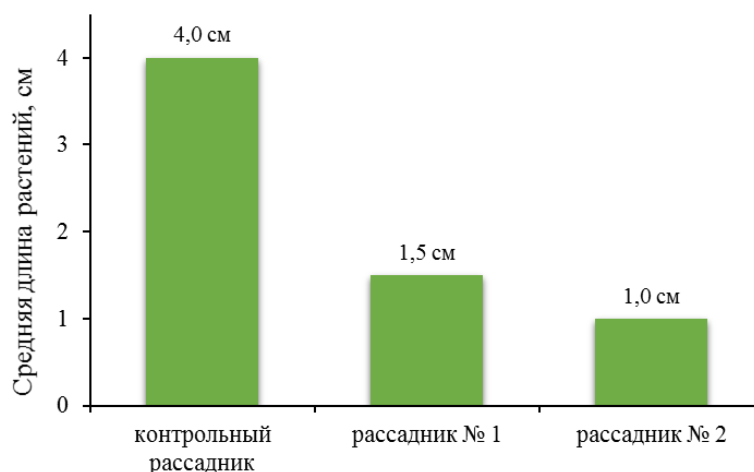


Рис. 3.6 Средняя длина (см) кресс салата (побег с корнем) в контрольном и опытных рассадниках на четвертый день эксперимента

Таблица 3.1

Развитие кресс салата в рассадниках № 1 и № 2 на четвертый день эксперимента

День эксперимента	Рассадник № 1		Рассадник № 2	
	4	<p>появление или наличие/отсутствие / остановка развития</p> <p>побега, шт. корня, шт.</p> <p>4/ 11/ 0 14/ 1/ 8</p>		<p>появление или наличие/отсутствие / остановка развития</p> <p>побега, шт. корня, шт.</p> <p>4/ 11/ 0 8/ 7/ 4</p>



Рис. 3.7 Развитие кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на четвертый день эксперимента

На шестой день эксперимента растения в контрольной группе достигли длины 6,0–7,0 см. В рассадниках № 1 и № 2 все растения (4 шт.) у которых появились побеги (на четвертый день эксперимента) остановились в

развитии. Дальнейшего развития семян из опытных рассадников также не установлено (рис. 3.8).



Рис. 3.8 Развитие кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на шестой день эксперимента

На седьмой день эксперимента растения в рассадниках № 1 и № 2 погибли.

Таким образом, результаты первого этапа эксперимента показали выраженное токсическое и угнетающее действие водных экстрактов сигаретных окурков в концентрациях 40 и 70 шт. на 2 л воды на прорастание семян, процессы роста и выживаемость растений в опытных рассадниках.

3.2. Показатели кресс салата как индикаторы загрязнения сигаретными отходами (Этап 2)

Для того, чтобы изучить изменения, происходящие в организме тест растений, до появления необратимых нарушений их развития и гибели, в

ходе второго этапа эксперимента семена кресс салата подвергали действию водных экстрактов сигаретных окурков более низких концентраций (5, 10 и 20 шт. сигаретных фильтров на 2 л воды соответственно). Оценивали процент всхожести, изменения длины побегов, а также показатели ФА семядольных листьев и прооксидантно-антиоксидантной системы.

3.2.1. Влияние водных экстрактов сигаретных окурков на прорастание семян кресс салата и рост побега

Согласно данным рисунка 1, на второй день эксперимента корень появился у всех семян в контрольном рассаднике и опытных рассадниках № 1 и № 2. В рассаднике № 3, появление корня отмечено у 29 семян (рис. 3.9).

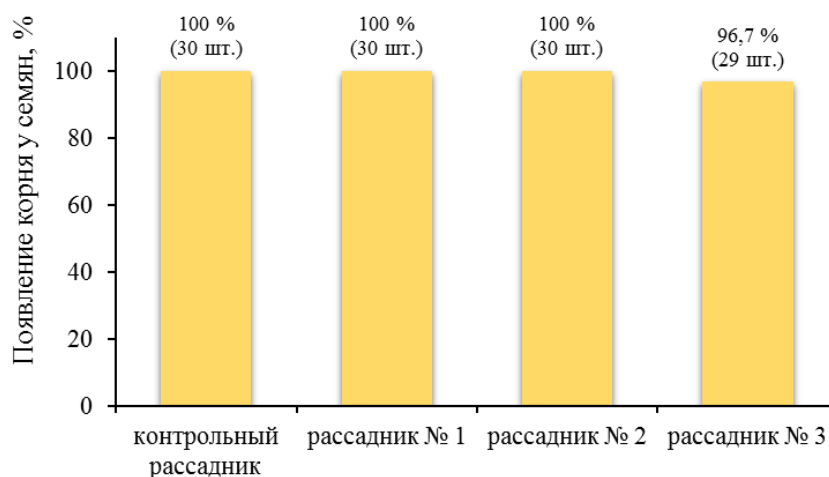


Рис. 3.9 Появление корня у семян кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на второй день эксперимента

На третий день эксперимента появление стебля с листьями отмечено у 25 семян из контрольного рассадника, а также у 23, 19 и 15 семян из рассадников № 1, № 2 и № 3 соответственно (рис. 3.10 А, Б).

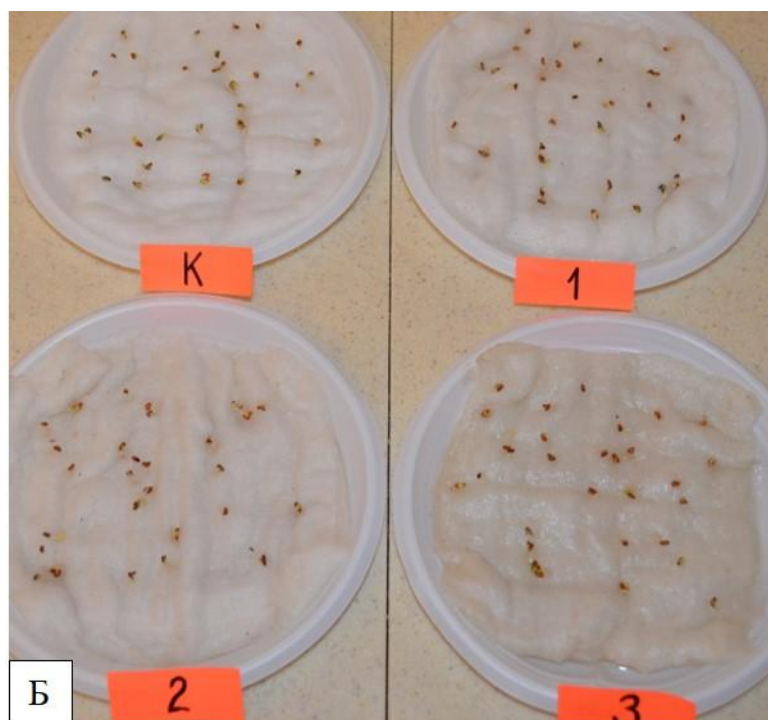
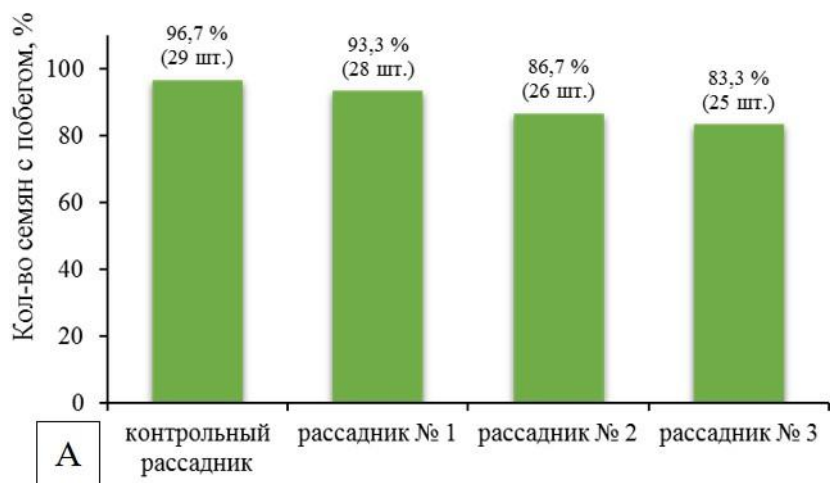


Рис. 3.10 Появление побегов кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на третий день эксперимента: А – диаграмма, Б – фото

На четвертый день эксперимента появление побега отмечено еще у 4, 5, 7 и 10 семян в контрольном и опытных рассадниках (№ 1, 2 и 3) соответственно (рис. 3.11 А, Б).

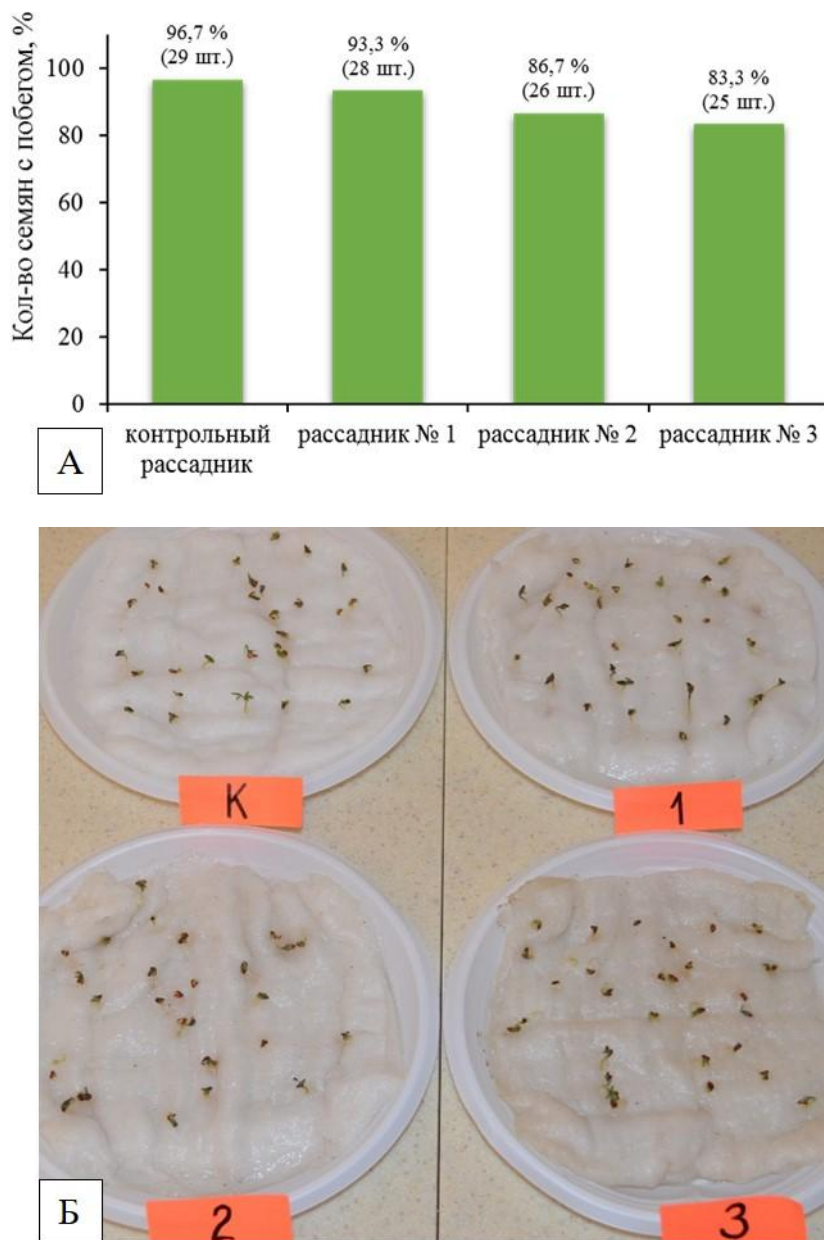


Рис. 3.11 Появление побегов кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на четвертый день эксперимента: А – диаграмма, Б – фото

На пятый день эксперимента побег имели все семена (30 шт.) в контрольном рассаднике и рассаднике № 1. В рассадниках № 2 и № 3 побег имели 29 и 28 семян соответственно (рис. 3.12).

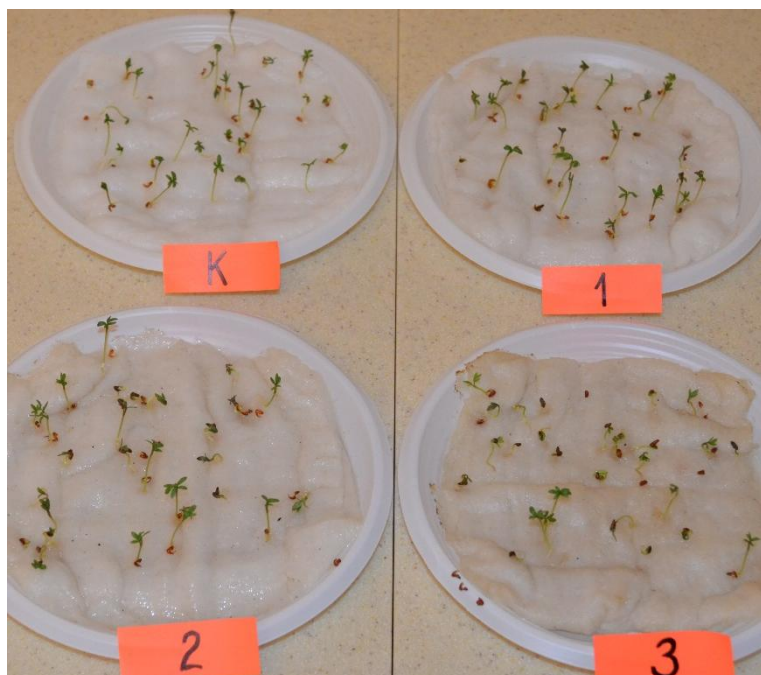


Рис. 3.12 Появление побегов кресс салата в контрольном и опытных рассадниках на пятый день эксперимента

Изменение длины побегов, также, как и процент всхожести семян, является простым и информативным показателем оценки токсичности субстрата. Средняя длина побегов кресс салата в контрольном и опытных рассадниках в разные дни эксперимента представлена на рисунке 3.13.

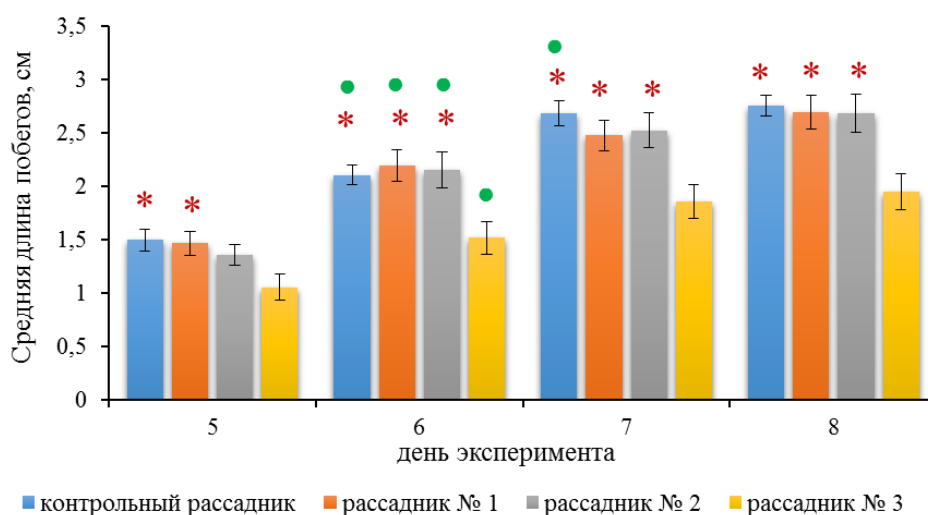


Рис. 3.13 Средняя длина побегов кресс салата ($M \pm m$, см) в контрольном и опытных рассадниках в разные дни эксперимента

Примечания: * – различия достоверны между значениями средней длины побегов в рассаднике № 3 и других рассадниках; ● – между соответствующим рассадником в каждый последующий день эксперимента по сравнению с предыдущим

Установлено, что средняя длина побегов на 5-й, 6-й, 7-й и 8-й дни эксперимента была достоверно ниже ($p \geq 0,05-0,001$) в рассаднике № 3 по сравнению с другими группами растений. Достоверных отличий между значением средней длины побега в контрольном рассаднике и группами № 1 и № 2 не установлено. Однако, значения минимальной и максимальной длины побега колебались в больших пределах в опытных рассадниках по сравнению с контрольным, что свидетельствует о неблагоприятных условиях в опытных группах (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Значения минимальной и максимальной длины (см) побегов кресс салата в контрольном и опытных рассадниках в разные дни эксперимента

Рассадник	День эксперимента							
	5-й		6-й		7-й		8-й	
	min-max	Δ	min-max	Δ	min-max	Δ	min-max	Δ
контрольный	0,5–2,5	2,0	0,7–3,0	2,3	1,4–3,8	2,4	1,6–4,0	2,4
№1	0,2–2,3	2,1	0,4–3,4	3,0	0,5–4,0	3,5	0,7–4,2	3,5
№2	0,2–2,7	2,5	0,3–3,2	2,9	0,5–4,0	3,5	0,6–4,1	3,5
№3	0,1–2,4	2,3	0,2–2,8	2,6	0,3–3,1	2,8	0,3–3,5	3,2

Примечания: Δ – разница между максимальным и минимальным значением длины побега в рассаднике

В то же время анализ суточных изменений средней длины побегов показал достоверное увеличение ($p \geq 0,05-0,001$) этого показателя во всех рассадниках на 6-й день эксперимента по сравнению с 5-м (рис. 3.13). На 7-й день эксперимента средняя длина побегов была достоверно выше только для контрольной группы растений ($p \geq 0,001$), изменения этого показателя для других рассадников достоверных отличий не имели. На 8-й день во всех рассадниках достоверных изменений средней длины побега с предыдущим днем не обнаружено.

Таким образом, результаты исследований позволили установить негативное влияние водных экстрактов сигаретных окурков в концентрации 20 шт. на 2 л воды на рост растений (рассадник № 3), тогда как более низкие

концентрации не повлияли на показатель средней величины побега в рассадниках № 1 и № 2. Анализ процента всхожести семян не показал существенных отличий между исследуемыми группами, что говорит о меньшей чувствительности этого показателя к действию низких и средних концентраций сигаретных отходов (5, 10 и 20 шт. на 2 л воды). В то же время отмечено смещение сроков появления побега у растений из рассадников № 2 и № 3.

3.2.2. Влияние водных экстрактов сигаретных окурков на показатели флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков семядольных листьев кресс салата

Другим доступным для анализа и информативным параметром является показатель флуктуирующей асимметрии ФА, который представляет собой незначительные отклонения от строгой билатеральной симметрии и увеличивается у растений при неблагоприятных условиях в среде обитания. В связи с чем, изучали показатели асимметрии длины и ширины центральной доли листа в контрольном и опытных рассадниках (рис.3.14).

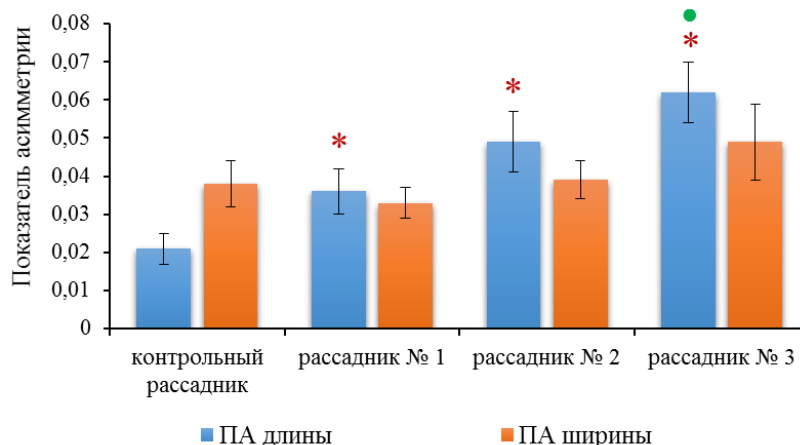


Рис. 3.14 Показатели асимметрии длины и ширины центральной доли листа в контрольном и опытных рассадниках

Примечания: * – различия достоверны между значениями показателя асимметрии длины центральной доли листа в контрольном рассаднике по сравнению с опытными рассадниками; • – между рассадниками № 1 и № 3

Согласно данным рисунка 1, ПА длины семядольных листьев растений был достоверно выше во всех опытных рассадниках по сравнению с контрольным ($p \geq 0,05-0,001$) и достоверно увеличивался в ряду: контрольный рассадник → рассадник № 1 → рассадник № 2 → рассадник № 3. ПА ширины семядольных листьев не показал достоверных отличий между сравниваемыми группами.

Таким образом, результаты исследований позволили установить высокую чувствительность ПА длины семядольных листьев кресс салата при действии низких концентраций водных экстрактов сигаретных окурков, что позволяет рекомендовать этот показатель для оценки токсичности субстратов при загрязнении сигаретными отходами.

3.2.3. Влияние водных экстрактов сигаретных окурков на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы листьев кресс салата (Этап 2)

В связи с тем, что видимые изменения развития растений, такие как процент всхожести семян, изменение сроков прорастания и рост побегов, являются следствием изменений, происходящих в первую очередь на молекулярном уровне, изучали активность КАТ, обезвреживающей перекись водорода (рис. 3.15) и уровень ТБК-активных продуктов – прямой показатель тканевого повреждения при окислительном стрессе (рис. 3.16).

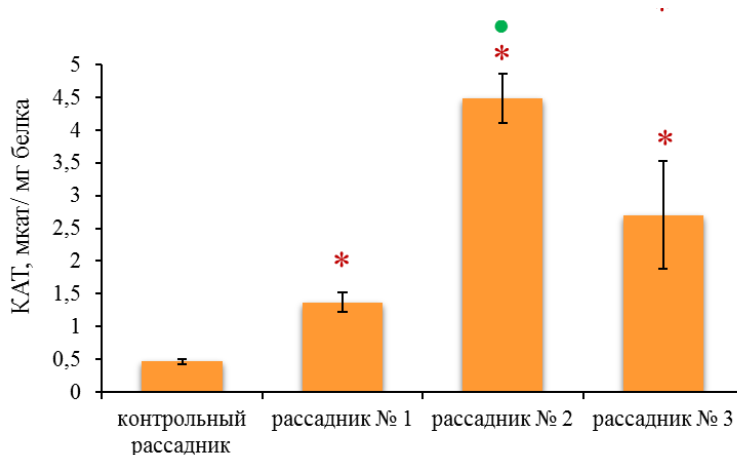


Рис. 3.15 Активность каталазы в гомогенатах листьев кресс салата в контрольном и опытных рассадниках

Примечания: * – различия достоверны между активностью КАТ в гомогенатах листьев растений из контрольного рассадника по сравнению с опытными рассадниками;
● – между рассадниками № 1 и № 2

Согласно данным рисунка 3.15, активность КАТ была достоверно ниже в гомогенатах листьев растений из контрольного рассадника по сравнению с рассадниками № 1 ($p \geq 0,001$), № 2 ($p \geq 0,001$) и № 3 ($p \geq 0,01$). Активность этого фермента достоверно увеличивалась в листьях кресс салата из рассадника № 2 по сравнению с рассадником № 1 ($p \geq 0,001$).

Содержание ТБК-активных продуктов в листьях растений достоверно увеличивалось ($p \geq 0,01-0,001$) в ряду: контрольный рассадник → рассадник № 1 → рассадник № 2 → рассадник № 3, что свидетельствует об увеличении окислительного повреждения клеточных мембран листьев растений с увеличением количества сигаретных фильтров в экстракте (рис. 3.16).

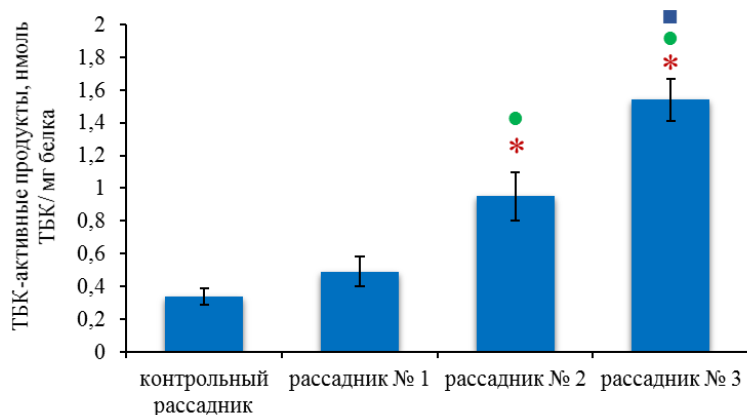


Рис. 3.16 Содержание ТБК-активных продуктов в гомогенатах листьев кресс салата в контрольном и опытных рассадниках

Примечания: * – различия достоверны между содержанием ТБК-активных продуктов в гомогенатах листьев растений из контрольного рассадника по сравнению с опытными рассадниками; ● – между рассадником № 1 и другими рассадниками;
■ – между рассадниками №2 и № 3

Таким образом, результаты исследований позволили установить высокую чувствительность показателей прооксидантно-антиоксидантной системы листьев кресс салата к действию низких концентраций экстрактов сигаретных окурков, что позволяет их использовать для ранней биоиндикации токсичности субстрата.

РАЗДЕЛ 4

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты *первого этапа* эксперимента показали выраженное токсическое и угнетающее действие водных экстрактов сигаретных окурков в концентрациях 40 и 70 шт. на 2 л воды на прорастание семян, процессы роста и выживаемость растений в опытных рассадниках.

Семена из контрольного рассадника превосходили семена из рассадников № 1 и № 2 по всем исследуемым характеристикам: количеству проросших семян и срокам прорастания, средней длине растения (корень + побег) и выживаемости.

Установлено снижение количества проросших семян кресс салата с увеличением концентрации сигаретных отходов в опытном рассаднике. Можно предположить, что семенная кожура частично предохраняла семена из рассадника № 1 от токсического действия сигаретных экстрактов в концентрации 40 шт. на 2 л воды, что повлияло на сроки прорастания. Действие более высоких концентраций сигаретных экстрактов на семена из рассадника № 2 (70 шт. на 2 л воды) привело не только к смещению сроков прорастания, но и снижению процента проросших семян почти в половину. Контакт семян/ растений с загрязненным субстратом в опытных группах привел к необратимым нарушениям их развития и гибели.

Результаты *второго этапа* эксперимента позволили установить негативное влияние водных экстрактов сигаретных окурков в концентрации 20 шт. на 2 л воды на рост растений (рассадник № 3), тогда как более низкие концентрации (5 и 10 шт. на 2 л воды) не повлияли на показатель средней величины побега в рассадниках № 1 и № 2 соответственно. Анализ процента всхожести семян не показал существенных отличий между исследуемыми группами, что говорит о меньшей чувствительности этого показателя к действию низких и средних концентраций сигаретных отходов (5, 10 и 20 шт.

на 2 л воды). В то же время отмечено смещение сроков появления побега у растений из рассадников № 2 и № 3.

ПА длины семядольных листьев растений был достоверно выше во всех опытных рассадниках по сравнению с контрольным и достоверно увеличивался в ряду: контрольный рассадник → рассадник № 1 → рассадник № 2 → рассадник № 3.

Основной функцией КАТ является обезвреживание перекиси водорода, что наряду с другими АО ферментами позволяет поддерживать содержание АФК на безопасном для организма уровне, препятствуя развитию окислительного повреждения тканей. В наших исследованиях активность КАТ была достоверно выше в листьях растений из всех опытных рассадников по сравнению с контрольным, что свидетельствует об увеличении образования АФК в растительной клетке при действии сигаретных отходов. Установлено, что действие водных экстрактов сигаретных окурков в количестве 5 шт. на 2 л воды не привело к достоверному увеличению содержания ТБК-активных продуктов в листьях растений, тогда как сигаретные окурки в концентрациях 10 и 20 шт. на 2 л воды привели к интенсификации окислительного повреждения тканей растений в рассадниках № 2 и № 3. У растений из рассадника № 3 (20 шт. сигаретных фильтров на 2 л воды) значение этого показателя в 4,5 раза было выше по сравнению с контрольным рассадником, что нашло свое отражение и на организменном уровне (смещение сроков прорастания, снижение длины побега и увеличение ПА листьев кресс салата).

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о высокой чувствительности показателей прооксидантно-антиоксидантной системы и ПА длины семядольных листьев кресс салата к действию низких концентраций водных экстрактов сигаретных окурков, что позволяет рекомендовать их для оценки токсичности субстратов при разной степени загрязнении сигаретными отходами.

ВЫВОДЫ

1. Высокие концентрации водных экстрактов сигаретных окурков (40 и 70 шт. на 2 л воды) оказывают выраженное токсическое и угнетающее действие на прорастание семян, процессы роста и выживаемость растений.

2. Низкие и средние концентрации водных экстрактов сигаретных окурков (5, 10 и 20 шт. на 2 л воды) не оказывали или оказывали незначительное влияние на количество проросших семян в опытных рассадниках. Процент проросших семян составил 100 %, 96,7 % и 93,3 % соответственно.

3. Установлено снижение средней длины побега при действии водных экстрактов сигаретных окурков в концентрации 20 шт. на 2 л воды, тогда как более низкие концентрации (5 и 10 шт. на 2 л воды) не повлияли на этот показатель.

4. ПА длины семядольных листьев растений был достоверно выше во всех опытных рассадниках по сравнению с контрольным и возрастал с увеличением количества сигаретных окурков в экстракте (от 5 до 20 шт. соответственно).

5. Активность КАТ и содержание ТБК-активных продуктов были достоверно выше в гомогенатах листьев растений из опытных групп и возрастали с увеличением количества сигаретных фильтров в экстракте.

6. ПА длины семядольных листьев кресс салата, а также показатели прооксидантно-антиоксидантной системы являются наиболее чувствительными к действию низких концентраций водных экстрактов сигаретных окурков, что позволяет рекомендовать их для оценки качества субстрата при низком уровне загрязнения сигаретными отходами.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Николаев А.А. Технологии сбора и сепарации сигаретных отходов /(ТБО) Твердые бытовые отходы (Научно-практический журнал). – март 2015. <http://rsbor-msk.ru/wp-content/uploads/2015/05/ТБО-03-2015.pdf>
2. Россия вошла в пятерку самых «курящих» стран. Новости. СеверПост.<http://severpost.ru/read/53048/>
3. Чумаков Л. Экология. Окурки в природе – проблема для нас?http://naviny.by/rubrics/opinion/2014/04/13/ic_articles_410_185200
4. Экотехнологии. Переработка окурков. <http://eco-tehnology.ru/article/okurki>
5. Хусайнова К.Н. Гигиеническая оценка влияния нефтепродуктов на окружающую среду/ Вестник КазНМУ. 2016. №1. С. 449–450.
6. Новости химической науки. Окурки сигарет как источник химического сырья. <http://www.chemport.ru/datenews.php?news=2067>
7. Олиферчук В.П. Биоиндикация: учеб. практикум. – Львов: Изд-во РВВНЯГУ Украины, 2008. 38 с.
8. Мамедова А.О. Биоиндикация качества окружающей среды на основе мутационной и модификационной изменчивости растений // Цитология и генетика. 2009. № 2. С. 61–64.
9. Рунова Е.М., Гнаткович П.С. Экологическая оценка рекреационных зон города Братска методом флуктуирующей асимметрии березы повислой // Фундаментальные исследования. 2013. №11. С. 223-227.
10. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М.: КДУ, 2007. 140 с.
11. Кретович, В.Л. Биохимия растений / В.Л. Кретович. Учебник для биол. фак-тов ун-тов. – М.: Высшая школа, 1980. 445 с.
12. Савинов А.Б., Курганова Л.Н., Шекунов Ю.И. Интенсивность перекисного окисления липидов у *Taraxacum officinale* Wigg. и *Vicia cracca* L.

в биотопах с разным уровнем загрязнения почв тяжелыми металлами // Экология. – 2007. №3. С. 191–197

13. Здоровье среды: методика оценки. — М.: Центр экологической политики России, 2000. 68 с.

14. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–18.

15. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66–68.

16. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк. 1990. 352 с.