



Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Efektivita nanobublin ozonu proti padlí tykvovitých v akvaponických systémech

R. Gebauer, A.E. Folorunso, J. Mráz, M. Ševc,
V. Stejskal, T. Gebauer





Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Efektivita nanobublin ozonu proti padlí tykvovitých v akvaponických systémech

R. Gebauer, A.E. Folorunso, J. Mráz, M. Ševc, V. Stejskal,
T. Gebauer

Vodňany, 2024



Tato technologie byla vytvořena v rámci projektu "Nanobubliny jako účinný prostředek pro aplikaci ozónu a kyslíku v akvakultuře" (TAČR TM02000037) se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci Programu Delta 2.



č. 205

ISBN 978-80-7514-199-6

OBSAH

1.	Úvod do problematiky	7
1.1.	Princip akvaponie	7
1.2.	Management škůdců a chorob v akvaponii	8
1.3.	Ozon a technologie nanobublin	11
2.	Cíle	15
3.	Místa ověřování technologie	15
4.	Popis technologie a výsledky	16
4.1.	Experiment 1 – Produkce nanobublin, koncentrace ozonu	16
4.1.1.	Technologický postup	16
4.1.2.	Výsledky	18
4.2.	Experiment 2 – Vliv nanobublin ozonu na padlí tykvovitých <i>in vitro</i>	21
4.2.1.	Technologický postup	21
4.2.2.	Výsledky	23
4.3.	Experiment 3 – Vliv nanobublin NB ozonu na růst a sklizeň okurky seté v akvaponii	26
4.3.1.	Technologický postup	26
4.3.2.	Výsledky	32
5.	Ekonomický přínos technologie	32
6.	Uplatnění technologie v praxi	35
7.	Seznam literatury	36
8.	Poděkování	39

1. Úvod do problematiky

1.1. Princip akvaponie

Akvakultura, řízený chov ryb, měkkýšů a vodních rostlin, je již několik dekád stabilně označována jako nejrychleji rostoucí sektor produkce potravin (FAO, 2022). Akvakultura poskytuje dieteticky vyváženou výživu miliardám lidí a zároveň obživu milionům z nich (Short a kol., 2021). V minulých letech došlo k významnému milníku, kdy produkce akvakultury překonala produkci lovného rybářství, které již několik dekád stagnuje. To dokazuje, že produkce ryb, měkkýšů a vodních rostlin odlovem je na efektivním maximu a další růst konzumace mořských plodů, který bude odrážet nárůst populace, bude muset pocházet výhradně z akvakultury (FAO, 2022). Tak optimistický výhled však neplatí pro sektor akvakultury v EU, který stagnuje (FAO, 2022), neboť bylo toto odvětví konfrontováno různými vzájemně propojenými problémy, které do značné míry ovlivnily jeho růst, a to navzdory opakovaným politickým iniciativám k nastartování produkce akvakultury v EU (Nielsen a kol., 2016). Růst evropské akvakultury brzdí nedostatek vhodných lokalit, omezená dostupnost vody (Badiola a kol., 2012) a v neposlední řadě také přísná environmentální regulace a byrokracie (Nielsen a kol., 2016). Z těchto důvodů byly v posledních desetiletích implementovány intenzivní a efektivní koncepty zajišťující environmentální, ekonomickou a sociální udržitelnost, jako jsou např. recirkulační akvakulturní systémy (RAS; Martins a kol., 2010), multitrofické systémy (Nederlof a kol., 2022) a další inovativní potravinové systémy, které mají za cíl implementovat evropské strategie. Např. zlepšit účinnost zdrojů a minimalizovat ekologickou stopu prostřednictvím přístupu založeného na cirkulárním hospodářství (Colombo a Turchini, 2021).

Typickým příkladem takové cirkulární produkce potravin je akvaponie (Goddek a kol., 2019), která kombinuje intenzivní akvakulturu (převážně chov ryb v RAS; Baganz et al., 2022) a hydroponickou produkci rostlin (tedy produkci bez využití půdy jako substrátu), kde odpad z chovu ryb slouží jako zdroj živin pro rostliny (Lunda a kol., 2019), a současně rostliny odčerpávají živiny, a tak čistí odpadní vodu od ryb, která může být znovu využita. Tím dochází ke snížení produkce znečištění ve srovnání s konvenčními farmami využívajícími lineárního přístupu (Goddek a kol., 2019). Integrovaným komponentem akvaponických systémů jsou mikroorganismy, které transformují látky vzniklé při metabolismu ryb na živiny dostupné pro rostliny. Kromě zpřístupnění živin slouží mikrobiální oživení také jako růstový promotor, kdy některé rostliny v akvaponických systémech vykazují rychlejší růst ve srovnání s rostlinami v hydroponii (Delaide a kol., 2016; Monsees a kol., 2019). Poslední experimenty také naznačují, že

mikrobiální oživení má pozitivní vliv na zvládání abiotických stresů u rostlin způsobených např. vysokými teplotami v létě (nepublikovaná data). Mikrobiální oživení je tedy integrální součástí akvaponie, bez něhož by tento produkční ekosystém nemohl fungovat. Zároveň je toto oživení velice náchylné ať už na náhlé změny kvality vody, tak na přítomnost polutantů, jakými mohou být například pesticidy aplikované na ochranu rostlin před škůdci a patogeny způsobujícími onemocnění rostlin.

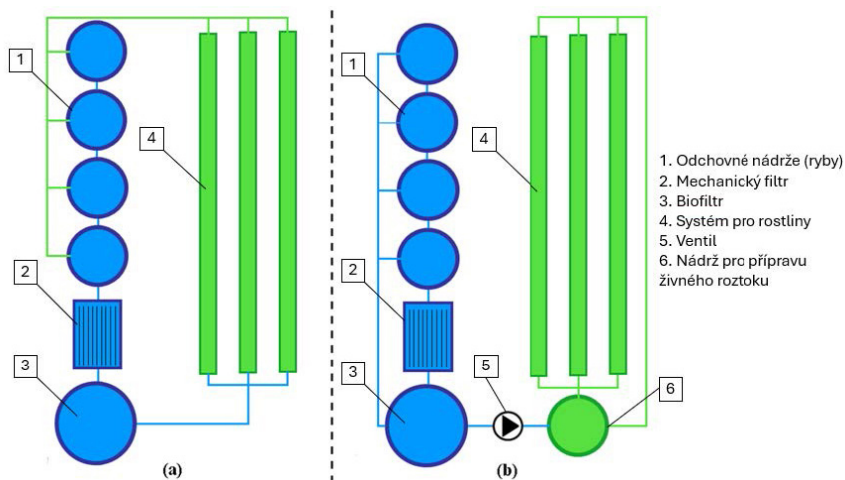
Napadení rostlin škůdci a výskyt chorob na polích, ve sklenících nebo v hydroponii jsou téměř nevyhnutelné. Ve sklenících lze optimalizovat podmínky pro růst rostlin, zároveň díky těmto stabilním mikroklimatickým podmínkám poskytovaným rostlinám jsou zajištěny i vhodné podmínky pro škůdce a původce onemocnění rostlin.

Zavlečení škůdce nebo původce onemocnění rostlin do akvaponického systému tak může vést k rapidnímu rozsáhlému poškození a zamoření plodin. Při jakémkoliv ošetření rostlin je velice důležité zvážit, který přípravek lze použít, aby nedošlo k narušení společenstva mikroorganismů akvaponického systému a následnému kolapsu (Folorunso a kol., 2021). Ochrana rostlin proti škůdcům a původcům onemocnění rostlin v akvaponii tedy vyžaduje specifické přístupy, které vycházejí z konceptu integrované ochrany rostlin.

1.2. Management škůdců a chorob v akvaponii

Integrovaná ochrana rostlin (IOR) je kombinací environmentálně, toxikologicky, hygienicky a ekonomicky udržitelných zemědělských postupů, které zabráňují poškození rostlin škodlivými činiteli především pomocí přirozených metod omezujících růst populace škůdců a rozvoj chorob (Van Lenteren a Nicot, 2020). IOR zahrnuje různé metody ochrany pro regulaci škůdců a původců onemocnění rostlin, jejichž cílem je snížit populaci škůdců pod práh ekonomické škodlivosti. Pro regulaci škodlivých činitelů zahrnují metody ochrany rostlin agrotechnické, biologické, mechanické a fyzikální, genetické a chemické přístupy, které by měly být použity jako poslední možnost. Důležitým krokem v ochraně rostlin je monitoring škodlivých činitelů a na jeho základě jsou vybírány a kombinovány metody ochrany. Při monitoringu je důležité nejen určit škůdce, který se v systému vyskytuje, ale zároveň i jeho četnost a zaznamenat jaká vývojová stadia se konkrétně v porostu vyskytují, a to zejména ve sklenících, protože na základě tohoto zjištění je volen vhodný druh parazitoida nebo predátora k regulaci škůdce. V rámci IOR je potřeba vyvíjet nové alternativní metody a postupy, sledovat a vyhodnocovat interakce mezi použitými metodami a zároveň se řídit novými poznatky v oboru (Van Lenteren a Nicot, 2020).

Pro správné nastavení IOR v akvaponii je nutné znát design systémů. Existují dva základní typy akvaponických systémů. V jednosmyčkových akvaponických systémech je voda recirkulována mezi akvakulturní a hydroponickou jednotou. Na druhou stranu, ve dvou a vícesmyčkových systémech jsou akvakulturní a hydroponické jednotky odděleny jednocestným ventilem a voda s živinami je dávkována do hydroponické jednotky dle potřeb rostlin. Veškerá odpadní voda od ryb je pak při správném nastavení systému využita rostlinami, popř. lze vodu znovu využít v akvakulturní jednotce pomocí různých technologií, jako např. kondenzace (Kloas a kol., 2015), popř. destilace nebo reverzní osmóza (Goddek a Keesman, 2018). Dvousmyčkový design má několik výhod včetně zvýšení intenzity produkce systému tím, že umožňuje udržovat optimální podmínky zvláště pro ryby, mikroorganismy a rostliny (Kloas a kol., 2015) a možnosti aplikovat pesticidy, které by v jednosmyčkovém systému mohly narušit společenstvo mikroorganismů (v případě, že voda nejde zpět k rybám). Stále je však nutné dbát zvýšené opatrnosti např. z důvodu křížové kontaminace, nesprávného použití pesticidu aj. Schématické znázornění jedno a dvousmyčkového systému je znázorněno na Obr. 1.



Obr. 1. Schématické znázornění jedno (a) a dvousmyčkového (b) akvaponického systému (Monsees a kol., 2017).

Folorunso a kol. (2021) ve své meta-analýze potvrdili, že preventivní opatření, správné hygienické postupy, fyzické bariéry a podmínky prostředí (např. manipulace s teplotou, popř. úprava relativní vzdušné vlhkosti) nemají žádný negativní vliv na akvaponické systémy. Na druhou stranu, chemické

metody ochrany rostlin jsou velmi komplikované pro oba typy systémů. Insekticidy a herbicidy jsou v akvaponii plně nahraditelné, a to vhodně zvolenou formou a načasováním aplikace biologické kontroly skleníkových škůdců, tedy přirozených predátorů a parazitoidů. Na druhou stranu, fungicidy a nematocidy mají stále své uplatnění v akvaponii kvůli nízkým úrovním účinnosti alternativních metod IOR.

Nejčastější choroba vyskytující se ve sklenících je padlí. Padlí je celosvětově rozšířená choroba rostlin, kterou způsobuje široká škála specifických patogenů napadajících okrasné květiny, kulturní plodiny a různé druhy zelenin. Každoročně padlí způsobuje velké ekonomické ztráty na polích a zejména pak ve sklenících. Rychlá infestace padlím v produkčních sklenících je obecně způsobena vhodnými klimatickými podmínkami (teplota, vlhkost) a vysokou hustotou rostlin (Yang a kol., 2023). V reakci na časté propuknutí choroby se každoročně používá značné množství fungicidů ke zmírnění tohoto onemocnění, což přispívá k rozvoji rezistence patogenů vůči použitým účinným látkám. Kromě toho má používání nejen fungicidů, ale i obecně pesticidů škodlivé účinky na životní prostředí a jejich rezidua v plodinách nebo v zelenině jsou pro člověka škodlivá (Folorunso a kol., 2022).

V rámci hledání vhodné biologické kontroly proti padlí tykvovitých (*Podosphaera xanthii*) prokázali Folorunso a kol. (2022) signifikantní snížení infestace tímto patogenem po ošetření listů okurky seté entomopatogenními a mykoparazitickými houbami. Všechny tři použité druhy hub, a to *Lecanicillium attenuatum*, *Paecilomyces fumosoroseus* a *Gliocladium virens* účinně regulovaly padlí. Náhodný úlet nebo stékání suspenze kmenů hub do akvaponického systému během aplikace na list by nemělo představovat významný problém, protože přežívání hub v akvaponické vodě nebylo prokázáno (Folorunso a kol., 2022). V další studii Folorunso a kol. (2024) zkoumali rizika spojená s používáním biologické kontroly a přírodních a syntetických fungicidů v akvaponii a prokázali, že při listové aplikaci hřebíčkového oleje (eugenol), lecitinu a tebukonazolu v doporučených dávkách byly tyto látky detekovány v akvaponické vodě v koncentracích 0,3 %, 2,3 %, resp. 0,3–0,8 % z původní aplikované koncentrace. Tebukonazol ani hřebíčkový olej nevykazovaly významné negativní účinky na procesy nitrifikace během 96hodinové expoziční doby, zatímco lecitin zvýšil hladinu amoniaku a dusitanů (Folorunso a kol., 2024). Co se týče vlivu na ryby samotné, tak skupina exponovaná tebukonazolu vykazovala významný vliv na antioxidační, hematologické (hematokrit, hemoglobin, červené krvinky, MCH) a biochemické (celkový protein, albumin, globulin) parametry. Hřebíčkový olej nevykazoval žádné významné účinky na zdravotní stav ryb, což naznačuje jeho bezproblémové využití ve všech akvaponických systémech. Vzhledem k účinkům lecitinu a tebukonazolu na biofiltr a ryby by mělo

být využití omezeno pouze na dvousmyčkové akvaponické systémy. Ochrana rostlin proti houbovým onemocněním v akvaponii je tedy stále aktuální téma a je nutné hledat další účinné prostředky. Jednou z možností může být použití ozonu.

1.3. Ozon a technologie nanobublin

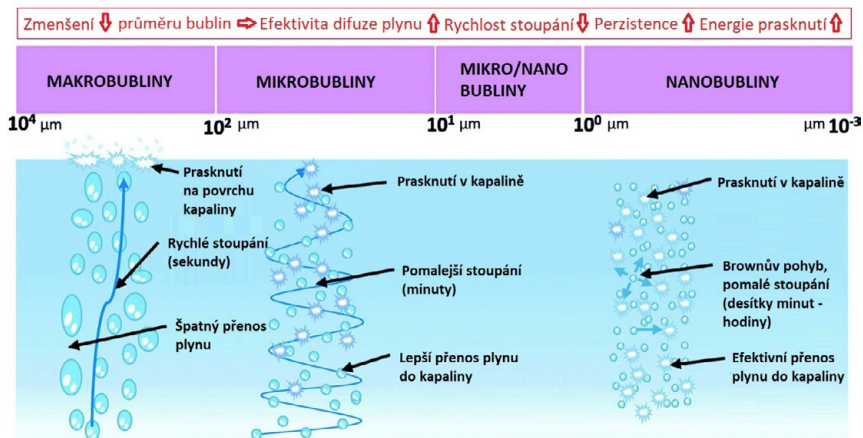
Ozon (O_3) je známá oxidační látka, která vykazuje významný potenciál pro dezinfekci prostředí a inaktivaci mikrobů. Běžně se používá k dezinfekci pitné vody a průmyslových odpadních vod (Fujiwara a Fujii, 2002). Jeho účinnost je však širší a je účinný v potlačení širokého spektra mikrobů, ať už je aplikován v plynném nebo vodném stavu (He a kol., 2015). Ozon může být tedy využit jako alternativa k chemické ochraně pěstovaných plodin. Díky své omezené perzistenci nezanedává zbytky na ošetřených plodinách, zejména na listech. Kromě toho neexistují žádné zprávy o rezistenci patogenů vůči ozónu (Fujiwara a Fujii, 2002; Guzel-Seydim a kol., 2004). V posledních letech se proto objevily četné studie o použití ozonu pro kontrolu rostlinných patogenů. Fujiwara a Fujii (2002) ve 14denním experimentu zkoumali účinnost roztoku s ozonem aplikovaného postřikem na listy okurek infikovaných padlím. Autoři zjistili, že aplikace ozonizované vody (ozonu rozpuštěného ve vodě) během experimentu nezpůsobila žádné fyziologické změny na listech nebo plodech. Ve studii *in vitro* Guo a kol. (2019) ošetřili kultury fytopatogenní bakterie *Ralstonia solanacearum* a fytopatogenní houby černá lilkové (*Alternaria solani*) různými koncentracemi ozonu rozpuštěného v roztoku. Autoři uvedli, že ošetření ozonizovaným roztokem o koncentraci $0,8 \text{ mg.l}^{-1}$ vedlo k úplné inaktivaci bakterie *R. solanacearum*. Postupný nárůst koncentrace ozonu v roztoku inhiboval radiální růst mycelia *A. solani*. Při koncentraci $7,5 \text{ mg.l}^{-1}$ došlo k 67% inhibici růstu mycelia ve srovnání s kontrolní variantou. V další studii provedené na hydroponických substrátech Graham a kol. (2011) opakovaně aplikovali roztoky s různými koncentracemi ozonu ($0, 2, 4, 6 \text{ mg.l}^{-1}$) na substrát minerální vlny hydroponicky pěstovaných rostlin rajčat a okurek inokulovaných patogenem *Pythium aphanidermatum*. Autoři zaznamenali významné snížení výskytu onemocnění u rostlin, zatímco produktivita rostlin a výživová kvalita plodů zůstaly nezměněny. Z vyplývajících výsledků je zřejmé, že ozon může být efektivním prostředkem v boji proti padlí. Je však nutné zmínit také nevýhody použití ozonu.

Nevýhodami použití ozonu jsou: silné korozivní účinky na měkké plasty (těsnění, membrány atd.) a kovové součásti (vyjma kvalitních nerez materiálů), náklady na pořízení ozonizátoru a spotřeba elektrické energie, dále i riziko pro lidi při úniku tohoto nebezpečného plynu do ovzduší v uzavřeném prostoru

(Stejskal a kol., 2018) a jeho nízká rozpustnost a špatná stabilita (He a kol., 2015; Thanh Dien a kol., 2021). Rozpuštěný ozon může například rychle difundovat z vody do okolního vzduchu buď během aplikace nebo i před samotnou aplikací. Kromě toho může být účinnost ozonu ovlivněna také faktory okolního prostředí, jako je relativní vzdušná vlhkost a teplota (Ono a kol., 2014). Je také známo, že ozon má fytotoxické vlastnosti, a proto jeho přímé použití vyžaduje opatrnost, aby nedošlo k poškození rostlin (Graham a kol., 2009). Je tedy nezbytné optimalizovat ozonizovanou vodu zlepšením její stability na listech a rozpustnosti pro dosažení lepších výsledků v ochraně rostlin.

Nedávné studie ukázaly, že účinnost ozonu lze optimalizovat pomocí nanobublin (NB). NB jsou bubliny o průměru menším než 1 μm s neutrálním vztakem, který jim umožňuje dlouhou dobu setrvání ve vodě (Obr. 2). Zatímco běžné bubliny rychle (v řádu vteřin až minut) stoupají k povrchu kapaliny, NB různých plynů jsou stabilní i po dobu několika hodin až dnů. Vysoký poměr specifického povrchu NB vůči objemu a vysoký vnitřní tlak usnadňují proces přenosu plynu v kapalině, čímž zrychlují míru potenciálních chemických reakcí a s tím související efektivitu dezinfekce (Gurung a kol., 2016; Linh a kol., 2022). Difuze plynu z NB do kapaliny je tak mnohem efektivnější a zároveň je prodloužen reakční čas (Temesgen a kol., 2017). To naznačuje lepší manipulaci s roztokem, zajištění stability během postřiku a možnosti prodlouženého účinku proti rostlinným patogenům. Další atributy NB zahrnují vysoký poměr plochy povrchu k objemu, podstatný negativní zeta potenciál a schopnost generovat radikály (Takahashi a kol., 2021; Jia a kol., 2023). Dle studie Fan a kol. (2021) vykazují kyslíkové a ozonové NB 1,5- a 4,5krát vyšší účinnost přenosu plynu než makrobubliny. Podobný výsledek byl získán ve studii Kim a kol. (2021), kde autoři uvedli, že poločas rozpadu NB ozonu byl 23krát delší než poločas rozpadu ozonových makrobublin. Zároveň bylo také zjištěno *in vitro*, že již pětiminutová expozice bakterií v roztoku NB ozonu vede k eliminaci více než 99 % těchto bakterií (Dien a kol., 2022).

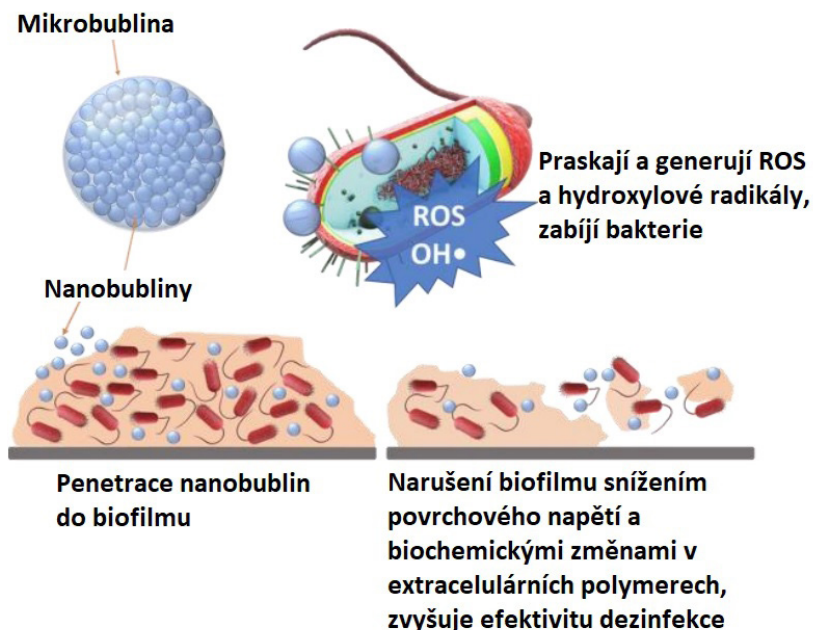
EFEKTIVITA NANOBUBLIN OZONU PROTI PADLÍ TYKVOVITÝCH V AKVAPONICKÝCH SYSTÉMECH



Obr. 2. Vlastnosti makro-, mikro- a nanobublin (upraveno dle Seridou a Kolagerakis, 2021).

Tyto specifikace a vlastnosti jim umožňují účastnit se různých fyzikálních, chemických a biologických procesů, a NB různých plynů tak mohou být úspěšně aplikovány v mnoha odvětvích, např. k čištění odpadních vod, ke zlepšení růstu rostlin, čištění membrán, v lékařství, potravinářském, automobilovém a stavebním průmyslu (Seki a kol., 2017; Seridou a Kolagerakis, 2021; Zhou a kol., 2021). Díky silné oxidační schopnosti NB ozonu lze tuto technologii využít např. pro sanaci antibiotik v odpadních vodách, eliminaci odolných mikropolutantů ve vodním prostředí a oxidaci léčiv v pitné vodě, tzv. pokročilé oxidační procesy (z angl. advanced oxidation processes – AOP) (Fan a kol., 2021). NB ozonu se zdají být také velmi účinné při redukci širokého spektra patogenů včetně těch rostlinných (Obr. 3). Recentní studie v oboru rostlinné fytopatologie využívají ozonové NB ke zlepšení uvolňování a stability ozonu na listech k potlačení různých rostlinných fytopatogenů. Tamaki a kol. (2018) zkoumali rozdíl v dezinfekční účinnosti ozonových mikrobublin a ozonových milibublin proti sporám fytopatogenní houby srpovničky špičatovýtrusé (*Fusarium oxysporum*). Autoři zjistili, že dezinfekční účinnost ozonových mikrobublin byla vyšší než u milibublin ozonu. Bylo však zjištěno, že jak ozonové mikrobubliny, tak i milibubliny způsobují morfologické změny houby *F. oxysporum*. He a kol. (2015) zdůraznili účinnost integrace technik mikro-/nanobublin s dezinfekcí ozonem za účelem posouzení proveditelnosti kontroly nebo potlačení fytopatogenů rajčat *Alternaria solani* a *Mycovellosiella fulva*, v podmínkách *in vitro*. Autoři uvedli, že při koncentraci rozpuštěného ozonu $1,6 \text{ mg.l}^{-1}$ byla pozorována redukce klíčivosti spor hodnocené pomocí CFU

(kolonie tvořící jednotky) u druhu *A. solani* o $1 \times 10^{5.2}$ na $1 \times 10^{3.3}$. Podobně došlo ke snížení počtu CFU u druhu *C. fulvum* z 1×10^5 na $1 \times 10^{3.7}$ při použité koncentraci $1,8 \text{ mg.l}^{-1}$. Podobný výsledek také uvedl Kwack a kol. (2014), kteří ošetřili semena vojtěšky ozonovou vodou nebo roztokem s mikro/nanobublinami ozonu proti koloniím *E. coli* a *Salmonella* spp. Studie prokázala významný vliv NB nebo nanobublin při optimalizaci koncentrace ozonu ke snížení inokula obou patogenů. V současnosti však neexistují žádné studie o použití ozonových NB proti patogenům způsobujících onemocnění padlí. To způsobuje mezeru ve znalostech týkajících se účinnosti NB ozonu pro regulaci inokula a šíření padlí na rostlinách, technických mechanismů využití této oxidační látky, vlivu okolních podmínek prostředí na její účinnost a nejistých účinků na výnos plodin.



Obr. 3. Mechanismus vlivu nanobublin na patogenní organismy. ROS – reaktivní kyslíkové radikály (upraveno dle Ovissipour, 2021).

2. Cíle

Cílem předložené technologie je prezentovat otestovaný postup a účinnost NB ozonu proti houbovým původcům onemocnění rostlin v akvaponii a jejich vlivu na růst a vývoj rostlin okurky seté a na výnos plodů. Jako modelový patogen bylo vybráno padlí tykvovitých (*Podosphaera xanthii*). V prvním experimentu byla prokázána přítomnost NB ozonu a jejich koncentrace v roztoku. Následně byla testována efektivita různých koncentrací NB ozonu proti padlí ve třech různých relativních vzdušných vlhkostech vzduchu. Poté byly různé koncentrace NB ozonu aplikovány na rostliny okurky seté v akvaponickém systému, kde byl sledován jeho vliv na růst rostlin a výnos plodů.

3. Místa ověřování technologie

Ověřování technologie bylo realizováno na dvou pracovištích. Testování produkce a koncentrace NB ozonu a *in vitro* testy bylo uskutečněno v experimentálních prostorech Ústavu akvakultury a ochrany vod v Českých Budějovicích (Obr. 4), zatímco experimenty související s růstem a výnosem okurek byly realizovány v Akvaponické hale Fakulty rybářství a ochrany vod, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.



Obr. 4. Testování produkce a koncentrace NB ozonu bylo uskutečněno v experimentálních prostorech Ústavu akvakultury a ochrany vod v Českých Budějovicích (vlevo nahoře je generátor nanobublin, vpravo dole koncentrátor kyslíku a generátor ozónu) (Foto M. Dvořáková Prokešová).

4. Popis technologie a výsledky

4.1. Experiment 1 – Produkce nanobublin, koncentrace ozonu

4.1.1. Technologický postup

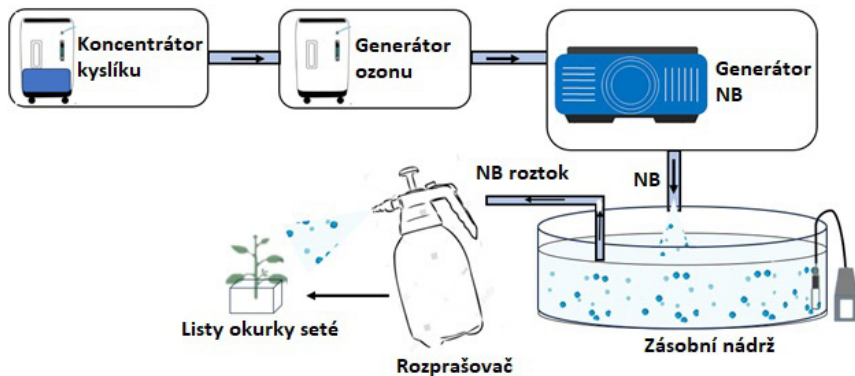
Kyslík z koncentrátoru (OX-5A, Oxytek Medical Technology Co. Ltd., Čína) byl přiveden do generátoru ozónu v množství $2 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$. Z generátoru ozonu (Annihilator OT10, Ozontech, s.r.o., Česká republika) o výkonu $10 \text{ g O}_3 \cdot \text{h}^{-1}$ byl následně ozon zaveden do generátoru NB (Obr. 5; aQua+ 075, AquaPro Solutions Pte. Ltd., Singapur).



Obr. 5. Generátor nanobublin aQua+ 075, AquaPro Solutions Pte. Ltd., Singapur (foto www.aquapro-solutions.com).

Generátor NB s integrovaným vodním čerpadlem pak recirkuloval odstátou kohoutkovou vodu v zásobní kruhové nádrži (100l objem vody), čímž obohatil vodu o NB ozonu, popř. NB kyslíku (generátor ozonu byl v tomto nastavení vyřazen). Takto sestavená konfigurace (Obr. 6) byla v provozu 20 minut (NB kyslíku), popř. do dosažení $\approx 2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ozonu (NB ozonu). Koncentrace ozonu byla měřena spektrofotometricky (LCK310, DR2800, Hach Lange, USA) každé 3 minuty. Zároveň byly měřeny další parametry vody (saturace O_2 , t, pH, ORP) pomocí přenosné multiparametrové sondy (HI9849, Hanna Instruments, Rumunsko). Parametry jsou prezentovány v Tab. 1. S ohledem na možné riziko úniku toxického O_3 do vzduchu byla měřena jeho koncentrace pomocí přenosného detektoru (Weihai JXCT Electronic Technology Co., Ltd., Čína). Během experimentů byla koncentrace vždy v bezpečném rozmezí pro obsluhu.

EFEKTIVITA NANOBUBLIN OZONU PROTI PADLÍ TYKVOVITÝCH V AKVAPONICKÝCH SYSTÉMECH

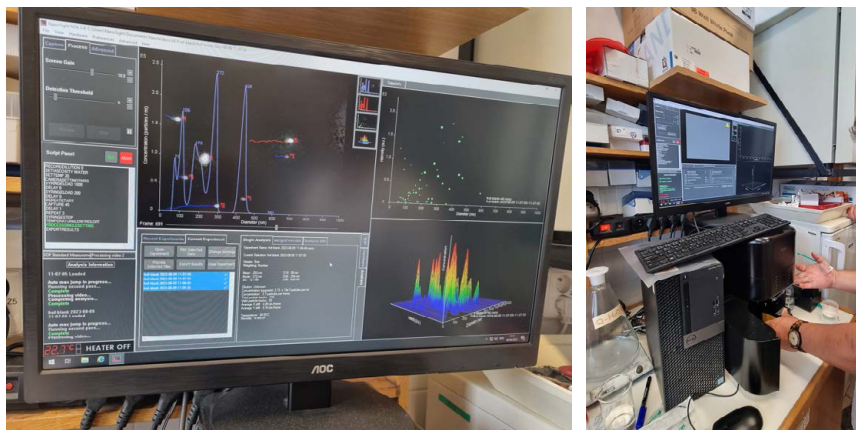


Obr. 6. Schéma zapojení sestavy zařízení pro produkci NB. Při produkci NB kyslíku byl kyslík přiváděn rovnou do generátoru NB.

Tab. 1. Parametry roztoku s nanobublinami kyslíku (O_2 NB) a ozonu (O_3 NB), koncentrace rozpuštěného ozonu (O_3 ; $mg.l^{-1}$), pH, ORP (mV), saturace kyslíkem (%), teplota ($^{\circ}C$). Data (průměr $\pm$ SD, $n=5$) naměřena po 20 minutách (O_2 NB), popř. po dosažení $\approx 2 mg.l^{-1}$ ozonu (O_3 NB).

Roztok	O_3 ($mg.l^{-1}$)	pH	ORP (mV)	O_2 (%)	Teplota ($^{\circ}C$)
O_2 NB	$0,16 \pm 0,05$	$7,95 \pm 0,05$	$339,8 \pm 20,3$	$\geq 500\%$	$19,7 \pm 0,1$
O_3 NB 100%	$1,98 \pm 0,03$	$7,78 \pm 0,09$	$966,0 \pm 4,50$	$\geq 500\%$	$19,8 \pm 0,1$

Průměr a velikostní zastoupení NB v roztoku bylo měřeno pomocí NTA analýzy (Nanoparticle Tracking Analysis; NanoSight NS300, Malvern Instruments Ltd., UK; Obr. 7). Smícháním roztoku O_3 NB 100% s destilovanou vodou bylo dosaženo 25%, 50% a 75% koncentrace ozonu.



Obr. 7. NanoSight NS300 (Malvern Instruments Ltd., UK) pro měření koncentrace a velikostní distribuce nanobublin (Foto M. Prokešová Dvořáková).

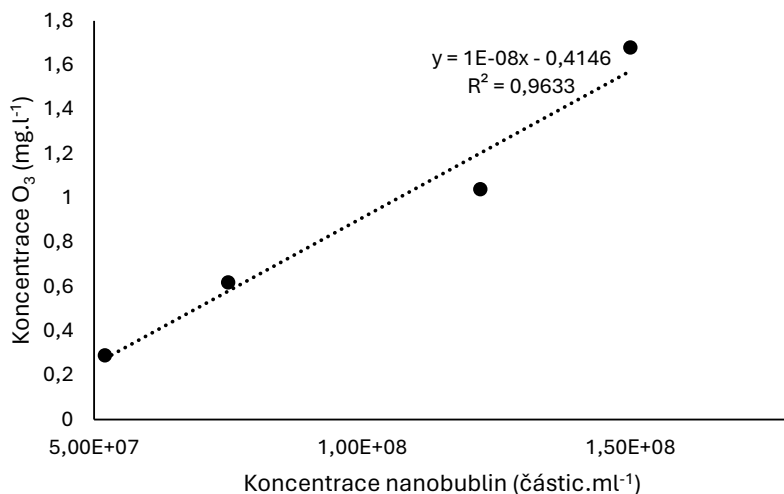
4.1.2. Výsledky

Pomocí NTA analýzy bylo prokázáno, že roztoky O_3 NB 100% a O_2 NB měly o řád vyšší koncentrace nanobublin v porovnání se zdrojovou vodou (kohoutková voda). Koncentrace nanobublin obsažených v kohoutkové vodě byla $1,7 \times 10^7 \pm 2,1 \times 10^6$ částic.ml⁻¹, zatímco roztoky O_3 NB 100% a O_2 NB obsahovaly $1,5 \times 10^8 \pm 4,6 \times 10^6$ částic.ml⁻¹, resp. $1,0 \times 10^8 \pm 1,4 \times 10^6$ částic.ml⁻¹. Kohoutková voda obsahovala nanobubliny o průměrné velikosti 260,3 nm. Roztoky připravené pomocí generátoru NB a destilovaná voda potom obsahovaly nanobubliny o průměrné velikosti 92,3–136,2 nm. Polovina bublin v kohoutkové vodě měla průměr větší než 241,3 nm, zatímco u ostatních roztoků 90 % bublin měřilo méně než 244,1 nm (Tab. 2).

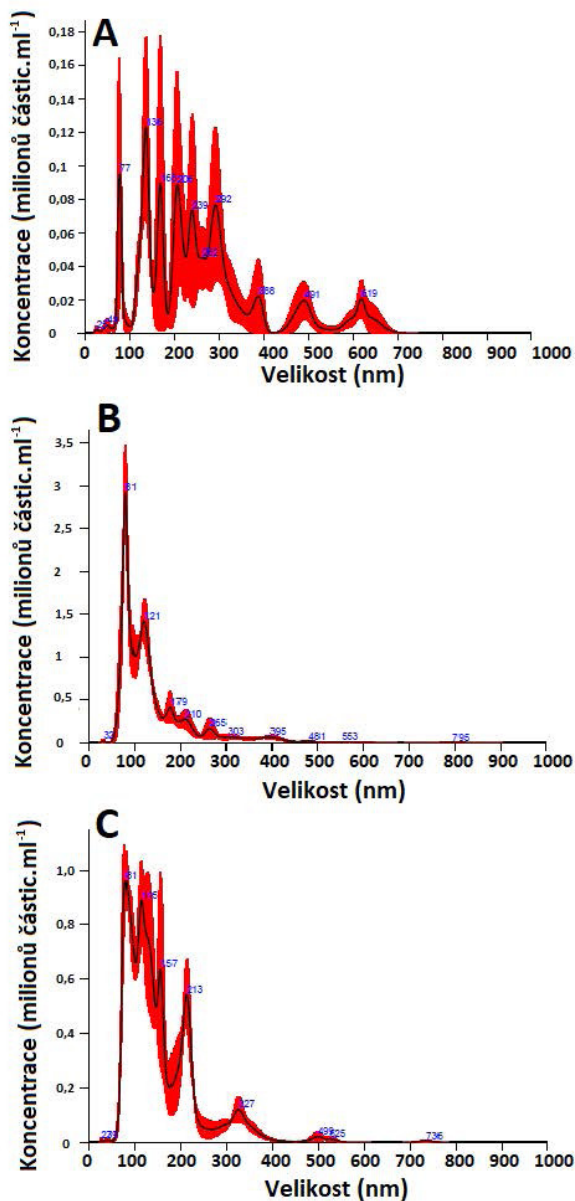
Dále bylo pomocí NTA analýzy zjištěno, že vzorky ředěného roztoku O_3 NB (0%, 25%, 50%, 75% a 100%) vykazovaly lineární vztah mezi koncentracemi ozónu (O_3 , mg.l⁻¹) a počty nanočástic (částic.ml⁻¹) ve vzorcích (Obr. 8). Je tedy patrné, že ředěním roztoku destilovanou vodou nezpůsobilo snížení počtu nanobublin (např. z důvodu spojování do makrobublin), ale také nedošlo k úniku ozónu z roztoku. Distribuce bublin ve vybraných roztocích je znázorněna na Obr. 9.

Tab. 2. Obsah rozpuštěného ozonu (O_3 ; $mg.l^{-1}$), počet nanobublin (částic. ml^{-1}), průměrná velikost bublin (nm) a velikost bublin v 1. (D10), 5. (D50) a 9. (D90) decilu ve zdrojové vodě, destilované vodě, vodě obohacené kyslíkovými NB (O_2 NB), NB ozonu (O_3 NB 100%), a v roztocích po zředění O_3 NB destilovanou vodou (O_3 NB 75%; O_3 NB 50% a O_3 NB 25%).

Roztok	DO ₃	Počet NB	Prům.	D10	D50	D90
Voda (zdroj)	–	$1,7 \times 10^7 \pm 2,1 \times 10^6$	260,3	112,4	241,3	411,2
Dest. voda	–	$5,5 \times 10^7 \pm 3,6 \times 10^6$	104,7	65,3	92,3	163,9
O ₂ NB	0,16	$1,0 \times 10^8 \pm 1,4 \times 10^6$	155,9	81,6	136,2	244,1
O ₃ NB 25%	0,29	$5,2 \times 10^7 \pm 1,5 \times 10^6$	138,8	78,1	119,0	232,8
O ₃ NB 50%	0,62	$7,5 \times 10^7 \pm 3,0 \times 10^6$	144,0	88,1	129,0	214,1
O ₃ NB 75%	1,04	$1,2 \times 10^8 \pm 3,1 \times 10^6$	121,4	75,5	108,6	190,3
O ₃ NB 100%	1,68	$1,5 \times 10^8 \pm 4,6 \times 10^6$	136,2	74,7	111,6	241,9



Obr. 8. Počet nanobublin (částic. ml^{-1}) a koncentrace ozonu ($mg.l^{-1}$) v roztocích O_3 NB (25, 50, 75 a 100%).



Obr. 9. Velikostní distribuce nanobublin (nm) v kohoutkové vodě (A), v O_3NB roztoku (B) a v O_2NB roztoku (C); pozn. osy Y mají různé škály u obrázků A, B a C.

4.2. Experiment 2 – Vliv nanobublin ozonu na padlí tykvoovitých *in vitro*

4.2.1. Technologický postup

Patogen padlí tykvoovitých (*Podosphaera xanthii*) byl získán z Akvapionické haly Fakulty rybářství a ochrany vod, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Patogen se na rostlinách ve skleníku vyskytl během pěstitelského cyklu přirozeně. Patogen *P. xanthii* je biotrofní organismus, a proto byl pěstován na listech zdravých rostlin okurky seté (odrůda Superstar F1, Semo a.s., Česká republika) a kultivován na listech po dobu dvou týdnů v růstové komoře MLR-352 (25 ± 1 °C; 16 hodin světla, 60–65% relativní vzdušná vlhkost, Akribis, UK). Čerstvé kultury patogenu byly založeny každé dva týdny přenosem spor ze starších infikovaných listů na nové rostliny okurky seté v květináčích.

Účinnost různých koncentrací roztoků O_2 NB a O_3 NB v různých podmínkách relativní vzdušné vlhkosti (z angl. relative humidity – RH) bylo testováno pomocí biologického testu prováděného v experimentálních komorách za použití metodiky popsané v publikaci Folorunso a kol. (2022). Test probíhal v relativní vlhkosti vzduchu $\geq 95\%$, 65–73 %, a ≤ 40 % RH. Hodnoty relativní vzdušné vlhkosti byly kontrolovány v experimentálních růstových komorách. Každá růstová komora se skládala z menšího pěstebního boxu ($110 \times 85 \times 30$ mm) uzavřeného v komorovém boxu ($145 \times 120 \times 65$ mm). Řapík listu byl otvorem ve víku menšího boxu prostrčen a ponořen do vody, která byla v menším pěstebním boxu, čímž byl zajištěn dostatek vody pro list. Následně byla tato sestava umístěna do většího komorového boxu. Pro udržení relativní vzdušné vlhkosti $\geq 95\%$ byl použit postup dle Kim a kol. (2007), kdy na dno většího komorového boxu byla umístěna vlhká papírová buničina a box byl řádně uzavřen víkem. Relativní vzdušná vlhkost v rozmezí 65–73 % byla zajištěna tak, že větší komorový box neobsahoval vlhkou buničinu, byl jen zavřen víkem. Relativní vzdušnou vlhkost v něm zajišťovala jen přítomná voda pro list umístěná v malém boxu. Relativní vzdušná vlhkost ≤ 40 % byla zajištěna tak, že větší komorový box nebyl zakryt víkem a zároveň v něm nebyla přítomná vlhká buničina. List byl tak vystaven okolní teplotě laboratoře (21–24 °C). Relativní vzdušná vlhkost v každé růstové komoře byla monitorována pomocí termo-hygrometru (TFA Dostmann GmbH & Co.KG, Německo). Růstové komory v rámci jednoho ošetření byly udržovány ve vzdálenosti 50–60 cm od sebe a různé varianty ošetření byly od sebe vzdálené alespoň 200 cm, aby se snížila interference mezi ošetřeními.

Listy okurek v růstových komorách byly po 48 hodinách inokulovány spory *P. xanthii*. Konidie z velmi infikovaných kontrolních listů byly pomocí inokulační kličky seškrábnuty a přeneseny na zdravé listy. Na každý zdravý list

byly inokulační kličkou spory umístěny na 3 místa (Folorunso a kol., 2022). Za 3 dny byly na všech infikovaných listech rozeznatelné kolonie *P. xanthii*.

Experimentální listy z různých podmínek prostředí byly ošetřeny následujícími roztoky: destilovaná voda (kontrola; 0 mg.l⁻¹ O₃), kyslíkové NB (O₂ NB; 0,23 ± 0,06 mg.l⁻¹ O₃) a ozonové NB s koncentracemi 2,08 ± 0,22 mg.l⁻¹ O₃ (O₃ NB 100%); 1,16 ± 0,23 mg.l⁻¹ O₃ (O₃ NB 50%) a 0,54 ± 0,08 mg.l⁻¹ O₃ (O₃ NB 25%). Roztoky O₃ NB 50% a O₃ NB 25% byly připraveny zředěním roztoku O₃ NB 100% destilovanou vodou. Experimentální roztoky byly na listy ve všech variantách aplikovány pomocí rozprašovače. Je nutné uvést, že během experimentu 1 i 2 jsme detekovali nízkou koncentraci ozonu také v roztoku O₂ NB, přestože byl roztok O₂ NB vždy připraven před O₃ NB, aby nedošlo ke kontaminaci. Po ukončení aplikací všech variant byl generátor NB důkladně propláchnut kohoutkovou vodou. Formování ozonu při výrobě O₂ NB nebylo doposud popsáno v literatuře, a tak není zcela jasný princip přítomnosti ozonu v O₂ NB.

Aplikace na listy ve všech variantách byla prováděna 5., 10. a 15. den. Před každou aplikací v jednotlivých dnech a na konci experimentu (20. den) byly odebrány vzorky listů pro stanovení závažnosti napadení *P. xanthii*. Po ošetření byly jednotlivé listy v rámci jedné varianty ponechány na stole po dobu 60 sekund a následně byly umístěny do experimentálních komor. Každá varianta roztoku byla testována v pěti opakováních.

Pro hodnocení byla použita modifikovaná 12stupňová škála dle Horsfall a Barrati (1945): 0 = 0 %, 1 = 0–3 %, 2 = 3–6 %, 3 = 6–12 %, 4 = 12–25 %, 5 = 25–50 %, 6 = 50–75 %, 7 = 75–87 %, 8 = 87–94 %, 9 = 94–97 %, 10 = 97–100 %, 11 = 100 % napadení. K posouzení dopadu experimentálních roztoků na potlačení padlí tykvvitých byly použity následující metriky: index závažnosti onemocnění (disease severity; DS) a plocha pod křivkou progresu onemocnění (area under the disease progress curve; AUDPC). Průměrná hodnota indexu závažnosti onemocnění (DS) pro každé ošetření byla vypočtena dle vzorce:

$$DS (\%) = \sum (N_{grp} \times R) \div 11N_{obs} \times 100$$

kde N_{grp} je počet listů ve skupině, R je hodnota hodnocení a N_{obs} je počet listů v pozorování. Index závažnosti onemocnění udává plochu, popř. objem rostlinného pletiva, které je (viditelně) zasaženo patogenem, obvykle ve vztahu k celkové ploše rostlinného pletiva. Tzn. čím vyšší DS, tím vyšší napadení patogenem.

Dalším použitým parametrem hodnocení byla plocha pod křivkou progresu onemocnění (AUDPC). Průměrná hodnota AUDPC pro každé ošetření při odpovídající relativní vzdušné vlhkosti byla vypočtena dle vzorce:

$$AUDPC = \sum_i^n \left[\left(\frac{Y_i + Y_{i-1}}{2} \right) \times (X_i - X_{i-1}) \right]$$

kde Y_i představuje procento napadených listů ($Y_i/100$) při i pozorování a X_i je den i pozorování. Parametr „ n “ označuje celkový počet pozorování (Shaner a Finney, 1977). Plocha pod křivkou progresu onemocnění je užitečné kvantitativní shrnutí intenzity onemocnění v průběhu času. Nejčastěji používanou metodou pro výpočet AUDPC je zvolení časové proměnné a výpočet průměrné intenzity onemocnění mezi každou dvojicí sousedních časových bodů. Čím nižší index AUDPC, tím menší je plocha pod křivkou onemocnění, tzn., že list je méně infikovaný patogenem.

Porovnání různých koncentrací ozonu a relativní vzdušné vlhkosti na parametry DS a AUDPC byla podrobena dvoucestné analýze rozptylu (ANOVA) pomocí statistického softwaru R (Wickham, 2016). Rozdíly mezi variantami ošetření byly zaznamenány pomocí Tukeyho post-hoc testu. Statistická významnost byla nastavena na konvenční hladině $P < 0,05$.

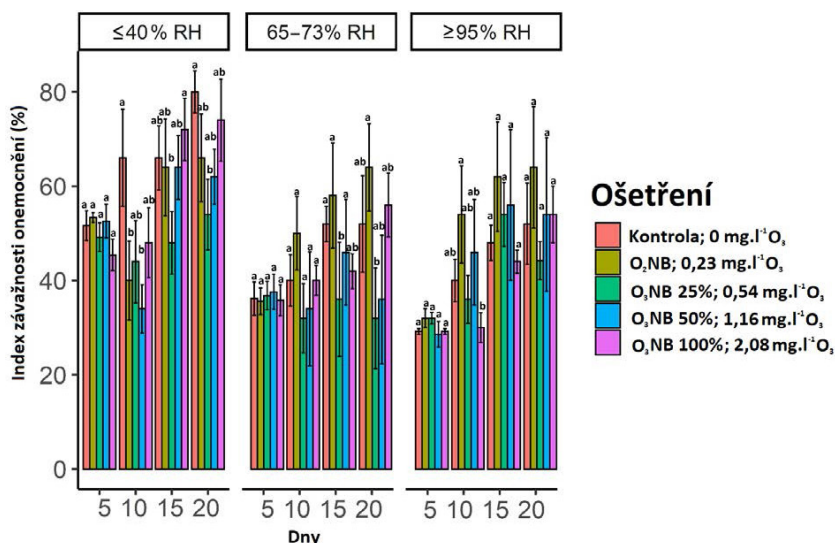
4.2.2. Výsledky

Před zahájením aplikace roztoků NB nebyly pozorovány žádné rozdíly v DS mezi jednotlivými variantami (5. den; Obr. 10). Na počátku experimentu byla infekce v jednotlivých vlhkostních variantách vyrovnaná. Z hodnot DS 5. den lze vidět trend mezi DS a relativní vzdušnou vlhkostí (% RH), který souvisí s optimálními podmínkami pro rozvoj infekce padlí tykvoovitých a výsledek potvrzuje předchozí studie (Folorunso a kol., 2022). Pět dní po první aplikaci roztoků NB v relativní vzdušné vlhkosti $\leq 40\%$, bylo DS u všech ošetření nižší ve srovnání s kontrolní variantou, což ukazuje určitý vliv NB na potlačení padlí tykvoovitých *P. xanthii* v počáteční fázi infekce. Naproti tomu na konci experimentu při $\leq 40\%$ relativní vzdušné vlhkosti bylo prokázáno, že nejnižší DS 48 % bylo zaznamenáno ve variantě ošetření O_3 NB 25%, zatímco ve variantě O_3 NB 100%, kde byl předpoklad nejvyšší účinnosti proti padlí, byla hodnota DS 65 % a v kontrolní variantě DS 81 %. V relativní vzdušné vlhkosti $\leq 40\%$ je u všech variant ošetření patrný zvyšující se trend indexu závažnosti onemocnění, a tudíž v těchto podmínkách nepůsobí testované roztoky kurativně.

Při optimální relativní vzdušné vlhkosti pro pěstování okurky seté (65–73 % RH) se pět dní po první aplikaci průměrný index závažnosti onemocnění (DS) ve variantě O_3 NB 25% (DS 32%) významně lišil oproti variantě O_2 NB (DS 50%) a zároveň oproti kontrolní variantě (DS 40%). Varianty O_3 NB 25% a O_3 NB 50% vykazaly na konci experimentu nejnižší hodnoty DS, které byly statisticky průkazné ve srovnání s ostatními variantami včetně kontroly

(Obr. 11). Během celého experimentu došlo u variant O_3 NB 25% a O_3 NB 50% k postupnému snížení indexu závažnosti onemocnění rostlin. Oproti prvnímu hodnocení došlo na konci experimentu ke snížení o 5–6% DS.

V podmínkách nejvyšší relativní vzdušné vlhkosti ($\geq 95\%$ RH) bylo vykázáno na listech okurky seté ošetřené nejvyšší koncentrací NB ozonu po pěti dnech od první aplikace (O_3 NB 100%) statisticky nejnižší úroveň závažnosti onemocnění (DS 30%). Nicméně v průběhu experimentu došlo u všech variant v relativní vzdušné vlhkosti $\geq 95\%$ RH k postupnému nárůstu DS ve srovnání s jejich počátečními hodnotami s výjimkou O_3 NB 25% a O_3 NB 50%.



Obr. 10. Index závažnosti onemocnění (DS; %) listů okurky 5., 10., 15. a 20. den experimentu v různých podmínkách relativní vzdušné vlhkosti (RH $\leq 40\%$, 65–73% a $\geq 95\%$). První ošetření experimentálními roztoky O_2 NB a O_3 NB s různými koncentracemi O_3 (0,54 mg.l⁻¹; 1,16 mg.l⁻¹; a 2,08 mg.l⁻¹) a destilovanou vodou (kontrola) proběhlo 5. den a poté každých 5 dní.

V podmínkách nízké relativní vzdušné vlhkosti ($\leq 40\%$) bylo zjištěno, že listy ošetřené 0,54 mg.l⁻¹ O_3 (O_3 NB 25%) a 1,16 mg.l⁻¹ O_3 (O_3 NB 50%) měly signifikantně nižší hodnoty AUDPC 933,86, resp. 943,18 (Tab. 3). Při nejvyšší koncentraci 2,08 mg.l⁻¹ O_3 (O_3 NB 100%) však nebyla hodnota AUDPC (1 008,86) statisticky odlišná ve srovnání s kontrolní variantou ošetření (1 051,36).

V podmínkách relativní vzdušné vlhkosti (65–73% RH) byla statisticky nejnižší hodnota AUDPC (761,36) zaznamenána u listů okurky ošetřené O_3

NB 25%. Varianty O₂ NB (870,14), O₃ NB 50% (838,27) a O₃ NB 100% (844,59) se významně lišily od kontrolní varianty (961,00), která vykazovala statisticky nejvyšší hodnoty AUDPC.

Za podmínek vysoké relativní vzdušné vlhkosti ($\geq 95\%$ RH) nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl v hodnotách AUDPC mezi jednotlivými variantami.

Keinath (2019) prokázal vliv AUDPC na výtěžnost okurek napadených *Pseudoperonospora cubensis*, dalším velice častým houbovým onemocněním okurky seté. U variant ošetřených fungicidy autor prokázal snížení hodnoty AUDPC o 90 % a 84 % pro rezistentní, respektive náchylnou odrůdu okurky seté, což mělo za následek 1,6krát, respektive 5krát vyšší výnos na 1 hektar. Je tedy zřejmé, že snížením hodnoty AUDPC významně roste zisk z produkce okurek, a to především u náchylných odrůd. Pokles zisku/výnosu a zvýšení AUDPC je nejlépe popsáno negativně exponenciálním modelem, tzn., že výnosy exponenciálně klesají se zvyšujícím se AUDPC (popsáno pro slunečnici napadenou *Alternaria helianthi*; Leite a kol., 2006).

Tab. 3. Plocha pod křivkou progresu onemocnění (z angl. area under the disease progress curve – AUDPC) listů okurky seté infikovaných patogenem padlí tykvoovitých a ošetřených experimentálními roztoky při různých podmínkách relativní vzdušné vlhkosti (RH; $\leq 40\%$, 65–73% a $\geq 95\%$). Různá písmena ve sloupci indikují, že hodnoty jsou významně odlišné při $p < 0,05$.

Ošetření	Relativní vzdušná vlhkost		
	$\leq 40\%$ RH	65–73% RH	$\geq 95\%$ RH
Kontrola	1 051,36 ^a	961,00 ^a	941,32
O ₂ NB	960,91 ^{bc}	870,14 ^b	931,82
O ₃ NB 25%	933,86 ^c	761,36 ^c	863,64
O ₃ NB 50%	943,18 ^c	838,27 ^b	947,72
O ₃ NB 100%	1 008,86 ^{ab}	844,59 ^b	822,73
Hodnota p	0,0141	0,00273	0,103

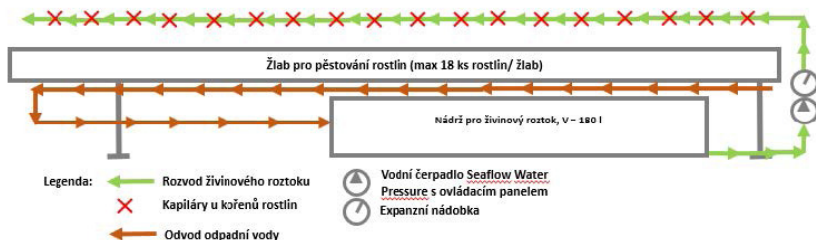


Obr. 11. Vliv padlí tykvovitých na listy okurky seté ve 20denním experimentu. (A) listy ošetřené destilovanou vodou (kontrola; 0 mg.l⁻¹ O₃) po 20 dnech ošetření, a (B) listy ošetřené 0,54 mg.l⁻¹ O₃ ve formě NB (O₃ NB 25%) po 20 dnech. Z obrázku je patrné nekrotické poškození listů ošetřených destilovanou vodou (Foto A.E. Folorunso).

4.3. Experiment 3 – Vliv nanobublin NB ozonu na růst a sklizeň okurky seté v akvaponii

4.3.1. Technologický postup

Semena okurky seté (var. Verdon RZ F1, USA) byla naklíčena v substrátu z minerální vlny (15 mm x 15 mm x 15 mm, Grodan, Nizozemí) umístěných na záplavových stolech v pěstebním stanu. Sazenice byly pěstovány při teplotě 25 ± 2 °C a 16hodinové fotoperiodě po dobu 17 dnů před přesazením dle metodiky Resh, 2022. Poté byly rostliny přesazeny na rohože z minerální vlny (1 000 mm x 150 mm x 75 mm, Grodan, Nizozemí) umístěné v kapkovém akvaponickém dvousmyčkovém systému (rostliny jsou zde odděleny od nádrží s rybami). Rostliny (30 ks, 5 variant ošetření, 6 rostlin/opakování) byly pěstovány za použití živného roztoku dodávaného kapkovým systémem do minerální vlny v pětiminutových intervalech každou hodinu během dne (6:00 do 18:00) a jednou za dvě hodiny během noci (18:00–6:00) (Obr. 12).



Obr. 12. Schéma kapkového systému ve dvousmyčkovém akvaponickém systému (nutriční roztok je míchan v zásobní nádrži).

Aby bylo minimalizováno množství použitého hnojiva, byla pro růst rostlin místo komerčního hnojiva použita mineralizovaná odpadní voda z recirkulačního systému akvakultury. Podrobný popis systému je uveden v publikaci Folorunso a kol. (2024). Úroveň živin v mineralizované vodě byla hodnocena podle standardních pracovních postupů pro rozboru jsou patrné v Tab. 4. Následné rozboru se zásadně nelišily. Po rozboru byly vypočteny dávky nedostatečně zastoupených nebo chybějících minerálů/živin v souladu s doporučením pro danou fázi růstu okurky seté pomocí softwaru Hydrobuddy a následně doplněny do živného roztoku (Resh, 2022; Obr. 13). Aby bylo zabráněno hromadění fytotoxických látek, byl živný roztok vyměňován každé dva týdny (dle Lee a kol., 2006). V případě potřeby doplnění transpirovaného roztoku byl nutriční roztok doplněn o odstátou kohoutkovou vodu. Teplota nutričního roztoku v zásobní nádrži a pH byly měřeny každé tři dny pomocí přenosné multiparametrové sondy (HI9849, Hanna Instruments, Rumunsko). V případě zvýšení pH nad 6,5 byl pro regulaci pH aplikován roztok 60% kyseliny fosforečné (Advanced Hydroponics, Nizozemí).

Tab. 4. Protokol s výsledky živinového rozboru mineralizované odpadní vody z RAS (v mg.l⁻¹).

Živina	Výsledek	Použitá metoda
Amonné ionty (NH ₄)	12,8	(A) SOP 6
Dusík amoniakální (N-NH ₄)	9,95	(A) SOP 6
Sírany (SO ₄)	62,6	(A) SOP 10
Dusičnany (NO ₃)	145	(A) SOP 11
Dusík dusičnanový (N-NO ₃)	32,7	(A) SOP 11
Dusitany (NO ₂)	2,50	(A) SOP 12
Dusík dusitanový (N-NO ₂)	0,76	(A) SOP 12
Síra (S)	20,9	(A) SOP 10
Hořčík (Mg)	8,03	(A) SOP 450-1
Vápník (Ca)	139	(A) SOP 450-1
Draslík (K)	45,0	(A) SOP 450-1
Fosfor (P)	4,37	(A) SOP 450-1
Sodík (Na)	26,5	(A) SOP 450-1
Měď (Cu)	0,01	(A) SOP 450-1
Zinek (Zn)	0,01	(A) SOP 450-1
Železo (Fe)	0,03	(A) SOP 450-1
Mangan (Mn)	<0,01	(A) SOP 450-1
Molybden (Mo)	<0,01	(A) SOP 450-1
Kobalt (Co)	<0,01	(A) SOP 450-1
Bor (B)	0,03	(A) SOP 450-1

Světelné a klimatické podmínky byly řízeny automaticky pomocí softwaru Aisys (AISE s.r.o., Česká republika). Podpurná LED světla byla automaticky rozsvěcována (LUMii Black Bar 30w UV/FR LED, HydroGarden, Velká Británie), pokud intenzita okolního světla klesla pod 5 500 lx. Ve fázi růstu a produkce plodů byla teplota snížena na 23 ± 1 °C a automaticky udržována pomocí topení, popř. větráním pomocí automatického otevírání oken ve skleníku (Tab. 5).

EFektivita NANOBUBLIN OZONU PROTI PADLÍ TYKVOVITÝCH V AKVAPONICKÝCH SYSTÉMECH

HydroBuddy v1.8 - Programmed and Designed by Dr. Daniel Hernandez Ph.D at <http://sciencehydroponics.com>

Welcome Main Page Results About

PayPal Donate

Element Target Conc. (ppm) Result (ppm)

N (NO3-) 267 266.987

N (NH4+) 12.5 12.742

P 55 55.502

K 350 350.005

Mg 40 40

Ca 220 220.009

S 53 54.167

Fe 3 3

Zn 0.1 0.1

B 0.3 0.3

Mn 0.8 0.8

Cu 0.07 0.07

Mo 0.03 0.028

Na 0 0

Si 0 0

Cl 0 0

Zero all targets

Disable Pop-ups

Small Window

Cucumber 2nd stage (Howard Resl)

Substance Selection

Delete Formulation From DB

Copy Commercial Nutrient Formulation

Add Formulation to DB

Set Water Quality Parameters

Cucumber 2nd stage (Howard)

Set Instrument Precision Values

Volume 100

Concentration Units

Mass Units

EC Model

Solution Preparation type

Concentration Factor 100

Calculate liquids in mL

Calculation Type

Carry Out Calculation

Copy Weight Results to DB

Substance Name [click for url]	Formula	Mass (g) [Edit to fine-tune]
Y. Iron DTPA	FeDTPA	42.857
Y. Mn EDTA	MnEDTA	6.154
Yara Krista MKP (PotPhosp)	Potassium phosphate	244.579
Y. Zn EDTA	ZnEDTA	0.667
Y. Cu EDTA	CuEDTA	0.5
Y. Ammonium molybdate technical grade		0.052
Yara Liva CALCINIT 15.5-0-0+19Ca	5Ca(NO3)2.NH4NO3.10H2O	1157.943
Yara Krista K Plus (PotNit)	Potassium nitrate	731.7
Y. Boric Acid	H3BO3	1.716
Yara Krista Mgs (MagSulph)	Magnesium sulphate	416.667
Yara Krista Map (AmmPhosph)	Mono Ammonium phosphate	0

Element	Result (ppm)	Gross Error	Instrumental Error
N (NO3-)	266.987	0%	+/- 0%
K	350.005	0%	+/- 0%
P	55.502	0.9%	+/- 0%
Mg	40	0%	+/- 0%
Ca	220.009	0%	+/- 0%
S	54.167	2.2%	+/- 0%
Fe	3	0%	+/- 0%
Zn	0.1	0%	+/- 1.5%
B	0.3	0%	+/- 0.6%
Cu	0.07	0%	+/- 2%
Mo	0.028	-7%	+/- 18%
Na	0	0%	+/- 0%
Si	0	0%	+/- 0%
Cl	0	0%	+/- 0%
Mn	0.8	0%	+/- 0.2%
N (NH4+)	12.742	1.9%	+/- 0%

Values calculated for the preparation of 1000 liters

Predicted EC Value

EC=2.14 mS/cm

Stock Solution Analysis

Nutrient Ratio Analysis

Detailed Per Substance Contribution Analysis

Obr. 13. Příklad výpočtu nutričního roztoku v softwaru Hydrobuddy při zohlednění vstupních hodnot živinového složení mineralizované vody z RAS.

Tab. 5. Průměrná teplota (°C), průměrná relativní vzdušná vlhkost (RH; %) a průměrný obsah CO₂ (ppm) ve vzduchu v průběhu experimentu (data měřena automatickými senzory a ukládána do archivačního software Aisys).

Měsíc	Průměrná teplota °C	Průměrná RH %	CO ₂ (ppm)
1	25,11	68,41	470
2	23,62	66,17	462
3	22,22	66,66	472
4	22,29	56,49	504

Ve skleníkovém experimentu byly testovány varianty roztoků z různou koncentrací O₃: varianta $0,53 \pm 0,15 \text{ mg.l}^{-1}$ (O₃ NB 25%), $0,94 \pm 0,28 \text{ mg.l}^{-1}$ (O₃ NB 50%) a $2,05 \pm 0,04 \text{ mg.l}^{-1}$ (O₃ NB 100%). Dále byla testována varianta O₂ NB. Během experimentu byly roztoky aplikovány na list 4krát v týdenních intervalech. Aplikace simulují opakované aplikace komerčního fungicidu. Ve variantě O₂ NB byla napříč čtyřmi aplikacemi zaznamenána koncentrace O₃ v průměru $0,19 \pm 0,07 \text{ mg.l}^{-1}$. Během aplikace jednotlivých variant na konkrétní rostliny bylo zabráněno postřiku sousedních rostlin tak, že dané rostliny byly zastíněny ze všech stran kartonem. Dva dny po každé aplikaci byly na každé rostlině kontrolovány tři náhodně vybrané listy. Na těchto listech byly sledovány viditelné poruchy a poškození, hlavně barva listů (žloutnutí, chloróza nebo nekróza), textura listu a morfologie listu dle publikované metodiky (Todd a Arnold, 1961). Stupnice hodnocení se pohybovala od 0 do 10, kdy 0 znamená žádné poškození a 10 znamená poškozeno 100 % povrchu listu (horní i spodní strana listu a následný průměr).

Výška rostlin byla měřena a zaznamenávána 1x týdně po dobu 4 týdnů (Obr. 14). Po těchto 4 týdnech byly následně po dobu třech měsíců zaznamenávány denní výnosy plodů okurek. Byly tak napodobeny komerční praktiky využívající 3 až 4 pěstební cykly během jednoho roku.

Data byla testována na parametrickou distribuci (Shapiro-Wilk test, Leveneův test) a následně analyzována pomocí ANOVA a Tukeyho post-hoc testu. Statistická významnost byla nastavena na hladině významnosti $P < 0,05$. Statistické analýzy byly provedeny pomocí statistického softwaru R (Wickham, 2016).



Obr. 14. Pěstební kapkové systémy pro produkci okurky seté, okurky při první sklizni
(Foto R. Gebauer).

4.3.2. Výsledky

V průběhu prvních čtyř týdnů experimentu nebyly pozorovány žádné fyziologické a morfologické změny na listech. Z Tab. 6 je patrné, že výšky rostlin se na začátku experimentu a ani v průběhu 4 týdnů jejich pěstování (4 aplikací roztoku s NB, popř. kontrolním roztokem) významně nelišily napříč testovanými variantami. Stejně tak se významně nelišil celkový výnos plodů okurek na konci experimentu a celkem byla zaznamenán výnos plodů v rozmezí od 11,6 do 13,3 kg na rostlinu. Během sklizně nebyl zaznamenán negativní vliv na plody okurky. Po aplikaci NB O₃ nebyly ani pozorovány žádné korozivní účinky roztoku na kovové konstrukce kapkového systému (Obr. 14).

Tab. 6. Výška rostlin v cm při transferu do kapkového systému (Týden 1) a po 4 týdnech růstu (začátek sklizně; Týden 4) a celková sklizeň plodů okurky (kg.rostlina⁻¹) po 4 měsících od první sklizně v různých ošetřeních (Kontrola = 0 mg.l⁻¹ O₃; NB = 0,19 ± 0,07 mg.l⁻¹ O₃; O₃ NB 25% = 0,53 ± 0,15 mg.l⁻¹ O₃; O₃ NB 50% = 0,96 ± 0,28 mg.l⁻¹ O₃; O₃ NB 100% = 2,05 ± 0,04 mg.l⁻¹ O₃).

Ošetření	Výška rostlin (cm)		Sklizeň Celková sklizeň (g)
	Týden 1	Týden 4	
Kontrola	34,9 ± 3,4	142,0 ± 8,5	12 347 ± 1 878
O ₂ NB	33,8 ± 5,2	140,7 ± 8,6	12 220 ± 1788
O ₃ NB 25%	34,3 ± 5,6	141,8 ± 10,2	12 007 ± 1 093
O ₃ NB 50%	33,5 ± 6,5	144,1 ± 13,0	13 181 ± 1 698
O ₃ NB 100%	33,1 ± 4,6	142,2 ± 8,5	13 145 ± 2 313

5. Ekonomický přínos technologie

Popsaná technologie praktické aplikace nanobublin ozónu (O₃ NB) proti padlí tykvovitých v akvaponii prokázala, že roztok O₃ NB má potenciál pro regulaci tohoto původce onemocnění ve skleníkových podmínkách bez negativního vlivu na růst a výnos okurky seté.

V porovnání s běžně používanými metodami potlačení výskytu patogenu (především při použití syntetických fungicidů) přináší technologie O₃ NB značné výhody. Jedná se především o zabránění vzniku rezistence proti patogenům, která při použití O₃ NB nebyla doposud zaznamenána. Problémem při použití syntetických fungicidů představuje také ochranná lhůta, která musí být dodržena po jejich aplikaci. Jde o lhůtu, při které se nemohou sklízet plody. V případě nedodržení ochranné lhůty hrozí, že budou v plodech detekovány metabolity aplikovaného fungicidu, což může po konzumaci způsobit

zdravotní potíže. Ve srovnání s ozonizovanou vodou (bez použití technologie NB) potom unikátní fyzikálně-chemické vlastnosti O_3 NB (<200 nm) přináší další výhody, a to především NB jsou stabilnější v prostředí a efektivněji přenášejí O_3 do roztoku. Dle publikované literatury dosahují O_3 NB 1,5 a 4,5krát vyšší účinnost přenosu plynu do roztoku a 23x delší poločas rozpadu ve srovnání s ozonovými makrobublinami. Stabilita a účinnost O_3 NB však musí být nadále testována v různých podmínkách prostředí tak, aby byla optimalizována jejich aplikace, ale také aby byly docíleny vhodné podmínky po jejich aplikaci.

Ekonomický přínos technologie může být vyjádřen v několika rovinách. Základní rovinou je samotné ušetření nákladů za fungicidy, popř. jiné přípravky proti padlí tykvoovitých (např. ušetření nákladů v porovnání s ozonizovanou vodou, bez použití technologie NB). Další rovinou může být prodej plodů pod prémiovým označením jako např. „pesticide free“ s vyšší cenou ve srovnání s konvenčními metodami.

Při vyčíslení nákladů jednotlivých přístrojů jsme vycházeli z dat poskytnutých výrobcí jednotlivých přístrojů. Kombinovaná spotřeba tandemu přístrojů použitých v této technologii je $1,285 \text{ MW.h}^{-1}$ (součet koncentrátoru O_2 , generátoru O_3 a generátoru NB). Generátor O_3 produkuje $10 \text{ g } O_3 \cdot \text{h}^{-1}$. Z těchto $10 \text{ g } O_3$ tak můžeme teoreticky namíchat 20 000 l roztoku s NB s koncentrací $0,5 \text{ mg.l}^{-1} O_3$ (nejefektivnější koncentrace dle experimentu 2). Při aktuální ceně 7 500 Kč za MWh včetně distribuční sazby tak stojí 1 000 l roztoku 482 Kč (Tab. 7). Kdybychom ze stejného tandemu vyřadili generátor NB a používali bychom jen ozonizovanou vodu, byla by spotřeba $0,535 \text{ MW.h}^{-1}$ (součet koncentrátoru O_2 a generátoru O_3). Z důvodu vyšší efektivní koncentrace O_3 proti padlí tykvoovitých v ozonizované vodě ($4,0 \text{ mg.l}^{-1} O_3$; Fujiwara a Fujii, 2002) však vyjde cena 1 000 l roztoku na 1 605 Kč . Kdybychom pro ozonizaci použili přístroj vhodný pro akvakulturní účely (Ozontech, OT12, Česká republika) s kapacitou $12 \text{ g } O_3 \cdot \text{h}^{-1}$ a spotřebou $0,3 \text{ MW.h}^{-1}$ (data výrobce), vyšla by cena 1 000 l roztoku s koncentrací $4,0 \text{ mg.l}^{-1} O_3$ na 750 Kč (účinnost přenosu plynu a cena vody nejsou zohledněny pro zjednodušení v obou případech).

Tab. 7. Ekonomické srovnání roztoku s NB ozonu (O_3 +NB) s technologií kyslíkového koncentrátoru a generátoru ozonu (O_3 -NB), konvenčním přístrojem pro výrobu ozonu v akvakultuře a s použitím syntetického fungicidu na bázi azoxystrobinu. NA – nelze aplikovat

Technologie	Spotřeba energie (MW.h ⁻¹)	Produkce O_3 (g.h ⁻¹)	Efektivní koncentrace O_3 (mg.l ⁻¹)	Množství roztoku (l.h ⁻¹)	Cena za 1 000 l (Kč) ^b	Cena za rok (Kč)
O_3 +NB	1,285	10	0,5	20 000	482	2 386 ^c
O_3 -NB	0,535	10	4,0	2 500	1 605	NA ^d
O_3 Konv. ^a	0,3	12	4,0	3 000	750	NA ^d
Azoxystrobin	NA	NA	NA	NA	NA	2 163 ^e

^aViz text pro více informací.

^bPři 7500 Kč.MWh⁻¹ vč. distribuční sazby.

^c50 ml na rostlinu; 2,5 rostliny na m²; 13,2 aplikací pro dosažení kurativního efektu srovnatelného s látkou azoxystrobin; 3 cykly okurek ročně; viz text pro více informací.

^dTestovaná efektivní koncentrace nezpůsobila snížení indexu závažnosti onemocnění (nepůsobila kurativně).

^e256,62 g aktivní látky na 1 000 m² za rok (Engindeniz a Yücel Engindeniz, 2006), přepočteno na přípravek Ortiva s aktivní látkou azoxystrobin (250 g.l⁻¹) a cenou 2 100 Kč.l⁻¹.

V komerčních sklenících jsou roční výdaje na pesticidy v přepočtu cca 3 300 Kč na každých 1 000 m² pěstební plochy (140 USD; Engindeniz a Yücel Engindeniz, 2006). Při hustotě 2,5 rostlin.m⁻² tak vychází roční náklad za spotřebu všech pesticidů (insekticidy, fungicidy, akaricidy a nematocidy) na jednu rostlinu 1,32 Kč. Engindeniz a Yücel Engindeniz (2006) uvádí nejvyšší spotřebu za fungicidy a nematocidy. Dle autorů bylo použito 256,62 g fungicidů (přepočteno na účinnou látku) na 1 000 m². Kdybychom použili například jen přípravek Ortiva (Agrobio, Česká republika) s maloobchodní cenou kolem 2 100 Kč.l⁻¹, museli bychom aplikovat dle autorů 1,03 l na 1 000 m². Cena za toto množství fungicidu by tak činila 2 163 Kč na 1 000 m², tzn. 0,87 Kč na rostlinu. Přípravek Ortiva s aktivní látkou azoxystrobin prokázal v polním testu s *P. xanthii* cca 66% redukci indexu AUDPC ve srovnání s kontrolní variantou (Babadoost a kol., 2020). V našem experimentu 2 bylo dosaženo u varianty O_3 NB 25% při optimální relativní vzdušné vlhkosti cca 20% redukce AUDPC ve srovnání s kontrolní variantou, tzn. že účinná látka azoxystrobin má cca 3,3krát vyšší účinnost ve srovnání s roztokem O_3 NB o koncentraci ozonu 0,5 mg.l⁻¹ O_3 .

Během každé aplikace roztoku NB v experimentu 3 bylo použito cca 50 ml roztoku na jednu rostlinu, tzn. jedna aplikace na 1 000 m² vychází na přibližně

60 Kč (2,5 rostliny.m² a cena výroby roztoku viz výše). Cena čtyř aplikací, které vykázaly částečný kurativní efekt, vychází na cca 240 Kč na 1 000 m². Pro dosažení podobného efektu při použití účinné látky azoxystrobin bychom potřebovali aplikovat 3,3krát více roztoku, kdy cena by vycházela na 792 Kč na 1 000 m². Při třech pěstitelských cyklech okurek za rok (běžné praxe v komerčních sklenících) by se tak roční náklady vyšplhaly na 2 386 Kč na 1 000 m². Na druhou stranu lze předpokládat, že cena za ošetření 1 000 m² bude daleko nižší, zohledníme-li velkoobchodní ceny fungicidů pro profesionální uživatele.

6. Uplatnění technologie v praxi

Tato technologie shrnuje praktické zkušenosti a výsledky studií zaměřených na produkci roztoku s nanobublinami pomocí sestavy třech generátorů a jeho schopnosti při ochraně padlí tykvoovitých ve skleníkových podmínkách. V rámci experimentů bylo zjištěno, že koncentrace 0,5 mg.l⁻¹ O₃ NB dokázala významně redukovat napadení rostlin padlím tykvoovitých, zatímco nižší, ale i vyšší koncentrace neměly takový efekt. Dále bylo prokázáno, že žádná z testovaných koncentrací NB O₃ neměla negativní vliv na fyziologii a morfologii listů, růst a vývoj rostlin a zároveň i produkci a sklizeň plodů okurek, tzn., že ani při nesprávné aplikaci nehrozí destrukce porostu, popř. koroze pěstebního systému a zařízení. Během experimentů byla koncentrace O₃ ve vzduchu vždy v bezpečném rozmezí a neměla negativní dopad pro obsluhu. Tuto technologii je tak možné uplatnit v komerčních hydroponických sklenících. Technologie NB O₃ může být využita spolu s přírodními fungicidy, esenciálními oleji, a bioagens proti patogenům jako další metoda v rámci integrované ochrany rostlin plodové zeleniny, čímž může dojít k částečnému nebo úplnému zamezení použití syntetických fungicidů ve sklenících.

7. Seznam literatury

- Babadoost, M., Sulley, S., Xiang, Y., 2020. Sensitivities of cucurbit powdery mildew fungus (*Podosphaera xanthii*) to fungicides. *Plant Health Progress* 21: 272–277.
- Badiola, M., Mendiola, D., Bostock, J., 2012. Recirculating aquaculture systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering* 51: 26–35.
- Baganz, G.F., Junge, R., Portella, M.C., Goddek, S., Keesman, K.J., Baganz, D., Staaks, G., Shaw, C., Lohrberg, F., Kloas, W., 2022. The aquaponic principle — It is all about coupling. *Reviews in Aquaculture* 14: 252–264.
- Colombo S.M., Turchini G.M., 2021. ‚Aquafeed 3.0’: Creating a more resilient aquaculture industry with a circular bioeconomy framework. *Reviews in Aquaculture* 13: 1156–1158.
- Delaide, B., Goddek, S., Gott, J., Soyeurt, H., Jijakli, M.H., 2016. Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *Sucrinate*) growth performance in complemented aquaponic solution outperforms hydroponics. *Water* 8: 467.
- Dien, L.T., Linh, N.V., Mai, T.T., Senapin, S., St-Hilaire, S., Rodkhum, C., Dong, H.T., 2022. Impacts of oxygen and ozone nanobubbles on bacteriophage in aquaculture system. *Aquaculture* 551: 737894.
- Engindeniz, S., Yücel Engindeniz, D., 2006. Economic analysis of pesticide use on greenhouse cucumber growing: A case study for Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection* 113: 193–198.
- Fan, W., An, W., Huo, M., Xiao, D., Lyu, T., Cui, J., 2021. An integrated approach using ozone nanobubble and cyclodextrin inclusion complexation to enhance the removal of micropollutants. *Water Research* 196: 117039.
- FAO, 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022 – Towards Blue Transformation. FAO, Řím, Itálie, 266 pp.
- Folorunso, E.A., Roy, K., Gebauer, R., Bohatá, A., Mraz, J., 2021. Integrated pest and disease management in aquaponics: A metadata-based review. *Reviews in Aquaculture* 13: 971–995.
- Folorunso, E.A., Bohatá, A., Kavkova, M., Gebauer, R., Mraz, J., 2022. Potential use of entomopathogenic and mycoparasitic fungi against powdery mildew in aquaponics. *Frontiers in Marine Science* 9: 992715.
- Folorunso, E.A., Gebauer, R., Bohata, A., Velíšek, J., Třešnáková, N., Dvořák, P., Tomčala, A., Kuebutornye, F.K.A., Mráz, J., 2024. Runoff of foliar-applied natural fungicides in aquaponics: Implications for fish and nitrification. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 105: 104341.
- Fujiwara, K., Fujii, T., 2002. Effects of spraying ozonated water on the severity of powdery mildew infection on cucumber leaves. *Ozone: Science & Engineering* 24: 463–469.
- 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., Joyce, A., Kotzen, B., Dos-Santos, M., 2019. Aquaponics and Global Food Challenges. 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, Cham, Švýcarsko, pp. 3–17.

- Graham, T., Zhang, P., Zheng, Y., Dixon, M.A., 2009. Phytotoxicity of aqueous ozone on five container-grown nursery species. *HortScience* 44: 774–780.
- Graham, T., Zhang, P., Dixon, M., 2011. Aqueous ozone in the root zone: Friend or foe? *Journal of Horticulture and Forestry* 3: 58–62.
- Guo, Z., Wang, Z., Li, Y., Wang, Q., 2019. Effect of different concentrations of ozone on in vitro plant pathogens development, tomato yield and quality, photosynthetic activity and enzymatic activities. *Ozone: Science & Engineering* 41: 531–540.
- Gurung, A., Dahl, O., Jansson, K., 2016. The fundamental phenomena of nanobubbles and their behavior in wastewater treatment technologies. *Geosystem Engineering* 19: 133–142.
- Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K., Seydim, A.C., 2004. Use of ozone in the food industry. *LWT – Food Science and Technology* 37: 453–460.
- He, H., Zheng, L., Li, Y., Song, W., 2015. Research on the feasibility of spraying micro/nano bubble ozonated water for airborne disease prevention. *Ozone: Science & Engineering* 37: 78–84.
- Horsfall, J.G., Barrati, R.W., 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35: 655.
- Jia, M., Farid, M.U., Kharraz, J.A., Kumar, N.M., Chopra, S.S., Jang, A., Chew, J., Khanal, S.K., Chen, G., An, A.K., 2023. Nanobubbles in water and wastewater treatment systems: Small bubbles making big difference. *Water Research* 245: 120613.
- Keinath, A.P., 2019. Integrated management of downy mildew on slicing cucumber with fungicides and host resistance but not trellising. *Plant Disease* 103: 2592–2598.
- Kim, J.J., Goettel, M.S., Gillespie, D.R., 2007. Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. *Biological Control* 40: 327–332.
- Kim, T.K., Kim, T., Lee, I., Choi, K. and Zoh, K.D., 2021. Removal of tetramethylammonium hydroxide (TMAH) in semiconductor wastewater using the nano-ozone H₂O₂ process. *Journal of Hazardous Materials* 409: 123759.
- 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.
- Kwack, Y., Kim, K.K., Hwang, H., Chun, C., 2014. An ozone micro-bubble technique for seed sterilization in alfalfa sprouts. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 32: 901–905.
- Lee, J.G., Lee B.Y., Lee, H.J., 2006. Accumulation of phytotoxic organic acids in reused nutrient solution during hydroponic cultivation of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Scientia Horticulturae* 110: 119–128.
- Leite, R.M.V.B.C., Amorim, L., Bergamin Filho, A., 2006. Relationships of disease and leaf area variables with yield in the *Alternaria helianthi*-sunflower pathosystem. *Plant Pathology* 55: 73–81.
- Linh, N.V., Mai, T.T., Senapin, S., St-Hilaire, S., Rodkhum, C., Dong, H.T., 2022. Impacts of oxygen and ozone nanobubbles on bacteriophage in aquaculture system. *Aquaculture* 551: 737894.

- 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.
- Martins, C., Eding, E.H., Verdegem, M.C., Heinsbroek, L.T., Schneider, O., Blancheton, J.-P., d'Orbcastel, E.R., Verreth, J., 2010. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. *Aquacultural Engineering* 43: 83–93.
- Monsees, H., Kloas, W., Wuertz, S., 2017. Decoupled systems on trial: Eliminating bottlenecks to improve aquaponic processes. *PLoS One* 12: e0183056.
- Monsees, H., Suhl, J., Paul, M., Kloas, W., Dannehl, D., Wuertz, S., 2019. Lettuce (*Lactuca sativa*, variety Salanova) production in decoupled aquaponic systems: Same yield and similar quality as in conventional hydroponic systems but drastically reduced greenhouse gas emissions by saving inorganic fertilizer. *PLoS One* 14: e0218368.
- Nederlof, M.A.J., Verdegem, M.C.J., Smaal, A.C., Jansen, H.M., 2022. Nutrient retention efficiencies in integrated multi-trophic aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 14: 1194–1212.
- Nielsen, R., Asche, F., Nielsen, M., 2016. Restructuring European freshwater aquaculture from family-owned to large-scale firms – lessons from Danish aquaculture. *Aquaculture Research* 47: 3852–3866.
- Ono, R., Nakagawa, Y., Tokumitsu, Y., Matsumoto, H., Oda, T., 2014. Effect of humidity on the production of ozone and other radicals by low-pressure mercury lamps. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 274: 13–19.
- Ovissipour, R., 2021. Nanobubbles as an emerging sanitation technology. Virginia Cooperative Extension. Virginia, USA, pp. 3.
- Resh, H.M., 2022. *Hydroponic Food Production: A Definitive Guidebook for the Advanced Home Gardener and the Commercial Hydroponic Grower*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 642 pp.
- Seki, M., Ishikawa, T., Terada H., Nashimoto, M., 2017. Microbicidal effects of stored aqueous ozone solution generated by nano-bubble technology. *In Vivo* 31: 579–583.
- Seridou, P., Kalogerakis, N., 2021. Disinfection applications of ozone micro- and nanobubbles. *Environmental Science – Nano* 8: 3493–3510.
- Shaner, G., Finney, R.E., 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 77: 1051.
- Short, R.E., Gelcich, S., Little, D.C., Micheli, F., Allison, E.H., Basurto, X., Belton, B., Brugere, C., Bush, S.R., Cao, L., Crona, B., Cohen, P.J., Defeo, O., Edwards, P., Ferguson, C.E., Franz, N., Golden, C.D., Halpern, B.S., Hazen, L., Hicks, C., Johnson, D., Kaminski, A.M., Mangubhai, S., Naylor, R.L., Reantaso, M., Sumaila, U.R., Thilsted, S.H., Tigchelaar, M., Wabnitz, C.C.C., Zhang, W., 2021. Harnessing the diversity of small-scale actors is key to the future of aquatic food systems. *Nature Food* 2: 733–741.
- Stejskal, V., Gebauer, R., Matoušek, J., Šebesta, R., Prokešová, M., Mráz, J., Kouřil, J., 2018. Technologie a technické prvky recirkulačních akvakulturních systémů pro chov ryb. *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany*, č. 174, 106 s.

- Takahashi, M., Shirai, Y., Sugawa, S., 2021. Free-radical generation from bulk nanobubbles in aqueous electrolyte solutions: ESR spin-trap observation of microbubble-treated water. *Langmuir* 37: 5005–5011.
- Tamaki, M., Kobayashi, F., Ikeura, H., Sato, M., 2018. Disinfection by ozone microbubbles can cause morphological change of *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis spores. *The Plant Pathology Journal* 34: 335.
- Temesgen, T., Bui, T.T., Han, M., Kim, T., Park, H., 2017. Micro and nanobubble technologies as a new horizon for water-treatment techniques: A review. *Advances in Colloid and Interface Science* 246: 40–51.
- Thanh Dien, L., Linh, N.V., Sangpo, P., Senapin, S., St-Hilaire, S., Rodkhum, C., Dong, H.T., 2021. Ozone nanobubble treatments improve survivability of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with a pathogenic multi-drug-resistant *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Fish Diseases* 44: 1435–1447.
- Todd, G.W., Arnold, W.N., 1961. Evaluation of methods used to determine injury to plant leaves by air pollutants. *Botanical Gazette* 123: 151–154.
- Van Lenteren, J.C., Nicot, P.C., 2020. Integrated Pest Management Methods and Considerations Concerning Implementation in Greenhouses. In: Gullino, M.L., Albajes, R., Nicot, P.C. (Eds.), *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*, Springer, Cham, Švýcarsko, pp. 177–193.
- Wickham, H., 2016. Data Analysis. In: Wickham, H., *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*, Springer, Cham, Švýcarsko, pp. 189–201.
- Yang, H., Peng, L., Li, Z., Huang, C., Huang, J., 2023. Biocontrol of *Lysobacter enzymogenes* CQ18 against the tobacco powdery mildew fungus, *Erysiphe cichoracearum*. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 10: 74.
- Zhou, Y., Han, Z., He, C., Feng, Q., Wang, K., Wang, Y., Luo, N., Dodbiba, G., Wei, Y., Otsuki, A., Fujita, T., 2021. Long-term stability of different kinds of gas nanobubbles in deionized and salt water. *Materials* 14: 1808.

8. Poděkování

Autoři tímto děkují zejména Ing. Janu Matouškovi, Ing. Pavlu Frantovi a Bc. Karlu Procházkovi za technické zázemí a pomoc v průběhu experimentů.

Odborný externí oponent

prof. Ing. Lukáš Kalous, Ph.D.

*Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchbát,
www.czu.cz*

Odborný interní oponent

Ing. Andrea Bohatá, Ph.D.

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická,
Studentská 1668, 370 05 České Budějovice, www.fzt.jcu.cz*

Ověření a uplatnění technologie v roce 2024

OZONTECH, s.r.o., K Farmě 495, Štípa, 763 14 Zlín

Adresa autorského kolektivu

Ing. Radek Gebauer, Ph.D. – 30 %

Azeez Ewumi Folorunso, Ph.D. – 20 %

Doc. Ing. Jan Mráz, Ph.D. – 10 %

Doc. Ing. Vlastimil Stejskal, Ph.D. – 10 %

Tatyana Gebauer, Ph.D. – 20 %

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Ústav akvakultury
a ochrany vod, Na Sádkách 1780, 370 05 České Budějovice, www.frov.jcu.cz*

Martin Ševc – 10 %

OZONTECH, s.r.o., K Farmě 495, Štípa, 763 14 Zlín, www.ozontech.cz

*V edici metodik (technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých
Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany, www.frov.jcu.cz; přidělený
editor: dr. hab. Ing. Josef Velíšek, Ph.D., redakce: Zuzana Dvořáková, 1. vydání;
technologie ověřena v roce 2024; publikace není vydána tiskem, dostupná elektronicky;
grafický design a technická realizace: Jesenické nakladatelství Jena Šumperk.*



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice



ISBN 978-80-7514-199-6