**Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение**

**«Биотехнологический лицей №21»**

**Научное общество учащихся «Биом»**

**Номинация «Юные исследователи»**

**(«Ботаника и экология растений»)**

**Токсичность и антибактериальное действие различных травянистых растений**

**Иванова Варвара Олеговна,**

**7 класс**

***Научный руководитель:***

***Рюкбейль Дмитрий Александрович,***

**Новосибирская область,**

**Наукоград Кольцово 2022**

**Оглавление**

[**Введение** 3](#_Toc119443056)

[**Токсичность и антисептическое действие различных растений, применение в жизни (литературный обзор)** 3](#_Toc119443057)

[***Токсичность*** 3](#_Toc119443058)

[***Антибактериальное действие*** 4](#_Toc119443059)

[***Как с помощью рябины можно отчистить воду*** 5](#_Toc119443060)

[**Методика проведения исследования** 5](#_Toc119443061)

[***Токсичность растений*** 5](#_Toc119443062)

[***Антибактериальное действие растений*** 6](#_Toc119443063)

[**Результаты и обсуждения** 9](#_Toc119443064)

[***Токсичность различных видов травянистых растений*** 9](#_Toc119443065)

[***Оценка антибактериального действия рябины*** 10](#_Toc119443066)

[**Заключение и выводы** 12](#_Toc119443067)

[**Библиографический список** 13](#_Toc119443068)

[**Приложение** 14](#_Toc119443069)

[***Описание растений, использованных в работе*** 14](#_Toc119443070)

# **Введение**

В наше время антибиотики становятся неэффективными, потому что у бактерий появляется устойчивость к ним. Но существуют природные лекарства-растения, в составе которых есть такие вещества (яды), способные уничтожать бактерии. Поэтому в современной медицине всё более популярным становится применение растений. Но нужно помнить о том, что любое лекарство - это яд. Также работает и с растениями, если переборщить с концентрацией, то какое-либо вещество может оказать на пациента не только лечебное, но и негативное влияние.

В данной работе проведена оценка антибактериального действия некоторых растений, а также их токсичность для различных животных.

Эта работа может быть интересна и полезна людям, которые участвуют в разных экспедициях, путешествиях. Не всегда можно с собой взять большое количество лекарств, аптечку; иногда эти лекарства можно найти прямо рядом с собой – в дикой природе.

***Цель:*** определить токсичность и антисептическое действие отдельных видов травянистых растений.

***Задачи:***

1. определить токсичность отдельных видов травянистых растений на рачках – Артемия Салина;
2. определить антибактериальное действие некоторых травянистых растений;
3. определить наиболее токсичное растение на основе полученных данных.

# **Токсичность и антисептическое действие различных растений, применение в жизни (литературный обзор)**

## ***Токсичность***

Природные токсины – это токсичные вещества природного происхождения, вырабатываемые некоторыми видами живых организмов. Эти токсины не опасны для вырабатывающих их организмов, но могут быть токсичны для других, в том числе для человека, в случае их приема с пищей [1].

Яды растениям нужны, чтобы защищаться от животных фитофагов методами химической защиты. Яды, которые вырабатывают растения, называют фитотоксинами. Обычно ядовитыми растениями считают те растения, которые опасны для человека и животных. При этом в разряд ядовитых попадает сравнительно небольшое число видов, в основном алкалоидосодержащих, причём среди них многие относятся к лекарственным. Растения, относительно безвредные для человека, могут быть токсичными для насекомых, птиц или рыб [2]. Действующие вещества лекарственных растения в большом количестве также ядовиты и для организма человека. Отличием токсичности от антибактериального действия растений является то, что токсичность, это влияние на животных тех или иных растений, а антибактериальное действие, это способность различных растений убивать бактерии.

## ***Антибактериальное действие***

Растительный препарат в народной медицине не может всегда быть равноценной альтернативой химическим соединениям (лекарствам, таблеткам): он не проходит клинические исследования, его эффект менее изучен. Однако есть ряд безусловных преимуществ фитопрепаратов:

* мягкое действие;
* накопительный эффект, который длится еще некоторое время после отмены препарата;
* минимальное количество побочных эффектов;
* редкие аллергические реакции;
* широкий спектр антимикробной активности;
* разнонаправленность – благодаря чему можно принимать один препарат для устранения нескольких симптомов;
* доступность – некоторые из лекарственных форм можно даже делать в домашних условиях, а цена готовых фитопрепаратов в аптеке гораздо меньше синтетических средств [3].

Каждое лекарственное растение содержит одно или более веществ, которые могут при соответствующих условиях оказывать целебные свойства. Распределение этих веществ по лекарственному растению зачастую не равномерно [4]. Первобытные люди в поисках съедобного потребляли травы, плоды, семена растений после которых иногда наблюдали заживляющий, слабительный, кровоостанавливающий эффект [5].

Преимуществом лекарственных растений является их малая токсичность и возможность длительного применения без существенных побочных явлений. Широкие терапевтические возможности представляют использование овощей, ягод и фруктов [6].

Сейчас более распространённым становится применение растений в медицине, потому что бактерии постепенно становятся устойчивыми к антибиотикам. Бактерии, как и любые микроорганизмы, стремятся избежать гибели, используя разные механизмы для этого [7].

Один из них – продукция ферментов, разрушающих антибиотик. Самый известный из них — бета-лактамаза. Благодаря ему многие виды бактерий стали устойчивы к антибиотикам бета-лактамной структуры. Если в структуре антибиотика есть так называемое бета-лактамное кольцо, этот фермент его разрушает, и препарат становится неэффективным. Второй механизм формирования устойчивости бактерий — изменение структур, с которыми взаимодействует антибиотик. Третий — ускоренное выведение антибиотика из бактериальной клетки. Этот механизм открыт относительно недавно, и им обладают практически все бактерии [7].

## ***Как с помощью рябины можно отчистить воду***

Из литературных источников известно, что наши предки при недостатке или сомнительном качестве питьевой воды опускали ветки рябины с листьями в застойную воду, и она через некоторое время становилась пригодной для питья. Рябина помогала также сохранять запас продуктов в течение долгой русской зимы - листьями переслаивали картофель и другие овощи, предназначенные для хранения. Не случайно ведь наши прадеды при закваске капусты в бочках (или при мочении яблок) обязательно клали еще и веточку рябины, тогда капуста хранилась очень долго [8].

Антимикробные свойства рябины первыми взяли на «вооружение» охотники, которые зачастую пополняли запасы воды из рек, прудов и других иногда неприглядных источников воды. В емкость с водой они клали веточку красной рябины с листьями и ягодами. Через пару часов даже затхлая вода становилась пригодной для питья [9].

# **Методика проведения исследования**

## ***Токсичность растений***

Для проведения исследования были взяты:

1. Выращенные артемии. Для их выращивания понадобилось: соль 0,5 столовой ложки, цисты артемии 0,35 чайной ложки, вода 0,5 литра. В тарелку наливалась вода, в воду насыпалась соль и растворялась. В солевой раствор насыпались цисты, тарелка ставилась на подоконник на 24-36 часов до вылупления артемий.

2. Различные растения: маралий корень, папоротник, чемерица, борщевик, кульбаба осенняя, подорожник, ягоды рябины, мать-и-мачеха, одуванчик, бадан (корневище и листья), лопух, ягоды малины, ягоды смородины, синяк.

Сначала получали сок из растения (растение резалось ножницами, и полученная кашица отжималась с помощью пресса для чеснока). Далее 4 мл солевого раствора с артемиями помещались в пробирки и к ним добавлялось по 5 капель сока исследуемого растения. Засекалось 10 минут, за эти 10 минут фиксировалось происходящее. Окончательный осмотр артемий в каждой пробирке производился на следующий день. По такой методике были проверены растения: маралий корень, папоротник, чемерица, борщевик.

Поскольку во всех 4 экспериментах артемии не умирали, для повторного опыта была увеличена концентрация сока растений: на тот же объем, при повторном опыте, добавлялось по 8 капель сока исследуемых растений. Фиксация результатов проводилась в те же, что и в первом эксперименте временные интервалы.

Во втором эксперименте, когда пробирка проверялась на утро повторно, не осталось живых особей. Из-за длительного периода было не понятно от чего умерли артемии (от токсичности сока растения или другого фактора, например, недостатка кислорода), поэтому был проведен еще третий эксперимент с усложнением методики.

Чтобы получить более точные результаты эксперимент проводился также как и в первых двух вариантах, но после того, как в пробирку с артемиями добавлялся сок растения, она регулярно просматривалась в течении дня и точно фиксировалось время наступления гибели артемий. По такой методике были проверены растения: кульбаба осенняя, подорожник, ягоды рябины, мать-и-мачеха (листья), одуванчик, бадан (корень, листья, стебель), лопух, ягоды малины, ягоды красной смородины, «синяк».

Кроме того, был еще проведён финальный опыт, в котором использовались все токсичные растения, использованные в ранее проведённых экспериментах (кроме бадана, потому что его негде было взять), и контроль (вода). Из емкости с артемиями в чашки Петри помещалось по 10 рачков, к ним сбоку добавлялся одинаковый объем сока исследуемого растения или воды (контроль). Смотрелось как артемии отреагируют на вытяжку (будут держаться вблизи к вытяжке или вдали). В первые 30 минут чашки просматривались примерно каждые 10 минут. Далее они просматривались каждые 30 минут. Чашки просматривались до тех пор, пока в них не погибнуть все артемии.

На основе полученных в этих трех опытах результатов делался вывод о степени токсичности каждого из исследуемых растений.

## ***Антибактериальное действие растений***

Для того, чтобы оценить способность сока рябины, в сравнении с ампициллином (антибиотик, ингибирующий рост контаминирующих бактерий), уничтожать бактерии и подавлять их рост, использовался метод сплошного бактериального посева в чашку Петри на среду LB и помещение на нее дисков из фильтровальной бумаги, предварительно пропитанных исследуемым веществом.

В данном эксперименте использовались:

* бактерии Escherichia coli (лабораторный безопасный штам HB-101 K-12);
* капсулы для приготовления жидкой питательной среды LB и бактериологический агар;
* ягоды рябины;
* ампициллин;

Ход первого эксперимента описан в таблице 1.

***Таблица 1. Описание этапов эксперимента по оценке способности различных антисептиков уничтожать бактерии и подавлять их рост***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Этап** | **Суть этапа** | **Действия** |
| **1** | Приготовление питательной среды для бактерий | В колбу объемом 250 мл помещалось 100 мл дистиллированной воды, сухая смесь для приготовления питательной среды LB. Колба закрывалась ватно-марлевой пробкой. Все компоненты перемешивались с помощью магнитной мешалки. Далее колба с содержимым помещалась в микроволновку, и несколько раз полученный раствор доводился до кипения и взбалтывался. Полученная среда после остывания до 50ºС разливалась в ламинарном боксе по большим чашкам Петри, где среда окончательно остывала и затвердевала. |
| **2** | Приготовление стартовой чашки с культурой E. coli | Для стартовой чашки бралась одна чашка с питательной средой и лиофилизированные бактерии. Стерильная бактериологическая петля опускалась во флакон с бактериями, после чего этой же петлей бактерии рассеивались по поверхности среды методом штриха. Далее чашка с бактериями ставилась в термостат на 24 часа при температуре 36ºС и бактерии вырастали. |
| **3** | Проведение опыта | Для проведения опыта взяли 15 чашек с питательной средой (по 5 чашек на рябину, по 5 чашек на антибиотик, 5 чашек на контроль), жидкую питательную среду и стартовую чашку.  Все манипуляции проводились в ламинарном боксе.  В микропробирку автоматическим дозатором набиралось 600 мкл жидкой питательной среды, а стерильной бактериологической петлёй из стартовой чашки бралась одна одиночная колония бактерий. Бактерии размешивались в среде.  Далее автоматическим дозатором бралось по 300 мкл раствора бактерий, которые выливались на чистую чашку с подготовленной средой. Смесь размазывалась по чашке с помощью стеклянного шпателя.  Заранее подготовленные и простерилизованные маленькие кружочки из фильтровальной бумаги пропитывались рябиной и антибиотиком.  Эти кружочки раскладывались в чашки с бактериальным посевом. На каждую чашку раскладывалось по 5 кружочков фильтровальной бумаги, пропитанных рябиной или антибиотиком.  То же самое было проделано с остальными чашками.  В качестве контроля подготавливались чашки, в которые выкладывались кружочки фильтровальной бумаги, пропитанные дистиллированной водой.  Далее все чашки поместили в термостат с температурой 36ºС. На следующий день (через 24 часа) чашки просматривались, фотографировались, проводились измерения. |

Для оценки полученных результатов измерялась ширина стерильной (не заросшей бактериями) зоны, образовавшейся вокруг диска, пропитанного рябиной и антибиотиком. При этом для рябины для каждого диска измерения делались в четырех противоположных точках, а для антибиотика в первый раз измерения делались в четырёх точках, а при повторении опыта в трёх точках (смотри рисунок 1). Далее для рябины и антибиотика рассчитывалось среднее значение ширины стерильной зоны (на основе данных по всем экспериментальным чашкам) и делался вывод об эффективности рябины и антибиотика.

Сплошное бактериальное зарастание

Диск со средством

Точка измерения

Стерильная зона

***Рис. 1. Схема, отражающая точки измерения ширины стерильной зоны вокруг диска, пропитанного рябиной.***

******

***Рис.2. Просмотр полученных результатов***

# **Результаты и обсуждения**

## ***Токсичность различных видов травянистых растений***

Во всех чашках токсичность определялась по числу погибших особей. Фотографии с примерами чашек по финальному опыту представлены на рисунке 3.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| C:\Users\PC\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\P1380184.jpg  **Рябина** | C:\Users\PC\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\P1380185.jpg  **Борщевик** | **C:\Users\PC\AppData\Local\Microsoft\Windows\INetCache\Content.Word\P1380186.jpg**  **Одуванчик** |
| E:\P1380181.JPG  **Красная смородина** | **Малина** | **Мать-и-мачеха** |
| **Синяк** | **Лопух** | **Контроль** |

***Рис.3. Фотографии чашек с выведенными артемиями к которым были добавлены вытяжки из растений, примерно через 30 минут***

Результаты подсчёта количества погибших особей в чашках с вытяжками из растений позволили оценить токсичность отдельных видов травянистых растений. Результаты оценки представлены на диаграмме.

***Рис. 4. Токсичность различных травянистых растений***

Как видно из представленной диаграммы в чашке, в которой была вытяжка из рябины все особи погибли через 1 час 30 мин, в чашке, в которой была вытяжка из малины все особи погибли через 2 часа, в чашке, в которой была вытяжка из красной смородины все особи погибли через 1 час 30 мин.

Полученные результаты позволяют говорить о том, что в экспериментах, которые делались по новой методике было получено, что из борщевика, рябины, мать-и-мачехи, одуванчика, лопуха, малины, красной смородины, синяка по финальному эксперименту токсичными оказались: малина, рябина, красная смородина. Борщевик и синяк не токсичны, спустя 2 часа в чашках с вытяжками из этих растений не погибла ни одна особь. Такие растения, как мать-и-мачеха, одуванчик и лопух тоже проявили свою токсичность, но по сравнению с рябиной, малиной и красной смородиной гораздо в меньшей степени. Из диаграммы видно, что одним из самых токсичных растений оказалась рябина.

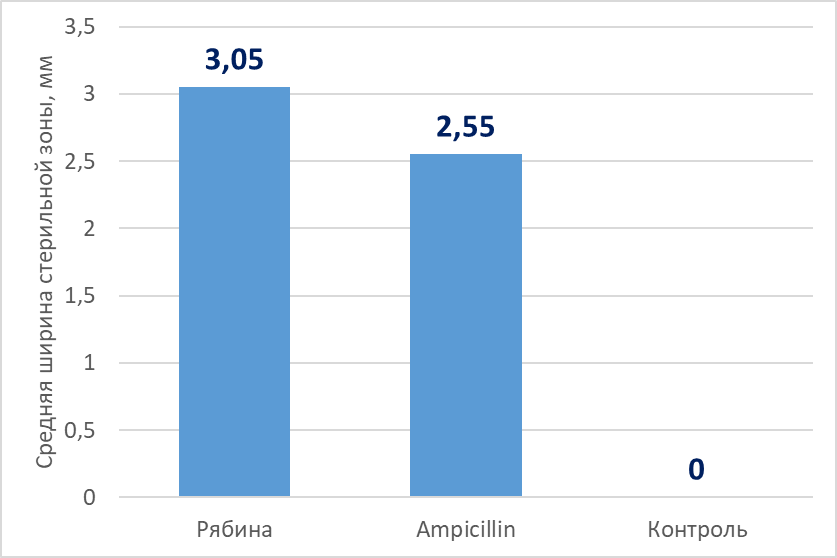
## ***Оценка антибактериального действия рябины***

Через сутки после постановки данного опыта были оценены результаты по бактериальной активности рябины. Фотографии с примерами экспериментальных чашек Петри представлены на рисунке 5.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| C:\Users\PC\Downloads\DSC02535.JPG  **Контроль** | C:\Users\PC\Downloads\DSC02471.JPG  **Ampicillin** | C:\Users\PC\Downloads\DSC02480.JPG  **Рябина** |

***Рис.5 Фотографии отдельных чашек в опыте по оценке антибактериальной активности рябины в сравнении с антибиотиком***

Результаты измерения ширины стерильной зоны, образовавшейся вокруг дисков фильтровальной бумаги, пропитанной рябиной, раствором антибиотика и дистиллированной водой (контроль), позволили оценить антибактериальную активность рябины в сравнении с антибиотиком. Результаты оценки представлены на диаграмме (рисунок 6).



***Рис.6 Способность рябины подавлять рост бактерий в течение 24 часов***

Как видно из представленной диаграммы, ширина стерильной зоны рябины в среднем составила 3,05 мм, а у антибиотика (ampicillin) ширина в среднем составила 2,55 мм, при этом в контроле стерильные зоны не образовывались, т.е. значение данного показателя – 0 мм.

Полученные результаты указывают на то, что у рябины антибактериальная активность достаточно высокая, выше, чем у антибиотика, но не на много (на 0,5 мм).

# **Заключение и выводы**

В результате проведённого исследования было установлено, что рябина обладает высокой антибактериальной активностью, значит этим растением действительно можно дезинфицировать воду, но также среди других растений рябина показала высокую токсичность, значит хоть это и лекарственное растение, но в больших количествах оно может оказывать отрицательный эффект для организма (от аллергических реакций до летального исхода). Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что рябина-это отличное лекарственное средство (природный антибиотик), но применять это растение нужно правильно и в небольших количествах.

Также было установлено, что из использованных в работе растений самой высокой токсичностью обладают такие растения, как красная смородина и рябина. Немного ниже токсичность у малины.

На основе проведенного исследования можно сделать вывод, что рябину можно эффективно применять в медицине, но при этом нужно применять её дозированно.

# **Библиографический список**

1. Приодные токсины в продуктах питания: [Электронный ресурс]// URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/natural-toxins-in-food (дата обращения: 12.01.22).
2. Ядовитость, как экологический феномен. Понятие ядовитости - Ядовитые животные, относящиеся к типу Членистоногие: [Электронный ресурс]//URL: https://studwood.net/1675776/meditsina/yadovitost\_ekologicheskiy\_fenomen\_ponyatie\_yadovitosti. (дата обращения: 10.02.22).
3. Противомикробные травы - список растений, обладающих противомикробный действием: [Электронный ресурс]//URL: https://www.budzdorov.ru/about/news/2020/protivomikrobnye-travy-2108 (дата обращения: 4.03.22).
4. Рациональные приемы заготовки и переработки растительного сырья. Природоохранные мероприятия - Фармакогностическая характеристика лекарственного растения Календула: [Электронный ресурс]//URL: https://studbooks.net/1579441/meditsina/ratsionalnye\_priemy\_zagotovki\_pererabotki\_rastitelnogo\_syrya\_prirodoohrannye\_meropriyatiya (дата обращения: 4.03.22).
5. Лекарственные растения [Электронный ресурс]// URL: http://ezidri-master.com/ (дата обращения: 15.03.22).
6. Введение - Характеристика лекарственных растений, содержащих сесквитерпены [Электронный ресурс]// URL: https://studwood.net/1577542/meditsina/vvedenie#:~:text=Преимуществом%20лекарственных%20растений%20и%20трав,использование%20овощей%2C%20ягод%20и%20фруктов (дата обращения: 15.03.22).
7. Как бактерии развивают устойчивость к антибиотикам и почему это так важно [Электронный ресурс]// URL: https://www.sechenov.ru/pressroom/news/kak-bakterii-razvivayut-ustoychivost-k-antibiotikam-i-pochemu-eto-tak-vazhno/ (дата обращения: 20.03.22).
8. Очищение воды рябиной [Электронный ресурс]// URL: https://ladstas.livejournal.com/300440.html (дата обращения: 26.02.22).
9. Рябина, Обеззараживание воды (народное средство) - Всё о выживании [Электронный ресурс]// URL: https://vizhivai.com/blogi/voda/ryabina-obezzarazhivanie-vody-narodnoe-sredstvo (дата обращения: 11.03.22)

# **Приложение**

# ***Описание растений, использованных в работе***

|  |  |
| --- | --- |
| Название растения | Токсичность растения |
| Рябина | В свежих ягодах рябины содержится значительное количество парасорбиновой кислоты. Парасорбиновая кислота в токсикологическом аспекте может обусловить нежелательные гастриты и гепатиты. Однако, после любой термической обработки (заморозки или нагревания) эта кислота превращается в полезную сорбиновую кислоту. Так что собирать и есть ягоды рябины в сыром виде до наступления первых заморозков не рекомендуется. |
| Малина | В перечне органических кислот особое место занимает салициловая кислота, благодаря которой малина обладает многочисленными лечебными свойствами, с древних времён помогающими человеку сохранить здоровье. В малине есть салициловая кислота. В 100 граммах малины примерно 5 миллиграммов салициловой кислоты. Салициловая кислота токсична в больших дозах для человека. |
| Красная смородина | Ягоды насыщены полезными веществами: витаминами (А, С, Е, Н, группы В), бета-каротином, пектинами, антиоксидантами, кумаринами, органическими кислотами (лимонной, яблочной, янтарной, салициловой), минералами, клетчаткой. Если употреблять эти кислоты в больших количествах, то они будут токсинчы. Например: Салициловая кислота токсична в больших дозах, для человека предполагаемая LD50 составляет 1,75 г/кг. |
| Мать-и-мачеха | В этом растении содержатся пирролизидиновые алкалоиды, токсичность которых в настоящий момент изучена слабо.  Доза препарата мать-и-мачехи в день не должна превышать 2-3 большие ложки за прием (40-50 г) 2-3 раза в день. |
| Одуванчик | В одуванчике содержится 35 мг аскорбиновой кислоты (витамина С). Этот элемент очень полезен, но его следует употреблять в меру, передозировка чревата побочными проявлениями. |
| Лопух | Доказано, что настой, сок, экстракт листьев лопуха большого, не обладают токсичностью, оказывают выраженный антибактериальный эффект и антиоксидантную активность. |
| Маралий корень | Маралий корень не является токсичным растением. Но при этом в этом растении содержатся такие элементы как: алкалоиды, а также витамин С, которые в большом количестве могут быть токсичными. |
| Папоротник | Листья папоротника содержат множество ядовитых и канцерогенных соединений, и их употребление может быть вредным. Это токсичное растение. |
| Чемерица | Чемерица — очень ядовитое растение, её корни содержат 5—6 алкалоидов, из которых наиболее ядовитый протовератрин, который способен подавлять центральную нервную систему, вредно действует на желудочно-кишечный тракт и сердечно-сосудистую систему. При вдыхании даже малого количества пыли чемеричного корня проявляется сильнейшее чиханье и слезотечение. Чемерица Лобеля является ядовитым сырьем, для приема внутрь лекарственные препараты из корневищ с корнями не используют. Согласно Инструкции по медицинскому применению чемеричной воды (РУ №ЛП-003627), «при случайном приеме внутрь более 100 мл препарата возможен летальный исход». При употреблении внутрь «1 г свежего растения» также возможен летальный исход. |
| Борщевик | Ядовитые виды борщевика являются реальной угрозой здоровью, а порой и жизни человека. Опасность представляет не только сок растения, но и его пыльца, аромат (запах) и даже роса. Сок борщевика, попадая на кожу, благодаря веществам в своем составе, повышает ее чувствительность к ультрафиолетовому излучению. И как следствие в течение очень короткого промежутка времени можно получить тяжелейший солнечный ожог с многочисленными волдырями вплоть до III степени. Наблюдались случаи летального исхода у детей с многочисленными ожогами. В соке борщевика содержатся фуранокумарины. Это вещества, которые повышают чувствительность к ультрафиолету. |
| Кульбаба осенняя | Кульбаба осенняя-это не токсичное растение. |
| Бадан | Бадан-это не токсичное растение. В листьях бадана толстолистного содержатся до 23% танидов, а в его корневищах до 27%. Кроме того, в корневищах найдены 25-27% дубильных веществ, фенольные соединения, фенолкарбоновые кислоты, производное кумарина – берегнин, а также изокумарины, катехины, крахмал, сахара, минеральные соли. В листьях найдены галловая кислота, кумарины, флавоноиды, витамин С, каротин и арбутин, а также 2-4% свободного гидрохинона. |
| Синяк | Все части синяка ядовиты, так как они содержат яд циноглоссин, похожий на яд кураре, а также консолидин - сильный нервный яд. В листьях и стеблях присутствуют сапонины, холин и витамин С. Благодаря этому в почве уничтожаются вредители и паразиты. Скотом и домашними животными синяк обыкновенный не поедается. Несмотря на ядовитость, синяк обыкновенный широко применяется в народной медицине. |