

МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ СПЕКТР НАУПЛІЙ АРТЕМІЇ ЗА ДІЇ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ РОДУ LACTOBACILLUS

О.І. ХУДИЙ¹, Л.М. ЛАЗАРЕНКО², О.А. КАРУЧЕРУ¹, Л.П. БАБЕНКО²,
Л.В. ХУДА¹, Ю.Ю. ДЖУРАВЕЦЬ¹, М.Я. СПІВАК²

¹Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, e-mail: o.khudyi@chnu.edu.ua
² Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, Україна, 03143

Досліджено можливість біоінкапсуляції трьох пробіотичних штамів молочнокислих бактерій *Lactobacillus casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279 та *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMB B-7281 в науплії артемії, а також проаналізовано вплив тривалості самої процедури біоінкапсуляції на мікрофлору живих кормів та показники їх смертності. Досліджувані штами лактобактерій характеризуються різною здатністю до колонізації науплії артемії. Найвищі показники обсеменення забезпечує використання *L. delbrueckii*, найменші – *L. acidophilus*. Результати мікробіологічних досліджень показали, що інтактні науплії *Artemia* spp. контрольної групи були контаміновані умовно-патогенними для риб представниками родів *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., а також мікроскопічними грибами *Candida* spp. Встановлено, що під впливом усіх трьох досліджуваних пробіотичних штамів у науплії артемії якісно змінювався мікробіологічний спектр. Зокрема, використання *L. casei* та *L. delbrueckii* достовірно зменшувало кількість усіх виявлених у контрольних груп артемії умовно-патогенних мікроорганізмів, при цьому відбувалась повна елімінація представників роду *Candida*. За насичення *L. casei* це відбувалось незалежно від тривалості проведення процедури біоінкапсуляції. Використання *L. acidophilus* забезпечило пригнічення розвитку *Staphylococcus* spp. та *Pseudomonas* spp. на 12 годину насичення. Незважаючи на те, що *L. delbrueckii* забезпечує вищий рівень колонізації науплії, *L. casei* забезпечує більш ефективно пригнічення розвитку умовно-патогенної мікрофлори. Застосування усіх трьох штамів лактобацил забезпечує більш ніж п'ятикратне зменшення смертності науплії артемії протягом їх 12-годинного утримання. Даний ефект може бути корисним для підтримання життєздатності кормових організмів в автоматичних годівницях при вигодовуванні ранньої молоді риб.

Ключові слова: артемія, пробіотики, біоінкапсуляція, смертність, мікрофлора

Вступ. Застосування пробіотиків в аквакультури як лікувально-профілактичних засобів корекції дисбіозу – ефективний метод компенсації впливу несприятливих зовнішніх чинників на організм риб при їх штучному вирощуванні. Окрім підвищення резистентності риб до різноманітних захворювань, пробіотики сприяють інтенсифікації їх ростових процесів за рахунок синтезу екстрацелюлярних ензимів, збільшуючи тим самим засвоюваність поживних речовин кормів (El-Saadony et al., 2021). Застосування пробіотиків також позитивно впливає на стабілізацію функцій травного тракту і покращення його ензиматичної активності, нормалізацію слизоутворення на поверхні тіла риб, покращення стану зябрового апарату (Dawood et al., 2019). Пробіотичні мікроорганізми сприяють посиленню фагоцитарної, лізоцимної, комплементної активностей, а також експресії різних цитокінів у риб (Qin et al. 2018).

Серед великого різноманіття пробіотичних мікроорганізмів значний інтерес для

аквакультури становлять представники роду *Lactobacillus*. Це зумовлено тим, що не було знайдено жодного виду *Lactobacillus*, який би був патогенним або умовно-патогенним щодо водних організмів (Zhang et al., 2018). Завдяки низці пристосувальних можливостей, а саме високому рівню адгезії, синтезу органічних кислот та пероксиду водню, стійкості до несприятливих умов, вони здатні успішно колонізувати травний тракт гідробіонтів та протистояти патогенній мікрофлорі (Sharma et al., 2013).

Одна з основних технологічних проблем застосування пробіотичних препаратів пов'язана із забезпеченням цільової доставки відповідних бактерій в організм риб. Внесення пробіотиків безпосередньо у воду призводить до їх розсіювання в значному об'ємі середовища, введення їх в гранульовані корми теж проблемне – у процесі екструзії, яка використовується в процесі виготовлення більшості видів сучасних продукційних кормів, життєздатність мікроорганізмів може істотно знижуватись.

Надійним вектором для цільової доставки пробіотиків в організм риб можуть служити живі корми (Ihsana et al., 2021). Традиційно в аквакультури як живий корм використовують науплії артемії, розміри яких підходять для вигодовування личинок як переважної більшості видів риб, так і різноманітних безхребетних, зокрема ракоподібних та головоногих моллюсків (Dhont et al., 2013).

Важливо, щоб сама процедура біоінкапсуляції пробіотиків у кормові організми не призводила до підвищення смертності останніх, що вимагає розробки відповідних технологічних режимів проведення зазначеної процедури. Враховуючи вище сказане, в даній роботі було досліджено можливість біоінкапсуляції трьох пробіотичних штамів молочнокислих бактерій *Lactobacillus casei* ІМВ В-7280, *L. acidophilus* ІМВ В-7279 та *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ІМВ В-7281 в науплії артемії, а також проаналізовано вплив тривалості процедури біоінкапсуляції на мікрофлору живих кормів та показники їх смертності.

Матеріали та методи. Інкубацію цист *Artemia* spp. («Ocean Nutrition», Belgium) проводили у апаратах Вейса об'ємом 8 л протягом 24 годин при постійному освітленні, аерації та температурі води +28°C. Необхідну солоність середовища для інкубування цист забезпечували додавання Натрій хлориду (NaCl) у концентрації 30 г/л (Литвиненко, Гуженко, 2007). Після процедури очищення від стулок та цист, які не проклюнулись, науплії артемії переносили у свіже середовище з відповідної солоністю, куди також вносили ліофілізовані культури пробіотичних мікроорганізмів у кінцевій концентрації 5×10^{10} КУО/л. Процедура біоінкапсуляції тривала 6 та 12 годин при постійній аерації та освітленні. Після зазначених термінів визначали відносну смертність науплій, а також відбирали зразки для проведення мікробіологічного аналізу. Відносну смертність розраховували як відсоткову частку мертвих науплій в аліквоті від загальної їх кількості. Для підрахунку науплій відбирали 1 мл середовища з артемією і переносили в камеру Багорова. Спочатку підраховували мертвих (нерухомих) особин, після чого додавали розчин Люголя, що призводило до знерухомлення живих науплій і дозволяло підрахувати загальну кількість артемії в аліквоті.

Для дослідження використовували пробіотичні штами лактобактерій, а саме: *Lactobacillus casei* ІМВ В-7280, *L. acidophilus* ІМВ В-7279 та *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ІМВ В-7281, задепоновані в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і

вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. В роботі використовували бактерії, ліофілізовані за допомогою приладу Cuddon Freeze Dryer FD1500 (Нова Зеландія). Перед кожним експериментом перевіряли життєздатність пробіотичних культур шляхом контролю їх росту на середовищі для культивування молочнокислих бактерій – Man-Rogosa-Sharpe (MRS, «HiMedia», Індія).

Мікробіологічні дослідження *Artemia* spp. проводили за загальноприйнятими методами (Лебедев, Понякіна, 1990; Brown, Perry, 1992). Наважки *Artemia* spp. (100 мкг) гомогенізували в порцеляновій ступці із дрібним стерильним піском та додавали 1 мл стерильного 0,15 М NaCl. У подальшому отриману суспензію в серії десятикратних розведень стерильним 0,15 М NaCl доводили до концентрації 10^{-3} і 10^{-4} . З кожного розведення відбирали 100 мкл для висіву на тверді поживні середовища, а саме: м'ясо-пептонний агар (МПА) – середовище для культивування аеробних та факультативно анаеробних бактерій; BAIRD-PARKER-Agar («Merck», Germany) – селективне середовище для *Staphylococcus* spp.; KF-Streptococcus agar («Merck», Germany) – селективне середовище для *Streptococcus* spp., агаризоване середовище MRS (MRSA, «HiMedia», Індія) – селективне середовище для ЛАБ; Bifidum agar («HiMedia», Індія) – селективне середовище для *Bifidobacterium* spp.; ЕНДО («HiMedia», Індія) – селективне середовище для коліморфних бактерій; Сабуро («HiMedia», Індія) – селективне середовище для мікроскопічних грибів; Candida medium («HiMedia», Індія) – селективне середовище для *Candida* spp., Pseudomonas agar («HiMedia», Індія) – селективне середовище для *Pseudomonas* spp. Після культивування при 37°C протягом 24 год підраховували кількість колоній на чашці Петрі, враховуючи, що одна така колонія відповідає одній бактерії. Враховували розведення зразка та його масу, та представляли результати у вигляді десяткового логарифма кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) на 1г зразка.

Усі отримані результати опрацьовували статистично. Числові дані представляли у вигляді середнього арифметичного значення та стандартної похибки ($M \pm m$). Нульову гіпотезу для груп порівняння перевіряли за допомогою непараметричних критеріїв Вілкоксона-Ман-Уїтні (U) та Колмогорова-Смірнова. Відмінності між групами вважали статистично значимими при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати мікробіологічних досліджень показали, що спектр мікроорганізмів, якими були контаміновані *Artemia* spp. (контроль), виявився різноманітним і був

представлений умовно-патогенними для риб представниками родів *Pseudomonas* spp. і *Enterobacteriaceae* spp., а також *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. (табл. 1).

При цьому варто зазначити, що представників роду *Bifidobacterium* spp. ідентифіковано не було. Натомість у великій кількості висівались мікроскопічні гриби, зокрема *Candida* spp.

Встановлено, що під впливом *L. casei* IMB B-7280, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMB B-7281 та *L. acidophilus* IMB B-7279 спектр мікроорганізмів, які висівали із *Artemia* spp., кількісно і якісно змінювався залежно від штаму лактобацил і тривалості їх насичення цими пробіотичними культурами (табл. 1). Зауважимо, що кількість лактобацил в *Artemia* spp. збільшувалась після насичення усіма трьома досліджуваними штамми (окремо) як через 6, так і 12 год порівняно з показниками в контролі. Однак, найменша кількість лактобацил була в *Artemia* spp., яку насичували штамом *L. acidophilus* IMB B-7279.

В *Artemia* spp., яку насичували штамом *L. casei* IMB B-7280 протягом 12 год, кількість аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів, у тому числі коліморфних бактерій, представників родів *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. і мікроскопічних грибів була значно меншою, ніж у контролі (табл. 1). Водночас, насичення *Artemia* spp. цим штамом молочнокислих бактерій протягом 6 год виявилось недостатнім для забезпечення ефекту зменшення кількості аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів, у тому числі коліморфних бактерій та представників родів *Pseudomonas* spp. і *Streptococcus* spp. Зауважимо, що під впливом *L. casei* IMB B-7280 представники роду *Candida* spp. елімінувались із *Artemia* spp. повністю незалежно від тривалості насичення кормових організмів зазначеним штамом лактобацил.

Насичення *Artemia* spp. штамом *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMB B-7281 протягом 6 год також не впливало на кількість аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів, у тому числі представників родів *Staphylococcus* spp. і *Streptococcus* spp., але кількість коліморфних бактерій, мікроскопічних грибів, у тому числі *Candida* spp. зменшувалась порівняно з контролем (табл. 1). Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми, мікроскопічні гриби і коліморфні бактерій висівались у меншій кількості, ніж у контролі лише через 12 год насичення *Artemia* spp. зазначеним штамом лактобактерій. Однак, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMB B-7281 не впливав на кількість

Pseudomonas spp. в *Artemia* spp. як через 6, так і через 12 год насичення. В *Artemia* spp., яку насичували штамом *L. acidophilus* IMB B-7279 протягом 6 год, кількість *Pseudomonas* spp. і *Streptococcus* spp. зменшувалась, але кількість аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів, у тому числі коліморфних бактерій і представників родів *Staphylococcus* spp., а також *Candida* spp. та інших мікроскопічних грибів не змінювалась порівняно з контролем (табл. 1). Насичення *Artemia* spp. даним штамом протягом 12 год призводило до зменшення кількості аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів, у тому числі представників родів *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. і *Streptococcus* spp. Однак, кількість коліморфних бактерій та інших мікроскопічних грибів, у тому числі *Candida* spp., в *Artemia* spp. зберігалась на рівні показників контролю, імовірно внаслідок високої здатності штаму *L. acidophilus* IMB B-7279 продукувати молочну кислоту, що створює умови, сприятливі для росту цих мікроорганізмів.

Отримані дані свідчать, що зменшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів на тлі збільшення кількості молочнокислих бактерій в *Artemia* spp. було більш ефективним після її насичення штамми *L. casei* IMB B-7280, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMB B-7281 та *L. acidophilus* IMB B-7279 протягом 12 год, ніж протягом 6 год. Однак зміна якісного та кількісного складу мікроорганізмів, які висівались із *Artemia* spp., була виразнішою після її насичення штамом *L. casei* IMB B-7280, ніж штамми *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMB B-7281 та *L. acidophilus* IMB B-7279 (окремо). Окрім того, одночасне зменшення кількості умовно-патогенних для риб представників родів *Pseudomonas* spp. і *Enterobacteriaceae* spp. відбувалось лише в *Artemia* spp., яку насичували штамом *L. casei* IMB B-7280 (протягом 12 год).

Аналіз динаміки відносної смертності науплій артемії засвідчив станом на 6 годину підвищення значень даного показника порівняно з контролем при використанні усіх досліджуваних штамів. Натомість, після 12 годин тривалості експерименту найвищою була смертність в контрольній групі науплій (рис. 1). Відомо, що личинки артемії протягом перших 6-8 годин після вилуплення з цист живляться виключно ендогенно (Figueiredo et al., 2009). Відповідно, внесення суспензії мікроорганізмів одразу після вилуплення науплій з цист призводить до колонізації бактеріями не травного тракту, а покривів та зябер артемії, що може погіршувати газообмін.

Таблиця 1.
Зміна спектру аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів артемії, насиченій пробіотичними штамами молочнокислих бактерій
Table 1.
Changes in spectrum of aerobic and facultative anaerobic microorganisms in *Artemia nauplii* saturated with probiotics

Група	Поживні середовища / Кількість мікроорганізмів (Lg КУО/г), (M ± m)							
	MPA	BAIRD-PARKER-Agar	KF-Streptococcus agar	MRSA	ENDO	Sabouraud agar	Candida medium	Pseudomonas agar
<i>Artemia</i> spp., контроль	6,25±0,18	3,62±0,07	4,86±0,10	1,06±0,03	4,17±0,16	3,87±0,10	1,92±0,04	4,55±0,15
<i>Artemia</i> spp. з <i>L. casei</i> IMB B-7280, 6 год насичення	6,17±0,12	2,14±0,07*	4,57±0,16	5,68±0,16*	3,87±0,09	2,17±0,10*	0	4,37±0,12
<i>Artemia</i> spp. з <i>L. casei</i> IMB B-7280, 12 год насичення	4,05±0,07*	1,62±0,03*	3,80±0,07*	6,14±0,22*	2,92±0,11*	1,90±0,05*	0	2,14±0,09*
<i>Artemia</i> spp. з <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> IMB B-7281, 6 год насичення	5,92±0,14	3,28±0,11	4,81±0,21	6,48±0,11*	2,48±0,07*	2,55±0,08*	1,15±0,03*	4,40±0,16
<i>Artemia</i> spp. з <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> IMB B-7281, 12 год насичення	5,02±0,09*	3,17±0,09*	4,14±0,13*	6,97±0,14*	1,63±0,02*	1,72±0,07*	0	4,21±0,15
<i>Artemia</i> spp. з <i>L. acidophilus</i> IMB B-7279, 6 год насичення	6,21±0,14	3,57±0,06	3,18±0,08*	2,91±0,09*	4,10±0,12	3,48±0,14	1,77±0,05	3,10±0,04*
<i>Artemia</i> spp. з <i>L. acidophilus</i> IMB B-7279, 12 год насичення	5,77±0,16*	2,80±0,03*	2,61±0,06*	3,77±0,16*	3,82±0,14	3,59±0,12	2,16±0,08	2,12±0,07*

* – P < 0,05 порівняно з показниками в контролі

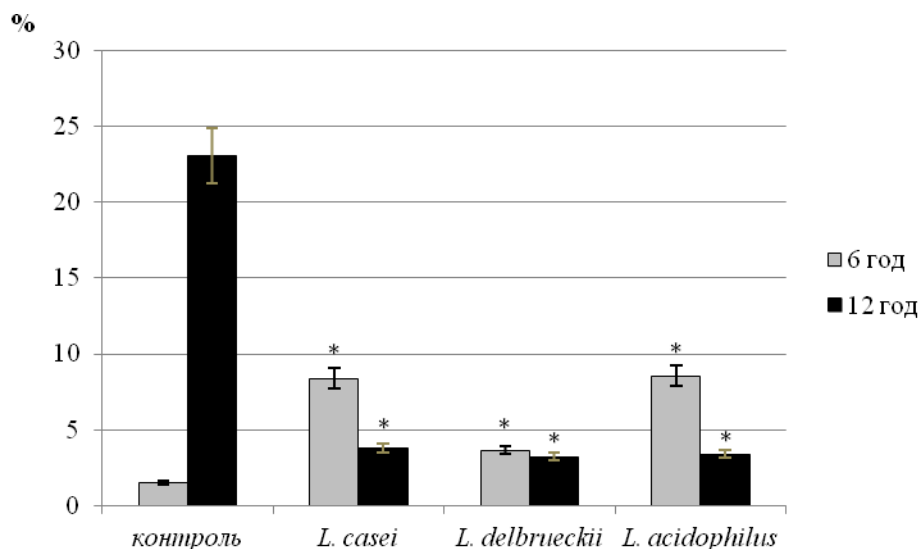


Рис. 1. Динаміка відносної смертності науплій *Artemia* spp. в процесі біоінкапсуляції пробіотичних штампів лактобактерій

Fig. 1. *Artemia* nauplii relative mortality dynamics in the process of bioencapsulation with LAB probiotic strains

Початок процесу фільтрації забезпечує ефективне поглинання мікроорганізмів із середовища і концентрування їх у травному тракті науплій. Очевидно, зменшення відносної смертності артемії, яким вносили в середовище пробіотичні мікроорганізми пов'язане як з пригніченням розвитку небажаної мікрофлори, так і з тим, що внесені культури служать також кормовим субстратом для науплій, які переходять на екзогенне живлення з 6-8 години після вилуплення з цист.

Отже, використання лактобактерій в технології інкапсуляції *Artemia* spp. призводить до пригнічення розвитку у кормових організмів потенційно небезпечної для личинок риб мікрофлори. Для забезпечення найбільш вираженого ефекту від використання пробіотиків варто проводити насичення протягом 12 годин. Найдоцільніше використовувати штамп *L. casei* ІМВ В-7280, адже він забезпечує найвиразнішу зміну мікробіологічного профілю, зменшуючи кількість умовно-патогенних мікроорганізмів, та повністю елімінуючи представників *Candida* spp. Невисокий рівень смертності науплій при використанні даного пробіотику свідчить про його безпечність при насиченні живих кормів.

Список літератури:

1. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. Москва: «Наука», 1990. – 224 с.
2. Литвиненко Л.И., Гуженко М.В. Определение оптимальных параметров инкубации цист артемии сибирских популяций. *Рыбное хозяйство*. 2007; 2: 90–94.

3. Brown D.F., Perry S.F. Methods used in the United Kingdom for the culture of micro-organisms from blood. *Journal of Clinical Pathology*. 1992; 45: 468-474. doi: 10.1136/jcp.45.6.468
4. El-Saadony MT, Alagawany M, Patra AK, et al. The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish Shellfish Immunol*. 2021;117:36-52. doi:10.1016/j.fsi.2021.07.007
5. Figueiredo J, van Woesik R, Lin J, Narciso L. *Artemia* franciscana enrichment model — How to keep them small, rich and alive? *Aquaculture*. 2009;294(3-4):212-220. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.05.007
6. Zhang Z, Lv J, Pan L, Zhang Y. Roles and applications of probiotic *Lactobacillus* strains. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018;102(19):8135-8143. doi:10.1007/s00253-018-9217-9
7. Sharma P, C. Sihag R, Gahlawat SK. Relative Efficacy of Two Probiotics in Controlling the Epizootic Ulcerative Syndrome Disease in Mrigal (*Cirrhinus mrigala* Ham.). *J Fish Aquat Sci*. 2013;8(2):305-322. doi:10.3923/jfas.2013.305.322
8. Ihsana BI, Jahangir A, Karthikeyan R. Probiotics in Brackish Water Fish Farming: A Special Focus on Encapsulated Probiotics. *Biointerface Res Appl Chem*. 2021;11(6):14697-14708. doi:10.33263/BRIAC116.1469714708
9. Dhont J, Dierckens K, Støttrup J, Van Stappen G, Wille M, Sorgeloos P. Rotifers, *Artemia* and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. In: *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*. Woodhead Publishing Limited; 2013:157-202. doi:10.1533/9780857097460.1.157
10. Dawood M. A. O., Koshio S., Abdel-Daim M. M. et al. Probiotic application for sustainable aquaculture.

Reviews in Aquaculture. 2019; 11(3): 907–924. doi:10.1111/raq.12272

11. Qin C., Xie Y., Wang Y. et al. Impact of *Lactobacillus casei* BL23 on the host transcriptome, growth and disease resistance in larval zebrafish. *Frontiers in Physiology*. 2018; 9: 1245 doi:10.3389/fphys.2018.01245

References

12. Lebedev K.A., Poniakina I.D. *Immunogram in clinical practice*. Moscow: «Nauka», 1990.
13. Litvinenko L.I., Guzhenko M.V. Definition of optimal parameters for hatching of Siberian Artemia cysts. *Rybnoye Khoziaystvo*. 2007; 2: 90–94.
14. Brown D.F., Perry S.F. Methods used in the United Kingdom for the culture of micro-organisms from blood. *Journal of Clinical Pathology*. 1992; 45: 468–474. doi: 10.1136/jcp.45.6.468
15. El-Saadony M.T., Alagawany M., Patra A.K., et al. The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish Shellfish Immunol*. 2021;117:36-52. doi:10.1016/j.fsi.2021.07.007
16. Figueiredo J., van Woesik R., Lin J., Narciso L. Artemia franciscana enrichment model — How to keep them small, rich and alive? *Aquaculture*. 2009;294(3-4):212-220. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.05.007
17. Zhang Z, Lv J, Pan L, Zhang Y. Roles and applications of probiotic *Lactobacillus* strains. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018; 102 (19): 8135-8143. doi:10.1007/s00253-018-9217-9

18. Sharma P, Sihag R.C., Gahlawat S.K. Relative Efficacy of Two Probiotics in Controlling the Epizootic Ulcerative Syndrome Disease in Mrigal (*Cirrhinus mrigala* Ham.). *J Fish Aquat Sci*. 2013;8(2):305-322. doi:10.3923/jfas.2013.305.322

19. Ihsana BI, Jahangir A, Karthikeyan R. Probiotics in Brackish Water Fish Farming: A Special Focus on Encapsulated Probiotics. *Biointerface Res Appl Chem*. 2021;11(6):14697-14708. doi:10.33263/BRIAC116.1469714708

20. Dhont J, Dierckens K, Støttrup J, Van Stappen G, Wille M, Sorgeloos P. Rotifers, Artemia and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. In: *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*. Woodhead Publishing Limited; 2013:157-202. doi:10.1533/9780857097460.1.157

21. Dawood M. A. O., Koshio S., Abdel-Daim M. M. et al. Probiotic application for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. 2019; 11(3): 907–924. doi:10.1111/raq.12272

Qin C., Xie Y., Wang Y. et al. Impact of *Lactobacillus casei* BL23 on the host transcriptome, growth and disease resistance in larval zebrafish. *Frontiers in Physiology*. 2018; 9: 1245 doi:10.3389/fphys.2018.01245

EFFECT OF LACTOBACILLUS PROBIOTIC STRAINS ON MICROBIOLOGICAL SPECTRUM OF ARTEMIA NAUPLII

O. Khudyi, L. Lazarenko, O. Karucheru, L. Babenko, L. Khuda, Yu. Dzhuravets, M. Spivak

*This study investigated the possibility of bioencapsulation of three probiotic strains of lactic acid bacteria *Lactobacillus casei* IMB B-7280, *L. acidophilus* IMB B-7279 and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IMB B-7281 into Artemia nauplii and the influence of bioencapsulation duration on live feed microbiota and mortality. Examined LAB strains colonize Artemia nauplii differently. The highest rate of colonization was observed after applying *L. delbrueckii*, the lowest - *L. acidophilus*. Results of microbiological study showed that intact nauplii of control groups were contaminated by fish pathogens such as *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. and microscopical fungi *Candida* spp.. The results of the study determined that all three probiotic strains positively affected nauplii microbiological spectrum. In particular, application of *L. casei* and *L. delbrueckii* decreased the amount of all bacteria determined for control groups, *Candida* spp. were eliminated. *L. casei* had that effect regardless of procedure duration. Application of *L. acidophilus* led to *Staphylococcus* spp. and *Pseudomonas* spp. suppression on 12th hour of enrichment. Despite the fact that *L. delbrueckii* colonizes nauplii more effectively, *L. casei* suppresses pathogens more effectively. Artemia enrichment with all three strains of LAB allows to reduce the mortality rate 5 times within 12 hours of exposure. This effect may be beneficial for supporting viability of fed organisms in automatic feeders during fingerlings rearing.*

Keywords: Artemia, probiotics, bioencapsulation, mortality, microflora

Отримано редколегією 12.10.2021