

Совместное воздействие УФ излучения и ультразвуковой кавитации на сапрофитную и условно-патогенную микрофлору холодноводных УЗВ

DOI

Кандидат биологических наук, доцент **Д.Л. Никифоров-Никишин** – ведущий научный сотрудник;

Кандидат биологических наук **А.В. Горбунов** – ведущий научный сотрудник;

магистрант **О.Г. Бугаев** – старший лаборант;

Кандидат технических наук **С.В. Смородинская** – заведующий лабораторией **Н.И. Кочетков** – младший научный сотрудник –

Факультет биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО «МГУТУ им. Разумовского (ПКУ)»

@ Samatrixs@gmail.com

Ключевые слова:

сапрофитная микрофлора воды, УЗВ, ультразвук, ультрафиолетовое излучение

Keywords:

saprophytic water microflora, RAS, ultrasound, ultraviolet radiation

THE COMBINED EFFECT OF UV RADIATION AND ULTRASONIC CAVITATION ON SAPROPHYTIC AND CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROFLORA OF COLD-WATER ULTRASOUND

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor **D.L. Nikiforov-Nikishin** – Leading Researcher;

Candidate of Biological Sciences **A.V. Gorbunov** – Leading Researcher;

Master's student **O.G. Bugaev** – senior laboratory assistant;

Candidate of Technical Sciences **S.V. Smorodinskaya** – Head of the laboratory

N.I. Kochetkov – Junior Researcher –

Faculty of Biotechnology and Fisheries *FGBOU VO "MGUTU im. Razumovsky (PKU)"*

The paper considers the combined effect of ultraviolet radiation (UV) and ultrasonic cavitation (ultrasonic) as part of ultrasonic filtration systems on representatives of saprophytic and conditionally pathogenic microflora of water. Ultrasound examination (25 kHz) is a promising method of purification in aquaculture due to the possibility of inactivation of microorganisms in agglomerates that are not exposed to UV. As a result of the study of the cultivated microflora, it was found that ultraviolet radiation and the combined effect of UV and ULTRASOUND have a significant effect on the quantity and quality of saprophytic microflora of water. It is shown that the studied modes of operation led to a significant decrease (at $p < 0.05$) in the occurrence of the genus *Escherichia* relative to the control (without exposure to ultrasound and UV). The total contamination of UV water decreased to 1.2×10^2 CFU/ml with UV operation and to 1.1×10^2 CFU/ml with the combined action of UV and ultrasound. The UV sterilizer showed low efficiency in relation to *Enterobacter cloacae*, while the combined effect of UV and ultrasound led to a significant decrease in CFU to $0.94 \pm 0.05 \text{ Log}_{10}$.

ВВЕДЕНИЕ

Выращивание гидробионтов в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ) является одним из перспективных способов индустриальной аквакультуры [1], так как позволяет культивировать виды вне зависимости от климатических условий, снижает потребность в сырьевых и энергетических ресурсах, а также оказывает минимальное воздействие на окружающую среду [2].

Ключевой технологической особенностью УЗВ представляется оборотное водоснабжение бассейнов, при котором повторно используемая вода проходит ряд последовательных этапов очистки: механическая (удаление крупных взвесей, отстаивание, фильтрация), биологическая (использование быстро размножающихся гетеротрофных микроорганизмов для окисления органических биополимеров и перевода аммония в нитраты) и дезинфекция (обработка воды жестким ультрафиолетовым излучением и/или озонирование) [3].

Важным элементом системы очистки воды УЗВ является биофильтр, в котором формируется

микробное сообщество, состоящее из представителей разных таксономических групп, включая нитрифицирующие бактерии, преобразующие ионы аммония в нитраты [4]. Формирование состава микробиома биофильтра и воды УЗВ не является универсальным и зависит от множества внешних факторов и, вероятно, уникально для каждой установки [5]. Так, состав микробиома биофильтра может подвергаться значительным вариациям, в результате изменения плотностей посадки и нормы кормления, температуры и гидрохимических параметров среды, а также применения химических терапевтических средств [6, 7]. Известно, что сапрофитная микрофлора – одна из ключевых экологических групп микроорганизмов в аквакультурных хозяйствах типа УЗВ [8, 9] и, как правило, она представлена видами типа *Proteobacteria*. В зависимости от условий, в биофильтре доминируют виды протеобактерий, которые могут участвовать в деструкции продуктов метаболизма гидробионтов (род *Nitrosomonas* и *Nitrococcus*) [10, 11], либо относится к условно-патогенной флоре (*Aeromonas*

salmonicida, *A. hydrophila*, *A. caviae*, *Pseudomonas fluorescens*, сем. *Enterobacteriaceae* и др.), вызывающей различные заболевания у культивируемых объектов [12]. Поэтому в условиях плотных посадок гидробионтов, особое внимание уделяется применению дополнительных методов очистки и дезинфекции воды. Например, использование жесткого УФ-излучения является наиболее безопасным и дешёвым способом дезинфекции воды. При этом, эффективность воздействия УФ-радиации может снижаться при высоком содержании органических загрязнений и большого числа взвешенных частиц, к которым прикрепляются микроорганизмы [13]. Подобные стабильные агломераты (лишь частично подверженные биоцидному действию УФ) известны для колониальных и спорообразующих микроорганизмов [14, 15].

Для усиления степени дезинфекции многие исследователи предлагают использовать явление ультразвуковой кавитации. Так, показано, что ультразвук с частотой 25 кГц, способен разрушать ряд бактерий и многоклеточных организмов, а также – некоторые соединения-метаболиты культивируемых гидробионтов [16-18, 14], что повышает качество циркулирующей воды в УЗВ.

Поэтому в данной работе была проведена оценка эффективности совместного воздействия УФ-стерилизаторов и ультразвуковых установок на состав представителей сапрофитной и условно-патогенной микрофлоры воды установок замкнутого водоснабжения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования и характеристики экспериментальной установки

Исследование микрофлоры воды проводилось в установках замкнутого водоснабжения объёмом 2000 л, с системами механической и биологической очистки и подменой 10% воды. Экспериментальная установка, состоящая из УФ-стерилизатора и ультразвукового оборудования, была размещена перед выпуском из биофильтра, далее мы будем называть ее УФУЗ.

Установка УФУЗ напорного типа выполнена предприятием-изготовителем ООО «Новотех-ЭКО» (РФ, г. Вологда), с возможностью крепления на независимой стойке со шкафом управления (рис. 1). В исследовании применялась модель УОВ-ПВ-5 в исполнении ЕСО-1А105Н40УС, предназначенная для эксплуатации при температуре окружающего воздуха от +4°C до +40°C и относительной влажности воздуха не более 85% при 25°C. УФУЗ, используемая в эксперименте, имела следующую комплектацию: универсальная монтажная стойка, камера обеззараживания (фотохимический реактор), ультразвуковой излучатель (кавитатор), патрубок для слива воды с краном, защитный кожух с окном для контроля свечения лампы, сменная УФ-лампа, кварцевый чехол, блок управления. Экспериментальная установка имеет следующие характеристики: эффективная доза 25 мДж/см²; производительность 5 л/ч; мощность ультразвукового кавитатора УЗ 0,12 кВт; частота ультразвуковых колебаний 25 кГц; УФ лампа амальгамная безозонового исполнения мощностью 30Вт.

В работе рассмотрено совместное влияние ультрафиолетового излучения (УФ) и ультразвуковой кавитации (УЗ) в составе систем фильтрации УЗВ на представителей сапрофитной и условно-патогенной микрофлоры воды. Ультразвуковое излучение (25 кГц) является перспективным способом очистки в аквакультуре, ввиду возможности инактивации микроорганизмов в составе агломератов, не подверженных действию УФ. В результате исследования культивируемой микрофлоры было установлено, что ультрафиолетовое излучение и совместное действие УФ и УЗ оказывает достоверное влияние на количество и качество сапрофитной микрофлоры воды. Показано, что исследуемые режимы работы приводили к достоверному снижению (при $p < 0.05$) встречаемости рода *Escherchia*, относительно контроля (без воздействия ультразвука и УФ). Общая обсемененность воды УЗВ снижалась до $1,2 \times 10^2$ КОЕ/мл при работе УФ и до $1,1 \times 10^2$ КОЕ/мл – при совместном действии УФ и УЗ. УФ-стерилизатор показал низкую эффективность по отношению к *Enterobacter cloacae*, при этом совместное действие УФ и УЗ привело к достоверному снижению КОЕ до $0,94 \pm 0,05 \text{ Log}_{10}$.

Объём пропускаемой воды на период эксперимента, составлял 4 тыс. л/ч. В экспериментальной УЗВ содержались особи радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) общей биомассой 41,5 кг, средняя масса рыб составляла $276,6 \pm 14,1$ граммов. Во время эксперимента кормление рыбы осуществлялось продукционным гранулированным кормом 6 мм (Correns, Нидерланды), в соответствии с рыбоводными нормативами (норма кормления 2,33%, суточная норма 950 г).

Эксперимент включал следующие режимы работы системы очистки: без воздействия УЗ и УФ; группа с использованием источника УФ излучения; группа, включающая совместное воздействие УЗ+УФ. Отбор проб на микробиологические исследования производился через 3 суток после изменения режима работы УФУЗ, что является достаточным для изменения в составе микрофлоры воды.

Отбор проб и культивация бактериальных культур

Отбор проб производили из спускного коллектора водоочистительной установки при помощи механического дозатора Plastomed f 500 с рабочим объемом 500мл, с использованием стерильных наконечников Vertex 4340N00 объемом 1250 мкл. В качестве емкости для отбора проб использовали стерильные микропробирки с интегрированной крышкой GenFollower MCTB015 объемом 1.5 мл.

Для культивации микрофлоры и ее последующего выделения использовали среду ВНІА НІМЕDІА M211 (Brain Heart Infusion Agar; Агар с сердечно-мозговой вытяжкой), которую предварительно разливали по 6 мл в стерильные чашки Петри Plastilab серии Triple vented диаметром 60 мм. Среды приготавливали при помощи средоварки AGASTER ECO-

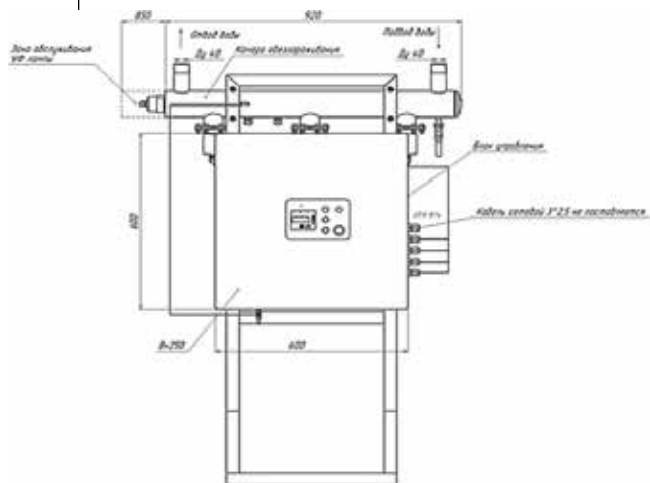


Рисунок 1. Общий вид установка обеззараживания воды УФУЗ модели УОВ-ПВ-5

Figure 1. General view of the UV ultrasonic water disinfection unit of the UOV-PV-5 model

Mini, разлив сред проводили в стерильных условиях в ПЦР-боксе с принудительной вентиляцией (Biosan DNA/RNA UV cleaner box UVC/T-M-AR). Чашки Петри, после разлива сред, подвергали сушке в термостате (BINDER серии BF 115 E1) при температуре 40°C, мощности воздушного потока 75% на протяжении 45-55 минут (в зависимости от степени влажности).

Посев отобранного материала в чашки Петри производили в течение 15 минут после отбора. Посев осуществляли общепринятым методом без разбавления в объемах 5 и 10 мкл в трех повторностях для каждой пробы. Для нанесения пробы использовали механические дозаторы Biohit серии PROLINE Pipettor объемами 5 и 10 мкл, соответственно.

После проведения посева, чашки Петри помещали в термостат в условия постоянной температуры 22°C для инкубации (общим сроком в 5 суток, приблизительно 120 часов).

По прошествии первых суток проводили подсчет бактериальной активности и отбор характерных «суточных» бактериальных колоний для их дальнейшей видовой идентификации. Перенос колоний осуществляли на ранее заготовленные чашки Петри со средой BHIA HIMEDIA M211 (Brain Heart Infusion Agar; Агар с сердечно-мозговой вытяжкой) разлитой по 6 мл. Данную операцию выполняли между каждой новой колонией для обеспечения чистоты материала. Каждые сутки вели подсчет динамики бактериальной активности. По окончании процесса инкубации подсчитывали общее число колоний.

В качестве средств родовой и видовой идентификации использовали визуальные отличительные признаки колоний. Данные получены в результате микроскопии на световом микроскопе (Olympus BX53) с окулярной приставкой (TourCam 16.0 MP) и инвертированном микроскопе Биомед Мир-1 с объективами EA10, PL40, EA100; использования сред-индикаторов: Питательная среда N14 ГРМ, Питательная среда N7 ГРМ, Питательная среда N6 ГРМ, Питательная среда N13 ГРМ (ФГБУН ГНЦПМБ);

идентификационные тесты: набор определения цитохромоксидазы по Эрлиху (ГБУН НИИ ЭМП), набор для окраски по Грамму МИКРО-ГРАММ-НИЦФ, системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов наборы N1, N2, а также тестовые реакции на каталазу, оксидазу, глюкозу. Все определенные морфологические и биохимические характеристики колоний бактерий сравнивали с Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ninth Edition [19].

Статистическая обработка

Данные, по сравнению численности и представленности микроорганизмов, представлены как среднее ± SD; статистическая значимость определялась с помощью теста Манна – Уитни (значение p < 0,05 принималось как статистически значимое). Для сравнения данные количества микроорганизмов, при разных режимах работы, представлены в виде Log10(KOE/мл). Статистические данные обрабатывались с помощью программы GraphPad Prism версии 8.0 (GraphPad. San Diego. CA. USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая обсемененность воды в контроле составила 1,8×10³ КОЕ/мл, что говорит о высоком качестве воды в исследуемой УЗВ. В результате исследования воды, без обработки ультрафиолетовым излучением и ультразвуком (контроль), была определена таксономическая принадлеж-

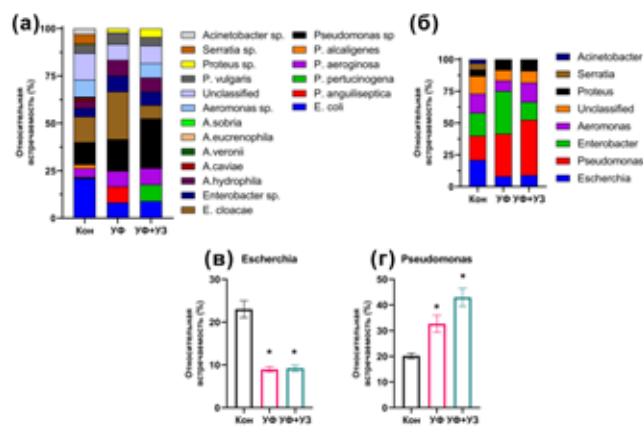


Рисунок 2. Относительная встречаемость видов сапрофитной и условно-патогенной микрофлоры холодноводных УЗВ: (а) – относительная встречаемость видов микрофлоры; (б) – относительная встречаемость родов микрофлоры; (в, г) – сравнение относительной встречаемости родов Escherchia и Pseudomonas при опытных и контрольном режиме работы УФУЗ

Figure 2. Relative occurrence of saprophytic and conditionally pathogenic microflora of cold-water ultrasound: (a) – relative occurrence of microflora species; (b) – relative occurrence of microflora genera; (c, d) – comparison of the relative occurrence of Escherchia and Pseudomonas genera in experimental and control modes of UFUZ operation

ность 18 бактериальных культур типа *Proteobacteria* (рис. 2, а). Среди них наибольшей представленностью обладали следующие виды *Escherchia coli* (21% от общего числа видов), *Enterobacter cloacae* (13,5%), *Pseudomonas sp.* (11,59%) и *P. aeruginosa* (4,56%). Среди ключевых родов микроорганизмов наибольшей относительной встречаемостью обладали представители *Escherchia* (21% от общего числа родов), *Pseudomonas* (19%), *Enterobacter* (18%) и *Aeromonas* (15%) (рис. 2, б). Неклассифицированные организмы составляли около 14% ($2,52 \times 10^2$ КОЕ/мл) от общего количества культивируемых бактерий. Такие рода как *Proteus*, *Serratia* и *Acinetobacter* обладали наименьшей встречаемостью – от 3 до 5%.

Применение ультрафиолета (УФ) привело к снижению общей численности бактерий до $1,2 \times 10^2$ КОЕ/мл, что подтверждает эффективность работы ультрафиолетовой установки.

Включение в систему очистки ультразвука способствовало изменению количества сапрофитной микрофлоры УЗВ. Общая обсемененность воды УЗВ в данной группе составила $1,1 \times 10^2$ КОЕ/мл. Так, оба режима работы приводили к достоверному снижению ($p < 0,05$) относительной численности рода *Escherchia*, относительно контрольного режима работы (рис. 2, в), при этом увеличивалась встречаемость рода *Pseudomonas* (рис. 2, г). При использовании УЗ и УФ в воде наблюдалось полное исчезновение таких видов, как *Pseudomonas pertucinogena* и *P. alcaligenes*, а также – большинства представителей рода *Aeromonas* (за исключением *A. hydrophila*).

Воздействие УФ и УЗ существенно повлияло на количество всех видов обнаруженных микроорганизмов.

Бактериостатический эффект был наиболее выражен на представителях рода *Proteus* (*P. vulgaris* и *Proteus sp.*), где $\text{Log}_{10}(\text{КОЕ}/\text{мл})$ достоверно снижался до $0,75 \pm 0,06$ ($p < 0,05$; рис. 3, а, б). Действие УФ и совместное применение с УЗ также повлияло на количество бактерий видов *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherchia coli*, достоверно снижая КОЕ/мл относительно контрольного режима работы ($p < 0,05$; рис. 3, в, д, е). УФ показал низкую эффективность по отношению к *Enterobacter cloacae*, вызывая недостоверное снижение количества микроорганизмов до $1,74 \pm 0,33 \text{ Log}_{10}$ (рис. 3, г). При этом совместное действие УФ и УЗ привело к достоверному снижению КОЕ ($p < 0,05$) до $0,94 \pm 0,05 \text{ Log}_{10}$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали перспективность совместного действия ультрафиолетового излучения и ультразвука частотой 25 кГц, при использовании в установках замкнутого водоснабжения, для снижения микробиологической обсемененности. Совместное применение позволяет снизить количество циркулирующей микрофлоры в водной среде УЗВ на 93,9%, относительно контрольного режима работы. Необходимо отметить, что самостоятельное применение УФ излучения снижает общее количество микрофлоры, однако добавление в систему очистки установки ультразвуковой кавитации приводит к гибели условно-патогенной флоры, которая может вызывать бактериальные болезни рыб.

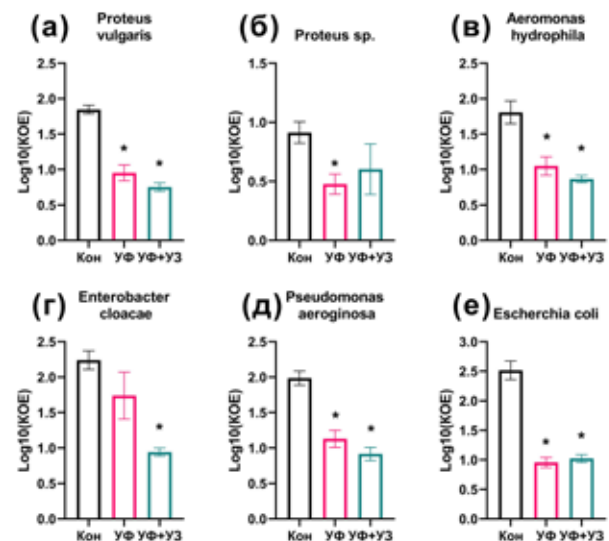


Рисунок 3. Количество колониеобразующих единиц видов микрофлоры УЗВ при разных режимах работы УФУЗ

Figure 3. The number of colony-forming units of the types of ULTRASOUND microflora under different modes of operation of UFUZ

В данной работе снижение количества микроорганизмов наблюдалось уже на третьи сутки, что позволяет предположить возможность поддерживать количество микроорганизмов на стабильно низком уровне при постоянной работе УФУЗ.

Обнаруженные в воде сапрофитные микроорганизмы преимущественно относились к типу Протеобактерий, представители которого активно участвуют в очистке воды [5, 20, 21].

Достоверное снижение количества КОЕ отмечается для следующих видов микроорганизмов: *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherchia coli*, *Enterobacter cloacae* и *Proteus vulgaris*, относительно контрольного режима работы. Подобные результаты были получены другими авторами [22, 23]. Следует отметить, что ранее нами было показано достоверное снижение некоторых представителей перифитона элементов фильтрации, при совместном воздействии ультразвуковой кавитации и УФ облучения [24–26]. Более того, S. Knobloch [27] доказал, что применение УЗ установки оказывает влияние не только на микрофлору воды, но и на микробиом кожи культивируемых гидробионтов. Поэтому мы предполагаем, что установка УФУЗ оказывает воздействие на все элементы экосистемы биофильтра и водной среды УЗВ.

Следовательно, мы можем рекомендовать совместное использование ультразвуковой кавитации и ультрафиолетового излучения для поддержания качества циркулируемой воды в установках замкнутого водоснабжения.

ВЫВОДЫ

В условиях холодноводных УЗВ, с невысокой биологической нагрузкой, микробиологическая обсемененность, даже без применения УФ, сохраняется на достаточно низком уровне ($1,8 \times 10^3$ КОЕ/мл).

Включение в состав фильтрующей системы УФ-стерилизатора и источника ультразвуковой кавитации позволяет снизить обсеменённость водной среды до крайне низких значений 1.2×10^2 КОЕ/мл и 1.1×10^2 КОЕ/мл, соответственно.

Применение УФУЗ установки привело к достоверному снижению (при $p < 0.05$) относительной встречаемости рода *Escherchia* и увеличению встречаемости представителей рода *Pseudomonas*.

УФ показал низкую эффективность по отношению к *Enterobacter cloacae*, тогда как совместное действие УФ и УЗ привело к достоверному снижению колониеобразующих единиц до $0.94 \pm 0.05 \text{ Log}_{10}$ (при $p < 0.05$).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад в работу авторов: Д.Л. Никифоров-Никишин – идея работы, подготовка введения, заключения, окончательная проверка статьи; А.В. Горбунов – статистический анализ данных, оформление графического материала; О.Г. Бугаев – подготовка результатов и материалов и методов, подготовка статьи; С.В. Смородинская – подготовка и анализ литературных источников; Н.И. Кочетков – подготовка статьи к публикации, написание обсуждения.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Contribution to the work of the authors: D.L. Nikiforov-Nikishin – the idea of the work, preparation of the introduction, conclusion, final verification of the article; A.V. Gorbunov – statistical analysis of data, design of graphic material; O.G. Bugaev – preparation of results and materials and methods, preparation of the article; S.V. Smorodinskaya – preparation and analysis of literary sources; N.I. Kochetkov – preparing an article for publication, writing a discussion.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ/ REFERENCES AND SOURCES

- Lekang, O.-I., 2013. Aquaculture Engineering - Second Edition. John Wiley & Sons.
- Bregnballe, J. (2015). A guide to recirculation aquaculture. FAO and EUROFISH International Organisation.
- Комлацкий, В.И., Комлацкий, Г.В., Александрович, В.В. (2018). Рыбоводство. Scientific magazine "Kontsep".
- Komlatsky, V.I., Komlatsky, G.V., Alexandrovich, V.V. (2018). Fish farming. Scientific journal "Concept".
- Hüpeden, J., Wemheuer, B., Indenbirken, D., Schulz, C., & Spieck, E. (2020). Taxonomic and functional profiling of nitrifying biofilms in freshwater, brackish and marine RAS biofilters. *Aquacultural Engineering*, 90, 102094.
- Suurnäkki, S., Pulkkinen, J.T., Lindholm-Lehto, P.C., Tirola, M., & Aalto, S.L. (2020). The effect of peracetic acid on microbial community, water quality, nitrification and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 516, 734534.
- Pedersen, L.F., Pedersen, P.B., Nielsen, J.L., & Nielsen, P.H. (2009). Peracetic acid degradation and effects on nitrification in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 296(3-4), 246-254.
- Michaud, L., Blancheton, J.P., Bruni, V., & Piedrahita, R. (2006). Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquacultural engineering*, 34(3), 224-233.
- Rud, I., Kolarevic, J., Holan, A. B., Berget, I., Calabrese, S., & Terjesen, B. F. (2017). Deep-sequencing of the bacterial microbiota in commercial-scale recirculating and semi-closed aquaculture systems for Atlantic salmon post-smolt production. *Aquacultural Engineering*, 78, 50-62.
- Aalto, S.L., Syropoulou, E., de Jesus Gregersen, K.J., Tirola, M., Pedersen, P.B., & Pedersen, L.F. (2022). Microbiome response to foam fractionation and ozonation in RAS. *Aquaculture*, 550, 737846.
- Legarda, E.C., Poli, M.A., Martins, M.A., Pereira, S.A., Martins, M.L., Machado, C., ... & do Nascimento Vieira, F. (2019). Integrated recirculating aquaculture system for mullet and shrimp using biofloc technology. *Aquaculture*, 512, 734308.
- Tabarrok, M., Seyfabadi, J., Salehi Jouzani, G., & Younesi, H. (2020). Comparison between recirculating aquaculture and biofloc systems for rearing juvenile common carp (*Cyprinus carpio*): Growth performance, haemato-immunological indices, water quality and microbial communities. *Aquaculture Research*, 51(12), 4881-4892.
- Fossmark, R.O., Vadstein, O., Rosten, T.W., Bakke, I., Košet, D., Bugten, A.V., ... & Attramadal, K. J. (2020). Effects of reduced organic matter loading through membrane filtration on the microbial community dynamics in recirculating aquaculture systems (RAS) with Atlantic salmon parr (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 524, 735268.
- Madge, B.A., & Jensen, J.N. (2006). Ultraviolet disinfection of fecal coliform in municipal wastewater: effects of particle size. *Water Environment Research*, 78(3), 294-304.
- Gogate, P.R., & Kabadi, A.M. (2009). A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. *Biochemical Engineering Journal*, 44(1), 60-72.
- Narkis, N., Armon, R., Offer, R., Orshansky, F., & Friedland, E. (1995). Effect of suspended solids on wastewater disinfection efficiency by chlorine dioxide. *Water Research*, 29(1), 227-236.
- Tan, W.K., Cheah, S.C., Parthasarathy, S., Rajesh, R.P., Pang, C.H., & Manickam, S. (2021). Fish pond water treatment using ultrasonic cavitation and advanced oxidation processes. *Chemosphere*, 274, 129702.
- Doosti, M.R., Kargar, R., & Sayadi, M.H. (2012). Water treatment using ultrasonic assistance: A review. *Proceedings of the international academy of ecology and environmental sciences*, 2(2), 96.
- Nam-Koong, H., Schroeder, J.P., Petrick, G., & Schulz, C. (2020). Preliminary test of ultrasonically disinfection efficacy towards selected aquaculture pathogens. *Aquaculture*, 515, 734592.
- Garrity G. Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria. – Springer Science & Business Media, 2007. – Т. 2.
- Qin, Y., Hou, J., Deng, M., Liu, Q., Wu, C., Ji, Y., & He, X. (2016). Bacterial abundance and diversity in pond water supplied with different feeds. *Scientific reports*, 6(1), 1-13.
- Paniagua-Michel, J. (2017). Wastewater treatment using phototrophic-heterotrophic biofilms and microbial mats. *Prospects and challenges in algal biotechnology*, 257-275.
- Karamah, E.F., & Sunarko, I. (2013). Disinfection of bacteria *Escherichia coli* using hydrodynamic cavitation. *International Journal of Technology*, 4(3), 209-216.
- Annisha, O.D.R., Li, Z., Zhou, X., Stenay Junior, N.M.D., & Donde, O.O. (2019). Efficacy of integrated ultraviolet ultrasonic technologies in the removal of erythromycin-and quinolone-resistant *Escherichia coli* from domestic wastewater through a laboratory-based experiment. *Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development*, 9(3), 571-580.
- Климов В.А. и др. Изменение состава перифитона элементов фильтрации установок замкнутого водоснабжения при совместном воздействии УФ-излучения и ультразвука // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. – 2022. – №. 4. – С. 113-122. – DOI 10.24143/2073-5529-2022-4-113-122
- Klimov V.A. et al. Change in the composition of the periphyton of filtration elements of closed water supply installations under the combined effect of UV radiation and ultrasound // Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries. – 2022. – №. 4. – Pp. 113-122. – DOI 10.24143/2073-5529-2022-4-113-122
- Nikiforov-Nikishin D.L. et al. Temperature differentiation of aquatic microflora of a closed water supply system by the example of incubation of microbiological crops at 21 and 37° C // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – IOP Publishing, 2021. – Т. 723. – №. 4. – С. 042049.
- Smorodinskaya, S.V., Bugaev, O.G., Gorbunov, A.V., & Zhavnerov, A.N. (2021, March). Potentially dangerous to human pathogenic thermophilic microorganisms of fish in recirculation aquaculture systems. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 723, No. 4, p. 042074). IOP Publishing.
- Knobloch, S., Philip, J., Ferrari, S., Benhaïm, D., Bertrand, M., & Poirier, I. (2021). The effect of ultrasonic antifouling control on the growth and microbiota of farmed European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Marine Pollution Bulletin*, 164, 112072.