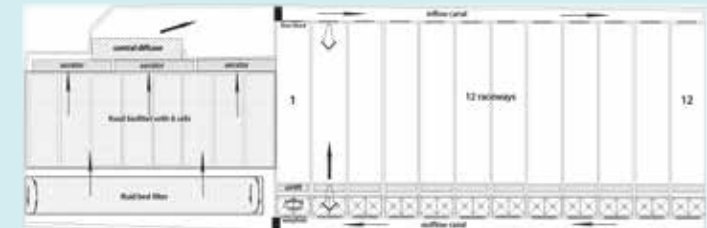
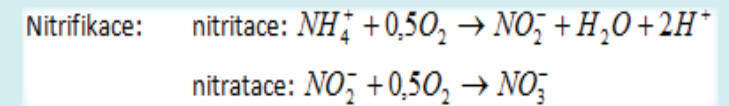
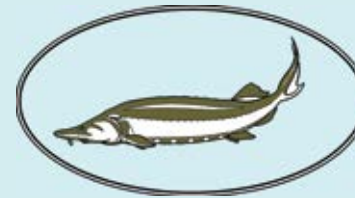




Metodika záběhu biologického filtru v intenzivním recirkulačním zařízení dánského typu pro chov ryb



cover design by Štěpán Lang

Mendelova univerzita v Brně

Certifikovaná metodika

METODIKA R10/2015

**Metodika záběhu biologického filtru v intenzivním recirkulačním
zařízení dánského typu pro chov ryb**

Ing. Štěpán Lang, doc. Ing. Radovan Kopp, Ph.D., prof. Dr. Ing. Jan Mareš

Brno

2015

Metodika je realizačním výstupem výzkumného projektu MZe ČR QJ1210013 Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče Národní agentury pro zemědělský výzkum.

Oponenti:

Ing. Petr Chalupa, Ministerstvo zemědělství, Odbor státní správy lesů, myslivosti a rybářství, Oddělení rybářství a včelařství, Těšnov 65/17, 110 00 Praha 1

Ing Karel Plotěný, ASIO, spol. s r.o., Kšírova 552/45, 619 00 Brno

**Osvědčení o uznání uplatněné certifikované metodiky R10/2015 66951/2015-16230/N_{met}
CERTIFIKOVANÁ METODIKA ze dne 10.12.2015**

Vydalo:

Ministerstvo zemědělství, Odbor státní správy lesů, myslivosti a rybářství, Těšnov 65/17, 110 00 Praha 1

Adresa autorského kolektivu:

Ing. Štěpán Lang, doc. Ing. Radovan Kopp, Ph.D., prof. Dr. Ing. Jan Mareš

Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Oddělení rybářství a hydrobiologie, Zemědělská 1, 613 00 Brno.

www.rybarstvi.eu

Mendelova univerzita v Brně

ISBN 978-80-7509-375-2

Obsah

1	Cíl metodiky.....	4
2	Popis metodiky	4
3	Charakteristika systému	5
4	Záběh biofiltru	5
5	Fyzikálně chemické parametry vody ovlivňující záběh biofiltru.....	5
5.1	Teplota vody.....	5
5.2	Obsah rozpuštěného kyslíku.....	7
5.3	Reakce vody - pH.....	8
5.4	Kyselinová neutralizační kapacita (KNK).....	9
5.5	Amoniakální dusík (N-NH ₄).....	10
5.6	Dusitanový dusík (N-NO ₂).....	11
5.7	Inokulum.....	12
6	Metodika ovlivnění záběhu biofiltru	12
6.1	Úprava systému.....	12
6.2	Inokulace a „výživa“ bakterií	13
6.3	Analýzy během záběhu.....	15
7	Srovnání novosti postupů.....	15
8	Popis uplatnění metodiky.....	16
9	V. Ekonomické aspekty:.....	16
10	Poděkování	17
11	Seznam použité literatury:	17
12	Seznam předcházejících publikací:	19

1 Cíl metodiky

Cílem metodiky je poskytnout chovatelům ryb v recirkulačních typech akvakulturních systémů informace o možnostech optimalizace záběhu biologického filtru pro zajištění jeho funkčnosti a udržení odpovídající kvality vody v RAS. Metodika obsahuje návod pro zajištění co nejjednoduššího a nejrychlejšího záběhu biologického filtru v provozních podmínkách. Metodika je určena uživatelům recirkulačních akvakulturních systémů pro zajištění optimálního životního prostředí a welfare ryb. Metodika navazuje na ověřenou technologii Lang a kol. (2012): *Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému Dánského typu* a certifikovanou metodiku Kopp a kol (2014): *Stanovení základních fyzikálně-chemických parametrů v akvakulturních chovech ryb*.

Odbourávání dusíkatých látek v povrchových vodách vychází z přirozené činnosti nitrifikačních bakterií, které se podílí na samočisticích procesech. V intenzivních chovech ryb je tento princip využíván pro udržení odpovídající kvality vody, kdy proces odbourávání zplodin dusíkového metabolismu probíhá v biologických filtrech vybavených vhodnými typy náplní pro rozvoj těchto mikroorganismů.

2 Popis metodiky

Funkčnost každého biologického filtru je spojena s jeho „nastartováním“ z důvodu prvotní absence nitrifikačních bakterií. Nitrifikační bakterie se v systému podílí na koloběhu dusíkatých látek, kdy ve dvoustupňovém procesu nitrifikace přeměňují amoniak přes dusitany až na dusičnany. Amoniak je základní zplodinou metabolismu dusíkatých látek u ryb (více než 90 %) a je pro ryby neurotoxický. Dusitany jsou pro ryby také toxické, ale jejich působení zahrnuje především vazbu na hemoglobin za vzniku methemoglobinu, který není schopen transportu kyslíku a oxidu uhličitého. Rychlost záběhu biofiltru podstatně ovlivňuje ekonomiku energeticky náročných recirkulačních akvakulturních systémů (RAS). K základním fyzikálně chemickým parametrům vody ovlivňujícím záběh biofiltru v RAS patří teplota vody, obsah rozpuštěného kyslíku, hodnota pH, salinita, obsah amoniakálního a dusitanového dusíku.

3 Charakteristika systému

Studenovodní systémy dánského typu postavené v České republice a obecně po celé Evropě jsou systémy s vertikálním rozložením využívající minimální rozdíly hladin. Jsou to systémy využívající vhnání velkého množství vzduchu do vody za účelem zajištění její cirkulace, oksylikování a odplynění. Další využití vzduchu v systémech je na pohánění plovoucího filtru a odkalování filtrů ponořených. Filtry jsou naplněny plastovými elementy, na kterých se rozvíjí bakteriální mikroflóra žádoucích chemoautotrofních bakterií a ne příliš žádoucích heterotrofních bakterií. Nicméně princip dále uvedeného postupu podpory záběhu biologického filtru je využitelný i pro další akvakulturní systémy.

4 Záběh biofiltru

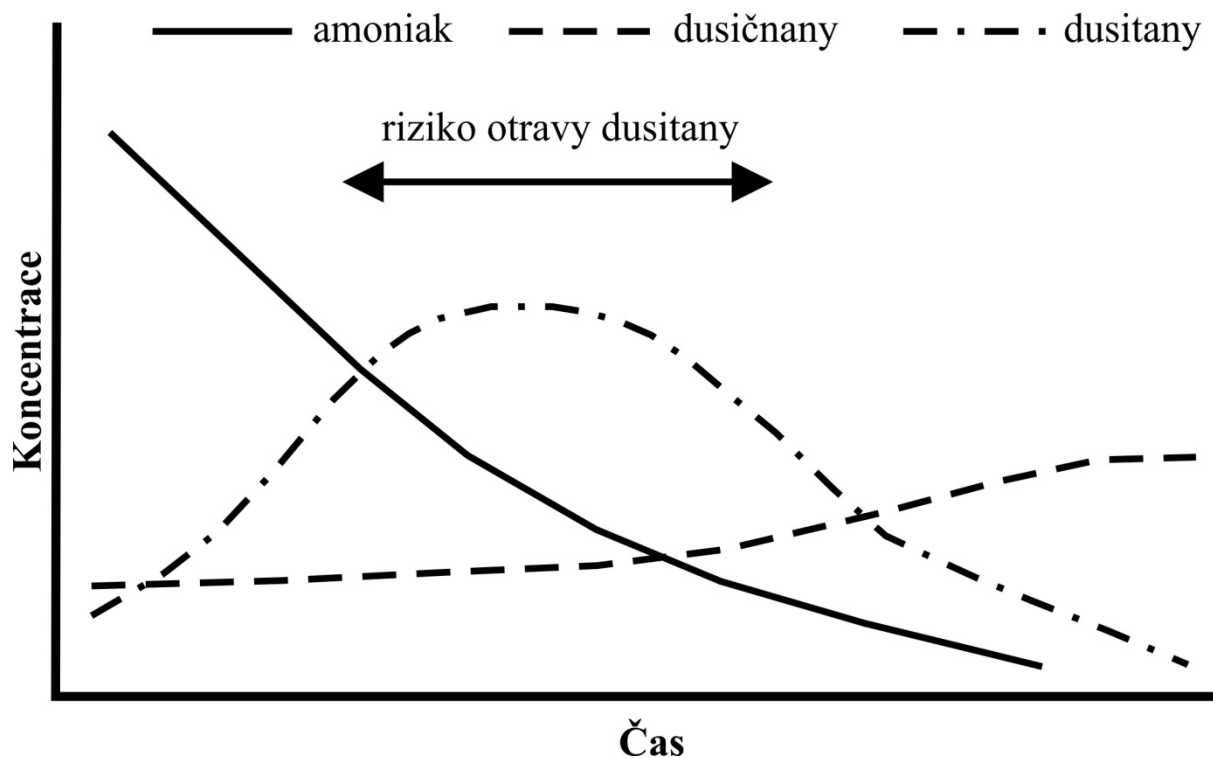
Pokud biofiltr začneme zatěžovat přísunem amoniaku, ve filtru se začne vytvářet mikroflóra nejdříve nitrifikačních a posléze nitratačních bakterií. Nitrifikační bakterie rostou pomalu. Přírůstek jejich množství je i při 20 °C jen o 60 a 45 % (nitrifikační a nitratační) jejich původní biomasy za den (Painter nad Loveless, 1983). V nově postaveném, nebo kompletně vydesinfikovaném biofiltru je nitrifikačních bakterií minimum a proto jeho přirozený náběh trvá dlouhou dobu. Rychlost růstu bakterií v studenovodních systémech navíc zpomaluje nízká teplota. Orientační průběh změn obsahů dusíkatých látek ve vodě během záběhu biofiltru zobrazuje graf 1 (Bregnballe, 2010, Kamstra a kol., 1996; Avnimelech a kol., 1986). Hodnoty na osách nejsou v grafu znázorněny záměrně, protože jejich výše a časový průběh změn jejich poměrů je závislý na biomase nitrifikačních bakterií v systému, intenzitě jejich „výživy“ amoniakem a dusitany a hlavně teplotě vody. Průběh křivek, který je při přirozeném záběhu biofiltru poměrně plochý se využitím bioaugmentace a „výživou“ bakterií ve filtru zvyšuje.

5 Fyzikálně chemické parametry vody ovlivňující záběh biofiltru

5.1 Teplota vody

Teplota patří mezi základní ukazatele charakterizující vodní ekosystém. Velký význam má teplota pro rozpustnost kyslíku, rychlost biochemických pochodů a tím i celý proces nitrifikace. U povrchových vod teplota vody kolísá nejen během roku, ale i během dne. To

platí i pro intenzivní systémy chovu ryb, pokud nejsou zastřešeny a tepelně izolovány. Teplotní výkyvy jsou však ve vodě menší než ve vzduchu. Změny teploty v nádržích se časově opožďují za změnami teploty ovzduší a to tím více, čím je objem nádrže větší. Přes poměrně úzké teplotní rozmezí přírodních vod a to od 0 °C asi do 30 °C významně ovlivňuje její chemickou a biochemickou reaktivitu a tím intenzitu metabolismu poikilotermních (různotepelných) organismů v ní žijících.



Obrázek 1: Graf změn obsahu jednotlivých forem dusíkatých sloučenin v průběhu přirozené kolonizace biofiltru nitrifikačními bakteriemi (dle Bregnballe,2010, upraveno).

Teplota vody je jedním z významných ukazatelů jakosti vody z hlediska života vodních organismů. Její stabilita, spolu se stabilitou pH, nasycením vody kyslíkem a salinitou, přímo ovlivňuje druhové složení, kvantitu a intenzitu metabolismu bakterií nitrátového cyklu v prostředí. Optimální hodnoty teploty vody pro růst a vývoj kaprovitých ryb jsou 18 - 28 °C u lososovitých 8 - 18 °C (Svobodová a kol. 1987). Bakteriální mikroflóra se teplotám plynule přizpůsobuje, není však schopna okamžitě reagovat na prudké výkyvy. Obecně se počítá, že pokud bereme 100% účinnost metabolismu bakterií při teplotě 20 °C, každé snížení teploty o 5 °C sníží účinek biologické filtrace o 25 % a naopak (Ma a kol., 2013). Optimální teplota pro nitrifikaci je 33 °C s postupným nárůstem intenzity nitrifikace od

20 °C do 35 °C a prudkým poklesem účinku nitrifikace při růstu teploty na 45 °C (intenzita 0%) (Cho a kol., 2014).

Ve specializovaných systémech intenzivního chovu ryb a v RAS je možno v určitém rozmezí teplotu regulovat. Pro chov v recirkulačních systémech jsou využívány různé zdroje tepla od geotermální vody, přes odpadní oteplenou vodu až po ohřev tepelnými čerpadly nebo solární energií (Kouřil a kol., 2008).

5.2 Obsah rozpuštěného kyslíku

Kyslík je nejvýznamnější z rozpuštěných plynů ve vodě, která s ním netvoří iontové sloučeniny. Dostává se do vody jednak difúzí z atmosféry, jednak při fotosyntetické asimilaci vodních rostlin, sinic a řas. (Pitter, 2009). Fotosyntéza vodních rostlin v intenzivních systémech chovu ryb hraje pouze zanedbatelnou roli. Množství kyslíku ve vodě značně ovlivňuje většinu biochemických procesů, a proto bývá často limitujícím faktorem pro život různých organismů. Kyslík je nezbytný pro zajištění aerobních pochodů při čištění vody v RAS. Pro správnou funkci biofiltru nesmí obsah kyslíku ve vodě klesat pod 4 mg.l⁻¹. Pokles obsahu kyslíku ve vodě pod 4 mg.l⁻¹ způsobí omezení metabolismu, při záběhu rychlosti růstu, především bakterií druhé fáze nitrifikace (nitratačních) (Stenstrom a Poduska, 1980, Nogueira a kol., 1998, Lazarova a kol., 1998). To v RAS se zaběhlým biofiltrem způsobí kumulaci toxických dusitanů a výrazně prodlouží prvotní záběh biofiltru. Množství rozpuštěného kyslíku ve vodě závisí na atmosférickém tlaku, koncentraci rozpuštěných látek a především na teplotě vody. S rostoucí teplotou se snižuje rozpustnost kyslíku ve vodě (Heteša a Kočková, 1997).

Kyslíkové poměry se kromě koncentrace rozpuštěného kyslíku v mg.l⁻¹ vyjadřují také procentem nasycení. Voda nasycená na 100 % má obsah kyslíku odpovídající daným fyzikálním podmínkám (tj. tlaku a teplotě). V přírodních vodách dochází často ke značným odchylkám od 100% hodnot nasycení a to na obě strany. K přesycení vody kyslíkem může dojít při mimořádné turbulenci vody (peřeje, jezy, vodopády, aerační technika), při intenzivní fotosyntetické asimilaci primárních producentů a v intenzivních akvakulturních systémech při sycení vody čistým kyslíkem. V přirozených vodách se na odčerpávání rozpuštěného kyslíku podílí řada činitelů. Vedle dýchání živočichů a rostlin je to nejčastěji spotřeba kyslíku při rozkladu organické hmoty a vzestup teploty vody (Lellák a Kubíček, 1991). V RAS je, díky intenzivnímu odstraňování organických látek ze systému, odběr kyslíku na rozklad

organických látek omezen na minimum. Nejvíce kyslíku spotřebovávají chované ryby. Velkým konzumentem kyslíku je však biologický filtr.

V RAS jsou k optimalizaci kyslíkové bilance využívána technická zařízení různého typu a konstrukce (aerační technika) nebo přímo dotace kyslíku do vodního prostředí. Udržení dostatečného obsahu rozpuštěného kyslíku je nezbytnou podmínkou pro příznivé produkční výsledky (úroveň přežití, intenzita růstu, příjem a využití krmiva, stres).

5.3 Reakce vody - pH

Hodnota pH významně ovlivňuje chemické a biochemické procesy ve vodách včetně metabolismu mikroorganismů podílejících se v RAS na koloběhu dusíku.

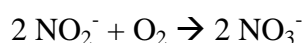
Snížení hodnoty pH můžeme zaznamenat v intenzivních RAS díky zvýšenému přísunu oxidu uhličitého do vody z intenzivního metabolismu ryb především po nakrmení. K dalšímu výraznému snižování hodnoty pH dochází díky činnosti biologického filtru, resp. metabolismem aerobních bakterií., který je významným zdrojem kyseliny uhličitě (Lang a kol., 2011). Ze zjednodušené rovnice nitrifikace vyplývá, že 1 mol amoniaku odbouraný biologickým filtrem vyprodukuje 1 mol kyselých vodíkových iontů.

Zjednodušená rovnice nitrifikace:

Nitritace



Nitratace



čili úhrnem - Nitrifikace



Kyselost vodných roztoků je způsobena nadbytkem vodíkových H^+ iontů, zásaditost nadbytkem hydroxylových iontů OH^- . V přírodních vodách je reakce vody obvykle určována uhličitánovou rovnováhou.

Reakce vody se v RAS v průběhu dne značně mění především v závislosti na krmení ryb a funkci biofiltru. Nejnižší hodnoty pH tak zaznamenáme v odpoledních hodinách. Nad ránem, kdy mají ryby strávenou velkou část krmiva z předchozího dne a většina CO_2 nahromaděného v systému během předchozího dne je z vody „vyublána“ odplyňovacími

airlifty reakce vody vzrůstá. Nařízení vlády č. 61/2003 Sb. i č. 71/2003 Sb. uvádí stejné přípustné hodnoty znečištění povrchových vod pro vody lososové i kaprové a to rozpětí hodnot pH 6 - 9. Při nevhodném managementu RAS může pH v systémech klesat i na hranici 4, která je považována za letální pro většinu rybích druhů. Při snížené alkalitě zároveň v takovýchto systémech dochází k prudkým změnám pH i o více jak 0,5 během hodiny po ranním krmení ryb. To může způsobit až autolýzu nitritačních bakterií vlivem započetí replikace bakteriofágního viru přirozeně se vyskytujícího v řetězci DNA nitritačních bakterií (Choi a kol. 2010). Ke kompletnímu úhynu bakterií může dojít během několika hodin (Choi a kol. 2010), což při plném nasazení systému znamená poměrně rychlý nástup otravy ryb amoniakem. Pro správnou funkci biofiltru a tím i pro jeho záběh je nutné udržovat pH v rozmezí 6,8 – 9 (Bregnballe 2010, Cho a kol., 2014), lépe 7,2 - 8.

5.4 Kyselinová neutralizační kapacita (KNK)

KNK přímo neovlivňuje funkci biofiltru, ani rychlost jeho záběhu, ale podílí se na stabilitě pH natolik zásadně, že je nutné ho v této metodice zmínit. Neutralizační (acidobazická) kapacita je schopnost vody vázat vodíkové a hydroxidové ionty. Tato schopnost je významnou obecnou vlastností všech vod a je způsobena různými údržnými systémy. U přírodních vod zpravidla převažuje uhličitanový systém $\text{CO}_2 - \text{HCO}_3^- - \text{CO}_3^{2-}$ (Pitter, 2009; Heteša a Kočková, 1997).

Hodnota $\text{KNK}_{4,5}$ nepřímo informuje o množství rozpuštěného vápníku a hořčíku ve vodě, které spolurozhodují o hodnotě pH. Velmi nízké hodnoty $\text{KNK}_{4,5}$ ($<1-2 \text{ mmol.l}^{-1}$) dávají předpoklad častého kolísání hodnot pH těchto vod. Při $\text{KNK}_{4,5}$ 2 až 5 mmol.l^{-1} je již pH poměrně stabilní, vody s vysokým obsahem solí mohou mít hodnoty $\text{KNK}_{4,5}$ vyšší i přes 8 mmol.l^{-1} , avšak tyto hodnoty se vyskytují zřídka. Při nesprávném hospodaření v RAS hodnoty KNK klesají i pod hodnotu 0,5, což způsobuje značnou nestabilitu a prudké výkyvy pH v systému a s nimi spojené komplikace popsané výše v odstavci pH.

Optimem, kterého je vhodné dosáhnout, je hodnota KNK nad 2 mmol.l^{-1} . Tato hodnota je schopna stabilizovat hodnotu pH v RAS. Realitou je spíše udržování KNK kolem hodnoty 1 mmol.l^{-1} . RAS jsou systémy velmi nestabilní a vyžadují zvýšenou pozornost věnovanou kvalitě vody a udržení optimálního chovného prostředí. Možnosti úpravy hodnoty KNK v těchto systémech uvádí Lang a kol. (2011).

5.5 Amoniakální dusík (N-NH₄)

Amoniakální dusík se vyskytuje téměř ve všech typech vod. Je primárním produktem rozkladu organických dusíkatých látek živočišného i rostlinného původu. Amoniakální dusík se vyskytuje ve vodách jako kationt NH₄⁺ a v neiontové formě jako NH₃. Vzájemný poměr obou forem závisí na pH a teplotě (Pitter et al. 2009). Amoniakální dusík je nezbytný pro tvorbu nové biomasy mikroorganismů. Činností heterotrofních a autotrofních organismů je přeměňován buď na dusík organicky vázaný, nebo na dusík rozpuštěný ve vodě jako živinu ve formě dusičnanů, nebo dusitanů.

Atmosférické vody obsahují amoniakální dusík obvykle v desetinách mg.l⁻¹, v průmyslových oblastech může jeho koncentrace vzrůst až na jednotky. Podzemní vody obsahují obvykle do 0,1 mg.l⁻¹ N-NH₄⁺, vyšší koncentrace se nacházejí u vod v kontaktu s vodami ropnými (i přes 100 mg.l⁻¹ N-NH₄⁺). Čisté povrchové vody obsahují obvykle jen stopy, max. desetinu mg.l⁻¹, ve znečištěných vodách i desítky mg.l⁻¹.

V podmínkách intenzivního chovu jsou významnými producenty amoniakálního dusíku ryby. Do vody jej vylučují nejen ve výkalech, ale i dýcháním. Dalším zdrojem amoniaku je nevyužitá krmivo. Celková produkce amoniaku vztažená k hmotnosti obsádky ryb při intenzivním chovu se pohybuje od 0,25 do 2,07 g.kg⁻¹.den⁻¹ (Kouřil a kol., 2008).

Ryby se zbavují přes 90 % veškerého amoniaku ze svého metabolismu uvolňováním přes žábry na základě koncentračního spádu. Stoupající koncentrace amoniaku v okolní vodě tak může bránit a posléze i zablokovat další uvolňování amoniaku z těla ryb. To může vést postupně až k autointoxikaci ryb, jejich onemocnění a posléze i úhynu. Ryby zasažené toxickým amoniakem jeví neklid, nouzově dýchají, typickým znakem jsou křeče svaloviny, světlá barva, žábry překrvené a zahleněné, drobné krváceniny (Svobodová a kol., 1987).

Amoniakální dusík ve formě amonných solí je pro ryby neškodný i v množství několika desítek mg.l⁻¹, plynný amoniak je však pro ryby značně toxický. Toxicita amoniaku stoupá se snižující se koncentrací kyslíku. Hranice toxicity pro tloušť je 1,0 - 1,2 mg.l⁻¹, pro plůdek pstruha duhového však již 0,006 - 0,010 mg.l⁻¹. Hodnota LC₅₀ se pro kaprovité ryby pohybuje v rozmezí 1,0 - 1,5 mg.l⁻¹ NH₃ a pro ryby lososovité 0,5 - 0,8 mg.l⁻¹ NH₃ (Svobodová a kol., 1987). Pro účely záběhu biologického filtru bez přítomnosti ryb v systému je však amoniakální dusík substrátem, který využívají nitrifikační bakterie k získávání energie jeho oxidací na dusitany. Získanou energii poté použijí na svůj růst a rozmnožování. Je pro ně v podstatě „krmivem.“

5.6 Dusitanový dusík (N-NO₂)

Dusitany zpravidla doprovázejí ve vodách dusičnany a formy amoniakálního dusíku. Dusitanový dusík je přirozenou součástí povrchových vod. Vzhledem ke své chemické a biochemické nestálosti se obvykle vyskytuje v malých koncentracích, protože v oxických podmínkách je rychle nitratací transformován na dusičnany, v anoxických podmínkách je biologicky denitrifikován až na elementární dusík. Řádově vyšší koncentrace dusitanového dusíku se vyskytují ve splaškových vodách a odpadních vodách ze strojírenských závodů (Pitter, 2009).

Zvýšené koncentrace dusitanů se mohou vyskytovat ve vodách s intenzivním chovem hospodářsky významných druhů ryb (Svobodová a kol. 2005). Velmi často se vyskytují v recirkulačních systémech, zejména bezprostředně po zahájení provozu nebo v důsledku nerovnováh v procesu nitrifikace (Kamstra a kol. 1996). Během nitrifikace dochází k biochemické oxidaci amoniakálního dusíku na dusitany a následně až na dusičnany. Pokud druhá fáze nitrifikace neprobíhá dostatečně rychle, dochází v systému k hromadění dusitanů, které bývají pro svou toxicitu příčinou zhoršení zdravotního stavu ryb a mnohdy i jejich masového úhynu (Svobodová a kol. 2005).

Problémy s dusitany ve sladké vodě spočívají v jejich afinitě k iontové výměně chloridových a hydrogenuhličitanových iontů. Pokud jsou dusitany přítomny ve vyšších koncentracích v okolní vodě, pak ryba přijímá dusitany na úkor chloridů. Zvýšení koncentrace chloridů v okolní vodě tak chrání ryby před příjmem dusitanů a jejich toxickými účinky (Jensen, 2003). Dusitany pronikají do krevní plazmy, dále do červených krvinek, kde se vážou na barvivo hemoglobin za vzniku methemoglobinu. Zvýšená koncentrace methemoglobinu v krvi se projevuje hnědým zbarvením krve a žaber. Methemoglobin nemá schopnost přenášet kyslík, a tím se snižuje kapacita krve pro transport kyslíku (Cameron, 1971). Koncentrace methemoglobinu, které se u ryb projevují úhynem, případně zabraňují normálnímu chování ryb, se liší podle druhu ryb a jsou silně ovlivněny okolními podmínkami. Nejcitlivější jsou lososovité ryby, kde rozdíly mezi jednotlivými druhy jsou minimální. Výrazné rozdíly v citlivosti jsou mezi teplomilnými rybami. Velmi odolný vůči dusitanům je okounek pstruhový, který tvoří větší množství methemoglobinu v krvi až při velmi vysokých koncentracích dusitanů (Palachek a Thomasso, 1984).

Při záběhu biologického filtru bez přítomnosti ryb v systému je stejně amoniakální dusík i dusitanový dusík substrátem, který využívají nitratační bakterie k získávání energie

jeho oxidací na dusičnany. Získanou energii poté použijí na svůj růst a rozmnožování. Je pro ně „krmivem,“ stejně jako amoniakální dusík pro bakterie nitritační.

5.7 Inokulum

Pro inokulaci je obecně možné použít mnoho různých zdrojů nitrifikačních bakterií. Dosavadní běžnou praxí v intenzivních chovech ryb je, nepočítáme-li samovolný záběh biofiltru, využití inokula z aktivačních nádrží, nebo jiných, již plně funkčních, biologických filtrů. To však s sebou nese poměrně výrazné riziko zavlečení patogenních bakterií, nebo parazitů do „čistého“ systému (nově postavený, nebo po desinfekci). V chovech akvariálních a chovech jezírkových ryb, které jsou ve velké většině násobně dražší, než ryby konzumní je však v posledních letech přecházeno na inokulaci biofiltrů čistými kulturami nitrifikačních bakterií. Tento postup prakticky zamezuje možnosti zavlečení patogenních agens do systému. Na trhu je v současné době nepřehledné množství dostupných preparátů pro inokulaci RAS. Ne vždy ovšem platí, že vyšší cena zaručuje vyšší kvalitu (Lang a kol. 2015). Další komplikací při použití inokula může být i to, že u okrasných a jezírkových ryb nezáleží na stolní kvalitě finálního produktu, proto některá konsorcia bakterií obsažených v komerčních inokulantech obsahují i mikroorganismy produkující geosmin a isoborneol (zjištěno na Oddělení rybářství a hydrobiologie Mendelovy univerzity v Brně). Při použití takového inokula poté ryby vyprodukované v daném RAS mají typickou „recirkulační“ příchut' a je nutno je před realizací na trhu sádkovat v čisté vodě, což prodraží finální produkt. Přesná složení bakteriálních inokulantů nejsou výrobci běžně uvedena a jsou předmětem ochrany jejich Know-how.

6 Metodika ovlivnění záběhu biofiltru

6.1 Úprava systému

Optimalizace záběhu biofiltru vychází z jeho přípravy před nasazením ryb do systému, cílem je tedy zajistit funkčnost biologické filtrace před nasazením ryb.

Jelikož záběh biologického filtru je vhodné provádět bez přítomnosti ryb v systému, ponecháme recirkulaci vody v systému vypnutou. Nezapínáme hlavní dmychadlo (11 kW), které pohání hluboký airlift a tím recirkulaci vody. Pro další snížení pohybu vody v systému zahradíme přítoky na ponořené části biologického filtru. Tyto kroky zajistí velkou úsporu

financí jak na elektrické energii, recirkulace vody v systému spotřebovává nejvíce elektřiny, tak nutností přidávat chemikálie a inokulum pouze na objem biologického filtru a ne na celý objem odchovného zařízení. V případě 1000 m³ objemu celého systému zabírá prostor biologických filtrů pouze 16,8 % objemu. Pro zajištění dostatečného prokysličení vody ve filtru plovoucím i ponořeném (statickým) během záběhu použijeme provzdušňování malým dmychadlem. To běžně pohání plovoucí filtr, nebo je používáno k odkalování ponořených částí biofiltru. Vzduchování ve filtrech je vhodné nastavit tak, aby měly bakterie po celou dobu záběhu dostatečné množství kyslíku, nezastavil se pohyb plovoucího filtru a pohyb elementů ve filtru ponořeném byl co možná nejmenší. Zvýšená intenzita pohybu elementů ve filtru snižuje rychlost osídlení filtračních elementů bakteriemi.

V případě potřeby nasazení ryb, je možné použít částečnou bioaugmentaci pouze poloviny ponořené části biologického filtru (4 komory z 8) s nasazením ryb do systému a spuštěním recirkulace přes 4 zbývající ponořené oddělení biofiltru a filtr plovoucí. V tomto krajním případě nedávkuje do plovoucího filtru amoniak, rozmíchá se do celého systému mezi ryby. Dále je naprostou nezbytností dokonale utěsnit 4 oddělené části ponořeného biofiltru, aby nedošlo k vyplavení „krmiva“ pro bakterie z biofiltru. Dalším důvodem pro utěsnění inokulovaných částí biofiltru je nutnost zamezení jejich infiltrace recirkulující vodou, ve které bude muset být zvýšena salinita (přidání chloridů – sůl bývá jejich nejlevnějším, nejdostupnějším, a nejbezpečnějším zdrojem) kvůli kumulaci dusitanů v systému. Zvýšíme-li vodivost přidáním soli z 10 na 50 mS.m⁻¹, zpomalíme záběh biofiltru přibližně na polovinu, přičemž prakticky nehraje roli obsah chloridů, ale zvýšení koncentrace sodíku v systému.

6.2 Inokulace a „výživa“ bakterií

Jak již vyplývá z části Záběh biofiltru, je pro úspěšné urychlení záběhu biofiltru nutno do systému dodat co největší počet životaschopných nitrifikačních bakterií. Při vývoji této certifikované metodiky bylo testováno několik dostupných inokulantů. Celkem bylo otestováno 5 preparátů ve 3 skupenstvích (tekuté, práškové a gel). První, tekutý, preparát byl od dodavatele Mojmir Spurny, okrasnajezirka.cz, druhý preparát Aqua REVIT od firmy EM-EKO s.r.o. (tekutý; Česká republika), třetí, práškový, preparát BFL Aqua Clean (BioFuture Ltd., Irsko), čtvrtý, práškový, preparát byl Tripond BacterienStarter (Aqualogistik GmbH, Německo) a pátým preparátem byl gelový preparát PL Gel – Filter Pad Bacterial Inoculant (Ecological Laboratories, Inc., USA). Všechny preparáty byly použity podle návodu výrobce.

Nejlepších výsledků dosáhly inokulanty s největším množstvím životaschopných bakterií (tekutý od firmy Mojmir Spurný, práškový BFL Aqua Clean a gel PL Gel- Filter Pad Bacterial Inoculant). Počty životaschopných bakterií u těchto preparátů byly >14 a >10 mil.ml⁻¹. U gelového preparátu nebylo díky matrix gelu možné bakterie počítat.

V našich testech vyšlo nejlépe v poměru ceny a kvality inokulum od firmy Mojmir Spurný (Lang a kol. 2015). Množství bakterií v inokulu v den výroby převyšuje 17 mil.ml⁻¹. Při použití následující den klesá počet bakterií v inokulu na 14 mil.ml⁻¹.

Pro inokulaci je možno použít mnoho preparátů, ale je nutné předem otestovat jejich kvalitu. Inokulanty s menším množstvím životaschopných bakterií (<14 mil.ml⁻¹) je nutno aplikovat ve větším množství. V tom případě je nutné zvážit poměr ceny dané aplikace k její efektivitě. Pro účely této metodiky je počítáno s využitím inokula s koncentrací životaschopných bakterií vyšší, než 14 mil.l⁻¹ v dávkách: 1 l inokulantu do prostoru plovacího filtru a po 0,5 l do každého oddělení filtru ponořeného (>14 mld. do filtru plovacího a >7 mld. životaschopných bakterií do každého oddělení filtru ponořeného – 311 a 583 mil. bakterií na m³).

K „výživě“ bakterií je možné použít prakticky jakýkoliv zdroj amonných iontů. Z pohledu následného využití systému k chovu ryb, citlivosti čerstvě zaběhlého filtru a obecně nitratačních bakterií se jeví jako nejvhodnější zdroj amonných iontů chlorid amonný (NH₄Cl). Jeho použití zvyšuje koncentraci chloridů v systému, což je žádoucí z hlediska toxicity dusitanů. Dalším běžně dostupným zdrojem amonných iontů může být síran amonný (NH₄SO₄). Použití síranu je přibližně 7 krát levnější než chloridu amonného, nedoplňuje však do systému chloridy.

Pro záchod biologického filtru je optimální udržet koncentraci amonných iontů v prostoru biofiltru mezi 2 a 4 mg.l⁻¹. Jednorázová dávka pro zvýšení obsahu amonných iontů na 4 mg.l⁻¹ je 15,33 g NH₄Cl.m⁻³ (18,92 g NH₄SO₄.m⁻³). Následně je potřeba amonné ionty dodávat každý druhý den ve zvyšující se dávce. Potřebné dávkování pro záchod dánského typu farmy o objemu 1000 m³ zobrazuje tabulka 1.

Při poklesu teploty vody během záchodu o 5 °C by se prodloužila doba záchodu o 25 % a naopak (Ma a kol., 2013). Tomu by muselo být adekvátně přizpůsobeno dávkování amonných iontů (navyšování dávek pomaleji a po delší dobu).

Tabulka 1: Dávkování amonných iontů při záběhu biofiltru při 15 °C [g].

Místo aplikace Den záběhu	Plovoucí		Ponořený: 1 oddělení	
	NH ₄ Cl	(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ Cl	(NH ₄) ₂ SO ₄
1	670	850	185	230
3	335	425	93	115
5	402	510	111	138
7	482	612	133	166
9	479	734	160	199
11	695	881	192	238
13	834	1058	230	286

6.3 Analýzy během záběhu

Během záběhu biofiltru je vhodné kontrolovat proces záběhu pomocí analýz vody na obsah amonných iontů a dusitanů viz certifikovaná metodika Kopp a kol (2014) *Stanovení základních fyzikálně-chemických parametrů v akvakulturních chovech ryb*.

Měření obsahu amoniakálního dusíku je vhodné provést před zahájením procesu záběhu biofiltru a následně minimálně jednou za dva dny vždy druhý den po přidání zdroje amonných iontů a to nejlépe po celou dobu záběhu biofiltru. Měření obsahu dusitanového dusíku může být započato až 6. den záběhu biofiltru, kdy je jejich koncentrace přibližně na maximu a poté pokračovat do stabilizace jejich koncentrace. Měření fyzikálně chemických parametrů provádíme vždy v prostoru plovoucího filtru a nejméně jednoho oddělení filtru ponořeného.

Záběh biofiltru je úspěšný, pokud v prostoru biofiltru do druhého dne po aplikaci zdroje amonných iontů jejich obsah poklesne pod 0,100 (většinou je neměřitelný) a obsah dusitanového dusíku poklesne několik po sobě následujících dní pod 0,200 mg.l⁻¹ (0,100 mg.l⁻¹ je poměrně běžná míra obsahu dusitanového dusíku v RAS během roku).

V případě využití částečného záběhu biofiltru je vhodné v inokulovaných částech biofiltru denně měřit vodivost. Její případné zvýšení indikuje nežádoucí infiltraci oddělení recirkulující vodou se zvýšeným obsahem soli a zpomalení záběhu daného oddělení biofiltru. Případnou netěsnost je nutné neprodleně odstranit.

7 Srovnání novosti postupů

Metodika přináší nové postupy v souladu s §2, odst. 1, písm. a) bod 2 zákona č. 130/2002 Sb. Popsaných metodických postupů bylo dosaženo systematickou tvůrčí prací v

aplikovaném výzkumu, kterým byly experimentální a teoretické práce prováděné s cílem získání nových poznatků zaměřených na budoucí využití v praxi.

V předložené metodice jsou shrnuty poznatky dosažené při ovlivňování záběhu biologického filtru v RAS Dánského typu. Zahrnuty jsou stěžejní parametry při chovu ryb ve speciálních recirkulačních systémech. Vlastní popis metodiky obsahuje zhodnocení jednotlivých sledovaných parametrů a jejich význam pro chov ryb. Metodika obsahuje i návod na ovlivnění a především urychlení záběhu biologického filtru. Při volbě metod ovlivnění záběhu biofiltru byl brán ohled na minimalizaci nákladů při maximálním urychlení záběhu biofiltru.

8 Popis uplatnění metodiky

Metodika je určena pro chovatele ve speciálních systémech s intenzivním chovem ryb. Metodika bude uplatněna „Smlouvou o uplatnění certifikované metodiky“ uzavřenou mezi Mendelovou univerzitou v Brně a firmou BioFish s.r.o. se sídlem Horní Paseky 40, Ledec nad Sázavou.

Rozsah uplatnění metodiky je poměrně úzký, vzhledem k jejímu určení pro recirkulační farmy Dánského typu, které jsou v republice toho času pouze tři. Metodiku je ale možné jednoduše aplikovat i na záběh jakýchkoliv jiných biologických filtrů. Biologická filtrace je nedílnou součástí všech moderních RAS a její správná funkce je nedílnou součástí udržení vhodné hydrochemické kvality vody, welfare chovaných ryb a zabránění úhynu ryb. Předpokládané využití je ve všech typech RAS v podmínkách sladkovodní akvakultury.

9 V. Ekonomické aspekty:

Předpokládané ekonomické a další přínosy jsou ve zkrácení doby záběhu biofiltru v RAS. Ekonomické přínosy lze vyjádřit ve snížení ceny za elektrickou energii spotřebovanou RAS během standardního záběhu biofiltru a možností plně využít růstový potenciál ryb. Tímto lze dosáhnout významné úspory finančních prostředků. Při předpokládané době záběhu 14 dní, namísto 3 měsíců až roku, lze dosáhnout úspory 37.000 Kč i při započtení nutnosti nákupu kvalitního inokula v ceně kolem 20.000 Kč na jeden záběh¹. Do této úspory není započtena úspora mzdových nákladů pracovníka, který se musí o systém starat, ať je plně

¹ Pro kalkulaci úspory byla počítána cena elektrické energie 4 Kč.kWh⁻¹.

využit, nebo ne. Další nezapočtená úspora je dosažena využitím růstového potenciálu ryb do systému nasazených, které není možno při ne zcela funkční biofiltru adekvátně krmit, nehledě na úsporu vody, která je při nefungování biofiltru nutná k proplachování systému pro snížení koncentrace toxického amoniaku a dusitanů.

Dobře zaběhlý biofiltr se výrazně projeví na kvalitě vody, udržení optimálních hydrochemických podmínek odchovného prostředí a pozitivně ovlivní i zlepšení využití předkládaného krmiva rybami. Nízký obsah rozpuštěného kyslíku nebo vyšší hodnota dusitanového dusíku může významně zhoršit hodnoty krmného koeficientu. Zhoršení krmného koeficientu o jednu desetinu, při ceně krmiva na úrovni 35 – 55 Kč, odpovídá zvýšení ceny za jeden kg vyprodukovaných ryb o 3,5 až 5,5 Kč. Dalším již obtížněji kvantifikovatelným efektem je snížení stresové zátěže ryb působením zhoršených hydrochemických parametrů chovného prostředí. Celkově lze shrnout přínosy uplatnění metodiky do zlepšení produkčních parametrů akvakulturních systémů, omezení úhynů ryb, zefektivnění práce obsluhy těchto zařízení a hlavně zefektivnění využití elektrické energie a růstového potenciálu ryb.

10 Poděkování

Metodika vznikla za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum, projektu QJ1210013 Technologie chovu sladkovodních ryb s využitím recirkulačních systémů dánského typu se zaměřením na metody efektivního řízení prostředí a veterinární péče.

11 Seznam použité literatury:

CAMERON, J. N. (1971): Methemoglobin in erythrocytes of rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology* 40: 743 - 749

CHO, K. H., KIM, J.-O., KANG, S., PARK, H., KIM, S., KIM, Y. M., 2014, Achieving enhanced nitrification in communities of nitrifying bacteria in full-scale wastewater treatment plants via optimal temperature and pH, *Separation and Purification Technology*, 132, s. 697 - 703.

CHOI, J., KOTAY, S. M., GOEL, R., 2010, Various physico-chemical stress factors cause prophage induction in *Nitrosospira multififormis* 25196- an ammonia oxidizing bacteria, *water re search* 44, s. 4550 - 4558.

- HETEŠA, J., KOČKOVÁ, E. (1997): Hydrochemie. – Skriptum MZLU Brno, 106 p.
- JENSEN, F. B. (2003): Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part A*, 135:9-24
- KAMSTRA, A., SPAN, J. A., VAN WEERD, J. H. (1996): The acute toxicity and sublethal effects of nitrite on growth and feed utilization of European eel, *Anguilla anguilla* (L.). *Aquacult. Res.* 27:903-911
- KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T., MAREŠ, J. 2013. *Stanovení základních fyzikálně-chemických parametrů v akvakulturních chovech ryb. CERTIFIKOVANÁ METODIKA*, Mendelova univerzita v Brně, 37 s.
- KOUŘIL, J., HAMÁČKOVÁ, J., STEJSKAL, V., 2008: Recirkulační akvakulturní systémy pro chov ryb. Edice Metodik, JU České Budějovice, VÚRH Vodňany, č. 85, 40 s.
- LANG, Š., KOPP, R., BRABEC, T., VÍTEK, T., MAREŠ, J. 2011. *Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému dánského typu. OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE*, Mendelova univerzita v Brně, 25 s.
- LELLÁK, J., KUBÍČEK, F. (1991): Hydrobiologie. Univerzita Karlova Praha, 256 pp.
- MA, C., YU, S., SHI, W., HEIJMAN, S. G. J., RIETVELD, L. C., 2013, Effect of different temperatures on performance and membrane fouling in high concentration PAC-MBR system treating micro-polluted surface water, *Bioresource Technology*, 141, s. 19-24.
- Nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb. a nařízení vlády č. 23/2011 Sb.
- Nařízení vlády č. 71/2003 Sb., o stanovení povrchových vod vhodných pro život a reprodukci původních druhů ryb a dalších vodních živočichů a o zjišťování a hodnocení stavu jakosti těchto vod, ve znění nařízení vlády č. 169/2006 Sb.
- PALACHEK, R. M., TOMASSO, J. R. (1984): Toxicity of nitrite to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), tilapia (*Tilapia aurea*), and largemouth bass (*Micropterus salmoides*): evidence for a nitrite exclusion mechanism. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41:1739-1744
- PITTER, P. (2009): Hydrochemie. VŠCHT Praha. 592 s.

SVOBODOVÁ, Z., MÁCHOVÁ, J., POLESZCUK, G., HŮDA, J., HAMÁČKOVÁ, J., KROUPOVÁ, H. (2005): Nitrite Poisoning of Fish in Aquaculture Facilities with Water-recirculating System. Acta Vet. Brno, 74:129-137

SVOBODOVÁ, Z. (ed.) (1987): Toxikologie vodních živočichů. MTZ Olomouc, 232 pp.

12 Seznam předcházejících publikací:

BÁRTŮ, V., KOPP, R. (2004): Exkrece amoniaku u plůdku kapra (*Cyprinus carpio* L.) ve vztahu k různé úrovni proteinu v krmivu. In: 55 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně, Sborník referátů, 114-118 (ISBN 80-7157-810-X)

HADAŠOVÁ, L., KOPP, R. (2012): The fluctuation of physicochemical parameters in hypertrophy fishponds during the day and night. In MendelNet 2012 - Proceedings of International Ph.D. Students Conference. Brno: Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy, 412-417.

JIRÁSEK, J., MAREŠ, J., KOPP, R. (2004): Předpoklady pro úspěšný odchov raných stadií kapra v kontrolovaných podmínkách. In: VII. Česká ichtyologická konference ve Vodňanech, Sborník referátů, 229-233 (ISBN 80-85887-50-9)

KOPP, R., BRABEC, T., HADAŠOVÁ, L., LANG, Š., LUKAS, V., MAREŠ, J. (2013): Použití aerační techniky na hypertrofních rybnících v letním období. In Chov ryb a kvalita vody II. 1. vyd. České Budějovice: TYP, 2013, s. 17-20. ISBN 978-80-87699-02-7.

KOPP, R., HADAŠOVÁ, L., LANG, Š., BRABEC, T., MAREŠ, J., (2012): Diurnální změny hodnot rozpuštěného kyslíku a pH v intenzivně obhospodařovaných rybnících. In. Sborník referátů konference 2012 Chov ryb a kvalita vody. České Budějovice, Rybářské sdružení ČR, 65-72

KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T., MAREŠ, J. 2013. *Stanovení základních fyzikálně-chemických parametrů v akvakulturních chovech ryb. CERTIFIKOVANÁ METODIKA*, Mendelova univerzita v Brně, 37 s, (ISBN 978-80-7375-953-7).

KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T., VÍTEK, T., MAREŠ, J. (2012): Hydrochemické parametry v recirkulačním systému Dánského typu pro chov lososovitých ryb. In. Sborník referátů konference 2012 Intenzivní metody chovu ryb a ochrana kvality vod. Třeboň, Rybářství Třeboň a.s., 29-40. ISBN 978-80-260-1432-4

KOPP, R., ZIKOVÁ, A., BRABEC, T., LANG, Š., VÍTEK, T., MAREŠ, J., 2009: Dusitany v recirkulačním systému rybní farmy Pravíkov. In KOPP, R. "60 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně".1. vyd. Brno: MZLU Brno, 2009, s. 105-110. ISBN 978-80-7375-358-0.

KOPP, R., LANG, Š., ZIKOVÁ, A., MAREŠ, J. (2008): Změny spotřeby kyslíku a exkrece amoniakálního dusíku u tilapie nilské (*Oreochromis niloticus*) v závislosti na množství proteinu v krmivu. In: KOPP, R. XI. Česká ichtyologická konference. Brno, MZLU v Brně, s. 121-125 (ISBN 978-80-7375-246-0)

KOUŘIL, J., MAREŠ, J., POKORNÝ, J., ADÁMEK, Z., KOLÁŘOVÁ, J., PALÍKOVÁ, M., 2008: Chov lososovitých druhů ryb, lipana a síhů. 1. vyd. Vodňany: JU v Českých Budějovicích, s. 63-97. ISBN 978-80-85887-80-8.

LANG, Š., KOPP, R., ZIKOVÁ, A., VÍTEK, T., MAREŠ, J., 2011: Diurnální změny vybraných hydrochemických parametrů na recirkulačním systému dánského typu při různých teplotách vody. Bulletin Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického Vodňany. 2010. sv. 46, č. 4, s. 23-32. ISSN 0007-389X.

LANG, Š., VÍTEK, T., KOPP, R., ZIKOVÁ, A., BRABEC, T., PFAU, R., MAREŠ, J., 2010: The Danish model trout farm Pravíkov (ČR); A first year and a plans for future. [online]. 2010. URL: <http://www.rybarstvi.eu/dok%20rybari/stepan.pdf>.

LANG, Š., KOPP, R., BRABEC, T., VÍTEK, T., MAREŠ, J. 2011. *Optimalizace hydrochemických parametrů v recirkulačním systému pro chov ryb: I. Stabilizace kyselinové neutralizační kapacity a snížení toxicity dusitanů v recirkulačním systému dánského typu*. OVĚŘENÁ TECHNOLOGIE, Mendelova univerzita v Brně, 25 s.

LANG, Š., KOPP, R., MAREŠ, J., 2012 Dynamika spotřeby kyslíku ponořené části biofiltru recirkulačního systému dánského typu. In Soukalová, K. (ed.) - XIII. Česká ichtyologická konference - sborník abstraktů. 1. vyd. Brno: Tribun EU S.R.O., 2012, s. 54.

LANG, Š., KOPP, R., MAREŠ, J. 2015, Nabíhání filtrů na studenovodním RAS dánského typu. In Sborník příspěvků Potenciál recirkulačních akvakulturních systémů (RAS) pro české produkční rybářství. 1. vyd. Jesenické nakladatelství Jena Šumperk: Jihočeská univerzita V Českých Budějovicích FROV Vodňany, s. 52-56. ISBN 978-80-7514-028-9.

MAREŠ, J., KOPP, R., BRABEC, T., 2011: Nové metody v chovu ryb. In Intenzivní metody chovu ryb a ochrany kvality vod. 1. vyd. Třeboň: Rybářství Třeboň Hld.a.s., 2011, s. 5-13

POŠTULKOVÁ, E., KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T. (2012): Změny kvality vody při vypouštění rybníka. In Čiamporová-Zaťovičová Z. (ed.) 2012: XVI. konferencia Slovenskej limnologickej spoločnosti a České limnologické společnosti - Zborník príspevkov, 25.-29. jún 2012, Jasná, 235 pp. 1. vyd. Bratislava: NOI, 73-76

VÍTEK, T., MAREŠ, J. 2009: Flow velocity conditions in the trout farm based on recirculation system of danish technology. IN KOPP, R. "60 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně". 1. Vyd. Brno: MZLU Brno, s. 179-180. (ISBN 978-80-7375-358-0)

VÍTEK, T., KOPP, R., LANG, Š., BRABEC, T., MAREŠ, J., 2011: *Technická řešení a možnosti efektivní regulace průtokových poměrů v zařízeních pro intenzivní chov ryb dánského typu*. Uplatněná certifikovaná metodika, Č. R01/15VD46246/2011-16230/Nmet — CERTIFIKOVANÁ METODIKA, Mendelova univerzita v Brně, 20 s (ISBN 978-80-7375-571-3).

Metodika záběhu biologického filtru v intenzivním recirkulačním zařízení dánského typu pro chov ryb

Lang Štěpán, Kopp Radovan, Mareš Jan

Vydavatel: Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno.

Tisk: Vydavatelství Mendelovy univerzity v Brně

Vydání: první, 2015

Náklad: 100 ks

ISBN 978-80-7509-375-2