

РОЗДІЛ 5. ЗБЕРЕЖЕННЯ ТА ВІДТВОРЕННЯ ВОДНИХ БІОРЕСУРСІВ

DOI <https://doi.org/10.36059/978-966-397-240-4-17>

Гриневич Н. Є.

*доктор ветеринарних наук, професор,
завідувач кафедри іхтіології та зоології
Білоцерківський національний аграрний університет
м. Біла Церква, Київська область*

Димань Т. М.

*доктор сільськогосподарських наук,
професор кафедри харчових технологій і технологій
переробки продукції тваринництва
Білоцерківський національний аграрний університет
м. Біла Церква, Київська область*

Мазур Т. Г.

*кандидат ветеринарних наук,
доцент кафедри загальної екології та ектофології
Білоцерківський національний аграрний університет
м. Біла Церква, Київська область*

Слюсаренко А. О.

*кандидат ветеринарних наук,
доцент кафедри іхтіології та зоології
Білоцерківський національний аграрний університет
м. Біла Церква, Київська область*

Кухтин М. Д.

*доктор ветеринарних наук,
професор кафедри харчової біотехнології та хімії
Тернопільський національний університет імені Івана Пулюя
м. Тернопіль*

Світельський М. М.

кандидат сільськогосподарських наук, доцент,
завідувач кафедри біоресурсів, аквакультури та природничих наук
Поліський національний університет
м. Житомир

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ РІЗНИХ ТИПІВ НАПОВНЮВАЧІВ РЕАКТОРА БІОФІЛЬТРА НА ПРОЦЕС ФОРМУВАННЯ НІТРИФІКУЮЧОЇ МІКРОФЛОРИ В УСТАНОВКАХ ЗАМКНУТОГО ВОДОПОСТАЧАННЯ В ІНДУСТРІАЛЬНИХ АКВАФЕРМАХ

Анотація. Досліджено вплив різних типів наповнювачів реактора біофільтра на процес формування мікрофлори в установках замкнутого водопостачання за вирощування райдужної форелі. 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 із поліпропілену вAQ-15, AQ-15 (Данія) та Aquatag (Україна), пропіленового RK PLAST 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.

Вступ

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 риби 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. Особливістю вирощування риби в УЗВ є використання мінімальної кількості води. Проте в процесі життєдіяльності риби у воді 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. 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 і денітрифікуючих мікроорганізмів за введення наповнювача в технологічний процес і тривалості досліду 35 днів.

Вода, що потрапляє в УЗВ піддається механічному і біологічному очищенню. Механічне очищення і дезінфекція відбувається завдяки впливу кисню, температури, озону, УФ, рН та ін. Біологічне очищення здійснюють мікроорганізми, які в УЗВ беруть участь у біологічному окисненні та окисно-відновних реакціях. Оброблена вода найсильніше впливає на приріст біомаси і активність риби, а також на споживання кисню системою. Якщо процесами механічного очищення керувати легко, то біологічні системи, які базуються на взаємодії між собою і з довкіллям, важко піддаються

контролю. Саме тому, роботи численних дослідників направлені на вивчення механізмів біологічного очищення води, зокрема функціонування біофільтрів УЗВ [1–5].

1. Огляд літературних джерел, щодо вирощування об'єктів аквакультури в рециркуляційних системах

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 [6–8].

Вода в рециркуляційній системі не є стерильною. Вона містить значну кількість мікроорганізмів, найпростіших, водоростей та ін. [9]. Деякі з них залучені до процесів розкладання твердих органічних речовин [10], інші – до розкладання розчинених у воді речовин, включаючи розчинені органічні речовини, амоній, нітрити і нітрати [11–15].

Мікроорганізми у циркуляційній воді перебувають у планктонній фазі, де вони вільно плавають і/або утворюють агрегати із захисним матриксом – власне біоплівку [16–19; 20; 21]. З огляду на те, що активність бактерій реалізується переважно у прикріпленому стані [22–24], більшість з них у водному середовищі знаходиться у складі біоплівок. Ці біоплівки легко прилипають до органічного чи неорганічного субстрату і контактують з водою [25; 26–28; 29; 30]. Неорганічним субстратом для біоплівки в біофільтрі виступає наповнювач. Біоплівка обволікає наповнювач слизовим шаром, товщина якого зазвичай не перевищує 3 мм [31].

Вивченню складу біоплівки присвячено численні дослідження зарубіжних науковців [32; 33; 34]. З'ясовано, що цей складний біоценоз представлений мікроорганізмами різних систематичних груп – бактеріями, найпростішими, грибами, водоростями, деякими багатоклітинними (черви, личинки комах, водяні кліщі, нижчі ракоподібні та ін.).

Встановлено, що структура бактеріальної біоплівки складається із комплексу клітинних агрегатів, занурених у захисний самовідтворюваний матрикс, який побудований із позаклітинних полімерних сполук, перешкоджає прикріпленню інших організмів, відтак відіграє важливу роль у конкурентній боротьбі за ресурси [35–37]. Крім того, часткова неоднорідність позначається на поведінці і загальній функціональності біоплівки [38].

Незважаючи на те, що біофільтр визнано головним постачальником бактерій в УЗВ [40–42], наповнювач біофільтра і вода із басейнів з рибою значно різняться за складом мікрофлори [42]. Кожний комплекс УЗВ має унікальне і складне мікросередовище, де тісно пов'язані бактерії, віруси, найпростіші [43–45]. Зокрема, біоплівки фільтра розвиваються шляхом сегрегації окремих членів комплексу в різних шарах наповнювача, відповідно до їх харчових уподобань [46].

Біоценоз біоплівки формується під впливом різних чинників: хімічного складу і концентрації органічних забруднень стічних вод, їх температури, активної реакції, розчиненого кисню, умов експлуатації біофільтра [47; 48]. Виділяють три етапи формування біоплівки: 1) поглинання молекул, необхідних для контакту бактерій, 2) колонізацію субстрату первинною групою бактерій, 3) розмноження і вторинне прикріплення. Фактично, бактеріальні клітини фітопланктону прикріплюються до субстрату після обробки його поверхні органічними молекулами і мінеральними речовинами. На цьому етапі спостерігається інгібування синтезу і подальша втрата джгутиків, які порушують структуру біоплівки. Невпинно зростає продукування екзополісахаридів, які відіграють важливу захисну (підвищують стійкість до дії антибіотиків, дезінфікуючих засобів і детергентів) і механічну роль (прикріплення до субстрату) [49; 50]. Далі відбувається поділ клітин, збільшення об'єму біомаси і утворення зрілої біоплівки, яка має ефективні позаклітинні комунікації. Далі, частина біоплівки лущиться, і вивільняються вільні планктонні бактерії, які захоплюють новий вільний субстрат [51].

Sharrer et al. (2005) та Sugita et al. (2005) [52; 53], 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 [54–56].

Під час експлуатації УЗВ у фільтрах функціонує гетерогенна група філогенетично не пов'язаних хемолітоавтотрофних суто аеробних бактерій [57; 58; 59]. Вони здійснюють нітрифікацію, тобто перетворюють амоній у нітрит і потім – у менш токсичний нітрат [59; 60]. Цей механізм приводить до очищення води, яка надходить у біофільтр. Нітрифікація здійснюється двома бактеріальними фракціями: фіксованою фракцією (прикріплена до наповнювача) і планктонною (плаваючою). Основними лімітуючими факторами для нітрифікуючої біоплівки слугують загальний амонійний азот і концентрація розчиненого кисню. Michaud L. (2007) [61] зазначає, що цей процес перебігає максимально активно за концентрації кисню 80 %, а за концентрації кисню нижче 2 мг/л 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 [62–65].

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 [66]. 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 [67; 68].

Створення у біофільтрах сприятливих умов для існування біоценозів забезпечує УЗВ від токсичної дії нітритів, яким до недавнього часу як токсикантам для водних організмів не надавали великого значення. Однак встановлено, що вони дуже токсичні для риби і водних безхребетних [69; 70].

Накопичення нітритів здійснюється ендогенно як проміжний продукт у процесі нітрифікації. Біологічне окиснення амоніаку до нітритів здійснюється бактеріями роду *Nitrosomonas*. Подальше перетворення нітритів у нітрати здійснюють бактерії роду *Nitrobacter*. Енергія, що виникає внаслідок окиснення амоніаку і нітритів використовується бактеріями нітрогенного циклу на задоволення своїх потреб у вуглеці шляхом фіксації вуглекислоти. За нормальних умов перше перетворення (амоніаку в нітрити) – фаза, лімітуюча швидкість всього процесу; друге перетворення (нітритів в нітрати) відбувається досить швидко [70].

За концентрації вище 2 мг/л нітрити (NO_2^-) є токсичними для риби. Ознакою отруєння ними риби, що знаходиться у замкнутій системі, є хватання повітря (така клінічна картина характерна в основному для лососевих), незважаючи на достатню концентрацію кисню. За високих концентрацій нітрити через зябра потрапляють у кров, що перешкоджає поглинанню кисню [71–73].

Черкесова Д.У. (2009) [74] повідомляє, що нітрити для риби є в 10 разів токсичнішими ніж нітрати. Процес нітрифікації може пригнічуватися в присутності азотної кислоти (HNO_3) і неіонізованого амоніаку (NH_3), а якщо рН середовища підвищується, то концентрація неіонізованого амоніаку збільшується [75–77].

Неіонізований амоніак пригнічує бактерії роду *Nitrobacter* за концентрацій значно нижчих, ніж 10–150 мг/л, що пригнічують бактерії роду *Nitrosomonas*. Це уповільнює перетворення нітритів у нітрати, спричиняючи накопичення нітритів. Коли рН зменшується, амоній і нітрити окиснюються, відбувається збільшення концентрації азотної кислоти (HNO_3), яка пригнічує бактерії роду *Nitrobacter* і *Nitrosomonas* в діапазоні концентрацій 0,22–2,8 мг/л [78]. Пригнічення цього процесу може зумовлювати збільшення кількості нітритів [79; 80].

Нітрити негативно впливають на хімічні і гідробіологічні показники води, що, в кінцевому підсумку, позначається на гідробіонтах. Так, нітрит натрію, починаючи з концентрацій 0,25 мг/л, знижує вміст кисню у воді [81–84].

За взаємодії нітритів з низькомолекулярними амінами утворюються нітрозаміни, що мають високу токсичність, тератогенність і канцерогенність [85; 86].

Інтотоксикація нітритами спричиняє гемічну і гістотоксичну гіпоксію, яка супроводжується ланцюгом важких порушень метаболізму, з наступними деструктивними процесами на рівні ферментативних систем, гуморальних факторів регуляції і клітинних мембран [87]. Часто повторювана і тривала інтоксикація організму навіть невеликими дозами токсикантів супроводжується стресами [88; 89].

Токсичність нітритів обумовлена метгемоглобіноутворювальною дією. Відомо, що метгемоглобінемія є одним із механізмів токсичності розчинених у воді нітритів для риб [90]. У крові риб кисень переноситься дихальним пігментом – гемоглобіном. Залізо в гемоглобіні двовалентне: Fe (II). Гемоглобін неміцно з'єднується з киснем, утворюючи сполуку, яка легко руйнується, – оксигемоглобін, в якому залізо знаходиться все ще в двохвалентній формі. Перенесення кисню кров'ю залежить від легкості, з якою гемоглобін з'єднується з киснем і з якою оксигемоглобін віддає кисень. Якщо залізо в гемоглобіні окиснюється до трьохвалентної форми Fe (III), то утворюється метгемоглобін. Останній не здатний з'єднуватися з киснем, і його досить високі концентрації можуть викликати гіпоксію і смерть [91–94].

Чим вище концентрація нітритів, тим більше утворюється метгемоглобіну. Присутність високих концентрацій метгемоглобіну стає візуально очевидним, оскільки кров стає коричневою. Відомо, що навіть незначні концентрації нітриту, проникаючи через зябровий апарат, спричиняють метгемоглобінемію і функціональну анемію. Є припущення, що еритроцити райдужної форелі мають здатність до детоксикації нітритів шляхом окиснення їх до нітратів. Процес цей залежить від окисного навантаження гемоглобіну і вмісту нітритів у середовищі [95].

Вміст метгемоглобіну в крові риб залежить не тільки від концентрації нітритів у воді, але й від тривалості їх контакту з рибою. Чим більше за часом риби знаходяться у воді, яка містить нітрити, тим вищий у них рівень метгемоглобіну в крові. Утворення

метгемоглобіну спостерігається через годину після впливу нітритів в концентрації 30 мг/л. За такої концентрації нітритів риби можуть почати гинути протягом трьох годин. Рівень метгемоглобіну за цього збільшується до 80 % [96].

Ряд вчених [97–99] відзначали за нітритних інтоксикацій у риб м'язові судоми, розлад рівноваги, гіперемію зябер, печінки, головного мозку, вакуолізацію цитоплазми, ниркового епітелію, лізис ядер, волокнистість і зернистість речовини мозку, дегенеративні зміни в нервових клітинах.

Токсичність нітритів для риб більшою мірою залежить від хімічного складу води. У разі підвищення концентрації одновалентних йонів вміст метгемоглобіну в крові риб зменшується. Зменшення рівня метгемоглобіну у риб більш інтенсивно відбувається під дією йонів K^+ , ніж йонів Na^+ і Ca^{2+} . Одновалентні іони конкурують з нітратами та інгібують проникнення нітритів в організм риб через зябровий апарат [101].

Для оцінювання якості води в УЗВ окремі вчені рекомендують використовувати стан зябрового епітелію. Показано, що в зябрах риб зустрічаються відхилення у вигляді гіперплазії і адгезії філаментів і ламел, набрякlostі респіраторних ламел, зрощення ламел і філаментів [102; 103].

Для профілактики нітритного отруєння потрібно підтримувати гідрохімічні параметри водного середовища в оптимальних межах [104–107].

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 [108]. Через шар біоплівки біофільтра здійснюється пульсуюча нестационарна 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 невирішених 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 біофільтрата ін.

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

1. Характеристика різних видів наповнювача біофільтра та динаміка кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за їх використання

Дослідження проводили в умовах індустріальних акваферм з вирощування райдужної форелі. Підприємство працює за використання системи замкнутого водопостачання. Для порівняльних досліджень було використано кілька видів наповнювачів біофільтра, які широко використовують у сучасних індустріальних форелевих господарствах (рис. 1). Їхні характеристики наведено у таблиці 1.

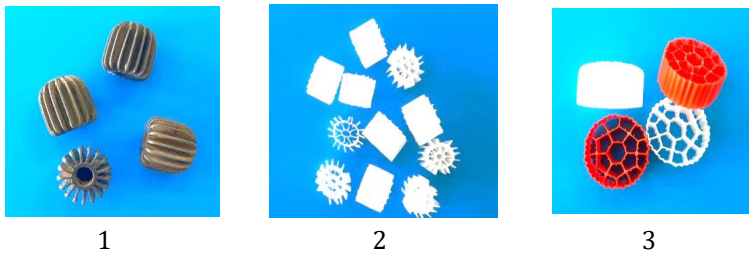


Рис. 1. Біозавантаження реактора біофільтра із поліпропілену: 1 – AQ-15 (Данія); 2 – Kar-sib (Україна), 3 – Aquamag (Україна)

Таблиця 1

Характеристика різних видів наповнювача біофільтра

Характеристика	Матеріал, з якого виготовлено наповнювач	Корисна (робоча поверхня), м²/м³	Діаметр, мм	Вага, кг/м³
статичний керамзит	глина	400	2,0/4,0	350
RK PLAST	пропілен	635	15/15	175
AQ-25	поліпропілен високої щільності HDPE	226	25/25	71
KALDNER K1П	поліпропілен високої щільності	450	16/10	60
AQ-15	поліпропілен високої щільності	480	15/15	74
Kar-sib	пропілен	635	15/15	60
Aguamag	поліпропілен	600	25/12	70

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.

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 дослідження, 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 нитрифікуючих мікроорганізмів у воді біофільтра зростала поступово, що свідчило про завершення колонізації наповнювача AQ-15 нитрифікаторами.

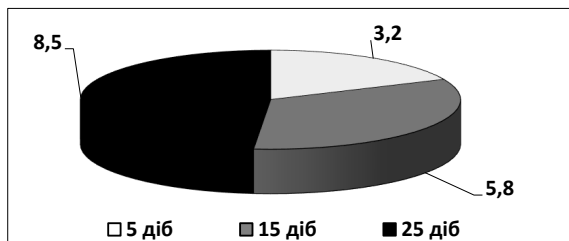


Рис. 2. Динаміка кількості нитрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювача AQ-15 (log КУО/см³)

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 КУО/см³, на 15-у – 4,7 lg КУО/см³. Максимально кількість мікрорганізмів зростала у період з 15 по 25 добу і наприкінці досліджу становила 8,4 lg КУО/см³. Кількісне збільшення мікроорганізмів у воді реактора при запуску біофільтра за використанням наповнювача Kar-sib вказує на завершення колонізації біофільтра нитрифікуючими мікроорганізмами.

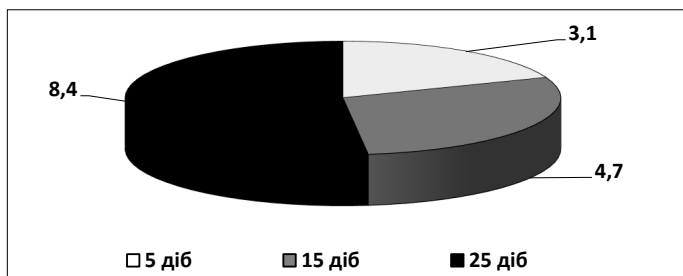


Рис. 3. Динаміка кількості нитрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювача Kar-sib (lg КУО/см³)

Аналізуючи роботу реактора біофільтра за використання поліпропіленового наповнювача Aquamag, 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 дослідів був повільнішим, ніж у випадку з двома попередніми наповнювачами. Максимальна кількість бактерій нітрифікації, яку вдалося зафіксувати у воді на 25-у добу використання наповнювача Aquamag, становила в середньому $8,1 \lg \text{КУО}/\text{см}^3$.

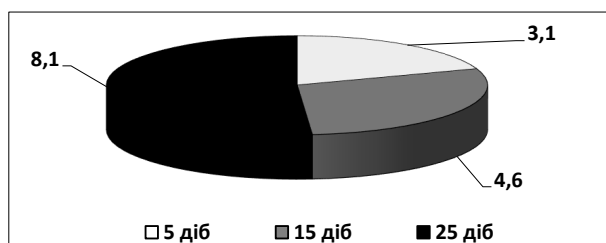


Рис. 4. Динаміка кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювача Aquamag ($\lg \text{КУО}/\text{см}^3$)

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.

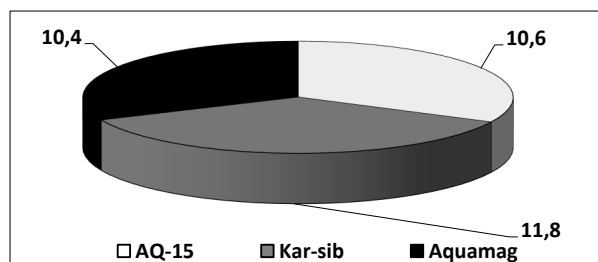


Рис. 5 Зміни кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання наповнювачів AQ-15, Kar-sib, Aquamag ($\lg \text{КУО}/\text{см}^3$)

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.

У досліді 2 було використано чотири види наповнювачів біофільтра характеристика яких представлена у таблиці 1.

На рисунку 6 зображення наповнювачів біофільтра, що використовуються в індустріальних рибних (в т. ч. форелевих) форелевих господарствах. 1 – статичний керамзит; 2 – RK PLAST, який виготовлено із пропілену, корисна робоча поверхня становить $635 \text{ м}^2/\text{м}^3$, діаметр 15/15, вага $175 \text{ кг}/\text{м}^3$; 3 – AQ-25 – поліпропілен високої щільності HDPE, корисна робоча поверхня – $226 \text{ м}^2/\text{м}^3$, діаметр 25/25, вага $71 \text{ кг}/\text{м}^3$; 4 – KALDNER K1П – поліпропілен високої щільності корисна робоча поверхня – $450 \text{ м}^2/\text{м}^3$, діаметр 16/10, $60 \text{ кг}/\text{м}^3$. Матеріалом для дослідження служила вода УЗВ, яку відбирали безпосередньо з біофільтра.

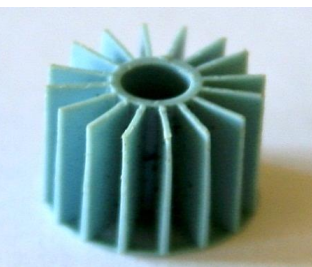
Результати досліджень кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра, в якому наповнювачем є керамзит, показали, що найбільш інтенсивно мікроорганізми заселяють досліджуваний наповнювач у перші п'ять днів після введення біофільтра в експлуатацію (рис. 7).

У зазначений період кількість нітрифікуючих бактерій становила в середньому $2,85 \log \text{ КУО}/\text{см}^3$ води. У наступні п'ятнадцять діб кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді продовжувала зростати і на 20-й день експлуатації зросла у 105 разів ($p < 0,05$), порівняно із початком досліду, та становила $4,87 \log \text{ КУО}/\text{см}^3$.

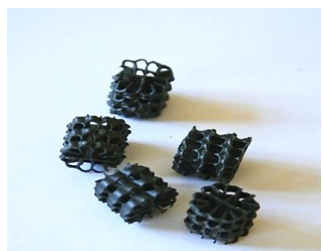
Впродовж 21–25 дня досліду кількість досліджуваних мікроорганізмів у воді біофільтра зросла у 69 разів ($p < 0,05$) порівняно з 20-м днем дослідження і досягла найвищого показника на 30–35 день досліду – $7,61$ і $7,65 \log \text{ КУО}/\text{см}^3$ води відповідно. Саме цей факт може свідчити про повне заселення керамзиту нітрифікуючими мікроорганізмами і запуском біофільтра.



а – статичний керамзит



б – RK PLAST



в – AQ-25



г – KALDNER K1П

Рис. 6 (а, б, в, г). Зовнішній вигляд наповнювачів біофільтра, які використані в дослідях

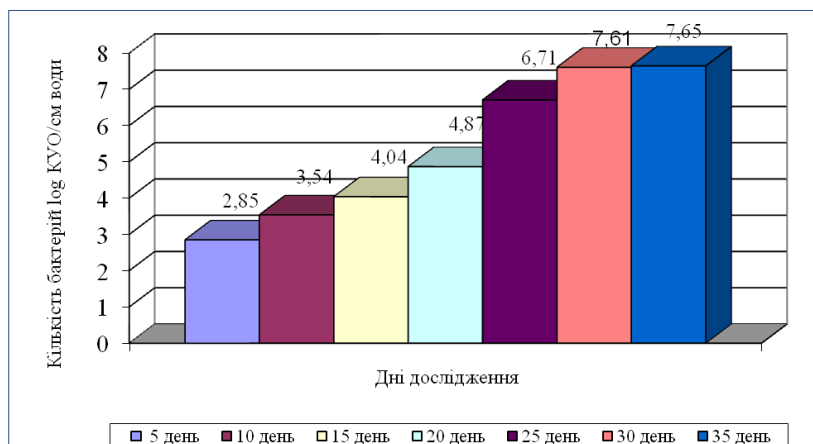


Рис. 7. Кількісні зміни нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з керамзитовим наповнювачем за введення його в експлуатацію

Результати досліджень кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра, в якому наповнювачем є RK PLAST, показали, що динаміка заселення наповнювача була такою самою, як і в разі заселення мікроорганізмами керамзиту (рис. 8). Період адаптації нітрифікуючих мікроорганізмів до наповнювача RK PLAST, який припадає на перші п'ять днів досліджу, не відрізнявся від періоду адаптації до керамзиту, на що вказує майже однакова кількість нітрифікаторів у воді реактора біофільтра – $2,9 \log \text{ КУО/см}^3$. У наступні три періоди досліджу кількість нітрифікаторів у воді біофільтра поступово зростала – відповідно у 10 і 36 разів ($p < 0,05$) – та на 20-й день досліджу становила $5,28 \log \text{ КУО/см}^3$ води. Особливої уваги заслуговує період 21–25-й день, у який кількість нітрифікаторів у воді різко зросла у 310 разів порівняно з попереднім періодом і становила $7,77 \log \text{ КУО/см}^3$ води. В останні п'ять днів досліджу кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді біофільтра зростала не суттєво – в 1,8 раза ($p < 0,05$) порівняно з 25 днем, що свідчить про завершення колонізації наповнювача RK PLAST нітрифікаторами.

Аналогічно біофільтру з наповнювачем RK PLAST змінювалася кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра, в якому наповнювачем є AQ-25 (рис. 9). При цьому максимальна кількість нітрифікаторів була у останні три періоди досліджу і становила на 25-й день – 7,61, на 30-й день – 7,84 і на 35-й день – $7,86 \log \text{ КУО/см}^3$. Це вказує на завершення колонізації наповнювача біофільтра нітрифікуючими мікроорганізмами.

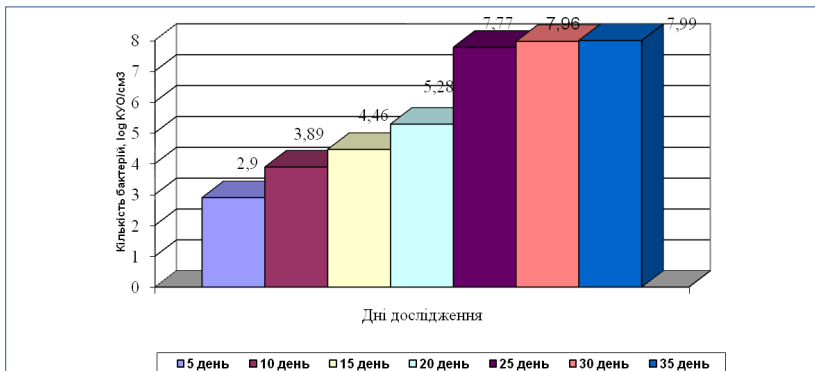


Рис. 8. Кількісні зміни нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з наповнювачем RK PLAST, за введення його в експлуатацію

Подібно до двох попередніх пропіленових наповнювачів RK PLASTy і AQ-25, нітрифікатори розмножувалися і у воді біофільтра з наповнювачем KALDNER K1П (рис. 10). Особливістю цього наповнювача є те, що до 21 дня дослідів наростання кількості нітрифікаторів у воді біофільтра відбувалося повільніше порівняно з іншими досліджуваними поліпропіленовими наповнювачами і на 20-й день їх кількість становила лише 5,04 log КУО/см³ води.

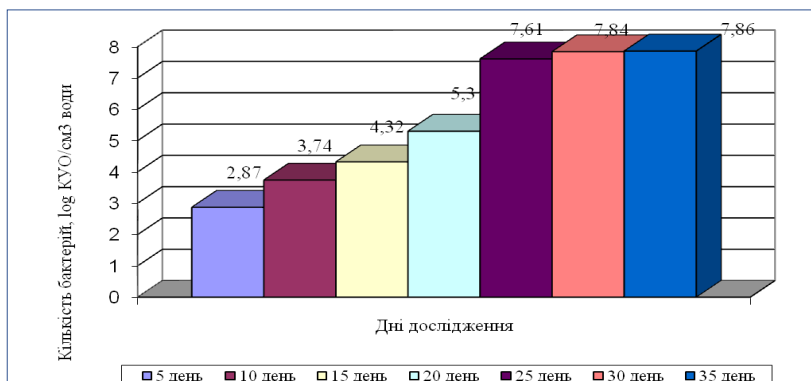


Рис. 9. Кількісні зміни нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з наповнювачем AQ-25, за введення його в експлуатацію

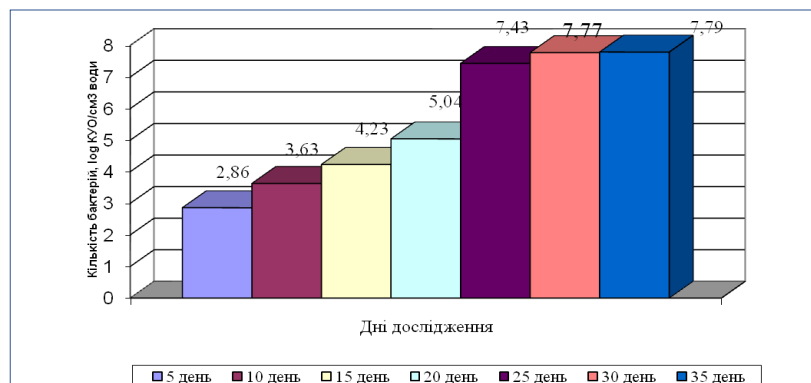


Рис. 10. Кількісні зміни нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з наповнювачем KALDNER K1П, за введення його в експлуатацію

Аналіз середньої кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача за тривалості досліді 35 днів (рис. 10) показав, що нітрифікатори найшвидше колонізували біофільтр у якому наповнювачем був RK PLAST, дещо повільніше – з наповнювачами AQ-25 і KALDNER K1П і найповільніше – де наповнювачем був керамзит. При цьому кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з наповнювачем RK PLAST була в 2,2 рази ($p < 0,05$) більшою порівняно з керамзитовим наповнювачем та в 1,2 рази ($p < 0,05$) і 1,7 рази відповідно за використання наповнювачів AQ-25 і KALDNER K1П.

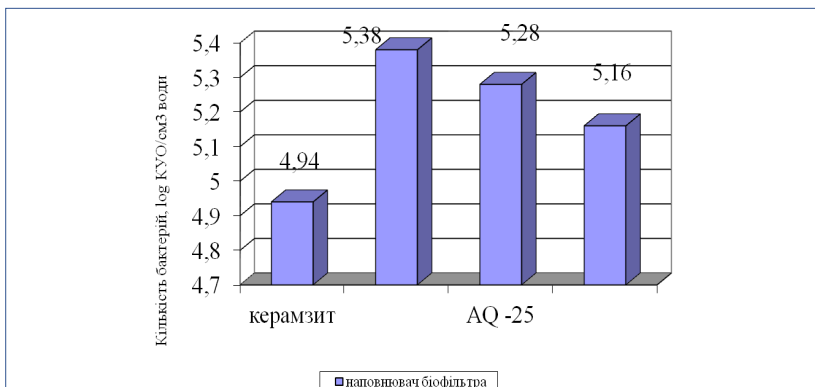


Рис. 11. Середня кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача за тривалості досліді 30 днів

Отже, встановлено, що кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра виявилася найвищою за використання пропіленових наповнювачів порівняно із керамзитовим наповнювачем за введення його в технологічний процес і тривалості досліді 30 днів. Мікроорганізми-нітрифікатори найшвидше колонізують біофільтр з наповнювачем RK PLAST, дещо повільніше – з наповнювачами AQ-25 і KALDNER K1П і найповільніше – з керамзитовим наповнювачем.

Другу групу мікроорганізмів, які беруть участь у процесах нітрогенного циклу, становлять денітрифікуючі бактерії, які відновлюють нітрати до молекулярного азоту. Динаміку кількості денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з керамзитовим наповнювачем представлено на рисунку 12.

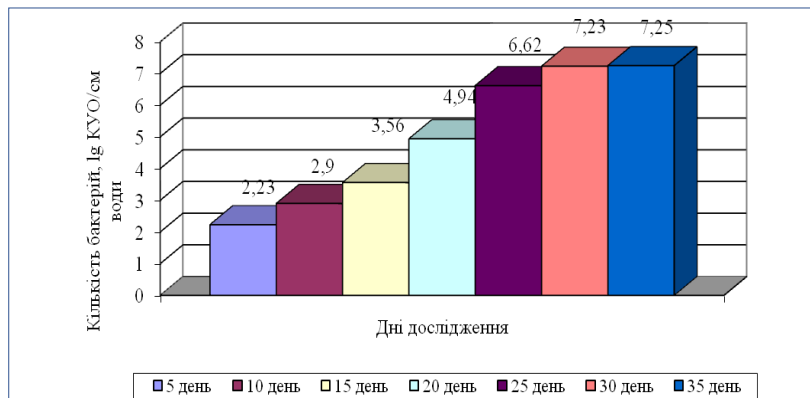


Рис. 12. Кількісні зміни денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з керамзитовим наповнювачем за введення його в експлуатацію

Як видно з рисунку 12 в процесі експлуатації УЗВ денітрифікуючі мікроорганізми поступово заселяють наповнювач біофільтра. Темпи їх розмноження практично збігались з розвитком нітрифікуючих бактерій. На двадцятий день дослідів кількість денітрифікуючих бактерій становила 4,94 log КУО/см³, а нітрифікаторів – 4,87 log КУО/см³. Упродовж наступних десяти днів кількість денітрифікаторів, як і нітрифікаторів зросла на два порядки і кількість перших становила 7,23 log КУО/см³. Процес колонізації денітрифікуючими мікроорганізмами керамзитового наповнювача завершився приблизно на 30-у добу, оскільки на 35-у добу їх кількість практично не збільшилася порівняно з 30 добою дослідів.

За використання поліпропіленових наповнювачів RK PLAST і AQ-25 (рис. 13 і 14) динаміка колонізації денітрифікуючими мікроорганізмами відбувалася швидше порівняно з керамзитовим наповнювачем.

Так, на двадцятий день дослідів кількість денітрифікуючих бактерій за використання наповнювачів RK PLAST і AQ-25 була в 2,4 і 1,4 раза більшою ($p < 0,05$), ніж за керамзитового наповнювача. На тридцятий день дослідження води з реактора біофільтра, у яких як наповнювачі використовували RK PLAST і AQ-25, кількість денітрифікуючих мікроорганізмів становила 7,74 і

7,59 log КУО/см³, тобто в 3,2 і 2,3 раза більша ($p < 0,05$), порівняно з водою з керамзитовим наповнювачем.

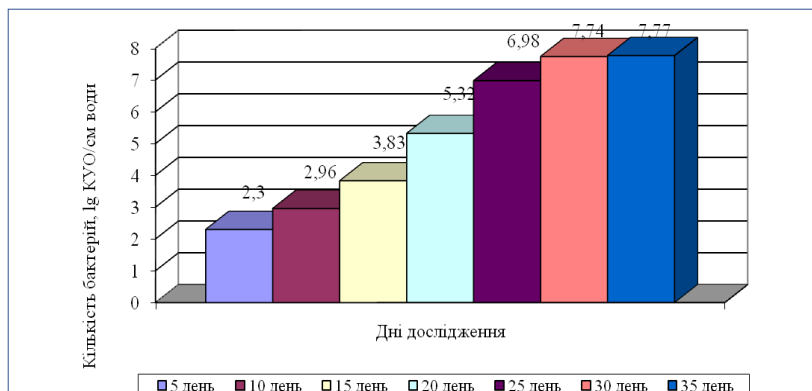


Рис. 13. Кількісні зміни денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з поліпропіленовим наповнювачем RK PLAST, за введення його в експлуатацію

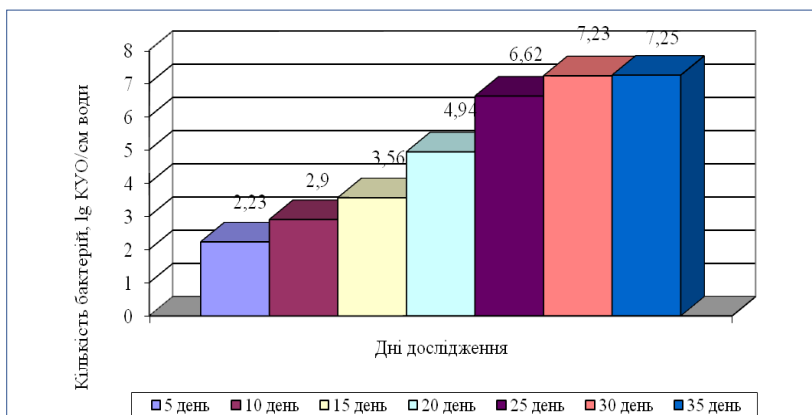


Рис. 15. Кількісні зміни денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з поліпропіленовим наповнювачем KALDNER K1P за введення його в експлуатацію

З'ясовано, що, як і за використання керамзитового наповнювача, процес заселення денітрифікаторами поліпропіленових наповнювачів практично завершився на 30-у добу від початку запуску УЗВ.

На рисунку 15 представлено динаміку колонізації денітрифікуючими бактеріями поліпропіленового наповнювача KALDNER K1П.

З рисунка 15 видно, що розвиток денітрифікуючих бактерій відбувався аналогічно процесу за використання керамзитового наповнювача. Різниця між кількістю денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора за використання наповнювачів KALDNER K1П та керамзитового наповнювача не була статистично значущою ($p > 0,05$).

Висновки

Отже, у науковій літературі достатньою мірою представлено ветеринарно-санітарні заходи, вимоги гігієни та санітарії, яких слід дотримуватися у форелівництві. Таким чином, у результаті проведених досліджень встановили, що кількість денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра була вищою за використання пропіленових наповнювачів порівняно із керамзитовим наповнювачем за введення його в технологічний процес і тривалості досліду 35 діб. Мікроорганізми-денітрифікатори найшвидше іммобілізують біофільтр з наповнювачем RK PLAST, дещо повільніше – з наповнювачами AQ-25 і KALDNER K1П і найповільніше – з керамзитовим наповнювачем. На тридцяту добу досліду кількість денітрифікаторів у воді реактора біофільтра становила за використання наповнювача керамзиту – $7,23 \log \text{ KYO}/\text{cm}^3$, RK PLAST – $7,74 \log \text{ KYO}/\text{cm}^3$, AQ-25 – $7,59 \log \text{ KYO}/\text{cm}^3$ і KALDNER K1П – $7,32 \log \text{ KYO}/\text{cm}^3$.

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 $8,1\text{--}8,5 \log \text{ KYO}/\text{cm}^3$. 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. Науковий і практичний інтерес становить також вивчення інтенсивності колонізації біофільтра денітрифікуючою мікрофлорою за використання різних видів наповнювачів.

Список використаних джерел:

1. Andreani N.A., Martino M.E, Fasolato L et al. (2014), «Tracking the blue: a MLST approach to characterise the *Pseudomonas fluorescens* group», *Food Microbiology*, Vol. 39, pp. 116–126.

2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Timmons M.B., Holder J.L. and Ebeling, J.M. (2006), «*Application of microbead biological filters*», *Aquacultural Engineering*, No. 34, pp. 332–343.
6. Використання різних типів наповнювача біофільтра для забезпечення санітарно-гігієнічних умов відтворення та вирощування райдужної форелі в системі замкнутого водопостачання : методичні рекомендації / Н. Є. Гриневич, Т. М. Димань, М. Д. Кухтин. Біла Церква, 2018. 14 с.
7. 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.
8. Summerfelt S.T. (2006), «*Design and management of conventional fluidized-sand biofilters*», *Aquacultural Engineering*, Vol. 34, pp. 275–302.
9. Michaud L. (2007), *Microbial communities of recirculating aquaculture facilities: interaction between heterotrophic and autotrophic bacteria and the system itself – PhD Dissertation in «Scienze Ambientali: Ambiente Marino e Risorse»*, (XVIII CICLO), University of Messina.
10. Franco-Nava M.A., Blancheton J.P., Deviller G. and Le-Gall, J.Y. (2004), «*Particulate matter dynamics and transformations in a recirculating aquaculture system: application of stable isotope tracers in seabass rearing*», *Aquacultural Engineering*, Vol. 31, pp. 135–155.
11. Alexander J., Benford D. and Cookburn, A. (2009), «*Nitrite as undesirable substances in animal feed*», *The EFSA Journal*, Vol. 1017, pp. 1–47.
12. Borges M.T., Sousa A., De Marco P., Matos A., Honigova P. and Castro, P.M. (2008), «*Aerobic and anoxic growth and nitrate removal capacity of a marine denitrifying bacterium isolated from a recirculation aquaculture system*», *Microbial Ecology*, Vol. 55, pp. 107–118.
13. E. Zusková, J. Máčková, J. Velíšek, A. Stará, Z. Svobodová and H. Kocour Kroupová. (2013), «*Recovery of rainbow trout (Oncorhynchus*

mykiss) after subchronic nitrite exposure», *Acta Veterinaria Brno*, Vol. 82, pp. 73–79.

14. Itoi S., Niki A. and Sugita, H. (2006), «Changes in microbial communities associated with the conditioning of filter material in recirculating aquaculture systems of the pufferfish takifugu rubripes», *Aquaculture*, Vol. 256, pp. 287–295.

15. Bai A.J., and Rai, V.R. (2011), «Bacterial quorum sensing and food industry», *Comprehensive Reviews in Food Science and Food*, Vol. 10, pp. 183–193.

16. Sharrer M.J., Summerfelt S.T., Bullock G.L., Gleason L.E. and Taeuber, J. (2005), «Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system», *Aquaculture Engineering*, Vol. 33, pp. 135–149.

17. Boguslawska E. «Koegzystencja mikroorganizmów w biofilmie jako podstawa funkcjonalności złoża biologicznego», *SPRL*, Gdynia, s. 57–66.

18. Characklis W.G. and Marshall K.C. (1990), «Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach». In: *Biofilms* (Ed.), W.G. Characklis and K.C. Marshall, K.C. Wiley, New York, pp. 3–15.

19. Flemming H.C. and Wingender, J. (2010), «The biofilm matrix», *Nature Reviews Microbiology*, Vol. 8, pp. 623–633.

20. Harold J., Schreier N. and Keiko, S. (2010), «Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems», *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 21, pp. 1–8.

21. Shrout J.D. and Nerenberg, R. (2012), «Monitoring Bacterial Twitter: Does Quorum Sensing Determine the Behavior of Water and Wastewater Treatment Biofilms?», *Environmental Science and Technology*, Vol. 46, pp. 1995–2005.

22. Fechner L.C., Vincent-Hubert F., Gaubert P., Bouchez T., Gourlay-Francé C. and Tusseau-Vuillemin, M. (2010), «Combined eukaryotic and bacterial community fingerprinting of natural freshwater biofilms using automated ribosomal intergenic spacer analysis», *FEMS Microbiology Ecology*, Vol. 74, pp. 542–553.

23. Lewandowski Z. and Beyenal, H. (2007), *Fundamentals of Biofilm Research*. CRC Press Inc. Lewis Publishers. Boca Raton.

24. O'Toole G., Kaplan H.B. and Kolter, R. (2005), «Biofilm formation as microbial development», *Annual Review of Microbiology*, Vol. 54, pp. 49–79.

25. Hu J., Li D., Liu Q., Tao Y., He X., Wang X., Li X. and Gao, P. (2009), «Effect of organic carbon on nitrification efficiency and community composition of nitrifying biofilms», *Journal of Environmental Sciences*, Vol. 21, pp. 387–394.

26. Leonard N., Blancheton J.P. and Guiraud, J.P. (2000), «Populations of heterotrophic bacteria in an experimental recirculating aquaculture system», *Aquacultural Engineering*, Vol. 22, pp. 109–120.

27. Leonard N., Guiraud J.P., Gasset E., Cailleres J.P. and Blancheton, J.P. (2002), «Bacteria and nutrients – Nitrogen and carbon – In a recirculating system for sea bass production», *Aquacultural Engineering*, Vol. 26, pp. 111–127.

28. Lequette Y., Boels G., Clarisse M. and Faille, C. (2010), «Using enzymes to remove biofilms of bacterial isolates sampled in the food-industry», *Biofouling. The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, Vol. 26 No. 4, pp. 421–431.

29. Summerfelt S.T. and Vinci, B.J. (2004), «Avoiding water quality failures: Part 1 – Carrying capacity and water flow in intensive aquaculture systems», *World Aquaculture*, Vol. 6–8, P. 70.

30. Sutherland I.W. (2001), «The biofilm matrix-an immobilized but dynamic microbial environment», *Trends in Microbiology*, Vol. 9, pp. 222–227.

31. Sugita H., Nakamura H. and Shimada, T. (2005), «Microbial communities associated with filter materials in recirculating aquaculture systems of freshwater fish», *Aquaculture*, Vol. 243, No. 1–4, pp. 403–409.

32. Interdonato F. (2012), Recirculating aquaculture system (RAS) biofilters: focusing on bacterial communities complexity and activity. Doctoral thesis. Italy, Università degli studi di messina, available at: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00074/18516/16060.pdf>

33. Itoi S., Ebihara N., Washio S. and Sugita, H. (2007), «Nitrite-oxidizing bacteria, Nitrospira, distribution in the outer layer of the biofilm from filter materials of a recirculating water system for the goldfish *Carassius auratus*», *Aquaculture*, Vol. 264, pp. 297–308.

34. Kimberly K.J. (2004), «What drives bacteria to produce a biofilm?», *FEMS Microbiology letters*, Vol. 236, pp. 163–173.

35. Hall-Stoodley L., Costerton J.W. and Stoodley, P. (2004), «Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases», *Nature Reviews Microbiology*, Vol. 2, pp. 95–108.

36. Kukhtyn M., Berhilevych O., Kravcheniuk K. et al. (2017), «The influence of disinfectants on microbial biofilms of dairy equipment», *Eureka: Life sciences*, No. 5, pp. 11–17

37. Kukhtyn M., Berhilevych O., Kravcheniuk K., Shynkaruk O., Horyuk Y. and Semaniuk, N. (2017), «Formation of biofilms on dairy equipment and the influence of disinfectants on them», *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, Vol. 5 No. 11(89), pp. 26–33.

38. Xavier J.B., Picioreanu C. and Van Loosdrecht, M.C.M. (2004), «*Dynamic multidimensional modeling of structure and activity in multispecies multisubstrate biofilm systems – a particle based approach – presented at BIOCOMPLEXITY VI: Complex Behavior in Unicellular Organisms*». Bloomington, Indiana (USA).

39. Lahav O., Bar Massada I., Yackoubov D., Zelikson R., Mozes N., Tal Y. and Tarre, S. (2009), «Quantification of anammox activity in a denitrification reactor for a recirculating aquaculture system», *Aquaculture*, Vol. 288, pp. 76–82.

40. Leonard N., Guiraud J.P., Gasset E., Cailleres J.P. and Blancheton, J.P. (2002), «Bacteria and nutrients – Nitrogen and carbon – In a recirculating system for sea bass production», *Aquacultural Engineering*, Vol. 26, pp. 111–127.

41. Leonard N., Blancheton J.P. and Guiraud, J.P. (2000), «Populations of heterotrophic bacteria in an experimental recirculating aquaculture system», *Aquacultural Engineering*, Vol. 22, pp. 109–120.

42. Michaud L., Lo Giudice A., Troussellier M., Smedile F., Bruni V. and Blancheton, J.P. (2009), «Phylogenetic characterization of the heterotrophic bacterial communities inhabiting a marine recirculating aquaculture system», *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 107, pp. 1935–1946.

43. Sharrer M.J., Summerfelt S.T., Bullock G.L., Gleason L.E. and Taeuber, J. (2005), «Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system», *Aquaculture Engineering*, Vol. 33, pp. 135–149.

44. Lequette Y., Boels G., Clarisse M. and Faille, C. (2010), «Using enzymes to remove biofilms of bacterial isolates sampled in the food-industry», *Biofouling. The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, Vol. 26 No. 4, pp. 421–431.

45. Zorriehzahra, M.J., Soltani M., Sharifpour I., Saiedi A. and Mehrabi, M. (2005), Preliminary study of infectious agents (Viral and Bacterial) of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry Mortality Syndrome. *Final research report; Iranian Fisheries Research Organization*. Vol. 84 No. 470, P. 290. (In Persian).

46. Zorriehzahra, M.J., Soltani M., Sharifpour I., Saiedi A. and Mehrabi, M. (2005), Preliminary study of infectious agents (Viral and Bacterial) of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry Mortality Syndrome. *Final research report; Iranian Fisheries Research Organization*. Vol. 84 No. 470, P. 290. (In Persian).

47. Characklis W.G. (1981), «Fouling biofilm development: a process analysis», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 23, pp. 1923–1960.

48. Costerton J.W. (1999), «Introduction to biofilm», *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 11, pp. 217–221.

49. Michaud L. (2007), Microbial communities of recirculating aquaculture facilities: interaction between heterotrophic and autotrophic bacteria and the system itself – PhD Dissertation in «*Scienze Ambientali: Ambiente Marino e Risorse*», (XVIII CICLO), University of Messina.

50. Watnik P. and Kolter, R. (2000), «Biofilm, city of microbes», *Journal of Bacteriology*, Vol. 182, pp. 2675–2679.

51. Costerton J.W., Veeh R. and Shirtliff, M. (2003), «The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections», *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 112 No. 10, pp. 1466–1477.

52. Sharrer M.J., Summerfelt S.T., Bullock G.L., Gleason L.E. and Taeuber, J. (2005), «Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system», *Aquaculture Engineering*, Vol. 33, pp. 135–149.

53. Sugita H., Nakamura H. and Shimada, T. (2005), «Microbial communities associated with filter materials in recirculating aquaculture systems of freshwater fish», *Aquaculture*, Vol. 243, No. 1–4, pp. 403–409.

54. Чалов В. В., Пономарёва Е. Н. Показатели водной среды и аммонийный азот. *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия «Рыбное хозяйство»*. Астрахань, 2010. № 1. С. 91–95.

55. Sharrer M.J., Summerfelt S.T., Bullock G.L., Gleason L.E. and Taeuber, J. (2005), «Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system», *Aquaculture Engineering*, Vol. 33, pp. 135–149.

56. Водянка Л. Д., Кутаренко Н. Я. Перспективи впровадження системи НАССР у процесі виробництва харчової продукції. *Регіональна економіка*. Львів, 2013. № 1. С.185–194.

57. Aoi Y., Miyoshi T., Okamoto T., Tsuneda S., Hirata A., Kitayama A. and Nagamune, T. (2000), «Microbial ecology of nitrifying bacteria in wastewater treatment process examined by Fluorescence In Situ Hybridization», *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 90, pp. 234–240.

58. Michaud L. (2007), Microbial communities of recirculating aquaculture facilities: interaction between heterotrophic and autotrophic bacteria and the system itself – PhD Dissertation in «*Scienze Ambientali: Ambiente Marino e Risorse*», (XVIII CICLO), University of Messina.

59. Arias C.A., Brix, H. and Marti, E. (2005), «Recycling of treated effluents enhances removal of total nitrogen in vertical flow constructed wetlands», *Journal Environmental Science and Health, Part A: Vol. 40*, pp. 1431–1443.

60. Chen S., Ling J. and Blancheton, J.P. (2006), «Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors», *Aquacultural Engineering*, Vol. 34, pp. 179–197.

61. Schuster C. and Stelz, H. (1998), «Reduction in the make-up water in semi-closed recirculating aquaculture systems», *Aquacultural Engineering*, Vol. 17, pp. 167–174.

62. Назаренко В. І. Методичний посібник з визначення якості води / за ред. В. І. Назаренко. Київ, 2002. 52 с.

63. Tal Y., Watts J.E.M., Schreier S.B., Sowers K.R. and Schreier, H.J. (2003), «Characterization of the microbial community and nitrogen transformation processes associated with moving bed bioreactors in a closed recirculated mariculture system», *Aquaculture*, Vol. 215 No. 1–4, pp. 187–202.

64. Van Rijn J., Tal Y. and Schreier, H.J. (2006), «Denitrification in recirculating systems: theory and applications», *Aquacultural Engineering*, Vol. 34, pp. 364–376.

65. Yilmaz G., Lemaire R., Keller J. and Yuan, Z. (2008), «Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal from nutrient-rich industrial wastewater using granular sludge», *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 100, pp. 529–541.

66. Nogueira R., Melo L.F., Purkhold U., Wuertz S. and Wagner, M. (2002), «Nitrifying and heterotrophic population dynamics in biofilm reactor: effects of hydraulic retention time and presence of organic carbon», *Water Research*, Vol. 36, pp. 469–481.

67. Blancheton J.P., et al. (2013), «Insight into bacterial population in aquaculture systems and its implication», *Aquacultural Engineering*, Vol. 53, pp. 30–39.

68. Van Kessel M.A.J.H.; Harhangi H.R., Van de Pas-Schoonen K., Van de Vossenberg J., Flik G., Jetten M.S.M., Klaren P.H.M. and Op den Camp, H.J.M. (2010), «Biodiversity of N-cycle bacteria in nitrogen removing bed biofilters for freshwater recirculating aquaculture systems», *Aquaculture*, Vol. 306 (1–4), pp. 177–184.

69. Абросимова Е. Б. Незаразный жаберный некроз: профилактика и лечение. *Актуальные проблемы современной науки и образования* : межвуз. сб. науч. трудов. Ростов-на-Дону, 2009. С. 387–392.

70. Kroupová H., Máchová J. and Svobodová, Z. (2005), «Nitrite influence on fish – a review», *Vet Med – Czech*, Vol. 50, pp. 461–471.

71. Гриневич Н. Є., Димань Т. М. Сезонні зміни гідрохімічних показників води за використання установок замкнутого водопостачання для вирощування райдужної форелі. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2016. Вип. 2 (130). С. 33–39.

72. Гриневич Н. Є., Димань Т. М., Кухтин М. Д., Семанюк В. І., Слюсаренко А. О. Ідентифікація небезпечних чинників під час вирощування райдужної форелі в умовах замкнутого водопостачання. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. Львів, 2017. Т. 19, № 78. С. 48–52.

73. Шахмурзов М. М., Казанчев М. Х., Гущин В. Н. Содержание нитритов и нитратов в воде и рыбе рыбохозяйственных водоемов. *Сборник научных трудов ВНИИ вет. сан., гигиены и экол.* 1998. С. 64–67.

74. Черкесова Д. У., Шахназарова А. Б. Токсическое воздействие нитритов на организм рыб. *Юг России : экология, развитие*. 2009. № 4. С. 126–130.

75. Ebeling J.M., Timmons M.B., and Bisogni, J.J. (2006), «Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems», *Aquaculture*, Vol. 257, pp. 346–358.

76. Paredes D., Kuschik P., Mbwette T.S.A., Stange F., Muller R.A. and Koser, H. (2007), «New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment – a review», *Engineering in Life Sciences*, Vol. 7, pp. 13–25.

77. Randall D.J. and Tsui, T.K.N. (2002), «Ammonia toxicity in fish», *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 45 (1–12), pp. 17–23.

78. Tal Y., Watts J.E.M., Schreier S.B., Sowers K.R. and Schreier, H.J. (2003), «Characterization of the microbial community and nitrogen transformation processes associated with moving bed bioreactors in a closed recirculated mariculture system», *Aquaculture*, Vol. 215 No. 1–4, pp. 187–202.

79. Руссо Р., Турстон Р. Токсичность аммиака и нитритов для рыб. *Влияние загрязняющих веществ на гидробионты и экосистемы водоемов*. Ленинград, 1979. С. 276–285.

80. Черкесова Д. У., Исуев А. Р., Магомедгаджиева Д. Н., Абдуллаев Х. Т. Воздействие нитритной интоксикации на содержание

фосфолипидов и холестерина в теле рыб. *Тезисы докл. I конгр. икhtiологов России*. Москва : ВНИРО, 1997. С. 465.

81. Моисеенко Т. И. Водная экотоксикология. Теоретические и прикладные аспекты. Москва, 2009. 400 с.

82. Руссо Р., Турстон Р. Токсичность аммиака и нитритов для рыб. *Влияние загрязняющих веществ на гидробионты и экосистемы водоемов*. Ленинград, 1979. С. 276–285.

83. Шахназарова А. Б. Морфофизиологические и биохимические показатели гидробионтов в условиях нитритной интоксикации : дисс. ... канд. биол. наук. Махачкала, 2005. 122 с.

84. 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.

85. Барсукова М. М. Изменение активности интерреналовой железы у форели при отравлении нитритами. *Сб. науч. трудов Гос. НИИ оз. и реч. рыб. хоз-ва*. 1993. № 35. С. 38–45.

86. Велдре И. А., Роома М. Я. Токсическое воздействие нитритов на рыб. *Экология*. 1990. № 11. С. 71–73.

87. Шахмурзов М. М., Метелев В. В., Призенко В. К., Петрова Л. В., Викторова Н. Ф. Диагностика, лечение и профилактика отравлений рыб азотсодержащими веществами. *Ветеринария*. 1991. № 5. С. 55–57.

88. Carballo M., Munoz M.J., Cuellar M. and Tarazona, J.V. (1995), «Effects of waterborne copper, cyanide, ammonia, and nitrite on stress parameters and changes in susceptibility to saprolegniosis in rainbow trout», *Applied and Enviromental Microbiology*, Vol. 61 No. 6, pp. 2108–2112.

89. Dolezalova P., Macova S., Pistekova V., Svobodova Z., Bedanova I. and Voslarova, E. (2011), «Nitrite toxicity assessment in Danio rerio and Poecilia reticulata», *Acta Veterinaria Brno*, Vol. 80, pp. 309–312.

90. Верголяс М. Р. Визначення токсичності водних зразків з використанням гематологічних параметрів риби. *Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наукових праць*. Київ, 2015. Т. 17. С. 299–302.

91. Худа Л. В., Худий О. І., Хачман Я. Ю. Нітрит-індуковане накопичення метгемоглобіну в еритроцитах стерляді. *Матеріали V міжнародної ікhtiологічної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми теоретичної і практичної ікhtiології»*. Чернівці, 2012. С. 241–243.

92. Clauss T., Dove A. and Arnold, J. (2008), «Hematologic disorders of fish», The veterinary clinics of North America *Exotic Animal Practice*. Vol. 11, pp. 445–462.

93. Faghani T., Kousha A., Azari Takami G.H. and Faghani, S. (2008), «Study on growth performance, survival rate, hematological parameters in Rainbow Trout (*Onchorynchus mykiss*) in Mazandaran Province of Iran», *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, Vol. 3(6), pp. 398–403.

94. Smith C.E. and Russo, R.C. (1975), «Nitrite-induced methemoglobinemia in rainbow trout», *Prog Fish Cult*, Vol. 37, pp. 150–152.

95. Svobodova Z., Machova J. and Poleszczuk, G. (2000), «Nitrite poisoning of fish in aquaculture facilities with water-recirculating system», *Journal Acta Veterinaria Brno*, Vol. 74, pp. 129–137.

96. Иванеха Е. В. Применение перекиси водорода для лечения и профилактики метгемоглобинемии при отравлении карпов нитритами. *Сб. научных трудов ВНИИПРХ*. 2006. Вып. 81. С. 98–107.

97. Черкесова Д. У., Исуев А. Р., Магомедгаджиева Д. Н., Абдуллаев Х. Т. Воздействие нитритной интоксикации на содержание фосфолипидов и холестерина в теле рыб. *Тезисы докл. I конгр. ихтиологов России*. Москва : ВНИРО, 1997. С. 465.

98. Шахмурзов М. М., Казанчев М. Х., Гуштин В. Н. Содержание нитритов и нитратов в воде и рыбе рыбохозяйственных водоемов. *Сборник научных трудов ВНИИ вет.сан., гигиены и экол*. 1998. С. 64–67.

99. Давыдов О. Н., Исаева Н. М., Куровская Л. Я. Ихтиопатологическая энциклопедия. Киев, 2000. 164 с.

100. Матей В. Е., Павлов Д. Р., Чуйко Г. М. Влияние кадмия на структуру жабр тилляпии. *Цитология*. 1993. Т. 35, № 10. С. 13–19

101. Матей В. Е. Функциональная морфология жаберного эпителия пресноводных костистых рыб. *В книге Физиология, биохимия и токсикология пресноводных животных*. Ленинград, 1990. С. 104–141.

102. Гидрохимические показатели состояния окружающей среды : справочные материалы / под ред. Т. В. Гусевой. Москва, 2007. 192 с.

103. Гриневич Н. Є., Димань Т. М. Сезонні зміни гідрохімічних показників води за використання установок замкнутого водопостачання для вирощування райдужної форелі. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2016. Вип. 2 (130). С. 33–39.

104. Назаренко В. І. Методичний посібник з визначення якості води / за ред. В. І. Назаренко. Київ, 2002. 52 с.

105. Секретарюк К. В., Стрижак О. І., Лобойко Ю. В. Вплив основних гідрохімічних показників на організм вирощуваних риб. *Сільський господар*. Львів, 2003. № 9–10. С. 29–30.

106. Алтуфьев Ю. В. Печінка каспійських осетрових в умовах антропогенного забруднення середовища. *Екологічні та морфофункціональні основи адаптації гідробіонтів* : тези доповідей симпозіуму, присвяченого 90-річчю з дня народження проф. М. Л. Гербильського. Ленінград, 1990. С. 3–5.

107. Агеец В. Ю., Дегтярик С. М. Ихтиопатология сегодня и завтра. *Вопросы рыбного хозяйства Беларуси* : сб. науч. трудов. Минск, 2014. Вып. 30. С. 75–87.

108. Алимов С. І. Рибне господарство України : стан і перспективи. Київ, 2003. 336 с.