

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛІСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет ветеринарної медицини та тваринництва

Кафедра біоресурсів, тваринництва та аквакультури

**Кваліфікаційна робота
на правах рукопису**

МОТОЛИГА РУСЛАН ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 579.61:574.3(477.4):597.552.3

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**БІОЛОГІЧНЕ РІЗНОМАНІТТЯ МІКРОБІОТИ ЛУСКИ ПОПУЛЯЦІЇ
КÓРОПА ЗВИЧАЙНОГО (*CYPRINUS CARPIO*) В УМОВАХ ЛІСОСТЕПУ**

207 «Водні біоресурси та аквакультура»

Подається на здобуття освітнього ступеня бакалавр

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання
ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Руслан МОТОЛИГА

Керівник роботи:
Тетяна РОМАНИШИНА,
кандидат ветеринарних наук, доцент

Житомир – 2025

АНОТАЦІЯ

Мотолига Р. В. БІОЛОГІЧНЕ РІЗНОМАНІТТЯ МІКРОБІОТИ ЛУСКИ ПОПУЛЯЦІЇ КÓРОПА ЗВИЧАЙНОГО (*CYPRINUS CARPIO*) В УМОВАХ ЛІСОСТЕПУ. – Кваліфікаційна робота на правах рукопису.

Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня бакалавр (магістр) за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура». – Поліський національний університет, Житомир, 2025 рік.

У результаті проведених досліджень встановлено, що існує тісний взаємозв'язок між біологічним різноманіттям луски коропа та періодом року, що формується під впливом температурних та сезонних змін. Використання селективних середовищ, таких як ВСА, середовище ЕНДО та агар МакКонкі, значно підвищує інформативність мікробіологічного аналізу та дозволяє більш точно ідентифікувати санітарно-значущі бактерії. Результати досліджень на агарі МакКонкі вказують на присутність лактозопозитивних ентеробактерій у більшій кількості навесні, що може бути маркером підвищеного бактеріального забруднення водойм. Аналіз культур, вирощених на середовищі Чапека підтвердив значне зростання грибкової мікрофлори у весняний період, що може бути наслідком зміни екологічних факторів або накопичення органічних решток у воді. Збільшення бактеріального навантаження у весняний період відіграє ключову роль у модифікації умовно-патогенної складової мікробіому луски коропа, що є потенційним ризиком для виникнення інфекційних захворювань риби, і відповідно потребує посилення заходів контролю та санітарної обробки риби перед реалізацією.

Ключові слова: луска коропа, мікробіом, мікробне обсіменіння, поживне середовище.

ANNOTATION

Motolyga R. V. BIOLOGICAL DIVERSITY OF THE MICROBIOTA OF THE LUSKA POPULATION OF COMMON CARP (CYPRINUS CARPIO) IN FOREST-STEP CONDITIONS. – Qualification paper manuscript copyrights.

Qualification paper for a Master's degree, speciality 204 – Technology of Producing and Processing Livestock Products. – Polissia National University, 2025.

As a result of the conducted researches, it was found that there is a close relationship between the biological diversity of carp scales and the period of the year, which is formed under the influence of temperature and seasonal changes. The use of selective media, such as BCA, ENDO medium and MacConkey agar, significantly increases the informativeness of microbiological analysis and allows for more accurate identification of sanitary-significant bacteria. The results of studies on MacConkey agar indicate the presence of lactose-positive enterobacteria in greater numbers in the spring, which may be a marker of increased bacterial pollution of water bodies. Analysis of cultures grown on Chapek medium confirmed a significant increase in fungal microflora in the spring, which may be a consequence of changes in environmental factors or the accumulation of organic residues in the water. The increase in bacterial load in the spring period plays a key role in modifying the opportunistic pathogenic component of the carp scale microbiome, which is a potential risk for the occurrence of infectious fish diseases, and accordingly requires increased control measures and sanitary treatment of fish before sale.

Key words: carp scales, microbiome. microbial inoculation, nutrient medium.

Зміст

Анотація.....	3
Вступ.....	6
Розділ 1. Огляд літератури.....	9
1.1. Мікробіота водних систем – ареалів існування популяцій <i>Cyprinus carpio</i>	9
1.2. Склад мікрофлори короїв у полікультурних ставах	10
1.3. Мікробний пейзаж організму короїв риб.....	11
1.3.1. Мікрофлора травного тракту короїв риб: склад та функції.....	11
1.3.2. Мікрофлора дихальної системи короїв риб.....	12
1.3.3. Мікробний пейзаж шкіри корої звичайного.....	14
Розділ 2. Матеріал, методика, місце та умови проведення досліджень.....	16
Розділ 3. Результати дослідження.....	22
3.1. Особливості формування мікробного пейзажу луски корої <i>Cyprinus carpio</i>	22
3.2. Зміни кількісних показників мікробної складової луски корої за різних періодів року.....	23
3.3. Оцінка якісних показників мікрофлори луски корої та доцільність застосування елективних середовищ.....	29
Висновки та пропозиції.....	37
Список використаної літератури.....	39
Додатки.....	44

Вступ

Біологічне різноманіття мікроорганізмів відіграє ключову роль у підтримці екологічної рівноваги водних екосистем. Одним із важливих біотопів для мікробних угруповань є поверхня тіла риб, зокрема їхня луска, яка виступає природним бар'єром між організмом і навколишнім середовищем. Дослідження мікробіоти луски риб має велике значення як для фундаментальної мікробіології, так і для практичної іхтіопатології, оскільки мікроорганізми можуть відігравати як симбіотичну, так і патогенну роль.

Короп звичайний (*Cyprinus carpio*) є одним із найпоширеніших представників прісноводної іхтіофауни та важливим об'єктом аквакультури. В умовах Лісостепу України його вирощування є перспективним завдяки сприятливим кліматичним умовам та розвиненій системі ставового господарства. Проте, біологічне різноманіття мікробіоти, що заселяє поверхню луски цієї риби в різні періоди року, залишається недостатньо вивченим. Мікроорганізми, що колонізують поверхню тіла коропа, можуть суттєво впливати на фізіологічний стан риби, її стійкість до захворювань і продуктивність в аквакультурі.

Актуальність дослідження обумовлена необхідністю поглибленого аналізу мікробіоти луски коропа в різні пори року для оцінки її видового складу, функціональної ролі та можливого впливу на здоров'я риби. Отримані результати матимуть важливе практичне значення для підвищення рівня біологічної безпеки у рибних господарствах, оскільки дозволять детальніше зрозуміти взаємозв'язок між складом мікробіоти луски коропа та розвитком потенційно небезпечних інфекцій. Визначення спектра мікроорганізмів, що колонізують поверхню риби, сприятиме ранньому виявленню патогенних агентів, що, у свою чергу, дасть змогу своєчасно запроваджувати ефективні превентивні заходи.

Мета дослідження – оцінити біологічне різноманіття мікробіоти луски популяції коропа звичайного в умовах Лісостепу у зимовий і весняний періоди, та визначити її потенційний вплив на життєдіяльність риби.

Завдання дослідження включають:

освоєння методи культивування мікроорганізмів – представників мікрофлори коропа звичайного (*Cyprinus carpio*) на різних поживних середовищах;

виявлення основних видів мікроорганізмів, що колонізують поверхню риби;
аналіз мікробного складу луски коропа в різні пори року в умовах Лісостепу;
оцінка можливих патогенних ризиків, пов'язаних із мікробіотою луски;
визначення впливу факторів довкілля на склад мікробного угруповання.

Предмет дослідження – культуральні та видові особливості мікробіоти луски популяції коропа звичайного (*Cyprinus carpio*) залежно від сезону вилову (зима, весна).

Об'єкт дослідження – мікроорганізми різних родів та морфологічних груп, наявні на лусці коропа звичайного (*Cyprinus carpio*), виловленого в зимовий та весняний періоди у водоймах Лісостепу.

Дослідженню підлягали змиви з луски коропа звичайного, відібрані від риб, виловлених у зимовий та весняний періоди у ставку розташованому у Чуднівській громаді Житомирської області. Мікробіологічні дослідження змивів проводили на кафедрі ветеринарної епідеміології факультету ветеринарної медицини та тваринництва.

Публікації:

Вплив природних і антропогенних факторів на популяції карася та коропа в умовах лісостепу: екологічні виклики та інноваційні підходи до збереження біорізноманіття / Т.О. Романишина, А. Р. Лахман, Ю. М. Мамчур, Р. В. Мотолига. Towards a Holistic Understanding: Interdisciplinary Approaches to Tackle Global Challenges and Promotion of Innovative Solutions : тези доп. II Міжн. наук. -практ. інтернет-конф., 13-14 березня 2025 р. Дніпро, С. 172–174.

Мотолига Р. В. Вивчення морфометричних показників *CYPRINUS CARPIO*. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: науково-теоретичний збірник. Житомир: Поліський національний університет, 2025. Вип. 19. С. (Науковий керівник – доцент Романишина Т. О.).

Таким чином, результати дослідження сприятимуть поглибленому вивченню мікробіоти луски коропа у зимовий та весняний періоди року, відповідно за різних температурних режимів існування, що є важливим для створення стійких і екологічно безпечних технологій у рибництві. Одержані дані можуть бути використані для вдосконалення програм контролю мікробного забруднення у водоймах, що використовуються для вирощування коропа, а також для розробки екологічно безпечних методів профілактики інфекційних хвороб. Крім того, результати дослідження сприятимуть оптимізації підходів до застосування пробіотичних та антимікробних засобів у рибництві, що допоможе зменшити рівень захворюваності риби та підвищити ефективність ведення аквакультури.

Дипломна робота викладена на 43 сторінках, включає в себе 1 таблицю, 9 рисунків, 5 додатків та містить 62 посилання на українські та закордонні джерела, і також на електронні ресурси.

Розділ 1. Огляд літератури

1.1. Мікробіота водних систем – ареалів існування популяцій *Cyprinus carpio*

Мікроорганізми відіграють важливу роль в екосистемах ставків та річок, впливаючи на біологічні процеси, які визначають продуктивність рибогосподарських об'єктів [50, 53]. У ставкових господарствах, де вирощується короп звичайний (*Cyprinus carpio*), основними факторами, що регулюють мікробний пейзаж, є доступність поживних речовин та наявність інших живих організмів [50, 52].

Одним із головних джерел органічної речовини у водоймах є добрива та гній, які збагачують середовище розчиненими та твердими субстратами для мікроорганізмів. У свою чергу, бактерії, що прикріплюються до частинок органічної речовини, стають поживною базою для мікроорганізмів у товщі води [51]. Крім того, на бактеріальні популяції впливають численні мікропаразити та хижаки, такі як віруси [33], нанофлагеляти [27], інфузорії [21], наупліуси [23, 52], ротаторії [8] та деякі види кладоцер, наприклад дафнії [11]. Внаслідок цього бактеріальні угруповання (змішані мікробні культури) у різних полікультурних системах існування коропа можуть суттєво відрізнятися [55,59].

1.2. Склад мікрофлори коропів у полікультурних ставках

Зазвичай у природних та штучних водних екосистемах мешкають різні види риб. У господарствах, де розводять білих товстолобиків, домінуючими бактеріальними групами є *Actinobacteria*, *Flavobacterium*, *Cyanobacteria*, *Limnohabitans* та рідкісні представники, такі як *Alcaligenaceae* та MNG7 [13]. В умовах прісноводних екосистем, зокрема в полікультурі коропа, представники *Actinobacteria* можуть виконувати роль пробіотиків та відігравати важливу функцію у переробці органічної речовини [26, 28].

Водночас бактерії роду *Flavobacterium* можуть асоціюватися із захворюваннями риб [31]. Ці мікроорганізми часто розмножуються після припинення цвітіння ціанобактерій у осінній періоді [2]. Самі ж ціанобактерії

відіграють важливу роль у кругообігу поживних речовин, фіксуючи атмосферний азот та продукуючи розчинні органічні речовини, які слугують джерелом живлення для гетеротрофних бактерій [41].

Мікроорганізми роду *Limnohabitans* відіграють ключову роль у перенесенні вуглецю від первинних продуцентів до вищих трофічних рівнів, тоді як представники «рідкісної біосфери» можуть відігравати суттєву екологічну роль у стабілізації бактеріальних популяцій [57].

Один із ключових процесів, у якому задіяні мікроорганізми, – це азотний обмін у водоймах. Завдяки процесам нітрифікації та денітрифікації бактерії сприяють регуляції рівня азоту у водному середовищі. Наприклад, представники родів *Nitrosomonas* і *Nitrobacter* окиснюють іони амонію ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) до нітритів ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) та нітратів ($\text{NO}_3^-\text{-N}$), які потім можуть бути використані водоростями, бактеріями та іншими гідробіонтами як джерело поживних речовин. Це сприяє біологічному очищенню води та стабілізації екологічного стану у водоймах, що використовується для розведення коропа [56,60].

Таким чином, мікробні спільноти в ареалах існування коропа відіграють важливу роль у переробці органічної речовини, кругообігу поживних елементів та підтримці біологічної рівноваги [61]. Дослідження складу мікробіоти, та функціональних властивостей у різні періоди року має важливе значення для оптимізації рибогосподарських технологій, зменшення ризиків бактеріальних захворювань та підвищення екологічної стійкості аквакультурних систем.

1.3. Мікробний пейзаж організму корошових риб

1.3.1. Мікрофлора травного тракту корошових риб: склад та функції

Бактерії, що населяють травний тракт риб, відіграють важливу роль у підтриманні нормального функціонування кишечника, включаючи розщеплення складних молекул, синтез вторинних метаболітів та захист від патогенних мікроорганізмів [1, 30, 38]. Дослідження мікробного складу кишечника риб є необхідним для підтримки їхнього здоров'я та управління інфекційними ризиками. Однак наявні дані про бактерії та патогени є неоднозначними, оскільки певні бактеріальні таксони зустрічаються як у здорових, так і в хворих риб. З метою прогнозування спалахів захворювань та запровадження профілактичних заходів необхідно проводити комплексний аналіз бактеріального навантаження та складу мікрофлори внутрішніх органів здорових риб [1].

Існує низка досліджень щодо складу бактеріальної флори кишечника, зябер і шкіри корошових риб у полікультурних системах. Раніше мікробне різноманіття кишечника корошових досліджували переважно за допомогою класичних методів культивування [3,58]. Проте останні досягнення в технологіях секвенування, обчислювальних потужностях, біоінформатиці та статистичних методах значно спростили вивчення мікробного різноманіття в риб (Foysal et al., 2019a). На сьогоднішній день кишечник є одним із найбільш досліджуваних органів у мікробній екології завдяки високопродуктивному секвенуванню [7,46]. Mukherjee et al. (2020) зазначили, що основними бактеріальними типами кишечника трьох видів індійських корошів є *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* та *Bacteroidetes*, які відіграють важливу роль у підтриманні функцій кишечника [4, 24]. До найпоширеніших бактеріальних родів, виявлених у кишечнику здорового коропа та білого амура, відносяться *Bacteroides*, *Cetobacterium*, *Citrobacter*, *Vibrio*, *Fusobacterium* і *Coprococcus* [20]. Бактерії кишечника цих родів можуть бути перспективним джерелом пробіотиків завдяки

наявності *Proteobacteria* та *Firmicutes* [9, 48], що потребує подальших досліджень у контексті використання пробіотичних штамів для корошових риб.

Uddin and Al-Harbi (2012) виявили, що в кишечнику звичайного коропа у великій кількості присутні *A. hydrophila*, *C. urealyticum*, *S. putrefaciens*, *V. cholerae* та *V. vulnificus*, які є умовно-патогенними мікроорганізмами [3]. Подібні результати отримали Mahmoud et al. (2004), які встановили, що основними бактеріями в кишечнику звичайного коропа є представники родин *Vibrionaceae*, *Enterobacteriaceae* та *Flavobacterium*. Відомо, що різні відділи шлунково-кишкового тракту мають відмінний мікробіом [19], а також що генотип господаря впливає на склад його кишкової мікробіоти [36]. Ці аспекти потребують подальшого вивчення.

У системах корошового різні види корошових, що мешкають в одному ставку та споживають однаковий природний корм, можуть мати відмінну кишкову мікробіоту [13]. Це може бути зумовлено особливостями господаря, такими як генетика, гістологія та фізіологія кишечника [1]. Крім того, склад кишкової мікрофлори формується під впливом селекційного тиску в мікроекологічному середовищі кишечника виду-господаря, що займає певну екологічну нішу.

Mukherjee et al. (2020) за допомогою секвенування часткового гена 16S рРНК досліджували функціональну роль кишкової мікробіоти в травленні корошових [18]. Було встановлено, що *Bacteroidetes* і *Actinobacteria* у великій кількості виявляються у мригала та роху, тоді як *Proteobacteria* переважають у катли. Присутність *Bacteroidetes* і *Actinobacteria* може бути пов'язана з наявністю складних полісахаридів у раціоні цих риб, оскільки вони споживають фітопланктон, додаткові корми або рослинний детрит [17]. Натомість *Proteobacteria* в кишечнику катли беруть участь у ферментативному розщепленні пептидів, метаболізмі вуглеводів і синтезі вітаміну В12 [29], що відповідає її харчовим уподобанням, зокрема споживанню зоопланктону та всеїдному живленню. Проте функції багатьох бактерій у травленні та імунному захисті залишаються нез'ясованими та потребують подальших досліджень.

Загалом кишечник риб є резервуаром для різних умовно-патогенних мікроорганізмів [1]. Наприклад, у кишечнику білого амура та карася, що утримуються в полікультурі, домінують бактерії роду *Aeromonas* [1,25], тоді як у кишечнику індійських коропів виявлені *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Plesiomonas* і *Enterobacter* [7]. *Aeromonas* і *Klebsiella* є причетними до виникнення умовно-патогенних інфекцій у тропічних прісноводних риб [5,25]. Крім того, у полікультурних системах Бангладеш *Serratia* була виявлена у дистальному відділі кишечника роху як умовно-патогенний мікроорганізм, однак її роль у колонізації шлунково-кишкового тракту, а також її вплив на травлення та імунітет залишаються маловивченими [21].

1.3.2. Мікрофлора дихальної системи коропових риб

Мікробіота зябер коропа звичайного є важливим компонентом його фізіологічного стану та адаптаційних механізмів у змінних умовах навколишнього середовища. У порівнянні з мікрофлорою кишечника, бактеріальне населення зябер вивчене недостатньо. Застосовуючи методи традиційного культивування та мікроскопічного підрахунку, було встановлено, що кількісний та якісний склад мікрофлори зябер відрізняється залежно від складу водного середовища, температурних умов і фізіологічного стану риби [5]. Дослідження, проведене Uddin і Al-Harbi (2012), показало, що основними бактеріями, які колонізують зябра коропа, є *Aeromonas hydrophila*, *Shewanella putrefaciens* і *Vibrio cholerae*. Ці мікроорганізми є умовно-патогенними, а їхня присутність у нормі може не викликати захворювань, однак за певних умов, таких як зниження імунного статусу риби чи погіршення якості води, вони можуть спричиняти інфекційні ураження [5,25].

Альтернативні дослідження показали, що аеробні гетеротрофні бактерії заселяють зябра у більшій кількості, ніж їх наявність у воді, проте в меншій кількості, ніж у кишечнику [3,47]. Дослідники відзначають, що зябра є вразливою поверхнею для адгезії та розмноження бактерій, а їхній склад змінюється під впливом температурних коливань. У теплих водах загальна

бактеріальна маса на зябрах зростає через активніші обмінні процеси та підвищений рівень кормоспоживання коропа. В умовах високої температури частіше реєструються патогенні мікроорганізми, такі як *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus spp.* та *Aeromonas spp.*, що може свідчити про підвищений ризик розвитку інфекційних уражень у риби [14-16].

1.3.3. Мікробний пейзаж шкіри коропа звичайного

Шкірний покрив коропа виконує не лише захисну функцію, але й є місцем колонізації численних мікроорганізмів, що формують його мікробіоту. Основними факторами, що впливають на склад бактеріальної флори шкіри, є температура води, наявність органічних речовин, кисневий режим та імунний статус риби [44]. Дослідження показали, що в нормальних умовах на поверхні шкіри коропа можуть домінувати такі морфологічні групи мікроорганізмів: коки (*Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*), паличкоподібні бактерії (*Pseudomonas spp.*, *Aeromonas spp.*), а також паличкоподібні бактерії та дріжджоподібні мікроорганізми [6,22].

Температура навколишнього середовища суттєво впливає на склад мікрофлори шкіри [39, 40-43]. У холодній воді (<10°C) на шкірі коропа частіше зустрічаються психрофільні бактерії, зокрема представники роду *Pseudomonas*, які можуть бути як комменсалами, так і патогенами. У помірно теплій воді (10-20°C) переважають факультативно-анаеробні бактерії, серед яких *Aeromonas* та *Flavobacterium spp.* [32,34] Високі температури води (>25°C) сприяють активному росту *Vibrio spp.*, що може бути причиною спалахів бактеріальних захворювань у риб [35,37].

Заключення з огляду літератури.

Аналіз сучасної літератури свідчить, що мікрофлора луски коропа (*Cyprinus carpio*) зазнає суттєвих сезонних коливань, що пов'язано з фізіологічними змінами риби, температурними факторами та екологічними умовами водного середовища. У літні місяці спостерігається активне зростання популяцій

мезофільних бактерій, серед яких домінують представники родів *Pseudomonas*, *Aeromonas* та *Flavobacterium*. Водночас, у зимовий період мікробіота характеризується переважанням психрофільних мікроорганізмів, які мають адаптивні механізми до низьких температур [6,50,60].

Вплив пори року на структуру мікробного пейзажу луски коропа також проявляється у зміні співвідношення патогенних і сапрофітних бактерій. У весняно-осінній період, коли відбувається зміна температурного режиму, зростає ризик бактеріальних інфекцій, спричинених *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio spp.* та іншими опортуністичними патогенами. Це пов'язано зі зниженням імунної резистентності риби та підвищенням концентрації органічних речовин у водоймах, що сприяє розмноженню мікроорганізмів [1,5,25].

Дослідження різних науковців підтверджують вплив абіотичних факторів, таких як рівень розчиненого кисню, концентрація біогенних елементів та рівень забруднення, на видовий склад мікрофлори. В умовах антропогенного навантаження спостерігається підвищена чисельність ентеробактерій та інших представників факультативно-анаеробної мікрофлори, що може мати негативні наслідки для здоров'я риби та якості води у водоймах [42,43,50].

Таким чином, сезонна динаміка мікрофлори луски коропа є комплексним процесом, що залежить від внутрішніх (фізіологічний стан, імунний статус) та зовнішніх (температура води, хімічний склад середовища, наявність патогенів) факторів [21,24,25]. Подальші дослідження повинні бути спрямовані на детальне вивчення механізмів взаємодії між рибою та мікробіотою у різні пори року, що дозволить оптимізувати заходи щодо профілактики інфекційних захворювань у аквакультурі.

Розділ 2. Матеріал, методика, місце та умови проведення досліджень

Матеріалом для роботи були коропи звичайні (*Cyprinus carpio*), виловлені рибалками в одному з ставків Чуднівської громади Житомирської області у лютому та березні 2025 року.

Звичайний короп (*Cyprinus carpio*) посідає одне з провідних місць серед прісноводних риб, що вирощуються в умовах світової аквакультури та промислового рибництва. Його висока екологічна пластичність та здатність до адаптації в різноманітних середовищах зумовлюють значну наукову та практичну зацікавленість у вивченні цього виду. Завдяки цим особливостям короп є об'єктом численних досліджень у галузях іхтіології, селекції та аквакультури, в тому числі і дослідженні мікробного пейзажу луски риб та водойм – місць їх існування [54].

Місце відбору зразків

Досліджуваний ставок розташований у Чуднівській громаді Житомирської області. Водойма є штучно створеною та використовується для вирощування коропа звичайного (*Cyprinus carpio*), що зумовлює її значення в аквакультурі регіону.

Гідрологічні характеристики водойми відповідають умовам середньо-інтенсивного рибництва. Ставок має помірну течію, зумовлену надходженням води з прилеглих джерел та атмосферних опадів. Донний субстрат представлений змішаним складом – переважають піщано-мулисті відкладення з вкрапленнями органічних компонентів, що сприяє розвитку сапробної мікрофлори та формуванню специфічного біотопу для мікроорганізмів.

Фізико-хімічні параметри водного середовища змінюються залежно від пори року та температурного режиму. Влітку спостерігається підвищення температури води, що сприяє активному розвитку біоплівки і мікробного угруповання на поверхні луски риб. Взимку, навпаки, через охолодження водного середовища мікробіологічна активність зменшується, що впливає на склад та чисельність мікрофлори луски коропа.

Зразки для мікробіологічного аналізу відбирали у двох сезонах – зимовому та весняному періодах. Це дозволило оцінити сезонну варіабельність мікрофлори, визначити особливості її складу та чисельності, а також встановити залежність між температурним режимом ставка та розвитком бактеріальних угруповань на поверхні луски коропа.

На момент першого відбору риби (лютий) водойма перебувала в зимовому стані, що зумовлювало наявність льодового покриву із незначними промоїнами (Додаток А). Температура води становила $+2^{\circ}\text{C}$, кисневий режим відповідав зимовим умовам ($7,5\text{--}9,1\text{ мг/дм}^3$). Вилов здійснювався у прибережній зоні на глибині $0,8\text{--}1,5\text{ м}$, де коропи перебували у відносно спокійних умовах зимівлі. Досліджувана ділянка характеризується змішаним донним субстратом (піщано-мулистим із локальними органічними нашаруваннями), помірною течією та періодичною зміною рівня води, зумовленою сезонними факторами.

Під час другого відбору зразків (березень) водойма перебувала у перехідному періоді від зимової до весняної пори року. Льодяний покрив розпався на окремі фрагменти, спостерігалася підвищена мутність води через весняне танення (Додаток Б). Температура води – $+8^{\circ}\text{C}$, концентрація розчиненого кисню варіювалася в межах $8,3\text{--}10,2\text{ мг/дм}^3$. Вилов риби проводився в тому ж місці, що і взимку, де коропи починали активніше рухатися після зимового анабіозу, що, ймовірно, мало відобразитися на мікрофлорі їхньої луски.

Рибу транспортували у свіжому вигляді до лабораторії, де одразу ж проводили відбір проб шляхом зіскобів з луски кожної рибини.

Для дослідження мікробіоти луски коропа використовували по п'ять особин риби з кожного вилову (рис. 2.1, рис. 2.2). Відбір проб здійснювали з п'яти різних ділянок кожної риби: зябер, шкіри, кишечника, плавників та ротової порожнини.



Рис. 2.1. Відбір проби луски коропа в ділянці бічної лінії



Рис. 2.2. Відбір проби луски коропа в ділянці плавників

Зразки відбирали стерильними інструментами (ампліфікаторами) та здійснювали поверхневі висіви косими штрихами (рис. 2.3) і глибинні (рис. 2.4) посіви у чашки Петрі.



Рис. 2.3. Глибинний висів змиву луски коропа на МПА



Рис. 2.4. Поверхневий висів косим штрихом змиву з луски коропа на середовище Левіна

Мікробіологічне дослідження включало класичні методи виділення бактерій: посіви на селективні та загальні поживні середовища, спостереження за ростом мікроорганізмів, опис їх культуральних ознак, кількісну та якісну оцінку мікробного пейзажу.

Для проведення посівів використовували стерильні чашки Петрі, піпетки, колби та інші лабораторні інструменти, зокрема ваги, сушильну шафу, автоклав і термостат. Лабораторний посуд перед використанням загортали в папір і стерилізували в сушильній шафі при температурі 170–175°C протягом 1–2 годин.

Підготовка зразків та розлив живильних середовищ здійснювалися в асептичних умовах – біля полум'я пальника в спеціальному боксі. Перед початком роботи бокс піддавали ультрафіолетовому опроміненню протягом 30 хвилин.

Посіви проб мікробної суспензії (змивів з луска коропа) (Додаток В) та зіскоби з безпосередньо з поверхні тіла виконували в чашки Петрі (рис. 2. 5) на тверді поживні середовища загального та спеціального призначення, що мали різну специфічність. Для культивування бактерій всіх морфологічних груп використовували м'ясо-пептонний агар (МПА), а для конкретних родів – агар Чапека, агар ЕНДО, вісмут-сульфітний агар, середовище Левіна та агар Макконкі (Додаток Г), склад яких і рівень рН сприяли вибіркового зростанню водних мікроорганізмів (рис. 2.6).



Рис. 2.5. Створення мікробної суспензії з луски коропа в ампліфікаторі



Рис. 2.6. Підготовлені стерильні поживні середовища для висівів

Всі живильні середовища готували відповідно до методичних рекомендацій та стерилізували в автоклаві при температурі 110–123°C протягом 20 хвилин. Під час приготування поживних середовищ дотримувалися таких вимог:

- точне дозування компонентів згідно з методикою;
- фільтрування та корекція рН після додавання агару;
- виключення повторної стерилізації поживних середовищ [10,49].

Обробка результатів посівів та характеристика колоній

Чашки з посівами інкубували в термостаті за температурних умов (Додаток Д), оптимальних для кожної морфологічної групи мікроорганізмів: бактерії культивували при 35°C, дріжджові культури — при 20°C і 35°C, а гриби — у межах 20–25°C (рис. 2.7). Тривалість інкубації складала від 3 до 10 діб, після чого проводили підрахунок колоній у накопичувальних культурах та здійснювали їх культуральний опис

Облік результатів проводили на 3-тю (рис. 2.8) та 7-му добу, що дозволяло оцінити динаміку росту бактеріальних колоній, а також відокремити швидко- та повільноростучі мікроорганізми.

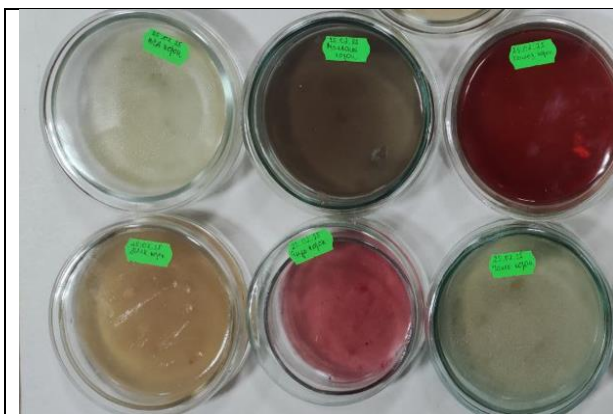


Рис. 2.7. Засіяні мікробними суспензіями чашки Петрі з різними поживними середовищами



Рис. 2.8. Отримані культури мікроорганізмів зі змивів луски коропа через 72 год культивування при температурі +35°C

При аналізі колоній реєстрували такі показники:

Розмір, за яким виділяли чотири групи: великі (>4 мм), середні (2–4 мм), дрібні (1–2 мм) та найдрібніші (<1 мм);

Тип росту на середовищі (суцільний або обмежений);

Локалізацію колоній (поверхневі, глибинні, донні);

Оптичні властивості (прозорі, мутні, непрозорі, тьмяні, блискучі, флуоресцентні);

Профіль колоній (випуклий, плоский, конусоподібний, кратероподібний, із периферійним валиком тощо);

Структуру (однорідна, волокниста, плівчаста, зерниста, що визначали за допомогою лупи);

Консистенцію (слизиста, масляниста, тістоподібна, яку визначали дотиком бактеріологічної петлі до поверхні колонії).

Додатково звертали увагу на форму колоній (правильна або неправильна), характер поверхні (гладенька, зморшкувата, складчаста, борозниста, борошниста, із концентричними зонами), наявність пігментації, рівень розвитку міцелію та особливості зворотного боку колоній.

На основі індивідуальних характеристик визначали частоту зустрічальності окремих ізолятів у накопичувальних культурах. Для подальших досліджень ізоляти виділяли в чисту культуру шляхом пересіву штрихом або уколом. При посіві штрихом бактеріологічну петлю стерилізували полум'ям і охолоджували протягом 15 секунд у стерильному агарі, після чого проводили по поверхні середовища один або кілька прямих штрихів.

Отримані результати аналізували з урахуванням температурних умов, у яких перебувала риба, та екологічних характеристик водойми. Дослідження дозволило оцінити склад і поширеність бактеріальних угруповань, що заселяють зябра та шкіру коропа, а також визначити потенційні ризики інфекційних захворювань у риб в умовах природного середовища.

Розділ 3. Результати дослідження

3.1. Особливості формування мікробного пейзажу луски коропа *Cyprinus carpio*

Мікрофлора біогеоценозів Лісостепу Житомирщини формується під впливом комплексу абіотичних та біотичних факторів, серед яких визначальну роль відіграють кліматичні умови, ґрунтовий склад, гідрологічні особливості та антропогенний вплив. У водоймах цього регіону мікроорганізми представлені широким спектром аеробних і анаеробних бактерій, грибів та дріжджів, які беруть участь у біогеохімічних циклах та процесах трансформації органічних речовин [51].

Мікробний склад водного середовища безпосередньо впливає на мікрофлору гідробіонтів, зокрема коропа (*Cyprinus carpio*), що є типовим представником іхтіофауни Лісостепової зони. Луска коропа виконує бар'єрну функцію, однак постійно контактує з водою, що сприяє заселенню її поверхні мікроорганізмами, характерними для даної екосистеми. Бактеріальні пейзажі формуються відповідно до умов водойми, зокрема рівня органічного забруднення, вмісту розчиненого кисню та рН середовища.

Особливості середовища існування коропів будуть враховані при аналізі отриманих мікробіологічних даних, оскільки гідрологічні умови та сезонні фактори можуть безпосередньо впливали на формування мікробного біоценозу поверхні риб. Гідробіологічні особливості ділянки вилову риби можуть впливали на видовий склад мікроорганізмів, що колонізують поверхню риб. Дані місцевості враховувалися при аналізі мікрофлори луски коропа, оскільки фізико-хімічні показники води та гідрологічні умови – фактори формування бактеріального біоценозу на поверхні риб.

Аналіз мікрофлори луски коропа виявляє значну подібність до мікробіоти води та донних відкладень, що підтверджує тісний зв'язок між компонентами біогеоценозу [50].

3. 2. Зміни кількісних показників мікробної складової луски коропа за різних періодів року

Для виділення та ідентифікації мікрофлори луски риби були підібрані поживні середовища різного призначення, що дозволило охопити широкий спектр морфологічних груп мікроорганізмів. Вибір середовищ базувався на їхньому складі та призначення до певних бактеріальних груп

Для проведення кількісного аналізу мікрофлори луски коропа посіви проводили на м'ясопептонний агар (МПА), який є універсальним середовищем для культивування широкого спектра бактерій, зокрема аеробних і факультативно-анаеробних форм, таких як *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* і *Aeromonas spp.* Завдяки наявності пептонів і м'ясного екстракту, це середовище забезпечує бактерії необхідними поживними речовинами для активного росту. А також, на агар ЕНДО та агар Левіна, які використовують для виявлення лактозопозитивних та лактозонегативних ентеробактерій. Середовище ЕНДО містить фуксин-натрієву сіль і лактозу, що дає змогу розрізняти лактозоферментуючі (*Escherichia coli*) та нелактозоферментуючі (*Salmonella*, *Shigella*) бактерії за кольором колоній [49].

Стерильний ампліфікатор, після проведення зіскобів з луски коропа поміщали у стерильний фізіологічний розчин об'ємом 10 см³, пробірку струшували і проводили послідовні десятикратні розведення від 1:10 до 1:10000, для зменшення кількості мікроорганізмів і можливого підрахунку колонієутворюючих одиниць (КУО) По 1 см³ вмістимого пробірок з розведеннями у сто, тисячу та десять тисяч разів вносили в чашки Петрі і здійснювали висів глибинним методом. Розплавлені МПА та агар ЕНДО охолоджували до температури +50° С і по 15 см³ наливали на мікробну суспензію, круговими рухами перемішували чашку Петрі, для розподілення мікрорганізмів по всій поверхні ємкості. Висів на середовище Левіна був поверхневим – методом косого штриха. Облік результатів проводили на третю добу культивування, підраховували кількість окремих сформованих колоній,

отриманий показник множили на ступінь розведення мікробної суспензії. Десятикратні розведення були необхідними для можливого чіткого підрахунку колоній в чашці Петрі, оскільки при висіві нативної (нерозведеної) мікробної суспензії на агарі утворювалась суцільна біоплівка (рис. 3.1.) через високу концентрацію мікроорганізмів у збірних пробах змивів з луски коропа.

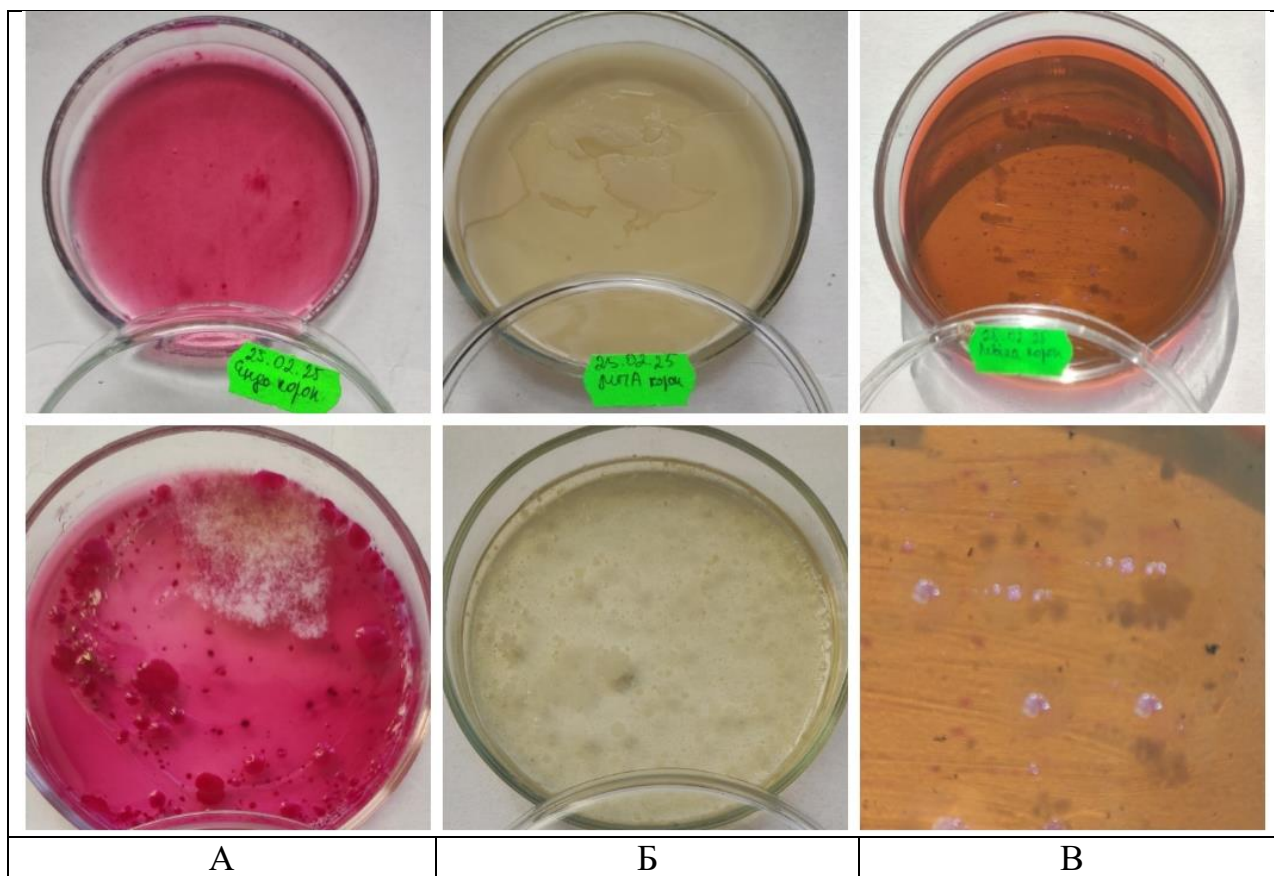


Рис. 3.1. Результати висіву мікробної суспензії (змивів з луски коропа) на МПА та на селективні середовища (перший ряд – нативна мікробна суспензія; другий ряд – розведена суспензія): А – Ендо (ліворуч) – селективне середовище для ентеробактерій, особливо кишкової палички (*E. coli*); Б – МПА (М'ясо-пептонний агар) – поживне середовище для широкого спектра мікроорганізмів; В – агар Левіна – селективно-диференційне середовище для виявлення лактозопозитивних та лактозонегативних бактерій родини *Enterobacteriaceae*

Аналіз кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) у змивах із поверхні луски коропа (*Cyprinus carpio*) у водоймах Лісостепу Житомирщини представлений в таблиці 3.1. і свідчить про сезонну варіабельність мікробного

навантаження, зумовлену температурними та, ймовірно, гідробіологічними факторами.

Таблиця 3.1.

Результати висівів змивів з луски коропа
на середовищах ЕНДО та МПА

Назва агару, одиниці виміру	№ проби	Період відбору	
		Зима	Весна
М'ясо- пептонний агар (к-ть КУО/см ³ мікробної суспензії)	1	$1,2 \times 10^3$	$5,2 \times 10^4$
	2	$3,2 \times 10^3$	$1,8 \times 10^5$
	3	$4,6 \times 10^3$	$2,8 \times 10^5$
	4	$4,3 \times 10^3$	$4,2 \times 10^4$
	5	$3,6 \times 10^3$	$3,3 \times 10^4$
Агар ЕНДО (к-ть КУО/см ³ мікробної суспензії)	1	$2,1 \times 10^2$	$2,2 \times 10^4$
	2	$3,2 \times 10^2$	$3,1 \times 10^3$
	3	$8,4 \times 10^2$	$3,6 \times 10^3$
	4	$5,6 \times 10^4$	$2,8 \times 10^3$
	5	$6,2 \times 10^4$	$2,6 \times 10^3$

При культивуванні на м'ясо-пептонному агарі (МПА) глибинним способом кількість КУО у змивах із поверхні тіла коропа на початку лютого, коли температура води становила +2°C, варіювала в межах $1,2 \times 10^3 - 4,6 \times 10^3$ КУО/мл (табл. 3.1). В цей період біологічна активність мікроорганізмів залишалася низькою, що зумовлено уповільненням метаболічних процесів у водному середовищі та на тілі риби внаслідок зимової стагнації.

Наприкінці березня, при підвищенні температури води до +8°C, загальна чисельність мікрофлори на лусці коропа зросла, досягнувши $5,2 \times 10^4 - 1,8 \times 10^5$ КУО/мл (табл. 3.1).

Аналіз змивів із поверхні луски коропа (*Cyprinus carpio*) на м'ясо-пептонному агарі (МПА) дозволив встановити динаміку змін мікрофлори в різні сезони. У зимовий період, коли температура води становила +2°C, спостерігався обмежений ріст мікроорганізмів. Колонії мали прозору, гладеньку, слизову консистенцію, що може свідчити про переважання представників родів *Pseudomonas* та *Bacillus* (рис. 3.1– Б). Ці мікроорганізми здатні зберігати

життєздатність навіть при низьких температурах, що пояснює їхню присутність на лусці риб у зимовий період.

Навесні, коли температура води підвищилася до $+8^{\circ}\text{C}$, спостерігалось значне збільшення кількості колоній. Окрім слизових колоній, характерних для *Pseudomonas* (рис. 3.2), з'явилися нові колонії білого кольору з сухою, зморшкуватою поверхнею, що є типовими для *Bacillus* (рис. 3.3). Збільшення кількості бацил у весняний період може бути пов'язане з інтенсифікацією біологічних процесів, оскільки ці бактерії активно беруть участь у розкладі органічних речовин та адаптуються до змін умов довкілля.

	
Рис. 3.2. Слизуваті колонії бактерій роду <i>Pseudomonas</i> на середовищі МПА на десятю добу культивування при висіві змивів з коропа зимової генерації	Рис. 3.3. Сухі бацилярні колонії роду <i>Bacillus</i> на середовищі МПА на десятю добу культивування при висіві змивів з коропа весняної генерації

Таким чином, культуральні ознаки колоній, що вирости на м'ясо-пептонному агарі, свідчать про сезонні зміни у складі мікрофлори луски коропа. Взимку домінують слизові колонії, які ймовірно належать до психротрофних *Pseudomonas*, тоді як навесні відбувається зростання чисельності *Bacillus*, що є індикатором активізації процесів розкладу органічних речовин у водоймі (рис. 3.2, рис. 3.3.).

Динаміка чисельності ентеробактерій на агарі Ендо в зимово-весняний період

Дослідження мікрофлори луски коропа (*Cyprinus carpio*) із застосуванням агару Ендо дозволило оцінити чисельність і склад представників родини *Enterobacteriaceae* залежно від температурних умов водойми. Встановлено, що кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) на цьому середовищі змінюється залежно від пори року (рис. 3.1 – А), що пояснюється фізіологічною активністю іхтіофауни та загальним мікробним навантаженням водного середовища.

У лютому, коли температура води становила $+2^{\circ}\text{C}$, чисельність КУО у змивах із поверхні луски варіювала в межах $2,1 \times 10^2 - 8,4 \times 10^2$ КУО/мл (табл. 3. 1). На даному етапі дослідження було виявлено поодинокі колонії, що пояснюється уповільненням біологічних процесів в умовах низьких температур. Низький рівень мікробного обсіменіння у зимовий період свідчить про зниження інтенсивності життєдіяльності гідробіонтів, зменшення швидкості розкладу органічних речовин та пригнічення росту більшості мезофільних мікроорганізмів.

Висів змивів із поверхні луски коропа (*Cyprinus carpio*) на середовище Ендо дозволив оцінити динаміку змін ентеробактерій у різні пори року. У зимовий період, коли температура води становила $+2^{\circ}\text{C}$, спостерігалася формування однорідного рожевого фону середовища, що вказувало на відсутність активного бродіння лактози. Кількість колоній була незначною, а характерні для *Escherichia coli* темно-червоні колонії з металевим блиском були відсутні (рис. 3.4). Це свідчило про низьку чисельність лактозопозитивних кишкових бактерій у зимових умовах, що може бути наслідком низької температури та зменшення алохтонного забруднення водойми.

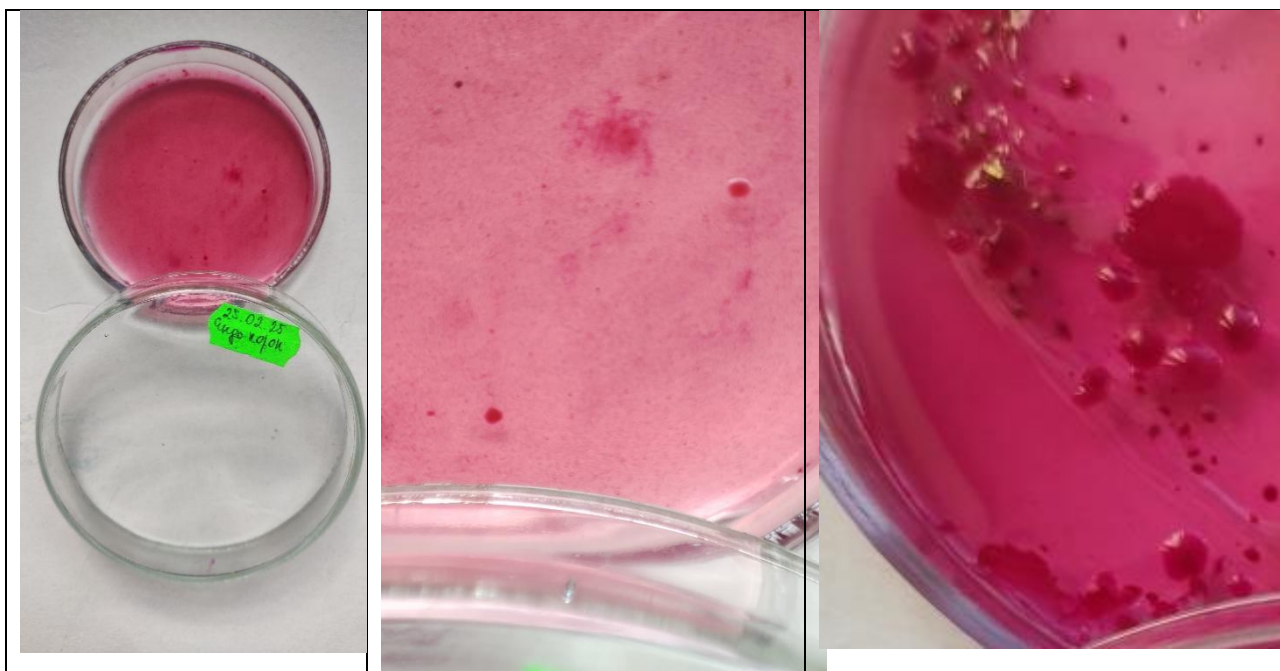


Рис. 3.4. Результати висіву змивів з коропа, виловленого взимку на середовище ЕНДО:

А – формування однорідного рожевого фону;
Б – поодинокі рожеві дрібні колонії

Рис. 3.5. Рожеві та темно-червоні колонії (типіві для *Escherichia coli*) на середовищі Ендо при висіві змивів з коропа, виловленого весною

З підвищенням температури води до $+8^{\circ}\text{C}$ у кінці березня відзначено зростання чисельності ентеробактерій до $3,6 \times 10^3 - 2,2 \times 10^4$ КУО/мл (табл 3.1.) Навесні спостерігалася суттєва зміна мікробного пейзажу досліджуваних матеріалів. На середовищі з'являлися рожеві та темно-червоні колонії з характерним металевим блиском, що є типовим для *Escherichia coli* (рис. 3.5). Їх активний ріст вказував на збільшення кількості лактозопозитивних ентеробактерій, що могло бути пов'язано з весняним таненням снігу, надходженням у водойму органічних речовин та зростанням температури, сприятливої для розмноження мікроорганізмів.

Окрім цього, на середовищі спостерігалися слизові колонії, які ймовірно належали до представників родів *Enterobacter* або *Klebsiella* (рис. 3.5), що

додатково вказувало на підвищення рівня алохтонного мікробного навантаження.

Таким чином, результати дослідження мікрофлори луски коропа на середовищі Ендо показали мінімальну присутність кишкових бактерій узимку та їхнє активне розмноження навесні, що свідчить про сезонний вплив екологічних факторів на мікробний склад водойми та можливе посилення фекального забруднення в теплу пору року. Активізація мікроорганізмів у весняний період пояснюється збільшенням надходження біогенних речовин у водойму внаслідок танення снігу та поверхневого стоку.

3.3. Оцінка якісних показників мікрофлори луски коропа та доцільність застосування елективних середовищ

Кількісний аналіз мікрофлори змивів із поверхні луски коропа (*Cyprinus carpio*) дає загальне уявлення про рівень мікробного обсіменіння, проте не дозволяє повною мірою оцінити санітарно-мікробіологічний стан водного середовища та потенційну загрозу для іхтіофауни. Зважаючи на складність мікробних угруповань та присутність різних морфологічних груп бактерій, застосування загальних поживних середовищ, таких як м'ясо-пептонний агар, є недостатнім для визначення специфічних санітарно-показових мікроорганізмів.

З метою диференційованого виділення та ідентифікації бактерій, що можуть мати санітарно-епідеміологічне значення, доцільно використовувати елективні середовища, які вибірково сприяють росту певних груп мікроорганізмів. Зокрема, середовище Левіна, жовчно-сольовий агар (BCA), який є оптимальним для виявлення сальмонел, агар Макконкі – для виявлення стафілококів, зокрема *Staphylococcus aureus*, а також, агар Чапека – для виявлення грибів та дріжджів, адже виявлені бактерії можуть бути маркерами фекального забруднення водойм та потенційними збудниками захворювань риб.

Висів змивів із поверхні луски коропа (*Cyprinus carpio*) на середовище Левіна здійснювали з метою проведення якісної оцінки бактерій родини

Enterobacteriaceae, зокрема представників роду *Escherichia*, які є ключовими санітарно-показовими мікроорганізмами (рис. 3.1 – В).

Середовище Левіна є диференційно-діагностичним і селективним для лактозопозитивних та лактозонегативних бактерій, що дозволяє оцінити рівень фекального забруднення водойм. Принцип його дії базується на здатності мікроорганізмів ферментувати лактозу, що проявляється у зміні кольору колоній:

Escherichia coli утворює фіолетові колонії, іноді з металевим блиском, що свідчить про активне розщеплення лактози та виражену кислотність середовища (рис. 3.7). Лактозонегативні бактерії (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*) формують бліді або безбарвні колонії, оскільки не здатні ферментувати лактозу, що дозволяє диференціювати їх від інших ентеробактерій (рис. 3.6).

Висів змивів із луски коропа (*Cyprinus carpio*) на середовище Левіна дозволив простежити динаміку змін чисельності та культуральних характеристик ентеробактерій у різні сезони. У зимовий період, коли температура води становила +2°C, спостерігалось утворення незначної кількості темно-фіолетових колоній, що може свідчити про мінімальну присутність лактозопозитивних представників родини *Enterobacteriaceae*, зокрема *Escherichia coli* та *Enterobacter spp.* (рис. 3.1 – В) Обмежений ріст цих мікроорганізмів пояснюється низькою температурою, яка не сприяє активному розмноженню кишкових бактерій у водоймі.

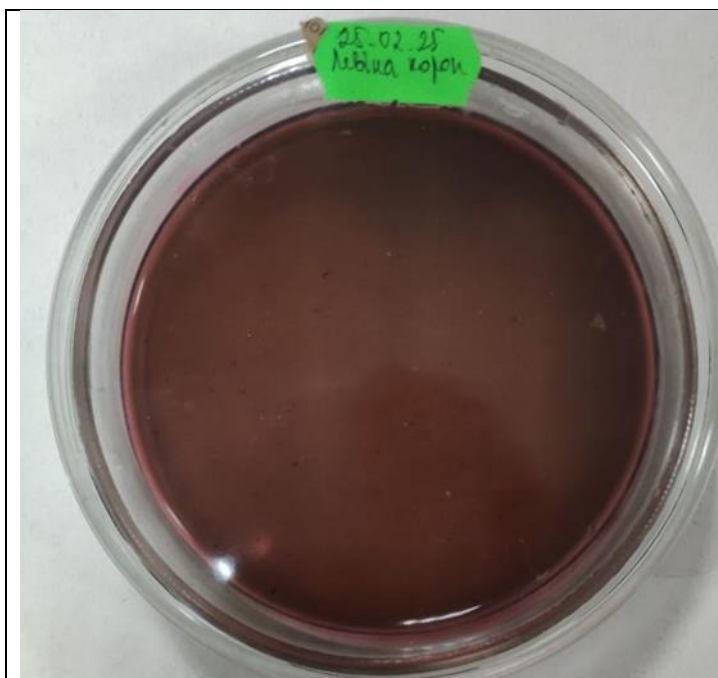


Рис. 3.6. Бліді безбарвні колонії Лактозонегативні *Shigella spp.* або *Salmonella spp.* на середовищі Левіна на третю добу культивування при висіві змивів з коропа зимової генерації

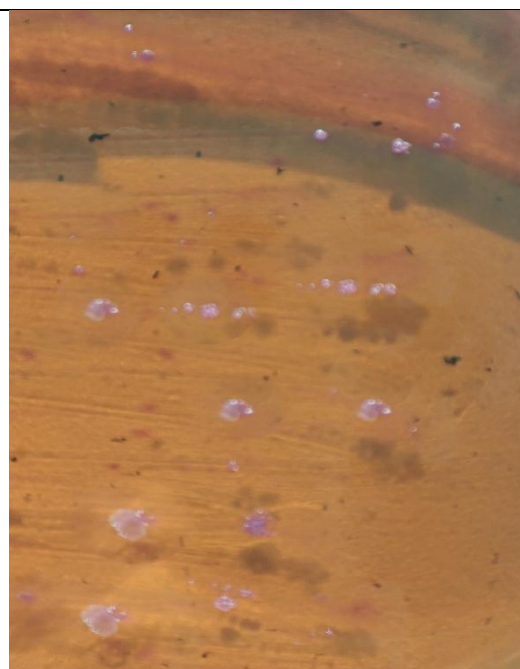


Рис. 3.7. Фіолетові колонії *Escherichia coli* на середовищі Левіна на третю добу культивування при висіві змивів з коропа весняної генерації

Навесні, при підвищенні температури води до $+8^{\circ}\text{C}$, ситуація суттєво змінювалася. Спостерігався значний приріст колоній, серед яких переважали темно-сині та фіолетові утворення, характерні для *Escherichia coli* та інших лактозопозитивних ентеробактерій (рис. 3.7). Така динаміка може свідчити про сезонне надходження органічних речовин у водойму та активізацію мікробіологічних процесів.

Мікробний пейзаж у чашці Петрі на середовищі МакКонкі суттєво змінюється залежно від сезону, що свідчить про розвиток мікрофлори на поверхні луски коропа (рис. 3.8 – А).

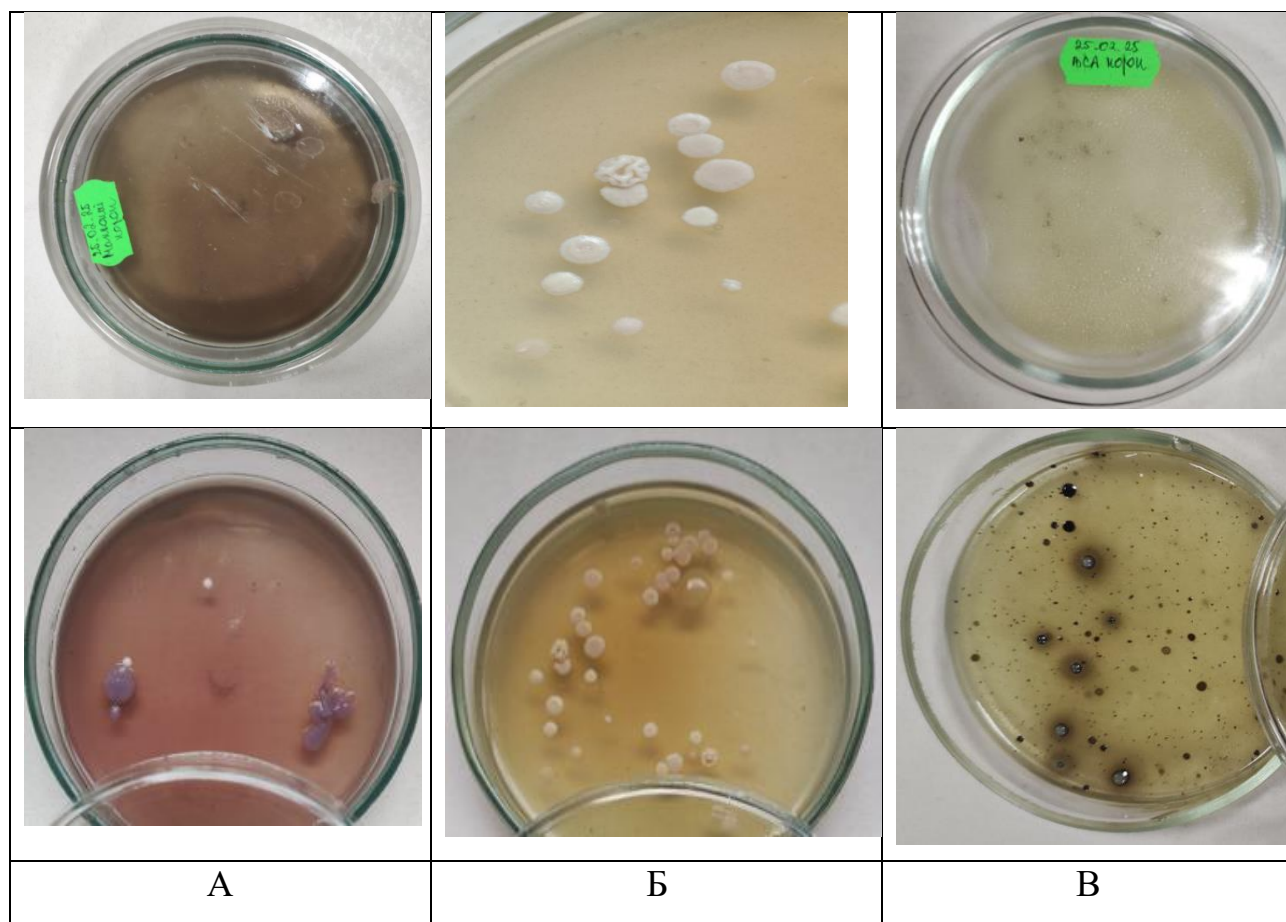


Рис. 3.8. Результати висіву штрихом з луски коропа на селективних поживних середовищах (перший ряд – висів при зимовому вилові коропа; другий ряд – весняний вилов коропа): А – Агар МакКонкі; Б – Агар Чапека; В – Вісмут-сульфідний агар.

При дослідженні луски коропа, виловленого взимку, на агарі спостерігаються поодинокі дрібні фіолетові (рис. 3.8 – перший ряд), майже непомітні колонії зі слизовою поверхнею, характерною для лактозопозитивних ентеробактерій, таких як *Klebsiella* та *Enterobacter*. Це вказує на присутність цих мікроорганізмів, але їхня кількість є відносно невеликою, що може бути пов'язано з несприятливими умовами навколишнього середовища для активного росту бактерій.

З приходом весни мікробний пейзаж зазнає помітних змін: колонії стають більшими, їхня кількість збільшується, а слизова структура стає більш

вираженою (рис. 3.9 – А) . Це свідчить про домінування *Klebsiella pneumoniae*, яка відома своєю здатністю утворювати мукоїдні колонії та швидко адаптуватися до зміни умов. Ймовірно, підвищення температури та зміна хімічного складу середовища сприяють активнішому росту цих бактерій.

Таким чином, порівняння культуральних ознак колоній на агарі МакКонкі в різні сезони дозволяє зробити висновок, що навесні умови стають сприятливішими для розмноження ентеробактерій, зокрема *Klebsiella pneumoniae*, що відображається у зростанні їхньої кількості та розмірів колоній. Домінуючі колонії були пересіяні як чисті культури у стерильні чашки Петрі, для докладного вивчення і опису культуральних ознак (рис. 3. 9). Адже, агар МакКонкі дозволяє виділити представників родини Enterobacteriaceae, серед яких важливу роль відіграють *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* та *Citrobacter spp.*[49]. Ці мікроорганізми можуть свідчити про забруднення водойми фекальними масами, що є важливим критерієм оцінки санітарного стану водойм Лісостепу Житомирщини.

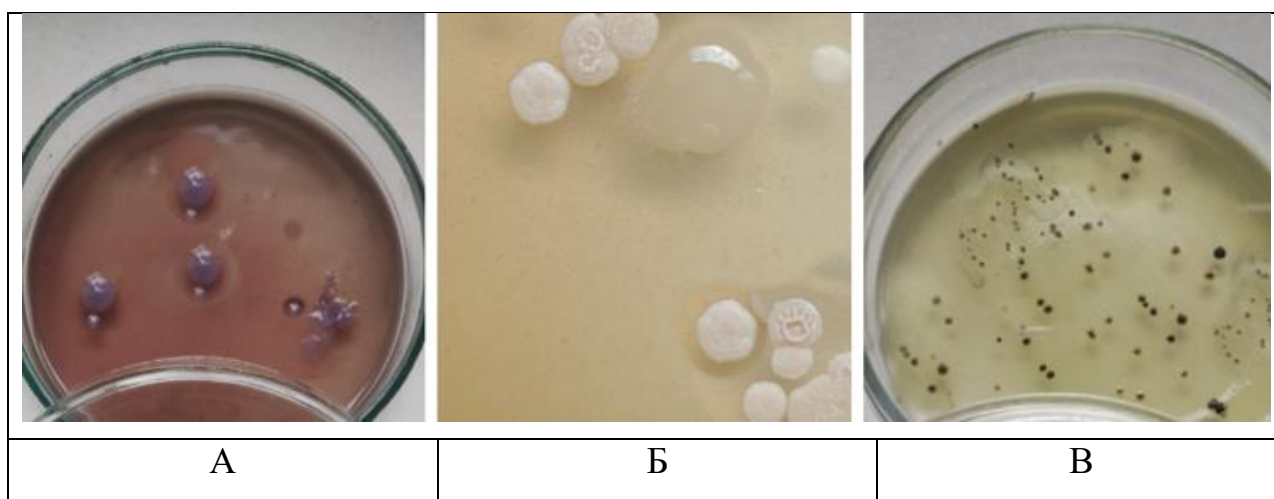


Рис. 3. 9. Результати висіву штрихом з луски коропа (виділення чистих культур мікроорганізмів) на селективних поживних середовищах: А – фіолетові слизуваті колонії на Агарі МакКонкі; Б – зморшкуваті колонії на Агарі Чапека; В – чорні колонії ентеробактерій Вісмут-сульфітному агарі.

На рис 3.8. – Б представлені культури мікроорганізмів, вирощених на агарі Чапека, який є селективним середовищем для грибів. Візуальні особливості колоній дозволяють оцінити сезонну динаміку грибної мікрофлори, що заселяє поверхню луски коропа.

У чашці Петрі, що відповідає зимовому висіву (перший ряд рис. 3.8), колоній небагато, вони мають переважно круглу форму, білувате або кремове забарвлення (рис. 3.9 – Б). Поверхня колоній рівна або злегка зморшкувата, що характерно для деяких представників роду *Aspergillus* або *Penicillium*. Малочисельність колоній свідчить про пригнічений ріст грибів у холодний період, що, ймовірно, пов'язано з низькою температурою та загальним уповільненням мікробіологічних процесів.

У чашці Петрі, що відповідає весняному висіву (другий ряд рис. 3.8), колоній значно більше, вони розподілені рівномірніше по всій поверхні агару. Деякі колонії мають виражену пухку або складчасту структуру, що може бути характерною для активного росту цвілевих грибів (рис. 3.9 – Б). Збільшення кількості колоній свідчить про покращення умов для розвитку грибної мікрофлори в теплий період року.

Таким чином, температура є ключовим фактором, що впливає на розвиток грибної мікрофлори коропа. Взимку низькі температури обмежують ріст грибів, тоді як навесні підвищення температури сприяє активному розмноженню мікроскопічних грибів. Це важливий аспект для ставкового господарювання, оскільки надмірний розвиток грибової мікрофлори може призводити до інфекційних захворювань риб. Для збереження здоров'я риб у теплий період необхідний ретельний моніторинг мікробного складу води та профілактичні заходи щодо контролю грибкових патогенів.

При дослідженні висів зимових зразків луски коропа на вісмут-сульфітному агарі (рис 3.8– В (перший ряд)), спостерігається незначний ріст бактерій: окремі колонії мають слабку пігментацію, відсутні виражені чорні або темно-коричневі зони. Це свідчить про низький рівень контамінації або слабку присутність бактерій групи *Salmonella* та споріднених ентеробактерій.

При дослідженні зразків луски коропа, отриманих навесні, спостерігається значно інтенсивніший ріст бактерій ((рис 3.8 – В (другий ряд), рис. 3.9 – В) . Колонії мають характерний чорний або темно-коричневий колір, що є типовим для сульфатредуючих бактерій, таких як *Salmonella*, які здатні відновлювати вісмутові солі до сульфідів. Чорні колонії з металевим блиском вказують на активний бактеріальний ріст мікрорганізмів цієї групи (рис. 3.8. – В).

Зимовий зразок містив значно менше бактерій, що може бути пов'язано зі зниженими температурами води, які уповільнюють ріст мікрорганізмів. Дослідження весняного зразка показує збільшену кількість бактерій (3.8. – В (другий ряд)), що корелює з підвищенням температури води, яка сприяє активному розмноженню мікрорганізмів.

Температура відіграє ключову роль у формуванні бактеріальної мікрофлори луски коропа. У холодний період активність бактерій значно зменшується, що зумовлює низьку щільність колоній при висіві. Весняне потепління стимулює зростання бактерій, що пояснює більшу кількість колоній на селективному середовищі. Вісмут-сульфідний агар застосовується для виявлення бактерій роду *Salmonella*, які можуть накопичуватися у водоймах із високим рівнем органічного забруднення. У ставковому господарстві це вимагає контролю температурного режиму та мікробіологічного моніторингу для запобігання бактеріальному зараженню риб.

Застосування середовища селективного та диференційно-діагностичного призначення якісного для аналізу мікрофлори луски коропа мав дозволяє з'ясувати такі важливі аспекти:

Оцінка мікробіологічної безпеки водойми – виявлення фекально-орієнтованої мікрофлори, що дозволяє визначити рівень санітарного стану водного середовища та потенційні ризики для іхтіофауни.

Визначення ступеня алохтонного забруднення – висока чисельність *E. coli* може свідчити про надходження у водойму органічних забруднень антропогенного або тваринного походження.

Контроль за станом здоров'я риб – наявність у високих концентраціях умовно-патогенних ентеробактерій може бути індикатором мікробного дисбіозу луски, що підвищує ризик інфекційних уражень шкіряного покриву риб.

Таким чином, висів змивів з луски коропа на середовище Левіна, агару Макконкі та вісмут-сульфітний агар – важливий етап мікробіологічного аналізу, що дозволяє оцінити не лише загальний рівень мікробного обсіменіння луски коропа, але й можливу епідеміологічну небезпеку, пов'язану з потенційним зараженням водою ентеробактеріями.

Висновки

1. Дослідження мікробіоти поверхні коропа (*Cyprinus carpio*), виловленого у зимовий та весняний періоди, показало зміни в кількісному та якісному складі мікроорганізмів. Визначено, що навесні спостерігається значне збільшення чисельності ентеробактерій (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter*) та мікроскопічних грибів (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*). Це свідчить про сприятливіші умови для розвитку мікрофлори, пов'язані з підвищенням температури води, активізацією біохімічних процесів та можливим збільшенням забруднення водойм органічними речовинами.

2. Мікробіота луски шкіри коропа є динамічною системою, що змінюється під впливом екологічних факторів. Вивчення її складу відіграє важливу роль у розумінні механізмів взаємодії риби з навколишнім середовищем, а також для розробки профілактичних заходів у рибництві.

3. В умовах підвищеного антропогенного навантаження виявлене зростання чисельності умовно-патогенних бактерій і грибів, що, у свою чергу, впливає на мікробний баланс організму риби. Вивчення цих процесів дозволяє оцінювати екологічний стан водойм регіону та потенційні ризики для здоров'я іхтіофауни.

4. Зростання кількості колонієутворюючих одиниць при дослідженні змивів з луски коропа весняної генерації на середовищі загального призначення, ймовірно, зумовлене інтенсифікацією гідробіологічних процесів, пробудженням представників тваринного світу після зимового анабіозу, а також активізацією сапрофітних і умовно-патогенних мікроорганізмів у відповідь на підвищення температурного режиму.

5. Отримані результати дослідження висівів луски коропа на селективні та диференційно-діагностичні середовища підтверджують існування закономірної залежності між температурним режимом водойми та рівнем контамінації луски коропа ентеробактеріями. Весняне збільшення чисельності потенційно патогенних мікроорганізмів може впливати на стан іхтіофауни та

слугувати маркером екологічного стану водойм, що підкреслює необхідність подальшого моніторингу мікробіологічної ситуації. Подальші дослідження у цій галузі допоможуть покращити методи моніторингу та біобезпеки в аквакультурних системах.

Список використаної літератури

1. A common carp (*Cyprinus carpio* L.) leucocyte cell line shares morphological and functional characteristics with macrophages / F. A. Weyts et al. *Fish & Shellfish Immunology*, 1997. Vol. 7 (2). P. 123-133.
2. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria / R. J. Newton et al. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2011. Vol. 75 (1). P. 14–49. doi:10.1128/MMBR.00028-10/SUPPL_FILE/SUPPLEMENTAL_TABLE_2.ZIP
3. Al-Harbi A. H., Uddin M. N.. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia. *Aquaculture*. 2004. Vol. 229(1–4). P. 37–44. doi: 10.1016/S0044-8486(03)00388-0
4. Asian shrimp production and the economic costs of disease / A. P. Shinn et al. *Asian Fisheries Science*. 2018. Vol. 31. P. 29–58. doi: 10.33997/J.AFS.2018.31.S1.003
5. Austin B., Austin D.A. Bacterial fish pathogens: Disease of farmed and wild fish. *Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish* (6th ed.) Switzerland: Springer Cham. 2016. doi: 10.1007/978-3-319-32674-0
6. Barbukho, O. On the question of microbial cenoses of fish and the role of microorganisms of the genus *Bacillus* under herbicidal water pollution. *The Journal of V.N.Karazin Kharkiv National University. Series Biology*. 2020. Vol. 28. P. 43-53. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2017-28-6>
7. Biological ball filters regulate bacterial communities in marron (*Cherax cainii*) culture system / M. J. Foysal et al. *Letters in Applied Microbiology*. 2019. Vol. 68(5). P. 455–63. doi: 10.1111/lam.13125
8. Bonecker C. C., Aoyagui A. S. Relationships between rotifers, phytoplankton and bacterioplankton in the Corumbá reservoir, Goiás State, Brazil. *Rotifera*. 2006. Vol. 181. P. 415–21. doi: 10.1007/1-4020-4408-9_43
9. Brown M. R., Blackburn S. I. Live microalgae as feed in aquaculture hatcheries / *Advances in Aquaculture Hatchery Technology* : Woodhead Publishing Limited, 2013. P. 117-158
10. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds / M. Asaduzzaman et al. *Aquaculture*. 2008. Vol. 280(1–4). P. 117–123. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2008.04.019
11. Cascading predation effects of *Daphnia* and copepods on microbial food web components / E. Zöllner et al. *Freshwater Biology*. 2003. Vol. 48(12). P. 2174–93. doi: 10.1046/J.1365-2426.2003.01158.X
12. Community structure and potential nitrogen metabolisms of subtropical aquaculture pond microbiota / J. J. Ni et al. *Applied Ecology and Environmental Research*. 2018. Vol. 16(6). P. 7687–7697. doi: 10.15666/AEER/1606_76877697
13. Comparative analysis of bacterial communities of water and intestines of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*H. nobilis*) reared in aquaculture pond systems / L. J. Meng et al. *Aquaculture*. 2021. Vol. 534. P. 736334. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2020.736334

14. Disinfectant for water in grass carp and prawn mixed aquaculture ponds and method for applying disinfectant / X. Liu et al. Google Patents. 2015. <https://patents.google.com/patent/CN104957189A/en> (Chinese).
15. Effect of dietary protein to energy ratio, stocking density and feeding level on performance of Nile tilapia in pond aquaculture / K. A. Kabir et al. *Aquaculture*. 2019. Vol. 511. P. 634200. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2019.06.014
16. Effect of three commercial microbial products on bacterial community in a freshwater fish polyculture system / T. Zhou et al. *Aquaculture Research*. 2017. Vol. 48(8). P. 4449–4460. doi: 10.1111/ARE.13270
17. Environmental and gut Bacteroidetes: The food connection / F. Thomas et al. *Frontiers in Microbiology*. 2011. Vol. 2(May). P. 93. doi: 10.3389/FMICB.2011.00093/BIBTEX
18. Exploring intestinal microbiome composition in three Indian major carps under polyculture system: A high-throughput sequencing based approach / A. Mukherjee et al. *Aquaculture*. 2020. Vol. 524. P. 735206. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735206
19. Factors influencing the grass carp gut microbiome and its effect on metabolism / J. Ni et al. *FEMS Microbiology Ecology*. 2014. Vol. 87(3). P. 704–714. doi: 10.1111/1574-6941.12256
20. First detection of koi herpesvirus and carp oedema virus in Iraq associated with a mass mortality in common carp (*Cyprinus carpio*) / I. Toffan et al. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020. Vol. 67(2). P. 523–528. doi: 10.1111/TBED.13428
21. Fish Immune Response: An Overview / Ritam et al. In: *Bacillus Probiotics for Sustainable Aquaculture*. CRC Press, 2025. P. 27-54.
22. Glavatchuk V. A. Вплив пробіотичних препаратів на інтенсивність росту та гематологічні показники коропа. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The series: Livestock*, 2024. 2. P. 46-55. <https://doi.org/10.32782/bsnau.lvst.2024.2.7>
23. Havens K. E. Cyanobacteria blooms: Effects on aquatic ecosystems. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2008. Vol. 619. P. 733–747. doi: 10.1007/978-0-387-75865-7_33
24. Immune components and defense mechanism in fish: An overview / Salik, et al. *Coldwater Fisheries and Aquaculture Management*, 2024. P. 383-396.
25. Interleukin-17B in common carp (*Cyprinus carpio* L.): Molecular cloning and immune effects as immune adjuvant of *Aeromonas veronii* formalin-killed vaccine / Xinyu, et al. *Fish & Shellfish Immunology*, 2024. Vol. 153. P. 109832.
26. Isolation of actinobacteria from shrimp / Shijila Rani A. S. et al., In Dharumadurai D, ed. *Methods in Actinobacteriology*. Humana, US: Springer Protocols Handbooks. 2022. P. 27–30. doi: 10.1007/978-1-0716-1728-1_6
27. Jürgens K., Matz C. Predation as a shaping force for the phenotypic and genotypic composition of planktonic bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*. 2002. Vol. 81(1–4). P. 413–434. doi: 10.1023/A:1020505204959

28. Key roles for freshwater Actinobacteria revealed by deep metagenomic sequencing / R. Ghai et al. *Molecular Ecology*. 2014. Vol. 23 (24). P. 6073–6090. doi: 10.1111/MEC.12985
29. Larsen A. M., Mohammed H. H., Arias C. R. Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warmwater fish species. *Journal of Applied Microbiology*. 2014. Vol. 116(6). P. 1396–1404. doi: 10.1111/JAM.12475
30. Liu L., Pohner, G., Wei D. Extracellular metabolites from industrial microalgae and their biotechnological potential. *Marine drugs*. 2016. Vol. 14, No 10.
31. Loch T. P., Faisal M. Emerging flavobacterial infections in fish: A review. *Journal of Advanced Research*. 2015. Vol. 6(3). P. 283–300. doi: 10.1016/J.JARE.2014.10.009
32. Lomas M. W., Bronk D. A., Van Den Engh G. Use of flow cytometry to measure biogeochemical rates and processes in the ocean. *Annual Review of Marine Science*. 2011. Vol. 3. P. 537–566. doi: 10.1146/ANNUREV-MARINE-120709-142834
33. Middelboe M., Jacquet S., Weinbauer M. Viruses in freshwater ecosystems: An introduction to the exploration of viruses in new aquatic habitats. *Freshwater Biology*. 2008. Vol. 53(6). P. 1069–1075. doi: 10.1111/j.1365-2427.2008.02014.x
34. Next-generation sequencing reveals significant variations in bacterial compositions across the gastrointestinal tracts of the Indian major carps, rohu (*Labeo rohita*), catla (*Catla catla*) and mrigal (*Cirrhinus cirrhosis*) / M. J. Foysal et al. *Letters in Applied Microbiology*. 2019. Vol. 70(3). P. 173–180. doi: 10.1111/LAM.13256
35. Nica A., Ibanescu D.C., Popescu A. Some aspects on ornamental Japanese carp rearing in aquariums. *Scientific Papers-Series D-Animal Science*. 2019. Vol. 62(2). P. 359–363.
36. PCR-TTGE analysis of 16S rRNA from rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) gut microbiota reveals host-specific communities of active bacteria / P. Navarrete et al. *PLOS One*. 2012. Vol. 7(2). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0031335
37. *Prochlorococcus* ecotype abundances in the North Atlantic Ocean as revealed by an improved quantitative PCR method / E. R. Zinser et al. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006. Vol. 72(1). P. 723. doi: 10.1128/AEM.72.1.723-732.2006
38. Resistant starch, large bowel fermentation and a broader perspective of prebiotics and probiotics / A. R. Bird et al. *Beneficial Microbes*. 2010. Vol. 1(4). P. 423–431. doi: 10.3920/BM2010.0041
39. Spatiotemporal transition of bacterioplankton diversity in a large shallow hypertrophic freshwater lake, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis / C. Tian et al. *Journal of Plankton Research*. 2009. Vol. 31(8). P. 885–897. doi: 10.1093/PLANKT/FP028
40. Starzecka A. Wpływ zanieczyszczenia Górnej Wisły na respiracyjną aktywność mikroorganizmów wodnych. *Słupskie prace przyrodnicze. Pomorska Akademia Pedagogiczna. Słupsk*, 2001. P. 175–180.
41. Structural diversity of bacterial communities associated with bloom-forming freshwater Cyanobacteria differs according to the Cyanobacterial genus / I. Louati et al. *PLOS One*. 2015. Vol. 10(11): e0140614. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0140614

42. Swamy, J. M., & Naik, M. G. The role of immune systems in fish: a brief review. *Journal of Experimental Zoology India*, 2024. Vol. 27(2). doi:10.59467/jez.2024.27.2.1523
43. The effect of dietary lactic acid bacteria on intestinal microbiota and immune responses of crucian carp (*Carassius auratus*) under water temperature decrease / Y. Liu et al. *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 13. doi: 10.3389/FMICB.2022.847167
44. The gut microbiome and degradation enzyme activity of wild freshwater fishes influenced by their trophic levels / H. Liu et al. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6(1). P. 1–12. doi: 10.1038/srep24340
45. Tocher D. R., Hochachka P. W., Mommsen T. P. Biochemistry and molecular biology of fishes. In: *Biochemistry and molecular biology of fishes*. Elsevier New York, NY, 1995. p. 119-157.
46. Tyagi A., Singh B. Microbial diversity in rohu fish gut and inland saline aquaculture sediment and variations associated with next-generation sequencing of 16S rRNA gene. *Journal of Fisheries and Life Sciences*. 2017. Vol. 2(1). P. 1–8.
47. Активність системи антиоксидантного захисту організму коропа за впливу стресових чинників та використання в годівлі розторопші плямистої / Грициняк І. І. та ін. Наукові доповіді НУБіП України. 2021. № 5(93). <http://dx.doi.org/10.31548/dopovid2021.05.010>
48. Базаєва А. В., Вовк Н. І. Перспективи використання фосфор мобілізуючих бактеріальних препаратів у рибогосподарській галузі Рибогосподарська наука України. К. 2009. №3. С. 109-112.
49. Ветеринарна мікробіологія, вірусологія та імунологія: навч. посібник / Романишина Т. О., Лахман А. Р., Солодка Л. О., Бегас В.Л.; за заг. ред. Т. О. Романишиної та А. Р. Лахман. Житомир: Поліський національний університет. 2024. 186 с. (8,64 д. а.) Режим доступу: <https://drive.google.com/drive/u/7/folders/10LMXbYyMCuRwevrtgeWqu7aJnmrB7WLS>
50. Вплив природних і антропогенних факторів на популяції карася та коропа в умовах лісостепу: екологічні виклики та інноваційні підходи до збереження біорізноманіття / Т.О. Романишина, А. Р. Лахман, Ю. М. Мамчур, Р. В. Мотоліга. *Towards a Holistic Understanding: Interdisciplinary Approaches to Tackle Global Challenges and Promotion of Innovative Solutions* : тези доп. II Міжн. наук. -практ. інтернет-конф., 13-14 березня 2025 р. Дніпро, С. 172–174.
51. Вода рибогосподарських підприємств. Загальні вимоги та норми: СОУ–05.01.-37-385:2006: Стандарт Мінагрополітики України. Київ: Міністерство аграрної політики України, 2006. 7 с. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2015.03.034>
52. Грішин Б. О., Кражан С. А., Чужма Н. П. Оцінка розвитку природної кормової бази ставів рибного господарства «Меркурій» при вирощуванні рибопосадкового матеріалу коропа (*Cyprinus carpio*). *Рибогосподарська наука України*. 2015. Т. 3, № 33. С. 34–45. DOI: 10.15407/fsu2015.03.034.
53. Кражан С. А., Хижняк М. І. Природна кормова база ставів / Херсон : Олді-Плюс, 2009. 328 с

54. Мотолига Р. В. Вивчення морфометричних показників *CYPRINUS CARPIO*. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: науково-теоретичний збірник. Житомир: Поліський національний університет, 2025. Вип. 19. С.
55. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / за ред. В. Д. Романенка; НАН України, Інститут гідробіології. Київ: Логос, 2006. 408 с.
56. Онищенко О. М., Дворецький А. І. Мікроводорості як відновлюваний біологічний ресурс для потреб сільського господарства. Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. 2013. № 2(32). С. 48-50.
57. Підвищення ефективності процесу очищення від луски тушок коропа *Syrpinus carpio* за рахунок використання ультразвукової обробки. Дейниченко Г., Червоний В., Кононікін В., Гузенко В., Омельченко О. Ресторанний і готельний консалтинг. Інновації. 2022. Т. 5, № 2. С. 268–280. <https://doi.org/10.31866/2616-7468.5.2.2022.270108>
58. Практична мікробіологія: посібник / Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Широбоков В.П. / Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. 440с.
59. Формування природної кормової бази за рахунок планктонних угруповань на дослідних ставах ВАТ Сквироплемрибгосп за вирощування цьоголіток помісних коропів / Олешко М. О. та ін. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. 2016. 2, 82-88.
60. Червоний В. М., Кононікін В. Д. Оцінка зміни сили зв'язку луска-шкіра при зберіганні коропа в охолодженому вигляді. Актуальні проблеми та перспективи розвитку агропродовольчої сфери, індустрії гостинності та торгівлі: матеріали міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 2 листопада 2022 р. Харків: ДБТУ, 2022. С. 447–449.
61. Шарило Ю. Є., Деренько О. О., Дюдяєва О. А. Використання водоростей виду як біологічний метод очищення водойм . Водні біоресурси та аквакультура. 2020. № 1. С. 88-102.