



**WYDZIAŁ
NAUK O ŻYWNOSCI
I BIOTECHNOLOGII**

SPRAWOZDANIE

z prowadzenia w 2015 r. badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w zakresie rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. z 2015 r. poz. 1170)

pt.: Uprawy polowe metodami ekologicznymi: badania w zakresie doboru odmian w uprawach polowych zalecanych do towarowej uprawy ekologicznej.

Realizowany przez: **Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**

finansowany zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. z 2015 r. poz. 1170) na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 15.10.2015 r. nr: HORre-msz-780-13/15(458)

Kierownik tematu: **prof. dr hab. Ewa Solarska**

Główni wykonawcy: mgr inż. Jan Morlewski, dr inż. Bożena Sosnowska, mgr inż. Marzena Marzec

Cel realizacji tematu:

Celem proponowanych badań jest ocena przydatności nowych polskich odmian chmielu do uprawy w ekologicznym systemie produkcji

Omówienie przebiegu badań

Doświadczenie przeprowadzono na dwóch plantacjach chmielu oddalonych od siebie o około 3 km:

- w Jastkowie z odmianami chmielu Magnat i Puławski (po ok. 450 roślin każdej odmiany)
- w Natalinie z odmianą chmielu Magnat i Puławski (po ok. 500 roślin każdej odmiany)

Zabiegi ochrony przeciw chorobom chmielu: mączniakowi rzekomemu i mączniakowi prawdziwemu oraz szkodnikom tej rośliny: mszycy śliwowo- chmielowej, przędziorkowi chmielowcowi, opuchlakowi lucernowcowemu i pędrakom prowadzono na plantacjach przy użyciu środków na bazie probiotycznych mikroorganizmów EM-Farming oraz fermentowanych ekstraktów roślinnych przygotowywanej z mniszka lekarskiego, mleczu polnego, wrotyczu pospolitego i pokrzywy zwyczajnej.

Probiotyczne mikroorganizmy stosowano w następujących formach i mieszaninach z fermentowanymi ekstraktami roślinnymi:

- **Ema5** - efektywne mikroorganizmy aktywne z alkoholem etylowym i octem winnym
- **EmFarma** - efektywne mikroorganizmy aktywne z melasą z trzciny cukrowej i wodą bez chloru.

Stosowano grzybobójczy środek chemiczny: Miedzian 50 WP dopuszczony do stosowania w rolnictwie ekologicznym

W okresie wegetacji roślin chmielu w różnych fazach rozwojowych stosowano następujące ilości cieczy roboczej na 1 hektar:

- od ukazywania się pędów do początku kwitnienia 650 – 1000 l
- od początku kwitnienia do końca zawiązywania szyszek 1000 – 1500 l.
- od końca zawiązywania szyszek do zbioru 1500 – 2300 l.

Na jednej połowie roślin każdej odmiany ochronę przed chorobami i szkodnikami stosowano przy użyciu mieszaniny Ema z ekstraktami roślinnymi przez cały okres wegetacji chmielu. Na drugiej połowie roślin każdej odmiany do końca lipca ochronę przed chorobami

i szkodnikami stosowano przy użyciu mieszaniny Ema z ekstraktami roślinnymi, a od początku sierpnia na tej części plantacji stosowane wyłącznie ekstrakty roślinne.

Oceniono plon szyszek zebranych oddzielnie z każdej odmiany i miejsca uprawy, a plony przeliczano na pełną obsadę roślin na 1 hektarze.

W szyszkach tych odmian oceniono występowanie metabolitów wtórnych oraz zawartość alfa i beta kwasów.

Po zbiorach chmielu z poszczególnych części plantacji pobrano próbki gleby w celu analizy chemicznej i mikrobiologicznej oraz określenia zawartości próchnicy.

Pełny wykaz zabiegów agrotechnicznych przeprowadzonych na plantacjach przedstawiono w tabeli nr 1.

Tabela 1 Wykaz zabiegów agrotechnicznych przeprowadzonych na chmielu z odmianami Magnat i Puławski w Jastkowie i w Natalinie w 2015 roku
Jastków

Lp.	Data	Rodzaj zabiegu	Ilość/ha
1.	05.05.2015 r.	Mączka bazaltowa – rozsiewanie	1 tona
2.	08.05.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus oraz ekstraktem z pokrzywy i z wrotyczu	20 l 30 l 30 l
3.	14.05.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z pokrzywy i z wrotyczu	20 l 3 l 30 l 30 l
4.	27.05.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z pokrzywy i z wrotyczu	20 l 3 l 30 l 30 l
5.	08.06.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem Miedzian 50 WP	2,3 kg
6.	18.06.2015 r.	Nawożenie obornikiem końskim	10 ton
7.	24.06.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z pokrzywy i z mniszka	20 l 3 l 30 l 30 l
8.	04.07.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 50 l 40 l 40 l
9.	15.07.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma	

		Plus Ema5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 3 l 50 l 40 l 40 l
10.	31.07.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Plus oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 50 l 40 l 40 l
11.	10.08.2015 r.	Opryskiwanie roślin EmFarma Plus Ema5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 5 l 50 l 40 l 40 l
12.	18.08.2015 r.	Opryskiwanie roślin EmFarma Plus Ema5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 5 l 50 l 40 l 40 l
13.	26.08.2015 r.	Opryskiwanie roślin EmFarma Plus Ema5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 5 l 50 l 40 l 40 l
14.	02.09.2015 r.	Opryskiwanie roślin EmFarma Plus Ema5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 5 l 50 l 40 l 40 l
15.	05.10.2015 r.	Obornik koński	10 ton

Natalin

Lp.	Data	Nazwa zabiegu	Ilość/ha
1.	30.04.2015 r.	Nawożenie Bokashi (bezpośrednio na karpę)	0,3 kg/karpę
2.	05.05.2015 r.	Mączka bazaltowa - rozsiewanie	1 tona
3.	08.05.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus oraz ekstraktem z pokrzywy i z wrotyczu	20 l 30 l 30 l
4.	14.05.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z pokrzywy i z wrotyczu	20 l 3 l 30 l 30 l
5.	27.05.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus oraz ekstraktem z pokrzywy i z wrotyczu	20 l 30 l 30 l

6.	08.06.2015 r.	Miedzian 50 WP	2,3 kg
7.	18.06.2015 r.	Nawożenie obornikiem końskim	10 ton
8.	24.06.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z pokrzywy i z wrotyczu	20 l 3 l 30 l 30 l
9.	04.07.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 50 l 40 l 40 l
10.	15.07.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 3 l 50 l 40 l 40 l
11.	31.07.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 50 l 40 l 40 l
12.	10.08.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 5 l 50 l 40 l 40 l
13.	18.08.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 5 l 50 l 40 l 40 l
14.	26.08.2015 r.	Opryskiwanie roślin preparatem EmFarma Plus Ema 5 oraz ekstraktem z wrotyczu, z mleczu i z mniszka	20 l 5 l 50 l 40 l 40 l
15.	02.09.2015 r.	Oprysk: EmFarma Plus Ema5 Wyciąg z wrotyczu Wyciąg z mleczu Wyciąg z mniszka	20 l 5 l 50 l 40 l 40 l
16.	05.10.2015 r.	Nawożenie obornikiem końskim	10 ton

Sposób, terminy oraz częstotliwość dokonywania oceny skuteczności zabiegów ochronnych:

- obserwacje porażenia roślin dotyczącego infekcji wtórnej powodowanej przez *Pseudoperonospora humuli* i *Sphaerotheca humuli* prowadzono w dniach wykonywania zabiegów oraz w czasie zbioru szyszek chmielu na roślinach chronionych i na roślinach kontrolnych, na których nie prowadzono zabiegów ochronnych. Występowanie choroby rejestrowano na podstawie procentowego udziału porażonych liści, kwiatów i szyszek na 10 losowo wybranych i zaznaczonych roślinach w centralnej części plantacji. W okresie zbioru z każdej plantacji ścinano 10 losowo wybranych pędów. Ocenę porażenia 500 powietrznie wysuszonych szyszek z każdej plantacji przeprowadzono według następującej skali:

- a – liczba szyszek bez objawów porażenia
- b – liczba szyszek lekko porażonych
- c – liczba szyszek średnio porażonych
- d – liczba szyszek silnie porażonych

Standardową wartość porównawczą (S) wyliczano według następującego wzoru:

$$S = \frac{a \times 1 + b \times 2 + c \times 3 + d \times 4}{500}$$

Skuteczność zabiegu (**Sk**) wyliczano według wzoru Abbotta:

$$Sk = \left(1 - \frac{Kz \times Ap}{Kp \times Az}\right) \times 100$$

Kz – liczba szyszek zdrowych z roślin kontrolnych
Kp – liczba szyszek porażonych z roślin kontrolnych
Ap – liczba szyszek porażonych z roślin chronionych
Az – liczba szyszek zdrowych z roślin chronionych

lub

$$Sk = \frac{(Kn - An) \times 100}{Kn}$$

Kn- np. liczba szyszek porażonych na kontroli, liczba mszyc na kontroli

An – np. liczba szyszek porażonych na kombinacji. doświadczalnej, liczba mszyc na kombinacji doświadczalnej

- ocenę skuteczności badanych środków w ochronie roślin chmielu przed żerowaniem mszycy śliwowo – chmielowej i przędziorka chmielowca prowadzono licząc mszyce i przędziorki żerujące na roślinach chronionych i na roślinach kontrolnych, na których nie prowadzono zabiegów ochronnych przed zabiegiem oraz 2 dni, 7 dni, 10 dni i 14 dni po każdym zabiegu. Mszyce i przędziorki liczone na 50 liściach pobieranych losowo z 25 pnączy ze środka każdej plantacji (25 liści z górnej części pnączy, 13 z części środkowej i 12 z dolnej) i określano dokładnie lub szacunkowo liczbę żywych mszyc i roztoczy. Jeśli na liściu znajdowało się mniej niż 20 osobników, liczone je dokładnie, a jeśli na liściu było więcej niż 20 osobników, ich liczbę określano szacunkowo.

Skuteczność zabiegu (**Sk**) wyliczano według wzoru Abbotta:

$$Sk = \left(1 - \frac{A1 \times K2}{A2 \times K1} \right) \times 100$$

A1 – liczba mszyc lub roztoczy na roślinach kontrolnych przed zabiegiem

A2 – liczba mszyc lub roztoczy na roślinach kontrolnych po zabiegu

K1 – liczba mszyc lub roztoczy na roślinach chronionych przed zabiegiem

K2 – liczba mszyc lub roztoczy na roślinach chronionych po zabiegu

W czasie zbioru szyszek oceniano stopień ich uszkodzenia oraz określano obecność mszyc i roztoczy w szyszkach: z każdej plantacji zbierano 50 losowo wybranych pnączy i z każdego do analizy pobierano 10 szyszek (razem 500 szyszek z każdej plantacji).

Po zbiorze na plantacjach z obydwoma odmianami pobrano próbki gleby do analizy chemicznej i mikrobiologicznej. Ponadto pobrano próbki szyszek w celu określenia zawartości alfa-kwasów. Próbkę gleby do analizy mikrobiologicznej oraz próbki szyszek do określenia zawartości alfa-kwasów pobrano również od plantatora chmielu konwencjonalnego, którego plantacja zlokalizowana jest w tej samej miejscowości.

Określenie zawartości suchej masy

Zawartość suchej masy w szyszkach chmielu oznaczono według Polskiej Normy [PN-90/A-75101/03].

Oznaczanie zawartości tanin

Taniny oznaczano metodą spektrofotometryczną według metodyki Canbas i wsp. 2001. Jeden gram rozdrobnionego chmielu przeniesiono do kolby miarowej o pojemności 100 ml, uzupełniono wodą destylowaną do kreski i pozostawiono do maceracji przez 4 godziny. Zawartość kolby odwirowano i 10 ml czystej fazy przeniesiono za pomocą pipety do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Dodano 5 ml odczynnika Folin–Denis oraz 10 ml roztworu nasyconego węgla sodu. Uzupełniono wodą destylowaną do kreski. Absorbancję odczytano przy długości fali $\lambda = 760$ nm. Użyto spektrofotometru UV/VIS 5625 UNICAM. Zawartość tanin odczytano z krzywej wzorcowej dla kwasu taninowego (50-500 mg/l). Wyniki wyrażono, jako % suchej masy.

Określenie stężenia alfa- i beta-kwasów

Alfa- i beta-kwasy mierzono metodą spektrofotometryczną wg metodyki Canbas i wsp. 2001 z własną modyfikacją. Szyszki chmielu rozdrabniano za pomocą urządzenia Thermomix firmy Vorwerk przez 30 s., przy 10 000 obr./min. Jeden gram rozdrobnionego chmielu przeniesiono do kolby stożkowej ze szlifem o pojemności 100 ml, dodano 30 ml benzenu, zamknięto kolbę korkiem i pozostawiono do maceracji przez 10 min. Supernatant przesączono przez sączek do kolby miarowej o pojemności 50 ml i uzupełniono do kreski benzenem. 0,2 ml klarownego filtratu przeniesiono przy użyciu pipety do kolby miarowej o pojemności 100 ml, dodano 0,2 ml 0,1 N NaOH oraz 19,6 ml metanolu. Absorbancję zmierzono przy trzech długościach fali: 275, 325, 355 nm. Użyto spektrofotometru UV/VIS 5625 UNICAM. Alfa-i beta-kwasy zostały obliczone z następujących wzorów:

$$\% \alpha\text{-kwasów} = d (73,79 A_{325} - 51,56 A_{355} - 19,07 A_{275})$$

$$\% \beta\text{-kwasów} = d (55,57 A_{355} + 5,10 A_{275} - 47,59 A_{325})$$

gdzie: d – rozcieńczenie

Określenie całkowitej zawartości związków fenolowych, flawan-3-ols i proantocyjanidyn

Zawartość związków fenolowych oznaczano zmodyfikowaną metodą spektrofotometryczną według metodyki Magalhaes i wsp. 2010.

- 1) Usunięcie składników hydrofobowych

Sześć gram rozdrobnionych szyszek ekstrahowano z dodatkiem 100 ml dichlorometanu przez ultrasonifikację 30 min i wstrząsano przez kolejne 30 minut. Ekstrakt przefiltrowano przez sączek umieszczony na lejku. Pozostałość razem z sączkiem ponownie ekstrahowano za pomocą ultrasonifikacji z dodatkiem 100 ml świeżego rozpuszczalnika przez 30 minut. Ekstrakt przefiltrowano przez sączek umieszczony na lejku. Rozdrobniony chmiel (pozostałości) pobrano do dalszych analiz.

2) Ekstrakcja polifenoli z chmielu

Po usunięciu związków hydrofobowych chmiel ekstrahowano z dodatkiem 100 ml roztworu aceton/woda (70:30 v/v) poprzez ultrasonifikację w czasie 15 min i wstrząsanie przez kolejne 15 minut. Ekstrakt przefiltrowano przez sączek umieszczony na lejku. Pozostałość ponownie ekstrahowano (ultrasonifikacja -15 min oraz wstrząsanie -15 minut) z dodatkiem 100 ml świeżego rozpuszczalnika a następnie przefiltrowano. Ekstrakty połączono i odparowano na wyparce w temperaturze 35°C w celu usunięcia fazy organicznej (acetonu). Uzyskano ok. 40 ml ekstraktu, który uzupełniono wodą destylowaną do objętości 60 ml. Próby przechowywano w kolbach stożkowych zamykanych korkiem o pojemności 100 ml w lodówce w temperaturze 2°C.

3) Całkowita zawartość związków fenolowych Folin-Ciocalteu

1 ml ekstraktu rozcieńczono z wodą destylowaną 50-krotnie. Do 1 ml rozcieńczonej próbki dodano 4 ml 0,2 M odczynnika Folin-Ciocalteu oraz 5 ml węgla sodu (7,5% v/v). Roztwór wymieszano i odstawiono na 2 godzin w celu ustabilizowania. Absorbancję mierzono przy długości fali $\lambda=740$ nm przy użyciu spektrofotometru Spekol 11. Krzywą kalibracyjną wykonano dla kwasu galusowego (50-500 mg/l). Wyniki wyrażono w miligramach kwasu galusowego (GAE) na gram suchej masy.

4) Całkowita zawartość flawan-3-olu i proantocyjanidyn

1 ml ekstraktu rozcieńczono z wodą destylowaną 10-krotnie. Do 1 ml rozcieńczonej próbki dodano 2,5 ml odczynnika vanillin (1% v/v) oraz 2,5 ml H₂SO₄ (20% v/v) . Oba odczynniki rozpuszczone zostały w metanolu. Absorbancję mierzono przy długości fali $\lambda=500$ nm. Użyto spektrofotometru Spekol 11 - spektrofotometr punktowy VIS. Krzywą kalibracyjną wykonano dla (+)- katechiny (50-500 mg/l). Wyniki wyrażono w miligramach katechiny (CE) na gram suchej masy.

Określenie zawartości ksantohumolu

Zawartość ksantohumolu oznaczano stosując wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją diodową (HPLC-DAD) według Magalhaes i wsp. 2007.

100 miligramów rozdrobnionych szyszek chmielu ekstrahowano z dodatkiem 10 ml roztworu metanol/kwas mrówkowy (99:1, v/v) poprzez ultrasonifikację w czasie 10 minut oraz wstrząsanie przez kolejne 10 min. Supernatant przesączono przez sączek umieszczony na lejku. Pozostałość razem z sączkiem ponownie ekstrahowano przez 10 min z dodatkiem 10 ml świeżego odczynnika. Supernatant przesączono po raz drugi. Połączone ekstrakty zostały przefiltrowane przez filtr membranowo-nylonowy 0,2 μm i homogenizowane na wortexie. Przed analizą HPLC-DAD do kolby miarowej o pojemność 50 ml przeniesiono 1,25 ml czystego jasnozielonego metanolewego ekstraktu i uzupełniono do kreski roztworem metanol – kwas mrówkowy (99:1).

W oznaczeniu wykorzystano zestaw do chromatografii cieczowej wysokociśnieniowej (HPLC) firmy Gilson, złożony z dwóch pomp tłokowych Gilson 306, dynamicznego miksera 811C, detektora spektrofotometrycznego UV-VIS z matrycą fotodiodową (typ DAD 170) oraz automatycznego podajnika próbek (typ 234). Rejestrację i analizę danych prowadzono przy użyciu programu komputerowego UniPoint™ wersja 3.01.

Rozdziały prowadzono w układzie odwróconych faz przy użyciu kolumny Symmetry C18 (Waters Ireland) o wymiarach 4,6 x 250 mm i średnicy ziarna 5 μm oraz prekolumny Symmetry C18 o wymiarach 8 x 20 mm i średnicy ziarna 5 μm (Waters Ireland). Sygnał monitorowano długości 370 nm z liniowym gradientem rozpuszczalnika począwszy od wstrzyknięcia od 40% do 100% B (acetonitryl) w A (1% wodnego mrówkowego kwasu) w ciągu 15 minut, a następnie 100% B przez 5 minut.

Analizowane substancje w każdej próbce zostały zidentyfikowane przez porównanie czasów retencji oraz widma UV/VIS wzorca. Krzywą kalibracyjną wykonano, jako zależność pola powierzchni pików od stężenia ksantohumolu (50-500 $\mu\text{g/ml}$). Wyniki wyrażono jako % suchej masy.

Analiza statystyczna wyników

Wszystkie analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach i wyniki przedstawiono jako średnią \pm odchylenie standardowe. Różnice statystyczne pomiędzy wynikami określono w analizie post hoc testem Tuckeya. Dane zostały opracowane przy użyciu programu STATISTICA 8.0 dla Windows (StatSoft, Polska). Analizę wariancji wykonano przy użyciu ANOVY dla układów czynnikowych. Różnice istotne statystycznie zdefiniowano jako $p < 0,05$.

2. Wyniki badań

W 2015 roku na produkcyjnych plantacjach chmielu w Jastkowie i w Natalinie wykonano 12 zabiegów ochronnych w celu zwalczania mączniaka rzekomego i prawdziwego chmielu oraz 7 zabiegów ochronnych w celu zwalczania mszyc i przędziorka chmielowca (tabela 1). Na wiosnę wykonano jeden zabieg w celu zwalczania szkodników glebowych (pędraki, opuchlak lucernowiec, drutowce) oraz jeden zabieg w celu ochrony roślin chmielu przed żerowaniem pchełki chmielowej. Zabiegi przy użyciu środków zawierających efektywne mikroorganizmy lub mieszaniny tych środków z fermentowanymi ekstraktami roślinnymi skutecznie chroniły rośliny chmielu przed szkodnikami i chorobami. Wiosną po naprowadzeniu roślin chmielu na przewodniki stwierdzono na pędach występowanie mączniaka rzekomego. Bardziej podatną odmianą na mączniaka rzekomego była odmiana Puławski (tab.2). Porażenie roślin powodowane przez *Sphaerotheca humuli* było słabe, ale też nieco większe na odmianie Puławski w początkowym okresie wzrostu roślin (tab. 3). Mączniak prawdziwy był skutecznie ograniczany na obydwu odmianach przez zastosowane preparaty, a ponadto nie obserwowano występowania mączniaka prawdziwego na szyszkach obu odmian z uwagi na długo utrzymujący się okres suszy (tab.3).

Tabela 2 Porażenie badanych odmian chmielu przez *Pseudoperonospora humuli* w Jastkowie i w Natalinie w 2015 r. chronionych przy użyciu środków na bazie efektywnych mikroorganizmów oraz fermentowanych ekstraktów roślinnych

Obiekt (odmiana, miejsowość)	Porażenie w %			Porażenie szyszek w czasie zbioru według skali:				Standardowa wartość porównawcza S	Skut. za- biegu wg wzoru Abbotta w %	Ogółem % szyszek porażonych w czasie zbioru
	Liście 19.06	Kwiaty 25.07	Szyszki 23.08	A	B	C	D			
cv. Magnat, Jastków	2,0	0,0	0,0	500	0	0	0	1,000	100	0,0
cv. Puławski, Jastków	3,5	0,0	2,0	500	2	0	0	1,000	100	0,0
cv. Magnat, Natalin	1,5	0,0	0,0	500	0	0	0	1,000	100	0,0
cv. Puławski, Natalin	2,8	0,0	0,0	500	0	0	0	1,000	100	0,0
kontrola	12,0	3,0	2,0	495	4	1	0	1,019	-	1,1

Tabela 3. Porażenie nowych odmian chmielu przez *Sphaerotheca humuli* w Jastkowie i w Natalinie w 2015 r. chronionych przy użyciu środków na bazie efektywnych mikroorganizmów oraz fermentowanych ekstraktów roślinnych

Obiekt (odmiana, miejsowość)	Porażenie w %			Porażenie szyszek w czasie zbioru według skali:				Standardowa wartość porównawcza S	Skut. zabiegu wg wzoru Abbotta w %	Ogółem % szyszek porażonych w czasie zbioru
	Liście 19.06	Kwiaty 25.07	Szyszki 23.08	A	B	C	D			
cv. Magnat, Jastków	0	1,5,0	1,0	500	1	0	0	1,000	100	0
cv. Puławski, Jastków	0	2,0	2,0	500	1	0	0	1,000	100	0
cv. Magnat, Natalin	0	1,0	,0	500	0	0	0	1,000	100	0
cv. Puławski, Natalin	0	1,3,0	1,0	500	0	0	0	1,000	100	0
kontrola	1,0	2,0	2,0	490	8	2	0	1,020	-	2,0

Zaobserwowano też występowanie mszycy śliwowo-chmielowej na chmielu i było ono silniejsze na odmianie Puławski (tab.4). W 2015 roku na plantacjach konwencjonalnego chmielu występował w dużym nasileniu przędziorek chmielowiec, który było bardzo trudno zwalczać nawet przy pomocy kilkukrotnych zabiegów akarycydami. Preparaty mikrobiologiczne wzmocnione ekstraktami z wrotyczu, mniszka lekarskiego i mleczu polnego okazały się bardzo efektywne w ograniczaniu tego szkodnika na obu nowych odmianach chmielu uprawianego metodami ekologicznymi.

Tabela 4. Uszkodzenia szyszek chmielu w wyniku żerowania mszyc oceniane przy zbiorze na plantacjach w Jastkowie i w Natalinie w 2015 r.

Obiekt (odmiana, miejsowość)	Liczba szyszek uszkodzonych w stopniach skali:				
	1 brak uszkodzeń	2 uszkodzone do 20% szyszki	3 uszkodzone od 21% do 50% szyszki	4 uszkodzone od 51% do 80% szyszki	5 uszkodzone ponad 80% szyszki
cv. Magnat, Jastków	500	0	0	0	0
cv. Puławski, Jastków	490	10	0	0	0
cv. Magnat, Natalin	500	0	0	0	0
cv. Puławski, Natalin	495	5	0	0	0
Kontrola	454	29	8	5	4

Tabela 5. Uszkodzenia szyszek chmielu w wyniku żerowania przedziorka chmielowca oceniane przy zbiorze na plantacjach w Jastkowie i w Natalinie w 2015 r.

Obiekt (odmiana, miejsowość)	Liczba szyszek uszkodzonych w stopniach skali:				
	1 brak uszkodzeń	2 uszkodzone do 20% szyszki	3 uszkodzone od 21% do 50% szyszki	4 uszkodzone od 51% do 80% szyszki	5 uszkodzone ponad 80% szyszki
cv. Magnat, Jastków	500	0	0	0	0
cv. Puławski, Jastków	500	0	0	0	0
cv. Magnat, Natalin	500	0	0	0	0
cv. Puławski, Natalin	500	0	0	0	0
Kontrola	467	26	4	3	0

W tym roku pierwszy raz zastosowano wczesną wiosną wyłącznie w Natalinie nawóz mikrobiologiczny Bokashi, czyli otręby pszenne fermentowane z udziałem pożytecznych mikroorganizmów (tab. 1). Wszystkie parametry gleby tj. zawartości składników pokarmowych, węgla organicznego oraz aktywności mikrobiologicznej były większe w Natalinie czego odzwierciedleniem był czterokrotnie większy plon szyszek obu badanych odmian w Natalinie (6, 7, 8, 9, 10, 11).

**Tabela 6. Plony* nowych odmian chmielu w kg/ha w Jastkowie i w Natalinie w 2015 r.
* plon przeliczony na pełną obsadę roślin**

Obiekt (odmiana, miejscowość)	Plon w kg/ha
Magnat Jastków	55,8
Ostatnie dwa zabiegi bez preparatów mikrobiologicznych	56,2
	Ogółem 112
Puławski Jastków	39,6
Ostatnie dwa zabiegi bez preparatów mikrobiologicznych	39,4
	ogółem 79
Magnat Natalin	225,3
Ostatnie dwa zabiegi bez preparatów mikrobiologicznych	225,7
	Ogółem 451
Puławski Natalin	144,9
Ostatnie dwa zabiegi bez preparatów mikrobiologicznych	145,1
	Ogółem 290

Analiza chemiczna gleb z plantacji objętych doświadczeniem wykazała, że odczyn gleby wynosi 4,9 pH w Jastkowie i 7,10 pH w Natalinie. Zawartość przyswajalnego fosforu, potasu i magnezu w glebach plantacji była wysoka do bardzo wysokiej z wyjątkiem potasu w Jastkowie, którego zawartość w glebie była średnia (tab. 8). Zawartość mikroskładników w glebach, pozostaje na niskim poziomie, szczególnie boru i cynku w obydwu miejscowościach (tab. 9).

Tabela 7. Wyniki analiz zawartości C- organicznego w glebie w Jastkowie i w Natalinie w 2015 roku

Obiekt (miejscowość)	Zawartość C-organicznego w %
Jastków	0,74
Natalin	1,02

Tabela 8. Zawartość przyswajalnych form fosforu, potasu i magnezu oraz pH gleby w Jastkowie i w Natalinie w 2015 roku

Obiekt (miejscowość)	pH w 1 mol KCl	Zawartość przyswajalnych form w mg/100 g gleby					
		fosfor (P ₂ O ₅)		potas (K ₂ O)		magnez (Mg)	
		wynik	Ocena	Wynik	ocena	wynik	ocena
Jastków	7,10	25,4	wysoka	17,7	średnia	17,5	b. wysoka
Natalin	4,90	35,0	b. wysoka	40	b. wysoka	13,3	b. wysoka

Tabela 9. Zawartość mikroelementów w glebie w Jastkowie i w Natalinie w 2015 roku

Obiekt (miejscowość)	Zawartość mikroelementów w mg/kg gleby									
	B		Mn		Cu		Zn		Fe	
	wynik	ocena	wynik	ocena	wynik	ocena	wynik	ocena	wynik	ocena
Jastków	1,18	niska	150	niska	18,7	niska	8,79	b. niska	1040	średnia
Natalin	1,24	niska	198	średnia	42,1	wysoka	16,2	niska	1530	średnia

Systematycznie wnoszone do gleby wysokie dawki nawozów organicznych kompostowanych z probiotycznymi mikroorganizmami spowodowały wysoką aktywność mikrobiologiczną gleby. Większą aktywność mikrobiologiczną gleby zaobserwowano w Natalinie (tab. 10, 11). Na części plantacji, na której od początku sierpnia w ochronie roślin przed chorobami i szkodnikami stosowano tylko ekstrakty roślinne nie stwierdzono mniejszego plonu roślin (tabela 6).

Rośliny chmielu uprawiane bez udziału chemicznych środków ochrony oraz nawozów sztucznych wykazują znaczny wzrost zawartości cennych żywic, garbników i flawonoidów, spośród których wiele występuje tylko w szyszkach chmielu. Zasada ta potwierdziła się szczególnie w przypadku chmielu odm. Puławski (rys. 3, 4, 6). Stwierdzono znaczący wpływ sposobu nawożenia na zawartość związków bioaktywnych chmielu. Większa zawartość tych związków w szyszkach chmielu obu odmian wystąpiła po zastosowaniu nawozu Bokashi (rys. 2, 4, 5, 6, 7).

Tabela. 10 Aktywność enzymatyczna gleby

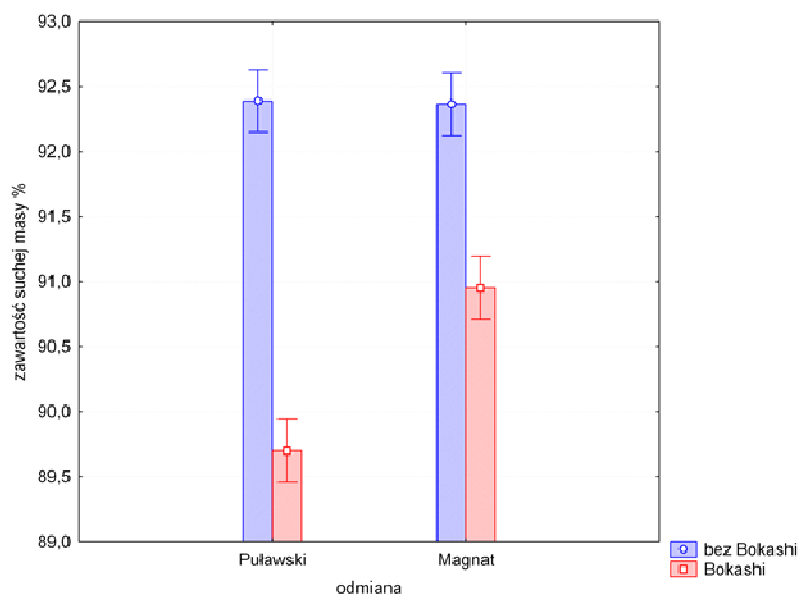
Badana cecha	Nr próbki	Opis próbki	Wynik badania (średnia; n=3) [$\mu\text{g/ml}$]
Aktywność dehydrogenaz [$\mu\text{g/ml}$] (Caside i in. 1964)	1	Natalin	50,201
	2	Jastków	36,569
Aktywność fosfatazy zasadowej [$\mu\text{g/ml}$] (Tabatabai i Bremner, 1969)	1	Natalin	26,360
	2	Jastków	19,176
Aktywność fosfatazy kwaśnej [$\mu\text{g/ml}$] (Tabatabai i Bremner, 1969)	1	Natalin	146,115
	2	Jastków	157,576

Tabela. 11 Ogólna liczebność drobnoustrojów glebowych

Badana cecha	Nr próbki	Opis próbki	Wynik badania [jtk/g s.m. gleby] (średnia; n=3)
Ogólna liczebność bakterii i promieniowców [10^7 jtk/g s.m. gleby] [Wallace, Lockhead, 1950]	1	Natalin	49,34
	2	Jastków	55,56
Ogólna liczebność grzybów [10^4 jtk/g s.m. gleby] [Martin, 1950]	1	Natalin	67,99
	2	Jastków	78,09
Ogólna liczebność bakterii z rodzaju <i>Azotobacter</i> [10^1 jtk/g s.m. gleby] [Fenglerowa, 1950]	1	Natalin	nie stwierdzono
	2	Jastków	nie stwierdzono
Ogólna liczebność bakterii amonifikacyjnych [10^6 jtk/g s.m. gleby] [Rodina 1968]	1	Natalin	38,07
	2	Jastków	9,71

Analiza związków bioaktywnych w szyszkach chmielu badanych odmian**Wyniki analizy zawartości suchej masy**

Analiza statystyczna wyników wykazała, że zarówno odmiana, jak i zastosowana metoda nawożenia, a także interakcja odmiany i metody nawożenia miały istotny wpływ na zawartość suchej masy w szyszkach ($p=0,00$).

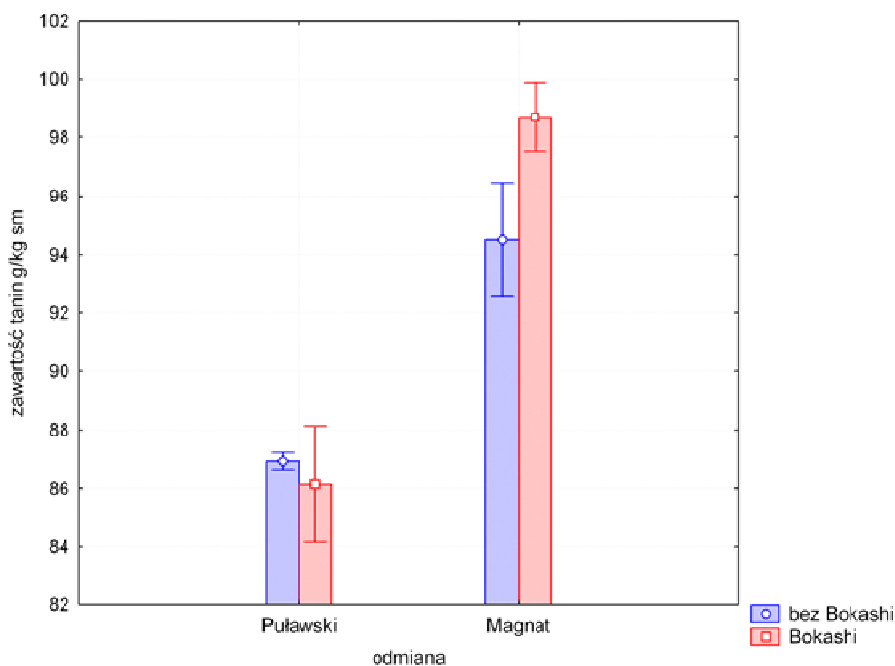


Rys.1 Zawartość suchej masy w zależności od zastosowanego nawożenia roślin i odmiany chmielu.

Próby chmielu, w których nie zastosowano dodatkowego nawożenia preparatem Bokashi charakteryzowały się, niezależnie od odmiany, wyższą zawartością suchej masy. Wyższą suchą masę w próbach, w których zastosowano nawożenie preparatem Bokashi, odnotowano dla odmiany Magnat.

Wyniki analizy zawartości tanin

Analiza statystyczna wyników wykazała, że jedynie odmiana miała istotny wpływ na zawartość tanin w szyszkach ($p=0,00$), natomiast zastosowana metoda nawożenia oraz interakcja odmiany i metody nawożenia nie miały istotnego wpływu na zawartość tych związków w szyszkach (odpowiednio $p=0,29$ i $p=0,14$).

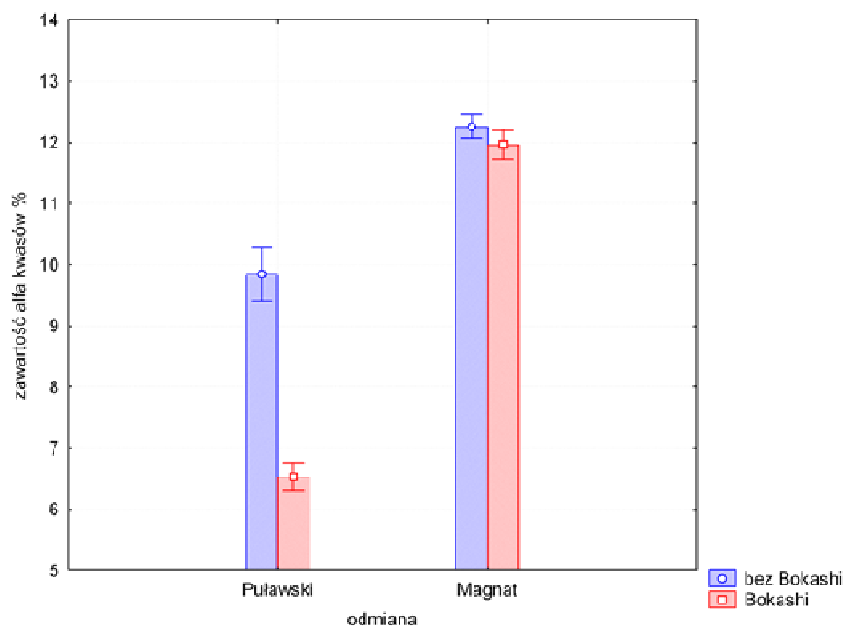


Rys 2. Zawartość tanin w zależności od zastosowanego nawożenia roślin i odmiany chmielu.

Wyższą zawartość tanin stwierdzono w próbach odmiany Magnat.

Wyniki analizy zawartości alfa kwasów

Analiza statystyczna wyników wykazała, że zarówno odmiana, jak i zastosowana metoda nawożenia, a także interakcja odmiany i metody nawożenia miały istotny wpływ na zawartość alfa kwasów w szyszkach ($p=0,00$).

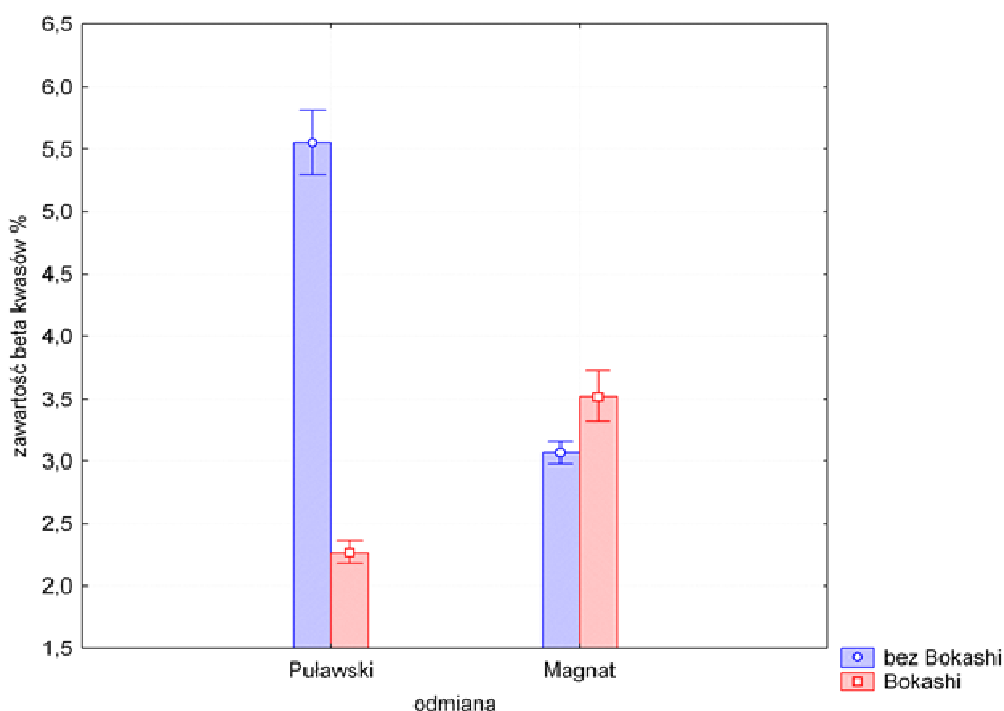


Rys.3 Zawartość alfa kwasów w zależności od zastosowanego nawożenia roślin i odmiany chmielu.

Wyższą zawartością alfa kwasów charakteryzowały się szyszki odmiany Magnat, jednakże przy tej odmianie nie było istotnych statystycznie różnic pomiędzy próbami o różnej metodzie nawożenia. Natomiast w przypadku odmiany Puławski zastosowanie preparatu Bokashi znacząco obniżyło zawartość badanego parametru.

Wyniki analizy zawartości beta kwasów

Analiza statystyczna wyników wykazała, że zarówno odmiana, jak i zastosowana metoda nawożenia, a także interakcja odmiany i metody nawożenia miały istotny wpływ na zawartość beta kwasów w szyszkach ($p=0,00$).

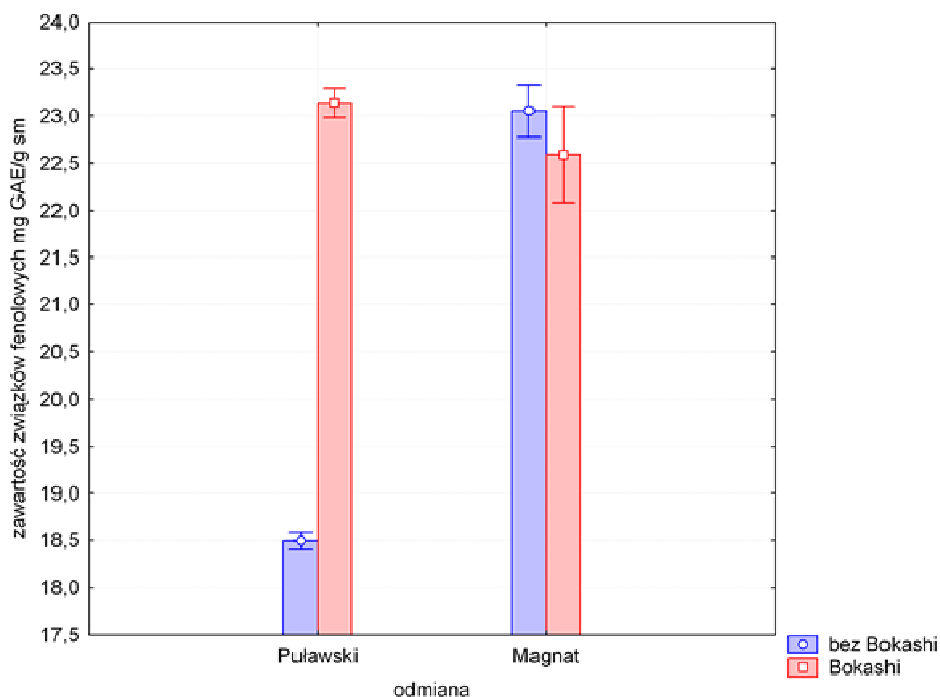


Rys.4 Zawartość beta kwasów w zależności od zastosowanego nawożenia roślin i odmiany chmielu.

Najwyższą zawartością beta kwasów charakteryzowały się próby chmielu odmiany Puławski bez zastosowanego dodatkowego nawożenia. Natomiast zastosowanie nawożenia preparatem Bokashi spowodowało znaczne obniżenie zawartości beta kwasów w szyszkach. W przypadku odmiany Magnat zaobserwowano odwrotną zależność – dodatkowe nawożenie przyczyniło się do wzrostu zawartości beta kwasów w chmielu.

Wyniki analizy zawartości związków fenolowych

Analiza statystyczna wyników wykazała, że zarówno odmiana, jak i zastosowana metoda nawożenia, a także interakcja odmiany i metody nawożenia miały istotny wpływ na zawartość związków fenolowych w szyszkach ($p=0,00$).

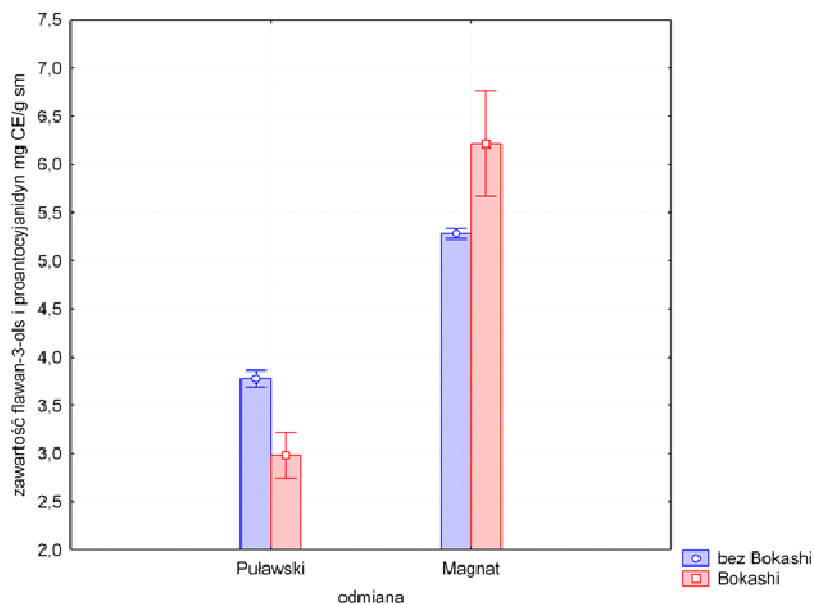


Rys.5 Zawartość związków fenolowych w zależności od zastosowanego nawożenia roślin i odmiany chmielu.

Wyraźny wpływ zastosowanego sposobu nawożenia odnotowano w przypadku odmiany Puławski. W próbach nawożonych preparatem Bokashi ogólna zawartość związków fenolowych była istotnie statystycznie wyższa w porównaniu z próbami bez tego zabiegu. Natomiast nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy próbami odmiany Magnat.

Wyniki analizy zawartości flawan-3-ols oraz proantocyjanidyn

Analiza statystyczna wyników wykazała, że odmiana oraz interakcja odmiany i metody nawożenia miały istotny wpływ na zawartość flawan-3-ols oraz proantocyjanidyn w szyszkach (odpowiednio $p=0,00$ i $p=0,021$), natomiast zastosowana metoda nawożenia, nie miała istotnego wpływu na zawartość tych związków w szyszkach ($p=0,83$).

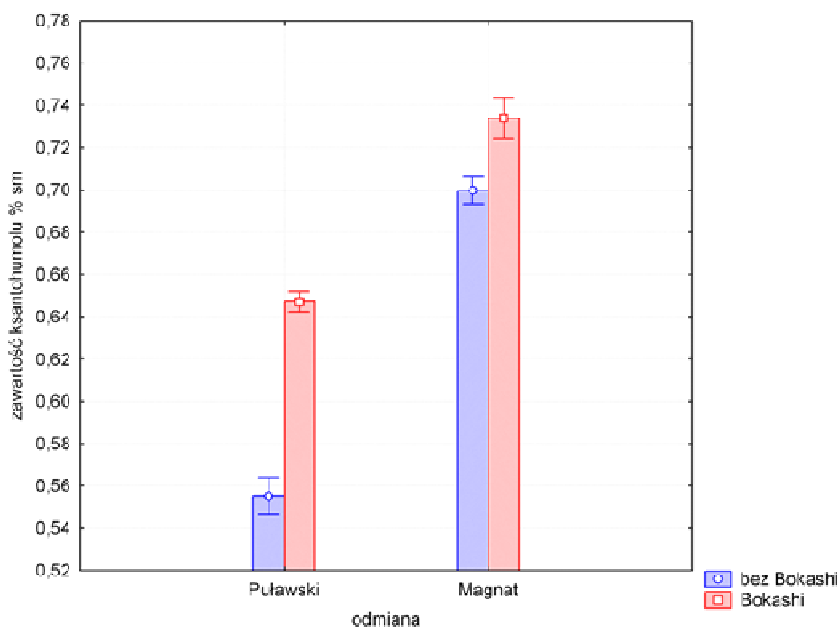


Rys.6 Zawartość flawan-3-ols i proantocyjanidyn w zależności od zastosowanej nawożenia roślin i odmiany chmielu.

Główny czynnik wpływający na zawartość flawan-3-ols oraz proantocyjanidyn miała odmiana chmielu, znacznie większą ilość tych związków stwierdzono w szyszkach odmiany Magnat. Natomiast zastosowanie dodatkowego nawożenia preparatem Bokashi przyczyniło się do podwyższenia ilości tych związków w odmianie Magnat, zaś w przypadku odmiany Puławski przyniosło efekt odwrotny.

Wyniki analizy zawartości ksantohumolu

Analiza statystyczna wyników wykazała, że zarówno odmiana, jak i zastosowana metoda nawożenia, a także interakcja odmiany i metody nawożenia miały istotny wpływ na zawartość ksantohumolu w szyszkach ($p=0,00$).



Rys.7 Zawartość ksantohumolu w zależności od zastosowanego nawożenia roślin i odmiany chmielu. Zastosowanie nawożenia preparatem Bokashi spowodowało wzrost zawartości ksantohumolu w szyszkach obu badanych odmian. Większą ilość ksantohumolu stwierdzono w próbach odmiany Magnat w stosunku do prób odmiany Puławski.

Literatura:

- Canbaş A., Erten H., Özaşahin F. (2001). The effects of storage temperature on the chemical composition of hop pellets. *Process. Biochem.*, 36, 1053-1058
- Magalhães P.J., Guido L.F., Cruz L.F., Barros A.A. (2007). Analysis of xanthohumol and isoxanthohumol in different hop products by liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, 1150, 295-301.
- Magalhães P.J., Vieira J.S., Gonçalves L.M., Pacheco J.G., Guido L.F., Barros A.A. (2010). Isolation of phenolic compounds from hop extracts using polyvinylpyrrolidone: Characterisation by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, 1217, 3258-3268
- PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości suchej masy metodą wagową.

Wnioski i zalecenia dla rolników:

1. Odmiana Puławski okazała się bardziej podatna na porażenie przez *Pseudoperonospora humuli* oraz uszkodzenia przez mszycę śliwowo-chmielową.
2. Plony szyszek chmielu obydwu badanych odmian zebrane z plantacji nawożonej nawozem mikrobiologicznym Bokashi były czterokrotnie większe niż z plantacji nawożonej tylko obornikiem końskim.
3. W warunkach uprawy ekologicznej polskie odmiany chmielu: Puławski i Magnat wiążą szyszki o szczególnie wysokiej zawartości cennych związków bioaktywnych.
4. Odmiana Puławski charakteryzuje się wysoką zawartością alfa-kwasów tj. wynoszącą ok. 10% w warunkach uprawy metodami ekologicznymi. Średnia zawartość alfa-kwasów w szyszkach tej odmiany uprawianej metodami konwencjonalnymi wynosi ok. 7%.
5. Zastosowanie nawożenia preparatem Bokashi wpłynęło na podwyższenie zawartości ksantohumolu w obu odmianach chmielu.
6. Nawóz Bokashi wpłynął pozytywnie na zawartość tanin, beta kwasów, flawan-3-ols oraz proantocyjanidyn w szyszkach odmiany Magnat, natomiast w szyszkach odmiany Puławski nie miał istotnego wpływu lub przyczynił się do obniżenia tych parametrów.
7. Nawożenie preparatem Bokashi wpłynęło na podwyższenie ogólnej zawartości związków fenolowych w odmianie Puławski.