



С.М. Дегтярик¹, С.В. Полоз¹, А.Г. Шутова², Г.В. Слободническая¹,
Е.И. Гребнева³, Е.В. Максимьюк¹, Т.А. Говор¹, А.В. Беспалый¹

¹ РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», Минск, Беларусь

²Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

³Отделение аграрных наук Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И ИХ КОМПОЗИЦИЙ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ — МИКРООРГАНИЗМОВ РР. *AEROMONAS* И *PROTEUS*

Аннотация: В статье представлены результаты изучения влияния эфирных масел и композиций эфирных масел растений сем. Губоцветные (*Labiatae*), Амариллисовые (*Amaryllidaceae*) и Сложноцветные (*Compositae*), произрастающих либо культивируемых на территории Республики Беларусь, на условно-патогенные для рыб бактерии *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*. Отмечено, что довольно многие эфирные масла обладают высокой противомикробной активностью в отношении перечисленных бактерий: зоны задержки роста микроорганизмов достигают 25 и более мм, а в отдельных случаях 40 и более мм, что трактуется как высокая и очень высокая чувствительность. Составлен рейтинг эфирных масел согласно их бактерицидной активности, отмечены наиболее перспективные из них для дальнейших исследований и создания антибактериальных препаратов, предназначенных для нужд рыбоводной отрасли. **Благодарности.** Исследования выполнены в рамках программы ГПНИ «Качество и эффективность агропромышленного производства», подпрограммы «Животноводство и племенное дело». Авторы выражают благодарность Национальной академии наук Беларуси.

Ключевые слова: эфирные масла, сем. Губоцветные (*Labiatae*), сем. Амариллисовые (*Amaryllidaceae*), сем. Сложноцветные (*Compositae*), микроорганизмы рода *Aeromonas* и рода *Proteus*



S. Dziahtsiaryk¹, S. Polaz¹, H. Shutava², H. Slabodnitskaya¹, A. Hrebneva³,
Y. Maksimyyuk¹, T. Hovar¹, A. Biaspaly¹

RUE «Fish Industry Institute» of the RUE «Scientific and Practical Center of Belarus National Academy of Sciences for Animal Husbandry», Minsk, Belarus

²Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

³Department of Agricultural Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS OF PLANTS AND THEIR COMPOSITIONS AGAINST BACTERIAL PATHOGENS OF FISH DISEASES AEROMONAS AND PROTEUS

Abstract: The article presents the results of studying the effect of essential oils and compositions of essential oils from plants of the family Labiatae, Amaryllidaceae and Compositae, growing or cultivated in the territory of the Republic of Belarus, on the bacteria *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, which are opportunistic for fish. The rating of essential oils has been compiled according to their bactericidal activity, the most promising of them are marked for further research and the creation of antibacterial drugs, that are intended for the needs of the fish farming industry.

Acknowledgments. The Study was performed within the framework of the State Program of Scientific Research “Quality and Efficiency of Agroindustrial Production”. The authors are grateful to the National Academy of Sciences of Belarus for supporting these researches.

Keywords: essential oils, fam. Labiatae, fam. Amaryllidaceae, fam. Compositae, microorganism of the g. *Aeromonas* and g. *Proteus*

Введение. В общей проблеме повышения продуктивности рыбоводной отрасли не последнюю роль играет разработка способов предотвращения заболеваний рыб. Введение новых объектов рыбоводства в республике обострило проблему бактериальных инфекций; в течение ряда последних лет от рыб выделяются новые виды бактерий. Анализ собственных данных, полученных в 2013–2020 гг. при проведении бактериологического анализа рыб, выращиваемых в рыбоводных организациях республики, а также среды их обитания свидетельствует, что от рыб выделяется около 30 видов только грамотрицательных палочек



(именно таковыми являются большинство потенциальных возбудителей болезней); кроме того, идентифицировано около 10 видов кокков.

В количественном отношении преобладают аэромонады — бактерии р. *Aeromonas*. Наряду с аэромонадами от рыб периодически выделяются представители р. *Proteus*, также представляющие для них серьезную опасность. Указанные микроорганизмы были выделены нами в процессе исследований от представителей таких ценных видов, как сом и осетр. Бактерии р. *Proteus* обитают в воде, встречаются в организме рыб и др. животных. В литературе описаны случаи протейной инфекции у рыб, а также заболевание «протеоз», которое может являться причиной их гибели в естественных водоемах и в аквакультуре. К наиболее агрессивным комплексам при протекании БГС (бактериальной геморрагической септицемии, полиэтиологического заболевания рыб) относятся комплексы энтеробактерий, в т.ч. аэромонад с протеем [1-3].

Возникшая в последние годы необходимость развития производства экологически чистой, безопасной и обладающей хорошими вкусовыми качествами рыбопродукции открывает широкую перспективу использования в ихтиопатологической практике препаратов из растительного сырья. В последние годы установлено, что растения и препараты из них предпочтительнее для лечения многих болезней, чем синтетические средства. Биологически активные вещества находятся в растениях в определенных соотношениях, которые создавались в процессе эволюции при взаимодействии с окружающей средой. Они оказывают многостороннее действие на организм человека и животных и потому имеют широкие показания к применению. Сведений о применении фитопрепаратов в рыбоводстве немного, наука делает первые шаги в этом направлении.

Цель работы — изучить влияние растительных эфирных масел и композиций на их основе на антимикробные свойства в отношении бактерий рр. *Aeromonas* и *Proteus*, выделенных от рыб — объектов аквакультуры.

Материалы и методы. На основании литературных данных об антибактериальной активности растительных эфирных масел и собственных данных об их составе для исследований был отобран ряд растений, относящихся к сем. Губоцветные (*Labiatae*), сем. Амариллисовые (*Amaryllidaceae*) и сем. Сложноцветные (*Compositae*). Немаловажным критерием отбора была доступность, т.е. то, что указанные растения в достаточном количестве произрастают или культивируются на терри-



тории Беларуси и могут служить источником сырья для получения эфирных масел. Таким образом, материалом для исследований служили 14 образцов растительных эфирных масел:

Сем. Губоцветные (*Labiatae*):

- ♦ монарда дудчатая (*Monarda fistulosa*);
- ♦ базилик благородный (*Ocimum basilicum*);
- ♦ лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia*);
- ♦ многоколосник фенхельный (*Agastache foeniculum*);
- ♦ шалфей лекарственный (*Salvia officinalis*);
- ♦ плектрантус ароматнейший (*Plectranthus amboinicus*).

Сем. Амариллисовые (*Amaryllidaceae*):

- ♦ лук репчатый (*Allium cepa*);
- ♦ чеснок посевной (*Allium sativum*).

Сем. Сложноцветные (*Compositae*):

- ♦ полынь обыкновенная (*Artemisia vulgaris*);
- ♦ полынь горькая (*A. absinthium*);
- ♦ полынь однолетняя (*A. annua*);
- ♦ полынь эстрагонная (*A. dracunculus*);
- ♦ пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare*);
- ♦ тагетес отклоненный (*Tagetes patula*).

Эфирные масла растений сем. Губоцветные и Сложноцветные выделяли методом водно-паровой дистилляции в соответствии с Государственной фармакопеей РБ [4] из сухого растительного сырья или из свежесобранной надземной массы растений. Затем образцы эфирного масла избавляли от остатков воды добавлением безводного сульфата натрия и помещали в герметично закрытой посуде на хранение при температуре 5 °С. Образцы летучих соединений из растений сем. Амариллисовые получали методом экстракции гексаном, с последующей отгонкой растворителя при температуре 68–69 °С. Затем образцы, содержащие биологически активные соединения, переносились в высушенные бюксы с известным весом и досушивались, после чего повторно измерялся вес бюксов и определялось количество выделенных биологически активных веществ (БАВ).

Для дифференциации бактерий использовался микроскопический метод исследования суточных культур, выращенных на твердых (мясопептонный агар — МПА) и жидких (мясопептонный бульон — МПБ) питательных средах. Бактерии, имеющие форму палочек (одиночных, парных, коротких цепочек размером $\approx 0,5\text{--}1,0 \times 1,0\text{--}3,5$ мкм, окраши-



ваемых по Граму отрицательно), испытывались в дальнейшем на способность образовывать оксидазу (oxi — test). Для идентификации бактерий до вида применяли тест-систему Api 20E.

В лаборатории имеется коллекция микроорганизмов, выделенных от рыб различных видов (каarp, белый амур, пестрый толстолобик, карась серебряный, ленский осетр, форель, сиг, плотва), с наличием признаков инфекционных болезней в острой и хронической формах. Коллекция включает такие бактерии, как *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus sp.*, *Citrobacterium freundii*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Shewanella putrefaciens* и др.

Для работы в качестве тест-штаммов использованы 25 штаммов бактерий *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* (*A. hydrophila* №№ 1, 2, 4, 5, 8, 13, 16, 19, 22, 24, 25, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, *A. salmonicida* № 11, *P. mirabilis* № 6 и *P. vulgaris* № 21).

Влияние указанных растительных масел на бактерии pp. *Aeromonas* и *Proteus* на начальном этапе работы изучали диско-диффузным методом. Для этого стерильные бумажные диски пропитывали маслами и накладывали их на поверхность чашек Петри, засеянных суточной культурой того или иного штамма. Зоны задержки роста измеряли в миллиметрах. При учете результатов считали, что:

- ♦ при наличии зоны задержки роста диаметром до 11 мм или ее отсутствии — бактерии нечувствительны (резистентны) к данному экстракту;
- ♦ при диаметре зоны задержки роста 12–15 мм — бактерии малочувствительны;
- ♦ при диаметре зоны задержки роста 16–25 мм — бактерии чувствительны;
- ♦ при диаметре зоны задержки роста более 25 мм — бактерии высокочувствительны к данному экстракту.

С учетом полученных данных создано 7 вариантов композиций для испытаний их антимикробной активности:

Варианты композиций:

- 1) монарда дудчатая — базилик обыкновенный — шалфей лекарственный;
- 2) монарда дудчатая — лаванда узколистная — плектрантус ароматнейший;
- 3) монарда дудчатая — базилик обыкновенный — лаванда узколистная;



4) плектрантус ароматнейший — лаванда узколистная — базилик обыкновенный;

5) монарда дудчатая (сорт Ильгиния) — шалфей лекарственный;

6) монарда дудчатая (сорт Ильгиния) — плектрантус ароматнейший;

7) монарда дудчатая (сорт Ильгиния) — лаванда узколистная.

На следующем этапе исследований определяли влияние четырех эфирных масел и четырех композиций из эфирных масел на наличие антимикробной активности в отношении аэромонад двумя дополнительными методами: методом совместного инкубирования и методом нанесения растительного экстракта на поверхность твердой среды. При этом использованы 2 штамма бактерий р. *Aeromonas* из коллекции лаборатории: *Aeromonas hydrophila* (№ 22) и *A. salmonicida* (№ 11).

Метод совместного инкубирования. В стерильные пробирки с мясопептонным бульоном (МПБ) засеяли бактерии *A. hydrophila* (штамм № 22) и *A. salmonicida* (штамм № 11). Использовано 18 пробирок, по 9 на каждый штамм. Пробирки №№ 1–8 получили порядковые номера композиций или эфирных масел, добавленных в них, пробирки № 9 служили контролем. По истечении 24 ч инкубирования в термостате получили суточную культуру. Из контрольных пробирок произвели высеив на мясопептонный агар (МПА) на сектора чашек с надписью «К». Во все пробирки, кроме контрольных, добавили по 1 капле каждого масла или композиции и оставили на 2 ч в термостате. После 2-часовой инкубации были произведены посеив на сектора чашек Петри с надписью «2». Пробирки оставили в термостате еще на 2 ч, затем произвели посеив на сектора чашек с надписью «4». Засеянные таким образом чашки помещали в термостат на 24 ч. Антибактериальное действие эфирных масел и их композиций учитывали по интенсивности роста бактериальных культур на секторах чашек.

Метод нанесения растительного экстракта на поверхность твердой среды. На каждый вид бактерий (*A. hydrophila* № 22 и *A. salmonicida* № 11) было задействовано по 9 чашек Петри, залитых МПА. На поверхность чашек №№ 1–8 внесено и втерто шпателем по 1 капле соответствующего эфирного масла. Контролем служили чашки без добавления эфирных масел. После этого на поверхность чашек петлей засеивали суточную культуру аэромонад, инкубировали в термостате в течение



24 ч. Результаты учитывали по наличию или отсутствию роста бактериальной культуры на поверхности чашек.

Результаты исследований.

Влияние эфирных масел растений сем. Губоцветные (*Labiatae*) на бактерии pp. *Aeromonas* и *Proteus*.

Первые эксперименты по изучению антагонизма эфирных масел растений сем. Губоцветные и бактерий оказались неудачными. При их постановке на 6 секторов одной чашки с культурой одного бактериального штамма ставили 6 дисков с различными эфирными маслами. Эфирные масла в таком количестве полностью подавляли рост всех бактерий, и измерить зоны задержки роста не представлялось возможным.

Было принято решение о проведении следующего этапа исследования: на 6 чашек засевали суточную культуру одного и того же штамма, в центр каждой чашки ставили один-единственный диск с каким-либо определенным маслом. Результаты исследований представлены в табл. 1 (зоны задержки роста бактерий указаны в мм).

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что бактерии р. *Proteus* более чувствительны к эфирным маслам растений сем. Губоцветные, чем аэромонады. Зоны задержки роста *P. mirabilis* при применении масел монарды дудчатой, базилика благородного, лаванды узколистной и плектрантуса ароматнейшего превысили 25 мм, что характеризует чувствительность как высокую и очень высокую. К маслу многоколосника фенхельного и шалфея лекарственного указанные бактерии показали невысокую чувствительность (13–15 мм и 12–13 мм соответственно). Бактерии *P. vulgaris* оказались среднечувствительны к маслу многоколосника фенхельного (16–17 мм) и высокочувствительны ко всем остальным субстанциям (32–34 мм — к маслу шалфея лекарственного; >40 мм — монарды дудчатой, базилика благородного, лаванды узколистной).

Наиболее выраженными антибактериальными свойствами в отношении аэромонад обладают масла монарды дудчатой (рис. 1) и базилика благородного. Зоны задержки роста составили во многих вариантах опыта свыше 25 мм и даже свыше 40 мм, что позволяет охарактеризовать чувствительность бактерий р. *Aeromonas* к ним как высокую и очень высокую. Высокая чувствительность (свыше 25 мм) к маслу монарды проявилась у 15 штаммов аэромонад, к маслу базилика — у 13 штаммов.



Таблица 1. Чувствительность бактерий *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Proteus mirabilis* и *P. vulgaris* к эфирным маслам растений сем. Губоцветные (*Labiatae*)

Table 1. Sensitivity of bacteria *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Proteus mirabilis* and *P. vulgaris* to essential oils of plants of the family *Lipocytis*

Бактериальный штамм, №	Зоны задержки роста бактерий, мм					
	1*	2*	3*	4*	5*	6*
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 1	37–40	11–13	12–16	9–10	6–7	5–6
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 2	22–24	7–8	11–12	0	10–11	12–13
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 5	27–30	22–25	19–20	15–16	8–10	12–13
<i>Proteus mirabilis</i> , 6	>40	>40	36–38	13–15	12–13	27–30
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 8	>40	>40	19–20	-	-	27–30
<i>Aeromonas salmonicida</i> , 11	28–30	23–24	19–20	16	0	12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 11	0	0	9–10	0	0	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 16	10–11	9–10	0	9–10	11–14	9–10
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 19	>40	>40	18–20	-	-	12–14
<i>Proteus vulgaris</i> , 21	>40	>40	>40	16–17	32–34	>40
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 22	>40	>40	16–18	-	-	19–20
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 24	26–28	12–13	9–10	9–10	8–9	7–8
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 25	>40	>40	15–16	11–12	0	13–15
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 27	>40	>40	>40	10–11	8–9	13–14
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 29	8–9	8–9	7–8	7–8	0	11–12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 30	22–24	26–28	15–16	0	0	19–20
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 31	35–36	34–36	10–11	11–12	0	27–29
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 32	0	0	15–17	8–9	9–10	10–11
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 33	0	0	0	0	6–8	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 34	>40	>40	>40	8–9	7–8	11–13
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 35	0	0	0	28–30	9–10	13–14
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 36	>40	>40	>40	0	0	8–9
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 37	>40	>40	12–13	7–8	8–9	10–11
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 38	>40	>40	25–35	-	-	13–15

Примечание. *номер образца эфирного масла: 1 — монарда дудчатая (*Monarda fistulosa*); 2 — базилик благородный (*Ocimum basilicum*); 3 — лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia*); 4 — многоколосник фенхельный (*Agastache foeniculum*); 5 — шалфей лекарственный (*Salvia officinalis*), 6 — плектрантус ароматнейший (*Plectranthus amboinicus*)

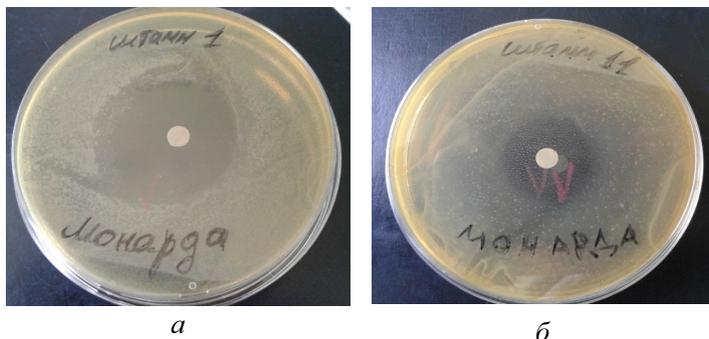


Рис. 1. Чувствительность к эфирному маслу монарды дудчатой бактерий:

а — *Aeromonas hydrophila*, штамм № 1; б — *A. salmonicida*, штамм № 11

Fig. 1. Sensitivity to the essential oil of monarda fistus bacteria:

а — *Aeromonas hydrophila*, strain № 1; б — *A. salmonicida*, strain № 11

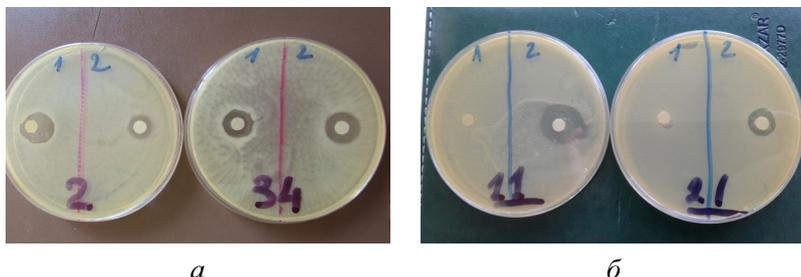
Большинство бактерий обладает средней и низкой чувствительностью к маслам лаванды узколистной и многоколосника фенхельного, высокая чувствительность отмечена только 3 штамма к маслу лаванды и у одного штамма — к маслу многоколосника. К маслу плектрантуса ароматнейшего был чувствителен только 1 штамм аэромонад, большинство же из них являлись средне- и малочувствительными.

На последнем месте по бактерицидной активности находится шалфей лекарственный: к нему практически все бактерии р. *Aeromonas* нечувствительны (задержка роста либо отсутствует, либо ее зона составляет ≤ 11 мм), и только 1 штамм малочувствителен (11–14 мм).

Влияние эфирных масел растений сем. Амариллисовые (*Amaryllidaceae*) на бактерии рр. *Aeromonas* и *Proteus*.

При определении чувствительности аэромонад и протеев к эфирным маслам лука репчатого (*Allium cepa*) и чеснока посевного (*Allium sativum*) установлено, что эфирные масла растений сем. Амариллисовые обладают, в основном, слабо- и средневыраженными антибактериальными свойствами в отношении бактерий рр. *Aeromonas* и *Proteus* (рис. 2).

Бактерии *Proteus mirabilis* оказались малочувствительны к указанным субстанциям (задержка роста составила 11–12 мм). Бактерии *P. vulgaris* нечувствительны к эфирному маслу лука репчатого (нулевая зона задержки роста) и слабочувствительны к маслу чеснока посевного (12–13 мм) (табл. 2).



а — *Aeromonas hydrophila*, штаммы №№2 и 34 (подпись снизу)

б — *Aeromonas hydrophila*, штаммы №№11 и 21 (подпись снизу)

Рис. 2. Чувствительность бактерий к эфирным маслам лука репчатого (1 — подпись сверху) и чеснока посевной (2 — подпись сверху)
 Fig. 2. The sensitivity of bacteria to essential oils of onion (1 — signature above) and garlic (2 — signature above)

Таблица 2. Чувствительность бактерий рр. *Aeromonas* и *Proteus* к эфирным маслам растений сем. Амариллисовые (*Amaryllidaceae*)
 Table 2. Sensitivity of bacteria рр. *Aeromonas* and *Proteus* to essential oils of plants of the family *Amaryllidaceae*

Бактериальный штамм, №	Зоны задержки роста бактерий, мм	
	Лук репчатый	Чеснок посевной
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 1	14–15	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 2	15–17	12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 4	0	11–12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 5	0	8–9
<i>Proteus mirabilis</i> , 6	12	11–12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 8	0	19–20
<i>Aeromonas salmonicida</i> , 11	0	25
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 13	18–19	11
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 16	7–8	39–42
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 19	9–10	9–10
<i>Proteus vulgaris</i> , 21	0	12–13
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 22	0	21–22
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 24	13–14	15–17
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 25	0	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 27	0	19–20
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 29	15–18	20–22



Бактериальный штамм, №	Зоны задержки роста бактерий, мм	
	Лук репчатый	Чеснок посевной
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 30	0	15–16
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 31	10–11	8–9
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 33	8–10	7
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 34	13–15	14–15
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 36	0	10–12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 37	9–10	11–12

БАВ чеснока посевного (*Allium sativum*) обладают более выраженным антибактериальным действием на аэромонады, чем у лука репчатого (*Allium cepa*). Зоны задержки роста *Aeromonas hydrophila* в одном из экспериментов составили 39–42 мм (штамм № 16), что трактуется как высокая чувствительность. В то же время зона задержки роста этого же штамма при применении БАВ лука составила 7–8 мм, что трактуется как отсутствие чувствительности. Бактерии *Aeromonas salmonicida* не проявили чувствительности к эфирному БАВ лука, в то время как у чеснока она была средней, на границе с высокой (25 мм). В остальных случаях чувствительность аэромонад к БАВ лука и чеснока можно охарактеризовать как низкую и среднюю.

Влияние эфирных масел растений сем. *Сложноцветные* (*Compositae*) на бактерии pp. *Aeromonas* и *Proteus*.

Данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют, что из 6 изученных представителей сем. Сложноцветные наиболее выраженными бактерицидными свойствами в отношении аэромонад обладают эфирные масла полыни однолетней (*Artemisia annua*) и пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare*).

Таблица 3. Чувствительность бактерий pp. *Aeromonas* и *Proteus* к эфирным маслам растений сем. Сложноцветные (*Compositae*)
Table 3. Sensitivity of bacteria pp. *Aeromonas* and *Proteus* to essential oils of plants of the family Asteraceae

№ бактериального штамма	Зоны задержки роста бактерий, мм					
	1*	2*	3*	4*	5*	6*
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 1	9–10	11–12	0	14–15	23–25	14–18
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 2	–	–	0	10–14	24–30	10–12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 4	14–15	13–14	0	8–9	24–25	24–25
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 5	–	–	0	10–14	12–16	0



Окончание табл. 3

№ бактериального штамма	Зоны задержки роста бактерий, мм					
	1*	2*	3*	4*	5*	6*
<i>Proteus mirabilis</i> , 6	12–13	9–10	0	9–10	9–10	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 8	9–10	16–17	0	10–11	>40	9–10
<i>Aeromonas salmonicida</i> , 11	11–12	15–16	0	11–13	15–16	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 13	9–10	8–9	0	11–12	9–10	–
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 16	12–13	13–14	0	0	16–23	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 19	9–10	16–17	0	15–16	24–26	18–20
<i>Proteus vulgaris</i> , 21	8–9	10–12	0	9–10	13–14	9–10
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 22	9–10	8–9	0	12–15	>40	>40
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 24	–	–	–	11–13	13–15	–
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 25	9–10	8–9	–	–	16–18	–
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 27	9–10	0	9–10	9–10	9–10	9–10
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 29	9–10	11–12	0	0	0	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 30	12–13	0	–	–	8–9	–
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 31	–	–	–	16–18	19–20	10–11
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 32	0	8–9	0	0	9–10	9–10
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 33	0	9–10	0	0	10–11	9–10
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 34	9–10	0	9–10	11–13	23–25	9–10
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 36	27–28	22–23	0	8–9	15–16	9–10
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 37	0	10–11	0	9–10	12–14	10–11
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 38	0	0	0	9–13	26–29	0

Примечание. *номер образца эфирного масла: 1 — тагетес отклоненный *Tagetes patula* L.; 2 — полынь эстрагонная *Artemisia dracunculus* L.; 3 — полынь обыкновенная *Artemisia vulgaris* L.; 4 — полынь горькая *A. absinthium* L.; 5 — полынь однолетняя *A. annua* L.; 6 — пижма обыкновенная *Tanacetum vulgare* L.

Несомненным лидером является полынь однолетняя (№ 5 на рис. 3). Установлено, что высокой или средней чувствительностью к ее эфирному маслу обладают 11 штаммов бактерий, абсолютно нечувствителен только 1 штамм (*Aeromonas hydrophila* № 29).

К маслу пижмы обыкновенной высокочувствителен 1 штамм аэромонад (*A. hydrophila* № 22) среднечувствительных — 3 (*A. hydrophila* №№ 1 (14–18 мм); 4 (24–25 мм); 19 (18–20 мм)). Тагетес отклоненный проявил высокую активность только в отношении *A. hydrophila* № 36 (27–28 мм), во всех остальных случаях ее можно охарактеризовать либо как низкую,



либо наблюдается ее отсутствие. Полынь эстрагонная проявила среднюю активность в отношении того же штамма аэромонад (*A. hydrophila* № 36, зона задержки составила 22–23 мм), а также *A. hydrophila* № 19 (16–17 мм). Эфирное масло полыни горькой практически не оказывало воздействия на исследуемые бактерии, его активность была средняя или слабая. На последнем месте по активности — полынь обыкновенная: зоны задержки либо нулевые, либо близки к тому. Бактерии р. *Proteus* оказались практически нечувствительными к эфирным маслам растений сем. Сложноцветные. *Proteus mirabilis* проявил низкую чувствительность к маслу тагетеса отклоненного (12–13 мм), к остальным — нечувствителен; бактерии *Proteus vulgaris* слабочувствительны к эфирному маслу полыни горькой (13–14 мм), к остальным — нечувствительны.

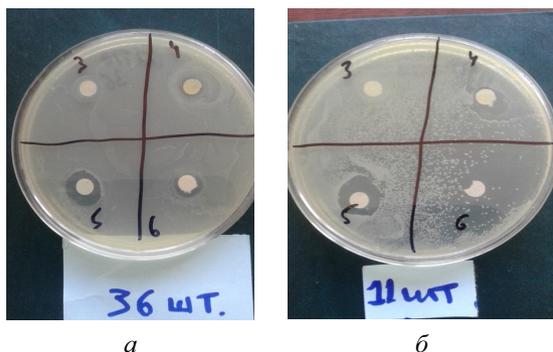


Рис. 3. Чувствительность бактерий к эфирным маслам полыни обыкновенной (3), полыни горькой (4), полыни однолетней (5) и пижмы обыкновенной (6); а — *A. hydrophila*, штамм № 36; б — *A. salmonicida*, штамм № 11

Fig. 3. Sensitivity of bacteria to essential oils of wormwood (3), wormwood (4), wormwood (5) and tansy (6); а — *A. hydrophila*, strain No. 36; б — *A. salmonicida*, strain No. 11

Влияние композиций растительных эфирных масел на бактерии рр. *Aeromonas* и *Proteus* (диско-диффузный метод).

Изучена активность следующих композиций:

- 1) монарда дудчатая — базилик обыкновенный — шалфей лекарственный;
- 2) монарда дудчатая — лаванда узколистная — плектрантус ароматнейший;
- 3) монарда дудчатая — базилик обыкновенный — лаванда узколистная;



4) плектрантус ароматнейший — лаванда узколистная — базилик обыкновенный.

При изучении антибактериальной активности композиций из растительных масел в отношении бактерий рр. *Aeromonas* и *Proteus* диско-диффузным методом установлено, что бактерии р. *Proteus* чувствительны ко всем композициям эфирных масел, однако имеются отличия по видам: *Proteus mirabilis* наиболее чувствительны к композиции № 4 (высокая чувствительность, 28 мм), к композициям 1–3 они обладают средней чувствительностью (16–18 мм). Бактерии *P. vulgaris*, напротив, наиболее чувствительны к композиции № 1 (высокая чувствительность, 42 мм), а также №№ 2 и 3 (высокая чувствительность, по 26 мм); к композиции № 4 чувствительность можно охарактеризовать как среднюю (16 мм) (табл. 4).

Таблица 4. Чувствительность бактерий *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Proteus mirabilis* и *P. vulgaris* к композициям эфирных масел
Table 4. Sensitivity of *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Proteus mirabilis* and *P. vulgaris* bacteria to essential oil compositions

№ бактериального штамма	Зоны задержки роста бактерий, мм			
	№1	№2	№3	№4
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 1	18	22	9	14
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 5	18	22	14	20
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 8	24	26	14	18
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 16	16	17	28	38
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 19	38	26	26	12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 22	38	30	32	15
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 24	9	9	9	16
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 25	24	20	22	12
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 27	30	14	11	15
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 29	15	22	18	22
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 30	28	20	30	14
<i>Aeromonas hydrophila</i> , 37	18	24	16	16
<i>Aeromonas salmonicida</i> , 11	36	30	40	16
<i>Proteus mirabilis</i> , 6	18	16	16	28
<i>Proteus vulgaris</i> , 21	42	26	26	16

Что касается бактерий р. *Aeromonas*, наибольшей антибактериальной активностью по отношению к ним обладают композиции №№ 1 и 3 (по 5 штаммов оказались высокочувствительными); менее активна композиция № 2 (4 штамма аэромонад обладают высокой чувствительнос-



тью). На последнем месте — композиция № 4 (один штамм аэромонад, *A. hydrophila* № 16, оказался высокочувствительным к маслам данной композиции). Наиболее резистентным к воздействию композиций эфирных масел оказался бактериальный штамм *A. hydrophila* № 24 (зоны задержки по 9, в одном случае 16 мм). Штаммы №№ 1, 5, 25, 29, 37 обладали низкой или средней чувствительностью к эфирным маслам.

Влияние эфирных масел и композиций эфирных масел на бактерии рр. *Aeromonas* и *Proteus* (метод совместного инкубирования и метод нанесения растительного экстракта на поверхность твердой среды).

Исследованы следующие композиции эфирных масел:

- ♦ №1 — монарда дудчатая (сорт Ильгиния) + шалфей лекарственный;
- ♦ №2 — монарда дудчатая (сорт Ильгиния) + плектрантус ароматнейший;
- ♦ №3 — монарда дудчатая (сорт Ильгиния) + лаванда узколистная;
- ♦ №4 — плектрантус ароматнейший + лаванда узколистная + базилик обыкновенный.
- ♦ Также исследованы отдельные эфирные масла:
- ♦ №5 — плектрантус ароматнейший;
- ♦ №6 — монарда дудчатая (сорт Ильгиния);
- ♦ №7 — лаванда узколистная;
- ♦ №8 — шалфей лекарственный.

Данные, полученные в ходе изучения уровня антимикробного действия растительных эфирных масел и композиций из них на бактерии р. *Aeromonas* методом совместного инкубирования, свидетельствуют о том, что указанные микроорганизмы весьма чувствительны ко всем исследуемым эфирным маслам и композициям. Более чувствительны бактерии *A. hydrophila*, поскольку, как через 2, так и через 4 ч совместного инкубирования роста данной культуры на МПА не наблюдалось (за исключением композиции №3, при применении которой в течение 2 часов наблюдался рост нескольких отдельных колоний в самом начале линии движения петли). Бактерии *A. salmonicida* оказались несколько более устойчивы к воздействию эфирных масел. Через 2 ч совместного инкубирования микроорганизмов с субстанциями №№ 2, 5, 7 и 8 наблюдался слабый рост бактериальной культуры, через 4 ч роста не наблюдалось. Исключение составила композиция №4, которая практически не подействовала на *A. salmonicida*: через 2 ч совместного инкубирования от-

мечен обильный рост бактерий, сравнимый с таковым в контроле, через 4 ч — слабый рост по всему следу петли (табл. 5, 6; рис. 4, 5).

Таблица 5. Чувствительность бактерий *Aeromonas salmonicida* (№11) к эфирным маслам и композициям эфирных масел

Table 5. Sensitivity of *Aeromonas salmonicida* bacteria (No. 11) to essential oils and essential oil compositions

Вариант опыта	Композиции и масла							
	1	2	3	4	5	6	7	8
К	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2 часа	-	++	+	+++	++	-	++	+
4 часа	-	-	-	++	-	-	-	-

Таблица 6. Чувствительность бактерий *Aeromonas hydrophila* (№22) к эфирным маслам и композициям эфирных масел

Table 6. Sensitivity of *Aeromonas hydrophila* bacteria (No. 22) to essential oils and essential oil compositions

Вариант опыта	Композиции и масла							
	1	2	3	4	5	6	7	8
К	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2 часа	-	-	+	-	-	-	-	-
4 часа	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание. «+++» густой, обильный рост по всему следу петли; «++» слабый рост по всему следу петли; «+» слабый рост не до конца следу петли; «-» отсутствие роста

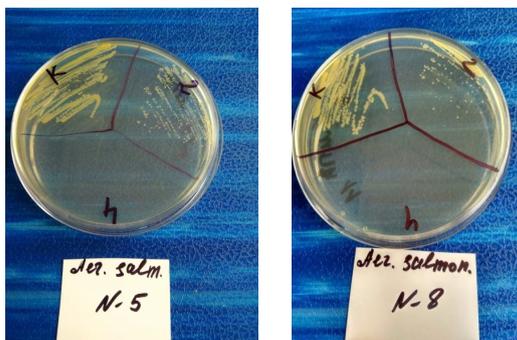


Рис. 4. Чувствительность бактерий *Aeromonas salmonicida* (№11) к эфирным маслам

Fig. 4. Sensitivity of bacteria *Aeromonas salmonicida* (№ 11) to essential oils

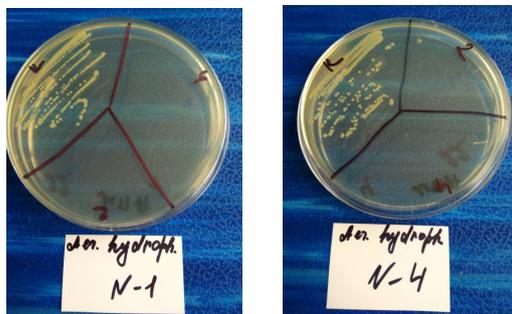


Рис. 5. Чувствительность бактерий *Aeromonas hydrophila* (№22) к эфирным маслам

Fig. 5. Sensitivity of *Aeromonas hydrophila* bacteria (№. 22) to essential oils

При использовании метода нанесения растительного экстракта на поверхность твердой среды отмечено, что все без исключения эфирные масла и композиции на их основе при внесении на поверхность твердой среды полностью подавляют рост бактерий *A. hydrophila* и *A. salmonicida*. В то же время на контрольных чашках (без добавления эфирных масел) наблюдался интенсивный рост указанных культур.

Закключение. Изучено влияние эфирных масел 14 растений, относящихся к сем. Губоцветные (*Labiatae*), Амариллисовые (*Amaryllidaceae*) и Сложноцветные (*Compositae*) на бактерии рр. *Aeromonas* и *Proteus*. Проверена чувствительность к эфирным маслам 25 бактериальных штаммов, представителей следующих видов: *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Aeromonas salmonicida* и *A. hydrophila*.

Отмечено, что к эфирным маслам растений сем. Губоцветные более чувствительны бактерии р. *Proteus*, чем р. *Aeromonas*. Зоны задержки роста протеев достигали 32–34 мм (шалфей), >40 мм (монарда, базилик, лаванда). Антагонизм в отношении аэромонад наиболее выражен у монарды и базилика. Зоны задержки роста составили свыше 25 мм, в отдельных случаях — свыше 40 мм. Это позволяет охарактеризовать чувствительность бактерий к эфирным маслам как высокую и очень высокую.

Эфирные масла растений сем. Амариллисовые обладают более слабо выраженными антибактериальными свойствами: бактерии рр. *Proteus* и *Aeromonas* были в большинстве случаев слабочувствительны или нечувствительны к ним (реже наблюдалась средняя чувствительность). Исключение — *A. hydrophila* № 16, чувствительность которого к маслу чеснока составила 39–42 мм.



Наиболее выраженными бактерицидными свойствами в отношении аэромонад из сем. Сложноцветных обладают эфирные масла полыни однолетней и пижмы обыкновенной (до 23–30 мм). Бактерии р. *Proteus* оказались практически нечувствительными к эфирным маслам растений сем. Сложноцветные.

Композиции, составленные на основе эфирных масел, обладающих повышенным антибактериальным действием, показали свою активность как при применении классическим дискодиффузным методом, так и иными методами. Данные, полученные при применении метода совместного инкубирования, свидетельствуют о том, что бактерии р. *Aeromonas* весьма чувствительны ко всем исследуемым эфирным маслам и композициям эфирных масел. Более чувствительны бактерии *A. hydrophila*, поскольку как через 2, так и через 4 ч совместного инкубирования роста данных культур на МПА не наблюдалось (за редким исключением). Бактерии *A. salmonicida* оказались несколько более устойчивыми к воздействию эфирных масел. Через 2 ч совместного инкубирования наблюдался, как правило, слабый рост бактериальной культуры, через 4 ч роста не наблюдалось. Все без исключения эфирные масла и композиции на их основе при применении метода нанесения растительного экстракта на поверхность твердой среды полностью подавляют рост бактерий *A. hydrophila* и *A. salmonicida*.

Таким образом, экстракты растительных эфирных масел являются перспективными субстанциями для создания антибактериальных препаратов, предназначенных для борьбы против инфекционных болезней рыб.

Список использованных источников

1. Иктиопатология: учеб. пособие для вузов / Н.А. Головина [и др.]; под общ. ред. Н.А. Головиной, О.Н. Бауера. — М.: Мир, 2003 — С. 150–162.
2. Юхименко, Л.Н. Современное состояние проблемы аэромоноза рыб / Л.Н. Юхименко, Г.С. Койдан // Экспресс-информация / Всерос. науч.-иссл. инт экспер. рыбн. х-ва. — Москва, 1997. — Вып. 2. — С. 1–5.
3. Методические указания по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: утв. Гл. упр. вет. Мин. сельск. хоз-ва и прод. СССР 30.10.1971 г. // Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции: Справочник / Сост. Б.И. Антонов, и др.; под ред. Б.И. Антонова. — М.: Агропромиздат, 1986. — С. 270–278.



4. Государственная фармакопея Республики Беларусь. (ГФ. РБ II): Разработана на основе Европейской фармакопеи. В 2 т. Т.1. Общие методы контроля лекарственных средств / М-воздравоохр. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. — Молодечно: Тип. «Победа», 2012. — 1220 с.

Referents

1. Golovina N.A., Strelkov Yu.A., Voronin V.N., Golovin P.P., Evdokimova E.B., Yukhimenko L.N. Ichthyopathology: textbook. manual for universities = Ihtiopatologiya: ucheb. posobie dlya vuzov [ed. N.A. Golovina, O.N. Bauer. Moscow, Mir], 2003, pp. 150–162 (in Russian).
2. Yukhimenko L.N., Koydan G.S. The current state of the problem of aeromonosis in fish. Express Information. *Vserossijskij institut rybnogo hoz'yajstva = Vseros. Institute of Fisheries*, 1997, pp. 1–5 (in Russian).
3. Guidelines for determining the sensitivity to antibiotics of infectious agents of agricultural animals. Laboratory research in veterinary medicine. Bakterial'nye infekcii: Spravochnik = *Bacterial infections: Handbook* [ed. B.I. Antonova], 1986, pp. 270–278.
4. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. (GF. RB II): Developed on the basis of the European Pharmacopoeia, vol. 1. *General methods of drug control = Obshhie metody kontrolya lekarstvennykh sredstv* [Ministry of health of Republic of Belarus, UE Center for Expertise and Testing in Health Care; under total. ed. A.A. Sheryakova. Molodechno: Type. «Victory», 2012, 1220 p. (in Russian).

Сведения об авторах

Дегтярик Светлана Михайловна — кандидат биологических наук, доцент, зав. лабораторией болезней рыб, РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» (ул. Стебенева, 22, 220024, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lavrushnek@mail.ru

Полоз Светлана Васильевна — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» (ул. Стебенева, 22, 220024, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lana.poloz@gmail.com

Шутова Анна Геннадиевна — кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории прикладной биохимии, Центральный ботанический сад национальной академии наук Беларуси, Национальная академия наук Беларуси (ул. Сурганова 2В, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anna_shutova@mail.ru

Слободницкая Галина Владимировна — кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» (ул. Стебенева, 22, 220024, Минск, Республика Беларусь). E-mail: slobodnickaja.g.v@gmail.com



Гребнева Елена Ивановна — кандидат ветеринарных наук, главный специалист, Отделение аграрных наук, Национальная академия наук Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: grebneva@presidium.bas-net.by

Максимьюк Евгения Владимировна — научный сотрудник, РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» (ул. Стебенева, 22, 220024, Минск, Республика Беларусь). E-mail: jenua_maksimjuk@mail.ru

Говор Татьяна Альфонсовна — научный сотрудник, РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» (ул. Стебенева, 22, 220024, Минск, Республика Беларусь). E-mail: govorta@tut.by

Беспальый Алексей Викторович — научный сотрудник, РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» (ул. Стебенева, 22, 220024, Минск, Республика Беларусь). E-mail: salmotmf@gmail.com

Information about authors

Dziahtsiaryk Sviatlana — Ph.D. (Biological Sciences), Associate professor, RUE “Fish Industry Institute” of the RUE “Scientific and Practical Center of Belarus National Academy of Sciences for Animal Husbandry” (220024, Minsk, st. Stebenev, 22, Republic of Belarus). E-mail: lavrushnek@mail.ru

Poloz Sviatlana — Ph.D. (in Veterinary Medicine), RUE “Fish Industry Institute” of the RUE “Scientific and Practical Center of Belarus National Academy of Sciences for Animal Husbandry” (220024, Minsk, st. Stebenev, 22, Republic of Belarus). E-mail: lana.poloz@gmail.com

Shutava Hanna — Ph.D. (Biological Sciences), Associate professor, the Central Botanical Garden, the National Academy of Sciences of Belarus (2V Surganova Str., 220012 Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anna_shutova@mail.ru

Slabodnitskaya Halina — Ph.D. (Agricultural sciences), RUE “Fish Industry Institute” of the RUE “Scientific and Practical Center of Belarus National Academy of Sciences for Animal Husbandry” (220024, Minsk, st. Stebenev, 22, Republic of Belarus). E-mail: slabodnickaja.g.v@gmail.com

Hrebneva Elena — Ph.D. (in Veterinary Medicine), chief specialist, Department of Agricultural Sciences, the National Academy of Sciences of Belarus (66 Ave, 220072 Minsk, Republic of Belarus). E-mail: grebneva@presidium.bas-net.by

Maksimyuk Yauheniya — researcher, RUE “Fish Industry Institute” of the RUE “Scientific and Practical Center of Belarus National Academy of Sciences for Animal Husbandry” (220024, Minsk, st. Stebenev, 22, Republic of Belarus). E-mail: jenua_maksimjuk@mail.ru

Hovar Tatsiana — researcher, RUE “Fish Industry Institute” of the RUE “Scientific and Practical Center of Belarus National Academy of Sciences for Animal Husbandry” (220024, Minsk, st. Stebenev, 22, Republic of Belarus). E-mail: govorta@tut.by

Biaspaly Aliaksei — researcher, RUE “Fish Industry Institute” of the RUE “Scientific and Practical Center of Belarus National Academy of Sciences for Animal Husbandry” (220024, Minsk, st. Stebenev, 22, Republic of Belarus). E-mail: salmotmf@gmail.com