

УДК 619:614.777:639.2.09

DOI <https://doi.org/10.32851/wba.2020.2.10>

МОНІТОРИНГ ВМІСТУ НІТРИФІКУЮЧИХ МІКРООРГАНІЗМІВ НА РІЗНИХ НАПОВНЮВАЧАХ БІОФІЛЬТРА

Гриневич Н.Є. – д.вет.н., професор,

Димань Т.М. – д.с.-г.н., професор,

Хом'як О.А. – к.с.-г.н., доцент,

Присяжнюк Н.М. – к.вет.н., доцент,

Мазур Т.Г. – к.вет.н., доцент,

Білоцерківський національний аграрний університет,

ihziozoolog@ukr.net

Особливістю вирощування риби в рециркуляційних аквасистемах є використання мінімальної кількості води. Проте в процесі життєдіяльності риби у воді систем замкнутого водопостачання (УЗВ) накопичується амоній, нітрити, нітрати і завислі речовини, які тією чи іншою мірою впливають на здоров'я риби. Значну небезпеку у воді чинить нітроген у формі вільного амоніаку, який є токсичний для риб і має бути перетворений у біологічному фільтрі в нешкідливий нітрат. Біофільтр складається з циліндричного реактора, де розміщується наповнювач, призначений для збільшення контактної поверхні і забезпечення росту бактерій. У біофільтрі відбуваються аеробні та анаеробні процеси, які забезпечують видалення забруднень у вигляді амонію, що продукується рибою, і вуглекислого газу, який утворюється із неспожитих кормів і фекалій. Процес перетворення нітритів в нітрати відбувається за участі нітрифікуючих мікроорганізмів, які заселяють наповнювач реактора біофільтру. Надалі денітрифікуючі бактерії перетворюють нітрати до атмосферного азоту. Від наповнювача біофільтра залежить швидкість нітрифікуючих і денітрифікуючих процесів в реакторі УЗВ. Нами було досліджено вплив різних видів наповнювачів реактора біофільтра на кількісний вміст нітрифікуючих мікроорганізмів за введення наповнювача в технологічний процес і тривалості досліду 25 діб.

Моніторинг вмісту мікроорганізмів-нітрифікаторів у воді реактора біофільтра УЗВ впродовж основного періоду запуску (25 діб) показав, що за використання різних наповнювачів процеси колонізації біофільтра мікроорганізмами-нітрифікаторами можуть перебігати з різною інтенсивністю. Найінтенсивніше колонізація біофільтра відбувалась за використання наповнювача Kar-sib (Україна), дещо повільніше – за використання наповнювачів AQ-15 (Данія) та Aquatag (Україна), однак виявлені відмінності незначні.

Загалом кількість бактерій нітрифікації у воді реактора біофільтра з різними пропіленовими наповнювачами на 25-у добу використання становила $8,1\text{--}8,5 \log \text{ КУО/см}^3$. Отримані результати доводять, що наповнювачі біофільтра вітчизняного виробництва не поступаються за своїми виробничими характеристиками зарубіжним аналогам, можуть успішно використовуватись в установках замкнутого водопостачання і бути взаємозамінними.

Ключові слова: бактерії нітрифікації, установки замкнутого водопостачання, наповнювач біофільтра, біоплівка, райдужна форель.

Постановка проблеми. Особливістю вирощування риби в рециркуляційних аквасистемах є використання мінімальної кількості води. Однак у процесі життєдіяльності риби у воді систем замкнутого водопостачання (УЗВ) накопичується амоній, нітрити, нітрати і завислі речовини, які тією чи іншою мірою впливають на здоров'я риби. Значну небезпеку для риб становить нітроген у формі амоніаку, який токсичний і має бути перетворений у нешкідливий нітрат у біологічному фільтрі. Біофільтр складається з циліндричного реактора, де розміщується наповнювач, призначений для збільшення контактної поверхні і забезпечення росту бактерій. У біофільтрі перебігають аеробні та анаеробні процеси, які забезпечують видалення забруднень у вигляді амонію, що продукується рибою, і вуглекислого газу, який утворюється із неспожитих кормів і фекалій. Процес перетворення нітритів в нітрати відбувається за участі нітрифікуючих мікроорганізмів, які заселяють наповнювач реактора біофільтру. Далі денітрифікуючі бактерії перетворюють нітрати до атмосферного азоту. Відтак, від наповнювача біофільтра залежить швидкість перебігу процесів нітрифікації та і денітрифікації в реакторі УЗВ. Створення у біофільтрах сприятливих умов для існування біоценозів забезпечує УЗВ від токсичної дії нітритів. З огляду на це дослідження впливу різних видів наповнювачів реактора біофільтра на кількісний вміст нітрифікуючих мікроорганізмів має важливе практичне значення.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Вода, що потрапляє в УЗВ, піддається механічному і біологічному очищенню. Механічне очищення та дезінфекцію води здійснюють за використання кисню, температури, озону, ультрафіолетового випромінювання, величини рН та ін. Біологічне очищення здійснюють мікроорганізми, які в УЗВ беруть участь у біологічному окисненні та окисно-відновних реакціях. Оброблення води найбільшою мірою впливає на приріст біомаси і активність риби, а також на споживання кисню системою. Процесами механічного очищення управляти порівняно легко, тимчасом процеси, які перебігають у біологічних системах і базуються на взаємодії між живими організмами та між ними і чинниками довкілля, важко піддаються контролю. У зв'язку з цим роботи численних дослідників спрямовано на вивчення механізмів біологічного очищення води, зокрема функціонування біофільтрів УЗВ [1; 2; 6; 13; 17].

Schreier et al. [15], вивчаючи склад мікрофлори біоплівки у системах з рециркуляцією води, відносять бактерій до однієї з двох основних груп: 1) гетеротрофи – які у фільтрі і у водному потоці мінералізують майже всі органічні речовини, представлені вуглеводами, амінокислотами, білками і ліпідами, що надходять з неспожитим кормом, екскрементами риби тощо; 2) автотрофи – які використовують вуглекислий газ як джерело вуглецю і добувають енергію через окиснення неорганічних азотовмісних сполук. У ході мінералізації азоту в складі протеїнів виділяється амоній (NH_4^+).

Цей процес ініціюється і перебігає за посередництва протеаз і дезаміназ бактерій. Крім того, амоній виділяється безпосередньо рибою [10; 11].

Під час експлуатації УЗВ у фільтрах функціонує гетерогенна група філогенетично не пов'язаних хемолітоавтотрофних суто аеробних бактерій [4]. Вони здійснюють нітрифікацію, тобто перетворюють амоній у нітрит і потім – у менш токсичний нітрат [2; 5]. Цей механізм сприяє очищенню води, яка надходить у біофільтр. Нітрифікація здійснюється двома бактеріальними фракціями: фіксованою фракцією (прикріплена до наповнювача) і планктонною (плаваючою). Основними лімітуючими чинниками для нітрифікуючої біоплівки слугують загальний амонійний азот і концентрація розчиненого кисню. Grove J. A. [7] зазначає, що цей процес перебігає максимально активно за концентрації кисню 80 %, а за концентрації кисню нижче 2 мг/дм³ він припиняється. Крім того, рівень нітрифікації в біоплівці можна виразити як баланс між потребою в субстраті (наповнювачі) внаслідок росту біомаси і наявністю вільного простору, зумовленого процесами дифузії [3; 12; 14].

Бактерії відіграють головну роль у вилученні і окисненні органічних домішок з води. Основна частина бактерій знаходиться у верхній зоні біофільтра на глибині до 0,5 м. Там же інтенсивно розвиваються гриби, нитчасті бактерії, безбарвні джгутикові, водорості, відбувається інтенсивний приріст біомаси за відносно невеликого видового різноманіття. У середній зоні біофільтра у зв'язку зі зменшенням кількості поживних речовин зменшується чисельність гетеротрофів (грибів і бактерій, особливо нитчастих). За меншого приросту біомаси спостерігається більше різноманіття мікроорганізмів. Нижня зона біофільтра характеризується більшим видовим різноманіттям організмів за малої їх чисельності і невеликої кількості біомаси.

Мають місце сезонні коливання видового складу біоплівки. Представники біоценозів біоплівки біофільтра пов'язані між собою харчовими відносинами. Нижчу ланку чи перший трофічний рівень у ланцюгу живлення становлять гетеротрофні бактерії, гриби, сайрозойні найпростіші; другий – голозойні найпростіші, які живляться бактеріями; третій – багатоклітинні організми [9]. Через шар біоплівки біофільтра здійснюється пульсуюча нестаціонарна фільтрація стічної води. На поверхні і в об'ємі біоплівки біофільтра паралельно перебігають такі процеси: вилучення речовин, які перебувають у нерозчиненому та розчиненому вигляді; біодеградація органічних забруднень; енергетичний і конструктивний метаболізм. Нормальний перебіг біохімічних процесів окиснення забезпечується за рахунок дифузії кисню із газової фази (повітря) у рідку фазу, а потім у клітину. За товщиною шару біоплівки розрізняють зони сприятливого (верхній шар) і несприятливого (нижній шар) кисневого режимів, у яких переважно розвиваються відповідно аеробні та анаеробні мікроорганізми [4; 8].

Особливості перебігу зазначених процесів важливо враховувати під час вирощування райдужної форелі в установках замкнутого водопостачання. Існує низка не вирішених проблем у цій галузі, пов'язаних з успішним запуском і подальшим функціонуванням УЗВ. У науковій літературі достатньою мірою представлено ветеринарно-санітарні заходи, вимоги гігієни та санітарії, яких слід дотримуватися у форелівництві. Водночас недостатньо вивчено вплив різних типів наповнювачів реактора біофільтра на процес формування нітрифікуючої і денітрифікуючої мікрофлори під час запуску УЗВ, особливості процесу формування мікробних біоплівки на різних типах наповнювачів реактора, не деталізовано особливостей санітарії і гігієни за використання мікробіологічних стартерів наповнювача реактора біофільтра для швидкого формування нітрифікуючого мікробіоценозу, відсутня токсикологічна оцінка мікробіологічного стартера наповнювача біофільтра та ін.

Метою роботи було дослідження впливу різних типів наповнювачів реактора біофільтра на процес формування нітрифікуючої мікрофлори в установках замкнутого водопостачання за вирощування райдужної форелі.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводили в умовах фермерського господарства з вирощування райдужної форелі. Підприємство працює за використання системи замкнутого водопостачання. Для порівняльних досліджень було використано три види наповнювачів біофільтра, які широко використовують у сучасних індустріальних форелевих господарствах (рис. 1). Їхні характеристики наведено у таблиці 1. Воду для досліджень на вміст мікрофлори відбирали безпосередньо із біофільтра, де наповнювач вільно плаває. Визначали вміст нітрифікуючих мікроорганізмів відповідно до методики, описаної Spieck et al. [16].

Визначення кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра проводили через 5, 15 та 25 діб використання наповнювача у трьохкратній повторності.



Рис. 1. Біозавантаження реактора біофільтра із поліпропілену: 1 – AQ-15 (Данія); 2 – Kar-sib (Україна), 3 – Aquamag (Україна)

Таблиця 1. Характеристика різних видів наповнювача біофільтра

Характеристика	Вид біонаповнювача		
	AQ-15	Kar-sib	Aquamag
Матеріал, з якого виготовлено	поліпропілен високої щільності	пропілен	поліпропілен
Корисна (робоча поверхня), м ² /м ³	480	635	600
Діаметр, мм	15/15	15/15	25/12

Результати досліджень та їх обговорення. Динаміка чисельності нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з поліпропіленовими елементами як наповнювачем свідчить, що найбільш інтенсивно мікроорганізми заселяють наповнювач у перші п'ять днів після введення біофільтра в експлуатацію. На рисунку 2 представлено результати досліджень кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювача AQ-15 данського виробництва. Період росту нітрифікуючих мікроорганізмів на поліпропілені AQ-15, який тривав перші п'ять діб досліджу, характеризувався досить високою кількістю нітрифікаторів у воді реактора біофільтра – 3,2 lg КУО/см³. Наступний період інтенсивного розмноження бактерій–нітрифікаторів – з 15 по 25 добу, коли їх кількість у воді порівняно з періодом формування біоплівки (перші 15 діб) різко зросла і знаходилась у межах 5,8–8,5 log КУО/см³. В останні п'ять діб досліджу кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді біофільтра зростала поступово, що свідчило про завершення колонізації наповнювача AQ-15 нітрифікаторами.

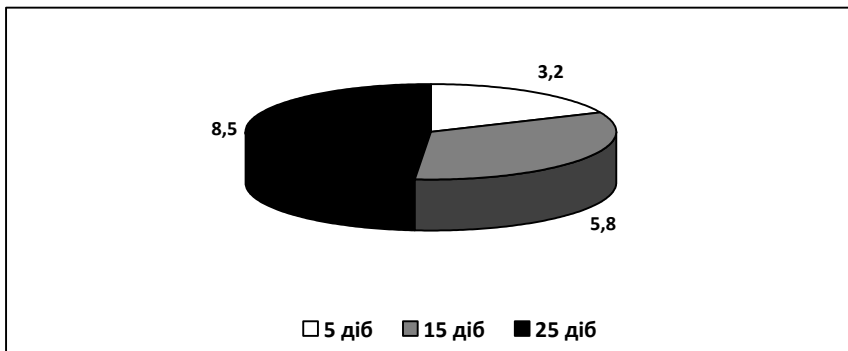


Рис. 2. Динаміка кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювача AQ-15 (log КУО/см³)

У випадку використання наповнювача Kar-sib також відбувались динамічні зміни кількості мікроорганізмів у воді реактора біофільтра (рис. 3). На 5-у добу після запуску реактора кількість мікробів у воді

становила $3,1 \lg \text{ КУО}/\text{см}^3$, на 15-у – $4,7 \lg \text{ КУО}/\text{см}^3$. Максимально кількість мікроорганізмів зростала у період з 15 по 25 добу і наприкінці досліджу становила $8,4 \lg \text{ КУО}/\text{см}^3$. Кількісне збільшення мікроорганізмів у воді реактора при запуску біофільтра за використанням наповнювача Kar-sib вказує на завершення колонізації біофільтра нітрифікуючими мікроорганізмами.

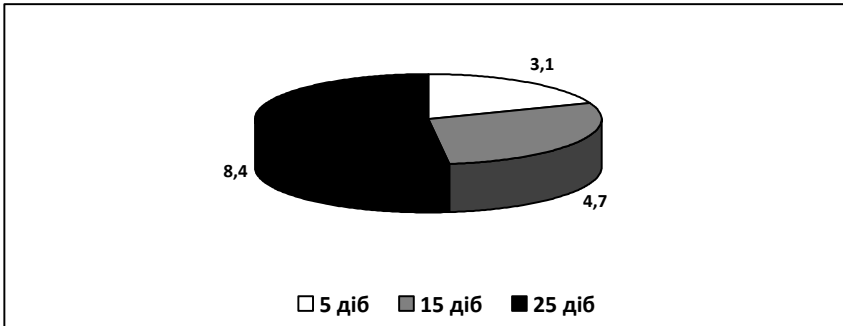


Рис. 3. Динаміка кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювача Kar-sib ($\lg \text{ КУО}/\text{см}^3$)

Аналізуючи роботу реактора біофільтра за використання поліпропіленового наповнювача Aquatag, відмічено, що як і за використання наповнювачів AQ-15 та Kar-sib, мікроорганізми-нітрифікатори розмножувалися у воді біофільтра досить динамічно (рис. 4). Однак темп наростання кількості нітрифікаторів у воді біофільтра у різні періоди досліджу був повільнішим, ніж у випадку з двома попередніми наповнювачами. Максимальна кількість бактерій нітрифікації, яку вдалося зафіксувати у воді на 25-у добу використання наповнювача Aquatag, становила в середньому $8,1 \lg \text{ КУО}/\text{см}^3$.

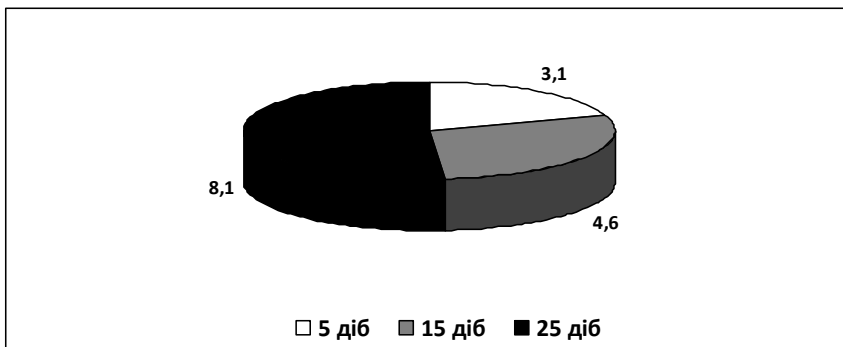


Рис. 4. Динаміка кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювача Aquatag ($\lg \text{ КУО}/\text{см}^3$)

Моніторинг середньої кількості нітрифікуючих мікроорганізмів за використання різних наповнювачів біофільтра впродовж 25 діб показав, що найшвидше вони колонізували біофільтр, у якому наповнювачем був Kar-sib, дещо повільніше – з наповнювачами AQ-15 і Aquamag (рис. 5). Динаміка заселення мікроорганізмами останніх двох наповнювачів була на однаковому рівні.

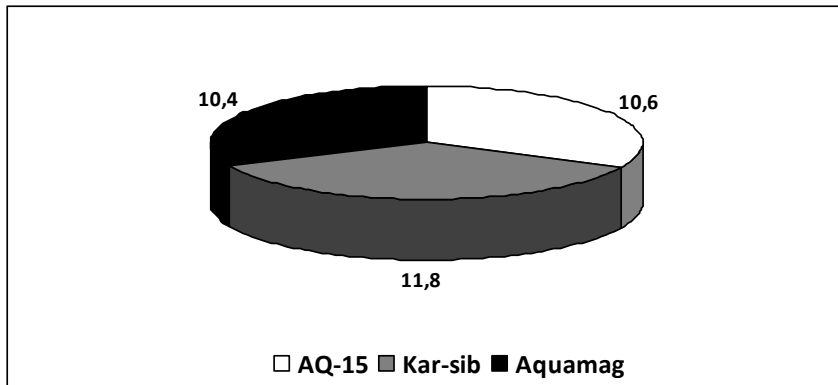


Рис. 5. Зміни кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювачів AQ-15, Kar-sib, Aquamag (log КУО/см³)

Моніторинг вмісту бактерій нітрифікації у воді реактора біофільтра установки замкнутого водопостачання для вирощування райдужної форелі впродовж основного періоду запуску (25 діб), показав, що за використання різних наповнювачів процеси колонізації біофільтра мікроорганізмами-нітрифікаторами можуть перебігати з різною інтенсивністю. Найінтенсивніше колонізація біофільтра відбувалась за використання наповнювача Kar-sib, дещо повільніше – за використання наповнювачів AQ-15 та Aquamag, однак виявлені відмінності незначні.

Висновки з дослідження та перспективи подальшого розвитку в цьому напрямі. Досліджені пропіленові наповнювачі біофільтра AQ-15, Aquamag та Kar-sib практично рівноцінні за спроможністю колонізувати нітрифікуючу мікрофлору. Загалом кількість бактерій нітрифікації у воді реактора біофільтра з різними пропіленовими наповнювачами на 25-у добу використання становила 8,1–8,5 log КУО/см³. Отримані результати доводять, що наповнювачі біофільтра вітчизняного виробництва не поступаються за своїми виробничими характеристиками зарубіжним аналогам, можуть успішно використовуватись в установках замкнутого водопостачання і бути взаємозамінними. Науковий і практичний інтерес становить також вивчення інтенсивності колонізації біофільтра денітрифікуючою мікрофлорою за використання різних видів наповнювачів.

MONITORING OF THE CONTENT OF NITRIFYING MICROORGANISMS ON DIFFERENT BIOFILTER FILLERS

Grynevych N.E. – doctor Vet. Sciences, Professor,
Dyman T.M. – doctor Agricultural Sciences, Professor,
Khomiak O.A. – candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor,
Prysiazhniuk N.M. – candidate Vet. Sciences, Associate Professor,
Mazur T.G. – candidate Vet. Sciences, Associate Professor,
Bila Tserkva National Agrarian University,
ihziozoolog@ukr.net

A feature of fish farming in recirculating aquasystems is the use of a minimum amount of water. However, ammonium, nitrites, nitrates and suspended solids accumulate in the RAS and the life of fish, which to some extent affect the health of fish. Nitrogen in the form of free ammonia, which is toxic to fish and must be converted into a harmless nitrate in a biological filter, poses a significant danger to water. The biofilter consists of a cylindrical reactor, which houses a filler designed to increase the contact surface and ensure the growth of bacteria. Aerobic and anaerobic processes take place in the biofilter, which ensure the removal of contaminants in the form of ammonium produced by fish and carbon dioxide, which is formed from unconsumed feed and feces. The process of conversion of nitrites into nitrates occurs with the participation of nitrifying microorganisms, which enhance the filler of the biofilter reactor. In the future, denitrifying bacteria convert nitrates to atmospheric nitrogen. The rate of nitrifying and denitrifying processes in the ultrasonic reactor depends on the biofilter filler. We investigated the effect of different types of fillers on the biofilter reactor on the quantitative content of nitrifying microorganisms during the introduction of the filler into the process and the duration of the experiment was 25 days.

Monitoring of the content of nitrifying microorganisms in the water of the ultrasonic biofilter reactor during the main start-up period (25 days) showed that with the use of different fillers the processes of colonization of the biofilter by nitrifying microorganisms can proceed with different intensity. The most intensive colonization of the biofilter took place with the use of Kar-sib filler (Ukraine), somewhat slower – with the use of AQ-15 fillers (Denmark) and Aquamag (Ukraine), but the differences were insignificant.

In general, the number of nitrification bacteria in the water of the biofilter reactor with different propylene fillers on the 25th day of use was 8.1–8.5 log CFU / cm³. The obtained results prove that biofilter fillers of domestic production are not inferior in their production characteristics to foreign analogues, can be successfully used in closed water supply systems and are interchangeable.

Keywords: nitrification bacteria, recirculating aquatic system, biofilter filler, biofilm, rainbow trout.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гриневич Н.С., Хом'як О.А., Присяжнюк Н.М., Михальський О.Р. Аналіз гідротехнологічної складової індустріальних акваферм за замкнутого водопостачання. *Водні біоресурси та аквакультура: науковий журнал*. 2019. № 2. С. 59–76. doi.org/10.32851/wba.2019.2.5

2. Гриневич Н.С., Димань Т.М., Кухтин М.Д. Використання різних типів наповнювача біофільтра для забезпечення санітарно-гігієнічних умов відтворення та вирощування райдужної форелі в системі замкнутого водопостачання: методичні рекомендації. Біла Церква, 2018. 14 с.
3. Велдре И.А., Роома М.Я. Токсическое воздействие нитритов на рыб. *Экология*. 1990. № 11. С. 71–73.
4. Гидрохимические показатели состояния окружающей среды : справочные материалы / под ред. Т. В. Гусевой. Москва, 2007. 192 с.
5. Головки А.Н., Ушкалов В.А., Скрыпник В.Г. и др. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине : справочное пособие / под ред. А.Н. Головки. Харьков, 2007. 512 с.
6. Avnimelech Y. (2006). “Bio-filters: the need for a new comprehensive approach”. *Aquacultural Engineering*, No. 34, pp. 172–178.
7. Grove J.A., Kautola H., Javadpour S., Moo-Young M. and Anderson, W.A. (2004). “Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter”. *Journal Biochemical Engineering*, Vol. 18, pp. 111–114.
8. Grynevych N., Dyman T., Kukhtyn M. and Semaniuk, N. (2017). “Composition of psychrotrophic microflora of water and biofilter filler in recirculation aquaculture system on trout farm”. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, Vol. 8(3), pp. 900–905.
9. Guerdat T.C., Losordo T.M., Classen J.J., Osborne J.A. and De Long, D. (2011). “Evaluating the effects of organic carbon on biological filtration performance in a large scale recirculating aquaculture system”. *Aquacultural Engineering*, Vol. 44, pp. 10–18.
10. Gutierrez-Wing M.T. and Malone, R.F. (2006). “Biological filters in aquaculture: trends and research directions for freshwater and marine applications”. *Aquacultural Engineering*, No.34, pp. 163–171.
11. Drennan D.G., Hosler K.C., Francis M., Weaver D., Aneshansley E., Beckman G., Johnson C.H. and Cristina, C.M. (2005). “Standardized evaluation and rating of biofilters. Manufacturer’s and user’s perspective”. *Aquacultural Engineering*, Vol. 34, pp. 403–416.
12. Eding E.H., Kamstra A., Verreth J.A.J., Huisman E.A. and Klapwijk, A. (2006). “Design and operation of nitrifying trickling filters in recirculating aquaculture: A review”. *Aquacultural Engineering*, Vol. 34, pp. 234–260.
13. Kristensen T., Atland A., Rosten T., Urke H.A. and Rosseland, B.O. (2009). “Important influentwater quality parameters at freshwater production systems in two salmon producing countries”. *Aquacultural Engineering*, Vol. 41, pp. 53–59.
14. Krumins K., Ebeling J.M. and Wheaton, F. (2001). “Ozone’s effects on power-law particle size distribution in recirculating aquaculture systems”. *Aquacultural Engineering*, Vol. 25, pp. 13–24.

15. Schreier H.J., Mirzoyan N. and Saito, K. (2010). "Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems". *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 21, pp. 318–325.
16. Spieck, E.C., Hartwig, I., McCormack, F., Maixner, M. (2006). Selective enrichment and molecular characterisation of a previously uncultured Nitrospira-like bacterium from activated sludge. *Environ. Microbiol.*, Vol. 8, pp. 405–415.
17. Wietz M., Halla M.R. and Høj, L. (2009). "Effects of seawater ozonation on biofilm development in aquaculture tanks". *Systematic and Applied Microbiology*, Vol. 32, pp. 266–277.

REFERENCES

1. Hrynevych N.Ie., Khomiak O.A., Prysiazhniuk N.M., Mykhalskyi O.R. (2019). *Analiz hidrotekhnologichnoi skladovoi industrialnykh akvaferm za zamknutoho vodopostachannia* [Analysis of a hydrotechnological component of industrial aquaferms for a closed water supply]. *Vodni bioresursy ta akvakultura: naukovyi zhurnal*. No 2, 59–76. doi.org/10.32851/wba.2019.2.5. [in Ukrainian].
2. Hrynevych N.Ie., Dyman T.M., Kukhtyn M.D. (2018). *Vykorystannia riznykh typiv napovniuvacha biofiltra dlia zabezpechennia sanitarno-hihienichnykh umov vidtvorennia ta vyroshchuvannia raiduzhnoi foreli v systemi zamknutoho vodopostachannia* [The use of different types of biofilter filler to ensure sanitary and hygienic conditions for reproduction and cultivation of rainbow trout in a closed water supply system]: metodychni rekomendatsii. Bila Tserkva. [in Ukrainian].
3. Veldre I.A., Rooma M. Ya. (1990). *Toksicheskoe vozdeystvie nitritov na ryib* [Toxic effects of nitrites on fish]. *Ekologiya*. No 11, 71–73. [in Russian].
4. Guseva T.V. (2007). *Gidrohimicheskie pokazateli sostoyaniya okruzhayushey sredy* [Hydrochemical indicators of the state of the environment]: spravochnyie materialyi. Moscow. [in Russian].
5. Golovko A.N., Ushkalov V.A., Skrypnyk V.G. (2007). *Mikrobiologicheskie i virusologicheskie metody issledovaniy v veterinarnoy meditsine* [Microbiological and virological research methods in veterinary medicine]: spravochnoe posobie. Kharkiv. [in Ukrainian].
6. Avnimelech Y. (2006). "Bio-filters: the need for a new comprehensive approach". *Aquacultural Engineering*, No. 34, pp. 172–178.
7. Grove J.A., Kautola H., Javadpour S., Moo-Young M. and Anderson, W.A. (2004). "Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter". *Journal Biochemical Engineering*, Vol. 18, pp. 111–114.
8. Grynevych N., Dyman T., Kukhtyn M. and Semaniuk, N. (2017). "Composition of psychrotrophic microflora of water and biofilter filler

- in recirculation aquaculture system on trout farm*". *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Vol. 8(3), pp. 900–905.
9. Guerdat T.C., Losordo T.M., Classen J.J., Osborne J.A. and De Long, D. (2011). "Evaluating the effects of organic carbon on biological filtration performance in a large scale recirculating aquaculture system". *Aquacultural Engineering*, Vol. 44, pp. 10–18.
 10. Gutierrez-Wing M.T. and Malone, R.F. (2006). "Biological filters in aquaculture: trends and research directions for freshwater and marine applications". *Aquacultural Engineering*, No. 34, pp. 163–171.
 11. Drennan D.G., Hosler K.C., Francis M., Weaver D., Aneshansley E., Beckman G., Johnson C.H. and Cristina, C.M. (2005). "Standardized evaluation and rating of biofilters. Manufacturer's and user's perspective". *Aquacultural Engineering*. Vol. 34, pp. 403–416.
 12. Eding E.H., Kamstra A., Verreth J.A.J., Huisman E.A. and Klapwijk, A. (2006). "Design and operation of nitrifying trickling filters in recirculating aquaculture: A review". *Aquacultural Engineering*, Vol. 34, pp. 234–260.
 13. Kristensen T., Atland A., Rosten T., Urke H.A. and Rosseland, B.O. (2009). "Important influentwater quality parameters at freshwater production systems in two salmon producing countries". *Aquacultural Engineering*, Vol. 41, pp. 53–59.
 14. Krumins K., Ebeling J.M. and Wheaton, F. (2001). "Ozone's effects on power-law particle size distribution in recirculating aquaculture systems". *Aquacultural Engineering*, Vol. 25, pp. 13–24.
 15. Schreier H.J., Mirzoyan N. and Saito, K. (2010). "Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems". *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 21, pp. 318–325.
 16. Spieck, E.C., Hartwig, I., McCormack, F., Maixner, M. (2006). Selective enrichment and molecular characterisation of a previously uncultured Nitrospira-like bacterium from activated sludge. *Environ. Microbiol*, Vol. 8, pp. 405–415.
 17. Wietz M., Halla M.R. and Høj, L. (2009). "Effects of seawater ozonation on biofilm development in aquaculture tanks". *Systematic and Applied Microbiology*, Vol. 32, pp. 266–277.