



# Пваринництво, ветеринарна медицина

УДК 619:615.9:614.3:  
636.085.3  
© 2021

## ФУНГІСТАТИЧНІ ТА АНТАГОНІСТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КОМПЛЕКСУ ПРОБІОТИЧНИХ КУЛЬТУР *S. THERMOPHILUS*, *L. BULGARICUM* І *L. RHAMNOSUS*

М.О. Ярошенко<sup>1</sup>, О.Л. Оробченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>кандидит ветеринарних наук

<sup>2</sup>доктор ветеринарних наук

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023, Україна

e-mail: <sup>1</sup>margarita.yaroshenko.69@ukr.net, <sup>2</sup>toxi-lab@ukr.net

ORCID: <sup>1</sup>0000-0001-9040-6474, <sup>2</sup>0000-0002-0885-7776

Надійшла 26.08.2021

**Мета.** Вивчити фунгістатичні й антагоністичні властивості комплексу пробіотичних культур *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricum* і *Lactobacillus rhamnosus* щодо епізоотичного актуального сапрофіту *Aspergillus flavus*. **Методи.** Загальноприйняті і розроблені в лабораторії токсикологічного моніторингу мікологічні, бактеріологічні методи культивування та ідентифікації. **Результати.** При вивченні фунгістатичних властивостей пробіотичних культур *S. thermophilus*, *L. bulgaricum* і *L. rhamnosus* щодо *Aspergillus flavus* встановлено, що комплекс молочнокислих бактерій у розведеннях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  і  $2 \cdot 10^5$  бактеріальних клітин під час експозиції упродовж 60, 90 та 120 хв за температури  $20 \pm 0,5$  і  $37 \pm 0,5$  °C не вплинув на затримку росту музейного штаму і польового ізоляту *A. flavus* — спостерігали суцільний ріст тест-культур мікроміцетів, порівняно з повною його відсутністю в негативному контролі з ністатином. При вивченні антагоністичних властивостей пробіотичних культур *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у розведеннях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  і  $2 \cdot 10^5$  бактеріальних клітин на 18–20 год інкубації за температури  $37,0 \pm 0,5$  °C зон затримки росту музейного штаму і польового ізоляту *A. flavus* виявлено не було, тоді як у негативному контролі, діаметр зони затримки росту становив 24 і 26 мм відповідно. Тобто пробіотичні культури *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* не виявили антагоністичних властивостей щодо музейного штаму і польового ізоляту *A. flavus*. **Висновки.** Комплекс пробіотичних культур *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  і  $2 \cdot 10^5$  у дослідгах *in vitro* не виявив фунгістатичних і антагоністичних властивостей. Встановлено суцільний ріст *A. flavus* у всіх

**досліджуваних розведеннях, порівняно з його повною відсутністю в негативних контролях з ністатином.**

**Ключові слова:** молочнокислі бактерії, плісеньві сапрофіти, токсикологічний моніторинг, мікроскопічні гриби.

**DOI:** <https://doi.org/10.31073/agrovysnyk202110-07>

Повноцінна годівля — один із найважливіших чинників у комплексі заходів щодо запобігання захворювань тварин. Однак несприятливі кліматичні умови, порушення технології зберігання кормів призводять до накопичення сапрофітних і патогенних мікроміцетів (*Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. amstelodami*, *Penicillium brevicaulis*, *P. bicolor*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*). Це, у свою чергу, внаслідок постійного розширення ареалу призводить до змін складу, поживної цінності кормів і виникнення мікозів у тварин [1–3]. Міцеліальні гриби та дріжджі є основними чинниками псування харчових продуктів і кормів та є серйозною проблемою для здоров'я людей і тварин, особливо у країнах, що розвиваються. Зокрема, за оцінкою FAO, 5–10% світового виробництва продуктів харчування непридатні до використання через ураження грибами. Також відомо, що 27% продуктів, вироблених у США, щороку контаміновані мікроскопічними грибами, які не тільки погіршують органолептичні показники продукції, а й призводять до виникнення алергічних станів та отруєнь мікотоксинами [4].

Для зниження ступеня контамінації мікроскопічними грибами кормів і продуктів харчування існують альтернативні методи контролювання, зокрема із застосуванням молочнокислих бактерій, які є дуже актуальні та необхідні, оскільки використання фунгіцидів не завжди ефективно, має високу вартість виробництва та несе екологічну небезпеку [4–6].

До групи молочнокислих бактерій відносять широку групу грампозитивних, каталазанегативних, не утворюючих спори, коків і паличок, які утворюють молочну кислоту як основний кінцевий протимікробний продукт. Молчнокислі бактерії широко використовують для харчової та кормової ферментації, поліпшуючи гігієнічні вимоги, безпечність, стабільність сировини під час зберігання

[6, 7]. Вони відіграють важливу роль у біорекострукції продуктів харчування і кормів, пов'язаної з напрацюванням протимікробних сполук — молочну, оцтову кислоти, перекис водню та ін. [7–9].

Нині залишається актуальним питання пошуку штамів молочнокислих бактерій для створення сучасних пробіотичних препаратів і продуктів функціонального харчування, що зумовлено широким спектром корисних властивостей цих мікроорганізмів, зокрема здатність пригнічувати ріст плісневих грибів та відповідно звести до мінімуму ймовірне накопичення мікотоксинів [4, 6, 8].

**Мета досліджень** — вивчити фунгістатичні й антагоністичні властивості комплексу пробіотичних культур *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricum*, *Lactobacillus rhamnosus* [5] щодо музейного штаму та польового ізоляту мікроміцетів виду *Aspergillus flavus* [10].

**Матеріали і методи досліджень.** Наявність фунгістатичних властивостей *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* (закваска «Йогурт», виробництво ПП «Марина», Україна, містить ліофілізовані молочнокислі бактерії *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у кількості  $2 \cdot 10^9$  КУО) вивчили у дослідах *in vitro* на музейному штамі (А.Х.5) та польовому ізоляті *A. flavus*, виділеному та ідентифікованому із зерна ячменю.

Дослідження проведено відповідно до розробленої в лабораторії токсикологічного моніторингу методики [11]. Зокрема, в стерильний пеніциліновий флакончик (або іншу ємкість) з  $9 \text{ см}^3$  зависі молочнокислих бактерій певної концентрації додавали  $1 \text{ см}^3$  спорової зависі тест-культури *A. flavus*. Витримували за температур  $20 \pm 0,5$  і  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  упродовж 60, 90 та 120 хв. Після цього для підрахунку кількості спор, що вижили,  $1 \text{ см}^3$  вмісту флакончика висівали в марковані чашки Петрі і заливали

розплавленим і охолодженим до 38–40°C агаром Чапека (10–15 см<sup>3</sup> на чашку). Позитивний контроль (1 см<sup>3</sup> робочої спорової зависі тест-культури *A. flavus* розводили у 9 см<sup>3</sup> стерильної водопровідної води, без внесення зависі молочнокислих бактерій) у кількості 1 см<sup>3</sup> вносили до чашки Петрі і заливали поживним середовищем. Негативний контроль (1 см<sup>3</sup> робочої спорової зависі тест-культури музейного штаму розведено у 9 см<sup>3</sup> стерильної водопровідної води) у кількості 1 см<sup>3</sup> вносили до чашки Петрі і заливали агаром Чапека зі штучно внесеним ністатинном (на 100 см<sup>3</sup> поживного середовища — 100 тис. ОД ністатину).

Після того, як середовище застигло, з метою запобігання розсіювання спор, перевернуті чашки Петрі розташували в термостаті за температури 27,0±0,5°C та на 3-тю, 5-ту, 7-му, 10-ту та 14-ту добу провели підрахунок кількості колоній, що вирости.

Після закінчення культивування, в зазначені вище терміни, провели макроскопічне дослідження культур.

За макроскопічного вивчення зовнішніх ознак колоній грибів визначили місце і характеристику їх росту в кожній маркованій чашці, врахували колір, форму, консистенцію колоній, наявність чи відсутність склероціїв, пігменту, їх колір та ступінь розвитку повітряного міцелію. Провели порівняння з колоніями музейних штамів та описами у визначальнику [10].

За обчислення результатів висівів підраховували усі колонії тест-культур мікроміцетів, що вирости у чашках Петрі. Визначення середнього результату кількості росту колоній грибів і дослід з використанням найефективнішого розведення зависі молочнокислих бактерій повторили тричі з обов'язковим підрахунком колоній, що вирости. За результатами, що отримали в різні терміни, розраховували показник середньої кількості колоній, виписали варіаційний ряд і визначили медіану.

Середній результат кількості колоній грибів, що вирости для кожного терміну, визначали способом поділу суми всіх колоній на кількість чашок Петрі усіх повторюваностей за формулою:

$$X = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + X_n}{N},$$

де  $X$  — середня кількість колоній, що вирости в чашках Петрі;  $X_1, X_2, X_3, X_n$  — кількість колоній у 1-й, 2-, 3-й чашках і т.д.;  $N$  — кількість дослідів (повторюваностей).

Визначення антагоністичних властивостей пробіотичних культур *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* щодо плісеневих мікроміцетів виду *A. flavus* встановлювали з використанням методу лунок [12]. Він ґрунтується на методі дифузії різних концентрацій пробіотичних культур, внесених до лунок в агарі з тест-культурою музейного штаму (з паспортом, що характеризує його властивості) та польового ізоляту *A. flavus*.

Визначення антагоністичних властивостей *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* складалося з таких етапів:

- підготовка дослідного комплексу *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях 2·10<sup>9</sup>, 2·10<sup>8</sup>, 2·10<sup>7</sup>, 2·10<sup>6</sup> та 2·10<sup>5</sup> бактеріальних клітин у 10,0 см<sup>3</sup>), яку проводили способом серійних розведень;

- підготовка розведень тест-культур *A. flavus* (і музейного штаму і польового ізоляту) готували способом підрахунку кількості спор у тест-культурі у камері Горяєва і за допомогою мікроскопа за збільшення 200–300×. Розведення суспензії спор, яке містило не більше 120-ти спор у 1/5 мм<sup>3</sup> вважалося робочим;

- унесення суспензії тест-культури до розплавленого агару;

- внесення у лунки в агарі суспензії ймовірного антагоністичного комплексу штамів *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus*;

- позитивний контроль — унесення до лунки в агарі з тест-культурою 0,1 см<sup>3</sup> стерильної водопровідної води; негативний контроль — 0,1 см<sup>3</sup> водного розчину ністатину (10 тис. ОД на 1 см<sup>3</sup> стерильної водопровідної води);

- інкубація чашок Петрі в термостаті за температури 37,0±0,5°C та на 18–20 год вимірювання зон затримки росту *A. flavus*.

Облік результатів було проведено засобом ретельного заміру діаметрів зон пригнічення росту міліметровою лінійкою. За підрахунку зон затримки росту слабкими антагоністами вважалися культури, метаболіти яких утворювали зони затримки росту тест-культур від 10 до 15 мм, середніми — від 15 до 20, сильними — більше 20 мм.

Результати досліджень та їх обговорення. Після проведення досліду *in vitro* з визначення наявності фунгістатичних властивостей *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* на музейному штамі та польовому ізоляті плісеневого мікроміцету виду *A. flavus* [10] чашки Петрі інкубували за температури 25–27°C та на 3-тю, 5-ту, 7-му,

10-ту та 14-ту добу провели підрахунок кількості колоній, що вирости (табл. 1 і 2).

Отримані результати свідчать, що суміш молочнокислих бактерій *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  та  $2 \cdot 10^5$  за умов витримки за кімнатної температури 18–20 та 37–39°C упродовж 60, 90 та 120 хв не

### 1. Ступінь фунгістатичної активності комплексу молочнокислих бактерій щодо музейного штаму *A. flavus* за температури $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$

Концентрації <i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , бак. кл. у $10 \text{ см}^3$	Термін обчислення росту колоній <i>A. flavus</i> , діб														
	3			5			7			10			14		
	Експозиція часу, хв														
	60	90	120	60	90	120	60	90	120	60	90	120	60	90	120
Кількість колоній, що вирости, шт.															
$2 \cdot 10^9$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^8$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^7$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^6$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^5$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Позитивний контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Негативний контроль з ністатином	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Примітки: «-» — відсутність росту; «+» — суцільний ріст (для табл. 1–4).															

### 2. Ступінь фунгістатичної активності комплексу молочнокислих бактерій щодо музейного штаму *A. flavus* за температури $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

Концентрації <i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , бак. кл. у $10 \text{ см}^3$	Термін обчислення росту колоній <i>A. flavus</i> , діб														
	3			5			7			10			14		
	Експозиція часу, хв														
	60	90	120	60	90	120	60	90	120	60	90	120	60	90	120
Кількість колоній, що вирости, шт.															
$2 \cdot 10^9$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^8$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^7$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^6$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^5$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Позитивний контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Негативний контроль з ністатином	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

вплинула на пригнічення росту колоній *A. flavus*. У всіх дослідних концентраціях пробіотичного комплексу спостерігали суцільний ріст тест-культури мікроміцету, порівняно з повною відсутністю росту у негативному контролі.

Вивчено фунгістатичні властивості пробіотичних культур *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* щодо польового

ізоляту мікроміцетів виду *A. flavus* (табл. 3 і 4).

Дані табл. 3 та 4 свідчать, що комплекс молочнокислих бактерій *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  та  $2 \cdot 10^5$  за умов витримки за кімнатної температури 18–20 та 37–39°C упродовж 60, 90 та 120 хв не вплинув на пригнічення росту колоній *A. flavus*.

**3. Ступінь фунгістатичної активності комплексу молочнокислих бактерій щодо польового ізоляту *A. flavus* за температури  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$**

Концентрації <i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , бак. кл. у $10 \text{ см}^3$	Термін обчислення росту колоній <i>A. flavus</i> , діб														
	3			5			7			10			14		
	Експозиція часу, хв														
	60	90	120	60	90	120	60	90	120	60	90	120	60	90	120
Кількість колоній, що вирости, шт.															
$2 \cdot 10^9$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^8$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^7$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^6$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^5$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Позитивний контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Негативний контроль з ністатином	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**4. Ступінь фунгістатичної активності комплексу молочнокислих бактерій щодо польового ізоляту *A. flavus* за температури  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$**

Концентрації <i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , бак. кл. у $10 \text{ см}^3$	Термін обчислення росту колоній <i>A. flavus</i> , діб														
	3			5			7			10			14		
	Експозиція часу, хв														
	60	90	120	60	90	120	60	90	120	60	90	120	60	90	120
Кількість колоній, що вирости, шт.															
$2 \cdot 10^9$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^8$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^7$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^6$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$2 \cdot 10^5$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Позитивний контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Негативний контроль з ністатином	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Зокрема, у всіх дослідних концентраціях спостерігали суцільний ріст тест-культури мікроміцету, порівняно з повною відсутністю росту в негативному контролі.

Отже, комплекс молочнокислих бактерій *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  та  $2 \cdot 10^5$  за умов витримки за кімнатної температури  $20 \pm 0,5$  і  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  упродовж 60, 90 та 120 хв не має фунгістатичних властивостей, тобто не вплинув на пригнічення росту ні музейного штаму, ні польового ізоляту *A. flavus*.

Наступним етапом роботи було вивчення антагоністичних властивостей комплексу пробіотичних культур щодо польового ізоляту *A. flavus*.

Після внесення у лунки в агарі суспензій молочнокислих бактерій *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus*, позитивного

та негативного контролів чашки Петрі інкубували за температури  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  та на 18–20 год провели облік дослідів. Зокрема, встановили, що комплекс пробіотичних культур *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  та  $2 \cdot 10^5$  бактеріальних клітин на 18–20 год інкубації за температури  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  не виявив зон затримки росту ні музейного штаму, ні польового ізоляту *A. flavus*, порівняно з негативними контролями, діаметри зон затримки росту яких становили 26 та 24 мм відповідно.

Отже, комплекс молочнокислих бактерій *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  та  $2 \cdot 10^5$  на 18–20 год інкубації за температури  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  не виявив антагоністичних властивостей щодо музейного штаму та польового ізоляту *A. flavus*.

## Висновки

За вивчення фунгістатичних властивостей суміші пробіотичних культур *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  та  $2 \cdot 10^5$  за умов витримки за кімнатної температури  $20 \pm 0,5$  і  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  упродовж 60, 90 та 120 хв не виявлено фунгістатичних властивостей щодо музейних штамів і польових ізолятів виду *A. flavus*. Установлено суцільний ріст мікроміцетів, порівняно з відсутністю у негативному контролі (з ністатином). Тобто пробіотичні культури *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* не виявили фунгістатичних властивостей щодо плісняви *A. flavus*.

За вивчення антагоністичних властивостей суміші пробіотичних культур *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* у концентраціях  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  та  $2 \cdot 10^5$  бактеріальних клітин на 18–20 год інкубації за температури  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  не виявив

зон затримки росту музейного штаму та польового ізоляту *A. flavus*, порівняно з негативними контролями, діаметри зон затримки росту яких становили 24 та 26 мм відповідно, тобто молочнокислі бактерії не виявили антагоністичних властивостей щодо плісняви *A. flavus*.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у пошуку штамів молочнокислих бактерій для створення сучасних пробіотичних препаратів і продуктів функціонального харчування, що зумовлено не тільки їх широким спектром корисних властивостей, а й здатністю затримувати ріст токсиноутворювальних видів мікроскопічних грибів і зводити до мінімуму ймовірне накопичення мікотоксинів. Це дасть змогу запобігти їх негативному впливу на здоров'я та продуктивність тварин і зменшити економічні збитки у тваринництві.

Yaroshenko M.<sup>1</sup>, Orobchenko O.<sup>2</sup>

NSC «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», 83 Pushkinska Str., Kharkiv, 61023, Ukraine; e-mail: <sup>1</sup>margarita.yaroshenko.69@ukr.net, <sup>2</sup>toxi-lab@ukr.net; ORCID: <sup>1</sup>0000-0001-9040-6474, <sup>2</sup>0000-0002-0885-7776

**Fungistatic and antagonistic properties of the complex of probiotic cultures *S. thermophilus*, *L. bulgaricum* and *L. rhamnosus***

**Goal.** To study the fungistatic and antagonistic properties of the complex of probiotic cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus*

*bulgaricum* and *Lactobacillus rhamnosus* concerning the epizootic topical saprophyte *Aspergillus flavus*. **Methods.** Accepted and developed in the laboratory of toxicological monitoring mycological and bacteriological methods of cultivation and identification. **Results.** When studying the fungistatic properties of probiotic cultures of *S. thermophilus*, *L. bulgaricum* and *L. rhamnosus* against *Aspergillus flavus*, it was found that the complex of lactic acid bacteria in dilutions of  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  and  $2 \cdot 10^5$  bacterial cells under exposure time for 60, 90 and 120 min at a temperature of  $20 \pm 0.5$  and  $37 \pm 0.5$  °C did not have effect on the growth retardation of the museum strain and field isolate of *A. flavus*. Continuous growth was observed of test cultures of micromycetes, compared with its complete absence in negative control with nystatin. When studying the antagonistic properties of probiotic cultures of *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* in dilutions of  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,

$2 \cdot 10^6$  and  $2 \cdot 10^5$  bacterial cells for 18-20 h of incubation at a temperature of  $37,0 \pm 0.5$  °C growth retardation zones of the museum strain and field isolate of *A. flavus* were not detected, whereas in the negative control, the diameter of the growth retardation zone was 24 and 26 mm, respectively. That is, probiotic cultures of *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* did not show antagonistic properties against the museum strain and field isolate of *A. flavus*. **Conclusions.** The complex of probiotic cultures of *S. thermophilus*, *L. bulgaricum*, *L. rhamnosus* in concentrations of  $2 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^8$ ,  $2 \cdot 10^7$ ,  $2 \cdot 10^6$  and  $2 \cdot 10^5$  in experiments in vitro did not show fungistatic and antagonistic properties. The continuous growth of *A. flavus* was found in all studied dilutions, compared with its complete absence in negative controls with nystatin.

**Key words:** lactic acid bacteria, mold saprophytes, toxicological monitoring, microscopic fungi.

**DOI:** <https://doi.org/10.31073/agrovissnyk202110-07>

## Бібліографія

1. Абраскова С.В., Шашко Ю.К., Шашко М.Н. Биологическая безопасность кормов. Минск: Беларуская навука, 2013. 257 с.

2. Машков Б.М., Хазина З.И. Справочник по качеству зерна и продуктов его переработки. Москва: Колос, 1980. С. 39–58.

3. Самтон О., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов; пер. с англ., под общ. ред. Д.Г. Звягинцева. Москва: Мир, 2001. 487 с.

4. Magnusson J. Antifungal activity of lactic acid bacteria. 2003. 38 p.

5. Salminen S., Von Wright A., Ouwehand A.C. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. New York: Marcel Dekker, 3rd ed. 2004. 656 p.

6. Batish V.K., Roy U., Lal R., Grover S. Antifungal attributes of lactic acid bacteria — a review. Crit Rev Biotechnol. 1997. V. 17(3). P. 209–225. doi: 10.3109/07388559709146614

7. Стоянова Л.Г., Устюгова Е.А., Нетрусов А.И. Антибактериальные метаболиты мо-

лочнокислых бактерий: их разнообразие и свойства. Прикл. Биохим. Микробиол. 2012. № 48 (3). С. 259–275.

8. Gerbaldo G.A., Barberis C. Antifungal activity of two *Lactobacillus* strains with potential probiotic properties. FEMS Microbiol. Lett. 2012. V. 332. P. 27–33. doi: 10.1111/j.1574-6968.2012.02570.x

9. Lipińska L., Klewicki R., Klewicka E. et al. Antifungal activity of *Lactobacillus* spp. bacteria in the presence of xylitol and galactosyl-xylitol. Biomed. Res. Int. 2016. P. 1–8.

10. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы: определитель. Киев: Наукова думка, 1988. 204 с.

11. Визначення фунгіцидних властивостей та оптимальних режимів застосування дезінфікуючих засобів на тест-культурах роду *Aspergillus*: метод. реком. Київ, 2009. 24 с.

12. Коваленко В.Л., Якубчак О.М., Яценко М.Ф. та ін. Методи контролю ефективності дії дезінфектантів на міксоміцети: метод. реком. Київ, 2010. 12 с.