

6. Краснопольська О. В., Куріненко Г. А. Аналіз рибницько-біологічних показників дволіток отриманих від реципрокних схрещувань антонінсько-зозуленецьких та галицьких рамчастих короїв // Рибогосподарська наука України. 2023. № 2. С. 71—82. <https://doi.org/10.15407/fsu2023.02.071>.
 7. Грішин Б. О. Результати одержання помісних короїв від схрещування антонінсько-зозуленецького і любінського внутрішньопорідних типів заводським методом // Збірник наукових праць ВНАУ. 2014. Вип. 1(83), т. 1 : Сучасні проблеми селекції, розведення та гігієни тварин. С. 93—97.
 8. Kurinenko G. A., Syrovatka D. A Characteristics of local annuals of Galician and Lyubyn carp as a component of synthetic selection // Forecasts and prospects of scientific discoveries in agricultural sciences and food : International scientific conference, August 30–31, 2022 : proceed. Latvia, Riga : Baltija Publishing, 2022. P. 122—126. <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-238-8-29>.
-

УДК [597-113.2:597.552.51]:[579.25:575.08]

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОФЛОРИ КИШЕЧНИКА РАЙДУЖНОЇ ФОРЕЛИ (*ONCORHYNCHUS MYKISS WALBAUM, 1792*) МЕТОДОМ СЕКВЕНУВАННЯ МЕТАГЕНОМНОЇ ДНК ЗА ГЕНОМ 16S рНК

Ю. П. Рудь, rudziknew@ukr.net, Інститут рибного господарства Національної академії аграрних наук України, м. Київ

Ю. М. Мандигра, julijamandygra@gmail.com, Дослідна станція епізоотології Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Рівне

О. А. Тарасов, tarasovaleksandr003@gmail.com, Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

О. М. Самолюк, sashabeluy59@gmail.com, ТОВ «Науково-виробничий центр "Форель"», с. Оконськ, Волинська обл.

Л. П. Бучацький, iridolpb@gmail.com, Інститут рибного господарства Національної академії аграрних наук України, м. Київ

І. І. Грициняк, info.iforgua@gmail.com, Інститут рибного господарства Національної академії аграрних наук України, м. Київ

Прісноводна аквакультура є важливою частиною світової аквакультури, а її подальший розвиток залежить від здатності галузі бути продуктивною та сталою. Останніми роками все більше уваги приділяють метагеномним дослідженням мікробіоти об'єктів аквакультури. Нині бактерії відіграють значну роль у здоров'ї та загальній продуктивності водних організмів, що забезпечує галузь аквакультури перспективними біотехнологічними інструментами для подальшого росту та розвитку [1].

Дослідження мікробіоти у об'єктів аквакультури спрямовані на розуміння симбіотичних або антагоністичних взаємодій між бактеріями та між бактеріями і хазяїнами, такими як риби, ракоподібні та молюски [2]. У цьому сенсі метагеноміка може забезпечити глибше розуміння цих взаємозв'язків за допомогою інформації, виявленої шляхом секвенування мікробної ДНК, виділеної з певних ніш в організмі хазяїна.

Дослідження гена 16S рНК дозволяє розрізнити бактерії до окремого таксо-

на. Раніше певні види бактерій було важко виділити та ідентифікувати, оскільки деякі з них є облигатними внутрішньоклітинними паразитами. Сучасні платформи секвенування та біоінформатичні інструменти дозволяють досліджувати різноманітність бактерій, уникаючи вивчення їх культуральних особливостей, адже для дослідження необхідна лише ДНК мікробної спільноти, а виділення мікроорганізмів та отримання чистих культур не є обов'язковим [3].

Нині секвенування гена 16S рРНК мікробіоти риб має вирішальне значення для аквакультури, оскільки може бути використане для контролю захворювань, підвищення ефективності годівлі та оптимізації виробництва. Цей метод допомагає визначити мікробіом та його вплив на здоров'я риб, ріст, засвоєння поживних речовин, а тому отримані дані дозволяють вжити заходів щодо коригування раціону, управління якістю води та потенційною розробкою пробіотиків для підвищення загальної стійкості та продуктивності системи [4].

Метою роботи було дослідження мікробіому кишечника райдужної форелі та з'ясування відповідних конфігурацій мікробної спільноти для можливості вдосконалення процесу виробництва.

У дослідженнях використовували райдужну форель (M=100 г), яку культивували в басейнах об'ємом 2,7 м³ на проточній воді без додаткової аерації. Концентрація розчиненого у воді кисню становила 8,0–10,0 мг/дм³, температура води — 12–14°C. Вибірка для дослідження складала n=10. У лабораторних умовах робили розтин черевної порожнини та вирізали фрагменти тонкого кишечника. Стерильною мікробіологічною петлею відбирали зразки вмісту кишечника та переносили в мікропробірку з лізуючим буфером із набору для виділення ДНК «Quick-DNA™ Miniprep Plus Kit» («ZymoResearch»). Виділення ДНК проводили згідно із рекомендаціями виробника для виділення ДНК з бактерій.

Перед початком досліджень концентрацію та якість ДНК оцінювали за допомогою спектрофотометра Nanodrop 2000 («ThermoFisher», USA). Для підготовки бібліотек до секвенування використовували набір для баркодування 16S 1-24, версія 14 («Oxford Nanopore», США) для ампліфікації (майже) всієї ділянки гена 16S рРНК, застосовуючи специфічні праймери з набору. Ампліфікацію та баркодування зразків проводили одночасно, дотримуючись протоколу, рекомендованого виробником «Oxford Nanopore Technologies». Для очищення ДНК після виділення та бібліотек після ПЛР-ампліфікації використовували магнітні частинки NucleoMag™ NGS Clean-up and Size Select («Macherey-Nagel») відповідно до інструкції «Oxford Nanopore Technologies». Секвенування метагеномної ДНК за геном 16S РНК проводили на приладі ONT MinION Mk1B («Oxford Nanopore», GB) з проточною коміркою Spot-on Flow Cell R10.4.1 (S/N B024119718) (FLO-MIN114, «Oxford Nanopore», GB) відповідно до протоколів виробника. Концентрацію ДНК визначали за допомогою флуориметра (Qubit v.3, «Thermo Fisher Scientific», США) та набору Qubit 1xdsDNA HS assay kit («Invitrogen», США). Чистоту ДНК визначали на спектрофотометрі Nanodrop 1000 («Thermo Fisher Scientific», США).

Результати роботи показали, що досліджувані зразки містили різноманітні мікробні спільноти. У складі мікробіоти були виявлені мікроорганізми, які належали до 3 типів (Pseudomonadota — 65,0%, Fusobacteriota — 22,5%, Bacillota — 12,5%), з домінуванням *Pseudomonas fluorescens* (56,25%) та типовою кишковою бактерією риб *Cetobacterium somerae* (22,5%). Також виявлені бактерії *Aeromonas*

sobria (6,25%), *Staphylococcus epidermidis* (6,25%), *Clostridium tertium* (6,25%) та *Shewanella putrefaciens* (2,5%). Такий мікробний профіль частково узгоджується з мікробіотою/спойлінг-флорою прісноводних видів лососевих риб. Чистота препаратів ДНК відповідала очікуванням для ампліконів 16S рРНК. На етапах біоінформатичного аналізу було застосовано відповідні фільтри довжини/якісних метрик, що підтверджує валідність отриманих результатів.

Екосистема рибогосподарської водойми являє собою складне середовище, де взаємодіють мікроорганізми у воді, донних відкладах та кишечнику вирощуваних об'єктів аквакультури, що впливає на ріст, виживання, кругообіг поживних речовин та виникнення захворювань. Кишкова мікробіота сприяє засвоєнню поживних речовин, розвитку та здоров'ю, тоді як мікробіота навколишнього середовища (осад та вода) відіграє певну роль у якості води та кругообігу поживних речовин. Збільшення чисельності певних груп бактерій, що призводить до зміни балансу мікробної екосистеми, може мати кілька негативних наслідків. Ці наслідки включають посилене поширення патогених та умовно-патогенних бактерій та потенційні спалахи захворювань [5–7].

У процесі онтогенезу водна мікробіота впливає на мікробіоту кишечника на ранніх личинкових стадіях, а пізніше модифікується шляхом введення різних типів їжі [8]. Подібність та відмінності в кишкових мікробних спільнотах особин різного розміру та статі, вирощених за однакових умов, вказує на те, що розмір тіла та стать є потенційно важливими чинниками, які незалежно або спільно формують склад та чисельність кишкової мікробіоти [9]. Вік риби визначається як чинник, що впливає на різноманітність кишкової мікробіоти мальків та дорослих особин лососевих. Однак комплексні дослідження для різних видів лососевої аквакультури в звичайних умовах виробництва проводяться рідко [10].

Результати цього дослідження сприятимуть розумінню складу мікрофлори райдужної форелі та в комплексі з масштабнішими експериментами допоможуть у профілактиці та лікуванні захворювань в майбутньому. Для розуміння функціональної взаємодії та зв'язку між бактеріями й іншими представниками мікробіоти і хазяїна дуже важливими є більш інноваційні дослідження, такі як метагеноміка, метатранскриптоміка, метапротеоміка або метаболоміка. Такі методи можуть надати життєво важливу інформацію щодо функціональної взаємодії між мікроорганізмами та їх хазяїном. Застосування секвенування 16S рРНК у рециркуляційній аквасистемі (RAS) надасть практичну основу для раннього виявлення потенційних патогенів, що дозволить виробнику своєчасно вжити заходів до виникнення спалахів захворювань і це буде предметом наших подальших досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Parata L., Sammut J. Egan S. Opportunities for microbiome research to enhance farmed freshwater fish quality and production // *Rev Aquacult.* 2021. Vol. 13(4). P. 2027—2037. <https://doi.org/10.1111/raq.12556>.
2. Aquaculture industry prospective from gut microbiome of fish and shellfish: An overview / Diwan A. D. et al. // *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 2022. Vol. 106(2). P. 441—469. <https://doi.org/10.1111/jpn.13619>.
3. Nanopore-Based Metagenomic Approaches for Detection of Bacterial Pathogens in Recirculating Aquaculture Systems / Valenzuela-Miranda D. et al. // *Fishes.* 2025. Vol. 10(10). 496. <https://doi.org/10.3390/fishes10100496>.

4. Integrating short- and full-length 16S rRNA gene sequencing to elucidate microbiome profiles in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) ponds / Rajonhson D. M. et al. // Microbiol Spectr. 2024. Vol. 12(11). e00965-24. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00965-24>.
 5. Correlation of microbiota in the gut of fish species and water / Zeng A. et al. // 3 Biotech. 2020. Vol. 10. 472. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02461-5>.
 6. Response mechanism of gut microbiome and metabolism of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) to temperature stress / Liu Y. et al. // Science of The Total Environment. 2022. Vol. 813. 151786. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151786>.
 7. Influence of aquaculture practices on microbiota composition and pathogen abundance in pond ecosystems in South China / Niu S. et al. // Water Research X. Vol. 27. 100302. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2025.100302>.
 8. Fish microbiomics: Strengths and limitations of MinION sequencing of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) intestinal microbiota / Toxqui-Rodríguez S. et al. // Aquaculture. 2023. Vol. 569. 739388. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739388>.
 9. Key Differences in the Gut Microbiota of Red-Claw Crayfish *Cherax quadricarinatus* with Different Sizes and Genders Under Consistent Farming Conditions / Li W. F. et al. // Biology. 2025. Vol. 14(9). 1209. <https://doi.org/10.3390/biology14091209>.
 10. Core microbiome profiles and their modification by environmental, biological, and rearing factors in aquaculture hatcheries / Najafpour B. et al. // Marine Pollution Bulletin. 2023. Vol. 193. 115218. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115218>.
-
-