

ВЛИЯНИЕ МИКРОУДОБРЕНИЙ НА АНТИМИКРОБНУЮ АКТИВНОСТЬ ХМЕЛЯ

Г.М. Милоста, А.А. Регилевич, И. С. Жебрак
УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
УО «Гродненский государственный университет»

Введение. Помимо применения в пивоваренной промышленности, хмель и продукты его переработки (гранулы, экстракты, эфирные масла) находят широкое применение и в хлебопекарной, фармацевтической и косметической промышленности. Хмель широко применяется, благодаря этому и в народной медицине в качестве средства, успокаивающего нервную систему, при воспалении почек, желчного и мочевого пузырей, при заболеваниях селезенки, гастрите, бессоннице и в качестве мочегонного средства. Настойку хмеля рекомендуют для улучшения аппетита и деятельности кишечника. Эфирные масла применяют при изготовлении сердечных препаратов — валокордина и милокардина [3].

В последнее время хозяйственная деятельность человека принимает все более разрушительный характер, что приводит к возникновению различных видов заболеваний, непосредственно связанных с экологическими нарушениями. Поэтому выявление и изучение новых, эффективных, экологически безопасных и чистых средств растительного происхождения, обладающих лечебным и лечебно-профилактическим эффектом (антибиотическим – в широком смысле), остается приоритетным [2].

Преимущество растительных лекарственных средств по сравнению с синтетическими бесспорно. Прежде всего, они не вызывают, за небольшим исключением, опасных побочных эффектов. Лекарственное сырье и препараты из него совместимы между собой и с другими лекарственными веществами [1].

К началу 80–х годов антимикробная активность была изучена примерно у 20000 видов высших растений. Из них было выделено свыше 700 индивидуальных соединений. Известно, что в практической и научной медицине в качестве анти-микробных средств используют суммарные извлечения из растений: водные (настои, отвары) или спиртовые (настойки) [4].

Лекарственные свойства хмеля во многом определяются содержанием в нем альфа и бета-кислот, флаваноидов, дубильных веществ, которые обладают бактерицидными свойствами. Известно, что на фитохимические свойства хмеля оказывают влияние экологические факторы, такие как, температура и влажность. В научной литературе не была найдена информация о зависимости свойств лекарственного растительного сырья шишек хмеля от внесения удоб-

рений, поэтому актуальным представлялось изучение влияния экологических факторов (внесения удобрений) на антимикробную активность хмеля [2].

Горечи хмеля, особенно бета-кислоты, подавляют развитие грамположительных, а в больших концентрациях – и грамотрицательных бактерий. При кипячении или нагревании в водных растворах эти кислоты теряют свою активность, частично в результате окисления. Для увеличения антимикробной активности альфа и бета-кислот в водные растворы горечей хмеля добавляют 0,01–0,25% аскорбиновой кислоты. Она проявляет стабилизирующее действие, повышая, устойчивость альфа и бета-кислот к окислению [1, 5].

В литературе отсутствуют данные о биохимической роли горечей хмеля в процессах жизнедеятельности растения. Можно предположить, что они имеют защитное значение, поскольку обладают сильными антисептическими свойствами. Активные вещества хмеля: лупулон и гумулон тормозят рост фитопатогенных грибов *Rhizopus nigricans* и *Sclerotinia fructicola* (в концентрациях 20 мкг/мл). Обработка раствором в гексане гумулоном растений, зараженных *Ustilago tritici*, приводит к полному уничтожению грибов. Эфирные экстракты листьев и шишек хмеля проявляют бактерицидную и фунгицидную активность в отношении микроорганизмов, способных вызывать заболевания у человека. Они активно проявляют антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) и грибов *Trichophyton mentagrophytes*, но почти не проявляет антибактериального действия в отношении грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*) и дрожжеподобных грибов *Candida albicans* [1].

Цель работы. Установить антимикробную активность шишек хмеля, выращенного в западном регионе Беларуси в зависимости от вносимых удобрений. Выделить влияние борных, медных и цинковых микроудобрений на показатели анти-микробной активности хмеля.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в 2006-2007 гг. в УО СПК «Путришки» Гродненского района с районированным сортом немецкой селекции Hallertauer Magnum, относящимся к группе горьких сортов. Почва дерново-подзолистая супесчаная, подстилаемая моренным суглинком с глубины 40 см. Агрохимическая характеристика пахотного горизонта исследуемой почвы: рН в КСІ – 6,0; содержание гумуса – 2,00 %; P₂O₅ – 184 и K₂O – 202 мг/кг почвы; по содержанию подвижных форм бора (0,7 мг/кг почвы), меди (2,9) и цинка (4,8 мг/кг) почва относится к II (средней) группе обеспеченности микроэлементами. Ежегодно вносилось 30 т/га органических удобрений и оптимальная доза минеральных удобрений – N₁₈₀P₁₂₀K₁₆₀.

На одной делянке размещали 40 учетных растений, расположенных в четыре ряда по 10 растений в каждом. По 4–12 растений того же сорта оставляли на концевых защитных полосах. Растения высаживались по схеме 3,0x1,5 м.

Учетная площадь делянки – 180 м². Опыты закладывали в 4-х кратной повторности. Микроэлементы вносились в почву и некорневым способом в различных дозах и сочетаниях. Некорневое внесение микроэлементов проводилось трехкратно в течение вегетации растений. Сроки обработок: 1 – во второй декаде мая в начале интенсивного роста хмеля при высоте растений 1,5-2,0 м.; 2 – во второй декаде июня в начале образования и роста боковых побегов при высоте растений 4,5-5,0 м.; 3 – в конце июля – начале августа в начале цветения хмеля. Учет урожая проводился сплошным методом, поделяночно. Уборка шишек проводилась вручную в фазу технической спелости.

Для определения антимикробной активности водных извлечений хмеля использовали тест-микроорганизмы: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*. Для посева использовали суспензии суточной агаровой культуры бактерий.

Из соплодий хмеля готовили настой, в концентрации 2г/100 мл, который настаивали 24 часа. Затем вносили в пробирки по 10 мл с добавлением 1 мл бактериальной суспензии. При проведении анализа использовали два контроля: 1) водопроводную воду с внесением тест-культур и 2) настой хмеля, без внесения бактерий.

Опытные и контрольные пробирки с тест-микроорганизмами ставили на сутки в термостат. После чего готовили разведения анализируемых суспензий стерильной дистиллированной водой. Посев *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* проводили глубинным методом в расплавленную питательную среду МПА (мясопептонный агар), а *Candida albicans* в глюкоза-пептонный агар. Опыты с каждой тест-культурой делали в четырехкратной повторности. Чашки Петри с тест-культурами: *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* выдерживали в термостате при температуре 37° С в течение 48 часов, а с *Candida albicans* – при 25° С в течение 72 часа. Затем учитывали численность колоний выросших в чашках Петри. Содержание бактериальных клеток в 1 мл анализируемого настоя и водопроводной воды рассчитывали по формуле:

$$M = a \cdot 10^n / V,$$

где M – количество бактериальных клеток в 1 мл; a – среднее число колоний в чашке Петри; 10 – коэффициент разведения; n – порядковый номер разведения, из которого сделан посев; V – объем суспензии, для посева в мл.

Результаты исследований и их обсуждение. Из данных таблицы 1 видно, что микроудобрения оказали значительное влияние на содержание альфа-кислот в шишках хмеля. Так в контрольном варианте II (без удобрений) содержание альфа-кислот в среднем за два года составило 10,4 %. На фоне органических и минеральных удобрений процентное содержание альфа-кислот в шишках хмеля возросло до 10,9 %. При почвенном внесении микроэлементов содержание альфа-кислот с учетом показателей наименьшей существенной раз-

ницы находилось практически на одном уровне – 11,2 - 11,8 %, хотя под влиянием медных удобрений (вариант 3) отмечалась тенденция к более высокому уровню образования альфа-кислот.

Применение медных и цинковых микроудобрений в виде трехкратной некорневой подкормки существенно увеличило содержание альфа-кислот относительно фонового варианта (соответственно до 14,0 и 12,8 %). Как видно из данных, максимальное содержание альфа-кислот в шишках (14,0 %) было получено при внесении максимальных доз медных микроудобрений (варианте 10). Некорневое внесение бора не имело преимущества перед его почвенным внесением, так как разница в показателях содержания альфа-кислот при этом находилась в пределах наименьшей существенной разницы.

Таблица 1 – Количество бактериальных клеток *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* в настое в зависимости от применяемых удобрений

Вариант опыта	Содержание альфа-кислот, %	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
1. Контроль I (вода)	-	$4,05 \pm 0,08 \times 10^7$	$6,06 \pm 0,13 \times 10^6$	$9,81 \pm 0,21 \times 10^5$
2. Контроль II (без удобрений)	10,4	$1,87 \pm 0,06 \times 10^7$	$3,37 \pm 0,19 \times 10^6$	$5,52 \pm 0,01 \times 10^5$
3. Фон - 30 т/га + $N_{180}P_{120}K_{160}$	10,9	$1,89 \pm 0,04 \times 10^7$	$3,30 \pm 0,20 \times 10^6$	$5,55 \pm 0,04 \times 10^5$
4. Фон + $B_{1,5}^*$	11,2	$1,31 \pm 0,07 \times 10^7$	$2,82 \pm 0,04 \times 10^6$	$4,74 \pm 0,01 \times 10^5$
5. Фон + $Cu_{3,0}^*$	11,8	$1,06 \pm 0,04 \times 10^7$	$2,67 \pm 0,08 \times 10^6$	$4,70 \pm 0,04 \times 10^5$
6. Фон + $Zn_{3,0}^*$	11,6	$1,12 \pm 0,08 \times 10^7$	$2,70 \pm 0,10 \times 10^6$	$4,71 \pm 0,04 \times 10^5$
7. Фон + $B_{(0,15+0,15+0,15)}^{**}$	11,6	$7,15 \pm 0,65 \times 10^6$	$2,65 \pm 0,05 \times 10^6$	$4,44 \pm 0,08 \times 10^5$
8. Фон + $Cu_{(0,15+0,15+0,15)}^{**}$	14,0	$4,27 \pm 0,37 \times 10^6$	$1,46 \pm 0,1 \times 10^6$	$3,52 \pm 0,02 \times 10^5$
9. Фон + $Zn_{(0,15+0,15+0,15)}^{**}$	12,8	$5,40 \pm 0,22 \times 10^6$	$1,56 \pm 0,07 \times 10^6$	$3,98 \pm 0,1 \times 10^5$
10. Фон + $B_{(0,1+0,1+0,1)}^{**}$ $Cu_{(0,1+0,1+0,1)} Zn_{(0,1+0,1+0,1)}$	13,0	$4,90 \pm 0,22 \times 10^6$	$1,69 \pm 0,01 \times 10^6$	$4,34 \pm 0,08 \times 10^5$

Примечание: * - почвенное внесение; ** - некорневое внесение микроудобрений; НСР₀₅ в 2006 году – 0,7; в 2007 году – 1,0.

Одной из основных задач наших исследований являлось установление антимикробной активности шишек хмеля, полученных при внесении органических и минеральных удобрений, с последующим внесением на этом фоне борных, медных и цинковых микроудобрений почвенным и некорневым способом. В процессе поведения эксперимента нами изучалась антимикробная активность образцов шишек хмеля по отношению к бактериям *Escherichia coli*, *Staphylo-*

coccus aureus и *Candida albicans*. В результате наших исследований выявлена зависимость бактерицидных свойств хмеля от изучаемых факторов. Установлено, что в первую очередь антимикробная активность шишек хмеля зависела от содержания в них альфа-кислот.

Максимальная численность *Escherichia coli* наблюдалось в контрольном варианте I (водопроводная вода с внесением тест-культуры) – $4,05 \pm 0,08 \times 10^7$. В контрольном варианте II (без применения удобрений) и варианте 3 (с применением органических и минеральных удобрений) численность *Escherichia coli* через сутки после внесения в настои хмеля снизилась примерно в два раза.

Образцы хмеля с почвенным внесением микроудобрений на фоне органических и минеральных удобрений оказали влияние на уменьшение численности бактерий. Наименьшими бактерицидными свойствами обладали образцы хмеля с применением борных микроудобрений (вариант 4). Заметно снизилась численность *Escherichia coli* (вариант 6) и составила – $1,12 \pm 0,08 \times 10^7$. Наименьшая численность бактерий в настое, приготовленного с шишек с вариантов при почвенном внесении микроудобрений отмечалась в образцах хмеля с применением медных микроудобрений (вариант 5).

Некорневая трехразовая подкормка микроудобрениями оказала более существенное влияние на снижение численности бактерий *Escherichia coli*, т. к. количество их уменьшилось на порядок, по сравнению с почвенным внесением микроудобрений.

В образцах хмеля с некорневым внесением борных микроудобрений (вариант 7) численность бактерий составила – $7,15 \pm 0,65 \times 10^6$. Количество *Escherichia coli* в варианте 9 с внесением цинковых микроудобрений уменьшилось до $5,40 \pm 0,22 \times 10^6$. Наибольшие бактерицидные свойства по отношению к *Escherichia coli* выявлены в образцах с комплексным внесением микроудобрений в варианте 10 ($B_{(0,1+0,1+0,1)}$ $Cu_{(0,1+0,1+0,1)}$ $Zn_{(0,1+0,1+0,1)}$) и в варианте 8 с внесением меди ($Cu_{(0,15+0,15+0,15)}$). При этом количество бактерий *Escherichia coli* снизилось соответственно до – $4,90 \pm 0,22 \times 10^6$ и $4,27 \pm 0,37 \times 10^6$.

Численность бактерий *Staphylococcus aureus* в контрольном варианте I составила – $6,06 \pm 0,13 \times 10^6$. Количество данных бактерий в контрольном варианте II после внесения их в настой хмеля уменьшилось до $3,37 \pm 0,19 \times 10^6$.

Образцы хмеля с вариантов с почвенным внесением микроудобрений заметно снижали численность микроорганизмов *Staphylococcus aureus*. Однако наименьшее их количество отмечалось при внесении медных микроудобрений (вариант 5).

Максимальными бактерицидными свойствами по отношению к *Staphylococcus aureus* обладают образцы хмеля с применением некорневой подкормки медными микроудобрениями, когда численность этих микроорганизмов составила – $1,46 \pm 0,1 \times 10^6$.

Антимикробная активность хмеля по отношению к *Candida albicans* была выявлена во всех вариантах с хмелем. Максимальное количество данных бактерий наблюдалось в контрольном варианте I с водой – $9,81 \pm 0,21 \times 10^5$. В контрольном варианте II и варианте 3 при внесении бактерий этого вида в настой хмеля их количество уменьшилось и составило соответственно – $5,52 \pm 0,01 \times 10^5$ и $5,55 \pm 0,04 \times 10^5$. Наибольшее бактерицидное действие по отношению к *Candida albicans* оказал настой хмеля, приготовленный из образцов хмеля с варианта с некорневой подкормкой медными микроудобрениями (вариант 8).

Анализ полученных результатов исследований показал, что численность изучаемых микроорганизмов, вносимых в настои шишек хмеля, особенно в вариантах с применением микроудобрений была в 2-2,5 раза меньше по сравнению с контрольным вариантом I. Максимальное количество всех исследуемых микроорганизмов отмечалось в контрольном варианте с внесением воды. Более высокая антимикробная активность хмеля отмечалась в вариантах с некорневой подкормкой микроудобрениями по сравнению с почвенным внесением. Максимальными антимикробными свойствами по отношению ко всем исследуемым тест-культурам обладал настой из образцов шишек хмеля с вариантов с применением некорневой подкормки медными микроудобрениями.

Проведенные нами исследования показали, что настои шишек хмеля проявляют различную бактерицидную активность по отношению к испытуемым тест-культурам. Наиболее чувствительными микроорганизмами являются *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* является менее чувствительной тест-культурой к действию настоев хмеля, чем *Escherichia coli*. Из всех испытуемых тест-микроорганизмов *Candida albicans* менее всего подвергалась микоцидному действию водных извлечений шишек хмеля.

Заключение. 1. В результате проведенных исследований по определению анти-микробной активности вытяжки из шишек хмеля сорта немецкой селекции Hallertauer Magnum, выращенного в западном регионе Беларуси установлено, что настои шишек хмеля обладают высокой антимикробной активностью.

2. Бактерицидные свойства хмеля определялись содержанием альфа-кислот в исследуемых образцах и возрастали с увеличением содержания альфа-кислот в шишках хмеля. Образцы хмеля с вариантов с некорневым внесением микроудобрений обладали более сильным бактерицидным действием по сравнению с вариантами с почвенным внесением.

3. Максимальными антимикробными свойствами по отношению ко всем исследуемым тест-культурам обладал настой из образцов хмеля с некорневой подкормкой медными микроудобрениями (Фон + $Cu_{(0,15+0,15+0,15)}$) на фоне органических и минеральных микроудобрений. Наиболее сильное бактерицидное действие шишек хмеля отмечалось на микроорганизмы *Escherichia coli*.

Литература.

1. Гребнева, Н.Ю. Антимикробная активность водных извлечений растительного сбора «Полестелл» для лечения легочных заболеваний / Н.Ю. Гребнева, Т.С. Потехина, Е.Е., Н.П. Лесиовская // Растительные ресурсы – 2000. – Т. 36, № 3 – С. 9-17.
2. Горошко, О. А. Определение содержания биологически активных веществ в шишках хмеля различных сортов / О. А. Горошко, В. П. Пахомов, И. А. Самылина // Генетические ресурсы лекарственных и ароматических растений: сборник науч. тр. междунар. конф., посвящ. 50-летию ботанического сада ВИЛАР. – М., 2001. – С. 372–373.
3. Ежов, И.С. Хмель и его использование. И.С. Ежов – Киев: Урожай, 1990. 335 с.
4. Либацкий, Е.П. Хмелеводство / Е. П. Либацкий. – Москва: Колос, 1993. – 287 с.
5. Diener, H. Arzneipflanzen und Drogen / H. Diener // Leipzig. – 1989. – P. 150–151.

УДК 633.791:631.81.095.337(476.6)

Г.М. Милоста, А.А. Регилевич, И. С. Жебрак. Влияние микроудобрений на антимикробную активность хмеля.

Результаты полевых и лабораторных исследований по установлению анти-микробной активности шишек хмеля районированного сорта немецкой селекции Hallertauer Magnum (относящегося к группе горьких сортов) возделываемого в западном регионе Беларуси на дерново-подзолистой супесчаной почве, с применением борных, медных и цинковых микроудобрений по отношению к бактериям *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*, свидетельствуют, что настои хмеля обладают высокой анти-микробной активностью и бактерицидные свойства хмеля зависели в первую очередь от содержания альфа-кислот в исследуемых образцах (шишках хмеля).

Максимальными антимикробными свойствами по отношению ко всем исследуемым тест-культурам обладал настой из образцов хмеля с применением некорневой подкормки медными микроудобрениями (Фон + $Cu_{(0,15+0,15+0,15)}$).

Табл. – 1. Библиогр. – 3.

G.M. Milosta, A.A.Regilevich, I.S. Zebrak. Influence of micro fertilizers on anti-microbe activity of hops.

The results of field and laboratory researches on an establishment of anti-microbe activity of the hops cones of the certified in Belarus German bitter hops variety Hallertauer Magnum (cultivated in the western region of Belarus on turf - podsolich sandy ground, with application of boric, copper and zinc micro fertilizers) in relation to bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, testify, that hops infusions have a high anti-microbe activity and that bactericidal

properties of hops depended on first of all of alpha-acids concentration in tested samples (hops cones).

Hops infusion with application of foliar fertilizing by copper micro fertilizers (background + $\text{Cu}_{(0,15+0,15+0,15)}$) possessed the maximal anti-microbe properties compare to all other tested samples.