

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**  
( Н И У « Б е л Г У » )

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

**Кафедра биотехнологии и микробиологии**

**ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ  
СЕМЕЙСТВА *ASTERACEAE* И СЕМЕЙСТВА *LAMIACEAE* НА  
ШТАММЫ *ESCHERICHIA COLI***

**Магистерская диссертация**  
Студента очной формы обучения  
направления подготовки 06.04.01.68 Биология  
магистерская программа Микробиология  
2 года обучения группы 07001643  
Доценко Анастасии Евгеньевны

**Научный руководитель**  
кандидат  
сельскохозяйственных наук,  
доцент Скорбач В.В.

**Рецензент**  
доцент, кандидат  
биологических наук,  
зав. лаборатории  
ООО «РН-Туапсинский  
НПЗ»  
Шевченко В.А.

**БЕЛГОРОД 2018**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	7
1.1. Содержание действующих веществ в лекарственных растениях	8
1.1.1. Морфобиологическая характеристика семейства <i>Asteraceae</i> и применение ее представителей в медицине.....	9
1.1.2. Морфобиологическая характеристика семейства <i>Lamiaceae</i> и применение ее представителей в медицине.....	12
1.2. Характеристика штамма <i>Escherichia coli</i> .....	15
1.3. Взаимоотношения растений и микроорганизмов.....	19
ГЛАВА 2. ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ЧАСТЬ.....	28
2.1. Объекты исследования.....	28
2.2. Сушка, хранение лекарственного растительного сырья.....	29
2.3. Методы исследования .....	32
2.3.1. Приготовление питательных сред.....	32
2.3.2. Метод выделения чистой культуры аэробных микроорганизмов... ..	35
2.3.3. Методы микроскопического исследования микроорганизмов.....	36
2.4. Статистическая обработка результатов .....	37
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
3.1. Микробиологическое исследование <i>Escherichia coli</i> .....	39
3.2. Общая численность микроорганизмов выросших на питательной среде.....	40
3.3. Статистическая обработка полученных данных.....	46
3.3.1. Обработка полученных данных методом дисперсионного анализа..	46
3.3.2. Обработка полученных данных разностным методом.....	48
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	69

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	73
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	80

## ВВЕДЕНИЕ

С древних времен растения использовались в качестве естественного источника альтернативной медицины и играют важную роль в нашей жизни. Люди пытались находить в разных лекарственных растениях источники для облегчения боли и лечения различных заболеваний. Из-за острой нехватки синтетических антибиотиков и увеличения противопоказания для их использования, существует растущий интерес в мире использование натуральных средств на основе лекарственных трав, поэтому постоянно расширяются рынки трав и травяных сборов на основе лекарственных препаратов во всем мире. Это привело к экспоненциальному росту числа исследовательских групп в разных географических точках и генерация объема научных данных в этой области в течение короткого промежутка времени (70).

Существует большое количество исследователей в разных частях мира, работающих над различными аспектами лекарственных растений и растительных лекарственных средств.

Лекарственные растения устраняют патогенную флору и способствуют развитию нормальной кишечной палочки. Кроме того, они позволяют восстановить функции кишечника, а также помогают устранить воспаление. Все это способствует восстановлению функций поджелудочной железы, печени, желудка и желчевыводящих путей. Эффективное лечение дисбактериоза с помощью натуральных средств – лечение лекарственными травами. С их помощью можно уничтожить патогенную флору кишечника, очистить и наладить его работу.

Внимание специалистов Белгородской области привлекают растения, используемые для коррекции дисбактериоза. Они способны синтезировать и накапливать огромное количество биологически активных веществ (БАВ),

которые могут оказать стимулирующее влияние на рост микроорганизмов, давать хороший терапевтический эффект (58).

*Актуальность.* Разработка и выпуск препаратов растительного происхождения имеют огромное значение для развития современной медицины и фармации.

По сравнению со многими химическими препараты растительного происхождения хорошо переносятся больными и не вызывают конкретных побочных явлений, например, аллергических реакций.

Из общего перечня лекарственных средств, используемых в мировой медицинской практике для лечения дисбактериоза, третью часть составляют препараты растительного происхождения (34). Например, в медицинской практике широко используются стероиды, аспирин, сердечные гликозиды, алкалоиды, витамины, каротиноиды, цитостатики, антибиотики и другие лекарства, изначально выделенные из натуральных источников (33).

В литературе имеются сведения о химической активности лекарственных растений на некоторые микроорганизмы, но целостной и полной информации по данному вопросу найти практически невозможно, поэтому проблема влияния экстрактов лекарственных растений семейства *Asteraceae* и семейства *Lamiaceae* на *Escherichia coli* является актуальной.

*Объект исследования.* Объектом исследования являются надземные части растений семейства *Asteraceae* (*Calendula officinalis* L., *Artemisia absinthum* L., *Achillea millefolium* L., *Tanacetum vulgare* L.) и семейства *Lamiaceae* (*Mentha piperita* L., *Salvia officinalis* L., *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L.) Выбор растений обусловлен тем, что они обладают антибактериальной активностью.

*Предмет исследования.* Предметом исследования являлась оценка влияния экстрактов лекарственных растений на рост и развитие бактериальной культуры *Escherichia coli*.

*Научная новизна.* Экспериментально доказать влияние водных экстрактов лекарственных растений семейства *Asteraceae* и семейства *Lamiaceae* на развитие бактериальной культуры *Escherichia coli*.

В нашей работе были поставлены следующие цели: в ходе эксперимента изучалось влияние экстрактов лекарственных растений семейства *Asteraceae* и семейства *Lamiaceae* на рост и развитие бактериальной культуры *Escherichia coli*.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить действие водных экстрактов лекарственных растений при разных концентрациях (1/10 г/мл, 1/20 г/мл) на бактерии *Escherichia coli* семейства *Asteraceae*.
2. Изучить действие водных экстрактов лекарственных растений при разных концентрациях (1/10 г/мл, 1/20 г/мл) на бактерии *Escherichia coli* семейства *Lamiaceae*.
3. Оценить возможность использования экстрактов лекарственных растений для подавления активности *Escherichia coli*.
4. Проанализировать полученные данные.

*Методы исследования.* Экстракты лекарственных растений получали по методике, регламентированной в Государственной фармакопее Российской Федерации (2015). Содержание жизнеспособных клеток *Escherichia coli* контролировали бактериологическим методом. Морфологические свойства микроорганизмов изучали бактериоскопическим методом с окрашиванием по Граму.

## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Организм человека и окружающая природа находятся в постоянном взаимодействии. Изменения, происходящие в окружающей среде, влияют на макро- и микросистемы человека. Начало XXI века характеризуется резким ухудшением экологии, возрастанием стрессовых воздействий и ряда других факторов, которые оказывают отрицательное влияние на здоровье населения.

С этим и рядом других факторов связывают увеличение частоты возникновения дисбактериозов, острых кишечных инфекций и других хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у людей различных возрастных групп (62).

Микроорганизмы и кишечная микрофлора являются относительно стабильной экологической системой, равновесие которой определяется, с одной стороны, иммунологическими и физиологическими особенностями микроорганизма и, с другой стороны, видовым и количественным составом микробного состава. Считают, что нормобиоценоз кишечника человека является сложнейшей экологической системой, которая является своеобразным органом иммунной системы. Нарушение состава микрофлоры в организме (дисбактериозы) может иметь тяжелые последствия. Длительные и сильные действующие отрицательные воздействия могут нарушать гомеостаз или привести к тяжелым заболеваниям ЖКТ (3).

При нормальном физиологическом состоянии взаимоотношения микроорганизмов и микрофлоры кишечника носит симбиотический характер, при этом флора оказывает на общий иммунитет существенное влияние и резистентность хозяина к инфекциям, принимает активное участие в синтезе различных БАВ и пищеварении. Со своей стороны микроорганизмы оказывают регулирующее на состав кишечной микрофлоры посредством кислотности желудочного сока, желчных солей и других факторов. Стабильность микробных

ассоциаций в организме человека имеет огромное значение для жизнедеятельности хозяина и является одним из основных показателей его здоровья (61).

Все это обуславливает широкое применение средств, способствующих восстановлению и поддержанию иммунобиологического гомеостаза. Необходимо отметить, что организм человека обладает огромными резервами здоровья и часто эти резервы задействованы не в полной мере и поэтому существует возможность их мобилизации. Одним из факторов, способствующих активизации собственных сил организма, является симбионтная микрофлора и биологически активные соединения, которые она синтезирует (31).

### **1.1. Содержание действующих веществ в лекарственных растениях**

Специфическая особенность лекарственных растений состоит в том, что они способны синтезировать большое количество самых разнообразных химических соединений различной природы, зачастую весьма сложных по строению, относящихся к разным классам. Установлено, что лечебными свойствами обладают лишь те из них, для которых характерна физиологическая активность и которые по этому признаку объединяются в категорию биологически активных веществ (БАВ), их иногда называют действующими веществами или фармакологически активными (22,43,10).

Помимо действующих веществ, в растениях всегда содержатся и другие, так называемые, сопутствующие соединения, способные оказать определенное влияние на проявление главного воздействия БАВ. При этом, сопутствующие вещества могут повышать всасываемость действующих веществ и, таким образом, ускорять их усвоение, могут усиливать полезное или уменьшать вредное действие, но могут быть даже ядовитыми (27,41,62).



Лечебное действие лекарственных растений в связи с наличием в их структуре биологически активных веществ, которые поступают в тело человека и животных, даже в очень малых количествах, обладают физиологической активностью. Эти активные вещества, синтезируемые растениями из воды и неорганических минеральных веществ, поступают через корневую систему из почвы. Синтез биологически активных веществ в растениях происходит под действием солнечной энергии. Биологически активные вещества в фармакологии принято называть действующими веществами. К числу таких веществ относят эфирные масла, алкалоиды, дубильные вещества, гликозиды, флавоноиды, витамины, смолы, сапонины, различные органические кислоты, микроэлементы (29,10,62).

Качественный состав и количество этих веществ зависит от условий произрастания растения, фазы развития, времени сбора, способа сушки, способа хранения и других факторов (9,27,40,41). Так, по современным данным (28), максимальное накопление рутина в листьях кровохлебки в фазе бутонизации в 1,7 раз выше, чем в фазе цветения.

### **1.1.1. Морфобиологическая характеристика семейства *Asteraceae* и применение ее представителей в медицине**

Семейство *Asteraceae* – является самым крупным семейством среди цветковых растений, включающее 25 000 видов. Подавляющее большинство астровых умеренной зоны – травянистые растения. Представители семейства распространены повсеместно, где вообще возможно существование высших растений – на черноземах и бесплодных песках, от тундр до экватора, от альпийских лугов до морских побережий.

К особенностям растений относятся: наличие корзинки как базового соцветия, видоизменения прицветников в листочки обертки, редукция чашечки, срастание пыльников тычинок.

Использование представителей семейства *Asteraceae* определяется богатством их вторичных метаболитов. В настоящее время известно более 10 000 вторичных метаболитов, образуемых астровыми. У представителей семейства очень широко распространены сесквитерпеновые лактоны в составе эфирных масел и горечей, а также флавоноиды различных групп. Поэтому очень многие астровые – известные лекарственные растения (32).

Полынь горькая – *Artemisia absinthum* L.

Полынь содержит эфирное масло (до 2%), в состав которого входят эфиры туйилового спирта, азулен, туйол, туйон; дубильные вещества; сапонины; органические кислоты: яблочная, янтарная, уксусная; каротин, витамин С (24).

В России траву и листья полыни горькой используют для приготовления настоя, настойки, экстракта, кроме того, они входят в состав горького экстракта, аппетитных и желчегонных сборов. В медицинской практике препараты полыни применяют как ароматическую горечь для возбуждения аппетита и симулирования пищеварения, как средство, нормализующее секрецию желудочного сока, диуретические, противовоспалительное, слабительное, полезное при диспепсии, потере аппетита заболеваниях желчного пузыря и печени, бессоннице (32).

В виде водных экстрактов полынь горькая проявляет большую противогрибковую активность (29,45).

Род тысячелистник насчитывает около 100 видов, растущих главным образом в умеренной зоне северного полушария.

Тысячелистник обыкновенный – *Achillea millefolium* L.

Трава и цветки тысячелистника содержат эфирное масло (1%), в составе которого хамазулен, камфора, барнеол, тайон, цинеол, гераниол; флавоноиды;

сапонины; дубильные вещества, полисахариды (4,6%); смолы; органические кислоты; витамин С, К, каротин; камеди (57).

В научной медицине широко используется для лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, различных воспалительных заболеваний мочевыводящих путей, обладает бактерицидными и противовоспалительными свойствами, используют как вяжущее при желудочно-кишечных расстройствах, кровоостанавливающее (при легочных, носовых, геморроидальных и других кровотечениях). Его препаратами лечат нарушения обмена веществ. Тысячелистником лечат болезни нервной системы. Его успешно применяют в разных ситуациях, которые связаны с кровью. Считается, также, что препараты из тысячелистника могут восстановить лактацию. Растение используется в свежем виде, в виде экстрактов, спиртовых и водных настоев, отваров, входит в состав желудочных и аптечных сборов.

В народной медицине тысячелистник обыкновенный применяют как ранозаживляющее и кровоостанавливающее, при некоторых заболеваниях печени, головной боли, истериках, при недержании мочи, болезнях мочеполовой и мочекаменной систем, бессоннице (44).

Календула лекарственная – *Calendula officinalis L.*

Цветки календулы содержат в своем составе каротиноиды (до 0,04%), более богаты сорта, которые ярко окрашенные; смолы, аскорбиновую кислоту, флавоноиды, эфирные масла, органические кислоты. Оптимальное время для заготовки признан период с июля по первую половину августа: в этот период наблюдается накопление действующих веществ и обильное цветение (15).

Календула оказывает свое противовоспалительное действие, способствует регенерации слизистых оболочек кишечника и желудка, а также помогает заживать эрозии и язвы. Препараты календулы используют для полоскания полости рта и горла при стоматите и ангине. Также препараты календулы применяют для лечения ожогов, язв, свищей, долго незаживающих

ран, а также язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и желудка, заболеваний печени и гастритов (18).

Пижма обыкновенная – *Tanacetum vulgare* L.

Цветки пижмы содержат флавоноиды (более 2,5%); Эфирное масло (0,9%), в составе которого камфора, туйол, борнеол, дубильные и горькие вещества; алкалоиды; органические кислоты; аскорбиновая кислота (до 9 мг%), каротиноиды. По данным (54) максимальное содержание суммы флавоноидов и фенолокислот наблюдалось в фазе бутонизации – начале цветения. Сбор сырья пижмы оптимален в фазе начала цветения – массового цветения: в этот период получается хороший выход биомассы при достаточно высоком уровне полифенолов.

Известно желчегонное действие пижмы. Установлено, что желчегонной активностью обладают настои, спиртовые экстракты и группы биологически активных веществ пижмы обыкновенной (31).

### **1.1.2. Морфобиологическая характеристика семейства *Lamiaceae* и применение ее представителей в медицине**

По современным представлениям, семейство *Lamiaceae* включает около 7000 видов. Представители семейства – травы, кустарники, лианы, небольшие и крупные деревья. Космополитное семейство, растения которого распространены от тропических лесов до арктической тундры. Характерными признаками семейства являются: четырехгранный стебель травянистых представителей; супротивные, очень редко очередные листья, чаще простые, цельные, реже раздельные или рассеченные или тройчатосложные, перистосложные и даже дважды перистосложные, край листа в основном зубчатый; зигоморфные цветки, собранные в тирсы (39).

Для растений семейства *Lamiaceae* характерно наличие эфирных масел, ди- и тритерпеноидов, иридоидных гликозидов, бетаинов, найдены также сапонины, полифенолы и танниды, хиноны и кумарины.

К лекарственным растениям семейства Яснотковых, разрешенным к применению в официальной медицине и широко используемым, относятся мята перечная, Melissa лекарственная, шалфей лекарственный, душица обыкновенная, тимьян ползучий и многие другие (10).

Мята перечная – *Mentha piperita* L.

Листья мяты перечной в своем составе содержат эфирные масла более 1%, содержащего в свободном состоянии и в виде эфира не менее 50% ментола. Флавоноиды и каротин так же содержатся в составе листьев (37).

Содержание эфирного масла в фазу ветвления составило 3,35-2,81%, бутонизации – 3,72-2,73, массовой бутонизации-цветения – 3,16-2,55% (66).

Листья мяты перечной разрешены к медицинскому применению в качестве настоя как спазмолитическое и желчегонное средство. Желчегонное действие препаратов мяты связывают с полифенолами. Эти препараты в эксперименте усиливают не только внешнесекреторную функцию печени, изменяют состав желчи, усиливают выделение с желчью холатов, холестерина и билирубина, повышает антитоксическую функцию печени, нормализует метаболизм (48,44).

Шалфей лекарственный – *Salvia officinalis* L.

Листья шалфея содержат эфирное масло более 0,9%, составляющими эфирного масла является тереноны, пинен, цинеол (до 17%) , тритерпеновые кислоты: олефновая и урсоловая, алкалоиды, смолистые вещества, фитонциды, флавоноиды, витамины Р и РР (60).

Листья шалфея лекарственного разрешены к медицинскому применению в качестве противовоспалительного средства в виде настоев и для получения препаратов. Настой листьев шалфея лекарственного обладают антисептическими, противовоспалительными свойствами. Противомикробные

свойства связывают с эфирным маслом, противовоспалительные – с флавоноидами и дубильными веществами, которые уплотняют эпителиальные ткани, снижают проницаемость клеточных мембран, стенок лимфатических и кровеносных сосудов (29,44).

Душица обыкновенная – *Origanum vulgare* L.

Трава душица в надземной части содержит эфирное масло (0,13-1,30%), в состав которого входит тимол (до 50%); флавоноиды; карвакрол; дубильные вещества (до 19%); аскорбиновая кислота. Семена душицы имеют большое количество жирного масла (до 30%). Максимальное содержание биофлавоноидов наблюдалось в период бутонизации (20).

Карвакрол и тимол, которые содержатся в траве, являются фенолами и обладают антибактериальными свойствами. Водный настой оказывает успокаивающее действие на нервную систему, усиливает секрецию бронхиальных и пищеварительных желез, повышает тонус кишечника. Применяют настои и брикеты травы душицы в качестве отхаркивающих и противовоспалительных средств при атонии кишечника, а также хроническом бронхите. Настои оказывают седативное и мочегонное действие. Входит в состав лекарственных сборов (64).

Тимьян ползучий – *Thymus serpyllum* L.

Используют цветущие олиственные побеги, содержащие эфирное масло (до 1,7%), состоящие из основного действующего вещества тимола (до 42%); дубильных веществ; горечи; камеди; флавоноиды (64).

Трава чабреца разрешена к медицинскому применению в качестве отхаркивающего средства в виде настоев. Получают эфирное масло (30).

## 1.2. Характеристика штамма *Escherichia coli*

*Escherichia coli* – живет в кишечнике, в количественном отношении, однако не основной (в кишечной флоре преобладают *Bifidobacterium* и *Bacteroides*). *Escherichia coli* может некоторое время жить и вне кишечника, и бактерию легко выявить. Естественным местом обитания эшерихий является кишечник теплокровных животных, человека, птиц, пресмыкающихся, насекомых рыб. Большинство штаммов *Escherichia coli* являются безвредными, но отдельный вид серотип O157:H7 может вызывать тяжелые пищевые отравления у людей. Нормальной микрофлорой человека и животных являются безвредные штаммы. *Escherichia coli*, синтезирует витамин К, устраняет развитие патогенных микроорганизмов, тем самым приносит пользу организму человека или животного. (4)

В зависимости от наличия патогенности и факторов и механизмов, влияющих на развитие инфекционного процесса, эшерихии были подразделены на две большие группы:

- 1 группа - вызывающие патологический процесс вне кишечной локализации;
- 2 группа - вызывающая развитие острых кишечных инфекций.

*E.coli*, вызывающие острые кишечные инфекции, подразделяют на 6 патотипов кишечных палочек:

- 1) энтеропатогены;
- 2) энтероинвазивные;
- 3) энтеротоксигенные;
- 4) энтерогеморрагические;
- 5) энтероагрегативные;
- 6) диффузноадгезирующие.

Первые способны продуцировать термолабильные и термостабильные токсины; вторые проникают и размножаются в клетках кишечного эпителия

подобно шигеллам. Энтерогеморрагические вызывают геморрагический колит, продуцируя шигаподобные энтеротоксины; энтероагрегативные обладают специфическим свойством агрегации к эпителиодным клеткам и диффузноадгезирующие диффузно прилипают к эпителиодным клеткам. Последние две группы эшерихий встречаются довольно редко.

Эшерихии – самостоятельный род в семействе *Enterobacteriaceae*. Классификация и номенклатура этих бактерий постоянно меняется. Первоначально на основе биохимических свойств они были разделены на *Bacterium coli commune*, *B.colilactis* и *B.lactisaerogenes*. Потом, по данным реакций с метиленовым красным Фогеса-Проскауэра и способности усваивать мочевины и цитрат, их разделили на две подгруппы: *coli* и *aerogenes*. В 1953 г. Международным номенклатурным комитетом было заменено родовое название *Bacterium* на *Escherichia*. По классификации, принятой на 5-м Международном конгрессе микробиологов, род *Escherichia* был разделен на 2 вида: *E.coli* и *E.freundii*. Международный комитет по *Enterobacteriaceae* предложил рассматривать в составе рода только один вид *Escherichia*. В настоящее время род *Escherichia* объединяет 5 видов: *E.coli*, *E.blattae*, *E.hermanii*, *E.vulneris* и *E.fergusoni* (66).

Способность *Escherichia coli* обитать не только в желудочно-кишечном тракте, а какое-то время выживать в окружающей среде, делают их главными для исследования образцов индикаторами на наличие фекальных загрязнений. Кишечная палочка играет главную роль в генетических исследованиях, так как бактерии являются самыми изученными, и их легко вырастить в лабораторных условиях. Кишечная палочка является одним из важнейших объектов микробиологии и биотехнологии.

Кишечные палочки очень часто выделяют в клинических микробиологических лабораториях. Эти бактерии – важная причина как кишечных, так и внекишечных заболеваний. В то же время *E.coli* - является представителем нормальной микрофлоры кишечника



Семейство *Enterobacteriaceae* представляют собой палочки размером 0,3-0,1 x 0,6-1,0 мкм, клетки палочковидные. Спор и капсул они не образуют. Для многих штаммов характерны микрокапсулы или капсулы. Некоторые обычно подвижные и снабжены перитрихальными жгутиками (кроме *Tatumella*), по Граму красятся положительно. Вырастить их можно в присутствии кислорода. Они хорошо растут и размножаются на обычных питательных средах. Их колонии гладкие, белые, блестящие, слегка выпуклые (12).

У диареегенных эшерихий обнаружили факторы колонизации, факторы инвазии, адгезии, экзотоксины и эндотоксин. Разные категории кишечной палочки различаются по свойствам и факторам их патогенности. Наиболее изученными являются:

1. Факторы колонизации, адгезии, инвазии, связанные с пилиями, белками наружной мембраны, фимбриальными структурами. Они кодируют с помощью плазмидных генов и могут способствовать колонизации нижних отделов тонкой кишки.
2. Эндотоксин. Все штаммы кишечной палочки имеют эндотоксин, обладающий адгезивными свойствами, и могут быть причиной эндотоксикоза.
3. Экзотоксины диареегенных *E.coli* имеют экзотоксины, подразделяющиеся на цитотоксины и цитотонины. Некоторые диареегенные *E.coli* образуют гемолизин, патогенные кишечные палочки способны вырабатывать бактериоцины.

Диареегенные кишечные палочки разделяются на 5 типов – энтеротоксигенные, энтероинвазивные, энтеропатогенные, энтерогемморагические и энтероадгезивные

Кишечная палочка является факультативным анаэробом, растет на питательной среде при температуре от 16 до 45<sup>0</sup> С, обладает дыхательным и бродильным типами метаболизма.

*Escherichia coli* продуцирует разлагающие многоатомные спирты и углеводы в разнообразные ферменты ( галактозу, салицин, лактозу, мальтозу,

глицерин маннит, рамнозу, непостоянно сахарозу и раффинозу, дульцит, глюкозу, сорбит) с образованием пируватов, превращающихся затем в формиловую, молочную и уксусные кислоты. Из формиловой кислоты образуется водород и углекислый газ. Большинство штаммов *Escherichia coli* серологического варианта O157:H7, как правило, не ферментируют сорбит.

Названные бактерии не расщепляют мочевины, не разжижают желатин, как правило, образуют индол, восстанавливают нитриты и нитраты, дают отрицательную Фогес - Проскауэра и положительную реакцию с метилротом, не выделяют сероводород. На средах с эритроцитами синтезируют  $\alpha$ -гемолизины и  $\beta$ -гемолизины (58).

По ферментативным культуральным и морфологическим свойствам, и патогенные и непатогенные разновидности *Escherichia coli* не отличаются друг от друга, что затрудняет выделение и идентификацию возбудителей инфекционной диареи.

Бактерии *Escherichia coli* неустойчивы к высоким температурам. При 56 °С погибают в течении одного часа, при 60 °С - за 9-14 минут, мгновенно при 100°С. Технологические температурные режимы в 67-71°С, используемые в большинстве случаев при приготовлении пищевых продуктов, инактивируют (убивают) *Escherichia coli*. В литературе имеются данные о том, что *Escherichia coli* размножаются в молоке и мясе при температуре 3-6 °С (условия холодильника). Они способны к длительной устойчивости (до 12 месяцев) к минусовым температурам (-17 °С... -21°С) (50).

Лечение эшерихиозов, вызванных диареегенными штаммами коли, комплексное:

- 1) Восстановление баланса между полезными и патогенными представителями кишечной флоры.
- 2) Восстановление водного баланса организма, которое нарушается, особенно у детей, правильное питание, диета.

- 3) Применение лекарственных средств, симптоматическая терапия, лечение народными средствами.
- 4) Профилактика дисбактериоза. Она включает в себя своевременное и правильное лечение хронических заболеваний, на фоне которых бывает дисбаланс кишечной флоры, параллельное с антибиотиками применение пробиотиков, соблюдение правил личной гигиены.

### **1.3. Взаимоотношения растений и микроорганизмов**

В природе микроорганизмы и высшие зеленые растения находятся в сложных взаимоотношениях друг с другом (67). Известны три типа взаимоотношений: симбиотическое, антагонистическое и метабиотическое.

В симбиозах с растением могут участвовать различные группы микроорганизмов. Классические пример симбиоза – микоризы древесных и травянистых растений и бактериозы бобовых (17).

Микробные симбионты трансформируют элементы минерального питания растений, продуцируют биологически активные соединения, несут защитную функцию, ассимилируют молекулярный азот. Азотфиксирующая способность бобовых широко используется в практике сельского хозяйства и наиболее изучена. Изучен симбиоз у не бобовых древесных растений на примере облепихи (33). Изучению микориз кустарников и древесных пород просвещены исследования многих ученых. Широкий диапазон теоретических и практических исследований микориз отмечен для сосны и дуба – основных объектов изучения многих ученых (7).

Взаимодействие растений и микроорганизмов трактуется с позиции аллелопатии. Аллелопатия – химическое взаимодействие растений – сложное и

широко распространенное явление. Микроорганизмы продуцируют исключительно богатый спектр физиологически активных веществ, начиная от витаминов, гиббереллинов и индолилуксусной кислоты и других стимуляторов роста растений, заканчивая разнообразными метаболитами и антибиотиками, физиологическая активность и химическая природа которых еще во многих проявлениях неизвестна. Микроорганизмы осуществляют колоссальную биохимическую работу в биогеоценозах, в результате которой образуется и накапливается гумус и сопутствующие низкомолекулярные продукты, обуславливающие аллелопатическое действие. Изучение биологических свойств почв показала, что функционирование биологической системы в значительной степени зависит от взаимодействия высших растений и микроорганизмов (6).

Обобщая данные о структуре микробного комплекса прикорневой зоны растений, можно сделать вывод о некоторой специфичности микроорганизмов для каждого вида растений, что определяется различными видами корневых выделений. Ризосферу молодых растений составляют бактерии родов *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Mycobacterium*, *Mycococcus*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Bacillus*, а так же небольшое количество дрожжей, грибов и актиномицетов (41). Микрофлора зоны корня представляет собой определенный биологический барьер, влияющий на взаимоотношения паразитов и высших растений. Потребляя питательные вещества, ризосферные микроорганизмы препятствуют развитию фитопатогенных микробов в почв. Многие сапрофиты являются антогонистами возбудителей болезней и подавляют их развитие. Это свойство широко используется в сельском хозяйстве: например, севообороте бобовых, которые обогащают почву азотом, что способствует размножению бактерий, угнетающих рост фитопатогенных грибов (14,35).

Часть микроорганизмов, развивающихся в корневой зоне растений, во время вегетации переходит на наземные органы, и продолжает здесь

размножаться. Некоторое количество микробов заносится на поверхность растений с пылью и насекомыми. Микроорганизмы, развивающихся на поверхности растений, образуют эпифитную микрофлору. Эти микробы не паразитируют растения, а растут за счет нормальных выделений его тканей и имеющихся на поверхности растений небольших количеств органических загрязнений. Состав питательных веществ на поверхности растений довольно скуден, поэтому и состав эпифитной микрофлоры довольно специфичен. Около 75% составляет *Erwinia herbicola* (*Pseudomonas herbicola*). В небольших количествах могут быть обнаружены и другие бактерии. Бацилл и актиномицетов среди эпифитных микроорганизмов мало, чаще встречаются споры различных грибов *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor* и т.д. растений, которые более интенсивно выделяют продукты обмена на поверхность тканей, микрофлора богаче и разнообразнее. Нередко среди эпифитных микроорганизмов обнаруживаются паразиты, нарушающие целостность растительных покровов и вызывающие заболевания растений (38).

В народной медицине издавна эмпирически использовали ряд растений в качестве противовоспалительных средств. С развитием химических и биохимических методов анализа эти растения стали изучать с научной точки зрения в результате проведенных исследований интерес к этим растениям вырос. Многие из них включены в регистр лекарственных средств и широко применяются в современной медицинской практике (54).

Синегнойная палочка – наиболее опасный компонент микрофлоры гнойных инфекций, оказалось резистентной почти ко всем антибиотикам. В задачу исследователей (11) входило поиск высокофитонцидных растений, действующих как на чистую культуру синегнойной палочки, так и на микробные ассоциации, в которых она встречается. Установлено *in vitro* высокая активность фитонцидов листьев ломоноса маньчжурского и прямого, дикорастущего лука – косоного и душистого, аронии черноплодной и кизильника блестящего в отношении микробных ассоциаций гнойных инфекций и чистой

культуры синегнойной палочки. Автор предложил провести широкое испытание исследованных растений при лечении инфицированных ран.

При изучении синергизма между аскорбиновой кислотой и биофлавоноидами, веществами, обладающими Р-витаминной активностью, показано, что сочетание обоих витаминов подавляет рост *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*, в то время как чистые растворы этих витаминов не обладают антибиотической активностью. Антибиотический эффект витаминного комплекса С и Р из шиповника объясняется ингибирующим действием биофлавоноидов на ферментативные системы микробных клеток, что связано со способностью флавоноидов образовывать комплексы с ионами металлов активных групп окислительных ферментов микробной клетки (5,13).

Однако наряду с ингибирующим, отмечено и стимулирующее действие экстрактов из лекарственных растений на рост микроорганизмов.

Было изучено (11) 39 видов растений Дальнего Востока и северного Кавказа на наличие в них биологически активных веществ. Результаты исследований позволили сделать вывод, что все они содержат вещества, стимулирующие рост и размножение дрожжей, за исключением пяти видов наперстянки (крупноцветный, желтой, красной, шерстистой, ржавой). Растения из семейства аралиевых (аралия Шмидта, элеутерококк, аралия маньчжурская, заманиха) содержат вещества, стимулирующие размножение дрожжевых клеток, и вещества, обладающие бактериостатическим и протистоцидным действием. Семена гармалы обыкновенной, корень девясила высокого и плоды калины обыкновенной обладали стимулирующими, бактерицидными протистоцидными и бактериостатическими свойствами, т.е. у этих растений ярко выражена двойственная природа БАВ. В семенах горчицы черной, донника лекарственного и мака-самосейки содержались вещества, обладающие протистотическими и стимулирующими свойствами. Бактерицидного и бактериостатического действия не обнаружено. Семена алтея лекарственного, тысячелистника обыкновенного (бактериостатическое и протистоцидное

действие). Некоторые части изученных растений: семена и лист василька синего, семена белены черной, мака-самосейки, семена люцерны, стебель и листья шалфея, гармалы семена и лист, тысячелистника, листья и корни элеутерококка, семена и корни женьшеня тебердинского, аралии маньчжурской, и некоторых других растений являются мощными естественными источниками витаминов группы В (11).

Сравнительное изучение антимикробной активности сухих экстрактов, полученных на основе водных и спиртовых (70 % этанол) извлечений из надземной части шалфея лекарственного (*S. officinalis* L.), в отношении *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* не выявило значительных различий (59). Не обнаружена бактерицидная активность в отношении *P. aeruginosa* у сухого экстракта (водного) из надземной части *S. tesquicola*. Исследованные сухие экстракты не проявили антифунгальной активности в отношении тест-культуры *Candida albicans* (61).

Растения синтезируют различные биологически активные соединения: полисахариды, алколоиды, гликозиды, сапонины, эфирные масла, органические кислоты и витамины, которые могут оказывать стимулирующее влияние на рост микроорганизмов. Ранее исследователями было проведено изучение влияния экстрактов лекарственных растений на рост микроорганизмов. Так, выявлено стимулирующее листьев душицы на кислотообразование *Lactobacillus plantarum* и ингибирующее влияние на масла душицы на рост и кислотообразование *Leuconotoc mesenteroides* (45). Исследованиями (1) показано, что экстракты травы душицы, листьев осины и липы оказывают стимулирующее эффект на рост бактерий. Полученные авторами данные позволили предположить возможность выделения из растительного сырья сильнодействующих стимуляторов роста микроорганизмов.

Изучались также экстракты из листьев хрена, а так же листьев и плодов жимолости, поскольку эти растения не включены в список лекарственных. В доступной нам литературе мы не нашли о них упоминания. По данным (49)

плоды жимолости синеплодной содержат аскорбиновой кислоты 100мг/100г, органических кислот 2-3%, а также вещества, обладающие Р-витаминной активностью. Листья хрена, по данным содержат 143,7 мг% витамина С.

Выявлено, что экстракты из молодых листьев хрен, плодов жимолости черноплодной и обыкновенной рябины и зерен кукурузы оказали заметное стимулирующее влияние на рост шигелл. Рост стафилококков заметно стимулировался экстрактами зерен кукурузы и незначительно экстрактами из плодов рябины обыкновенной (47).

Для предупреждения пищевых токсикоинфекций, вызываемых патогенными и условно-патогенными бактериями, накапливающимися в пищевых продуктах, было предложено использовать в качестве концентратов экстракты из лекарственных растений, обладающих антибактериальной активностью. Экстракты из травы зверобоя продырявленного, солянки, листьев березы, череды трехраздельной, шлемника байкальского, бархата амурского, бадана толстолистного и коры дуба анализировали методом диффузии в плотные питательные среды. Антимикробную активность экстракта определяли по образованию зон торможения роста внесенных тест-культур микроорганизмов: *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. vulgaris*, *B. Cereus*, *P. aeruginosa*. Экстракты исследуемых лекарственных растений в рассматриваемых концентрациях оказались не эффективными в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, за исключением экстрактов коры дуба, бадана, зверобоя а так же экстракта солянки (который задерживал рост *E. coli*) и экстракта шлемника (задерживал рост только *P. aeruginosa*). Штамм *P. aeruginosa* оказался нечувствительным к действию почти всех экстрактов, за исключением экстракта из коры дуба (51,57).

Рассмотренный микробиологическое окисление анабазаина (21). Анабазис (*Anabasis aphylla* L.) – дикорастущий безлистный полукустарник семейства маревых, ядовит; синтезирует алкалоид анабазин, обладающий инсектицидными свойствами. С поверхности растения выделена эпифитная



микрофлора, активно расщепляющая анабазин до нетоксических соединений: *Pseudomonas anabasorum*, *Ps. Caesia*, *Micrococcus polichromus*, *M. subneveus*, *Micromonospora coerulea* и др. Все эти микроорганизмы используют анабазис как единственный источник углерода и азота.

По данным (8) значительная часть продукции фотосинтеза высших растений попадает во внешнюю среду в виде растительных выделений. Это единственный механизм защиты растений от микробной инвазии, т.е. растительные экссудаты в состоянии обеспечить защиту растительных покровов от ферментов фитопатогенных грибов. Как правило, экссудаты представляют собой углеводы, моно- и дисахара, аминокислоты, органические кислоты. Вывод: растительные выделения могут снижать деструкционную активность микроорганизмов в почве. Показано, что простые органические соединения, входящие в состав корневых выделений, более эффективно снижают гидролитическую активность микроорганизмов по сравнению с ингибиторами растительного происхождения.

Изучено влияние препарата агриспон (активатор почвенной микрофлоры на основе растительных экстрактов) на фитосанитарное состояние (пораженность грибными болезнями) и урожайность корнеплодов сахарной свеклы (68). Агриспон использовали для обработки семян, а так же спустя 2 недели и 2 месяца после посадки. После обработки уменьшилось количество растений, погибших от *Aphanomyces cohlodes* и снизилась заболеваемость от *Uromyces betae* *Phoma betae*.

Проведено сравнительное действие экстрактов из 13 лекарственных растений с высоким уровнем флавоноидов на их ферментирующее действие, метаногенез и количество простейших в ферментерах с рубцовой жидкостью, содержащей постоянную культуру рубцовых микроорганизмов (69). В результате были отобраны экстракты, наиболее эффективно увеличивающие ферментацию – лист шалфея лекарственного, содержащего лютеолин-7-глюкозид и трава хвоща полевого, содержащего изокверцитрин.

Изучено влияние обработки экстрактом из трав (Protecta II) во время охлаждения на микробную загрязненность тушек цыплят-бройлеров (69). Protecta II – препарат, полученный путем 30-минутной экстракцией смеси лекарственных растений раствором NaCl. Синергическое действие веществ полифенольной природы, содержащихся в растениях и растворителя (NaCl) оказали бактерицидное действие на рост *Campylobacter* и *E. coli*.

Изучена антимикробная активность эфирных масел трех видов душицы (72). Эфирные масла проявили высокую антимикробную активность по отношению к восьми штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий (задерживали рост при разведении 1:4000). Среди основных компонентов – тимол и карвакрол.

Изучен компонентный состав и антибиотическая активность эфирного масла *Origanum vulgare L.* (35) Авторы рекомендуют использовать эфирное масло душицы для санации различных помещений. Проведенные эксперименты показали, что в дозах 100-350 мкг/мл оно подавляет рост условно-патогенных и патогенных штаммов микроорганизмов. Минимальные эффективные дозы эфирного масла душицы в отношении *Candida albicans* составляет 300-600 мкг/мл. В составе масла обнаружен тимол (0,1-0,2%) который, по-видимому, и определяет эту активность. Образцы эфирного масла, не содержащие тимола, не проявляли антимикробного эффекта в отношении патогенных микроорганизмов.

Изучена антифунгальная и фитотоксическая активность суммы лактонов *Artemisia taurica Willd* (23). Полынь таврическая (надземная часть) содержит значительное количество сесквитерпенового лактона тауромизина, а так же артемин, таурин и др. Сумму лактонов выделяли экстрагированием водой 80<sup>0</sup>С, с последующей обработкой диэтиловым спиртом и хлороформом. Раствор суммы лактонов полыни полностью ингибировал радиальный рост штамма *Helminthosporium sp.* в концентрации 55 мг/л. Штамм *Fusarium* и *oxysporum* *Phythium sp.* оказались менее чувствительными к исследуемым растворам.

Разработана технология получения экстрактов из солодовых ростков, который по своему воздействию на микроорганизмы оказался подобен кукурузному экстракту, широко используется в производстве антибиотиков. Установлено, что солодово-ростковый экстракт обладает биостимулирующим действием на процессы образования и построения спор *Penicilium chrysogenum*, на рост культур и накопление биомассы *Aspergillus niger*, *P. chrysogenum*, *Actinomyces aureofaciens*, *Candida tropicalis*, на энергию брожения *Saccharomyces cerevisiae*, а также на образование некоторых биологически активных веществ (пенициллин, стрептомицин, хлортетрациклин, витамин В<sub>12</sub>) (2).

Таким образом, так как высшие растения синтезируют химические соединения, являющиеся известными природными стимуляторами роста, и, кроме того, они доступны в качестве сырьевой базы, представлялось перспективным продолжить поиск стимуляторов роста растительного происхождения.

## ГЛАВА 2. ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ЧАСТЬ

### 2.1. Объекты исследования

*Штаммы микроорганизмов-пробионтов:* в качестве объекта исследования *Escherichia coli*.

Для исследования были взяты собранные в период цветения лекарственные растения в Ботаническом саду НИУ БелГУ (Отдел лекарственные растения), которые были высушены, подвергались тщательному измельчению и хранились в сухом темном месте до выполнения исследования.

*Растительное сырье:* Высушенное лекарственное сырье – трава семейства *Asteraceae*: Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.), Полынь горькая (*Artemisia absinthum* L.), Тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.), Пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.) и семейства *Lamiaceae*: Мята перечная (*Mentha piperita* L.), Шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.), Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.), Тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) (67).

*Питательные среды для культивирования, роста и развития кишечной палочки:* МПБ и Левина – для выделения энтеробактерий.

Экстракты лекарственных растений получали по методике, регламентированной Государственной фармакопеей Российской Федерации (2015).

Концентрацию микробных клеток в 1 мл культуральной жидкости определяли визуально по отраслевому стандарту мутности.

Содержание жизнеспособных клеток *Escherichia coli* контролировалось бактериологическим методом. Изучение морфологических свойств микроорганизмов осуществлялось бактериоскопическим методом окрашивание по Граму.

Контроль на отсутствие посторонней микрофлоры в биомассе *Escherichia coli* проводили: 1) бактериоскопически - путем просмотра мазков, приготовленных из взвеси растворенного препарата и окрашенных по Граму, 2) бактериологически – путем посева на питательный агар Левина с последующей инкубацией в термостате.

## 2.2. Сушка, хранение лекарственного растительного сырья

Сушка лекарственного сырья - это наиболее простой и экономичный метод консервирования и хранения биологически активных веществ.

В свежесобранном лекарственном растительном сырье содержание воды составляет 60-80%. Уход влаги всего на 20% уже уменьшает активность ферментов и скорость биохимических реакций, а при содержании влаги 10...15% действие ферментов полностью прекращается, то есть прекращаются внутриклеточные процессы, способствующие разложению действующих веществ. Уменьшение в растительной массе влаги приводит к прекращению и задержке развития в ней различных плесневых микроорганизмов и грибов, что так же снижает качество сырья (32).

Под действием прямых солнечных лучей большинство лекарственных растений теряют содержащиеся в них действующие вещества, естественную окраску и поэтому должны сушиться в тени.

Иногда при сушке собранное сырье подвяливает. В отдельных случаях это способствует убыстрению процесса последующего обезвоживания или увеличению содержания действующих веществ.

Метод сушки растительного лекарственного сырья делят на две группы:

1. Тепловая или с искусственным нагревом. Для сушки лекарственных растений экспериментально доказана эффективность использования печей СВЧ.
2. Без искусственного нагрева:
  - солнечная, в солнечных сушилках или под открытым небо
  - воздушно-теньевая, осуществляемая на открытом воздухе, но под навесом, в тени, в специальных сушилках, на чердаках и воздушных сушилках.

На длительность процесса производительности и сушки сушильных установок оказывают влияние его исходная влажность, морфологические особенности, общая поверхность высушиваемого материала, скорость и температура движения теплоносителя.

При естественной сушке сырье необходимо разложить тонким слоем на стеллажи или сита в помещениях, защищенных от прямых солнечных лучей, хорошо проветриваемых и без доступа влаги (чердаки, навесы). В первые два дня сырье периодически перемешивают:

Общие правила сушки:

- Сырье, содержащее флавоноиды, полисахариды, гликозиды, сушат при температуре 50-60 °С. Для быстрого индифицирования ферментов, разрушающие гликозиды, сырье следует сушить как можно быстрее.
- Сырье, содержащее аскорбиновую кислоту, сушат при температуре около 70 °С.
- Сырье, содержащее, сушат при температуре до 60 °С.
- Сырье, содержащее горечи и витамины сушат при температуре 65-70 °С.
- Сырье, содержащее эфирные масла, сушат довольно толстым слоем 10-16 см при температуре не выше 45 °С, что бы предотвратить испарение эфирного масла (52).

Во всех методах сушки лекарственного сырья, его регулярно переворачивают и раскладывают тонким слоем, за исключением эфирномасличного, при этом стремятся увеличивать степень измельчения.

При высушивании лекарственного сырья для различных морфологических групп на основании экспериментальных исследований, установлены потери по массе: почки - 60-70 %; цветки - 65-75 %; листья – 50-85 %; травы - 70-90 %; корни и корневища – 65-85 %; кора – 55-70 %; клубни – 55-70 %; плоды – 35-60 %; семена – 25-40 % (19).

Высушенное лекарственное сырье используется по мере надобности, таким образом, большая его часть подлежит хранению.

Сырья в аптечных и промышленных условиях может храниться в хранилищах как постоянного, так и временного типа. В измельченном виде позволяет лучше сохранить биологически активные вещества и при этом уменьшается соприкосновение биологически активных веществ с воздухом (31).

Хранение лекарственного сырья следует в сухих, прохладных, чистых, темных и проветриваемых местах. Каждый вид растительного сырья храниться отдельно, с указанием вида растения, времени его сбора на этикетки. Сырье с резким запахом - хранят отдельно от непахучих, ядовитые растения хранят отдельно от неядовитых. Нежные части растений (почки, цветы и др.) лучше хранить в коробках, насыпью, выложенных изнутри бумагой, не утрамбовывая.

Сроки годности хранения для каждого растительного сырья различны. Травы, цветки, листья – не более 2-5 лет; кора, корни – 5-7 лет; почки березы – 2 года; корень солодки – до 10 лет; корнеклубни – до 6 лет.

Лекарственное растительное сырье должно храниться в помещении и хорошо вентилируемом и сухом в плотно закрытой таре: в аптеке – металлической, стеклянной посуде, закрытых ящиках на стеллажах или на складах в ящиках с крышкой. Сырье в виде порошка хранят в двойных мешках

(наружный должен быть - тканевый, внутренний – многослойный и бумажный) (67).

Лекарственное растительное сырье, содержащее в своем составе эфирные масла, хранят изолированно в хорошо укуполенной таре.

Особенное внимание следует уделить при хранении лекарственному сырью, содержащему сердечные гликозиды (9).

Сильнодействующие и ядовитое лекарственное растительное сырье хранят в отдельном шкафу или помещении под замком (55).

## **2.3. Методы исследования**

### **2.3.1. Приготовление питательных сред**

Приготовление МПБ (мясопептонного бульона).

500 г мелко измельченного свежего мяса без жира, костей и сухожилия помещают в эмалированную кастрюлю объемом 1 л, заливают водопроводной водой температурой 50<sup>0</sup> С, и оставляют настаиваться в течении часа при 50-56<sup>0</sup>С или 12 часов при комнатной температуре. Мясо отжимают, через марлю со слоем ваты экстракт процеживают, затем кипятят в течение 30 минут для свертывания коллоидных белков. Фильтруют дважды, первый раз через марлю с ватой, второй – через бумажный фильтр. Профильтрованный бульон доливают водой до 1л, закрывают ватными пробками и поверх колб надевают колпачками из бумаги и стерилизуют в автоклаве при 120<sup>0</sup>С в течении 20 минут. Ватные пробки должны плотно закрыты так как они являются фильтром, препятствующие проникновению из воздуха при стерилизации бактерий. Мясной бульон может быть использован в любое время для приготовления питательных сред. Если среды готовят сразу, то предыдущая



стерилизация не нужна. Для хорошего качества мясного бульона в лабораториях условиях мясной настой кипятят вместе с мясом, затем полученный экстракт отжимают. Для получения мясного бульона высокой питательности, при настаивании мяса с водой подкисляют бульон соляной кислотой и добавляют немного пепсина. Пепсин – гидролизует белковые соединения мяса, и увеличивает количество усвояемых бактериями питательных веществ.

Приготовление среды Левина. Она является дифференциально-диагностической средой. Эту среду рекомендуют для выделения, подсчета и дифференциации грамотрицательных микроорганизмов кишечной группы (рис. 2.3.1.1.)

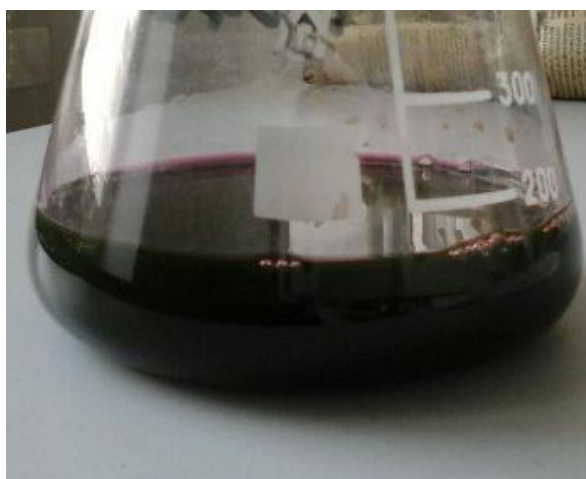


Рис. 2.3.1.1. Среда Левина

В коническую колбу наливали 250 мл дистиллированной воды, добавляли 12,5 г ЛЕВИНА. Количество среды рассчитывали по пропорции: на 1 л дистиллированной воды требуется 50 г агара Левина (среду при этом добавляли постепенно, медленно помешивая, до образования однородной массы). Закрывали колбу пробкой и подогревали на плитке до начала кипения (среда приобретает красный цвет). Ставили среду на автоклавирование при температуре 120 °С в течение 20 мин (фаза выдержки) для полного ее приготовления. Далее разливали в чашки Петри.

После того как среды были готовы, разливали их в заранее подготовленные чашки Петри, которые также предварительно стерилизовали в сушильном шкафу в течение 2 часов при температуре 170 °С. Затем равномерно распределяли среду по дну и ставили на ровную поверхность до затвердевания.

Для определения химической активности лекарственных растений использовались водные экстракты. Части растений добавлялись в кипящую дистиллированную воду с последующим настаиванием в течение 30 минут. Полученные экстракты охлаждались до комнатной температуры и фильтровались. Экстракты приготавливались в концентрации (г сырья/мл воды) 1/20 и 1/10.

Исследование влияния экстрактов лекарственных растений на рост *Escherichia coli* производилось путем инкубации бактериальной культуры в присутствии экстрактов. В частности, 0.1 мл бактериальной культуры, 10 мл исследуемых экстрактов лекарственных растений и 10 мл мясопептонного бульона. В данном исследовании подсчет колоний оценивался на 0 (исходный уровень), 2, 4, 6 и 24 часах инкубации. Рост бактериальной культуры определяли путем разведений стерильной водой.

Приготовление разбавлений.

Для микробиологического анализа мы использовали пять разбавлений – 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000 и 1:1000000.

Для приготовления разбавлений мы брали шесть пробирок, наливали в них по 9,3 мл водопроводной воды. Затем брали две конические колбы, в одну из которых наливали 90 мл водопроводной воды, вторую оставляли пустой. Колбы и пробирки закрывали пробками и помещали в автоклав на 20 минут при температуре 121 °С.

Затем набирали 1мл исследуемой суспензии инсулиновым шприцем и вносили в первую пробирку с 9 мл стерильной воды, получали второе разбавление (1:100). Содержимое пробирки тщательно перемешивали. После набирали 1 мл из первой пробирки и вносили во вторую. Получали третье

разбавление (1:1000). Аналогичным образом делали четвертое (1:10000), пятое (1:100000) и шестое (1:1000000) разбавление (25).

После из каждого разбавления брали по 0,1 мл жидкости и выливали в чашки Петри, тщательно распределяя ее по поверхности среды стерильным шпателем. Для среды Левина мы каждое разбавление высевали в трех повторностях, для разбавлений 1:1000000 на протяжении 0 (исходный уровень), 2,4, 6 и 24 часа инкубации. Затем помещали чашки в термостат на сутки при температуре 37°C (25).

Подсчет выросших колоний микроорганизмов.

Спустя сутки делали подсчет выросших колоний. Если колоний немного, их считали на всей поверхности чашки. При большом количестве колоний, чашки Петри делили на восемь секторов, считали колонии в трех секторах, затем находили среднее арифметическое и умножали на восемь секторов. Колонии рассматривали через стекло, не открывая чашки Петри.

### 2.3.2. Метод выделения чистой культуры аэробных микроорганизмов

Бактериологический метод – выделение чистых культур микроорганизмов и их последующая идентификация. Материалом для посева служат пересеваемые культуры бактерий. Посев проводился в пробирках с предварительно стерилизованной средой. Достав среду из автоклава, пробирки ставили под уклон, тем самым среда в них застывает. Колонии брали петлёй из чашки Петри. Все манипуляции, связанные с посевом и выделением микробиологических культур, производили над пламенем горелки. Бактериальную петлю прокаливали над пламенем горелки перед взятием материала, затем петлю остужали, прикасаясь к поверхности питательной среды, свободной от микроба роста. Волнообразными движениями наносили

посевной материал на среду. После окончания посева петлю прожигали повторно для уничтожения присутствующих на ней микроорганизмов.

### 2.3.3. Методы микроскопического исследования микроорганизмов

Для микроскопического исследования выросших колоний микроорганизмов мы использовали следующие методы:

- *Фиксированный препарат.*

С помощью данного метода мы определяли форму клеток. Начинали работу с приготовления мазка. На чистое предметное стекло в каплю водопроводной воды вносили небольшое количество культуры микроорганизмов, тщательно перемешивали и растирали с помощью петли, распределяя мазок по поверхности стекла тонким слоем. Затем препарат высушивали на воздухе или пламени горелки. После высушивания препарат фиксируют, быстро проводя через пламя горелки. После фиксации окрашивают, покрывая мазок на 1 – 2 минуты раствором метиленового синего или карболового фуксина. Избыток краски смывают струей воды до полного обесцвечивания стекающих капель. После окраски препарат высушивали над пламенем горелки и рассматривали с иммерсионным объективом или при большом увеличении (26).

*Окраска бактерий по Граму.* Сущность метода заключается в определении способности бактериальных клеток удерживать краску трифенилметанового ряда.

На предметное стекло наносили и фиксировали мазок исследуемых микроорганизмов, сверху клали полоску фильтровальной бумаги и наносили краситель. Через 1 – 2 мин. снимали бумагу и, не промывая, наносили каплю йода. Через 1 мин. обесцвечивали мазок спиртом и наносили краситель

(фуксин), после промывали водой, высушивали и рассматривали при большом увеличении микроскопа. Грамположительные бактерии окрашиваются в сине – фиолетовый цвет, а грамотрицательные - в розовый (25,66).

## 2.4. Статистическая обработка результатов

Математическая статистика необходима для определения точности опыта и достоверности полученных результатов. Ее основная задача – определение достоверности полученных результатов. При проведении опытов должно быть достаточное число вариантов и повторностей. Для всех вариантов должны быть обеспечены одинаковые условия. Не менее важным фактором является определение числа образцов для исследования – оптимизация объема выборки (16).

В проведенных опытах мы определяли достоверность различий между средними арифметическими исследуемых выборок (образцов). Для этого использовали критерии достоверности Стьюдента ( $t$ ) и Фишера ( $F$ ). Критерий – это показатель, позволяющий судить о надежности выводов, подтверждающих или опровергающих статистическую гипотезу.

Для применения математической статистики опыт должен быть правильно спланирован и проведен, при этом необходимо соблюдать все необходимые условия. Если опыт не отвечает необходимым условиям, его отбраковывают.

Перед началом статистической обработки все данные необходимо подготовить: округлить, вычислить средние арифметические, а также выбраковать сомнительные данные (16).

Для статистической обработки цифровых данных мы применяли разностный метод. Все расчёты проводились в несколько этапов в Microsoft Office Excel:

- нахождение среднего арифметического значения по всем повторностям ( $\bar{x}$ );
- определение разности (d) между данными по повторностям;
- определение среднего арифметического разности ( $\bar{d}$ );
- определение отклонения между каждой разностью и средним значением ( $d - \bar{d}$ );
- возведение данного отклонения в квадрат и его суммирование ( $\sum (d - \bar{d})^2$ );
- вычисление ошибок разностей ( $S_d$ ) по следующим формулам:

$$S_{d(1-2)} = \sqrt{\frac{\sum (d - \bar{d})^2}{n(n-1)}}; S_{d(1-3)} = \sqrt{\frac{\sum (d - \bar{d})^2}{n(n-1)}};$$

- Вычисление критерия Стьюдента фактического:
- $t_{(1-2)} = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) / S_{d(1-2)}$ ;  $t_{(1-3)} = (\bar{x}_3 - \bar{x}_1) / S_{d(1-3)}$ ;

Фактический критерий мы сравнивали с теоретическим и делали выводы, пользуясь следующим правилом: если фактический критерий Стьюдента равен теоретическому значению или больше него, то разность между вариантами существенна на различных уровнях вероятности:

Теоретические значения критерия t мы брали из таблицы для различных уровней вероятности (39).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для анализа влияния экстрактов лекарственных растений на рост и жизнеспособность *Escherichia coli* мы использовали два семейства лекарственных растений:

семейство *Asteraceae*:

- Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.),
- Полынь горькая (*Artemisia absinthum* L.),
- Тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.),
- Пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.),

семейство *Lamiaceae*:

- Мята перечная (*Mentha piperita* L.),
- Шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.),
- Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.),
- Тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.).

Посев микрофлоры экстракта с бактериальной культурой осуществлялся на 2, 4, 6 и 24 часов инкубации.

Нами было произведено микробиологическое исследование, в ходе которого определяли наличие бактерий группы кишечной палочки (БГКП).

### 3.1. Микробиологическое исследование *Escherichia coli*

Для получения штамма *Escherichia coli* были взяты экскременты животных. Чтобы получить отдельные колонии клеток для дальнейшего культивирования и получения чистой культуры, пользовались методом разведений как показано на рис. 3.1.1.

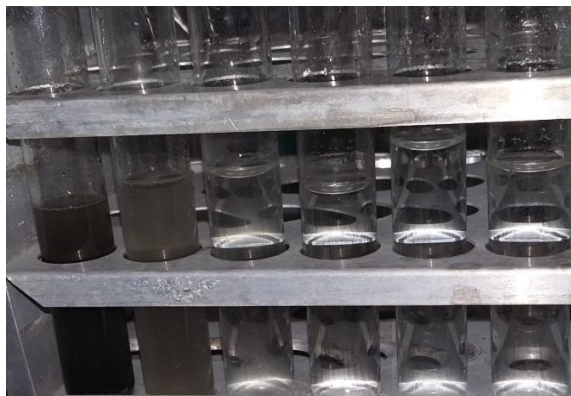


Рис. 3.1.1. Выделение чистой культуры микроорганизмов *Escherichia coli* на питательном агаре (Левина)

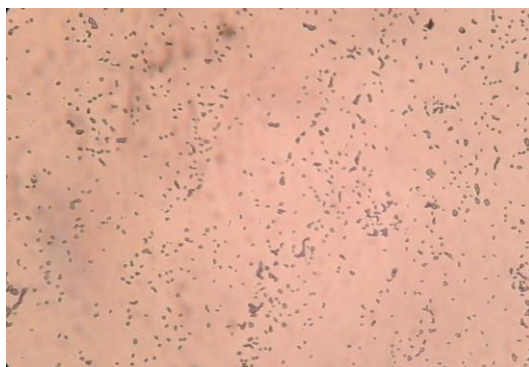


Рис. 3.1.2. *Escherichia coli* на питательном агаре (Левина).  
Фиксированные препараты, окраска фуксином

Род *Escherichia* – это прямые палочки, одиночные или в парах. Для многих штаммов характерны капсулы. Могут быть подвижны или неподвижны. Колонии микроорганизмов темно-розовые с перламутровым блеском, гладкие с ровным краем как показано на рис. 3.1.2.

### **3.2. Общая численность микроорганизмов, выросших на питательной среде**

Анализ численности БГКП в присутствии экстрактов (опыт) по сравнению с контролем (посев без экстракта) определяли подсчетом колоний на чашках Петри. В опытном варианте в объеме 0,1 мл бактериальной культуры



*Escherichia coli* с 10 мл и 20 мл исследуемого экстракта лекарственных растений и 10 мл мясопептонного бульона. Посев исследуемых образцов производили на питательном агаре. В таблице 3.2.1. представлено количество колоний *Escherichia coli* без экстрактов.

Таблица 3.2.1

Количество колоний бактерий *Escherichia coli*  
(контроль) в разведении  $10^6$

№ чашки Петри	Время, часов			
	2	4	6	24
1	56	80	103	62
2	52	85	97	63
3	53	84	97	61
Среднее	54	83	99	62

В таблице 3.2.2 представлены цифровые значения бактерий, полученных на питательном агаре при концентрации 1г сырья и 20 мл воды экстрактов растений семейства *Asteraceae*.

Таблица 3.2.2

Количество колоний бактерий *Escherichia coli* с  
экстрактом растений семейства *Asteraceae* с концентрацией 1/20  
в разведении  $10^6$

№ чашки Петри	Лекарственное растение	Время, часов			
		2	4	6	24
1	Календула лекарственная ( <i>Calendula officinalis</i> L.)	30	43	53	35
2		28	47	55	36
3		28	46	51	34
Среднее		29	45	53	35
1	Полынь горькая ( <i>Artemisia absinthum</i> L.)	22	35	40	30
2		26	34	41	28
3		24	37	39	27

Среднее		24	35	40	28
1	Тысячелистник обыкновенный ( <i>Achillea millefolium</i> L.)	51	78	97	60
2		47	79	95	59
3		48	81	98	61
Среднее		49	79	97	60
1	Пижма обыкновенная ( <i>Tanacetum vulgare</i> L.)	60	89	98	60
2		58	87	97	58
3		63	91	100	60
Среднее		60	89	98	59

В таблице 3.2.3 представлены цифровые значения бактерий, полученных на питательном агаре при концентрации 1г сырья и 20 мл воды экстрактов растений семейства *Lamiaceae*.

Таблица 3.2.3

Количество колоний бактерий *Escherichia coli* с  
экстрактом растений семейства *Lamiaceae* с концентрацией 1/20  
в разведении  $10^6$

№ чашки Петри	Лекарственное растение	Время, часов			
		2	4	6	24
1	Мята перечная ( <i>Mentha piperita</i> L.)	23	36	41	31
2		27	35	42	29
3		25	38	40	28
Среднее		25	36	41	29
1	Шалфей лекарственный ( <i>Salvia officinalis</i> L.)	35	52	82	43
2		36	54	82	48
3		38	56	79	49
Среднее		36	54	81	47
1	Душица обыкновенная ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	31	43	54	32
2		27	48	55	33
3		28	45	56	30

Среднее		29	45	55	32
1	Тимьян ползучий ( <i>Thymus serpyllum</i> L.)	50	77	93	61
2		49	75	91	58
3		51	76	95	57
Среднее		50	76	93	59

В результате исследований можно сделать вывод о том, что при разведении 1 г сырья на 20 мл воды наибольшее количество выросших колоний *Escherichia coli* наблюдалось в семейства *Asteraceae* с экстрактами тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) и пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.), а в семействе *Lamiaceae* с тимьяном ползучим (*Thymus serpyllum* L.) и шалфеем лекарственным (*Salvia officinalis* L.) по сравнению с контролем.

Растения, обладающие сильными антибактериальными и противогрибковыми свойствами семейства *Asteraceae* календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) и полынь горькая (*Artemisia absinthum* L.), семейства *Lamiaceae* мята перечная (*Mentha piperita* L.) и душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) оказали достоверное влияние на рост *Escherichia coli* по сравнению с контролем.

В таблице 3.2.4 представлены цифровые значения бактерий, полученных на питательном агаре при концентрации 1г сырья и 10 мл воды экстрактов растений семейства *Asteraceae*.

Таблица 3.2.4

Количество колоний бактерий *Escherichia coli* с  
экстрактом растений семейства *Asteraceae* с концентрацией 1/10  
в разведении  $10^6$

№ чашки Петри	Лекарственное растение	Время, часов			
		2	4	6	24
1	Календула	11	15	21	16

2	лекарственная ( <i>Calendula officinalis</i> L.)	9	16	22	17
3		11	16	23	17
Среднее		10	16	22	17
1	Полынь горькая ( <i>Artemisia absinthum</i> L.)	13	17	24	18
2		14	20	25	19
3		10	19	22	19
Среднее		12	19	24	19
1	Тысячелистник обыкновенный ( <i>Achillea millefolium</i> L.)	24	41	47	31
2		20	43	46	30
3		21	40	46	33
Среднее		22	41	46	31
1	Пижма обыкновенная ( <i>Tanacetum vulgare</i> L.)	25	44	50	32
2		26	46	51	33
3		29	44	52	34
Среднее		27	45	36	33

В таблице 3.2.5 представлены цифровые значения бактерий, полученных на питательном агаре при концентрации 1г сырья и 10 мл воды экстрактов растений семейства *Lamiaceae*.

Таблица 3.2.5

Количество колоний бактерий *Escherichia coli* с  
экстрактом растений семейства *Lamiaceae* с концентрацией 1/10  
в разведении  $10^6$

№ чашки Петри	Лекарственное растение	Время, часов			
		2	4	6	24
1	Мята перечная ( <i>Mentha piperita</i> L.)	13	17	20	17
2		15	15	22	14
3		14	19	18	16
Среднее		14	17	20	16
1	Шалфей лекарственный ( <i>Salvia officinalis</i> )	20	28	41	26
2		21	24	40	27

3	L.)	21	25	38	28
Среднее		21	26	40	27
1	Душица обыкновенная ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	18	22	25	18
2		16	21	28	19
3		16	24	23	17
Среднее		17	22	25	18
1	Тимьян ползучий ( <i>Thymus serpyllum</i> L.)	21	37	47	29
2		22	36	45	32
3		18	35	44	31
Среднее		20	36	45	31

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о том что при разведении 1 г сырья на 10 мл воды наибольшее количество выросших колоний *Escherichia coli* наблюдалось в семейства *Asteraceae* такие как тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.) и пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.), а в семействе *Lamiaceae* тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) и шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) по сравнению с контролем.

Растения, обладающие сильными антибактериальными и противогрибковыми свойствами семейства *Asteraceae* - календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) и полынь горькая (*Artemisia absinthum* L.), семейства *Lamiaceae* - мята перечная (*Mentha piperita* L.) и душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) оказали достоверное влияние на рост *Escherichia coli* по сравнению с контролем.

Как видно из данных таблиц 3.2.2-3.2.5, общие тенденции, наблюдаемые в случае экстрактов с концентрацией 1/20, экстракты действовали менее эффективно, чем при концентрации 1/10 (Приложение 1-4).

### 3.3. Статистическая обработка полученных данных

#### 3.3.1. Обработка цифровых данных методом дисперсионного анализа

На основании исходных данных по количеству колоний БГКП, выросших на чашках Петри, в программе Microsoft Office Excel 2007 с помощью описательной статистики (метод дисперсионного анализа) нами были вычислены следующие параметры: среднее значение, стандартная ошибка, дисперсия и стандартное отклонение (таблицы 3.3.1.1- 3.3.1.2).

Таблица 3.3.1.1

Общая численность БГКП (КОЕ/ г x10<sup>6</sup>) при концентрации 1/20

	Время, часов	Среднее ± стандартная ошибка	Дисперсия	Стандартное отклонение
Контроль	2	53,6±0,8	2,9	25,3
	4	83±1,1	4,7	2,1
	6	99±1,4	0,8	2,6
	24	62±0,4	0,7	3,5
Календула лекарственная ( <i>Calendula officinalis</i> L.)	2	28,6±0,5	0,9	1
	4	45,3±0,8	2,9	1,2
	6	53±0,8	2,7	2,1
	24	35±0,4	0,7	2
Полынь горькая ( <i>Artemisia absinthum</i> L.)	2	24±0,8	2,7	1
	4	35,3±0,6	1,6	2
	6	40±0,4	0,7	1,5
	24	28,3±0,6	1,6	1
Тысячелистник обыкновенный ( <i>Achillea millefolium</i> L.)	2	48,7±0,8	0,7	1,5
	4	79,3±0,6	1,6	1,5
	6	96,6±0,6	2,9	1
	24	60±0,4	1,6	2,5
Пижма обыкновенная ( <i>Tanacetum vulgare</i> L.)	2	60,3±1	4,2	2
	4	89±0,8	2,7	1,5
	6	98±0,6	1,6	1
	24	59±0,4	0,7	1
Мята перечная ( <i>Mentha piperita</i> L.)	2	25±0,8	2,7	2
	4	36,3±0,6	1,6	1,5
	6	41±0,4	0,7	1
	24	29,3±0,6	1,6	1,5
Шалфей лекарственный	2	36,3±0,6	0,7	2
	4	54±0,8	1,6	1,7

<i>(Salvia officinalis L.)</i>	6	81±0,7	1,6	3,2
	24	46,6±1,3	2,7	2,1
Душица обыкновенная <i>(Origanum vulgare L.)</i>	2	28,6±0,8	2,9	2,5
	4	45,3±1	4,2	1
	6	55±0,4	0,7	1,5
	24	31,6±0,6	1,6	1,5
Тимьян ползучий <i>(Thymus serpyllum L.)</i>	2	50±0,4	0,7	1
	4	76±0,4	0,7	1
	6	93±0,8	2,7	2
	24	58,6±0,8	2,9	2,1

Таблица 3.3.2.2.

Общая численность БГКП (КОЕ/ г x10<sup>6</sup>) при концентрации 1/10

	Время, часов	Среднее ± стандартная ошибка	Дисперсия	Стандартное отклонение
Контроль	2	53,7±0,8	2,9	25,3
	4	83±1,1	4,7	2,1
	6	99±1,4	8	2,6
	24	62±0,4	0,7	3,5
Календула лекарственная <i>(Calendula officinalis L.)</i>	2	10,3±0,5	0,7	1,2
	4	15,7±0,2	0,2	0,6
	6	22±0,4	2,9	1
	24	16,7±0,2	1,6	0,6
Полынь горькая <i>(Artemisia absinthum L.)</i>	2	12,3±0,8	1,6	2,1
	4	18,7±0,6	0,2	1,5
	6	23,7±0,6	2,9	1,5
	24	18,7±0,2	1,6	0,6
Тысячелистник обыкновенный <i>(Achillea millefolium L.)</i>	2	21,7±0,8	2,9	2,1
	4	41,3±0,6	1,6	1,5
	6	46,3±0,2	0,2	0,6
	24	31,3±0,6	1,6	2,1
Пижма обыкновенная <i>(Tanacetum vulgare L.)</i>	2	31,3±0,8	2,9	1,5
	4	26,7±0,5	0,9	2,1
	6	44,7±0,4	1,6	1,2
	24	51,7±0,6	0,7	1,5
Мята перечная <i>(Mentha piperita L.)</i>	2	14±0,4	0,7	1
	4	17±0,4	2,7	1
	6	20±0,8	2,7	2
	24	15,7±0,8	1,6	2
Шалфей лекарственный <i>(Salvia officinalis L.)</i>	2	20,7±0,6	0,2	1,5
	4	25,7±0,8	2,9	0,6
	6	39,7±0,6	1,6	2,1
	24	27±0,4	0,7	1,5
Душица обыкновенная <i>(Origanum vulgare L.)</i>	2	16,7±0,5	0,9	1,2
	4	22,3±0,6	1,6	1,5
	6	25,3±1	4,2	2,5

	24	18±0,4	0,7	1
Тимьян ползучий ( <i>Thymus serpyllum</i> L.)	2	20,3±0,8	2,9	2,1
	4	36±0,4	0,7	1
	6	46,3±0,6	1,6	1,5
	24	30,7±0,6	1,6	1,5

### 3.3.2. Обработка цифровых данных разностным методом

Для обработки данных разностным методом мы использовали результаты из последнего разведения (1:10<sup>6</sup>), пробы, взятой в 6 часов (т.к в это время наблюдался наибольший рост микроорганизмов). Таким образом, мы сравнивали рост колоний под действием экстрактов лекарственных растений.

Достоверность различий определяли по критерию Стьюдента ( $p < 0,05$ ).

Таблица 3.3.2.1

Обработка разностным методом данных, полученных при вычислении БГКП при концентрации 1/20 в разведении 1:10<sup>6</sup> (КОЕ/ г x10<sup>6</sup>) на среде Левина

№ п/п	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd	tфакт. (1-2)
1.	Контроль	Календула				2,3	20*
	103	53	50	4	16		
	97	55	42	-4	16		
	97	51	46	0	0		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=53$	$\bar{d}=46$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=32$		
2.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-3)
	Контроль	Полынь				2,1	28*
	103	40	63	4	16		
	97	41	56	-3	9		
	97	39	58	-1	1		
$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=40$	$\bar{d}=59$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=26$			
3.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-	tфакт.



	Контроль	Тысячелистник				2)	(1-4)
	103	97	6	3,7	13,4	2	1*
	97	95	2	-0,3	0,1		
	97	98	-1	-3,3	11,1		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=96,7$	$\bar{d}=2,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=24,7$		
4.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-5)
	Контроль	Пижда					
	103	98	5	4,3	18,8	2,3	0,29*
	97	97	0	-0,7	0,4		
	97	100	-3	-3,7	13,4		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=98,3$	$\bar{d}=0,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=32,7$		
5.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-6)
	Контроль	Мята					
	103	41	62	4	16	2,1	27,8*
	97	42	55	-3	9		
	97	40	57	-1	1		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=41$	$\bar{d}=58$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=26$		
6.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-7)
	Контроль	Шалфей					
	103	82	21	3	9	1,7	10,4*
	97	82	15	-3	9		
	97	79	18	0	0		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=81$	$\bar{d}=18$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=18$		
7.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-8)
	Контроль	Душица					
	103	54	49	5	25	2,5	17,5*
	97	55	42	-2	4		
	97	56	41	-3	9		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=55$	$\bar{d}=44$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=38$		
8.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-9)
	Контроль	Тимьян					
	103	93	10	4	16	2,3	2,6*
	97	91	6	0	0		
	97	95	2	-4	16		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=93$	$\bar{d}=6$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=32$		

9.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-3)
	Календула	Полынь					
	53	40	13	0	0	0,6	22,5*
	55	41	14	1	1		
	51	39	12	-1	1		
	$\bar{x}_1=53$	$\bar{x}_2=40$	$\bar{d}=13$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=2$		
10.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-4)
	Тысячелистник	Календула					
	97	53	44	0,3	0,09	2	21*
	95	55	40	-3,7	13,69		
	98	51	47	3,3	10,89		
	$\bar{x}_1=96,7$	$\bar{x}_2=53$	$\bar{d}=43$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=24,7$		
11.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd	tфакт. (2-5)
	Пижда	Календула					
	98	53	45	0,3	0,09	2	22*
	97	55	42	-3,3	10,89		
	100	51	49	3,7	13,69		
	$\bar{x}_1=98,3$	$\bar{x}_2=53$	$\bar{d}=45,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=24,7$		
12.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-6)
	Календула	Мята					
	53	41	12	0	0	0,6	20,8*
	55	42	13	1	1		
	51	40	11	-1	1		
	$\bar{x}_1=53$	$\bar{x}_2=41$	$\bar{d}=12$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=2$		
13.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-7)
	Шалфей	Календула					
	82	53	29	1	1	0,6	48*
	82	55	27	-1	1		
	79	51	28	0	0		
	$\bar{x}_2=81$	$\bar{x}_1=53$	$\bar{d}=28$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=2$		
14.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-8)
	Душица	Календула					
	54	53	1	-1	1	1,5	1,31*
	55	55	0	-2	4		
	56	51	5	3	9		
	$\bar{x}_1=55$	$\bar{x}_2=53$	$\bar{d}=2$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=14$		

15.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-9)
	Тимьян	Календула					
	93	53	40	0	0	2,3	17*
	91	55	36	-4	16		
	95	51	44	4	16		
	$\bar{x}_1=93$	$\bar{x}_2=53$	$\bar{d}=40$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=32$		
16.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-4)
	Тысячелистник	Полынь					
	97	40	57	0,3	0,09	1,5	39*
	95	41	54	-2,7	7,29		
	98	39	59	2,3	5,29		
	$\bar{x}_1=96,7$	$\bar{x}_2=40$	$\bar{d}=5,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=12,7$		
17.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-5)
	Пижма	Полынь					
	98	40	58	-0,3	0,09	1,5	40*
	97	41	56	-2,3	5,29		
	100	39	61	2,7	7,29		
	$\bar{x}_1=98,3$	$\bar{x}_2=40$	$\bar{d}=58,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=12,7$		
18.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-6)
	Мята	Полынь					
	41	40	1	-0,3	0,1	0,3	4*
	42	40	2	0,7	0,4		
	40	39	1	-0,3	0,1		
	$\bar{x}_1=41$	$\bar{x}_2=40$	$\bar{d}=1,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=0,7$		
19.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-7)
	Шалфей	Полынь					
	82	40	42	1	1	0,6	71*
	82	41	41	0	0		
	79	39	40	-1	1		
	$\bar{x}_1=81$	$\bar{x}_2=40$	$\bar{d}=41$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=2$		
20.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-8)
	Душица	Полынь					
	54	40	14	-1	1	1	15*
	55	41	14	-1	1		
56	39	17	2	4			

	$\bar{x}_1=55$	$\bar{x}_2=40$	$\bar{d}=15$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=6$		
21.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd	tфакт. (3-9)
	Тимьян	Полынь					
	93	40	53	0	0	1,7	30*
	91	41	50	-3	9		
	95	39	56	3	9		
	$\bar{x}_1=93$	$\bar{x}_2=40$	$\bar{d}=53$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=18$		
22.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-5)
	Пижма	Тысячелистник					
	98	97	1	-0,7	0,49	0,3	5*
	97	95	2	0,3	0,1		
	100	98	2	0,3	0,09		
	$\bar{x}_2=98,3$	$\bar{x}_1=96,7$	$\bar{d}=1,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=0,7$		
23.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-6)
	Тысячелистник	Мята					
	97	41	56	0,3	0,1	1,5	38,1*
	95	42	53	-2,7	7,1		
	98	40	58	2,3	5,4		
	$\bar{x}_1=96,7$	$\bar{x}_2=41$	$\bar{d}=55,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=12,7$		
24.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-7)
	Тысячелистник	Шалфей					
	97	82	15	-0,7	0,4	1,8	8,8*
	95	82	13	-2,7	7,1		
	98	79	19	3,3	11,1		
	$\bar{x}_1=96,7$	$\bar{x}_2=81$	$\bar{d}=15,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=18,7$		
25.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-8)
	Тысячелистник	Душица					
	97	54	43	1,3	1,8	0,9	47,2*
	95	55	40	-1,7	2,8		
	98	56	42	0,3	0,1		
	$\bar{x}_1=96,7$	$\bar{x}_2=55$	$\bar{d}=41,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=4,7$		
26.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-9)
	Тысячелистник	Тимьян					
	97	93	4	0,3	0,1	0,3	11*
95	91	4	0,3	0,1			

	98	95	3	-0,7	0,4		
	$\bar{x}_1=96,7$	$\bar{x}_2=93$	$\bar{d}=3,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=0,7$		
27.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (5-6)
	Пижма	Мята					
	98	41	57	-0,3	0,1	1,5	39,5*
	97	42	55	-2,3	5,4		
	100	40	60	2,7	7,1		
		$\bar{x}_1=98,3$	$\bar{x}_2=41$	$\bar{d}=57,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=12,7$	
28.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (5-7)
	Пижма	Шалфей					
	98	82	16	-1,3	1,8	1,9	9,4*
	97	82	15	-2,3	5,4		
	100	79	21	3,7	13,4		
		$\bar{x}_1=98,3$	$\bar{x}_2=81$	$\bar{d}=17,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=20,7$	
29.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (5-8)
	Пижма	Душица					
	98	54	44	0,7	0,4	0,7	65*
	97	55	42	-1,3	1,8		
	100	56	44	0,7	0,4		
		$\bar{x}_1=98,3$	$\bar{x}_2=55$	$\bar{d}=43,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=2,7$	
30.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (5-9)
	Пижма	Тимьян					
	98	93	5	-0,3	0,1	0,3	16*
	97	91	6	0,7	0,4		
	100	95	5	-0,3	0,1		
		$\bar{x}_1=98,3$	$\bar{x}_2=93$	$\bar{d}=5,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=0,7$	
31.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (6-7)
	Шалфей	Мята					
	82	41	41	1	1	0,6	69*
	82	42	40	0	0		
	79	40	39	1	1		
		$\bar{x}_2=81$	$\bar{x}_1=41$	$\bar{d}=40$	$\Sigma=2$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=2$	
32.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (6-8)
	Душица	Мята					
	54	41	13	-1	1	1	14*

	55	42	13	-1	1		
	56	40	16	2	4		
	$\bar{x}_2=55$	$\bar{x}_1=41$	$\bar{d}=14$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=6$		
33.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (6-9)
	Тимьян	Мята					
	93	41	52	0	0	1.7	30*
	91	42	49	-3	9		
	95	40	55	3	9		
	$\bar{x}_1=93$	$\bar{x}_2=41$	$\bar{d}=52$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=18$		
34.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (7-8)
	Шалфей	Душица					
	82	54	28	2	4	1,5	17,02*
	82	55	27	1	1		
	79	56	23	-3	9		
	$\bar{x}_1=81$	$\bar{x}_2=55$	$\bar{d}=26$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=14$		
35.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (8-9)
	Тимьян	Душица					
	93	54	39	1	1	1	38*
	91	55	36	-2	4		
	95	56	39	1	1		
	$\bar{x}_1=93$	$\bar{x}_2=55$	$\bar{d}=38$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=6$		

\* Достоверность различий определялась по критерию Стьюдента  $p < 0,05$ ,  $t_{\text{теор.}} = 2,78$ .

На основании полученных данных можно сделать вывод, что при  $P_{0,95}$   $t_{0,95} = 2,78$  и  $V = (n_1 - 1) + (n_2 - 1) = (3 - 1) + (3 - 1) = 4$

1. Между контролем и экстрактом календулы разница существенная, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 20, что больше принятого уровня вероятности.

2. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактов полыни составляет 28, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП контроля над тысячелистником существенно.

3. Поскольку критерий Стьюдента фактический между контролем и тысячелистником составляет 1, что меньше табличного значения  $t_{0,95}$  то разница между ними не существенна.

4. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом пижмы составляет 0,29, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, пижма не влияет на рост БГКП.

5. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом мяты составляет 27,8, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП контроля и экстракта мяты, существенна, на принятом уровне вероятности.

6. Поскольку критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом шалфея составляет 10,4, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ , то разница между ними существенна.

7. Между контролем и экстрактом душицы разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 17,5, что больше принятого уровня вероятности.

8. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом тимьяна составляет 2,6, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, экстракт тимьяна не влияет на рост БГКП.

9. Полученный фактический критерий Стьюдента сравниваем с теоретическим. Так как критерий Стьюдента фактический между экстрактом календулы и экстрактом полыни составляет 22,5, что больше  $t_{0,95}$ , то разность между вариантами существенна.

10. Между экстрактом календулы и экстрактом тысячелетника разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 21, что больше принятого уровня вероятности.

11. Между экстрактом пижмы и экстрактом календулы разница существенная, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 22, что больше принятого уровня вероятности.

12. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом календулы и экстрактов мяты составляет 20,8, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП экстрактом календулы над экстрактом мяты существенно.

13. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом шалфея и экстрактом календулы составляет 48, что больше табличного значения  $t_{0,95}$  то разница между ними существенна.

14. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом душицы и экстрактом календулы составляет 1,38, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, пижма не влияет на рост БГКП.

15. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом тимьяна и экстрактом календулы составляет 1,38, что меньше табличного значения  $t_{0,95}$ . Поэтому количества БГКП экстрактом тимьяна и экстрактом календулы не существенна, на принятом уровне вероятности.

16. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом тысячелистника и экстрактом полыни составляет 39, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ , то разница между ними существенна.

17. Между экстрактом пижмы и экстрактом полыни разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 40, что больше принятого уровня вероятности.

18. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом мяты и экстрактом полыни составляет 4, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому, экстракт мяты влияет на рост БГКП.

19. Полученный фактический критерий Стьюдента сравниваем с теоретическим. Так как критерий Стьюдента фактический между экстрактом шалфея и экстрактом полыни составляет 71, что больше  $t_{0,95}$ , то разность между вариантами существенна.

20. Между экстрактом душицы и экстрактом полыни разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 15, что больше принятого уровня вероятности.



21. Между экстрактом тимьяна и экстрактом полыни разница существенная, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 30, что больше принятого уровня вероятности.

22. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом пижмы и экстрактов тысячелистника составляет 5, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП экстракта пижмы над экстрактов тысячелистника существенно.

23. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом тысячелистника и экстрактом мяты составляет 38,1, что больше табличного значения  $t_{0,95}$  то разница между ними существенна.

24. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом пижмы составляет 0,29, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, пижма не влияет на рост БГКП.

25. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом тысячелетника и экстрактом душицы составляет 47,2, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП экстракта тысячелистника над экстрактом душицы существенно, на принятом уровне вероятности.

26. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом тысячелистника и экстрактом тимьяна составляет 11, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ , то разница между ними существенна.

27. Между экстрактом пижмы и экстрактом мяты разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 39,5, что больше принятого уровня вероятности.

28. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом пижмы и экстрактом шалфея составляет 65, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, экстракт пижмы влияет на рост БГКП.

29. Полученный фактический критерий Стьюдента сравниваем с теоретическим. Так как критерий Стьюдента фактический между

экстрактом пижмы и экстрактом душицы составляет 65, что больше  $t_{0,95}$ , то разность между вариантами существенна.

30. Между экстрактом пижмы и экстрактом тимьяна разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 16, что больше принятого уровня вероятности.

31. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом шалфея и экстрактом мяты составляет 69, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП экстракта шалфея над экстрактом мяты существенна, на принятом уровне вероятности.

32. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом душицы и экстрактом мяты составляет 14, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ , то разность между ними существенна.

33. Между экстрактом тимьяна и экстрактом мяты разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 30, что больше принятого уровня вероятности.

34. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом шалфея и экстрактом душицы составляет 17,02, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, экстракт шалфея влияет на рост БГКП.

35. Полученный фактический критерий Стьюдента сравниваем с теоретическим. Так как критерий Стьюдента фактический между экстрактом тимьяна и экстрактом душицы составляет 38, что больше  $t_{0,95}$ , то разность между вариантами существенна.

Таблица 3.3.2.1

Обработка разностным методом данных, полученных при вычислении БГКП при концентрации 1/10 в разведении  $1:10^6$  (КОЕ/ г  $\times 10^7$ ) на среде Левина

№ п/п	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd	tфакт. (1-2)
1.	Контроль	Календула				2,5	30*
	103	21	82	5	25		
	97	22	75	-2	4		

	97	23	74	-3	9		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=22$	$\bar{d}=77$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=38$		
2.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-3)
	Контроль	Полынь					
	103	24	79	3,7	13,4	2	37*
	97	25	72	-3,3	11,1		
	97	22	75	-0,3	0,1		
$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=23,7$	$\bar{d}=75,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=24,7$			
3.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-4)
	Контроль	Тысячелистник				1,7	31*
	103	47	56	3,3	11,1		
	97	46	51	-1,7	2,8		
	97	46	51	-1,7	2,8		
$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=46,3$	$\bar{d}=52,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=16,7$			
4.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-5)
	Контроль	Пижма				2,5	19*
	103	50	53	5	25		
	97	51	46	-2	4		
	97	52	45	-3	9		
$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=35,7$	$\bar{d}=48$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=38$			
5.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-6)
	Контроль	Мята				2,3	34*
	103	20	83	4	16		
	97	22	75	-4	16		
	97	18	79	0	0		
$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=20$	$\bar{d}=79$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=32$			
6.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-7)
	Контроль	Шалфей				1,5	40*
	103	41	62	2,7	7,1		
	97	40	57	-2,3	5,4		
	97	38	59	-0,3	0,1		
$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=39,7$	$\bar{d}=59,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=12,7$			
7.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-8)
	Контроль	Душица				2,6	28*
	103	25	78	4,3	18,8		

	97	28	69	-4,7	21,8		
	97	23	74	0,3	0,1		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=25,3$	$\bar{d}=73,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=40,7$		
8.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (1-9)
	Контроль	Тимьян					
	103	47	56	2,3	5,4	1,2	44*
	97	45	52	-1,7	2,8		
	97	44	53	-0,7	0,4		
	$\bar{x}_1=99$	$\bar{x}_2=45,3$	$\bar{d}=53,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=8,7$		
9.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-3)
	Полынь	Календула					
	24	21	3	1,3	1,8	1,3	1,25*
	25	22	3	-1,3	1,8		
	22	23	-1	2,7	7,1		
	$\bar{x}_1=23,7$	$\bar{x}_2=22$	$\bar{d}=1,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=10,7$		
10.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-4)
	Тысячелистник	Календула					
	47	21	26	1,7	2,8	0,9	27*
	46	22	24	-0,3	-0,3		
	46	23	23	-1,3	-1,3		
	$\bar{x}_1=46,3$	$\bar{x}_2=22$	$\bar{d}=24,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=0$		
11.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd	tфакт. (2-5)
	Пижма	Календула					
	50	22	28	-1	1	0,6	50*
	51	21	30	1	1		
	52	23	29	0	0		
	$\bar{x}_2=35,7$	$\bar{x}_1=22$	$\bar{d}=29$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=2$		
12.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-6)
	Календула	Мята					
	21	20	1	-1	1	1,5	1,31*
	22	22	0	-2	4		
	23	18	5	3	9		
	$\bar{x}_1=22$	$\bar{x}_2=20$	$\bar{d}=2$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=14$		
13.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-7)
	Шалфей	Календула					

	41	21	20	2,3	5,4	1,5	12*
	40	22	18	0,3	0,1		
	38	23	15	-2,7	7,1		
	$\bar{x}_1=39,7$	$\bar{x}_2=22$	$\bar{d}=17,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=12,7$		
14.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-8)
	Душица	Календула					
	25	21	4	0,7	0,4	1,8	1,9*
	28	22	6	2,7	7,1		
	23	23	0	-3,3	11,1		
	$\bar{x}_1=25,3$	$\bar{x}_2=22$	$\bar{d}=3,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=18,7$		
15.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (2-9)
	Тимьян	Календула					
	47	21	26	2,7	7,1	1,5	16*
	45	22	23	-0,3	0,1		
	44	23	21	-2,3	5,4		
	$\bar{x}_1=45,3$	$\bar{x}_2=22$	$\bar{d}=23,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=12,7$		
16.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-4)
	Тысячелистник	Полынь					
	47	24	23	0,3	0,1	0,9	25*
	46	25	21	-1,7	2,8		
	46	22	24	1,3	1,8		
	$\bar{x}_1=46,3$	$\bar{x}_2=23,7$	$\bar{d}=22,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=4,7$		
17.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-5)
	Пижма	Полынь					
	50	24	26	-1,3	1,8	1,3	20*
	51	25	26	-1,3	1,8		
	52	22	30	2,7	7,1		
	$\bar{x}_1=35,7$	$\bar{x}_2=23,7$	$\bar{d}=27,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=10,7$		
18.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-6)
	Полынь	Мята					
	24	20	4	0,3	0,1	0,3	11*
	25	22	3	-0,7	0,4		
	22	18	4	0,3	0,1		
	$\bar{x}_1=23,7$	$\bar{x}_2=20$	$\bar{d}=3,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=0,7$		
19.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-	tфакт.

	Шалфей	Полынь				2)	(3-7)
	41	24	17	1	1	0,6	27*
	40	25	15	-1	1		
	38	22	16	0	0		
	$\bar{x}_1=39,7$	$\bar{x}_2=23,7$	$\bar{d}=16$	$\Sigma=0$	$\Sigma^2=2$		
20.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (3-8)
	Душица	Полынь				0,7	2,5*
	25	24	1	-0,7	0,4		
	28	25	3	1,3	1,8		
	23	22	1	-0,7	0,4		
	$\bar{x}_1=25,3$	$\bar{x}_2=23,7$	$\bar{d}=1,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=2,7$		
21.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd	tфакт. (3-9)
	Тимьян	Полынь				0,9	24*
	47	24	23	1,3	1,8		
	45	25	20	-1,7	2,8		
	44	22	22	0,3	0,1		
	$\bar{x}_1=45,3$	$\bar{x}_2=23,7$	$\bar{d}=21,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=4,7$		
22.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-5)
	Пижма	Тысячелистник				0,9	5,29*
	50	47	3	-1,7	2,8		
	51	46	5	0,3	0,1		
	52	46	6	1,3	1,8		
	$\bar{x}_1=35,7$	$\bar{x}_2=46,3$	$\bar{d}=4,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=4,7$		
23.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-6)
	Тысячелистник	Мята				1,2	21*
	47	20	27	0,7	0,4		
	46	22	24	-2,3	5,4		
	46	18	28	1,7	2,8		
	$\bar{x}_1=46,3$	$\bar{x}_2=20$	$\bar{d}=26,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=8,7$		
24.	Посевы		d	$d-\bar{d}$	$(d-\bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-7)
	Тысячелистник	Шалфей				0,7	10*
	47	41	6	-0,7	0,4		
	46	40	6	-0,7	0,4		
	46	38	8	1,3	1,8		
	$\bar{x}_1=46,3$	$\bar{x}_2=39,7$	$\bar{d}=6,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=2,7$		

25.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-8)
	Тысячелистник	Душица					
	47	25	22	1	1	1,5	13*
	46	28	18	-3	9		
	46	23	23	2	4		
$\bar{x}_1=46,3$	$\bar{x}_2=25,3$	$\bar{d}=21$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=14$			
26.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (4-9)
	Тысячелистник	Тимьян					
	47	47	0	-1	1	0,6	1,73*
	46	45	1	0	0		
	46	44	2	1	1		
$\bar{x}_1=46,3$	$\bar{x}_2=45,3$	$\bar{d}=1$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=2$			
27.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (5-6)
	Пижма	Мята					
	50	20	30	-1	1	1,5	20*
	51	22	29	2	4		
	52	18	34	3	9		
$\bar{x}_1=35,7$	$\bar{x}_2=20$	$\bar{d}=31$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=9$			
28.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (5-7)
	Пижма	Шалфей					
	50	41	9	-2,3	5,4	1,5	7*
	51	40	11	-0,3	0,09		
	52	38	14	2,7	7,1		
$\bar{x}_1=35,7$	$\bar{x}_2=39,7$	$\bar{d}=11,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=12,7$			
29.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (5-8)
	Пижма	Душица					
	50	25	25	-0,7	0,49	1,8	14*
	51	28	23	-2,7	7,1		
	52	23	29	3,3	11,1		
$\bar{x}_1=35,7$	$\bar{x}_2=25,3$	$\bar{d}=25,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=18,7$			
30.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (5-9)
	Пижма	Тимьян					
	50	47	3	-2,7	7,1	1,5	4*
	51	45	6	0,3	0,09		
	52	44	8	2,3	5,4		
$\bar{x}_1=35,7$	$\bar{x}_2=45,3$	$\bar{d}=5,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=12,7$			

31.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (6-7)
	Шалфей	Мята					
	41	20	21	1,3	1,8	0,9	22*
	40	22	18	-1,7	2,8		
	38	18	20	0,3	0,1		
	$\bar{x}_1=39,7$	$\bar{x}_2=20$	$\bar{d}=19,7$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=4,7$		
32.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (6-8)
	Душица	Мята					
	25	20	5	-0,3	0,09	0,3	16*
	28	22	6	0,7	0,49		
	23	18	5	-0,3	0,09		
	$\bar{x}_1=25,3$	$\bar{x}_2=20$	$\bar{d}=5,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=0,7$		
33.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (6-9)
	Тимьян	Мята					
	47	20	27	1,7	2,8	1,2	21*
	45	22	23	-2,3	5,4		
	44	18	26	0,7	0,49		
	$\bar{x}_1=45,3$	$\bar{x}_2=20$	$\bar{d}=25,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=8,7$		
34.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (7-8)
	Шалфей	Душица					
	41	25	16	1,7	2,8	1,2	11*
	40	28	12	-2,3	5,4		
	38	23	15	0,7	0,49		
	$\bar{x}_1=39,7$	$\bar{x}_2=25,3$	$\bar{d}=14,3$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=8,7$		
35.	Посевы		d	$d - \bar{d}$	$(d - \bar{d})^2$	Sd(1-2)	tфакт. (8-9)
	Тимьян	Душица					
	47	25	22	2	4	1,5	13*
	45	28	17	-3	9		
	44	23	21	1	1		
	$\bar{x}_1=45,3$	$\bar{x}_2=25,3$	$\bar{d}=20$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d - \bar{d})^2=14$		

\* Достоверность различий определялась по критерию Стьюдента  $p < 0,05$ ,  $t_{\text{теор.}} = 2,78$ .

На основании полученных данных можно сделать вывод, что при  $P_{0,95}$   $t_{0,95} = 2,78$  и  $V = (n_1 - 1) + (n_2 - 1) = (3 - 1) + (3 - 1) = 4$



1. Между контролем и экстрактом календулы разница существенная, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 30, что больше принятого уровня вероятности.
2. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактов полыни составляет 37, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП контроля над тысячелистником существенно.
3. Поскольку критерий Стьюдента фактический между контролем и тысячелистником составляет 31, что больше табличного значения  $t_{0,95}$  то разница между ними существенна.
4. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом пижмы составляет 19, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому, пижма влияет на рост БГКП.
5. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом мяты составляет 34, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП контроля и экстракта мяты, существенна, на принятом уровне вероятности.
6. Поскольку критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом шалфея составляет 40, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ , то разница между ними существенна.
7. Между контролем и экстрактом душицы разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 28, что больше принятого уровня вероятности.
8. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом тимьяна составляет 44, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому, экстракт тимьяна влияет на рост БГКП.
9. Полученный фактический критерий Стьюдента сравниваем с теоретическим. Так как критерий Стьюдента фактический между экстрактом календулы и экстрактом полыни составляет 1,25, что меньше  $t_{0,95}$ , то разность между вариантами не существенна.

10. Между экстрактом календулы и экстрактом тысячелетника разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 27, что больше принятого уровня вероятности.

11. Между экстрактом пижмы и экстрактом календулы разница существенная, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 50, что больше принятого уровня вероятности.

12. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом календулы и экстрактов мяты составляет 1,31, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП экстрактом календулы над экстрактом мяты не существенно.

13. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом шалфея и экстрактом календулы составляет 12, что больше табличного значения  $t_{0,95}$  то разница между ними существенна.

14. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом душицы и экстрактом календулы составляет 1,9, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, пижма не влияет на рост БГКП.

15. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом тимьяна и экстрактом календулы составляет 16, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ . Поэтому количества БГКП экстрактом тимьяна и экстрактом календулы существенна, на принятом уровне вероятности.

16. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом тысячелистника и экстрактом полыни составляет 25, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ , то разница между ними существенна.

17. Между экстрактом пижмы и экстрактом полыни разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 20, что больше принятого уровня вероятности.

18. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом мяты и экстрактом полыни составляет 11, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому, экстракт мяты влияет на рост БГКП.

19. Полученный фактический критерий Стьюдента сравниваем с теоретическим. Так как критерий Стьюдента фактический между экстрактом шалфея и экстрактом полыни составляет 27, что больше  $t_{0,95}$ , то разность между вариантами существенна.

20. Между экстрактом душицы и экстрактом полыни разница не существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 2,5, что меньше принятого уровня вероятности.

21. Между экстрактом тимьяна и экстрактом полыни разница существенная, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 24, что больше принятого уровня вероятности.

22. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом пижмы и экстрактов тысячелистника составляет 5,29, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП экстракта пижмы над экстрактов тысячелистника существенно.

23. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом тысячелистника и экстрактом мяты составляет 21, что больше табличного значения  $t_{0,95}$  то разница между ними существенна.

24. Критерий Стьюдента фактический между контролем и экстрактом пижмы составляет 10, что больше  $t_{0,95}$ . Поэтому, пижма влияет на рост БГКП.

25. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом тысячелетника и экстрактом душицы составляет 13, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП экстракта тысячелистника над экстрактом душицы существенно, на принятом уровне вероятности.

26. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом тысячелистника и экстрактом тимьяна составляет 1,73, что меньше табличного значения  $t_{0,95}$ , то разница между ними не существенна.

27. Между экстрактом пижмы и экстрактом мяты разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 20, что больше принятого уровня вероятности.

28. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом пижмы и экстрактом шалфея составляет 7, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, экстракт пижмы влияет на рост БГКП.

29. Полученный фактический критерий Стьюдента сравниваем с теоретическим. Так как критерий Стьюдента фактический между экстрактом пижмы и экстрактом душицы составляет 14, что больше  $t_{0,95}$ , то разность между вариантами существенна.

30. Между экстрактом пижмы и экстрактом тимьяна разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 4, что больше принятого уровня вероятности.

31. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом шалфея и экстрактом мяты составляет 22, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ . Поэтому превышение количества БГКП экстракта шалфея над экстрактом мяты существенна, на принятом уровне вероятности.

32. Поскольку критерий Стьюдента фактический между экстрактом душицы и экстрактом мяты составляет 16, что больше табличного значения  $t_{0,95}$ , то разница между ними существенна.

33. Между экстрактом тимьяна и экстрактом мяты разница существенна, так как критерий Стьюдента фактический между ними составляет 21, что больше принятого уровня вероятности.

34. Критерий Стьюдента фактический между экстрактом шалфея и экстрактом душицы составляет 11, что меньше  $t_{0,95}$ . Поэтому, экстракт шалфея влияет на рост БГКП.

35. Полученный фактический критерий Стьюдента сравниваем с теоретическим. Так как критерий Стьюдента фактический между экстрактом тимьяна и экстрактом душицы составляет 13, что больше  $t_{0,95}$ , то разность между вариантами существенна.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования нами были изучены лекарственные растения семейства *Asteraceae* и семейства *Lamiaceae*. Исследованы надземные части растений календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), полыни горькой (*Artemisia absinthum* L.), тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.), мяты перечной (*Mentha piperita* L.), шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.) и влияние экстрактов этих растений на рост патогенных микроорганизмов.

В ходе исследования были изучены морфология и свойства штамма *Escherichia coli*, а также систематика и морфология используемых лекарственных растений.

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. При влиянии экстрактов лекарственных растений семейства *Asteraceae* календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), полыни горькой (*Artemisia absinthum* L.), тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.) наблюдалось плавное снижение числа колоний *Escherichia coli*. Введение в питательную среду экстрактов при концентрации 1/10 оказало наибольшее угнетение числа колоний, чем концентрация 1/20. На протяжении 0-6 часов инкубации наблюдалось увеличение числа колоний, а к 24 часам отмечался тормозящий эффект. При концентрациях 1/10 и 1/20 (г/мл) наибольшее количество выросших колоний *Escherichia coli* наблюдалось в экстрактах с растениями тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.) и пижма

обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.). Растения, обладающие сильными антибактериальными и противогрибковыми свойствами календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) и полынь горькая (*Artemisia absinthum* L.) оказали достоверное влияние на рост *Escherichia coli* по сравнению с контролем. Эти данные следует учитывать при разработке лекарственных препаратов на основе этих растений для фитомедицины.

2. При влиянии экстрактов лекарственных растений семейства *Lamiaceae* мяты перечной (*Mentha piperita* L.), шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.) наблюдалось плавное снижение числа колоний *Escherichia coli*. Введение в питательную среду экстрактов при концентрации 1/10 оказало наибольшее угнетение числа колоний, чем концентрация 1/20. Так же увеличение скорости роста колоний зависело от временных интервалов. На протяжении 0-6 часов инкубации наблюдалось увеличение числа колоний, а к 24 часам отмечался тормозящий эффект. При концентрациях 1/10 и 1/20 (г/мл) наибольшее количество выросших колоний *Escherichia coli* наблюдалось в экстрактах с растениями тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) и шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.). Растения, обладающие сильными антибактериальными и противогрибковыми свойствами, мята перечная (*Mentha piperita* L.) и душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) оказали достоверное влияние на рост *Escherichia coli* по сравнению с контролем. Эти данные следует учитывать при разработке лекарственных препаратов на основе этих растений для фитомедицины.
3. При помощи растительного экстракта можно достичь выхода разной биомассы бактериальных штаммов. Оптимальное количество прибавляемого экстракта к бактериальной взвеси будет колебаться в

зависимости от среды и особенности объекта выращивания. Исходя из полученных данных в настоящей работе, можно предположить, что не только выбранные нами растения, но и другие растительные экстракты способны влиять на биологическую активность, жизнеспособность и рост многих других бактериальных культур. Полученные данные могут быть использованы в промышленной биотехнологии и микробиологии, в разработке новых лекарственных препаратов.

4. Проанализировав полученные данные, можно отметить, что используемые лекарственные растения действительно обладают антибактериальной активностью по отношению к штамму *Escherichia coli*. Выявлены экстракты лекарственных растений, оказывающие выраженное ингибирующее действие: тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.), пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.), тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.), шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.). В результате выполненной работы выявлены экстракты лекарственных растений, оказывающие яркое влияние на рост *Escherichia coli*: календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.), полынь горькая (*Artemisia absinthum* L.), мята перечная (*Mentha piperita* L.), душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.). Микроорганизмы, выращиваемые на питательной среде с добавлением экстрактов растений семейства *Asteraceae* и семейства *Lamiaceae*, сохраняли свои основные биологические свойства.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адлова Г.П. и др. Разработка стимуляторов роста бактерий из растений // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1998. – №1. – С. 13-17.
2. Андреева С.М. Ячменные проростки как источник веществ, влияющих на синтез некоторых биологически активных соединений микроорганизмами: Автореф дис... канд. биол. наук. – Л., 1969. – 18 с.
3. Бондаренко В.М. Дисбактериозы кишечника, их диагностика и терапия // Лабораторная диагностика . – 2014. –№3. – С. 14-18.
4. Воробьева А. А. Микробиология. – М.: Изд – во «Медицина», 1998. – 336 с.
5. Головкина М.Т., Новотельнов Н.В. Синергизм аскорбиновой кислоты и биофлавоноидов и пути его практического использования. // Микроорганизмы и зеленое растение / отв. ред. д.б.н. проф. Вернер А.Р. – Новосибирск: Наука, 1967. – С. 122-130.
6. Головкин Э.А. Физиолого-биохимические основы взаимодействия высших растений и микроорганизмов в естественных и искусственных экосистемах: Автореф. дис... канд. биол. наук. – Киев, 1985. 25 с.
7. Голубинская Н.С. Микориза древесных растений.// Структурные и функциональные связи высших растений и микроорганизмов. – Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1977. – С. 56-68.
8. Голышин П.Н. Экологическая роль растительных экссудатов во взаимодействии растений и микроорганизмов.: Автореф. дис... канд. биол. наук. – М.:, 1991. – 24 с.
9. Государственная фармакопея СССР: Вып.1.- XI-е изд. – М.: Медицина, 1968. – 1078 с.
10. Гринкевич И.Н. Лекарственные растения. – М., 1991. – 225 с.



11. Громова Л.И. К вопросу о наличии биологически активных веществ в некоторых растениях Дальнего Востока и Северного Кавказа: Автореф дис...канд. биол. наук. – Ставрополь, 1973. – 31 с.
12. Гусев М. В. Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минеева. – М.: Издательский центр «Академия», 2006. – 464 с.
13. Делова Г.В., Родюкова Е.Н., Макаренко Н.Г. Чувствительность синегнойной палочки к фитонцидам некоторых растений // Микроорганизмы и зеленое растение.– Новосибирск: Наука, 1967. – С. 81-89.
14. Елинов Н.П. Химическая микробиология. – М., 1989. – 448 с.
15. Еременко Л.Л. Содержание флавоноидов в календуле лекарственной при интродукции // Физиолого – биохимические аспекты изучения лекарственных растений. – Новосибирск, 2008. – 25 с.
16. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика. – СПб.: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2003. – 432 с.
17. Звягинцев Д.Г., Доброльская Т.Г. Растения как центры формирования бактериальных сообществ // Журнал общей биологии. – 1993. – т.54. – №2. – С. 183-200.
18. Ивасенко С.А., Прибыткова Л.Н., Адекенов С.М. Содержание коротиноидов и флавоноидов в соцветиях некоторых сортов *Calendula officinalis* L. (календула лекарственная) // Растительные ресурсы, 2010. – т.36. – вып.2. – С. 107-110.
19. Ивашин Д.С., Катина З.Ф. Справочник по заготовкам лекарственных растений. – Киев.: Урожай, 1989. – 376 с.
20. Казаринова Н.В., Ткаченко К.Г., Музыченко Л.М., Сафронова Н.Г., Ткачев А.В., Королюк Е.А. Компонентный состав и антибиотическая активность эфирного масла *Origanum vulgare* L., произрастающей в некоторых регионах Западной Сибири // Растительные ресурсы. – т. 38. – вып.2. – 2012. – С. 99-103.

21. Клышев П.К., Нурахов Д.Б. Микробиологическое окисление анабазина. – Алма-Аты, «Наука», 1997. – 96 с.
22. Колесова В.Г., Марченко В.А. Лекарственные растения: мифы и реальность. Традиционная (народная) медицина в объективе науки. – СПб.: СПХФА, 1998. – 261с.
23. Коновалов Д.А., Старых В.В. Фитотоксическая и антифунгальная активность суммы лактонов *Artemisia taurica* Willd // Растительные ресурсы. – т. 26, – вып.2. – 2002. – С. 23-26.
24. Коновалов Д.А., Старых В.В., Шхануков Ю.Ж. Фитотоксическая и антифунгальная активность суммы лактонов *Artemisia taurica* Willd // Растительные ресурсы. – т. 38. вып.3. – 2012. – С. 551-562.
25. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. – Издательство Академии Наук СССР, 1949. – 829 с.
26. Крусь Г. Н., Храмцов, А. Г. Технология молока и молочных продуктов. – М.: Колос, 2005. – 455 с.
27. Кузнецова М.А. Фармакогнозия: Учебник. – 2-е изд. – М.: Медицина, 1993. – 448 с.
28. Кузьмина С.С., Попова А.С. Содержание рутина в растениях центральной Якутии // Теоретические и прикладные проблемы охраны генофонда и обогащения биоразнообразия. – Якутск, 1997. – 106 с.
29. Лекарственные растения государственной фармакопеи. Фармакогнозия. – М., 2003. – 534 с.
30. Либинтов М.А. Как помочь самому себе // Советы народных целителей. – Минск, 1992. –152 с.
31. Ловкова М.Я., Рабинович А.М., Пономаревы С.М. и др. Почему растения лечат. – М.: Наука, 1990. – 256 с
32. Мазнев Н.И. Энциклопедия лекарственных растений. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Мартин, 2004. – 496 с.

33. Майстренко Г.Г. Симбиоз у небобовых древесных растений на примере облепихи // Структурные и функциональные связи высших растений и микроорганизмов. – Новосибирск, Наука. Сибирское отделение, 1977. – С. 17-34.
34. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Медицина, – 1993. – Ч.1 и 2. – 1216 с.
35. Микробиология и биохимия разложения растительных материалов: Сборник статей АН СССР. Институт биохимии и физиологии микроорганизмов / отв. ред. Г.К. Скрябин и др. – М.: Наука, 1988. – 334 с.
36. Микроорганизмы и высшие растения: Сборник статей / Казань институт биологии / отв. ред. С.М. Самсонова. – Казань, 1978. – 97 с.
37. Мир растений. – Т. 1-7 / Под ред. Тахтаджяна А.Л. – М.: Просвещение, 1991. – 475 с.
38. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. – М.: Колос, 1978. – 446 с.
39. Моисейченко В.Ф., Трифонова М.Ф., Заверюха А.Х., Ещенко В.Е. Основы научных исследований в агрономии. – М.: Колос, 1996.— 336 с.
40. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов. – М.: Медицина, 2003. – 656 с.
41. Оразова М.Х. Структура микробного комплекса прикорневой зоны растений. – М.: 1994. – 27 с.
42. Пасишничего В.А. Растения - продуценты биологически активных веществ // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – т.7. – №8. – С. 13-19.
43. Петров К.А. Биологическая активность эфирных масел *Ledum palustre* L., *Acorus calamus* L // Теоретические и прикладные проблемы охраны генофонда и обогащения биоразнообразия. – Якутск, 2007. – С. 97-98.

44. Пронченко Г.Е. Лекарственные растительные средства – М.: ГЭОТР-МЕД, 2002. — 288 с.
45. Романович Е.А. Лекарственные растения Северной Осетии и содержание в них витамина С. – Орджоникидзе: Ир, 1969. — 279 с.
46. Рупасова Ж.А., Кухарева Л.А., Игнатенко В.А. Особенности накопления фенольных соединений в душице обыкновенной при интродукции в Беларуси. – Новосибирск, 2008. — 57 с.
47. Рупасова Ж.А., Прилищ Н.П., Игнатенко В.А. Особенности сезонного накопления витамина С в растениях пустырника пятилопастного и валерианы лекарственной в условиях Беларуси // Серия биологии. – 2014. – С. 3-5.
48. Сафар А.С., Оганесян Э.Г. Флавоноиды как потенциальные противоаллергические соединения // Фармацевтическая химия и фармакогнозия. – 1991. – №2. – С. 4-8.
49. Сенина Э.Г. Жимолость синеплодная – ценное ягодное и лекарственное растение в Сибири. – Новосибирск, 1998. – 60 с.
50. Сидоренко О. Д. Микробиология. – М.: ИНФРА, 2005. – 287 с.
51. Скорбач В.В. Доценко А.Е. Влияние экстрактов лекарственных растений *Chelidonium majus* и *Medicago sativa* на рост и развитие штамма *Escherichia coli* // Современные тенденции развития науки и технологий. - 2016. – №2. – С. 75-78.
52. Современная фототерапия / Под ред. чл-кор. проф., д-ра Веселина Петкова В.– София: Медицина и физкультура, 1988. — 504 с.
53. Степанова Т.А. Изучение динамики накопления флавоноидов и фенольных кислот в соцветиях пижмы северной и пижмы обыкновенной // Изыскание новых биологически активных веществ в лекарственных растениях флоры Дальнего Востока. – Хабаровск, 2004. – С. 28-31.

54. Структурные и функциональные связи высших растений и микроорганизмов. /Сборник/ отв. ред. З.М. Яковлева. – Новосибирск, «Наука», Сибирское отделение, 1977. – 221 с.
55. Терехин А.А., Вандышев В.В. Технология возделывания лекарственных растений. – М.: РУДН, 2008. – 201 с.
56. Ткачев А.В. Химия возобновляемого растительного сырья: исследование терпеноидов растений Сибири и Дальнего Востока. – Новосибирск, 2006. – 76 с.
57. Толкунова Н.Н., Чуева Е.Н., Бидюк А.Я. Влияние экстрактов лекарственных растений на развитие микроорганизмов / Пищевая промышленность. – 2002. – №8. – С. 70-71.
58. Фаррингтон, Э. Гомеопатическая клиническая фармакология. – М.: Общества врачей-гомеопатов РСФСР, 1975. – 653 с.
59. Хайдукова Е.В., Надеждин Д.В., Коссиор Л.А., Теслов Л.С. Антимикробная активность сухих экстрактов из надземной части *Salvia tesquicola* и листьев *S. officinalis* L. // Растительные ресурсы. – Вып. 3. – 2013. — С. 57-61.
60. Хайдукова Е.В., Надеждин Д.В., Теслов Л.С. Антимикробная активность сухих экстрактов из надземной части *Salvia tesquicola* и листьев *S. officinalis* L. // Растительные ресурсы. – Вып.2. – 2003. — С. 25-29.
61. Чиков П.С. Лекарственные растения – путь к здоровью. – М.: Научно – издательский центр «Инженер», 1997. - 489 с.
62. Чистяков В.Ю. Опыт разработки и внедрения кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами. – Москва, 2012. – С. 14-15.
63. Чуприна Р.П. Биопрепараты: требования к отбору производственных штаммов, оценка качественных показателей, проблемы стандартизации – М.:, 2012. - С. 10-11.
64. Шаии С.С. Экзогенная регуляция накопления биологически активных веществ лекарственными и эфиромасличными растениями как

способ формирования максимальной биопродуктивности в онтогенезе // Сельскохозяйственная биология. Серия биология растений. - 2006. - №3. – С. 68-82.

65. Шелаева Н.Ю., Мишуров В.П., Шаин С.С., Дмитриева В.Л. Содержание и состав эфирного масла мяты перечной при интродукции в средне-таежную подзону. – Новосибирск, 2008. — 172 с.

66. Шлегель Г.Г. Общая микробиология. - М.: Мир, 1987. — 567 с.

67. Яковлев Г.П. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: Учеб. пособие / Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. – СПб.: СпецЛит. 2004. – 765 с.

68. Banaszak H., Ojezyk., Szymczak-Nowak J., Sitarki A., Wasacz E. Influence of Agrispon on health growth and yield of sugar beet.// Progress in plant protection. – Poznan, 1999, Vol. 39, N2. – P. 789-792.

69. Dickens J.A., Berrang M.E., Cox N.A. Efficacy of an herbal extract on the microbiological quality of broiler carcasses during a simulated chill. // Poultry Sc., 2000, Vol.79, N8. – P. 1200-1203.

70. Hsin-Sheng Tsay, Lie-Fen Shyur Dinesh, Chandra Agrawal, Yang-Chang Wu, Sheng-Yang Wang Medicinal Plants - Recent Advances in Research and Development/- Singapore, 2016, – P. 106-107.

71. Sivropoular A., Papanicolaou E., Nicolaou C. / Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum Essential Oils. // J. agr. Food Chem. – 1996. – Vol. 44. –№5. – P. 1202-1205.

## **Приложения**

## Приложение 1

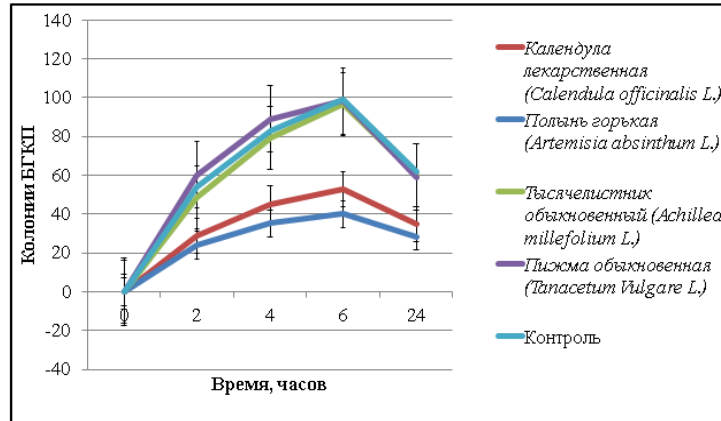


Рис. 1. Количество колоний бактерий *Escherichia coli* экстракт растений семейства *Asteraceae* с концентрацией 1/20 в разведении  $10^6$

## Приложение 2

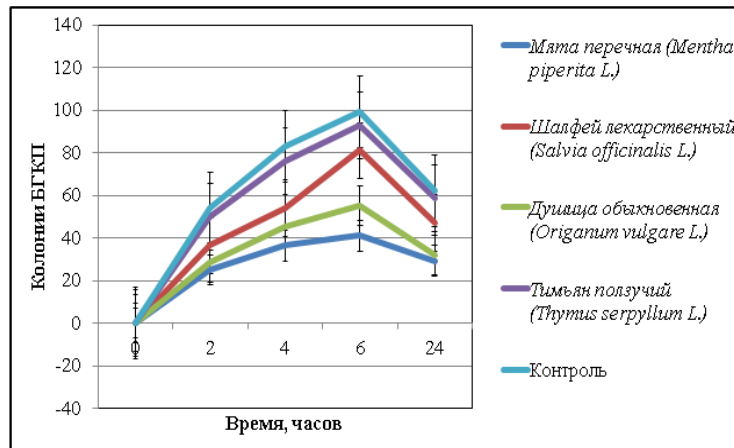


Рис. 2. Количество колоний бактерий *Escherichia coli* экстракт растений семейства *Asteraceae* с концентрацией 1/10 в разведении  $10^6$

## Приложение 3

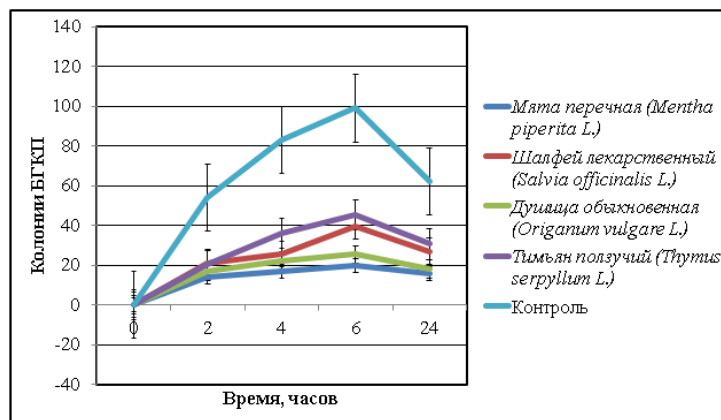


Рис. 3. Количество колоний бактерий *Escherichia coli* экстракт растений семейства *Lamiaceae* с концентрацией 1/20 в разведении  $10^6$



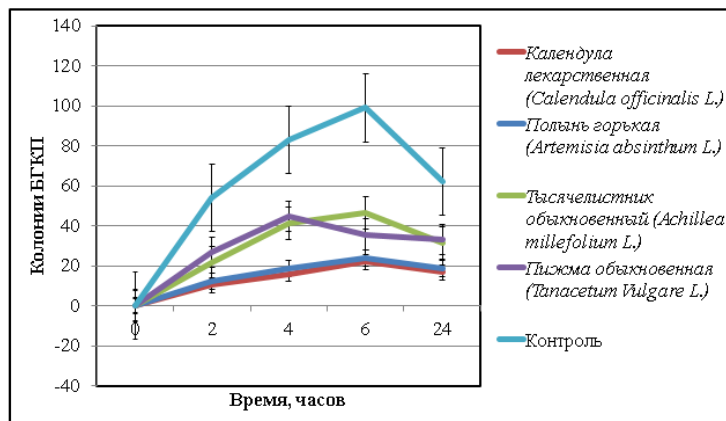


Рис. 4. Количество колоний бактерий *Escherichia coli* экстракт растений семейства *Lamiaceae* с концентрацией 1/10 в разведении  $10^6$