

УДК 574.62:639.311:614.777

DOI <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2023.129.36>

ЕКОБІОЛОГІЧНИЙ ЗАХИСТ ТА САНІТАРНИЙ КОНТРОЛЬ ВОДИ І ҐРУНТУ У НЕРЕСТОВИХ КОРОПОВИХ СТАВАХ

Гриневич Н.Є. – д.вет.н., професор,
завідувач кафедри іхтіології та зоології,
Білоцерківський національний аграрний університет

Семанюк Н.В. – к.вет.н.,
доцент кафедри мікробіології та вірусології,
Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Ґжицького

Хом'як О.А. – к.с.-г.н.,
доцент кафедри іхтіології та зоології,
Білоцерківський національний аграрний університет

Слюсаренко А.О. – к.вет.н.,
доцент кафедри іхтіології та зоології,
Білоцерківський національний аграрний університет

Трофимчук А.М. – к.с.-г.н.,
доцент кафедри іхтіології та зоології,
Білоцерківський національний аграрний університет

Інфекційні хвороби риб поширені у водоймах України і наносять значні економічні збитки. Вони можуть проявлятися по-різному, а саме патологічними змінами в організмі і загибеллю, латентним перебігом хвороби, але з відставанням у рості і розвитку та зниженням продуктивності.

Розрахунковий відсоток загибелі риби при різних інвазійних захворюваннях складає 10–30%.

Проведення ветеринарно-санітарного і мікробіологічного контролю за нерестом ставової риби дає можливість виявляти та вчасно запобігати виникненню хвороб риб і запобігти впливу інших негативних чинників на здоров'я та продуктивність риб. Це дасть можливість зменшити збитки господарства, підвищить економічні показники діяльності і приведе до збільшення їхнього прибутку.

Здійснення контролю дає можливість забезпечити благополуччя господарств, екологічне благополуччя довкілля, безпеку споживача.

Бактеріологічний стан води і ґрунту вивчали у нерестових ставках с. Молодецьке Черкаської області. Вода відкритих водойм є сприятливим природним середовищем для існування багатьох мікроорганізмів.

Результати санітарно-мікробіологічних досліджень води і ґрунту на вміст у них гетеротрофних мікроорганізмів, які належать до першого трофічного рівня показали, що найбільша кількість гетеротрофних сапрофітних мікроорганізмів, які росли за температури +18 °C після заливання нерестових ставків водою містилася у водах ставків приблизно в однаковій кількості, проте все ж таки найвища їх кількість була у ставку № 3. Після нересту кількість автохтонних мікроорганізмів у воді нерестових ставків зроста майже втричі, що на нашу думку зв'язано з більшим прогріванням води і, відповідно, інтенсифікацією росту мікробів. Саме вони є кормом для дафній, а останні для личинки коропа у перші дні життя.

Найвища кількість гетеротрофних автохтонних мікроорганізмів виявилася у воді нерестового ставка № 2, децю нижчою вона виявилася у ставку № 3 і найнижчою у ставку № 1 і становила відповідно 94×10^3 КУО/см³, 90×10^3 і 88×10^3 КУО/см³. Кількість аллохтонної мікрофлори порівняно із автохтонною у воді і ґрунті нерестових ставків була нижчою відповідно на один і два порядки.

Ключові слова: нерестові стави, санітарний контроль, мікрофлора, бактеріологічний стан, гідробіонти.

Grynevych N.Ye., Semaniuk N.V., Khomiak O.A., Sliusarenko A.O., Trofymchuk A.M. Ecobiological protection and sanitary control of water and soil in spawning carp ponds

Infectious fish diseases are widespread in the reservoirs of Ukraine and cause significant economic losses. They can manifest themselves in different ways, namely, pathological changes in the body and death, a latent course of the disease, but with a delay in growth and development and a decrease in productivity.

The estimated percentage of fish death due to various invasive diseases is 10–30%.

Carrying out veterinary-sanitary and microbiological control of spawning pond fish makes it possible to detect and timely prevent the occurrence of fish diseases and prevent the impact of other negative factors on the health and productivity of fish. This will make it possible to reduce the losses of the farm, increase the economic indicators of activity and lead to an increase in their profit.

The implementation of control provides an opportunity to ensure the well-being of farms, ecological well-being of the environment, and consumer safety.

The bacteriological state of water and soil was studied in the spawning ponds of the village. Molodetsk, Cherkasy region. The water of open water bodies is a favorable natural environment for the existence of many microorganisms.

The results of sanitary and microbiological studies of water and soil on the content of heterotrophic microorganisms belonging to the first trophic level showed that the largest number of heterotrophic saprophytic microorganisms that grew at a temperature of +18 °C after flooding the spawning ponds with water was contained in the pond waters in approximately the same amount number; however, their highest number was in pond No. 3. After spawning, the number of autochthonous microorganisms in the water of the spawning ponds increased almost three-fold, which, in our opinion, is connected with greater warming of the water and, accordingly, the intensification of the growth of microbes. They are food for daphnia, and the latter for carp larvae in the first days of life.

The highest number of heterotrophic autochthonous microorganisms was found in the water of spawning pond No. 2, it was slightly lower in pond No. 3 and the lowest in pond No. 1 and amounted to 94×10^3 CFU/cm³, 90×10^3 and 88×10^3 CFU/cm³, respectively. The amount of allochthonous microflora compared to autochthonous in the water and soil of spawning ponds was lower by one and two orders of magnitude, respectively.

Key words: *spawning ponds, sanitary control, microflora, bacteriological condition, hydrobionts.*

Постановка проблеми. Бактеріологічний стан води і ґрунту у нерестових ставках с. Молодецьке Черкаської області. Вода відкритих водойм є сприятливим природним середовищем для існування багатьох мікроорганізмів. У воду вони проникають із ґрунту, повітря, виділень людей і тварин, з відходами, стічними водами тощо [2, 6, 9].

Природна мікрофлора води – це гетеротрофні мікроорганізми, що населяють воду і ґрунт ставків, представлені в основному сапрофітними бактеріями. За їхньої участі відбувається розкладання складних органічних речовин – рослинних і тваринних залишків до простих мінеральних сполук: вуглекислоти, аміаку, нітратів, сульфатів й ін., які знову асимілюються рослинами, а потім надходять в організм тварини. У такий спосіб на Землі здійснюється круговорот життєво необхідних елементів: вуглецю, азоту, сірки, фосфору, заліза й ін., і бактерії є найважливішою ланкою в цьому процесі. Перетворюючи різні сполуки, бактерії одержують необхідну для їхньої життєдіяльності енергію й живильні речовини. Процеси обміну речовин, способи добування енергії й потреби в матеріалах для побудови речовин свого тіла в бактерій надзвичайно різноманітні. Гетеротрофні мікроорганізми потребують готових органічних речовин – амінокислот, вуглеводів, вітамінів, які повинні бути присутнім у середовищі, тому що самі не можуть їх синтезувати.

У водних екосистемах угруповання гідробіонтів (бактерії, гриби, рослини, тварини) пов'язані між собою трофічними взаєминами, при яких одні групи організмів поїдають інших. Внаслідок таких «ланцюгів живлення» речовина і енергія в гідросфері передаються у певній послідовності. Сукупність організмів, які

займають певне положення у трофічному ланцюгу, отримала назву трофічні рівні. Потік енергії в екосистемі починається з первинної продукції (перший трофічний рівень) – бактерій і найпростіших, продовжується через безпосередніх її споживачів-консументів I-го порядку (другий рівень) – личинок риби; при цьому створюється вторинна, або проміжна, продукція, яку споживають консументи II порядку (третій рівень), або хижаки.

Метою досліджень було за результатами проведення санітарного і мікробіологічного контролю води нерестових ставів с. Молодецьке Черкаської області визначити ступінь потенційної небезпеки щодо обсіювання риби умовно-патогенними і патогенними мікроорганізмами.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Ефективність штучного відтворення риб значно залежить від їхнього виживання на ранніх стадіях розвитку. Перші експерименти з вивчення впливу амінокислот на життєздатність зародків і личинок коропа виконав М.В. Гринжевський [1]. Вірогідне збільшення виживання личинок місячного віку в середньому на 8,5–11,4% (у розрахунку від вихідної кількості посаджених передличинок) дали домішки гістидину в концентрації 0,1–10,0 мг/л, а також суміш цієї амінокислоти з метіоніном, лізином і тирозином. Дослідження засвідчили, що в разі стимулювання життєздатності потомства, отриманого з ікри різної якості, важливо знати, чим вона детермінована [3]. Потомство зі слабкою життєздатністю, що визначена материнською різною якістю, позитивно реагує на екзогенні домішки амінокислот. Потомство, отримане з ікри низької якості, що зумовлено її постовулярним перезріванням, реагує на ці домішки негативно [7, 12, 13–15]. Позитивна і негативна дія екзогенних амінокислот на ікру, що розвивається і личинки, зумовлена здатністю цих речовин проникати через зовнішні оболонки. Відомо, що гліцин, феніламін і лейцин проникають через оболонки яєць форелі й атлантичного лосося як із зовнішньої, так і з внутрішньої сторони [6, 8, 11].

Отже, на підставі зазначеного можна зробити висновки, що іони кальцію відіграють провідну роль у визначенні швидкості і масштабів дифузійних втрат натрію як у гіпотонічному середовищі, так і в разі зменшення рН води, тобто збільшення концентрації іонів водню, а збільшення концентрації іонів кальцію у воді до певних концентрацій підвищує стійкість риб до токсичних впливів деяких хімічних речовин. Іони магнію відіграють важливу роль у біохімічній адаптації організму риб до швидких змін температури. Добре відома залежність активності ферментів від іонного складу мікросередовища, в якому працюють ферменти. Наприклад, ефективна робота ферменту, активованого іонами магнію, зі зниженням температури може зберігатися завдяки збільшенню внутрішньоклітинних концентрацій цього іона. Незмінні амінокислоти (лейцин, ізолейцин, аргінін, гістидин, лізин та ін.) позитивно впливають на виживання личинок риб, прискорюють їхній ріст і розвиток. Амінокислоти, виділені з синьо-зелених водоростей, у відповідних дозах теж позитивно впливають на виживання і розвиток личинок риб. Однак збільшення дози амінокислот спричинює гальмування росту личинок. Нуклеїнові кислоти (ДНК сперми лосося) за тривалої дії позитивно впливають на життєздатність ембріонів і личинок риб. Саме тому, в подальших дослідженнях доцільно вивчати позитивні впливи іонів кальцію, магнію та деяких високомолекулярних сполук на виживання зародків та личинок риб, а також для боротьби з негативним впливом токсикантів.

Постановка завдання. Провести оцінку екобактеріологічного стану води і ґрунту у нерестових корошових ставах с. Молодецьке Черкаської області.

Визначення мікробного числа води (грунту) проводили чашковим методом з витримуванням у термостаті посів при температурі 37 °С (МАФАНМ КУО/см³ води і г ґрунту) і 18 °С.

Сутність методу полягає у висіві певного об'єму досліджуваної води або її розведення в чашки Петрі в глибину агару і подальшому підрахунку колоній, що вирости. При цьому виходять з того, що кожна колонія є результатом розмноження однієї клітини.

Робота цим методом включала три етапи: приготування розведень, посів в чашки Петрі, підрахунок колоній, що вирости. Розведення готували в стерильному фізіологічному розчині, користуючись постійним коефіцієнтом розведення, рівним 10.

Для приготування розведень фізіологічний розчин розливали по 9,0 (4,5) мл в стерильні сухі пробірки. Потім 1,0 (0,5) мл досліджуваної води, взятої стерильною піпеткою, переносили в пробірку з фізіологічним розчином – це перше розведення 1:10. Одержану в першому розведенні суспензію ретельно перемішували стерильною піпеткою. Цією ж піпеткою беруть 1,0 (0,5) мл одержаного розведення і переносили в другу пробірку з фізіологічним розчином – це друге розведення 1:100. Таким же чином готували і подальші розведення.

Попередньо приготований МПА підігрівали на водяній бані до 45°С. Стерильні чашки Петрі розкладали на столі і підписували на кришках номер проби, дату посіву і ступінь розведення. З кожної проби води і її розведень проводили посів по 1,0 мл паралельно на дві чашки з таким розрахунком, щоб на чашках виростило від 30 до 300 колоній.

З флаконів, що містять досліджувану воду, знімали паперові ковпачки, виймали пробки, шийки фламбували, після чого воду ретельно перемішували обережним продуванням повітря через стерильну піпетку. Цю операцію проводили перед приготуванням розведень. Стерильною піпеткою відбирали 1 мл води (і її розведень) вносили в стерильні чашки, злегка прочиняючи кришку. При цьому для кожної проби води і для кожного розведення використовували окрему стерильну піпетку. Посіви з розведенні також робили однією піпеткою, але починали з більшого розведення. Після внесення води (і її розведень) в ці чашки, з дотриманням умов стерильності, заливали остуджений живильний агар в кількості 10,0–12,0 мл. Воду швидко змішували з агаром, обережно нахилиючи або обертаючи чашку, уникаючи попадання середовища на краї і утворення пухирців повітря. Чашки залишали на горизонтальній поверхні до застигання середовища. Чашки з посівом поміщали в термостат вверх дном. Посіви вирощували при температурі 27 °С протягом 5 діб.

Підрахунок колоній, що вирости на поверхні і в глибині агару, робили за допомогою лупи. Якщо в чашці з найвищим розведенням виростило понад 300 колоній і аналіз не можливо було повторити, то підрахунок колоній здійснювали за допомогою рахункової пластинки з лупою при сильному бічному освітленні. Підраховували не менше 20 квадратів площею 1 см² в різних місцях чашки, виводили середнє арифметичне число колоній на 1 см², величину якого множили на площу чашки за формулою $s = \pi r^2$, де r – радіус чашки (см).

Результат підрахунку колоній на кожній чашці виражали в кількості бактерій в 1,0 мл з урахуванням проведених розведень. За остаточну кількість бактерій в 1,0 мл досліджуваної води або розведення приймають середнє арифметичне з результатів підрахунку на двох паралельних чашках.

Облік кількості колоній проводили також, орієнтуючись на одну чашку у випадках, якщо на іншій: а) при посіві з розведення виростило менше 20 колоній;

б) повзучий ріст бактерій, що розповсюдився на всю поверхню чашки або значні зони, маскує ріст інших колоній; в) кількість колоній перевищувала 300 [3–5].

Виклад основного матеріалу дослідження. Для збільшення запасу кормів в нерестових ставках по берегах, відповідно до технології вирощування риби, на відстані 10–20 см від води облаштовували дафнієві ями розміром метр на три, глибиною від 10 до 50 см. У них поміщали 8 кг свіжого коров'ячого гною і 2 кг сухого сіна. Потім яму заливали ставковою водою і вносили дафній, яких вилловлювали у ямах, канавах і калюжах, що добре прогриваються. Через 3–5 днів після нересту коропа, коли в ямах розмножувалася велика кількість дафній, ями з'єднували канавою зі ставком, і дафні переходили у ставок з потоком води. За нормами на 1 га ставу влаштовують від 5 до 20 ям.

Результати санітарно-мікробіологічних досліджень води і ґрунту на вміст у них гетеротрофних мікроорганізмів, які належать до першого трофічного рівня, представлено на рис. 1 і 2.

Аналізуючи дані представлені на рис. 1 видно, що найбільша кількість гетеротрофних сапрофітних мікроорганізмів, які росли за температури +18 °С після заливання нерестових ставків водою містилася у водах ставків приблизно в однаковій кількості, проте все ж таки найвища їх кількість була у ставку № 3. Після нересту кількість автохтонних мікроорганізмів у воді нерестових ставків зроста майже втричі, що на нашу думку зв'язано з більшим прогріванням води і, відповідно, інтенсифікацією росту мікробів. Саме вони є кормом для дафній, а останні для личинки коропа у перші дні життя.

Найвища кількість гетеротрофних автохтонних мікроорганізмів виявилася у воді нерестового ставка № 2, дещо нижчою вона виявилася у ставку № 3 і найнижчою у ставку № 1 і становила відповідно 94×10^3 КУО/см³, 90×10^3 і 88×10^3 КУО/см³.

Результати санітарно-мікробіологічних досліджень ґрунтів нерестових ставків на вміст у них гетеротрофних автохтонних мікроорганізмів представлено на рис. 2. З аналізу наведених на рисунку даних видно, що їх кількість у ґрунтах на

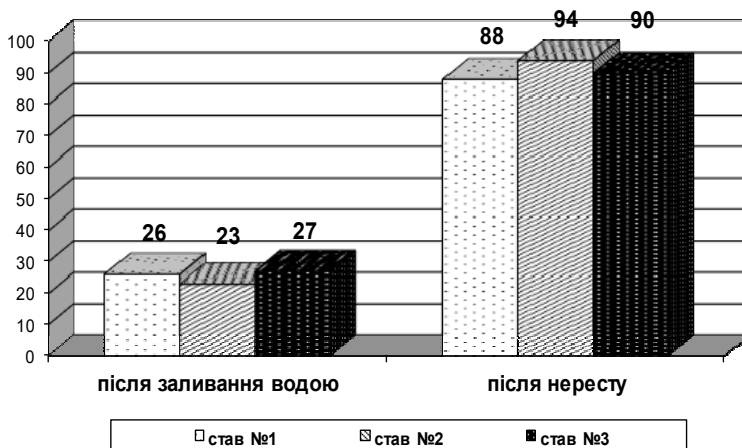


Рис. 1. Вміст гетеротрофних автохтонних мікроорганізмів у воді нерестових ставків ($\times 10^3$ КУО/см³)

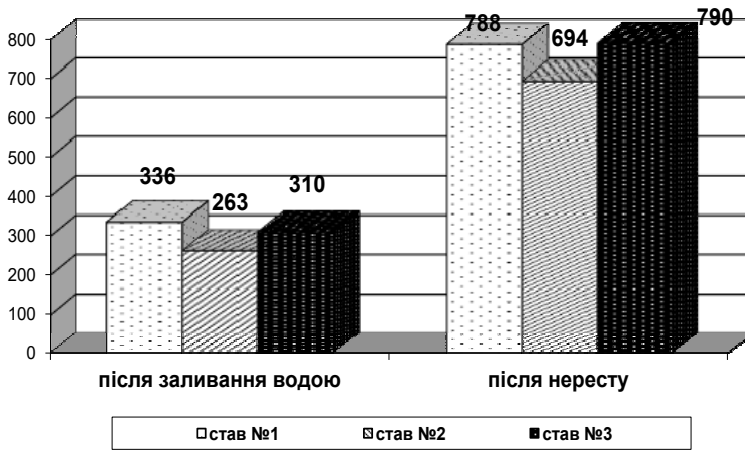


Рис. 2. Вміст гетеротрофних автохтонних мікроорганізмів у ґрунтах нерестових ставків ($\times 10^5$ КУО/см³)

два порядки переважала кількість мікрофлори, що виявлялася у воді, після заливання ставків водою кількість мікроорганізмів у ґрунті була вищою порівняно із водою ставка № 1 у 12,9 разів, ставка № 2 у 11,4 разів і ставка № 3 у 11,5 разів. Це свідчить, що основна кількість гетеротрофних автохтонних мікроорганізмів міститься у ґрунтах ставків, так як вона краще росте будучи прикріпленою до поживного субстрату на якому формує колонії. За кращого прогрівання води нерестових ставків сонячними променями кількість ґрунтової мікрофлори зростала порівняно із мікрофлорою, що виявлялася після заливання ставків водою перед нерестом і це зростання становило у ставку № 1 – 2,3 рази, ставку № 2 – 2,6 і ставку № 3 – 2,5 рази.

Поряд із гетеротрофними автохтонними мікроорганізмами у воді і ґрунтах нерестових ставків виявлялися гетеротрофні аллохтонні мікроорганізми, які росли за температури 37 °С (рис. 3 і 4).

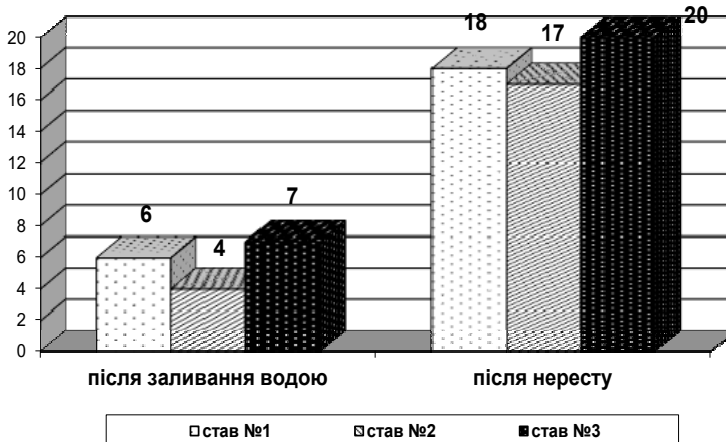


Рис. 3. Розподіл гетеротрофних аллохтонних мікроорганізмів у воді нерестових ставків ($\times 10^2$ КУО/см³)

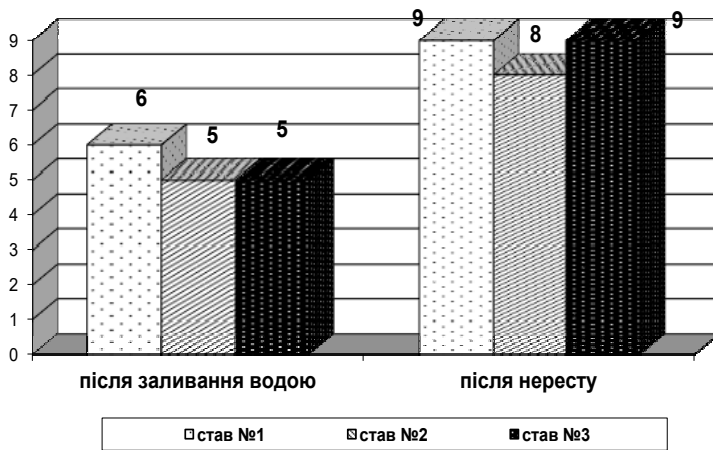


Рис. 4. Розподіл гетеротрофних аллохтонних мікроорганізмів у ґрунтах нерестових ставків ($\times 10^3$ КУО/см³)

Із даних наведених на рис. 3 видно, що гетеротрофних аллохтонних мікроорганізмів у воді нерестових ставків було на порядок нижче ніж автохтонної мікрофлори у воді і до нересту у 4,3 рази менше у першому ставку, у 5,7 разів у другому і у 3,8 разів у третьому. Після нересту кількість аллохтонної мікрофлори була нижчою порівняно із автохтонною у воді першого ставка у 4,9 разів, другого ставка у 5,5 разів і третього у 4,5 разів. Таке зниження кількості аллохтонних мікроорганізмів очевидно зв'язано із поганими умовами для їх росту, так як оптимальна температура для них становить 37 °С.

Нижчою на два порядки порівняно із автохтонною мікрофлорою виявилася і кількість гетеротрофних автотрофних мікроорганізмів у ґрунтах ставків до заливання водою і після нересту, що видно із даних наведених на рис. 4. До нересту у ґрунті нерестових ставків кількість аллохтонної мікрофлори порівняно із автохтонною була нижчою у 56,0 разів у першому ставку, у 52,6 разів у другому і у 62,0 разів у третьому. Після нересту кількість аллохтонної мікрофлори була нижчою порівняно із автохтонною у воді першого ставка у 87,5 разів, другого ставка у 86,7 разів і третього у 87,7 разів.

Зниження кількості аллохтонної мікрофлори у нерестових ставках можна пояснити як низькою температурою для її росту і розвитку, а також через конкурентну боротьбу між автохтонною і аллохтонною мікрофлорою. Саме таким способом відбувається самоочищення водойм від аллохтонної мікрофлори, серед якої можуть бути як умовно-патогенні так і хвороботворні мікроорганізми.

Висновки і пропозиції. Таким чином нами встановлено, що кількість аллохтонної мікрофлори порівняно із автохтонною у воді і ґрунті нерестових ставків була нижчою відповідно на один і два порядки.

Для забезпечення належних умов проведення нересту коропа у нерестових ставках перед внесенням у них плідників слід контролювати воду за гідрохімічними показниками, колірністю, прозорістю, показником рН, кількістю автохтонної і аллохтонної мікрофлори.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Гринжевський М.В. Інтенсифікація виробництва продукції аквакультури у внутрішніх водоймах України. К: Світ, 2000. 188 с.
2. Гриневич Н.Є., Димань Т.М., Мазур Т.Г. та ін. Дослідження впливу різних типів наповнювачів реактора біофільтра на процес формування нітрифікуючої мікрофлори в установках замкнутого водопостачання в індустріальних аквафермах. *Формування нової парадигми розвитку агропромислового сектору в XXI столітті: колективна монографія*. Львів-Торунь: Ліга-Прес, 2021. С. 478–508. <https://doi.org/10.36059/978-966-397-240-4-17>
3. ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001. Державні санітарні правила і норми. Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоймищ, ґрунті: затв. постановою Головного державного санітарного лікаря України від 20 вересня 2001 р. № 137. Київ, 2001, 3 с.
4. Закон України «Про ветеринарну медицину» В редакції Закону N 361-V (361–16) від 16.11.2006, ВВР, 2007, № 5–6, ст. 53 (із змінами станом на 18.09.2008 № 538–VI).
5. Метод визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів. МВ 15.2-5.3-004:2007. К.: Держспоживстандарт України, 2008. 220 с.
6. Гриневич Н.Є., Димань Т.М., Хом'як О.А. та ін. Моніторинг вмісту нітрифікуючих мікроорганізмів на різних наповнювачах біофільтра. *Водні біоресурси та аквакультура: науковий журнал*. 2020. № 2. С. 101–111. <https://doi.org/10.32851/wba.2020.2.10>
7. Akmukhanova N.R., Sadvakasova A.K., Torekhanova M.M. et al. Feasibility of waste-free use of microalgae in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*. 2022. Vol. 34. P. 2297–2313. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02787-y>
8. Arun D., Midhun S.J. Beneficial microbial communities in aquaculture. *Recent Advances in Aquaculture Microbial Technology*. 2023. Chapter 3. P. 35–50. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90261-8.00001-8>
9. Bentzon-Tilia M., Sonnenschein E.C., Gram L. Monitoring and managing microbes in aquaculture – towards a sustainable industry. *Microbial Biotechnology*. 2016. Vol. 9(5). P. 576–584. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12392>
10. Bruijn I., Liu Y., Wiegertjes G.F., Raaijmakers J.M. Exploring fish microbial communities to mitigate emerging diseases in aquaculture. *FEMS Microbiology Ecology*. 2018. Vol. 94(1). P. 161. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix161>
11. Dai L., Liu C., Peng L. et al. Different distribution patterns of microorganisms between aquaculture pond sediment and water. *Journal of Microbiology*. 2021. Vol. 59. P. 376–388. <https://doi.org/10.1007/s12275-021-0635-5>
12. Martínez-Córdova L.R., Emerenciano M., Miranda-Baeza A., Martínez-Porchas M. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: an updated review. *Reviews in aquaculture*. 2015. Vol. 7(2). P. 131–148. <https://doi.org/10.1111/raq.12058>
13. Matvienko N., Levchenko A., Danchuk O., Kvach Y. Assessment of the occurrence of microorganisms and other fish parasites in the freshwater aquaculture of Ukraine in relation to the ambient temperature. *Acta ichthyologica et piscatoria*. 2020. Vol. 50 (3). P. 333–348. <https://doi.org/10.3750/AIEP/02979>
14. Tang V., Zhao L., Cheng Y., Yang Y., Sun Y., Liu Q. Control of cyanobacterial blooms in different polyculture patterns of filter feeders and effects of these patterns on water quality and microbial community in aquacultural ponds. *Aquaculture*. 2021. Vol. 542. P. 736–745. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736913>
15. Zhang Z., Deng Q., Wan L., Cao X., Zhou Y., Song C. Bacterial communities and enzymatic activities in sediments of long-term fish and crab aquaculture ponds. *Microorganisms*. 2021. Vol. 9(3). P. 501. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030501>