Obsah elementární mědi ve chmelu po opakovaných aplikacích měďnatých fungicidů

Content of Elementary Copper in Hops after Repeated Applications of Copper Fungicides

KAREL KROFTA, JOSEF JEŽEK, TOMÁŠ KUDRNA
Chmelařský institut s.r.o., Kadaňská 2525, 438 46 Žatec / *Hop Research Institute Co., Ltd., Kadaňská 2525, 438 46 Žatec*
e-mail: k.krofta@telecom.cz

Krofta, K. – Ježek, J. – Kudrna, T.: Obsah elementární mědi ve chmelu po opakovaných aplikacích měďnatých fungicidů. Kvasny Prum. **57**, 2011, č. 11–12, s. 417–423.

Obsahy mědi v hlávkách se pohybují do 500 mg/kg, pokud celková dávka aplikované mědi nepřesáhne množství 15 kg/ha chmelnice. Obsahy mědi na listech, při stejné aplikační dávce, jsou zhruba 2 až 5krát vyšší. Aplikace 5 kg mědi na hektar chmelnice vzrostlého porostu odrůdy Agnus zvýší obsah mědi na chmelových listech min. o 1000 mg/kg. V hlávkách v období intenzivního zrání vede stejná dávka mědi ke zvýšení o cca 300 mg/kg. Těsné korelace mezi dávkou aplikované mědi a jejím obsahem ve chmelu však neexistují. Měď se z listů do sklizených hlávek dostává ve formě biologických příměsí. Časový průběh obsahu mědi v hlávkách má sestupný trend, který je dán především postupným zvětšováním jejich velikosti během zrání. Obdobný trend na listech ukazuje, že zde hrají roli i povětrnostní vlivy, zejména smývání, popř. rozpouštění měďnatých sloučenin atmosférickými srážkami. Hodnota přirozeného pozadí obsahu elementární mědi ve chmelu je do 20–25 mg/kg.

Krofta, K. – Ježek, J. – Kudrna, T.: Content of elementary copper in hops after repeated applications of copper fungicides. Kvasny Prum. **57**, 2011, No. 11–12, p. 417–423.

Contents of copper in hop cones are up to 500 mg/kg if total amount of applied copper does not exceed amount the of 15 kg/ha of a hop garden. Contents of copper on leaves are 2–5 times higher at the same application dose. Application of 5 kg copper per one hectare of vigorous growth of Agnus variety increases content of copper on hop leaves by 1000 mg/kg at least. The same amout of copper increases its content in hop cones by 300 mg/kg at the ripening period. Tight correlation between the amount of copper applied and its content in hops does not exist. Elementary copper from leaves is brought into harvested hops in the form of biological admixtures. Copper content in hop cones shows decreasing trend, which is given by gradual increase of cones size at the ripening period. Similar trend on hop leaves shows that washing and dissolving of copper compounds by atmospheric water can participate in this process as well. Common content of copper in hop cones and leaves is up to 20–25 mg/kg.

Krofta, K. – Ježek, J. – Kudrna, T.: Der Gehalt an Elementar-Kupfer in Hopfen bei wiederholten Anwendungen von kupferhaltigen Fungiziden. Kvasny Prum. **57**, 2011, Nr. 11–12, S. 417–423.

Ist die gesamte angewandte Kupfermasse in den Fungiziden bis zu 15 kg pro Hektar, dann der Gehalt am Kupfer in den Hopfenzapfen wird maximal 500 mg/kg, der Kupfergehalt in den Blättern schon jedoch 2–5 x höher. Die Anwendung 5 Kg Kupfer pro Hektar des emporwachsenden Hopfenbestands der Sorte Agnus erhöht den Kupfergehalt in den Hopfenlauben minimal um 1000 mg/kg. In der Zeit der intensiven Reifung dieselbe Kupferdosis führt zur Erhöhung des Kupfergehalts in den Hopfenzangen etwa um 300 mg/kg. Die engere Korellationen zwischen der Kupfergabemenge und dem Kupfergehalt in Hopfen jedoch wurden nicht gefunden. Das Kupfer aus den Hopfenlauben kommt in den Hopfenzangen in einer Form der biologischen Beimischungen. Der zeitliche Verlauf des Gehalts am Kupfer hat einen Abwärtstrend, der vor allem durch die ihre Vergrößerung verursacht wird. Ein ähnlicher Trend hat auch Gehalt am Kupfer in den Lauben, was zeigt den Wettereinflusss, z.B. Regen oder atmosphärische Niederschläge verursachen Auswaschen, bzw. Auflösung der kupferhaltigen Verbindungen. Der Gehalt am elementaren Kupfer in Hopfen ist maximal 20 – 25 mg/kg.

Klíčová slova: *chmel, měď, peronospora chmelová, fungicidy*

Keywords: *hop, copper, downy mildew, fungicides*

1 ÚVOD

Peronospora chmelová (*Pseudoperonospora humuli* L.) je v současné době nejzávažnější houbovou chorobou chmele. Způsobuje poměrně velké ztráty ve výnosu i kvalitě sklizeného chmele. Parazituje výhradně na chmelu, u něhož může napadnout kořeny i nadzemní orgány. První příznaky napadení chmele peronosporou se mohou objevit již na mladých výhonech brzy z jara. Listy mají žlutozelenou barvu, jsou zakrslé a zkrácením internodií dochází k jejich nahloučení. Svým vzhledem připomínají klas, a proto se běžně nazývají jako „klasovité výhony chmele“ (*obr. 1*). Na spodní straně listů klasovitých výhonů se vytváří šedofialový povlak složený z plodonošů a letních výtrusnic. Klasovité výhony se tvoří na jaře po infekci zimními výtrusy a jsou hlavním zdrojem pro další šíření choroby na listech. Během vegetace se peronospora chmelová šíří hlavně letními výtrusy (zoosporangiemi), které vznikají nepohlavní cestou na spodní straně listů. Dostanou-li se vyzrálá zoosporangia do vlhkého prostředí, uvolňují výtrusy (zoospory), které po krátké době začínají klíčit. Klíčící vlákénka mycelia se snaží prorůst do průduchu listů, a tak infikovat rostlinu [1]. V průběhu vegetace dochází k infekci nejen listů, ale i květů a hlávek chmele. Vzhled chmelových hlávek napadených peronosporou chmelovou je na *obr. 2*. Parazitická houba se může rozmnožovat pohlavním i nepohlavním způsobem. Tyto změny v životním cyklu jí umožňují přetrvat nepříznivé podmínky prostředí a naopak při příznivých podmínkách se může velmi rychle šířit [2].

1 INTRODUCTION

Downy mildew (*Pseudoperonospora humuli* L.) is currently the most important fungal disease of hop. It can cause high losses in yield and quality of harvested hops. Downy mildew parasites exclusively on hop. It attacts roots and above ground organs as well. First symptoms of infestation appear on young sprouts in early spring. Leaves are of green-yellow colour, stunt and due to shortening of internodia they become accumulated. These are commonly called “spikes“. Spikes are the main source for further spreading of the disease in the course vegetation (*Fig. 1*). Grey-violet coating consisting of sporangiophores and summer spores cause building up spiked leaves on the lower side. In the course of vegetation downy mildew spreads primarily by summer spores (zoosporangia), that create in non-sex way on the leaves bottom. Under wet conditions zoosporangia start to release spores that begin to germinate after a short time. Germinating fibres of mycelium grow into leaves pores and infect plants [1]. In the course of vegetation not only leaves but flowers and cones can be infected as well. Hop cones infested by downy mildew are shown on *Fig. 2*. Parasite fungi can multiplicate by sex as well as non-sex way. Such changes in life cycle enable the fungi to survive unfavourite weather conditions and on contrary enable fast spreading under optimal ones [2].

An important regulation factor of downy mildew occurence in the phase of flowering and cone forming is application of copper fungi-

Obr.1 „Klasovitý“ výhon chmele po napadení peronosporou chmelovou v jarním období / *Fig.1 Hop „spikes“ caused by downy mildew during the spring*

Důležitým regulačním faktorem výskytu peronospory chmelové v období květu a hlávkování jsou měďnaté fungicidy. Přestože patří k nejdéle známým fungicidům, dodnes mají v ochraně rostlin proti houbovým chorobám svůj význam. Vzhledem ke kontaktnímu působení se používají k preventivním zásahům. Mechanismus účinku se objasňuje vlivem elementární mědi na buněčnou plazmu. Komplexní sloučeniny mědi rozpustné ve vodě ireverzibilně mění bílkovinu protoplazmy patogena, která tak není schopna vykonávat fyziologické funkce [3]. Měď je pro rostliny považována za esenciální prvek [4]. Asi 70 % přijaté mědi je lokalizováno v chloroplastech, kde působí jako stabilizátor chlorofylu. Měď může také působit jako akceptor nebo naopak donor elektronu a stává se tak součástí mnoha oxidačně-redukčních systémů. Specificky aktivuje některé oxidasy (cytochromoxidasu, oxidasu askorbové kyseliny, polyfenoloxidasu). Svou účastí na biosyntéze ligninu se podílí na stabilizaci buněčných stěn. Měď jako součást proteinů hraje významnou roli v celé řadě procesů přenosu elektronů, zejména procesů fotosyntézy a buněčného dýchání. Měď je nezbytná rovněž pro symbiotický vztah mezi dusík fixujícími bakteriemi a kořeny bobovitých rostlin [5].

Chybějící měď lze nejsnáze dodat foliární aplikací. Toxicita nadbytku mědi je vzhledem k vysoké sorpci tohoto prvku v půdě vzácná. Může se vyskytovat ve vinicích a chmelnicích, kde byla dlouhodobě používána k ochraně rostlin měďnatými přípravky. Velmi nápadným znakem je chloróza listů vyvolaná nedostatkem železa jako důsledek vysoké konkurence mědi vůči železu. V půdě se měď vyskytuje prakticky výlučně jako dvojmocný kation, vázaný v krystalických mřížkách minerálů [6]. Po uvolnění z mřížek přechází do velmi pevné vazby na půdní sorpční komplex, a proto se v půdním roztoku nachází jen ve velmi nízké koncentraci do 0,6 μmol.l^{-1}. Vzhledem k tomu, že snadno vstupuje do chelátových vazeb, představuje podstatnou část rozpustné frakce právě vazba mědi do organických komplexů [7]. Požadavky rostlin na měď jsou malé a pohybují se v rozmezí 2 až 25 ppm v sušině. Pro chmel uvádí Portner [8] odběr 4054 mg mědi v přepočtu na hektar, z toho potřeba hlávek činí pouze 581 g/ha, zbytek připadá na révu a listy. Údaj se vztahuje na německé odrůdy, ale je v principu použitelný i pro české chmele.

V pivovarské technologii se měď řadí k nejvýznamnějším kovovým prvkům. Hraje důležitou roli v účinnosti řady sladových enzymů.

cides. In spite of being the oldest registered fungicides, they still have big importace in plant protection against fungal diseases. With the respect to their contact effect they are usually used for preventive treatments. Mechanism of effect is clarified by the actvity of elementary copper on cellular plasm. Disease control consists in disrupting the function of the cellular proteins of fungi and bacteria [3]. Copper is an essential microelement needed by plants [4]. Appr. 70 % of copper is localised in chloroplasts where it acts as chlorophyll stabilizer. Copper acts as acceptor or electron donor and becomes a component of many oxidation-reduction systems. It parcipates on lignin biosynthesis that stabilises cell walls. Copper as a protein component plays important role in photosynthesis processes and cell respiration. It is indispensable for symbiotic relationship between nitrogen fixing bacteria and roots of bean plants as well [5].

Missing copper can be easily supplied by foliar application. Phytotoxicity of copper excess is scarce due to high sorption of the element in soil. It can appear in vineyards and hop gardens where copper fungicides had been applied for a long time. Noticeable feature is leaf chlorosis, which is caused by iron shortage as result of competition of copper to iron. Copper is found in soil practically only as bivalent cation bound in crystal lattices of minerals [6]. Its concentration in soil solution is up to 0.6 μmol.l^{-1}. Copper easily enters chelate bindings [7]. Plant requirement for this chemical element is small and moves in the range of 2 to 25 ppm. Portner [8] presents total copper take-off for hop 4054 mg per hectare, from which falls 581 g/ha to cones, the rest for bines and leaves. The data apply to German hop varieties but on principle they can be used for Czech hops as well.

In brewing technology copper belongs to the most important metal elements. It plays the relevant role in efficiency of many malt enzymes. It is esential for yeast growth in low concen-trations but it is toxic in higher ones. Copper has important role in formation of colloidal hazes [9]. Morimoto [10] found out tignificant differences in the contents of some compounds with blackcurrant like odors in fops and beer after treatment of kop by Bordeaux mixture. Sensorial ageing of beer significantly increases in the presence of Cu^{2+} ions at concentrations below 100 μg.l^{-1}. Copper ions catalyze oxidation reactions in the presence of prooxidants like cystein and 1,2,3-trihyd-

Obr. 2 Vzhled chmelových hlávek napadených peronosporou chmelovou před sklizní / *Fig. 2 Appearance of hop cones infested by downy mildew before harvest*

V nízkých koncentracích je měď esenciální pro růst kvasinek, ve vyšších je toxická. Připisuje se jí rovněž důležitá úloha při vzniku koloidních zákalů piva [9]. Morimoto [10] zjistil významné změny v obsahu několika látek s charakterem aroma černého rybízu ve chmelu i pivu po ošetření chmelnic Bordeauxskou jíchou (směsný roztok síranu měďnatého a oxidu vápenatého). Senzorické stárnutí piva významně narůstá v přítomnosti iontů dvojmocné mědi při koncentracích nižších než 100 $\mu g.l^{-1}$. Ionty Cu^{2+} katalyzují oxidační reakce za přítomnosti prooxidantů, jako je cystein a 1,2,3-trihydroxy-polyfenoly [11]. Kovové ionty mědi či železa se také podílí na neenzymatické oxidaci nenasycených mastných kyselin za vzniku nenasycených aldehydů [12]. Obsah mědi zjištěný v pivech plzeňského typu metodou atomové absorpční spektrometrie se pohyboval v rozmezí 19 až 35 $\mu g.l^{-1}$ [13]. Autoři konstatují, že výroba piva je z pohledu obsahu mědi a dalších těžkých kovů v surovinách a v pivu silně dekontaminační proces. K podobným závěrům dospěl i Dostálek [14], který hodnotil obsah těžkých kovů v 200 vzorcích piv chronopotenciometrickou metodou. Průměrný obsah mědi v souboru měřených piv byl 32,6 $\mu g.l^{-1}$ a maximální zjištěná hodnota 93 $\mu g.l^{-1}$. V práci byl porovnáván obsah i dalších těžkých kovů (zinku, kadmia, olova) i ve vínu a nealkoholických nápojích. Z hlediska koncentrace těžkých kovů bylo pivo vyhodnoceno jako velmi čistý produkt.

Při zpracování chmele na chmelové pelety T90 by se obsah mědi ve výrobku teoreticky neměl měnit. Testy ale ukázaly, že obsah mědi a dalších kovů (chrom, nikl) je v granulích o 20 až 40 % větší než ve chmelu [15]. Pravděpodobná příčina spočívá v sekundární kontaminaci chmele mikroskopickými otěry o kovové části technologického zařízení. Významnou bariérou přenosu těžkých kovů do chmelových výrobků je extrakce chmele. Ethanolová extrakce snižuje obsah kovů o 90 %, extrakce oxidem uhličitým dokonce o 97 % [16].

Chmel sám o sobě je obchodní artikl používaný v potravinářském průmyslu. Vztahuje se na něj nutnost respektování limitů škodlivin, a tudíž i těžkých kovů, uvedených v hygienických směrnicích [17]. Z tohoto důvodu je potřebné se touto problematikou zabývat zejména u kovů, které jsou obsaženy v prostředcích na ochranu chmele. Na tom nic nemění ani skutečnost, že USA a Japonsko importní tolerance pro měď ve chmelu nestanovily (*tab.1*). Importní tolerance pro měď ve chmelu a chmelových výrobcích v rámci Evropské unie je 1000 mg/kg. V rámci řešení výzkumného úkolu „Integrovaná produkce chmele“ byly v průběhu tří vegetačních sezon 2008 až 2010 provedeny testy opakované aplikace měďnatých fungicidů ve chmelnicích s cílem zjistit dopady na obsah mědi ve chmelu.

2 MATERIÁL A METODY

Při pokusech byly použity tyto ochranné přípravky: Kuprikol 50, Kuprikol 250 SC, Cuproxat CS, Curzate K v souladu s metodickými pokyny. Charakteristika použitých přípravků, aplikační dávky a množství mědi aplikované na 1 hektar chmelnice při jednom ošetření jsou uvedeny *v tabulce 2*. Postřiky měďnatými fungicidy byly provedeny na farmě Chmelařského institutu ve Stekníku na odrůdě Agnus pomocí běžných rosičů. Podle připravené metodiky byla pokusná chmelnice rozdělena na 3 díly, každý o ploše přibližně 0,3 ha. První postřik byl proveden na celé ploše, druhý na 2/3 pokusné parcely a třetí na 1/3 plochy. Původní záměr tří aplikací byl realizován jen v roce 2008, v následujících letech byly provedeny pouze dva nástřiky, protože třetí nebylo možno provést z důvodu špatného zdravotního stavu porostu a předčasné sklizně (2009), resp. deštivého počasí a rozbahněného terénu (2010). V roce 2008 byl pokus realizován s přípravkem Kuprikol 50, v roce 2009 s přípravky Kuprikol

roxy-polyphenols [11]. Copper and iron ions participate in non enzymatic oxidation of unsaturated fatty acids [12]. Content of copper determined by AAS method in Pilsener type of beers was found in the interval of 19 to 35 $\mu g.l^{-1}$ [13]. The authors state that brewing technology is the decontamination process from the point of view of copper and other heavy metals content. Dostálek [14], who assessed content of heavy metals in 200 beer samples by chronopotentiometric method came to the similar conclusions. Average copper content in the file of beers was 32.6 $\mu g.l^{-1}$ with maximal value 93 $\mu g.l^{-1}$. Beer is therefore considered to be very pure beverage from the heavy metal contents point of view.

Content of copper in the course of processing of raw hops to hop pellets T90 should not change. Tests showed that contents of copper and other heavy metals (chromium, nickel) in pellets are by 20-40 % higher compared to raw hops [15]. Probable reason consists in secondary contamination of hops by microscopic abrasions of metal parts from technological equipment. Extraction of hops is an efficient barrier in transfer of heavy metals to hop products. Ethanol extraction reduces metal contents by 90 %, carbon dioxide extraction even by 97 % [16].

Hops are important commodity used in food industry. Therefore, hygienic limits of pollutants (heavy metals) have to be followed and respected [17]. It is necessary to deal with this topic particularly for metals, which are contained in pesticides used for chemical control of pests and diseases. Maximum residue level (MRL) of elementary copper in hops and hop products valid in EU is 1000 mg/kg. In USA and Japan they are not even fixed (*Tab. 1*). Within the scope of research project „Integrated hop production“ repeated tests of multiple copper fungicides application were performed with the aim of determination its impact on photosynthesis rate and on the content of elementary copper in hops in the course of 2008–2010 vegetation seasons.

2 MATERIAL AND METHODS

Kuprikol 50, Kuprikol 250 SC, Cuproxat SC and Curzate K were used for the tests in the compliance with methodical hints. Characteristics of used pesticides, application doses and amounts of copper applied per hectare at single treatment are summarized in *Tab. 2*. Copper fungicides were applied on Agnus variety with the help of common mistblowers. The experimental hop garden was divided into 3 parts, each of 0.3 ha acreage. The first treatment was carried out on the whole plot, the second one on 2/3 of the experimental area and the third one on 1/3 of the area. Initial intention of three applications was realised only in 2008. During subsequent years only two applications were carried out due to early harvest (2009) or muddy terrain (2010). Kuprikol 50 was used in 2008, fungicides Kuprikol 250 SC and Cuproxat SC were used in 2009. In 2010 Kuprikol 250 SC

Tab. 1 Limity reziduí (MRL) elementární mědi v mg/kg v suchém chmelu a chmelových výrobcích / *Maximum residual limits (MRL) of elementary copper in mg/kg in raw hops and hop products*

	Evropská unie ***EU***	**USA** ***USA***	**Japonsko** ***Japan***
MRL / Cu (mg/kg)	1000	nestanoveno / *exempt*	nestanoveno / *exempt*

Tab. 2 Charakteristika použitých měďnatých fungicidů / *Characteristics of used copper fungicides*

Přípravek ***Fungicide***	**Složení** ***Composition***	**Obsah mědi** ***Cu contents***	**Aplikační dávka** ***Dose***	**Množství Cu/ha (kg)** ***Amount Cu/ha***
Kuprikol 50	oxychlorid mědi / *copper oxychloride* $CuCl_2.3Cu(OH)_2$	500 g/kg	0,50 % / 2000 l	5 kg / ošetření *5 kg/ treatment*
Kuprikol 250 SC	oxychlorid mědi / *copper oxychloride* $CuCl_2.3Cu(OH)_2$	250 g/l	1,0 % / 2000 l	5 kg / ošetření *5 kg/ treatment*
Curzate K	oxychlorid mědi + cymoxanil / *copper oxychloride + cymoxanile* $CuCl_2.3Cu(OH)_2$	460g/l	0,30 % / 2000 l	2,8 kg / ošetření *2,8 kg/ treatment*
Cuproxat SC	zásaditý síran měďnatý / *basic copper sulfate* $Cu\ SO_4.3Cu(OH)_2.1/2H_2O$	190 g/l	0,75 % / 2000 l	2,9 kg / ošetření *2,9 kg/ treatment*

Tab. 3 Termíny aplikace měďnatých fungicidů a dávky elementární mědi (kg Cu/ha) / *Application terms of copper fungicides and total amount of applied copper (kg Cu/ha)*

	2008		2009		2010	
Ošetření ***Treatment***	**Termín** ***Date***	**Dávka Cu (kg/ha)** ***Dose Cu* (kg/ha)**	**Termín** ***Date***	**Dávka Cu (kg/ha)** ***Dose Cu* (kg/ha)**	**Termín** ***Date***	**Dávka Cu (kg/ha)** ***Dose Cu* (kg/ha)**
I.	22. 7.	5.0	27. 7.	5.0	13. 7.	2.8
II.	12. 8.	5.0	14. 8.	2.9	1. 8.	5.0
III.	27. 8.	5.0	–	–	22. 8.	5.0
Cu celkem / ***Cu Total***	**(kg/ha)**	**15.0**		**7.9**		**12.8**

250 SC a Cuproxat SC. V roce 2010 byl použit přípravek Kuprikol 250 SC. Vzhledem k vysokému infekčnímu tlaku peronospory chmelové byl 13. července 2010 na pokusnou plochu neplánovaně aplikován přípravek Curzate K, což je směrný preparát obsahující jako účinné složky oxychlorid mědi (77 %) a systemický fungicid cymoxanil (4 %). Mimořádná aplikace měďnatého přípravku se následně projevila zvýšenými obsahy mědi na listech i v hlávkách na začátku pokusu. Konkrétní aplikační termíny a odpovídající dávky elementární mědi při každém ošetření vyjádřené v kg/ha v průběhu experimentálního období jsou uvedeny v *tabulce 3*. Při opakovaných nástřicích měďnatých fungicidů bylo v roce 2008 aplikováno celkem 15,0 kg elementární mědi na 1 hektar chmelnice, v roce 2009 7,9 kg a 12,8 kg v roce 2010.

Pokusy byly zahajovány v druhé polovině července a trvaly až do první dekády září. Doba trvání pokusů se v jednotlivých letech zásadně nelišila. Po každé aplikaci byly z pokusné chmelnice odebírány vzorky listů a hlávek namátkově z 10 rostlin ve výškových patrech od 2 do 6 metrů. Byly odebírány listy révové i pazochové v počtu 20 až 30 listů. Hmotnost zelených hlávek byla 20 až 25 gramů na začátku hlávkování a 50–75 gramů v období sklizně, tj. v druhé polovině srpna. Četnost odběrů byla v prvním týdnu po aplikaci častější, další odběry byly prováděny zpravidla v týdenních intervalech. Při vzorkování byly odebírány vzorky listů i hlávek ze všech dosud provedených ošetření. Tímto způsobem byly získány časové řady dat obsahu mědi na listech i v hlávkách pro každou aplikaci. Sušení rostlinného materiálu bylo provedeno volně na vzduchu v temné místnosti při pokojové teplotě. Suché vzorky hlávek a listů byly v akreditované laboratoři analyzovány na obsah elementární mědi metodou emisní atomové spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu (ICP-AES). Mineralizace vzorků byla provedena mikrovlnným rozkladem v prostředí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku. Variační koeficient analytického stanovení byl 4,2 % rel. s limitem stanovitelnosti 1,5 mg Cu/kg.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky stanovení obsahu mědi na chmelových listech a v chmelových hlávkách jsou uvedeny v *tab. 4* a *5*. Údaje o obsahu mědi se vztahují na jeden průměrný vzorek listů či hlávek odebraný v daném termínu. Zjištěné hodnoty ukazují, že obsahy mědi v hlávkách jsou po aplikaci fungicidních přípravků podstatně nižší než na listech. Je to dáno příznivějším poměrem povrch/hmotnost, který se u chmelových listů odrůdy Agnus pohybuje v rozmezí 45–50 cm^2/g (révové) a 50 až 60 cm^2/g (pazochové). U nesušených hlávek je tento poměr přibližně třetinový a pohybuje se převážně v hodnotách 15–20 cm^2/g [18]. Experimenty byly provedeny v době, kdy vývoj listové plochy chmelových rostlin byl dokončen. Naproti tomu u hlávek pokus probíhal po dobu celého vývojového cyklu od stadia květu až do dosažení sklizňové zralosti. Postupný nárůst velikosti hlávek se výrazným způsobem projevil na poklesu obsahu mědi s časem. Výsledky stanovení obsahu mědi na listech i v hlávkách v *tabulkách 3* a *4* ukazují, že aplikace 5 kg mědi na hektar chmelnice vzrostlého porostu odrůdy Agnus zvýší obsah mědi na chmelových listech min. o 1000 mg/kg, v hlávkách v období intenzivního zrání vede stejná dávka mědi ke zvýšení o cca 300 mg/kg. Těsné korelace mezi dávkou aplikované mědi a jejím obsahem ve chmelu však neexistují. Například v roce 2008 byl obsah mědi na listech po prvním ošetření na úrovni 1700–1900 mg/kg, v roce 2009 pouze 900–1000 mg/kg, přestože dávka elementární mědi byla v obou letech shodně 5 kg/ha. V roce 2010 byla do začátku srpna aplikována dávka 7,8 kg mědi/ha a výsledný obsah na listech byl na hladině 1400 až 1600 mg/kg. Nedosáhl úrovně z ročníku 2008. Dalšími ošetřeními v průběhu srpna se ob-

was applied. With respect to high infection pressure of downy mildew Curzate K was applied out of plan on July 13th 2010. The exceptional application of copper increased its contents on leaves (109 mg/kg) at the start of the test. Application terms and amounts of elementary copper after each treatment expressed in kg/ha are summarized in *Tab. 3*. In 2008 totally 15 kg of elementary copper was applied in three treatments, in 2009 7.9 kg and 12.8 kg of copper in 2010.

Spraying tests were started in the second half of July and lasted till the first decade of September. Samples of hop leaves and hop cones were taken after each treatment randomly from 10 plants at the height of 2–6 meters in appr. one week intervals. Bine and lateral leaves were taken at amount of 20–30 pcs. The frequency of sampling in the course of the first week was higher, further samples were taken once a week. Samples were taken from all treatments applied to date. Time dependence of copper contents on leaves and in cones were obtained for each application. Drying of plant material was peformed at ambient temperature in a dark room. Dry samples of cones and leaves were analysed in an authorised laboratory for the content of elementary copper by ICP-AES method. Mineralisation of samples was performed by microwave decomposition in the environment of nitric acid and hydrogen peroxide. Detection limit was 1.5 mg Cu/kg.

3 RESULTS AND DISCUSSION

Copper contents in hop cones and on leaves are summarized in *Tab. 4, 5*. The amount of copper on hop leaves is 2–5 times higher compared to cones. It is given by lower ratio surface/weight, which is 15-20 cm^2/g for cones and 45-60 cm^2/g for leaves [18]. The experiments were carried out in the period when development of leaf area was finished. On the contrary, experiment period of hop cones comprised the whole development cycle from the stage of flowering to the harvest ripeness. Gradual increase of hop cone size had significant effect to the level of elementary copper. Application of 5 kg copper per hectare of vigorous growth of Agnus increases its content on hop leaves by 1000 mg/kg at least. The same amout of copper applied to cones during ripening period increases its content by 300 mg/kg. Tight correlation between the amount of copper applied and its content in hops does not exist.

Time series of the copper content on leaves show perceptible, though irregular, decreasing trend. It is probably caused by washing off, or dissolving copper compounds by atmospheric water (rain, dew). Detailed analysis of rainfalls and frequency in the period July–September 2008–2010 is shown in *Tab. 6* and on *Fig. 3*. Precipitations do not precisely correlate with decrease of copper in hops. It is probably given by uncertainties during taking samples, which is generally difficult. Contents of elementary copper in cones after the first application dose moved in the interval of 300 to 400 mg/kg. The second copper treatment increased its content to the level of 500 mg/kg. The highest content of copper in cones (834 mg/kg) was found in 2008 immediately after the third copper application. Final copper content in cones after all treatment was in the interval of 323 mg/kg in 2010 and 471 mg/kg in 2008. Time series of the copper conten in cones show decreasing trend similar to leaves (*Fig. 5)*. Except of environmental reason discussed above gradual increase of hop cones size from the stage of flowering at the last decade of July to the mature size in the last decade of August plays important role. Similar trends were monitored at testing of copper fungicide Curenox 50 several years ago [19].

Small copper demands of plants under the level of 20-25 mg/kg confirm contents of copper in untreated cones in 2009 (*Tab. 4*) and

Tab. 4 Obsah mědi na chmelových listech po aplikaci měďnatých fungicidů v období 2008 až 2010 (mg/kg) / *Contents of elementary copper in hop leaves (mg/kg) after fungicide applications*

2008							2009					2010				
Datum / *Date*	I. Nástřik / *I.Application*		II. Nástřik / *II. Application*		III. Nástřik / *III. Application*		Datum / *Date*	I. Nástřik / *I. Application*		II. Nástřik *II. Application*		Datum / *Date*	I. Nástřik / *I. Application*		II. Nástřik *II. Application*	
	Dny / *Days*	Obsah / *Content*	Dny / *Days*	Obsah / *Content*	Dny / *Days*	Obsah / *Content*		Dny / *Days*	Obsah / *Content*	Dny / *Days*	Obsah / *Content*		Dny / *Days*	Obsah / *Content*	Dny / *Days*	Obsah/ *Content*
21. 7.	control	13	–	–	–	–	25. 7.	control	15	–	–	29.7.	control	383	–	–
22. 7.	2 h	1778	–	–	–	–	27. 7.	2 h	1010	–	–	2.8.	1	1598	–	–
24. 7.	2	1918	–	–	–	–	28. 7.	1	957	–	–	4.8.	3	1442	–	–
28. 7.	6	1580	–	–	–	–	31. 7.	4	892	–	–	8.8.	7	1599	–	–
31. 7.	9	1316	–	–	–	–	3. 8.	7	900	–	–	16.8.	14	1425	–	–
8. 8.	17	1566	–	–	–	–	6. 8.	10	888	–	–	23.8.	22	1151	1	2021
13. 8.	23	924	1	2508	–	–	11. 8.	15	878	–	–	30.8.	29	1071	8	2148
14. 8.	24	843	2	1557	–	–	14. 8.	–	–	2 h	1175	6.9.	36	1100	15	2396
18. 8.	28	746	6	2091	–	–	17. 8.	21	744	3	1027	10.9.	40	1281	19	1698
25. 8.	35	835	13	1686	–	–	24. 8.	28	711	10	1269					
28. 8.	38	726	16	1115	1	2267	28. 8.	32	479	14	1094					
1. 9.	42	665	20	823	5	2637										
5. 9.	46	694	24	770	9	1814										

Tab. 5 Obsah mědi v chmelových hlávkách po aplikaci měďnatých fungicidů v období 2008 až 2010 (mg/kg) / *Contents of elementary copper in hop cones (mg/kg) after fungicide applications*

2008							2009					2010				
Datum / *Date*	I. Nástřik / *I.Application*		II. Nástřik / *II. Application*		III. Nástřik / *III. Application*		Datum / *Date*	I. Nástřik / *I. Application*		II. Nástřik *II. Application*		Datum / *Date*	I. Nástřik / *I. Application*		II. Nástřik *II. Application*	
	Dny / *Days*	Obsah / *Content*	Dny / *Days*	Obsah / *Content*	Dny / *Days*	Obsah / *Content*		Dny / *Days*	Obsah / *Content*	Dny / *Days*	Obsah / *Content*		Dny / *Days*	Obsah / *Content*	Dny / *Days*	Obsah/ *Content*
21. 7.	control	–	–	–	–	–	25. 7.	control	6	–	–	29. 7.	control	109	–	–
22. 7.	2 h	–	–	–	–	–	27. 7.	2 h	371	–	–	2. 8.	1	312	–	–
24. 7.	2	–	–	–	–	–	28. 7.	1	302	–	–	4. 8.	3	316	–	–
28. 7.	6	–	–	–	–	–	31. 7.	4	286	–	–	8. 8.	7	219	–	–
31. 7.	9	–	–	–	–	–	3. 8.	7	395	–	–	16. 8.	14	176	–	–
8. 8.	17	405	–	–	–	–	6. 8.	10	417	–	–	23. 8.	22	208	1	482
13. 8.	23	–	1	–	–	–	11. 8.	15	335	–	–	30. 8.	29	175	8	505
14. 8.	24	201	2	504	–	–	14. 8.	–	–	2 h	489	6. 9.	36	153	15	491
18. 8.	28	133	6	487	–	–	17. 8.	21	415	3	501	10. 9.	40	144	19	323
25. 8.	35	122	13	309	–	–	24. 8.	28	429	10	556					
28. 8.	38	93	16	247	1	834	28. 8.	32	350	14	456					
1. 9.	42	86	20	143	5	705										
5.9.	46	108	24	201	9	471										

Tab. 6 Srážkové úhrny v období červenec–září 2008 až 2010/ ÚH Stekník / *Rainfalls (mm) in the period July-September 2008-2010*

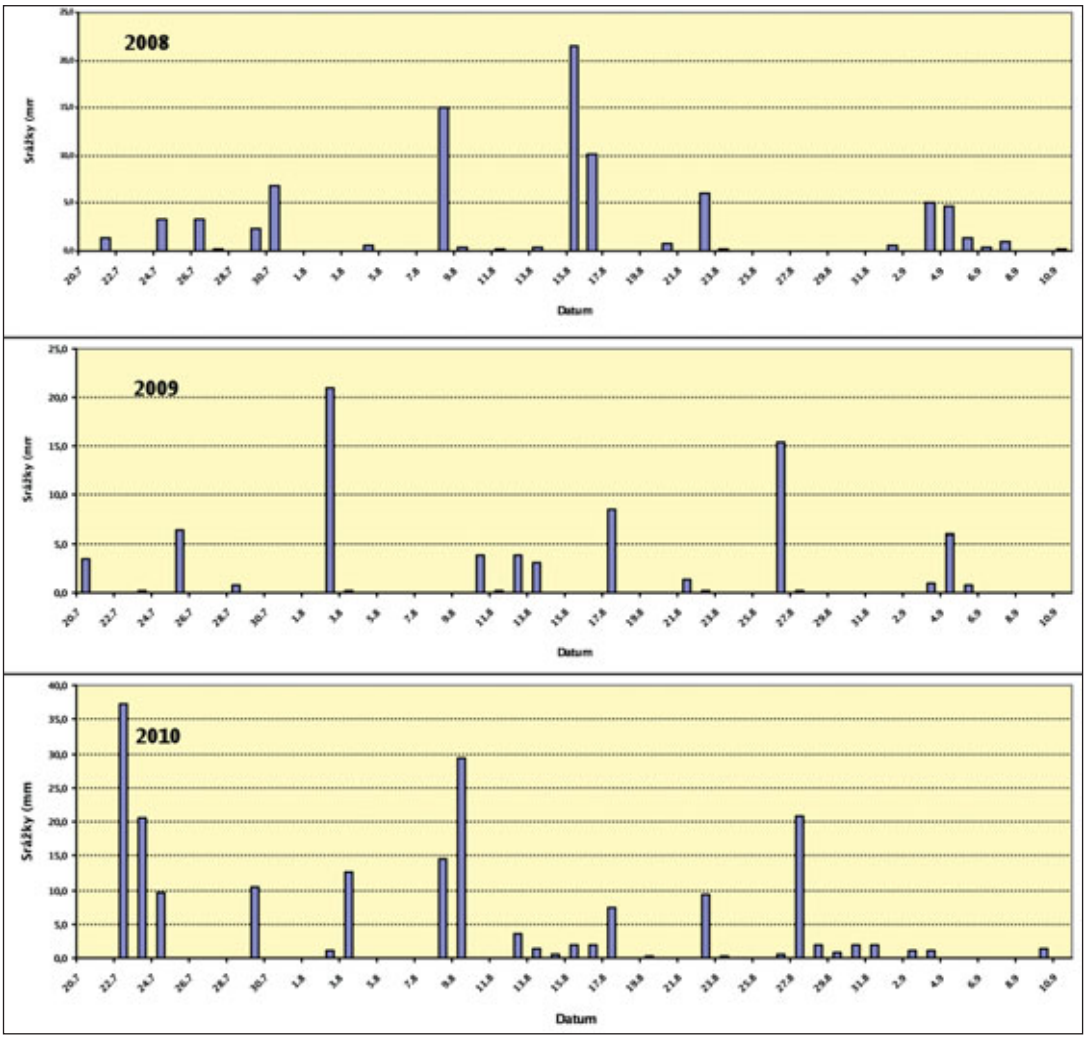
Rok/Dekáda	**červenec/*July***			**srpen/*August***			**září/*September***
Year/Decade	**I.**	**II.**	**III.**	**I.**	**II.**	**III.**	**I.**
2008	17.6	19.6	17.6	16.0	34.0	6.2	13.2
2009	25.4	44.6	7.4	25.0	15.4	17.2	7.8
2010	8.2	28.0	77.8	57.4	17.4	37.4	3.6

sahy mědi na listech dále zvýšily skokovým způsobem na úrovně 2000 až 2500 mg/kg. V časových řadách obsahu mědi na listech je patrný, byť nepravidelný, pokles s časem. Příčinu poklesu obsahu mědi je možno přičíst na vrub smývání, popřípadě rozpouštění sloučenin mědi atmosférickou vodou (déšť, rosa). Podrobnější rozbor dešťových srážek v období červenec–září v letech 2008 až 2010 v *tab. 6* a na *obr. 3* ukazuje, že srážkové úhrny vždy časově nekorelují s poklesem mědi na listech, popř. v hlávkách. Nerovnoměrnosti v poklesu obsahu mědi v časových řadách si lze vysvětlit nejistotou při vzorkování, které je u chmele obecně velmi obtížné.

Obsah mědi v hlávkách se po první aplikační dávce pohyboval ve všech ročnících v intervalu 300 až 400 mg/kg. Druhá aplikace zvýšila

organic hops from 2010 crop harvest (22 mg/kg, *Tab. 7*). Copper contents found in hops from territories with no downy mildew occurence (China, India, South Africa, Argentina) confirm that natural copper contents in hops are below 20 mg/kg [20]. High contents of copper on hop leaves should not be underestimated. Copper from leaves is brought into harvested hops in the form of biological admixtures. Potential contribution of biological admixtures shoud not exceed 60 mg/kg if hops contain up to 3 % of admixtures (leaves) and copper contents on hop leaves is max. 2000 mg/kg. Contents of elementary copper in commercial samples of Czech, German and Polish hops from the 2009 and 2010 crop harvest are shown in *Tab. 7*. Most of values in Czech hops are in the interval of 20 300 mg/kg. The highest

obsah mědi na úroveň cca 500 mg/kg. Nejvyšší obsah mědi v hlávkách ve výši 834 mg/kg byl zaznamenám v roce 2008 bezprostředně po třetím postřiku. Finální obsah mědi v hlávkách po aplikaci všech postřiků se pohyboval v intervalu 323 mg/kg v roce 2010 až 471 mg/kg v roce 2008. V časových řadách obsahu mědi v hlávkách je také patrný sestupný trend podobně jako u listů. Kromě již diskutovaných povětrnostních vlivů se u hlávek významně uplatňuje postupný nárůst velikosti a hmotnosti hlávky od květu do dosažení plné zralosti, tj. od poslední dekády července do poloviny srpna. Podobný časový průběh obsahu mědi v hlávkách měl před lety i pokus testování měďnatého přípravku Curenox 50 [19]. U druhé, resp. třetí dávky měďnatých fungicidů dávkovaných v druhé polovině srpna vliv růstu hlávky postupně slábne a nabývají na významu povětrnostní vlivy. Jak již bylo zmíněno v úvodu, požadavky rostlin na měď jsou malé a pohybují se v rozmezí 2 až 25 ppm v sušině. S touto hodnotou souhlasí nálezy mědi na neošetřených listech a hlávkách v letech 2008 a 2009, které jsou uvedeny v *tab. 4, 5,* a obsah mědi v biochmelu ze sklizně 2010 (22 mg/kg, *tab.7*). Obsahy mědi stanovené v zahraničních chmelech z teritorií, kde se peronospora nevyskytuje (Čína, Indie, JAR, Argentina), rovněž ukazují, že přirozené obsahy mědi ve chmelu skutečně leží pod 20 mg/kg [20]. Vysoké obsahy mědi na listech nelze podceňovat. Z nich se kovová měď dostává do sklizeného chmele ve formě biologických příměsí. Tento příspěvek může být za určitých okolností významný, vezmeme-li v úvahu, že převážná část sklizeného chmele obsahuje do 3 % hm. biologických příměsí. Potenciální příspěvek biologických příměsí by neměl být vyšší než 60 mg/kg za předpokladu, že obsah mědi na listech nepřesáhne hladinu 2000 mg/kg a příměsi budou tvořit výhradně zbytky listů. V *tab. 7* jsou uvedeny obsahy mědi v komerčních vzorcích českých, německých a polských chmelů několika odrůd a různých pěstitelských oblastí ze sklizní 2009 a 2010. Převážná většina hodnot naměřených v českých chmelech se pohybuje v intervalu 20 až 300 mg/kg. I nejvyšší naměřená hodnota u odrůdy Premiant ve výši 633 mg/kg zdaleka nedosahuje MRL 1000 mg/kg mědi pro země EU (*tab. 1*). Srovnatelné hodnoty byly naměřeny v českých chmelech ze sklizní 1990 a 1992 [15]. Průměrný obsah mědi se tehdy pohyboval v rozmezí 250 až 350 mg/kg s tím rozdílem, že se ojediněle vyskytly obsahy přesahující hodnotu 1000 mg/kg. Extrémně vysoké obsahy mědi ve chmelu mohou být způsobeny např. nedodržením technologické kázně, nedokonalou homogenizací práškovitých přípravků aj. V podstatě stejným způsobem je možno hodnotit i obsahy mědi v německých chmelech. Vedle obsahů v intervalu 100 až 400 mg/kg se objevuje jedna vysoká hodnota u odrůdy Taurus (807 mg/kg), ale také hodnota velmi nízká 19 mg/kg u odrůdy Hallertauer Tradition na úrovni přirozeného pozadí. Podstatně nižší obsahy mědi byly zjištěny v polských chmelech. Je to dáno tím, že se jedná o klimaticky odlišnou chmelařskou oblast Pulawy–Lublin v jihovýchodním Polsku s nižším infekčním tlakem houbových chorob.



Obr. 3 Časové rozložení srážek v období červenec–září v letech 2008 až 2010/ Stekník /
Fig. 3 Rainfalls distribution at the period July-September in 2008-2010 seasons

determined value in Premiant variety (633 mg/kg) is still far from the limit 1000 mg/kg valid for EU countries. Comparable data were obtained in Czech hops from the crop harvests 1990 and 1992 [15]. Individual values were mostly in the range of 250–350 mg/kg and just rarely contents above 1000 mg/kg were determined. Extremely high contents of copper in hops can be caused by technology mistakes – insufficient homogenisation of powdery preparatives before application. Therefore liquid formulations of copper fungicides are commonly recommended to hop growers in Czech republic. Most of values in German hops are in the interval of 100 to 400 mg/kg. There are also two limit values, high content in Taurus 807 mg/kg and low value of 19 mg/kg (Hallertauer Tradition) at the level of natural background as well. Copper contents in Polish hops are substantialy lower. Hop growing region is located nearby of Pulawy-Lublin in south-east Poland with different climate and lower infection pressure of fungal diseases.

4 CONCLUSIONS

Repeated applications of copper fungicides increase the level of elementary copper in hops up to 500mg/kg if total amount of copper does not exceed 15 kg/ha of hop garden. Contents of copper on leaves are 2–5 fold higher at the same application doses. Application of 5 kg elementary copper/ha on full grown Agnus variety increases content of copper on hop leaves by 1000 mg/kg at least. The same amount of copper applied to full size hop cones increases copper content by 300 mg/kg. Maximum contents of copper at repeated applications of copper fungicides are far below the limit of 1000 mg/kg – MRL valid for EU countries. Tight correlations between the dose of aplied copper and its content in harvested hops does not exit. Cop-

Tab. 7 Obsah mědi ve vzorcích českých, německých a polských odrůd chmele ze sklizní 2009 a 2010 / *Contents of copper in samples of Czech, German and Polish hops from 2009-2010 crop harvests*

Odrůda / *Variety*	**Obsah mědi / *Copper contents* (mg/kg)**	**Odrůda / *Variety***	**Obsah mědi / *Copper contents* (mg/kg)**
ČESKÁ REPUBLIKA – 2010 / *CZECH REPUBLIC – 2010*			
Agnus	106	Žatecký červeňák /*SAAZ*	148
Agnus	257	Žatecký červeňák /*SAAZ*	270
Fuggle	278	Žatecký červeňák /*SAAZ*	222
Premiant	74	Žatecký červeňák /*SAAZ*	214
Premiant	166	Žatecký červeňák /*SAAZ*	145
Premiant	270	Žatecký červeňák /*SAAZ*	160
Premiant	633	Žatecký červeňák /*SAAZ*	179
Premiant	189	Žatecký červeňák /*SAAZ*	112
Premiant	278	Žatecký červeňák /*SAAZ*	99
Sládek	234	Žatecký červeňák /*SAAZ*	192
Sládek	439	ŽPČ-biochmel	22
NĚMECKO – 2010 / *GERMANY 2010*			
Hallertauer Tradition	19	Herkules	328
Northern Brewer	206	Taurus	807
Perle	170	Spalter Select	249
Saphir	344	Opal	421
POLSKO – 2009			
Sybilla	44	Magnum	30
Lomik	33	Lubelski	153

4 ZÁVĚR

Výsledky opakovaných aplikací měďnatých fungicidů ve chmelnicích ukázaly, že obsahy mědi v hlávkách se pohybují do 500 mg/kg, pokud celková dávka mědi nepřesáhne množství 15 kg/ha chmelnice. Obsahy mědi na listech, při stejné aplikační dávce, jsou zhruba 2 až 5krát vyšší, což je dáno vysokou hodnotou poměru plochy ku hmotnosti. Aplikace 5 kg mědi na hektar chmelnice vzrostlého porostu odrůdy Agnus zvýší obsah mědi na chmelových listech min. o 1000 mg/kg. V hlávkách v období intenzivního zrání vede stejná dávka mědi ke zvýšení o cca 300 mg/kg. Maximální obsahy Cu i při opakovaných aplikacích měďnatých fungicidů jsou hluboko pod hodnotou 1000 mg/kg, což je MRL platný pro země EU**.** Těsné korelace mezi dávkou aplikované mědi a jejím obsahem ve chmelu však neexistují. Měď se z listů do sklizených hlávek dostává ve formě biologických příměsí. I z tohoto důvodu je žádoucí, aby obsah biologických příměsí při sklizni byl co nejnižší. Časový průběh obsahu mědi v hlávkách má mírně sestupný trend, který je dán především postupným zvětšováním jejich velikosti během zrání. Obdobný trend na listech ukazuje, že zde hrají roli i povětrnostní vlivy, zejména smývání, popř. rozpouštění měďnatých sloučenin atmosférickými srážkami. Ojedinělé nálezy přesahující hodnoty MRL lze přičíst na vrub technologickým chybám při provádění ochranných zásahů. Hodnota přirozeného pozadí obsahu elementární mědi ve chmelu je do 20–25 mg/kg.

Poděkování

Tato studie byla vypracována jako součást řešení projektu NAZV QH81049 s finanční podporou Ministerstva zemědělství ČR.

per from leaves is brought into harvested hops in the form of biological admixtures. Time series of the copper content in cones show perceptible decreasing trend. It can be explained by gradual increase of hop cones size during maturation. The similar trend on hop leaves is probably caused by washing off or dissolving of copper compounds by atmospheric water. Natural content of copper in hops is up to 20–25 mg/kg.

Acknowledgements

This study was elaborated as a part of the project NAZV QH81049 with financial support of Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

Literatura / *References*

1. Vostřel, J., Klapal, I., Kudrna, T.: Metodika ochrany hybridních odrůd chmele proti peronospoře chmelové. Metodika pro praxi 8/08. Chmelařský institut Žatec, 2008. ISBN 978-80-86836-75-1.
2. Vostřel, J., Klapal, I., Kudrna, T.: Ochrana ozdraveného ŽPČ a hybridních odrůd chmele proti peronospoře chmelové v tršické chmelařské oblasti. Metodika pro praxi 8/10. Chmelařský institut Žatec, 2010. ISBN 978-80-87357-08-8.
3. Marsh, R. W., Martin, H., Munson, R.G.: Studies upon the copper fungicides; the distribution of fungicidal properties among certain copper compounds. Annals of Appl. Biology **24**, 1937, 853- 866.
4. Sommer, A. L.: Copper as an essential for plant growth. Plant Physiology **6**, 1931, 339- 345.
5. Yruela, I.: Copper in plants. Braz. J. Plant Physiology **17**, 2005, 145- 156.
6. Tesař, S., et al.: Výživa rostlin a hnojení, Praha, 1992, 118. ISBN 80-85467-99-2.
7. Shorrocks, V. M., Alloway, B. J.: Copper in plant, animal and human nutrition. Copper Development Association, 1988.
8. Portner, J., Rossbauer, G., Bauer, M.: Nährstofaufnahme des Hopfens. Hopfen-Rundschau, Nr. 5, 2006, 116–120.
9. Čejka, P., Kellner, V., Frantík, F.: Význam mědi v pivovarské technologii. Kvasny Prum. **35**, 1989, 131–136.
10. Morimoto, M.: Effect of Bordeaux mixture treatment on blackcurrant/muscat like odors in hops and beer. J. Am. Soc. Brew. Chem. **68**, 2010, 30- 33.
11. Irwin, A. J., Barker, R. L., Pipasts, P.: The role of copper, oxygen and polyphenols in beer flavor instability. J. Am. Soc. Brew. Chem. **49**, 1991, 140–149.
12. Bamforth, C. W.: The science and understanding of the flavour stability of beer: a critical assessment. Brauwelt International, 1999(2) 98–110.
13. Mäder, C., Sommer, G., Thurl, S.: Veränderung der Gehalte der Spurenelemente Blei, Cadmium, Kupfer und Zink während der Bierherstellung. Monatschr. Brauwiss. **50**, 1997, 138–141.
14. Dostálek, P., Čepička, J., Enge, J., Koplík, R., Čurdová, E.: Pivo jako nápoj s nejnižším obsahem těžkých kovů. Kvasny Prum. **47**, 2001, 327–330.
15. Krofta, K., Frantík, F.: Těžké kovy a chmel. Chmelařství **68**, 1995, 13–17.
16. Donhauser, S., Geiger, E., Jacob, F.: Kritische Spurelemente in Hopfen und Hopfenprodukten. Brauwelt **127**, 1987, 52–59.
17. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 298/1997. Sbírka zákonů č. 298/1997, 5474.
18. Krofta, K.: nepublikované výsledky, 2009.
19. Krofta, K.: Zpráva o provedení reziduálního pokusu přípravku Curenox 50. Chmelařský institut Žatec, 2002.
20. Krofta, K., Frantík, F., Kellner, V.: Výskyt vybraných těžkých kovů ve chmelu. Kvasny Prum. **40**, 1994, 329–333.

Recenzovaný článek / Reviewed paper
Do redakce došlo / Manuscript received: 28. 5. 2011
Přijato k publikování / Accepted for publication: 20. 10. 2011