

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Ústav akvakultury a ochrany vod

Bakalářská práce

**Využití přírodního pesticidu na bázi azadirachtinu
v akvaponických systémech: Vliv na růst bazalky pravé
(*Ocimum basilicum*) a na nitrifikační bakterie**

Autor: Vendula Puhanová

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Radek Gebauer, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: MSc. Folorunso Ewumi Azeez

Studijní program a obor: Ekologie a ochrana prostředí, Ochrana vod

Forma studia: Prezenční

Ročník: třetí

České Budějovice, 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

Vendula Puhanová

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Radkovi Gebauerovi, Ph.D. a konzultantovi MSc. Folorunsovi Ewumovi Azeezovi za poskytnutí odborné pomoci při tvorbě této práce, za trpělivost a čas, který mi věnovali.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Vendula PUHANOVÁ
Osobní číslo: V18B030P
Studijní program: B1601 Ekologie a ochrana prostředí
Studijní obor: Ochrana vod
Téma práce: Využití přírodního pesticidu na bázi azadirachtinu v akvaponických systémech: Vliv na růst bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) a na nitrifikační bakterie
Zadávací katedra: Ústav akvakultury a ochrany vod

Zásady pro vypracování

Akvaponie je systém kombinující intenzivní chov ryb a hydroponické pěstování rostlin. Tento systém je založen na čištění odpadních vod z intenzivního chovu ryb rostlinami, kdy je následně vyčištěná odpadní voda znovu použita k chovu ryb. To vede k malé, nebo žádné výměně vody a nižší spotřebě průmyslových hnojiv. Jedním z hlavních problémů v akvaponii je management škůdců a chorob, neboť použití syntetických i organických pesticidů v hydroponické části může ohrozit organismy v chovné části, především nitrifikační bakterie v biofiltru. Přírodní pesticidy na bázi azadirachtinu jsou v hydroponii hojně využívány proti široké škále škůdců včetně mšic, molíc a třásněnek. Ačkoliv tyto pesticidy nejsou perzistentní a zároveň vynikají nízkou toxicitou vůči rybám, jejich vliv na složení bakterií v biofiltru není známý.

Cílem navržené bakalářské práce je shrnutí dosud známých informací z oblasti použití a vlivu pesticidu na bázi azadirachtinu na nečlově akvatické organismy, které budou rozšířeny laboratorními experimenty. V teoretické části se student naučí pracovat s odbornou vědeckou literaturou (samostatné vyhledání a nastudování cizojazyčné literatury). Student se tak seznámí s mechanismem účinku, složením a toxicitou těchto pesticidů, což bude tvořit základ literární rešerše této bakalářské práce. Během vlastního experimentu, který bude probíhat v experimentálních podmínkách Ústavu akvakultury a ochrany vod v Českých Budějovicích, student vyhodnotí koncentrace pesticidu v akvaponickém systému a jeho vliv na růst bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) a na nitrifikační bakterie v biofiltru.

Dosažené výsledky pak student vyhodnotí pomocí počítačového softwaru (Statistica, MS Office) a srovná s výsledky a závěry z dostupné literatury. Veškerá snaha vyvinutá v rámci bakalářské práce tak povede k doplnění chybějících znalostí v problematice aplikace přírodních pesticidů na bázi azadirachtinu v akvaponických systémech a jejich vlivu na nitrifikační bakterie.

Rozsah pracovní zprávy: 30-50 stran
Rozsah grafických prací: 15-25 tabulek a grafů
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:


- Folorunso, E. A., Roy, K., Gebauer, R., Bohatá, A., Mráz, J., 2021. Integrated pest and disease management in aquaponics: A metadata-based review. *Reviews in Aquaculture* 13, 971-975.
- Garcia, F. P., Ascencio, S. Y., Oyarzun, Y. C., Hernandez, A. C., Alavardo, P.V., 2012. Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks. *Journal of Research in Environmental Science and Toxicology* 1, 279-293.
- Goddek, S., Joyce, A., Kotzen, B., Burnell, G. (Eds.), 2019. *Aquaponics Food Production Systems*. Springer International Publishing, Dordrecht. 619 s.
- Junge, R., König, B., Villarroel, M., Komives, T., Jijakli, M. H., 2017. Strategic points in aquaponics. *Water* 9, 182.
- Koul, O., Walia, S., Dhaliwal, G. S., 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International* 4, 63-84.

Lennard, W., 2017. Commercial aquaponic systems: integrating recirculating fish culture with hydroponic plant production. 375 s.
Pavela, R., Barmet, M., Kocourek, F., 2004. Effect of azadirachtin applied systemically through roots of plants on the mortality, development and fecundity of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Phytoparasitica* 32, 286-294.
Rakocy, J. E., Bailey, D. S., Shultz, R. C., Thoman, E. S., 2003. Update on tilapia and vegetable production in the UVI aquaponic system.
Schmautz, Z., Graber, A., Jaenicke, S., Goesman, A., Junge, R., Smits, T. H. M., 2017. Microbial diversity in different compartments of an aquaponics system. *Archives of Microbiology* 199, 613-62.
Tyson, R. V., Treadwell, D. D., Simonne, E. H., 2011. Opportunities and challenges to sustainability in aquaponic systems. *Hort Technology* 21, 6-13.
Wainwright, M., Pugh, G. J. F., 1973. The effect of three fungicides on nitrification and ammonification in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 5, 577-584.
Winkaler, E. U., Santos, T. R. M., Machado-Neto, J. G., Martinez, C. B.R., 2007. Acute lethal and sublethal effects of neem leaf extract on the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 145, 236-244.
Zou, Y., Hu, Z., Zhang, J., Xie, H., Liang, S., Wang, J., Yan, R., 2016. Attempts to improve nitrogen utilization efficiency of aquaponics through nitrifiers addition and filler gradation. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 6671-6679.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Radek Gebauer, Ph.D.**
Ústav akvakultury a ochrany vod
Konzultant bakalářské práce: **MSc. Ewumi Azeez Folorunso**
Ústav akvakultury a ochrany vod

Datum zadání bakalářské práce: **10. února 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. května 2021**

Číslo bakalářské práce: 02

02. 

prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
děkan

L.S.



Ing. Jan Kašpar
ředitel

V Českých Budějovicích dne 14. dubna 2021

Obsah

1. Úvod	7
2. Literární rešerše	8
2.1. Ekologické problémy a odůvodnění potřeby udržitelného zemědělství	8
2.2. Akvaponie.....	9
2.3. Princip akvaponie	10
2.4. Popis akvaponického systému	12
2.5. Komerční využití akvaponie	15
2.6. Management chorob a škůdců rostlin	16
3. Cíle.....	19
4. Materiál a metodika.....	20
4.1. Koncentrace azadirachtinu po aplikaci na bazalku pravou, růst bazalky.....	20
4.2. Vliv azadirachtinu na nitrifikaci a složení mikrobiomu v biofiltru	22
4.2.1. Posouzení vlivu azadirachtinu na složení nitrifikačních bakterií v biofiltru	27
4.2.2. Statistické vyhodnocení	28
5. Výsledky	29
5.1. Obsah azadirachtinu v pěstebním systému, růst bazalky pravé.....	29
5.2. Vliv azadirachtinu na nitrifikaci a složení mikrobiomu v biofiltru	30
6. Diskuse	35
6.1. Koncentrace azadirachtinu a vliv na růst bazalky pravé	35
6.2. Posouzení vlivu azadirachtinu na nitrifikaci	37
7. Závěr.....	39
8. Přehled použité literatury	40
9. Abstrakt.....	46
10. Abstract.....	47

1. Úvod

Se zvyšováním lidské populace na Zemi roste spotřeba potravin. V roce 2019 bylo na planetě 820 milionů lidí trpících hladu (FAO, 2019). Potřeba stále vyšších zemědělských výnosů s sebou nese velký tlak na životní prostředí (Goddek a kol., 2019). Dochází ke znečišťování a nadměrnému využívání vod. Půda je vlivem špatného hospodaření degradována. Při rozšiřování výměry zemědělské půdy dochází k ničení habitatů, a tedy k dalšímu prohloubení ekologických problémů (Rakocy a kol., 2003).

Akvaponie – kombinace chovu akvatických organismů a pěstování plodin – by tedy mohla být klíčem k řešení těchto problémů a může vést ke zmírnění vlivu konvenčního zemědělství na životní prostředí. Produkce není závislá na úrodnosti půdy, farmu lze vybudovat i uprostřed města, což snižuje náklady na přepravu, přičemž spotřebitel získá čerstvý lokální produkt (van Gorcum a kol., 2019). Systém lze také budovat do výšky, čímž se zmírní problém s nedostatkem půdy. Dále pak nedochází ke znečišťování a nadměrnému využívání vody. Živiny z chovu ryb jsou znovu použity, čímž se taktéž sníží ekologická stopa potravin (Goddek a kol., 2019). Všechny tyto aspekty odpovídají požadavkům na trvale udržitelné zemědělství, které je schopno uživit velké množství lidí s minimálním vlivem na životní prostředí.

Navzdory veškerým přednostem setrvává akvaponie do značné míry spíše v rukou zahrádkářů na místo komerčního využití (Monsees a kol., 2017). Jedním z hlavních problémů, které je třeba pro rozvoj komerční akvaponie vyřešit, představuje management chorob a škůdců (Bittsanszky a kol., 2016a; Folorunso a kol., 2021). Při výskytu patogenu jsou pěstitelé využívající jednosmyčkový systém, kde se od sebe jednotlivé složky systému nedají oddělit, poměrně bezmocní (Goddek a kol., 2019). Je zde totiž možný vliv aplikované látky na necílový organismus (Folorunso a kol., 2021). Negativně může působit na bakterie, či fyziologii a histopatologii ryb (Stouvenakers a kol., 2019).

Tato práce se zabývá vlivem přírodního pesticidu na bázi azadirachtinu na akvaponický systém. Jejím záměrem je posoudit vliv pesticidu na růst bazalky pravé (*Ocimum basilicum*), stanovit, kolik se jej bude po aplikaci na bazalku nacházet ve vodě akvaponického systému a jaký vliv má pesticid na nitrifikační bakterie a bakterie v biofiltrech.

2. Literární rešerše

2.1. Ekologické problémy a odůvodnění potřeby udržitelného zemědělství

Je odhadováno, že do roku 2050 bude na planetě přes 10 miliard lidí (FAO, 2017). S rostoucí populací stoupá i poptávka po potravinách. Abychom byli schopni uživit takové množství lidí, musela by produkce potravin vzrůst zhruba o 70 %, a to během několika desetiletí (FAO, 2009). Reakcí na problém nedostatku potravin bylo vždy rozšíření zemědělské půdy a zintenzivnění hospodaření. Tento způsob hospodaření však často vedl k degradaci zdrojů, k poškození až destrukci habitatů a ke znečištění životního prostředí (Goddek a kol., 2019). Výroba potravin závisí na dostupnosti zdrojů jako jsou půda, voda, živiny a energie (Conijn a kol., 2018). Bohužel spotřeba a degradace těchto zdrojů převyšuje míru jejich obnovitelnosti (Van Vuuren a kol., 2010).

Příčinou degradace a eroze půdy je nevhodná velikost polí, nedodržování osevních postupů nebo nedostatek organických živin. V oblastech, které se dlouhodobě potýkají se suchem, dochází k desertifikaci a zasolení půdy, což značně snižuje zemědělský potenciál dané lokality. K degradaci půdy může také dojít kvůli úniku nebezpečných látek nebo vlivem kyselých dešťů (Foley a kol., 2011; Godfray a kol., 2010).

Další důležitou složkou pro zemědělskou produkci je voda. Zemědělství je celosvětově jedním z největších spotřebitelů vody a její nedostatek může mít tedy zásadní vliv na výrobu potravin (Hoekstra a kol., 2012). Dalším problémem může být znečištění zdroje vody, její kvalita je totiž pro lidskou společnost zásadní, ať už mluvíme o vodě určené k přímé konzumaci, nebo o vodě potřebné pro zemědělskou výrobu (Brack, 2017).

Kvůli stále se zvětšujícím požadavkům na produkci potravin dochází k nadměrnému používání anorganických hnojiv. Hnojiva obsahují především tři hlavní biogenní složky: dusík, fosfor, draslík. Zásoby fosforu se ale zmenšují a jejich vyčerpání je předpokládáno za 50 až 100 let (Cordell a White, 2011; Ragnarsdottir a kol., 2011). Splachy anorganických hnojiv jsou navíc jedním z hlavních důvodů eutrofizace vod a půd (Šimek, 2003).

Dalším problémem, jemuž bude zemědělství čelit, je zapříčiněn globálním oteplováním. Většina klimatických modelů předpokládá nárůst teploty, který bude mít různé účinky na zemědělskou produkci. Negativně by mohl působit především v oblasti

tropů, kde se už nyní zemědělství potýká se značnými problémy (FAO, 2018). Nadcházející události zapříčiněné globálním oteplováním budou do budoucna pravděpodobně problémem, ať už mluvíme o suchu, extrémních teplotách, či povodních (Godfray a kol., 2010).

Všechny tyto problémy, se kterými se zemědělství potýká, poukazují na potřebu nových technologií a na potřebu udržitelného zemědělství (Foley a kol., 2011). Jedním z udržitelných systémů jsou akvaponické systémy.

2.2. Akvaponie

Akvaponie je produkční systém, který kombinuje chov vodních organismů a pěstování rostlin (Tidwell, 2012). Dle moderní definice pochází v akvaponii více jak 50 % živin potřebných pro růst rostlin z metabolických procesů vodních organismů (Palm a kol., 2018). Dle Goddeka a kol. (2019) je cílem akvaponie maximální využití odpadních živin, minimalizace ztrát vody, snížení dopadu zemědělství na životní prostředí, a tedy celková udržitelnost systému při vysokých výnosech potravin.

Jednou z předních výhod akvaponie je účelné využití živin, bez vzniku odpadní vody, a tedy s minimálními dopady na životní prostředí (Goddek a kol., 2019). Voda v systému je znovu využita, a proto dochází jen k minimálním ztrátám z důvodu evapotranspirace rostlin. Nabízí se tedy využití na místech dlouhodobě trpících suchem (Somerville a kol., 2014). Mezi další výhody akvaponie můžeme zařadit fakt, že rostliny v tomto systému nepotřebují půdu, a proto lze systém použít prakticky kdekoli, např. v oblastech s degradovanou půdou či půdou chudou na živiny. Akvaponii lze také využít k produkci potravin blíže k spotřebiteli, například na nevyužívaných prostorech ve městě, jako jsou ploché střechy, nevyužívané továrny a sídliště (tzv. brownfieldy). Dále je systém vhodný do rozvojových zemí pro produkci místních čerstvých potravin (van Gorcum a kol., 2019). Akvaponický systém vykazuje velké výnosy a díky izolovanosti od vnějšího prostředí se snižuje riziko vnějších kontaminantů. Do systému se, oproti konvenčnímu pěstování, vnáší jen takové množství minerálních živin, které je využito rostlinami. V akvaponii je také snaha využívat převážně biologické pesticidy. Akvaponický systém tedy usiluje o udržitelné a ekologické zemědělství (Somerville a kol., 2014).

Mezi hlavní nevýhody akvaponických systémů patří velké počáteční náklady, energetická náročnost systému a potřeba spolehlivého zdroje elektrické energie (Somerville a kol., 2014). Obsluha systému se neobejde bez komplexních znalostí o všech složkách systému (Somerville a kol., 2014).

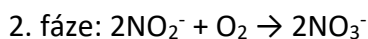
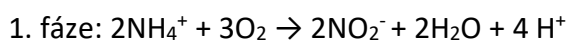
2.3. Princip akvaponie

Akvaponický systém je ucelený ekosystém, ve kterém jsou na sobě jednotlivé složky závislé. Tento ekosystém zahrnuje tři hlavní složky, a to vodní organismy, bakterie a rostliny. V akvaponii jde o transformaci a tok živin, které jsou do systému vkládány především prostřednictvím krmiva (Lennard, 2017). Ryby či jiní vodní živočichové svým metabolismem produkují rozpuštěné i nerozpuštěné odpadní látky. Tyto látky jsou bakteriemi dále přeměňovány na sloučeniny, které jsou využitelné rostlinami (Goddek a kol., 2019).

Mezi hlavní metabolit intenzivně chovaných vodních organismů patří amoniak jako odpadní látka metabolismu bílkovin. U ryb je amoniak (NH_3) vylučován přes žaberní aparát (Kouřil, 2013). Tímto způsobem jsou ryby schopny vyloučit ze svého těla až 90 % celkového amoniaku, zbytek je z těla odstraňován přes vylučovací soustavu. Na většinu uvolněného amoniaku se ve vodě naváže proton, tím vznikne amonný iont, tedy NH_4^+ . Tento proces je závislý na teplotě a pH. Se zvyšující se teplotou a vyšším pH roste procentuální zastoupení toxického NH_3 ve vodě (Svobodová a kol., 2008).

Bakteriální složka přítomná především v biofiltru přemění amoniakální dusík procesem zvaným nitrifikace na dusitany (nitritace) a ty jsou pak v druhé fázi nitrifikace přeměněny na pro ryby méně toxické dusičnany (nitratice). Dusičnany lze označit jako ideální formu dusíku pro výživu vyšších rostlin (Lennard, 2017). Během nitrifikace je potřeba dodávat kyslík a udržovat neutrální pH, jelikož při nitrifikaci dochází k jeho poklesu.

Rovnice nitrifikace:



Hlavní živinou z metabolismu vodních organismů je tedy dusík (Bittsanszky a kol., 2016b). Další látky potřebné pro výživu rostlin jsou obsaženy převážně v pevném stavu v tzv. kalech (Goddek a kol., 2015). Fosfor a draslík nalezneme v odpadní vodě z chovu vodních organismů v menších koncentracích. Společně s dalšími makro a mikroživinami je potřeba kontrolovat jejich obsah v systému a v případě potřeby je doplňovat (Bittsanszky a kol., 2016b).

Při správném využití odpadního kalu z chovu vodních organismů by mohla být většina živin recyklována a znovu využita v akvaponickém systému (Delaide, 2017; Goddek a kol., 2016; Lunda a kol., 2019). Takový postup je označován jako mineralizace a mohl by přispět k omezení využívání externích hnojiv (Monsees a kol., 2017). Na obr. č. 1 vidíme, jaké živiny se nachází v kalu a v odpadní vodě recirkulačních akvakulturních systémů a zda tyto koncentrace vyhovují nárokům běžně pěstovaných rostlin v akvaponii.

	N		P		K		Mg		Ca		S		Fe		Zn		B		Cu		Mo	
	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL	OV	KAL
Plodiny																						
Okurky																						
Chilli papr.																						
Salát a bylinky																						
Rajčata																						

S ohledem na standardní koncentraci živného roztoku v hydroponii (Resh, 2012; Resh a Anguilla, 2011).



Obr. č. 1 Informace o obsahu živin v odpadní vodě a kalech recirkulačních akvakulturních systémů a zdali jejich koncentrace korespondují s výživovými nároky běžně pěstovaných rostlin v akvaponických systémech (Lunda a kol., 2019).

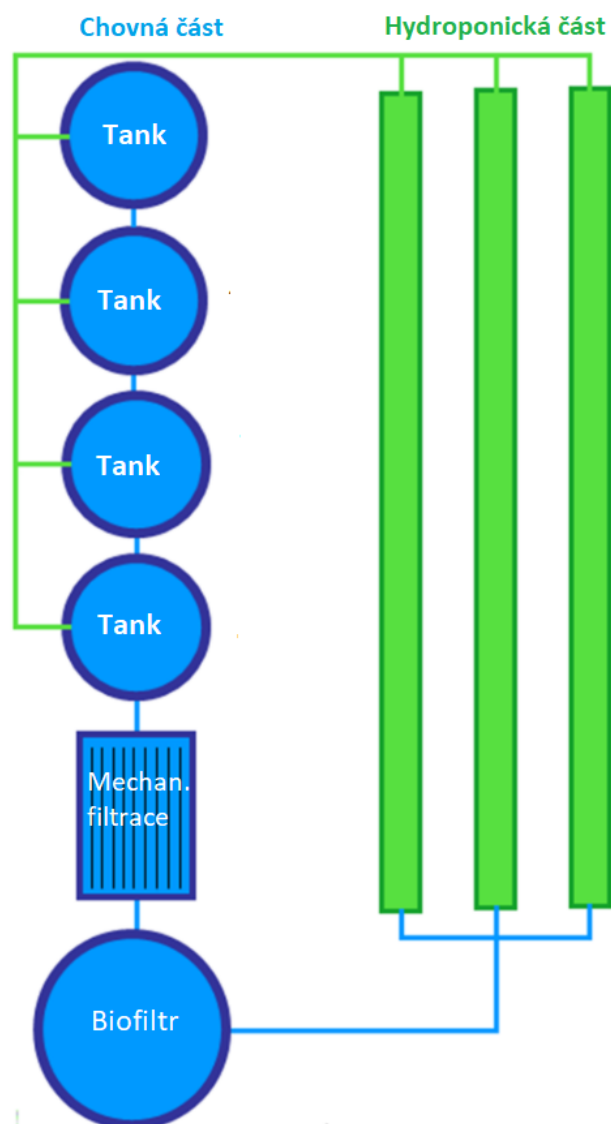
2.4. Popis akvaponického systému

Existují dva typy akvaponických systémů, a to jednosmyčkový a vícesmyčkový. V jednosmyčkovém systému je voda z chovných nádrží vedena k rostlinám a vyčištěná voda je pak následně vrácena zpět. V případě nutnosti mohou být jednosmyčkové systémy doplněny o mechanickou a biologickou filtraci. Ve vícesmyčkovém systému voda obíhá ve dvou nebo více samostatných smyčkách a podle potřeby pak může být dodávána k rostlinám, zpět už se ale voda do chovné části přímo nevrací (Monsees a kol., 2017). Voda se však do chovné části může vrátit nepřímo, a to buď pomocí klimatizačních jednotek, které zajišťují kondenzaci evapotranspirované vody (Kloas a kol., 2015), nebo využitím desalinizační jednotky pracující na principu destilace (Goddek a Keesman, 2018). Na obr. č. 2 můžeme vidět zjednodušený náčrt jednosmyčkového systému. Obr. č. 3 znázorňuje vícesmyčkový systém.

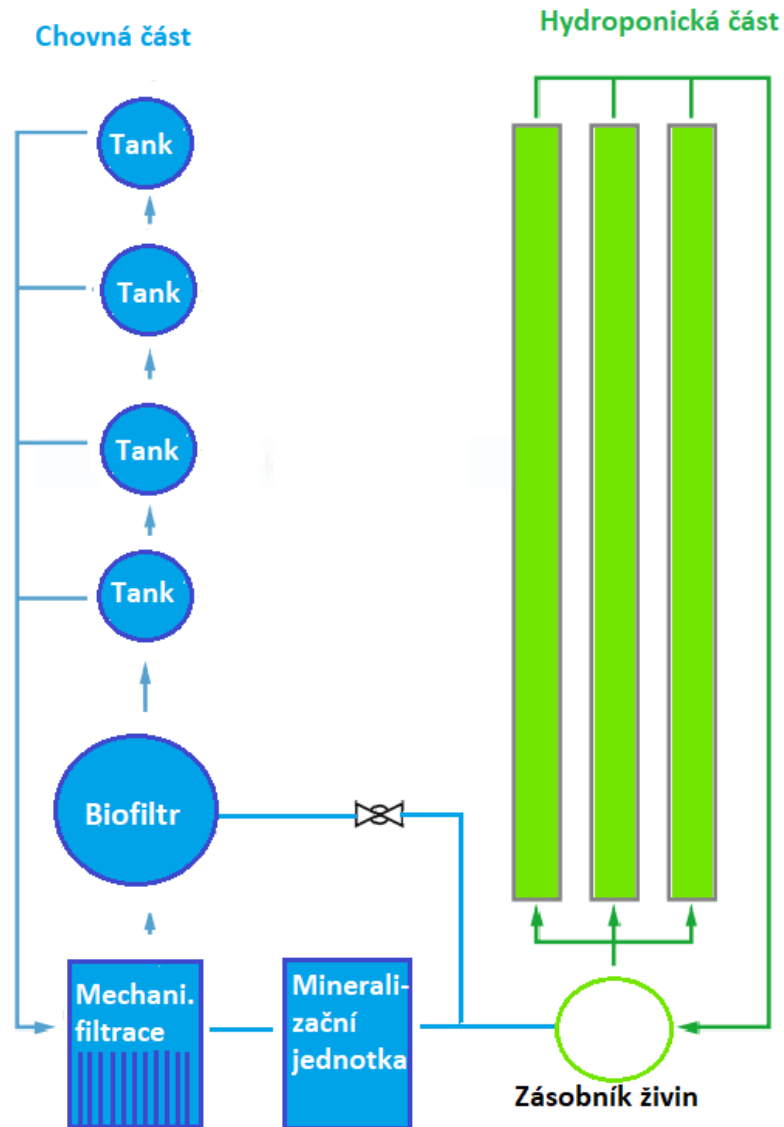
Jednosmyčkový systém lze označit za ucelený ekosystém obsahující tři rozdílné složky – vodní organismy, bakterie a rostliny. Kvalita vody a její parametry tedy musí vyhovovat všem těmto složkám (Lennard, 2017). Tyto parametry je potřeba často kontrolovat a udržovat v určitém rozmezí, aby nedošlo ke zhroutilí systému. Mezi základní parametry vody řadíme obsah již zmiňovaného amoniaku společně s dusitany a dusičnany, obsah kyslíku ve vodě a pH. V tab. č. 1 jsou popsány optimální podmínky pro jednotlivé složky akvaponického systému. Parametry optimálního prostředí se od sebe u jednotlivých složek systému poměrně liší, proto je pro fungování systému potřeba jít cestou kompromisu, aby parametry byly snesitelné pro všechny složky.

Tab. č. 1 Ideální parametry teploty, pH, koncentrace amoniaku, dusitanů, dusičnanů a kyslíku pro teplomilné a studenomilné ryby, rostliny a bakterie (Somerville a kol., 2014).

Organismus	Teplota (°C)	pH	Amoniak (mg·l⁻¹)	Dusitany (mg·l⁻¹)	Dusičnany (mg·l⁻¹)	Kyslík (mg·l⁻¹)
Teplomilné ryby	22-32	6-8,5	< 3	< 1	< 400	4-6
Studenomilné ryby	10-18	6-8,5	< 1	< 0,1	< 400	6-8
Rostliny	16-30	5,5-8,5	< 30	< 1	-	> 3
Bakterie	14-34	6-8,5	< 3	< 1	-	4-8



Obr. č. 2 Zjednodušený náčrt jednosmyčkového akvaponického systému (Monsees a kol., 2017). Z náčrtu je patrné, že voda mezi chovnou a hydroponickou částí cirkuluje v jednom okruhu.



Obr. č. 3 Podrobný náčrt vícemyčkového systému (Goddek a kol., 2019). Na náčrtu vidíme cirkulaci vody ve dvou oddělených okruzích. První okruh obíhá mezi nádržemi s vodními organismy, mechanickou filtrací, ze které se kal následně odvádí do mineralizační jednotky, a biofitrem. Z chovné části je voda podle potřeby přepouštěna jednocestným ventilem do hydroponické části, kde cirkuluje mezi nádržemi s pěstovanými rostlinami.

Ve vícesmyčkovém systému se voda z hydroponické části již do chovných nádrží přímo nevrací. Faktory jako pH, teplota, obsah živin a kyslíku mohou být tedy pro jednotlivé smyčky upraveny dle požadavků chovaných organismů a pěstovaných rostlin (Monsees a kol., 2017). Ve vícesmyčkovém systému je na rozdíl od jednosmyčkového možné i ošetření rostlin běžně používanými pesticidy (Monsees a kol., 2017).

Navzdory nesporným výhodám vícesmyčkových systémů jsou jednosmyčkové systémy stále hojně využívány (Goddek a kol., 2019).

2.5. Komerční využití akvaponie

Navzdory veškerým přednostem setrvává akvaponie do značné míry spíše v rukou zahrádkářů na místo komerčního využití (Monsees a kol., 2017). Jedním z důvodů mohou být vysoké počáteční náklady a jejich návratnost (Goddek a kol., 2019; Engle, 2015). Nejdůvěryhodnější scénáře udávají návratnost pod 12 let. Výzkum Adlera a kol. (2000) zahrnující chov pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a pěstování salátu setého (*Lactuca sativa L.*) udával návratnost okolo 7 let. Výzkum Baganze a kol. (2020) využívající kombinaci chovu keříčkovce červenolemého (*Clarias gariepinus*) a pěstování rajčat jedlých (*Solanum lycopersicum*) udává návratnost do 12 let.

Další z udávaných důvodů malého komerčního využití představuje nedostatek srovnatelných dat (Goddek a kol., 2019). Akvaponické systémy nejsou nijak standardizovány a je mnoho možností, co se týče druhů ryb a rostlin, které lze produkovat. Většina údajů z akvaponie navíc pochází spíše z hypotetických modelů. Nemusí tedy zahrnout všechny náklady a problémy, které by v běžném provozu mohly vzniknout (Engle, 2015). Dohledatelné údaje pocházejí převážně z menších systémů a výzkumných modelů. Data z těchto systémů prezentují příznivé výsledky pro komerční akvaponii, avšak data od větších společností produkující tímto způsobem potraviny jsou často nedostupná (Engle, 2015).

Další z hlavních problémů, které je třeba pro rozvoj komerční akvaponie vyřešit, představuje management chorob a škůdců (Bittsanszky a kol., 2016a; Folorunso a kol., 2021).

2.6. Management chorob a škůdců rostlin

Mezi problémové škůdce v akvaponických a hydroponických systémech řadíme mšice, molice, třásněnky a svilušky, mezi rostlinné patogeny patří bakterie, houby a viry. Tito škůdci a choroby způsobují vážné škody na pěstovaných rostlinách, snižují jejich výnosy (Tidwell, 2012; Goddek a kol., 2019) a současně se tak zvyšuje investice do ochrany proti škůdcům (Folorunso a kol., 2021). Vzhledem k tomu, že patogeny sdílejí stejné potřebné faktory pro svoji existenci s rostlinami, které v systému pěstujeme, musíme do jisté míry s jejich výskytem počítat (Somerville a kol., 2014; Reddy, 2016). Výzkum použitelných pesticidů je tedy vzhledem k výše popsaným faktům nezbytný pro budoucnost akvaponie a jejího možného komerčního využití (Goddek a kol., 2015).

Studijní oblast rostlinných chorob a škůdců zaměřená čistě na léčbu v akvaponických systémech je velmi málo probádána (Stouvenakers a kol., 2017). Léčebné metody stále chybí a pouze Somerville a kol. (2014) udává ve své publikaci seznam anorganických sloučenin použitelných při léčbě houbových chorob v akvaponickém systému. Při výskytu patogenu jsou pěstitelé využívající jednosmyčkový systém, kde se od sebe jednotlivé složky systému nedají oddělit, poměrně bezmocní (Goddek a kol., 2019). Je zde totiž možný vliv aplikované látky na necílový organismus (Folorunso a kol., 2021). Negativně může působit na bakterie či fyziologii a histopatologii ryb (Stouvenakers a kol., 2019). V akvaponii by proto měly být aplikovány zásady integrovaného a ekologického zemědělství.

V posledním desetiletí se integrovaná ochrana proti škůdcům a chorobám vyvíjela tak, aby nahradila nadměrné používání pesticidů k hubení škůdců a patogenů (Greenberg a kol., 2012; Schnelle a Rebeck, 2013). Udržitelný přístup kombinuje preventivní, kulturní, mechanické, fyzikální, biologické a chemické metody tak, aby byla aktivita škůdců udržována pod ekonomickými ztrátami (Larramendy a Soloneski, 2012; Somerville a kol., 2014). Mechanismus integrované ochrany proti škůdcům a chorobám spočívá v následujících krocích: prevence, identifikace organismu, monitorování jeho aktivity, stanovení metody pro jeho kontrolu a její aplikace, posouzení metody (Stein, 2006).

Mezi preferované metody kontroly chorob a škůdců v akvaponických systémech patří mechanické odstranění a biologická ochrana rostlin (Folorunso a kol., 2021). Tyto

metody jsou však účinné především v raných fázích rozšíření chorob či škůdců. Použití pesticidu by mělo být vždy až poslední možností kvůli škodlivým účinkům na necílové organismy a jejich perzistenci v životním prostředí (Fournier a Brodeur, 2000; Stouvenakers a kol., 2019). Při masovém výskytu chorob a škůdců je však použití pesticidů často nevyhnutelné. V posledních letech jsou dostupné alternativy, které by mohly nahradit používání tradičních syntetických pesticidů a které by byly vhodnější pro použití v akvakultuře (Folorunso a kol., 2021). Jedná se o přírodní pesticidy na bázi přírodních látek či mikroorganismů, které potlačují škůdce nebo choroby (Kiewnick, 2007). Mezi hojně využívané přírodní pesticidy se řadí látka azadirachtin.

2.6.1. Azadirachtin

Azadirachtin je komplexní tetranortriterpenoidní limonoid (Morgan, 2009), který se v zemědělství používá jako přírodní pesticid. Azadirachtin pochází ze stromu zaderah indický (*Azadirachta indica*), především z jeho semen, které obsahují nejvyšší koncentraci azadirachtinu (Isman a kol., 1991). Využívá se především jako insekticid, jehož působením však nejsou škůdci, ve většině případů, přímo usmrcováni, ale je narušována jejich metamorfóza, reprodukce a růst. Dále ovlivňuje produkci vajíček a jejich líhnutí. Po ošetření listů rostliny azadirachtinem byla u mnoha druhů hmyzu pozorována ztráta zájmu o danou rostlinu. Jedná se tedy o regulátor růstu s protipožerovými účinky (Bomford a Isman, 1996). Látka slouží také jako repelent, škůdci si na ni však rychle zvykají, a proto se může stát i během několika hodin v tomto ohledu neúčinnou (Bomford a Isman, 1996).

Látka azadirachtin vyniká nízkou toxicitou pro savce, ryby (Wan a kol., 1996) a opylovače (Naumann a Isman, 1996). Tyto vlastnosti předurčují azadirachtin jako ideální přírodní pesticid, který by mohl být použit i v akvakulturních systémech. Tab. č. 2 znázorňuje letální dávku azadirachtinu (96h LC₅₀) na různé druhy ryb. Tab. č. 3 obsahuje data efektivní dávky azadirachtinu na různé řády hmyzu. Bezpečnostní list výrobce udává nejvyšší možnou koncentraci bez pozorování účinků (NOEC) 50 mg·l⁻¹ na hrotnatku velkou (*Daphnia magna*).

Tab. č. 2 Letální koncentrace azadirachtinu (96h LC₅₀) pro různé druhy ryb.

Druh	Hodnota 96h LC ₅₀	Zdroj
<i>Cyprinus carpio</i>	80,0 µl·l ⁻¹	(Murussi a kol., 2016)
<i>Cyprinus carpio</i>	75,0 mg·l ⁻¹	(Davoodi a Adbi, 2012)
<i>Heteropneustes fossilis</i>	52,3 mg·l ⁻¹	(Kumar a kol., 2012)
<i>Labeo rohita</i>	42,7 mg·l ⁻¹	(Bhat a kol., 2012)
<i>Oreochromis niloticus</i>	32,0 mg·l ⁻¹	(Oyoo-Okoth a kol., 2011)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	160 mg·l ⁻¹	(Bezpečnostní list, 2016)

Tab. č. 3 Efektivní dávka azadirachtinu (ED₅₀) na jednotlivé řády hmyzu (Mordue a Nisbet, 2000).

Řád hmyzu	ED ₅₀ (mg·l ⁻¹)
Lepidoptera	<0,001 – 50
Coleoptera	100 – 500
Hemiptera	100 – 500
Hymenoptera	100 – 500
Orthoptera	0,001 - >1000

Jednou z hlavních nevýhod azadirachtinu je skutečnost, že v přirozeném prostředí se látka rychle rozkládá, při komerčním využívání by mohl být problém s její perzistencí a krátkou dobou trvanlivosti. (Barnby a kol., 1989). Dále byl pozorován vliv azadirachtinu na necílové hmyzí predátory, u hmyzu se projevíly morfologické deformace končetin společně s vyšší úmrtností. Výsledky publikace Sarawaneeyaruk a kol. (2015) udávají antimikrobiální aktivitu v půdách při dvouměsíční suplementaci azadirachtinu o koncentracích 1,25 a 2,5 µg·ml⁻¹. Práce Suci a kol. (2019) ale slouží jako důkaz, že přestože má azadirachtin antimikrobiální účinky, nezpůsobí naprostou destrukci mikrobiálních funkcí půdy. Dále pak Sarawaneeyaruk a kol. (2015) popisuje negativní vliv na růst rostlin fazole mungo (*Vigna radiata*) při aplikaci azadirachtinu o koncentraci 1,25 µg·ml⁻¹ a 2,5 µg·ml⁻¹. Před použitím pesticidu je tedy potřeba vzít v úvahu jeho možný negativní účinek na necílové organismy (Zanuncio a kol., 2016).

3.Cíle

Cílem této bakalářské práce bylo stanovení koncentrace azadirachtinu ve vodě po aplikaci v pěstební části akvaponického systému a jeho vliv na růst bazalky pravé (*Ocimum basilicum*). Dalším cílem bylo posouzení vlivu azadirachtinu na proces nitrifikace a na bakterie přítomné v biofiltru akvaponického systému.

4. Materiál a metodika

Pokus sestával ze dvou částí a probíhal v Avaponickém skleníku a v chemické laboratoři Fakulty rybářství a ochrany vod (FROV). V první části jsme pozorovali, kolik pesticidu azadirachtinu se bude nacházet ve vodě pěstební části akvaponického systému po jeho aplikaci na bazalku pravou (*Ocimum basilicum*), u které jsme současně pozorovali vliv pesticidu na její růst. Ve druhé části jsme zkoumali vliv azadirachtinu na proces nitrifikace a na složení nitrifikačních bakterií v simulovaném biofiltru akvaponického systému.

4.1. Koncentrace azadirachtinu po aplikaci na bazalku pravou, růst bazalky

Pro první část pokusu bylo sestaveno 6 samostatných experimentálních hydroponických systémů. Každý systém se skládal z plastového pěstebního boxu (60x40x32 cm; TBA Plastové obaly s.r.o., Česká republika), polystyrenové desky s osmi otvory pro rostliny (Styrodur 2800, Saint-Gobain, Francie), kruhové zásobní nádoby pro živinový roztok (výška 38 cm, průměr 39 cm; TBA Plastové obaly s.r.o., Česká republika). Živinový roztok byl čerpán ze zásobní nádoby do pěstebních plastových boxů pomocí čerpadla Tetra WP 600 o výkonu 11 W (Spectrum Brands Tetra, USA). Z pěstebního boxu pak živinový roztok odtékal vystaveným přepadem zpět do zásobní nádoby. Každý pěstební box byl osazen dvěma vzduchovacími kameny o průměru 5 cm (Hailea, Čína). Vzduchování bylo zajištěno centrálním membránovým dmychadlem (Secoh JDK-50, Japonsko). Popisovaný systém je vyfocen na obr. č. 4, jedná se o tzv. raftový systém, který je hojně využíván v akvaponických systémech.

Každý hydroponický systém byl napuštěn 60 l živinového roztoku, který byl připraven podle průvodce o výživě bazalky od výrobce hnojiv: TRIPART® (Flora Series, 2021). Roztok byl připraven rozmícháním níže uvedených tekutých hnojiv v odstáté kohoutkové vodě.

-FloraGro – 2,5 ml·l⁻¹

-FloraMicro – 2,0 ml·l⁻¹

-FloraBloom – 1,0 ml·l⁻¹



Obr. č. 4 Experimentální pěstební boxy (foto autor).

Do každého plastového pěstebního boxu bylo vysazeno 8 rostlin bazalky pravé ve výšce cca 30 cm, které byly získány ze sekce sazenic Akvaponického skleníku FROV. Výška jednotlivých rostlin byla zaznamenána. Systém byl stabilizován po dobu 72 hodin, přičemž teplota, nasycení kyslíkem a pH byly monitorovány denně přenosným multimetrem (HI9829, Hanna Instruments, Rumunsko). V případě potřeby bylo pH upraveno na hodnoty 5,5 - 6,5 pomocí komerčního přípravku (pH down, General Hydroponics, USA).

Po 72 hodinách byl aplikován postřik. Postřik na bázi azadirachtinu (Neem Azal T/S, Biocont Laboratory, Česká republika) byl dávkován podle pokynů na obale (3 ml postřiku v 1 l vody) Postřik byl aplikován rozprašovačem až do sknutí kapky postřiku z listu. Pesticid byl aplikován na rostliny ve třech plastových boxech, přičemž ostatní pěstební boxy byly po dobu aplikace odděleny plentou, aby nedošlo ke kontaminaci. Ve zbylých třech pěstebních boxech byla použita destilovaná voda sloužící jako kontrolní vzorek.

V časech 0, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 hodin od aplikace postřiku byly odebírány vzorky vody ze všech pěstebních nádob. Odběr probíhal za pomoci stříkačky o objemu 20 ml (B Braun Medical, Německo) ze zásobní nádrže. Poté byl vzorek přefiltrován přes 0,45 μ m filtr (Sartorius AG, Německo) do skleněné vialky o objemu 10 ml (Fisher Scientific, USA), která nesměla být naplněna až po okraj, aby při jejím zamrazení nedocházelo k prasknutí skla. Plnění vialky vodou ze stříkačky můžeme vidět na obr. č. 5. Odebrané vzorky vody byly uloženy při -20 °C a následně analyzovány Laboratoří environmentální chemie a biochemie FROV. Koncentrace azadirachtinu byla stanovena vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC; standard Azadirachtin~95%, Sigma-Aldrich, USA).



Obr. č. 5 Filtrace vzorku ze stříkačky do vialky (foto autor).

Růst rostlin byl monitorován jednou týdně po dobu dvou týdnů od aplikace pesticidu změřením nadzemní části rostliny.

4.2. Vliv azadirachtinu na nitrifikaci a složení mikrobiomu v biofiltru

Druhá část pokusu probíhala ve 12 kruhových nádržích (výška 38 cm, průměr 39 cm; TBA Plastové obaly s.r.o., Česká republika), které obsahovaly 12 litrů odstáté kohoutkové vody, 3 litry vody ze zaběhlého recirkulačního akvakulturního systému (RAS)

v Akvaponickém skleníku FROV a 3 litry bioelementů RAZ BT10 (Ratz Aqua and Polymer Technik, Německo) ze stejného zaběhlého RAS. Do každé nádrže byly zavedeny dva vzduchovací kameny o průměru 5 cm (Hailea, Čína), které dodávaly vzduch a zajišťovaly pohyb elementů. Vzduch byl dodáván centrálním dmychadlem (Secoh JDK-50, Japonsko) (obr. č. 6). Experimentální systém byl stabilizován po dobu 72 hodin, přičemž amoniak byl dávkován ze zásobního roztoku s koncentrací $1,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1} \text{ NH}_4\text{-N}$ dvakrát denně (8:00 a 20:00), ve formě NH_4Cl (Penta s.r.o., Česká republika) s dávkováním $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ NH}_4\text{-N}$ (obr. č. 7).

Postřik na bázi azadirachtinu (Neem Azal T/S, Biocont Laboratory, Česká republika) byl dávkován na základě nejvyšší koncentrace vyskytující se v první části experimentu, její hodnota činila $1,5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ azadirachtinu, dále byla nadávkována koncentrace $7,5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $15 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ azadirachtinu simulující chybu při dávkování pesticidu. Azadirachtin byl dávkován pomocí pipety (Eppendorf, Německo) ze zásobního roztoku s koncentrací $1,5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ vytvořeného dokonalým rozmícháním 2,1226 ml postřiku v 997,9 ml destilované vody (vypočteno na základě výrobcem deklarovaného obsahu azadirachtinu v postřiku a hustoty postřiku; $0,98 \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$) V kontrolním vzorku byla koncentrace azadirachtinu $0 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Veškeré koncentrace byly nadávkovány ve třech opakováních. Po 15 minutách od aplikace postřiku byly odebrány vzorky pro kontrolní stanovení azadirachtinu v jednotlivých nádržích. Odběr probíhal stejným způsobem jako v první části.



Obr. č. 6 Fotka znázorňuje experimentální jednotku simulující biofiltr akvaponického systému (foto autor).

Po dobu následujících 72 hodin byl ve všech systémech sledován dvakrát denně (8:00 a 20:00) obsah amoniaku, dusitanů a dusičnanů spektrofotometrickým měřením (popsáno níže), přičemž amoniak byl do systému dodáván ve formě NH_4Cl (Penta s.r.o., Česká republika) s dávkováním $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ NH}_4\text{-N}$ dvakrát denně vždy po měření. Během experimentu byly kontrolovány parametry vody – teplota, kyslík a také pH, které byly měřeny přenosným multimetrem (HI9829, Hanna Instruments, Rumunsko) taktéž dvakrát denně. Za pomoci NaHCO_3 (Penta s.r.o., Česká republika) bylo pH udržováno na hodnotách kolem 7,5.



Obr. č. 7 Dávkování amoniaku do systému (foto autor).

Stanovení amoniakálního dusíku absorpční spektrofotometrií

Stanovení amoniakálního dusíku probíhalo spektrofotometricky po reakci s Nesslerovým činidlem (Valentová a kol., 2013).

Standardní zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 0,3819 g předem vysušeného NH_4Cl (Penta s.r.o., Česká republika) při teplotě 105 °C v destilované vodě a doplněním do 1 litru. Následně byl připraven pracovní roztok napipetováním 20 ml zásobního roztoku do odměrné baňky o objemu 500 ml, která byla doplněna po rysku a promíchána. Roztok byl na základě kalibrační řady pipetován do odměrných baněk o objemu 50 ml, doplněn destilovanou vodou, promíchán a převeden do kádinky.

Do kádinek s roztoky bylo přidáno 0,5 ml 50% roztoku Seignetovy soli (500 g $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Carl Roth, Německo) se rozpustilo v 900 ml destilované vody, následně bylo přidáno 3 ml Nesslerova činidla (Carl Roth, Německo) a doplněno destilovanou vodou do 1 litru), poté byly roztoky promíchány. Následně byl přidán 1 ml Nesslerova činidla (Carl Roth, Německo) a roztoky opětovně promíchány. Po přidání

činidel se čekalo 10 minut. Stejným způsobem byly připraveny vzorky vody odebrané z experimentálních nádrží.

Na spektrofotometru byla přeměřena kalibrační řada roztoku proti slepému stanovení v kyvetě s optickou dráhou 1 cm při vlnové délce 412 nm. Poté se přeměřily naše vzorky a získaly se informace o koncentraci N-NH_4^+ ve vzorcích.

Stanovení dusitanů absorpční spektrofotometrií

Spektrofotometrické stanovení dusitanů probíhalo po reakci s kyselinou sulfanilovou a N-(1-naftyl)-ethylen-diamindihydrochloridem (Valentová a kol., 2013).

Nejprve byl připraven standardní zásobní roztok navážením 0,15 g předem vysušeného NaNO_2 (Carl Roth, Německo). Dusitan sodný byl následně rozpuštěn v destilované vodě a objem vody byl doplněn na 1 litr. Dále byl připraven pracovní roztok č. 1, a to 50x naředěním zásobního roztoku, a pracovní roztok č. 2, který byl připraven 2,5x zředěním pracovního roztoku č. 1.

Pracovní roztok č. 2 byl nadávkován na základě kalibrační řady do Erlenmeyerových baněk, do jednotlivých baněk bylo přidáno 2,5 ml kyseliny sulfidové (3,46 g sulfanilové kyseliny $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$ (Carl Roth, Německo) a 27,2 g KHSO_4 (Carl Roth, Německo) bylo rozpuštěno v 900 ml destilované vody a doplněno do 1 litru). Roztoky byly promíchány a 10 min probíhala reakce.

Do baněk bylo dále přidáno 2,5 ml N-(1-naftyl)-ethylen-diamindihydrochloridu (0,04 g NED (Sigma-Aldrich, Německo) a 100 ml destilované vody. Roztoky byly opět promíchány a na 20 minut se nechaly odstát.

Na spektrofotometru se proměřily absorbance vytvořené kalibrační řady ke slepému vzorku při vlnové délce 540 nm. Stejným způsobem byly připraveny i vzorky z experimentálních nádrží.

Stanovení dusičnanů absorpční spektrofotometrií

Stanovení je založeno na reakci dusičnanů se salicylátem sodným v médiu s kyselinou sírovou. Po alkalizaci se vytváří žlutá sůl kyseliny nitrosalicylové vhodná pro fotometrické stanovení (Valentová a kol., 2013).

Nejprve byl připraven standardní zásobní roztok rozpuštěním 0,7220 g předem vysušeného dusičnanu draselného KNO_3 (Carl Roth, Německo) v destilované vodě, která se následně doplnila do 1 litru. Dále byl připraven pracovní roztok, a to pipetováním 100 ml zásobního roztoku do odměrné baňky o objemu 1000 ml, baňka byla opět doplněna po rysku. Pracovní roztok byl na základě kalibrační řady pipetován do odměrných baněk o objemu 100 ml, doplněn po rysku a promíchán.

Následně bylo 10 ml každého kalibračního roztoku převedeno do 50 ml kádinek, do kterých byl nadávkován 1 ml roztoku 1% salicylátu sodného $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$ (Penta s.r.o., Česká republika). Následně byly roztoky odpařeny na vodní lázni a byl přidán 1 ml kyseliny sírové H_2SO_4 (Penta s.r.o., Česká republika) a 300 μl 1M roztoku hydroxidu sodného NaOH (Carl Roth, Německo). Kádinky se poté nechaly na vodní lázni po dobu dalších 2 minut. Po ochlazení bylo do odparků přidáno přibližně 20 ml destilované vody a 5 ml 42% roztoku NaOH (Carl Roth, Německo). Roztoky byly poté promíchány, kvantitativně přeneseny do 50ml odměrných baněk a doplněny po rysku. Absorbance těchto vzorků byla měřena při vlnové délce 420 nm. Stejným způsobem byly zpracovány vzorky vody z experimentálních nádrží.

4.2.1. Posouzení vlivu azadirachtinu na složení nitrifikačních bakterií v biofiltru

Po 6 hodinách od aplikace postřiku na bázi azadirachtinu bylo odebráno 36 biofiltračních elementů z každé experimentální nádoby. Odběr byl proveden v latexových rukavicích, které byly vyměněny po každém odběru, aby nedošlo ke kontaminaci. Těchto 36 biofiltračních elementů bylo vloženo do plastových uzavíratelných nádob o objemu 100 ml, ke kterým bylo přidáno 80 ml redestilované vody. Obsah nádob byl protřepáván dvě minuty, poté byly pinzetou odebrány bioelementy a obsah byl přelit do dvou 50ml kónických zkumavek – falkonek (Jet Biofil, Čína). Falkonky byly centrifugovány při 5000 otáčkách za minutu po dobu 10 minut. Supernatant byl odsán a pelety z obou 50ml flakonek byly přeneseny pomocí 1ml pipety do 2ml zkumavky (Eppendorf AG, Německo), která byla opět centrifugována, a to při stejných otáčkách a čase. Supernatant byl znovu odsán a z výsledné pelety bylo

extrahováno DNA pomocí komerčního kitu DNeasy PowerBiofilm Kit (Qiagen, Německo). Postup extrakce probíhal dle instrukcí výrobce.

Vzorky byly následně poslány na sekvenování a taxonomické určení do externí laboratoře Eurofins Genomics (GATC AG, Německo). Vzorky byly zpracovány pomocí Illumina MiSeq (2 × 300 bp) podle protokolu InView™ Microbiome Profiling. Amplikony byly generovány pomocí primerů 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') a 534R (5'-ATT ACC GCG GCT GCTGG-3') s cílovými oblastmi V1-V3 (Schmautz a kol., 2017).

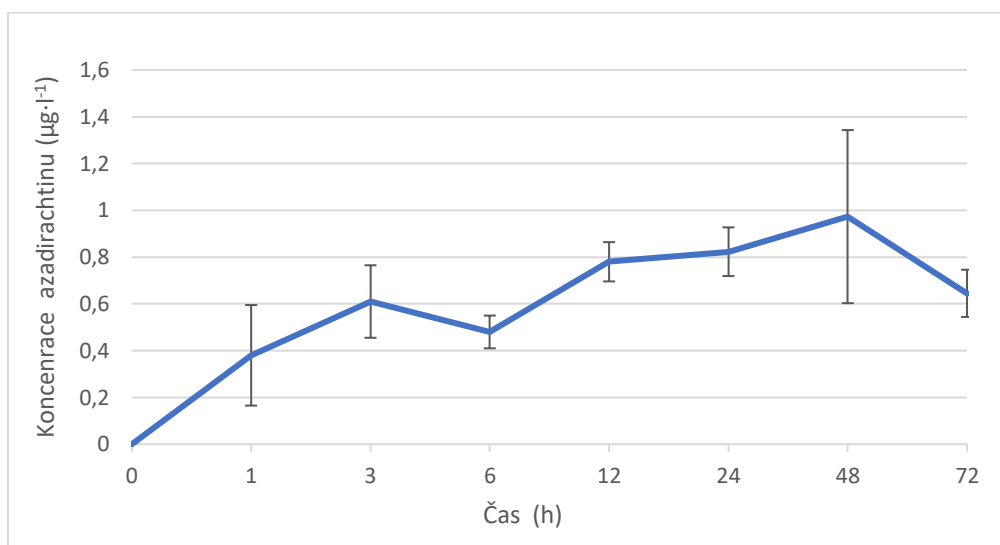
4.2.2. Statistické vyhodnocení

Data jsou prezentována jako průměr ± směrodatná odchylka. Normální distribuce dat byla ověřena Shapiro-Wilk testem. Růst rostlin v jednotlivých týdnech byl porovnán pomocí nezávislého t-testu. Koncentrace amoniakálního dusíku, dusitanů, dusičnanů, teplota, O₂ a pH byly vyhodnoceny pomocí Kruskal-Wallisova testu s následným mnohonásobným porovnáním průměrů mezi skupinami, protože data nesplňovala předpoklady normální distribuce. Statistické vyhodnocení byla provedena v softwaru Statistica v. 12 (TIBCO Software, USA). Grafy byly vytvořeny pomocí programu Microsoft Excel 2020 (Microsoft 365, USA).

5. Výsledky

5.1. Obsah azadirachtinu v pěstebním systému, růst bazalky pravé

Průběh koncentrací azadirachtinu po aplikaci na rostliny v pěstebním systému je vyobrazen v grafu č. 1. Z grafu je patrné, že obsah azadirachtinu stoupal do 48. hodiny po aplikaci postřiku a poté začal klesat. V kontrole nebyl pesticid detekován. Nejvyšší naměřená koncentrace během experimentu činila $1,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$.



Graf č. 1 Vývoj obsahu azadirachtinu ve vodě pěstebního systému. Data jsou prezentována jako průměr \pm směrodatná odchylka.

Vliv azadirachtinu na růst bazalky pravé

Tab. č. 4 znázorňuje růst bazalky pravé po dobu dvou týdnů od aplikace postřiku ve srovnání s kontrolní skupinou. Z tab. č. 4 je patrné, že růst bazalky pravé v jednotlivých týdnech nebyl ovlivněn aplikací postřiku na bázi azadirachtinu ($p > 0,05$).

Tab. č. 4 Růst bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) po dobu dvou týdnů po aplikaci postřiku na bázi azadirachtinu. Data (v cm) jsou prezentována jako průměr \pm směrodatná odchylka a porovnána nezávislým t-testem.

Měření	Ošetřena azadirachtinem	Kontrolní skupina	t statistika	p
Začátek	$29,78 \pm 4,77$	$29,10 \pm 4,30$	-0,51	0,61
1. týden	$39,62 \pm 4,74$	$40,49 \pm 4,36$	0,67	0,51
2. týden	$50,98 \pm 6,05$	$50,95 \pm 6,08$	-0,01	0,99

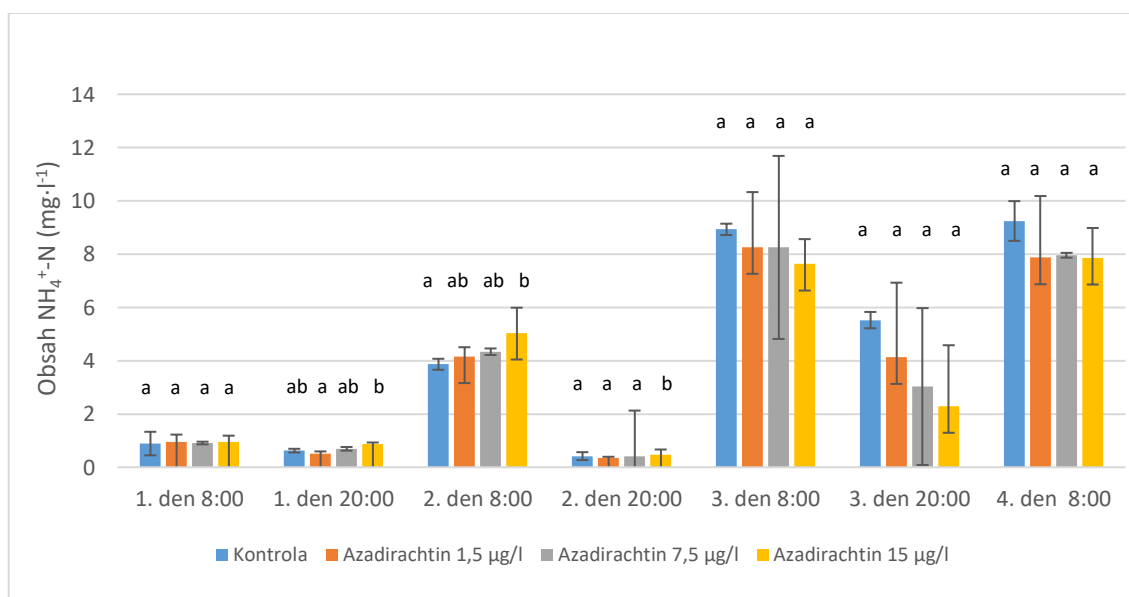
5.2. Vliv azadirachtinu na nitrifikaci a složení mikrobiomu v biofiltru

Tab. č. 5 znázorňuje obsah azadirachtinu v jednotlivých nádržích zjištěný při kontrolním stanovení po 15 minutách od postřiku v druhé části experimentu.

Tab. č. 5 Obsah azadirachtinu v jednotlivých nádržích po 15 minutách od aplikace.

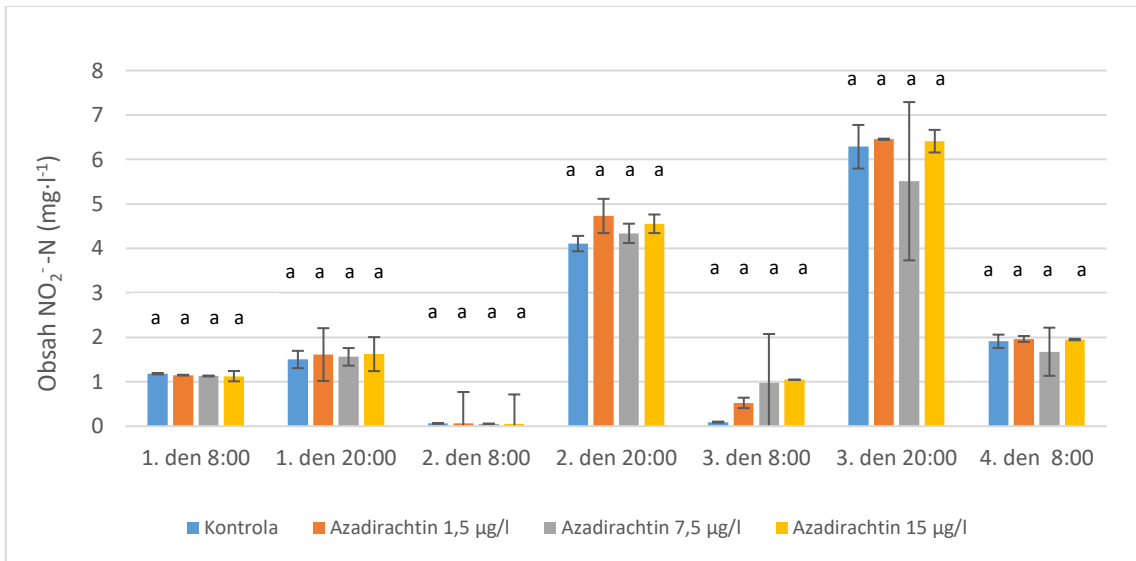
Experimentální skupina	Zjištěná koncentrace
Kontrola	≤ 0,01
1,5 µg·l ⁻¹ azadirachtin	1,69 ± 0,61
7,5 µg·l ⁻¹ azadirachtin	7,35 ± 1,22
15 µg·l ⁻¹ azadirachtin	13,66 ± 2,04

Výsledky ze statistického vyhodnocení dat (Kruskal-Wallisův test) objevily rozdílné hodnoty amoniakálního dusíku v nádržích s aplikovaným pesticidem (graf č. 2) oproti kontrole. Vliv pesticidu byl pozorován v prvních dvou dnech od jeho aplikace. Pozdější měření už neprokázala statistické rozdíly. Nejvyšší koncentrace amoniakálního dusíku korespondovaly s nejvyššími koncentracemi azadirachtinu. Hodnoty v grafech č. 3 a 4 se výrazně nelišily ($P > 0,05$) od hodnot v kontrolních vzorcích.

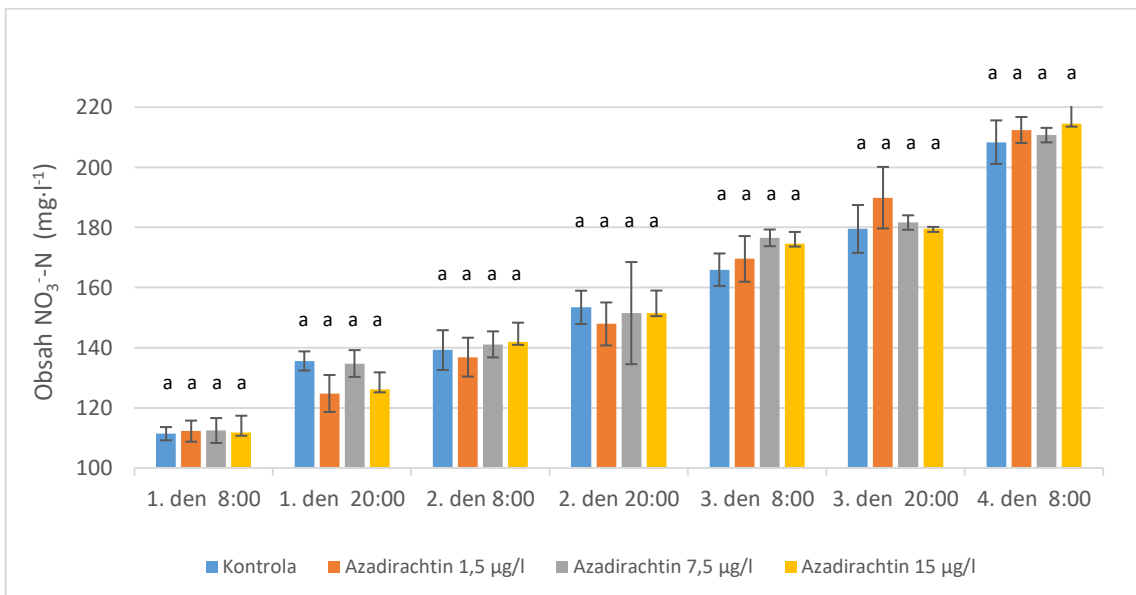


Graf č. 2 Koncentrace amoniakálního dusíku ve vodě simulovaného biofiltru po aplikaci azadirachtinu. Koncentrace byly měřeny dvakrát denně. Sloupečky s rozdílnými písmeny v jedné

skupině se od sebe významně liší ($p \leq 0,05$). Hodnoty amoniakálního dusíku jsou uvedeny v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1} \pm$ směrodatná odchylka.



Graf. č. 3 Koncentrace dusitanového dusíku ve vodě simulovaného biofiltru po aplikaci azadirachtinu. Koncentrace byly měřeny dvakrát denně. Sloupečky se stejným písmenem v jedné skupině se od sebe významně neliší ($p > 0,05$). Hodnoty dusitanového dusíku jsou uvedeny v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1} \pm$ směrodatná odchylka.



Graf. č. 4 Koncentrace dusičnanového dusíku ve vodě simulovaného biofiltru po aplikaci azadirachtinu. Koncentrace byly měřeny dvakrát denně. Sloupečky se stejným písmenem v jedné skupině se od sebe významně neliší ($p > 0,05$). Hodnoty dusičnanového dusíku jsou uvedeny v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1} \pm$ směrodatná odchylka.

Tab. č. 6 až 8 znázorňují naměřené hodnoty jednotlivých fyz.-chemických parametrů vody v experimentálních nádržích během druhé části experimentu. Teplota v experimentálních nádržích byla konstantní po celou dobu experimentu a statisticky se nelišila mezi jednotlivými experimentálními ošetřeními (Kruskal-Wallisův test, $p > 0,05$ ve všech případech; tab. č. 6).

Tab. č. 6 Teplota (°C) v experimentálních nádržích v průběhu experimentu. Data jsou prezentována jako průměr dvou měření v tentýž den \pm směrodatná odchylka.

Experimentální skupiny	16.6	17.6.	18.6.	19.6.
	$\chi^2(3) = 1,333$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 6,667$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 6,667$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 6,667$ $p > 0,05$
kontrola	22,39 \pm 0,04	22,60 \pm 0,05	22,29 \pm 0,06	22,50 \pm 0,03
azadirachtin 1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	22,32 \pm 0,13	22,62 \pm 0,11	22,27 \pm 0,11	22,39 \pm 0,08
azadirachtin 7,5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	22,41 \pm 0,07	22,74 \pm 0,05	22,47 \pm 0,04	22,55 \pm 0,06
azadirachtin 15 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	22,52 \pm 0,17	22,85 \pm 0,18	22,58 \pm 0,17	22,57 \pm 0,09

Saturace kyslíkem v experimentálních nádržích byla ovlivněna aplikací pesticidu. Ačkoliv se statisticky lišila jen poslední den ($p = 0,007$), kdy byly statisticky nižší saturace kyslíkem naměřeny v experimentální nádrži s nejvyšší koncentrací azadirachtinu ve srovnání s kontrolou, ostatní dny vykazovaly podobný trend, nicméně nebyly statisticky odlišné (tab. č. 7).

Tab. č. 7 Saturace kyslíkem (%) v experimentálních nádržích v průběhu experimentu. Data jsou prezentována jako průměr dvou měření v tentýž den \pm směrodatná odchylka.

Experimentální skupiny	16.6	17.6.	18.6.	19.6.
	$\chi^2(3) = 6,667$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 6,514$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 6,667$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 12,000$ $p = 0,007$
kontrola	82,97 \pm 9,56	68,85 \pm 0,71	81,48 \pm 0,29	83,30 \pm 0,44 ^a
azadirachtin 1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	56,60 \pm 0,74	52,62 \pm 0,68	52,77 \pm 4,58	51,07 \pm 0,42 ^{ab}
azadirachtin 7,5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	57,17 \pm 1,94	53,05 \pm 0,83	51,02 \pm 0,51	52,80 \pm 0,26 ^{ab}
azadirachtin 15 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	59,27 \pm 1,01	53,00 \pm 1,12	50,30 \pm 0,43	49,83 \pm 0,76 ^b

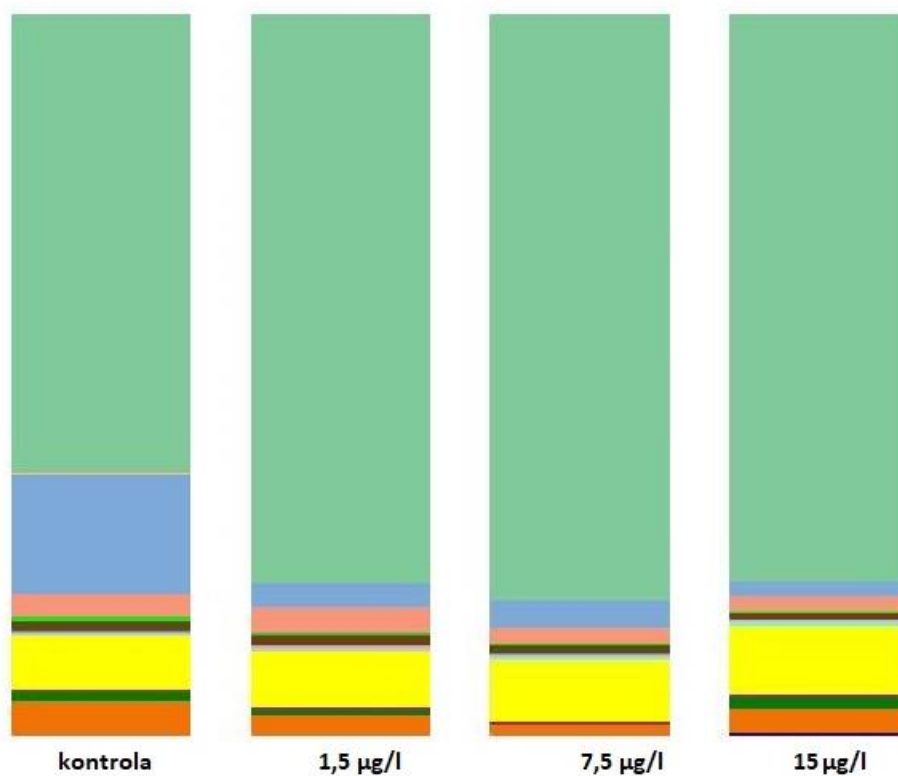
Hodnota pH v experimentálních nádržích se statisticky nelišila mezi jednotlivými experimentálními ošetřeními (Kruskal-Wallisův test, $p > 0,05$ ve všech případech; tab. č. 8).

Tab. č. 8 Hodnota pH v experimentálních nádržích v průběhu experimentu. Data jsou prezentována jako průměr dvou měření v tentýž den \pm směrodatná odchylka.

Experimentální skupiny	16.6	17.6.	18.6.	19.6.
	$\chi^2(3) = 3,771$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 6,667$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 4,000$ $p > 0,05$	$\chi^2(3) = 6,667$ $p > 0,05$
kontrola	7,32 \pm 0,06	7,06 \pm 0,03	6,71 \pm 0,03	5,82 \pm 0,37
azadirachtin 1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	7,27 \pm 0,01	6,93 \pm 0,07	6,83 \pm 0,24	6,10 \pm 0,02
azadirachtin 7,5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	7,35 \pm 0,15	6,90 \pm 0,03	6,99 \pm 0,12	6,02 \pm 0,03
azadirachtin 15 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	7,26 \pm 0,06	6,89 \pm 0,02	6,90 \pm 0,01	5,74 \pm 0,27

Složení mikrobiomu

Obr. č. 8 udává procentuální zastoupení jednotlivých kmenů bakterií izolovaných z biofilmu bioelementů po šesti hodinách od aplikace postřiku na bázi azadirachtinu. Jednotlivé sloupečky srovnávají obsah bakterií v kontrole a ve třech různých koncentracích pesticidu. Obsah bakterií kmene Nitrospirae sp. v kontrolním vzorku činil 16,6 %, ve skupině s koncentrací azadirachtinu 1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ byl tento kmen bakterií zastoupen 3,5 %, ve skupině s koncentrací 7,5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 3,9 % a ve skupině s nejvyšší koncentrací 15 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ jen 1,9 %. Současně se snižující se koncentrací Nitrospirae sp. vzrůstal obsah bakterií kmene Proteobacteria sp. U ostatních bakteriálních kmenů nedošlo k výrazné změně.



		Kontrola	Az. 1,5 µg·l ⁻¹	Az. 7,5 µg·l ⁻¹	Az. 15 µg·l ⁻¹
Legenda	Taxonomie	%	%	%	%
	Acidobacteria	4,7	2,9	1,3	3,4
	Actinobacteria	1,1	0,5	0,0	1,7
	Armatimonadetes	0,3	0,4	0,3	0,4
	Bacteroidetes	7,6	7,9	8,7	9,4
	Candidatus Saccharibacteria	0,4	0,5	0,5	0,7
	Candidatus Sumerlaeota	0,2	0,3	0,3	0,3
	Chloroflexi	0,1	0,2	0,1	0,0
	Chrysiogenetes	1,5	1,2	1,3	0,8
	Cyanobacteria	0,0	0,2	0,0	0,0
	Delinococcus-Thermus	0,5	0,4	0,2	0,3
	Gemmatimonadetes	3,1	3,3	2,1	2,2
	Nitrospirae	16,6	3,5	3,9	1,9
	Planctomycetes	0,1	0,0	0,0	0,0
	Proteobacteria	63,7	78,9	81,1	78,8
	Verrucomicrobia	0,0	0,0	0,0	0,0

Obr. č. 8 Procentuální zastoupení kmenů bakterií v bioelementech.

6. Diskuse

Akvaponie je systém produkce, který je postavený na dvou pilířích – chovu vodních organismů a pěstování rostlin (Tidwell, 2012). Dle moderní definice v akvaponii pochází více jak 50 % živin potřebných pro růst rostlin z metabolických procesů vodních organismů (Palm a kol., 2018). Cílem akvaponie je maximální využití odpadních živin, snížení dopadu na životní prostředí, minimalizace ztrát vody, tedy snaha o udržitelný systém s vysokými výnosy při produkci potravin (Goddek a kol., 2019).

Přední výhodou akvaponie je účelné využití živin bez vzniku odpadní vody, jedná se tedy o metodu s minimálními dopady na životní prostředí (Goddek a kol., 2019). Voda v systému je znovu využita, a proto dochází jen k minimálním ztrátám z důvodu evapotranspirace rostlin. Na místě je tedy využití v oblastech dlouhodobě trpících suchem (Somerville a kol., 2014). Akvaponie není závislá na kvalitě půdy a díky tomu, že se dá takový systém vybudovat v podstatě kdekoli, je zajištěn příjem (kvalitních) produktů blíže ke spotřebiteli (van Gorcum a kol., 2019). Díky izolovanosti systému od vnějšího prostředí je riziko kontaminantů výrazně sníženo. Do systému je vnášeno takové množství živin, které rostliny využijí (Somerville a kol., 2014). Navzdory mnoha výhodám akvaponie je komerční využití stále nízké. Jedním z důvodů je nedořešený management chorob a škůdců (Rašković a kol., 2021).

6.1. Koncentrace azadirachtinu a vliv na růst bazalky pravé

Rašković a kol. (2021) udávají, že neexistuje žádná studie o množství pesticidu končícího po aplikaci na rostliny ve vodě akvaponického systému, jen některé studie zaměřené na hydroponii se zabývají tímto problémem. Např. Hatzilazarou a kol. (2004) hodnotí obsah pesticidu ve vodě po 24 hodinách od jeho aplikace na gerbery (*Gerbera jamesonii*) v hydroponii. Hatzilazarou a kol. (2004) udávají koncentraci pesticidu po 24 hodinách od 0,5 do 18 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Na rozdíl od naší studie se ale jednalo o syntetické pesticidy (endosulfan, dikofol, tetradifon, bifenthrin, permethrin, cypermethrin, deltamethrin), které se nerozkládají tak rychle jako námi zvolená látka azadirachtin. Další podstatný rozdíl nacházíme v tom, že v naší práci, na rozdíl od Hatzilazarou a kol. (2004), byly rostliny pěstovány v raftových systémech. Pesticid při aplikaci tedy nedopadal přímo do vody, ale na polystyrenové desky. Další prací zabývající se touto problematikou

v hydroponii je publikace od Patakioutase a kol. (2007). V této práci byl také zkoumán syntetický pesticid, a to cyromazin, který byl do systému dodáván společně s živným roztokem. Aplikace proběhla 15 dní po výsadbě fazole obecné (*Phaseolus vulgaris*). Cyromazin byl nadávková ve třech koncentracích (40 mg·l⁻¹, 80 mg·l⁻¹, 120 mg·l⁻¹). Největší zaznamenaná koncentrace pesticidu ve vodě byla naměřena 8 dní od jeho aplikace a činila 17 mg·l⁻¹ až 46 mg·l⁻¹.

Nejvyšší naměřená dávka azadirachtinu ve vodě v naší studii činila 1,5 µg·l⁻¹, a to po 48 hodinách od aplikace pesticidu, poté začala koncentrace pesticidu ve vzorcích klesat. Podle tab. č. 2 znázorňující letální dávku azadirachtinu (96h LC₅₀), kterou uvádím v literární rešerši, by tedy ani nejvyšší naměřená hodnota neměla být letální pro žádnou z těchto v akvaponii běžně chovaných ryb. Důvodem výskytu nejvyšší koncentrace azadirachtinu až po 48 hodinách od jeho aplikace na rostliny může být jeho transport rostlinným pletivem. To prokázali také Pavela a kol. (2004), kteří zkoumali úmrtnost nymf mšic zelných (*Brevicoryne brassicae*) při aplikaci azadirachtinu na kořeny brukve řepky (*Brassica napus*). Úmrtnost mšic byla zaznamenána dva dny od aplikace pesticidu, což znamená, že k transportu z kořene do listu ve větším množství došlo až po dvou dnech od aplikace azadirachtinu. V našem případě šlo o opačný směr toku, tedy z listů do kořene, nicméně čas, za který byl azadirachtin transportován, byl totožný.

V této části experimentu byl také sledován vliv azadirachtinu na růst bazalky pravé (*Ocimum basilicum*), která byla pro pokus vybrána záměrně, jelikož bylinky nevyžadují velké množství živin pro svůj růst, a proto velmi dobře snáší podmínky akvaponického zemědělství (Goddek a kol., 2019). Sarawaneeyaruk a kol. (2015) ve své publikaci udávají negativní vliv azadirachtinu na růst fazole mungo (*Vigna radiata*). Rostliny ošetřené 1,25 µg·ml⁻¹ a 2,5 µg·ml⁻¹ měly oproti kontrole menší váhu kořenů a výhonků. Na rozdíl od výše zmíněné publikace udává práce Gupty a kol. (2004), že rozdíly v délce kořenů, výhonků, počtu uzlíků a hmotnosti v sušině fazole mungo byly při aplikaci azadirachtinu oproti kontrole minimální, a to i při třikrát vyšší dávce, než byla doporučována. Vliv pesticidu byl sledován od 30. do 70. dne po aplikaci pesticidu. Azadirachtin podle Gupty a kol. (2004) tedy neměl vliv na růst rostliny, což potvrzuje i naše práce, ve které byl sledován růst bazalky pravé po dobu dvou týdnů od aplikace doporučené dávky pesticidu uvedené výrobcem. Rozdílné výsledky udávané v práci Sarawaneeyaruka a kol.

(2015) jsou pravděpodobně způsobeny faktem, že na rozdíl od naší práce a Gupty a kol. (2004) byl pesticid do prostředí přidáván konstantně každý týden, a to po dobu dvou měsíců. Podle výrobce však musí být mezi jednotlivými aplikacemi pesticidu časový interval 7 až 10 dní a jeho aplikace je v tomto rozmezí povolena pouze třikrát za sebou. Koncentrace dávky aplikovaného pesticidu v práci Sarawaneeyaruka a kol. (2015) je navíc několikrát vyšší než námi aplikovaná koncentrace.

6.2. Posouzení vlivu azadirachtinu na nitrifikaci

Je známo, že aplikace pesticidů může mít stimuluující, nebo negativní účinek na nitrifikační bakterie v půdě, a tedy na nitrifikaci obecně (Ahmed a kol., 1998; Sarawaneeyaruka a kol., 2015). Studie o vlivu pesticidů na nitrifikaci v akvaponickém systému ale stále chybí. Jednou z výjimek je práce Raškoviće a kol. (2021), ve které byl azadirachtin aplikován v dávce o koncentraci $20 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Rašković ve své studii uvádí, že azadirachtin měl vliv na obě fáze nitrifikace. Na rozdíl od Raškoviće a kol. (2021) byl vliv na nitrifikaci v naší práci detekován pouze staticky rozdílnými koncentracemi amoniaku ve vzorcích s azadirachtinem oproti kontrole. Koncentrace dusitanů ve vzorcích s aplikovaným azadirachtinem ale nebyly statisticky odlišné od kontroly, což naznačuje, že druhá fáze nitrifikace nebyla ovlivněna aplikací postřiku na bázi azadirachtinu. Obsah dusičnanů ve vzorcích během celého pokusu stoupal a koncentrace v kontrolních vzorcích a vzorcích s azadirachtinem byly takřka totožné, což dokazuje, že v našich simulovaných experimentálních biofiltrech zdárně probíhala nitrifikace aplikovaného NH_4Cl . Rozdíly mezi výsledky naší práce a Raškovićem a kol. (2021) mohou být způsobeny použitím nižší koncentrace azadirachtinu. Ten byl v našem pokusu dávkován ve třech různých koncentracích. Dávka $1,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ byla použita na základě nejvyšší naměřené koncentrace azadirachtinu v první části experimentu. Další dvě použité koncentrace, $7,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $15 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, simulovaly chybu při dávkování pesticidu. Práce Raškoviće a kol. (2021) tedy operovala s koncentrací azadirachtinu o $5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ vyšší. Je tedy možné, že azadirachtin má na druhou fázi nitrifikace vliv až od vyšších koncentrací.

Během druhé fáze experimentu byly měřeny fyzikálně chemické parametry vody v experimentální jednotce (teplota, pH, nasycení kyslíkem). Saturace kyslíkem se v poslední den testu lišila od kontroly. Ostatní dny se statisticky nelišily, ale trend byl

obdobný. Jednou z příčin může být to, že aplikovaný pesticid je ve formě oleje, který pak následně vytvořil vrstvu na hladině. Vrstva na hladině mohla omezit výměnu plynů mezi vodou v experimentální nádrži a vzduchem. Toto vysvětlení je však méně pravděpodobné, neboť experimentální nádrže byly intenzivně vzduchovány. Dalším vysvětlením může být zvýšená biologická spotřeba kyslíku ve vodě s pesticidem. Tento jev byl popsán pro jiné skupiny pesticidů, například v publikaci Salles a kol. (2010), ve které byl zkoumán rozklad pesticidu fosmetu.

Vliv na nitrifikaci byl dále hodnocen na základě změn ve výskytu kmenů bakterií narostlých na bioelementech v simulovaném biofiltru. Blancheton a kol. (2013) uvádí, že azadirachtin by mohl mít nežádoucí účinky na obsah nitrifikačních bakterií v bioelementech, a to buď přímým dopadem na nitrifikační bakterie, nebo zlepšením podmínek pro jiné typy bakterií, které budou v daném prostředí více konkurenceschopné. Což potvrzují i naše výsledky, ze kterých je patrný pokles kmene bakterií *Nitrospirae* sp., jednoho z kmenů bakterií zodpovědných za proces nitrifikace (Bartelme a kol., 2017). Pokles byl zaznamenán po šesti hodinách od aplikace azadirachtinu. Obsah bakterií kmene *Nitrospirae* sp. s aplikovaným azadirachtinem byl značně nižší než obsah těchto bakterií v kontrole. Současně se snižujícím se zastoupením bakterií kmene *Nitrospirae* sp. vzrůstal obsah bakterií kmene *Proteobacteria* sp. Některé bakterie tohoto kmene jsou schopné vázat atmosférický dusík (Moulin a kol., 2001). Azadirachtin tedy snížil výskyt nitrifikačních bakterií, nicméně ne natolik, aby došlo k zastavení nitrifikace a zhroucení systému.

7. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo posouzení vlivu přírodního pesticidu na bázi azadirachtinu v akvaponickém systému. Konkrétně se jednalo o stanovení koncentrace azadirachtinu ve vodě po aplikaci v pěstební části akvaponického systému a jeho vliv na růst bazalky pravé (*Ocimum basilicum*). Dále pak posouzení vlivu azadirachtinu na proces nitrifikace a na bakterie přítomné v biofiltru akvaponického systému.

Po aplikaci azadirachtinu na bazalku pravou se nejvyšší koncentrace pesticidu v systému objevila po 48 hodinách, a to $1,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Vliv pesticidu na růst bazalky nebyl prokázán. Rozdíly mezi výškou rostlin ošetřených azadirachtinem a výškou rostlin v kontrole během dvou týdnů nebyly statisticky různé.

Vliv azadirachtinu na nitrifikaci byl posuzován na základě obsahu amoniaku, dusitanů a dusičnanů v simulovaném biofiltru. Naměřená koncentrace amoniaku ve skupinách s aplikovaným pesticidem se lišila od kontrolních skupin. Azadirachtin měl tedy vliv na první část nitrifikace. Obsah dusitanů ve skupině s aplikovaným azadirachtinem nebyl statisticky různý od obsahu dusitanů v kontrole, což naznačuje, že druhá fáze nitrifikace nebyla ovlivněna aplikací postřiku na bázi azadirachtinu. Obsah dusičnanů ve vzorcích vody během celého experimentu stoupal a k výraznému odklonu od kontroly neodešlo. Což dokazuje, že v našich simulovaných experimentálních biofiltrech zdárně probíhala nitrifikace aplikovaného NH_4Cl .

Při pozorování vlivu azadirachtinu na obsah bakterií v biofiltrech byl se stoupající koncentrací pesticidu detekován pokles bakterií kmene *Nitrospirae* sp., tedy jednoho z kmenů bakterií zodpovědných za proces nitrifikace (Bartelme a kol., 2017). Společně s poklesem *Nitrospirae* sp. byl zaznamenán zvyšující se obsah bakterií kmene *Proteobacteria* sp.

Výsledky této práce poukázaly na možnost využití přírodního pesticidu na bázi azadirachtinu v akvaponickém systému. Možnost využití pesticidů i v jednosmyčkovém systému by mohla vést k zvýšení komerčního využití akvaponie. Problémová ale zůstává otázka obsahu a složení bakterií v biofiltrech po aplikaci azadirachtinu, v budoucnu by byla potřeba dlouhodobější studie na reakci těchto bakterií v biofiltrech.

8. Přehled použité literatury

- Adler, P. R., Harper, J. K., Wade, E. M., 2000. Economic analysis of an aquaponic system for the integrated production of rainbow trout and plants. *International Journal of Recirculating Aquaculture* 1, 15-34.
- Ahmed, M. T., Ismail, S. M. M., Mabrouk, S. S., 1998. Residues of some chlorinated hydrocarbon pesticides in rain water, soil and ground water, and their influence on some soil microorganisms. *Environment International* 24, 665-670.
- Baganz, G., Baganz, D., Staaks, G., Monsees, H., Kloas, W., 2020. Profitability of multi-loop aquaponics: Year-long production data, economic scenarios and a comprehensive model case. *Aquaculture Research* 51, 2711-2724.
- Barnby, M. A., Yamasaki, R., Klocke, J. A., 1989. Biological activity of azadirachtin, three derivatives, and their ultraviolet radiation degradation products against tobacco budworm (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Journal of Economic Entomology* 82, 58-63.
- Bartelme, R. P., McLellan, S. L., Newton, R. J., 2017. Freshwater recirculating aquaculture system operations drive biofilter bacterial community shifts around a stable nitrifying consortium of ammonia-oxidizing archaea and comammox nitrospira. *Frontiers in Microbiology* 8, 1-18.
- Bezpečnostní list, 2016. NeemAzal®-T/S [online]. Trifolio-M GmbH, Dr. Hans Wilhelmi Weg 1, 356 33 Lahnau, Německo [cit. 12.3. 2021]. Dostupné na WWW: https://www.vinarskepotreby.cz/files/products_files/0/9b840106-2b12-453a-887c-f72abfd68d6e-bl_neemazal.pdf?fbclid=IwAR2hqzEwZrRZw6t6wZkZE6-orYj-2cNDcOfTvX4e8QjEbuTvRcMrLnx0T0o
- Bhat, B. A., Bhat, I. A., Vishwakarma, S., Verma, A., Saxena, G., 2012. A comparative study on the toxicity of a synthetic pesticide, dichlorvos and a neem based pesticide, neem-On to *Labeo rohita* (Hamilton). *Current World Environment* 19, 157-161.
- Bittsanszky, A., Gyulai, G., Junge, R., Schmutz, Z., Komives, T., 2016a. Plant protection in ecocycle-based agricultural systems: Aquaponics as an example. In: IPCC (Eds.), *Proceedings of the International Plant Protection Congress, Berlin, srpen, 24-27, 2015*.
- Bittsanszky, A., Uzinger, N., Gyulai, G., Mathis, A., Junge, R., Villarroel, M., Kotzen, B., Kómvives, T., 2016b. Nutrient supply of plants in aquaponic systems. *Ecocycles* 2, 17-20.
- Blancheton, J. P., Attramadala, K. J. K., Michaud, L., d'Orbecastel, E. R., Vadstein, O., 2013. Insight into bacterial population in aquaculture systems and its implication. *Aquacultural Engineering* 53, 30-39.
- Bomford, M. K., Isman, M. B., 1996. Desensitization of fifth instar *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) to azadirachtin and neem. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 81, 307-313.
- Brack, W., Dulioc, V., Ågerstranddlan, M., Allane, I., Altenburgerab, R., Brinkmannb, M., Bunkef, D., Burgessglan, R. M., Cousinsd, I., Escherah, B. I., Hernándezi, F. J., Hewittj, L. M., Hilscherová, H., Hollenderl, J., Hollertb, H., Kasem, R., Klauera, B., Lindimd, C., Vranak, B., 2017. Towards the review of the European Union Water Framework Directive:

- Recommendations for more efficient assessment and management of chemical contamination in European surface water resources. *Science of the Total Environment* 576, 720-737.
- Conijn, J. G., Bindraban, P. S., Schröder, J. J., Jongschaap, R. E. E., 2018. Can our global food system meet food demand within planetary boundaries? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 251, 244–256.
- Cordell, D., White, S., 2011. Peak phosphorus: Clarifying the key Issues of a vigorous debate about long-term phosphorus security. *Sustainability* 3, 2027-2049.
- Davoodi, R., Abdi, G., 2012. Comparative study on the acute toxicity of synthetic pesticides, Permethrin 25% and Monocrotophos 36%, and Neem-Based Pesticide, Neem Gold EC 0.03%, to Juvenile *Cyprinus carpio* Linn. *Journal of Biological and Environmental Sciences* 6, 105-108.
- Delaide, B., Delhay, G., Dermience, M., Gott, J., Soyeurt, H., Jijakli, M. H., 2017. Plant and fish production performance, nutrient mass balances, energy and water use of the PAFF box, a small-scale aquaponic system. *Aquacultural Engineering* 78, 130-139.
- Engle, C. R., 2015. Economics of aquaponics. SRAC Publication No.5006, Southern Regional Aquaculture Center, Oklahoma, 4 s.
- Flora Series, 2021. An exhaustive, concentrated and perfectly balanced formula [online]. Tripart [cit. 2021-02-21]. Dostupné na WWW: https://www.eurohydro.com/sites/default/files/flora_series_for_all_plantes.pdf
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Mueller, N. D., O'Connell, C., Ray, D. K., West, P. C., Balzer, C., Bennett, E. M., Carpenter, S. R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockström, J., Sheehan, J., Siebert, S., Tilman, D., Zaks, D. P. M., 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature* 478, 337-342.
- Folorunso, E. A., Roy, K., Gebauer, R., Bohatá, A., Mráz, J., 2021. Integrated pest and disease management in aquaponics: A metadata-based review. *Reviews in Aquaculture* 13, 971-995.
- FAO, 2009. The state of food and agriculture. United Nations, Rome, 166 s.
- FAO, 2016. Implementing aquaponic in the Gaza strip. United Nations, Rome, 2 s.
- FAO, 2017. The state of food and agriculture leveraging food systems for inclusive rural transformation. United Nations, Rome, 160 s.
- FAO, 2018. The state of food security and nutrition in the world. United Nations, Rome, 181 s.
- FAO, 2019. The state of food security and nutrition in the world. United Nations, Rome, 212 s.
- Fournier, V., Brodeur, J., 2000, Dose-response susceptibility of pest aphids (Homoptera: *Aphididae*) and their control on hydroponically grown lettuce with the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*, Azadirachtin, and insecticidal soap. *Environmental Entomology* 29, 568-578.

- Fruscella, L., Kotzen, B., Milliken, S., 2021. Organic aquaponics in the European Union: Towards sustainable farming practices in the framework of the new EU regulation. *Reviews in Aquaculture* doi.org/10.1111/raq.12539.
- Goddek, S., Delaide, B., Mankasingh, U., Ragnarsdottir, K. V., Jijakli, H., Thorarinsdottir, R., 2015. Challenges of sustainable and commercial aquaponics. *Sustainability* 7, 4199-4224.
- Goddek, S., Joyce, J., Kotzen, B., Burnell, G. M., 2019. *Aquaponics food production systems*. Springer Nature Switzerland AG., 619 s.
- Goddek, S., Keesman, K. J., 2018. The necessity of desalination technology for designing and sizing multi-loop aquaponics systems. *Desalination* 428, 76-85.
- Goddek, S., Schmutz, Z., Scott, B., Delaide, B., Keesman, K. J., Wuertz, S., Junge, R., 2016. The effect of anaerobic and aerobic fish sludge supernatant on hydroponic lettuce. *Agronomy* 6, 37.
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M., Toulmin, C., 2010. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. *Science* 327, 812-818.
- Greenberg, S. M., Adamczyk, J. J., Armstrong, J. S., 2012. Principles and practices of integrated pest management on cotton in the lower rio grande valley of Texas. In: Larramendy M. L., Soloneski S. (Eds.), *Integrated Pest Management and Pest Control*, InTech, Rijeka, pp 3-35.
- Gupta, S., Gupta, R., Sharma, S., 2014. Impact of pesticides on plant growth promotion of *Vigna radiata* and non-target microbes: Comparison between chemical-and bio-pesticides. *Ecotoxicology* 23, 1015-1021.
- Hatzilazarou, S. P., Charizopoulos, E. T., Papadopoulou-Mourkidou, E., Economou, A. S., 2004. Dissipation of three organochlorine and four pyrethroid pesticides sprayed in a greenhouse environment during hydroponic cultivation of gerbera. *Pest Management Science* 60, 1197-1204.
- Hoekstra, A. Y., Mekonnen, M. M., 2012. The water footprint of humanity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 3232-3237.
- Isman, M., Koul, O., Arnason, J., Stewart, J., Salloum, G., 1991. Developing a neem-based insecticide for Canada. *The Memoirs of the Entomological Society of Canada* 123, 39-46.
- Kiewnick, S., 2007. Practicalities of developing and registering microbial biological control agents. *CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources* 2, 13.
- Kloas, W., Groß, R., Baganz, D., Graupner, J., Monsees, H., Schmidt, U., Staaks, G., Suhl, J., Tschirner, M., Wittstock, B., Wuertz S., Zikova A., Rennert B., 2015. A new concept for aquaponic systems to improve sustainability, increase productivity, and reduce environmental impacts. *Aquaculture Environment Interactions* 7, 179-192.
- Kouřil, J., 2013. Mají šanci recirkulační systémy v chovu ryb v České republice. In: Urbánek, M. (Ed.), *Sborník referátů konference Chov ryb a kvalita vody II.*, České Budějovice, únor, 21-22, 2013, pp. 83-86.

- Kumar, A., Prasad, M., Mishra, D., Srivastav, S. K., Kumar, A., 2012. Acute toxicity of azadirachtin to a teleost, *Heteropneustes fossilis*. *Acta Scientiarum* 34, 213-216.
- Lennard, W., 2017. Commercial aquaponic systems: Integrating recirculating fish culture with hydroponic plant production. Wilson Lennard, Australia, 375 s.
- Lunda, R., Roy, K., Másilko, J., Mráz, J., 2019. Understanding nutrient throughput of operational RAS farm effluents to support semi-commercial aquaponics: Easy upgrade possible beyond controversies. *Journal of Environmental Management* 245, 255-263.
- Monsees, H., Kloas, W., Wuertz, S., 2017. Decoupled systems on trial: Eliminating bottlenecks to improve aquaponic processes. *Plos ONE* 12, e0183056.
- Mordue, A. J., Nisbet A. J., 2000. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: Its action against insects. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29, 615-632.
- Morgan, E. D., 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 17, 4096-4105.
- Moulin, L., Munive, A., Dreyfus, B., Boivin-Masson, C., 2001. Nodulation of legumes by members of the β -subclass of Proteobacteria. *Nature* 411, 948-950.
- Murussi, C. R., Menezes, C. C., Nunes, M. E. M., Araújo, M. C. S., Quadros, V. A., Rosemberg, D. B., Loro, V. L., 2016. Azadirachtin, a neem-derived biopesticide, impairs behavioral and hematological parameters in carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Toxicology* 31, 1381-1388.
- Naumann, K., Isman, M. B., 1996. Toxicity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed extracts to larval honeybees and estimation of dangers from field applications. *American Bee Journal* 136, 518-520.
- Oyoo-Okoth, E., Ngugi, C. C., Chepkirui-Boit, V., 2011. Physiological and biochemical responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to aqueous extracts of neem (*Azadirachta indica*). *Journal of Applied Aquaculture* 23, 177-186.
- Palm, H. W., Knaus, U., Appelbaum, S., Goddek, S., Strauch, S M., Vermeulen, T., Jijakli, M. H., Kotzen, B., 2018. Towards commercial aquaponics: A review of systems, designs, scales and nomenclature. *Aquaculture International* 26, 813-842.
- Patakioutas, G., Savvas, D., Matakoulis, Ch., Sakellarides, T., Albanis, T., 2007. Application and fate of cyromazine in a closed-cycle hydroponic cultivation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 9928-9935.
- Pavela, R., Barnet, M., Kocourek, F., 2004. Effect of azadirachtin applied systemically through roots of plants on the mortality, development and fecundity of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Phytoparasitica* 32, 286-294.
- Ragnarsdottir, K. V., Sverdrup, H. U., Koca, D., 2011. Challenging the planetary boundaries I: Basic principles of an integrated model for phosphorous supply dynamics and global population size. *Applied Geochemistry* 26, 303-306.
- Rakocy, J. E., Bailey, D. S., Shultz, R. C., Thoman, E. S., 2003. Update on tilapia and vegetable production in the UVI aquaponic system. *University of the Virgin Islands* 15 s.

- Tidwell, J. H., 2012. Aquaculture production systems. John Wiley and Sons, New Delhi, 415 s.
- Rašković, B., Dvořák, P., Mráz, J., 2021. Effects of biodegradable insecticides on biofilter bacteria: Implications for aquaponics. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 21, 169-177.
- Reddy, P. P., 2016. Grafted vegetables for management of soilborne pathogens. In: Reddy, P. P., (Eds.), *Sustainable crop protection under protected cultivation*. Springer, Singapore, pp 83-97.
- Salles, N. A., Fourcade, F., Geneste, F., Floner, D., Amrane, A., 2010. Relevance of an electrochemical process prior to a biological treatment for the removal of an organophosphorous pesticide, phosmet. *Journal of Hazardous Materials* 181, 617-623.
- Sarawaneeyaruk, S., Krajangsang, S., Pringsulaka, O., 2015. The effects of neem extract and azadirachtin on soil microorganisms. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15, 1071-1083.
- Schmautz, Z., Graber, A., Jaenicke, S., Goesman, A., Junge, R., Smits, T. H. M., 2017. Microbial diversity in different compartments of an aquaponics system. *Archives of Microbiology* 199, 613-620.
- Schnelle, M., Rebek, E., 2013. *Integrated Pest Management in Commercial Greenhouses: An overview of principles and practices*. Oklahoma Cooperative Extension Service HLA-6710, 8 s.
- Larramendy, M., Soloneski, S., 2012. *Integrated pest management and pest control*, InTech, Rijeka, 589 s.
- Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A., Lovatelli, A., 2014. *Small-scale aquaponic food production – Integrated fish and plant farming*. FAO, Rome, 262 s.
- Stein, D., 2006. Five steps of IPDM help reduce pesticide use. *Journal of Pesticide Reform* 26, 1.
- Stouvenakers, G., Dapprich, P., Massart, S., Jijakli, M. H., 2019. Plant pathogens and control strategies in aquaponics. In: Goddek, S., Joyce, A., Kotzen, B., Burnell, G. M. (Eds.) *Aquaponics Food Production Systems: Combined Aquaculture and Hydroponic Production Technologies for the Future*. Springer International Publishing, Switzerland, pp 353-378.
- Stouvenakers, G., Sébastien, M., Haissam, J. M., 2017. Biocontrol properties of recirculating aquaculture water against hydroponic root pathogens. Oral presentation at Aquaculture Europe 2017 meeting, Dubrovnik, October 17-20 2017, Croatia.
- Suciu, N., Vasileiadis, S., Puglisi, E., Pertile, G., Tourna, M., Karas, P.A., Papolla, A., Ferrarini, F., Sulowic, A., Fornasier, S., Lucini, L., Karpouzias, D. G., Trevisan, M., 2019. Azadirachtin and trifloxystrobin had no inhibitory effects on key soil microbial functions even at high dose rates. *Applied Soil Ecology* 137, 29-38.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Kroupová, H., 2008. Otravy ryb. In: Svobodová, Z. (Ed.), *Veterinární toxikologie v klinické praxi*, Profi Press, pp 201-217.
- Šimek, M., 2003. *Základy nauky o půdě*. Jihočeská univerzita, České Budějovice, 131 s.

- Valentová, O., Máchová, J., Kocour Kroupová, H., 2013. Základy hydrochemie návody pro laboratorní cvičení. Fakulta rybářství a ochrany vod, České Budějovice, 123 s.
- van Gorcum, B., Goddek, S., Keesman, K. J., 2019. Gaining market insights for aquaponically produced vegetables in Kenya. *Aquaculture International* 27, 1231-1237.
- Van Vuuren, D. P., Bouwman, A. F., Beusen, A. H. W., 2010. Phosphorus demand for the 1970–2100 period: A scenario analysis of resource depletion. *Global Environmental Change* 20, 428-439.
- Wan, M. T., Watts, R. G., Isman, M. B., Strub, R., 1996. An evaluation of the acute toxicity to juvenile Pacific northwest salmon of azadirachtin, neem extract and neem-based products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 56, 432-439.
- Zanuncio, J. C., Mourão, S. A., Martínez, L. C., Wilcken, C. F., Ramalho, F. S., Plata-Rueda, A., Soares, M. A., Serrão, J. E., 2016. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: *Pentatomidae*). *Scientific Reports* 6, 30261.

9. Abstrakt

Tato bakalářská práce posuzuje vliv pesticidu na bázi azadirachtinu v akvaponickém systému. Experiment byl tvořen dvěma částmi, v první části byla zkoumána koncentrace azadirachtinu ve vodě po aplikaci v pěstební části akvaponického systému a jeho vliv na růst bazalky pravé (*Ocimum basilicum*). V druhé části byl pozorován vliv azadirachtinu na proces nitrifikace a na bakterie přítomné v biofiltru akvaponického systému. Koncentrace pesticidu po aplikaci na bazalku byla měřena po dobu 72 hodin, nejvyšší naměřená koncentrace byla zjištěna ve 48. hodině a činila $1,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Výška rostlin byla měřena dva týdny a nebyl zjištěn statistický rozdíl mezi rostlinami ošetřenými azadirachtinem a kontrolou. Vliv azadirachtinu na nitrifikaci byl posuzován na základě obsahu amoniaku, dusitanů a dusičnanů v systému. Stanovení probíhalo dvakrát denně po dobu čtyř dní. Azadirachtin byl aplikován ve třech různých koncentracích, a to $1,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, $7,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, $15 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ve třech opakováních. Obsah amoniaku ve vzorcích s pesticidem se lišil od obsahu amoniaku v kontrole. Obsah dusitanů a dusičnanů se zásadně nelišil od kontrolních vzorků ani u nejvyšší koncentrace azadirachtinu. Azadirachtin měl tedy vliv jen na první fázi nitrifikace. Obsah kmenů bakterií v biofiltru byl zkoumán po 6 hodinách od aplikace pesticidu. Při pozorování vlivu azadirachtinu na obsah bakterií v biofiltrech byl se stoupající koncentrací pesticidu detekován pokles bakterií kmene *Nitrospirae* sp. Společně s poklesem *Nitrospirae* sp. byl zaznamenán zvyšující se obsah bakterií kmene *Proteobacteria* sp. Výsledky práce prokazují možnost použití pesticidu azadirachtinu v akvaponickém systému. Pro důkladnější zhodnocení vlivu azadirachtinu na biofiltr by však byla potřeba dlouhodobější studie.

Klíčová slova: akvaponie, azadirachtin, bakterie, bazalka pravá, biofiltr, nitrifikace, pesticidy

10. Abstract

This Bachelor's thesis assessed the effect of azadirachtin-based pesticides in an aquaponic system. The experiment consisted of two parts, the first part examined the concentration of azadirachtin in water after its application in the growing part of the aquaponic system and its effect on the growth of basil (*Ocimum basilicum*). In the second part, the effect of azadirachtin on the nitrification process and on the bacteria present in the biofilter of the aquaponic system was studied. The concentration of pesticides after application to basil was measured for 72 hours, the highest measured concentration of $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ was observed after 48 hours. Plant height was measured for two weeks and no statistical difference was observed between azadirachtin-treated and control plants. The effect of azadirachtin on nitrification was assessed based on the ammonia, nitrite, and nitrate contents of the system. The assay was performed twice daily for four days. Azadirachtin was applied in three different concentrations, $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, $7.5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, and $15 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, in triplicate. The ammonia content of the pesticide samples differed from the ammonia content of the control. The content of nitrites and nitrates did not differ significantly from the control samples even at the highest concentration of azadirachtin. Azadirachtin therefore only affected the first phase of nitrification. The content of bacterial strains in the biofilter was examined 6 hours after pesticide application. When observing the effect of azadirachtin on the bacterial content of biofilters, with the rising concentration of pesticide a decrease in the bacteria of the phylum Nitrospirae sp. was detected. Together with the decrease of Nitrospirae sp. an increasing content of bacteria of the phylum Proteobacteria sp. was detected. The results of the thesis demonstrate the possibility of using the pesticide azadirachtin in the aquaponic system. Longer-term studies would though be needed to further evaluate the effect of azadirachtin on the biofilter.

Key words: aquaponics, azadirachtin, bacteria, basil, biofilter, nitrification, pesticides