

## Сравнение на добивен потенциал на сортове чешка и българска червена детелина

Ян Неделник<sup>1\*</sup>, Даниела Кнотова<sup>1</sup>, Ян Пеликан<sup>2</sup>,  
Томаш Вимислицки<sup>1</sup>, Цветослав Миховски<sup>3</sup>, Галина Найденова<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Селскостопански изследвания ООД, Заhradни 1, 664 41, Трoубско, Република Чехия

<sup>2</sup>Изследователски институт по фуражи, ООД, Заhradни 1,  
664 41 Трoубско, Република Чехия

<sup>3</sup>Институт по планинско животновъдство и земеделие, 5600 Троян, България,

<sup>4</sup>Опитна станция по соята, 5200 Павликени, България

\*E-mail: nedelnik@vupt.cz

## Comparing yield potential of Czech and Bulgarian red clover varieties

Jan Nedělník<sup>1\*</sup>, Daniela Knotová<sup>1</sup>, Jan Pelikán<sup>2</sup>,  
Tomáš Vymyslický<sup>1</sup>, Tsvetoslav Mihovski<sup>3</sup>, Galina Naydenova<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Agricultural Research, Ltd., Zahradní 1, 664 41 Troubsko, Czech Republic

<sup>2</sup>Research Institute for Fodder Crops, Ltd., Zahradní 1, 664 41 Troubsko, Czech Republic

<sup>3</sup>Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 5600 Troyan, Bulgaria

<sup>4</sup>Experimental Station of Soybean, 5200 Pavlikeny, Bulgaria

### РЕЗЮМЕ

През годината на създаване и през следващите две години са изследвани пет чешки и два български сорта червена детелина. Също така е изпитан един междувидов хибрид, сорт "Прамеди." Измерени са общите годишни добиви на земена маса, сено и семена. Определени са статистическите разлики за добивите на зелена маса, сено и семена.

**Ключови думи:** *Trifolium pratense* L., чешки и български сортове, добиви

### SUMMARY

In the establishment year and next two years, five Czech and two Bulgarian red clover varieties were tested. Also tested was one interspecies hybrid, the variety Pramedi. Evaluated were total annual yields of green matter, hay and seed. Statistical differences were determined for yields of green matter, hay and seed.

**Key words:** *Trifolium pratense* L., Czech and Bulgarian varieties, yields

### УВОД

За период от 21 години в рамките на "Национална програ-

### INTRODUCTION

During the 21 years of the "National Programme on

ма за запазване и използване на растителни генетични ресурси", финансирана от Министерство на земеделието на Република Чехия, институтът придоби повече от 240 местни и чуждестранни сорта червена детелина (*Trifolium pratense* L.). Целият материал е изпитан в полеви опити, описан и първоначалните семена са предоставени за дългосрочно съхранение в генната банка в Изследователски институт по зърнени култури в Прага – Ружине. Професионалната общност е информирана постоянно за резултатите от опитите (Pelikán et al. 2003; 2005; 2007; Pelikán, Knotová, 2010). Получените данни са използвани за подготовка на редица експертни и научни изследвания (Pelikán et al. 2006; Vymyslický et al., 2006; 2012). Документацията е достъпна за лица, които използват генетични ресурси за изследвания и размножителни цели на <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследвани са чешките диплоидни сортове червена детелина "Старт", "Влтавин" и "Респект", чешките триплоидни сортове "Кварта" и "Темпус", и българските диплоидни сортове "Ника" и "София", през 2014 и 2015. Освен това, в опита е включен чешкият сорт "Прамеди", междувидов хибрид създаден при хибридизация на *Trifolium pratense* L. и *T. medium*

Conservation and Utilization of Plant Genetic Resources", financed by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, the institute acquired more than 240 domestic and foreign varieties of red clover (*Trifolium pratense* L.). All this material was tested in field trials, described, and the original seeds handed over for long-term storage to the gene bank at the Crop Research Institute in Prague– Ruzyně.

The professional public has been continuously informed as to the results of the trials (Pelikán et al. 2003; 2005; 2007; Pelikán, Knotová, 2010). The acquired data was also used to prepare a number of expert and scientific studies (Pelikán et al. 2006; Vymyslický et al., 2006; 2012). The documentation is accessible to users of genetic resources for research and breeding purposes at <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>.

## MATERIAL AND METHODS

Czech diploid red clover varieties Start, Vltavín and Respect, Czech tetraploid varieties Kvarta and Tempus, and Bulgarian diploid varieties Nika and Sofia were tested in 2014 and 2015. In addition, the Czech variety Pramedi, an interspecies hybrid created by cross-breeding *Trifolium pratense* L. and *T. medium* L., was included into the trials.

L., Експериментът е положен с рандомизирани блокове в три повторения за фуражно производство и три повторения за семенно производство. Парцелът е с размер 5 m<sup>2</sup>. Пробите са събрани при пребиране на реколтата и изсушени на 60°C за да се определи добивът на сено. Добивът на семена е взет от второто покосяване. Диплоидният сорт "Старт" е използван като контрола.

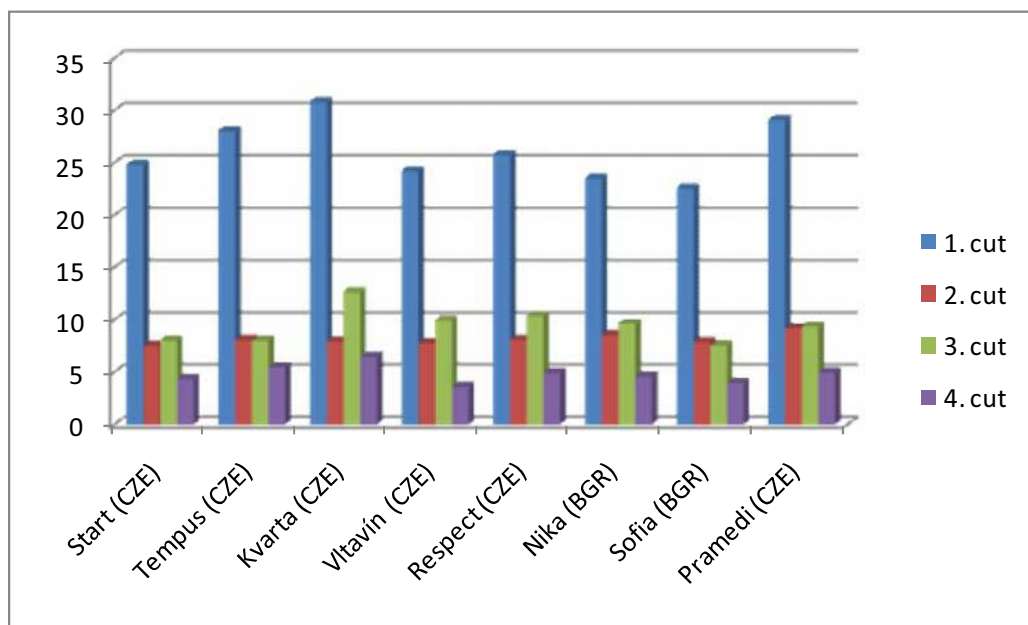
The experiment was based on randomized blocks in three repetitions for fodder and three repetitions for seed production. Plot size was 5 m<sup>2</sup>. Samples were collected during harvest and dried at 60°C to determine hay yields. Seed harvest was from the second cutting. The diploid variety Start was used as a control.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

През първата година на използване (2014), са направени четири коситби на зелена маса. С цел за по-кратко изложение, резултатите са представени във Фигура 1.

## RESULTS AND DISCUSSION

In the first year of use (2014), four cuttings of green matter were taken. For the sake of brevity, the results are presented in Figure 1.



Фиг. 1. Добиви от зелена маса (t.ha<sup>-1</sup>) на изследваните сортове от единично окосяване през 2014

Fig. 1. Green matter yields (t.ha<sup>-1</sup>) of the tested varieties by individual cutting in 2014

При всички откоси, дисперсионният анализ определя статистически значимите различия измежду изследваните сортове. С изключение на втория откос, най-високи добиви са получени при сорт "Кварта", докато при вторият откос най-висок добив е получен при сорт "Прамеди". В първият откос, добивите на зелена маса варират между 22.67 и 30.8 t.ha<sup>-1</sup>, при втори откос от 15.13 до 16.33 t.ha<sup>-1</sup>, при трети откос от 15.27 до 25.4 t.ha<sup>-1</sup>, и при четвърти откос от 7.27 до 13.07 t.ha<sup>-1</sup>.

Общата зелена маса и производство на сено, както и добивът от семена при индивидуалните сортове през първата година са предоставени в Таблица 1. Също така са определени значимите разлики между изследваните сортове. Добивите от зелена маса варират от 61.6 до 80 t.ha<sup>-1</sup>. Най-висок добив на зелена маса е постигнат при сорт "Кварта", последван от "Прамеди" и "Респект". Добивът на сено варира от 11.89 до 14.8 t.ha<sup>-1</sup>, а най-голяма продуктивност е постигната при сортовете в следния ред: "Респект", "София" и "Ника". Добивът на семена е нисък през 2014, вариращ от 24.87 до 101.43 kg.ha<sup>-1</sup>, а най-високият добив от семена е получен от чешките сортове "Старт" и "Влтавин", следвани от българския сорт "Ника".

In all cuttings, analysis of variance determined statistically significant differences among the tested varieties. With the exception of the second cutting, the highest yields were provided by the Kvartha variety, while in the second cutting the highest yield was of the Pramedi variety. In the first cutting, green matter yields ranged between 22.67 and 30.8 t.ha<sup>-1</sup>, in the second cutting from 15.13 to 16.33 t.ha<sup>-1</sup>, in the third cutting from 15.27 to 25.4 t.ha<sup>-1</sup>, and in the fourth cutting from 7.27 to 13.07 t.ha<sup>-1</sup>.

Total green matter and hay production as well as seed yields of the individual varieties for the first year of use are provided in Table 1. In all of these indicators, too, significant differences were determined between the tested varieties. Green matter yields ranged from 61.6 to 80 t.ha<sup>-1</sup>. The highest green matter yield was achieved by the Kvartha variety, followed by Pramedi and variety Respect. Hay yields ranged from 11.89 to 14.8 t.ha<sup>-1</sup>, and the highest production was achieved by the varieties in the following order: Respect, Sofia, and Nika. Seed yields were low in 2014, ranging from 24.87 to 101.43 kg.ha<sup>-1</sup> and the highest seed yield were by the Czech varieties Start and Vltavín, followed by the Bulgarian Nika.

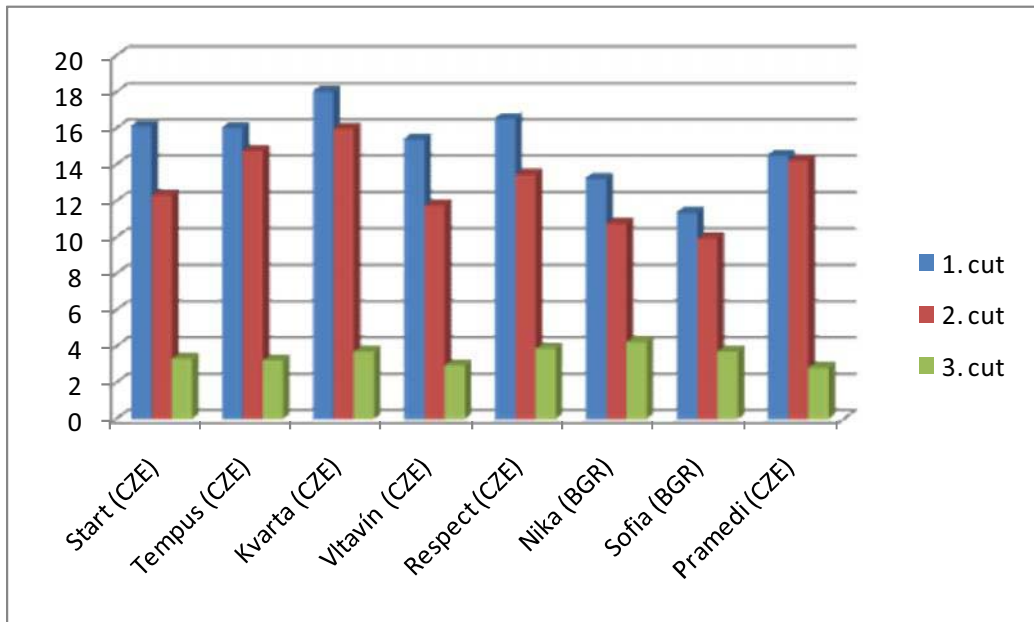
**Таблица 1. Общо производство на зелена маса, сено и семена от изследваните сортове в първата година на използване (P: 0.05)**  
**Table 1. Total production of green matter, hay, and seed of the tested varieties in the first year of use (P: 0.05)**

Сорт/Variety	Зелена маса/Green matter	Сено/Hay	Семена/Seeds
	t.ha <sup>-1</sup>	t.ha <sup>-1</sup>	kg.ha <sup>-1</sup>
Стар /Start (CZE)	65,07 <sup>cd</sup>	12,97 <sup>bc</sup>	101,43 <sup>a</sup>
Темпус/Tempus (CZE)	71,53 <sup>bc</sup>	11,89 <sup>c</sup>	24,87 <sup>c</sup>
Кварта/Kvarta (CZE)	80,00 <sup>a</sup>	14,58 <sup>ab</sup>	45,03 <sup>bc</sup>
Влтавин/Vltavín (CZE)	67,20 <sup>cd</sup>	12,50 <sup>c</sup>	82,86 <sup>ab</sup>
Респект/Respect (CZE)	73,00 <sup>abc</sup>	14,80 <sup>a</sup>	40,31 <sup>bc</sup>
Ника (БГ)/Nika (BGR)	69,67 <sup>bc</sup>	14,59 <sup>ab</sup>	68,63 <sup>abc</sup>
София (БГ)/Sofia (BGR)	61,60 <sup>d</sup>	14,74 <sup>a</sup>	53,09 <sup>abc</sup>
Прамеди /Pramedi (CZE)	76,80 <sup>ab</sup>	14,37 <sup>ab</sup>	25,79 <sup>c</sup>

Валежите са недостатъчни във вегетационната фаза през 215, и през тази година са направени само три окосявания. Липсата на валежи повлиява особено добивите от третия откос, като само 32 mm валежи са отчетени за период от 46 дни между второто и трето окосяване. Отделните добиви зелена маса, с цел по-кратко изложение, са посочени във Фигура 2. При всички откоси, дисперсионният анализ определя статистически значимите различия измежду изследваните сортове. При първи и втори откос, сорт "Кварта" предоставя най-висок добив докато при трети откос най-висок добив носи българският сорт "Ника". При първи откос, добивите на зелена маса варират между 22.8 и 36.13 t.ha<sup>-1</sup>, при втори откос между 20

Precipitation was insufficient during the vegetation phase in 2015, and just three cuttings were taken in that year. The lack of precipitation affected especially yields of the third cutting, inasmuch as just 32 mm of precipitation was recorded in the 46-day period between the second and third cuttings. The individual green matter yields are for brevity's sake presented in Figure 2. In all cuttings, analysis of variance again determined significant differences among the tested varieties. In the first and second cuttings, the Kvarta variety provided the highest yield while in the third cutting it was the Bulgarian Nika variety. For the first cutting, green matter yields ranged between 22.8 and 36.13 t.ha<sup>-1</sup>, for the second cutting between 20 and 32.07 t.ha<sup>-1</sup>, and for the third

и  $32.07 \text{ t.ha}^{-1}$ , и при трет от  $5.73$  до  $7.87 \text{ t.ha}^{-1}$ .



Фиг. 2. Добиви зелена маса ( $\text{t.ha}^{-1}$ ) от изследваните сортове от индивидуално окосяване през 2015

Fig. 2. Green matter yields ( $\text{t.ha}^{-1}$ ) of the tested varieties by individual cutting in 2015

Общата зелена маса и производство на сено, както и добивът от семена при индивидуалните сортове през втората година на използване са посочени в Таблица 2. Значимите разлики между изследваните сортове са определени също по тези показатели. Общите добиви от зелена маса варират от  $50.33$  до  $75.73 \text{ t.ha}^{-1}$ , а най-високите стойности се постигат при сортове "Квартa", "Влтавин" и "Темпус". Добивите от сено варират от  $10.97$  до  $14.19 \text{ t.ha}^{-1}$ . Най-високият добив от сено е постигнат от чешкия сорт "Респект", последван от сортове "Влтавин" и "Квартa". Добивите на семена ва-

Total green matter and hay production as well as seed yields of the individual varieties for the second year of use are provided in Table 2. Significant differences between the tested varieties were determined also in these indicators. Total green matter yields ranged from  $50.33$  to  $75.73 \text{ t.ha}^{-1}$ , and the highest values were achieved by the varieties Kvarta, Vltavín, and Tempus. Hay yields ranged from  $10.97$  to  $14.19 \text{ t.ha}^{-1}$ . The highest hay yield was achieved by the Czech Respect, followed by Vltavín and Kvarta varieties.

Seed yields ranged from  $103.97$  to

рират от 103.97 до 30.99 kg.ha<sup>-1</sup>, най-високите добиви са достигнати при чешкия сорт "Респект" и българския сорт "Ника, следвани от чешкия "Влтавин".

30.99 kg.ha<sup>-1</sup>, the highest yields being reached by the Czech Respect and Bulgarian Nika varieties, followed by the Czech Vltavín.

**Таблица 2: Общо производство на зелена маса, сено, и семена от изследвани сортове през втората година на употреба (P: 0.05)**

**Table 2: Total production of green matter, hay, and seed of the tested varieties in the second year of use (P: 0.05)**

Сорт/Variety	Зелена маса/Green matter	Сено/Hay	Семена/Seeds
	t.ha <sup>-1</sup>	t.ha <sup>-1</sup>	kg.ha <sup>-1</sup>
Старт/Start (CZE)	63,80 <sup>bc</sup>	11,63 <sup>c</sup>	61,55 <sup>bc</sup>
Темпус/Tempus (CZE)	68,27 <sup>ab</sup>	12,37 <sup>bc</sup>	33,43 <sup>d</sup>
Кварта/Kvarta (CZE)	75,73 <sup>a</sup>	13,40 <sup>ab</sup>	30,99 <sup>d</sup>
Влтавин/Vltavín (CZE)	68,47 <sup>ab</sup>	14,19 <sup>a</sup>	63,23 <sup>b</sup>
Респект/Respect(CZE)	68,00 <sup>ab</sup>	14,59 <sup>a</sup>	103,97 <sup>a</sup>
Ника/Nika (BGR)	56,73 <sup>cd</sup>	11,35 <sup>c</sup>	91,20 <sup>a</sup>
София/Sofia (BGR)	50,33 <sup>d</sup>	10,97 <sup>c</sup>	55,41 <sup>bcd</sup>
Прамеди/Pramedi (CZE)	63,33 <sup>bc</sup>	11,92 <sup>bc</sup>	49,20 <sup>bcd</sup>
D <sub>T</sub> 0,05	8,45	1,6	27,15
D <sub>T</sub> 0,01	12,64	2,39	40,63

## ИЗВОДИ

Добивите на зелена маса и сено от българските сортове червена детелина в местни условия не са толкова високи, колкото чешките сортове. Добри добиви от семена са отчетени при сорт "Ника". Междувидовият хибрид "Прамеди" има добри постижения при зелената маса и сено, и изглежда обещаваща фуражна култура за условията на Чешката Република. За разлика от червената детелина, нейното преимущество лежи в

## CONCLUSIONS

The yields of green matter and hay the Bulgarian red clover varieties in the local conditions are not so high like the Czech varieties. Good seed yields were recorded for the Nika variety. The interspecies hybrid Pramedi performed well for green matter and hay, and it seems to be a promising fodder crop for the conditions of the Czech Republic.

In contrast with red clover, its advantage should lie in its ability to

способността ѝ да произвежда подземни коренища, чрез които тя се възпроизвежда за втори път. Така се осигурява по-дълга продължителност, въпреки че продължителността не е предмет на изследване в този експеримент.

generate underground rhizomes through which it should secondarily reproduce. This should ensure longer stand persistence, although persistence was not a subject of testing in this experiment.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Резултатите са получени с подкрепа от Националната програма за запазване и използване на растителни генетични ресурси, финансиран от Министерството на земеделието на Република Чехия, и средства за развитието на изследователската организация.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The results were obtained with support from the National Programme on Conservation and Utilization of Plant Genetic Resources, financed by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, and from institutional funds for the development of the research organization.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Pelikán J., Gottwaldová P., Vymyslický T.** Evaluating red clover yield potential. In: Badalíková: Current knowledge in growing, breeding, and protection of plants and in processing their products. Brno, 2007. ISBN 978-80-86908-04-5: 219-224.
2. **Pelikán J., Knotová D.** Fodder production for a range of red clover varieties. 2010, Úroda 12, scientific supplement, p. 187–190.
3. **Pelikán J., Meglič V., Hoziar P., Hauptvogel P.** Yield potential for a range of red clover (*Trifolium pratense* L.) varieties in various agro-ecological growing conditions. *Sbor. věd. prací Troubsko*, 2005, (15): 41–47.
4. **Pelikán J., Vymyslický T., Gottwaldová P., Nedelník J.** Correlations of some traits in diploid and tetraploid red clover (*Trifolium pratense* L.) accessions. In: *Breeding and seed production for conventional and organic agriculture (Proceedings of XXVI meeting of the Eucarpia Fodder Crops and amenity grasses section and XVI Meeting of the Eucarpia Medicago spp group)*. Perugia, Italy, 2006, 230–233, ISBN-978-88-87652-12-3
5. **Pelikán J., Vymyslický T., Zapletalová I.** Evaluation of the red clover assortment under the conditions of the Czech Republic. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 2003, 39 (Special Issue): 232–235.
6. **Vymyslický T., Pelikán J., Gottwaldová P., Nedelník J.** The Czech core collection of *Trifolium pratense*. In: *Breeding and seed production for conventional and organic agriculture (Proceedings of XXVI meeting of the Eucarpia Fodder Crops and amenity grasses section and XVI Meeting of the Eucarpia Medicago spp group)*. Perugia, Italy, 2006, 200–205, ISBN-978-88-87652-12-3
7. **Vymyslický T., Smarda P., Pelikan J., Cholastova T., Nedelnik J., Moravcova H., Pokorny R., Soldanova M., Polakova M.** Evaluation of the Czech core collection of *Trifolium pratense*, including morphological, molecular and phytopathological data. *African Journal of Biotechnology*, 2012, Vol. 11(15), pp. 3583–3595, ISSN 1684–5315



## **Агрономическа и зоотехническа оценка на високопланински пасища в района на НП „Централен Балкан“**

### **II. Зоотехническа оценка**

Цветослав Миховски<sup>1\*</sup>, Атанас Кирилов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт по планинско животновъдство и земеделие, ул. В.Левски 281,  
5600 Троян, България*

<sup>2</sup> *Институт по фуражни култури, Ген.Вл.Вазов 89  
5800 Плевен, България*

*\*E-mail: mihovsky@mail.bg*

## **Agronomical and zootechnical assessment of high mountain pastures in the region of the Balkan mountain National Park**

### **II. Zootechnical assessment**

Tsvetoslav Mihovski<sup>1\*</sup>, Atanas Kirilov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 281 Vasil Levski Str.  
5600 Troyan, Bulgaria*

<sup>2</sup> *Institute of Forage Crops, 89 General Vladimir Vazov Str.  
5800 Pleven, Bulgaria*

#### **РЕЗЮМЕ**

Във връзка с разработването на финансиран от Европейския фонд за регионално развитие и от държавния бюджет на Република България, чрез Оперативна програма "Околна среда 2007-2013 г." проект „Централен Балкан – Парк за всички“ (DIR 5113325-12-109), е извършена огромна по обем работа, включително и агрономическа и зоотехническа характеристика на подбрани по определени критерии 11 моделни територии с обща площ 17405.35 da

#### **SUMMARY**

In connection with development of "Central Balkan – Park for everybody" project (DIR 5113325-12-109) financed by European Development Regional Fund and the state budget of Republic of Bulgaria, through the Operational Programme "Environment 2007-2013, was carried out a great amount of work, including agronomical and zootechnical characteristic of 11 model territories selected according to specific criteria with a total area of 17405.35 da.

Настоящото проучване има за цел да определи натовареността на пасищата с животни, без това да вреди на биологичното растително разнообразие. На базата на ботаническия състав, тревното покритие и хранителната стойност на видовете са направени норми за всяка моделна територия, която определя оптималното натоварване с крави (сухостойни и млечни), овце, кози и коне.

**Ключови думи:** защитени територии, пасища, зоотехническа характеристика

## УВОД

Естествените екосистеми осигуряват ресурсите за нашето съществуване, като ни снабдяват с храна, вода, кислород, лекарства, дървесина, а също така ни защитават от природните катаклизми, спомагат за нашата рекреация и още много други ползи. Ние дотолкова приемаме тези блага за даденост, че ще можем да осъзнаем тяхната важност едва когато ги изгубим.

Понастоящем най-голяма опасност за биоразнообразието представлява неговата загуба. В миналото тя се е дължала основно на природни фактори, предимно на климатичните промени, докато днес основна заплаха представлява човешката дейност.

На всеки 20 минути от планетата изчезва по един растителен или животински вид. Само в България през последните 50-60 години са изчезнали 30 растителни и 16 животински вида.

Благодарение на силно разнообразните климатични, геоложки, топографски и хидролож-

The present study aims to determine the loading of pastures with animals without harming the biodiversity plant variety. Based on the botanical composition, grass cover and nutritional value of species were made norms for each model territory, which determined the optimal loading with cows (dry and dairy cows), sheep, goats and horses.

**Key words:** preserved areas, pastures, zootechnical characterization

## INTRODUCTION

Natural ecosystems provide resources for our existence, as they supply us with food, water, oxygen, medicine, wood, as well as protect us from natural disasters, help us for our recreation and a lot of other benefits. We take these blessings for granted to such an extent, that we will be able to realize their importance only when we lose them.

Currently, the greatest threat to biodiversity is to lose it. In the past, it was due to mainly natural factors, primarily climate change, while nowadays the main threat is the human activity.

At every 20 minutes, one plant or animal species becomes extinct from the planet. Only in Bulgaria, over the past 50-60 years 30 plant and 16 animal species became extinct.

Due to highly diverse climate, geological, topographic and hydrological conditions, Bulgaria

ки условия, България има богата флора и разнообразие от растителни съобщества. В състава на българската флора участват 170 вида и 100 подвида български ендемити (Petrova, 2006) и 270 балкански ендемита (Petrova and Vladimirov, 2010). Територията на страната се характеризира и със значително растително разнообразие, като според Апостолова и Славова (1997) то е представено от 2195 синтаксономични единици. Разнообразната растителна флора е естественото покритие на тревните площи, използвани за паша на домашни и диви тревопасни животни.

Според начина на ползване тревните площи се делят на две категории: *ливади и пасища*.

Ливадите са тревни площи, които се реколтират предимно чрез косене, а пасищата – предимно чрез изпасване. Общоприето е определението за пасища, дадено от Peeters et al. (2014), според които под термина пасище се разбира тревна площ, предназначена за производство на фуражна продукция, прибрана чрез паша, косене или/и двете, или използвана за други селскостопански цели, като например възобновяем енергийен източник за получаване на биоенергия. Според тях пасищата биват постоянни и временни (сяти). В частност планинските пасища спадат към естествени и полуестествените тревни площи. Те са ниско продуктивни, ниско-

has rich flora and diversity of plant communities. Bulgarian flora composition involves 170 species and 100 Bulgarian endemic subspecies (Petrova, 2006) and 270 Balkan endemics (Petrova and Vladimirov, 2010).

The territory of the country is characterized by significant plant diversity, as according to Apostolova and Slavova (1997), it is represented by 2195 syntaxonomic units. Diverse plant flora is the natural cover of grass areas, used for grazing of domestic and wild herbivora.

According to manner of using, grass areas are divided in two categories: *meadows and pastures*

Meadows are grass areas, which are harvested mainly by mowing, and pastures - mainly by grazing.

The definition of Peeters et al. (2014) is generally accepted, according to whom the term 'pasture' is understood as a grass area intended for forage production, harvested by grazing, mowing or/and both, or used for other agricultural purposes, such as renewable energy sources for production of bioenergy.

According to them, pastures are permanent and temporary ones (sown). In particular, mountain pastures belong to natural and semi-natural grass areas. They are

добивни постоянни тревни площи, в които доминират местни естествени тревни съобщества, други тревни видове, в някои случаи храсти и/или дървета. Част от планинските пасища, каквито се срещат у нас, са екстензивно използвани тревни площи за паша, където обикновено пасящите животни се придружават от пастир – овчар, козар или говедар. Те включват естествена и полуестествена тревна растителност, алпийски тревни съобщества, храсти, заблатени площи и гористи такива. Съставът на тревната маса от пасищата определя хранителната ѝ стойност, а наличното количество тревна маса или добивът от единица площ определя възможността за задоволяване на енергийните и протеинови нужди на животните. Енергийната хранителност на фуражите у нас за преживните животни се определя от нето енергията за мляко или за растеж (кърмни единици за мляко – КЕМ и кърмни единици за растеж – КЕР). Съдържанието на енергия и протеин в пасищните тревостои намаляват с напредване на вегетацията, но се увеличава добива на суха маса. Нуждите на различните видове и категории тревопасни животни са различни, съответно различен е и съответният брой по вид и категория животни, които могат да се изхранват от съответното пасище в зависи-

low-productive, low-yield permanent grass areas, where dominant are local natural grass communities, other grass species, in some cases shrubs and/or trees.

A part of the mountain pastures, which could be seen in Bulgaria, are extensively used rangelands, where usually grazing animals are accompanied by a herd – a shepherd, goatherd or cowherd. They include natural and semi-natural grass vegetation, alpine grass communities, shrubs, marshy areas and forests.

Composition of grasses in the pastures determines its nutritional value, and the available quantity of grass matter or the yield per unit area determines the ability to satisfy the energy and protein needs of animals.

Energy nutritive value of forages in our country for ruminants is determined by the net energy for milk and growth (feed unit for milk - FUM and feed unit of growth - FUG).

Energy and protein content in grazing grasslands decrease with advancing vegetation, but it increases the dry matter yield. The needs of different various types and categories of herbivora are different, and the corresponding number is also different by type and category of animals, which could feed themselves by the particular pasture depending on

МОСТ ОТ ДОБИВА.

yield.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Национален парк „Централен Балкан“ е вторият по големина национален парк в България с площ от 72021.07 ha., като е обявен за защитена територия през 1991 г. Разположен е в централната част на България и е създаден с цел опазването на биологичното разнообразие, местният поминък и традиции в Средна Стара планина. През 2012 г. стартира проект „Централен Балкан – Парк за всички“ (DIR 5113325-12-109). Проектът се финансира от Европейския фонд за регионално развитие и от държавния бюджет на Република България, чрез Оперативна програма “Околна среда 2007-2013 г.”

Основната цел на проекта е изпълнение на дейности по устройство и управление на Национален парк Централен Балкан и управляваните от Дирекцията на парка резервати.

При разработването на проекта са избрани 11 моделни територии (МТ) за наблюдение, като са ползвани следните критерии:

1. Условия за практикуване на пасищно животновъдство, като са определени 3 задължителни изисквания:

➤ Местата да попадат в Мултифункционалната зона на Национален парк „Централен Балкан“;

➤ В местата да е провеждана паша през послед-

## MATERIAL AND METHODS

Central Balkan National Park is the second largest national park in Bulgaria with an area of 72021.07 ha, which was declared for a protected area in 1991. It is located in the central part of Bulgaria. It has been created with the aim to preserve biodiversity, local means of living and traditions in the Central Balkan Mountain. In 2012, the project "Central Balkan - Park for everyone"(DIR 5113325-12-109) started The project was financed by the European Development Regional Fund and the state budget of Republic of Bulgaria, through the Operational Programme "Environment 2007-2013."

The main objective of the present project was to implement activities for organization and management of the Central Balkan National Park and the natural reserves, which are managed by the Park Directorate.

During project development were chosen 11 model territories (MT) for observation, as the following criteria were used:

1. Conditions for applying of livestock grazing, as three mandatory requirements are defined:

➤ The sites should fall in the Multifunctional area of the Central Balkan National Park;

➤ Grazing should be carried out in these sites in recent

ните години;

➤ Териториите да са традиционни (използвани и в миналото) места за пашуване на домашни животни.

2. Наличие на места за водопой на домашните животни

3. Наличие на ключови природни местообитания

Под ключови местообитания се разбират природни местообитания с висока концентрация на флористично видово разнообразие и безлесни природни местообитания в неблагоприятно състояние. Условие за избор на моделна територия е наличието на едно или няколко от следните природни местообитания, които попадат в приложение 1 на Закона за биологичното разнообразие (2007) и Директива 92/43/ЕЕС:

➤ Планински сенокосни ливади (6520);

➤ Оро-мизийски ацидо-филни тревни съобщества (62D0);

➤ Силикатни алпийски и бореални тревни съобщества (6150);

➤ Алпийски и субалпийски варовикови тревни съобщества (6170);

➤ Богати на видове картъллови съобщества върху силикатен терен в планините (6230);

➤ Полуестествени сухи тревни и храстови съобщества върху варовик (6210).

years;

➤ Territories should be traditional (used in the past) sites for grazing of domestic animals.

2. Available sites for watering of domestic animals

3. Available key/main habitats

Under key habitats is understood natural habitat with high concentration of floristic biodiversity and treeless natural habitats in unfavourable condition.

A condition for the selection of model territory is the presence of one or some of the following natural habitats, which fall under Annex 1 of the Biological diversity act (2007) and Directive EEC:

➤ Mountain hay meadows (6520)

➤ Oro-Moesian acidophilous grasslands (62D0);

➤ Siliceous alpine and boreal grasslands (6150);

➤ Alpine and sub-alpine calcareous grass communities (6170);

➤ Species-rich Nardus grasslands, on siliceous substrates in mountain areas (6230);

➤ Semi-natural dry grasslands and scrubland facies on calcareous substrate (6210).

Изборът на моделни територии е направен в няколко последователни стъпки и е базиран на първичната информация от заданието на обществена поръчка „Избор на консултант натура“ по проект „Централен Балкан – парк за всички“ (DIR 5113325-12-109). Като първа стъпка е направен ГИС анализ на наличната информация по изложените погоре критерии. Целта му бе идентифициране на територии от НП „Централен Балкан“, които покриват максимално критериите за избор. След това информацията беше верифицирана на терен в периода август-септември 2014 г. Третата стъпка е избор и очертаване на границите на 11-те моделни територии.

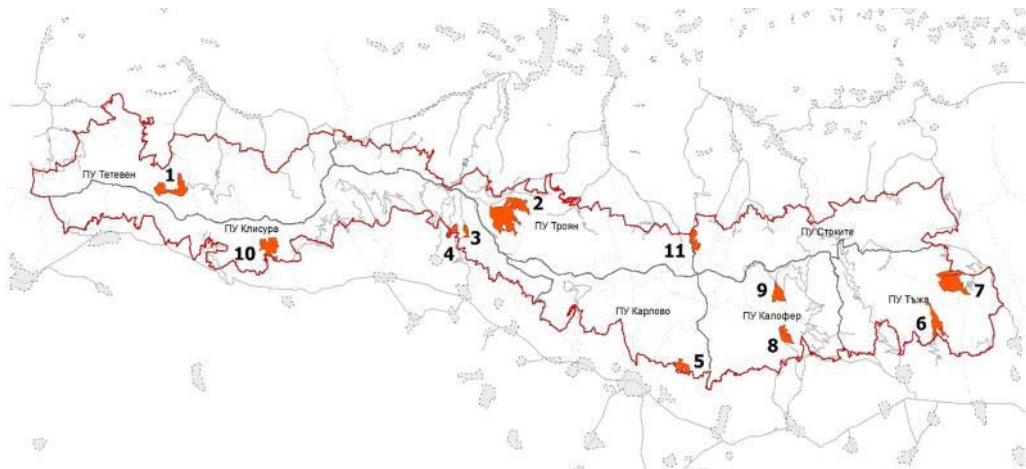
Общата площ на избраните 11 моделни територии е 17405.35 da, като отделните територии варират от 311.14 da до 5100.33 da. Общата площ на ключовите местообитания за опазване е 10800.42 da. Моделните площи включват общо 15 пасищни района, като във всяка една моделна територия пасищата са от 1 до 3.

MT са следните: Параджика, Параджишки чал, Шопов егрек, Болованя, Горни поленици, Поин дол, Сиврията, Дапково, Дановска поляна, Синаница и Арапска мандра (Фиг. 1).

The choice of model territories was done in several successive steps, based on the primary information from the assignment of public procurement "Selection of Natura Consultant" in the project "Central Balkan – Park for Everyone" (DIR 5113325-12-109). The first step was to make GIS analysis of the available information on the above criteria. Its aim was to identify the territories of the Central Balkan National Park, which covered the choice criteria at the most. After that the information was verified on a terrain in the period August-September 2014. The third step was the choice and contour of the borders of the 11 model territories.

The total area of the chosen 11 model territories was 17405.35 da, as the separate territories varied from 311.14 da to 5100.33 da. The total area of the key habitats for preservation was 10800.42 da. Model territories included totally 15 grazing areas, as the pastures were from 1 to 3 in each of the model territories.

MT are the following: MT were the following: Paradzika, Paradzishki chal, Shopov egrek, Bolovanya, Gorni polenitsi, Poin dol, Sivriyata, Dapkovo, Danovska polyana, Sinanitsa and Arapska mandra (Fig. 1).



1. Болуваня / Boluvanya
2. поин дол / Poindol
3. Сиврията / Sivriyata
4. дановска поляна / Danovska polyana
5. Арапска мандра / Arapska mandra
6. шолов егрек / Shorov egrek
7. Синаница / Sinantsa
8. Параджики чал / Paradzhisiki chal
9. Параджишки чал / Paradzhisiki chal
10. Далково / Darkovo
11. Горни поленици / Gorni polenitsi

- Моделна територия
- Граници на НП "Централен Балкан"
- Граница парков участък
- Пътища
- Пътеки
- Урбанизирани територии

Моделна територия / Model territory

Граници на НП Централен Балкан / Borders of Central Balkan National Park

Граница парков участък / Border of park section

Пътища / Roads

Пътеки / Paths

Урбанизирани територии / Urbanized territories

В границите на всяка една МТ са избрани трансекти, разположени в пространството така, че да са подходящи за събиране на данни за различни биологични групи и да дават възможност за съвместното анализиране на данните и интерпретиране на резултатите. Трансектите се фокусират в една точка и обикновено следват основните географски посоки, но също така са съобразени с конкретните условия на терена и разположението на кошарите. По осите на всеки трансект са направени по 3 фитоценотични описания, съответно на 100 m, 300 m и 500 m. Направено е и едно фитоце-

Within the borders of each MT were chosen transects, which were situated in the space in such a way to be suitable for collection of data for the various biological groups and to give opportunity for common analysis of data and interpretation of results. Transects were focused in one point and usually followed the main cardinal directions, but they also complied with the specific conditions of the terrain and the location of the pens. Along the axes of each transect were made 3 phytocenotic descriptions, relatively at 100m, 300m and 500m.

One phytocenotic description was



нотично описание (нулево описание) в центъра на всяка пробна площ, равномерно отдалечено от началото на всеки един трансект.

На всяка моделна територия в 10 повторения е определена степента на тревно покритие, вида на тревите, групирани като житни, бобови и разнотрелие. На тази основа и по литературни данни за региона е определен добива на пасищните тревостои, тяхната хранителна стойност и съответно натоварването на пасището с различни видове животни.

Добивът от естествените пасища у нас е нисък ("Агροстатистика" към МЗХ), средно 160-180 kg/da. По наши проучвания при планинските пасища той е от 200 до 300 kg суха маса/сено от декар (Todorova and Kirilov, 2002). В нашето проучване се позоваваме на Тодоров и др. 2007, като сме приели, че добивът на суха маса от проучваните по проекта моделни територии (пасища) е средно 210 kg/da суха маса, а съдържанието на крѐмни единици за мляко (КЕМ) и крѐмни единици за растеж (КЕР) са съответно 0,81 и 0,76 в 1 kg сухо вещество. На база на реално определената затревена площ на всяка моделна територия (пасище) е изчислен теоретичния добив на суха маса и съответния добив на крѐмни единици за мляко и за растеж.

also made (zero description) in the center of each test area, evenly remote from the beginning of each transect.

On each model territory in 10 replications was determined the level of grass coverage, grass species, divided into grasses, legumes and motley grasses. On that basis and according to data for the region, the yield of pastures from the region was determined, their nutritional value and hence the load on pasture with different animal species.

The yield from natural pastures in Bulgaria is low (Agrostatistics of Ministry of Agriculture and Food), it is 160-180 kg/da average. According to our studies for mountain pastures, it was from 200 to 300 kg dry matter/hay per decare (Todorova and Kirilov, 2002). We refer to Todorov et al. 2007 in our study, as we have accepted that dry matter yield of studied model territories (pastures) was averagely 210 kg/da dry matter, and content of feed unit for milk (FUM) and feed unit for growth (FUG) was respectively 0,81 and 0,76 в 1 kg dry matter.

Based on real determined grassed area of each model territory (pasture), the theoretical dry matter yield and the respective yield of feed unit for milk and growth were calculated.

Получените данни са използвани за определяне възможният брой животни, които могат да се изхранят на съответното пасище през пасищен период от 150 дни, като са приети нормите за хранене на съответния вид и категория животни по Тодоров и др. (2007). Изчисленията са направени за животни, обичайно отглеждани в планинските райони: овце с 50 kg жива маса и 0,5 l дневна млечност, кози с 40 kg жива маса и средно 1 l дневна млечност, коне със средна жива маса 350 kg, сухостойни крави с 400 kg жива маса и лактиращи крави с 400 kg жива маса и 10 l дневна млечност.

The resulting data were used to determine the possible number of animals that can be fed on the respective pasture during the grazing period of 150 days, as the feeding norms of the respective species or category of animals were accepted according to Todorov et al. (2007). Calculations are made for animals, usually bred in mountain regions: sheep with 50 kg body weight and 0.5 l daily milk yield, goats with 40 kg body weight and 1 l average daily milk yield, horses with average body weight of 350 kg, dry cows with 400 kg body weight and lactating cows with 400 kg body weight and 10 l daily milk yield.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В резултат на проведените проучвания са установени 318 вида висши растения. От агрономическа гледна точка, видовете в състава на пасищата в границите на МТ са разделени на 3 групи – житни, бобови и видове от разнотревието. Това е традиционно възприето разделяне, което е базирано на фуражните качества и ролята на тези групи, като хранителна база за селскостопанските животни. При анализа на установения флористичен състав на пасищата се получават следните резултати:

*Бобови растения* – представени са с 16 вида от 7 рода – *Trifolium* (12 вида), *Anthyllis* (2

## RESULTS AND DISCUSSION

As a result of the studies, 318 species of higher plants were identified. From an agronomic point of view, species in the composition of pastures within the borders of MT were divided in 3 groups – grasses, legumes and species of motley grasses. It is a traditional accepted division, which is based on forage qualities and the role of these groups, as nutritional basics for the livestock. In analyzing the established floristic composition of pastures, the following results were gathered:

*Legumes* – represented by 16 species of 7 genera – *Trifolium* (12 species), *Anthyllis* (2 species),

вида), а *Medicago*, *Lotus*, *Vicia* и *Coronilla* са представени с по 1 вид.

*Житни растения* – включват 46 вида, от които най-богати на видове са родовете *Poa* (7 вида), *Carex* (6), *Festuca* (5), *Bromus* и *Luzula* – с по 3 вида, *Agrostis*, *Phleum*, *Cynosurus* и *Koeleria* – с по 2, а останалите родове (*Danthonia*, *Dichanthium*, *Lolium*, *Brachypodium*, *Holcus*, *Anthoxanthum*, *Vulpia*, *Juncus*, *Chrysopogon*, *Dactylis*, *Nardus*, *Calamagrostis*, *Deschampsia* и *Sesleria*) са с по 1 вид.

Видове от групата на *разнотревието*, която включва 216 вида. Най-богатите на видове са родовете: *Potentilla* (9 вида), *Centaurea* (7); *Viola*, *Veronica*, *Ranunculus* – с по 6; *Achillea*, *Galium*, *Stachys* и *Thymus* – с по 5; *Alchemilla*, *Geranium*, *Hieracium*, *Rumex* и *Verbascum* – с по 4 и *Campanula*, *Cirsium*, *Euphorbia*, *Geum*, *Hypericum*, *Leontodon*, *Plantago*, *Potentilla*, *Sedum* и *Silene* с по 3 вида. Останалите родове са представени с по 1 или 2 вида.

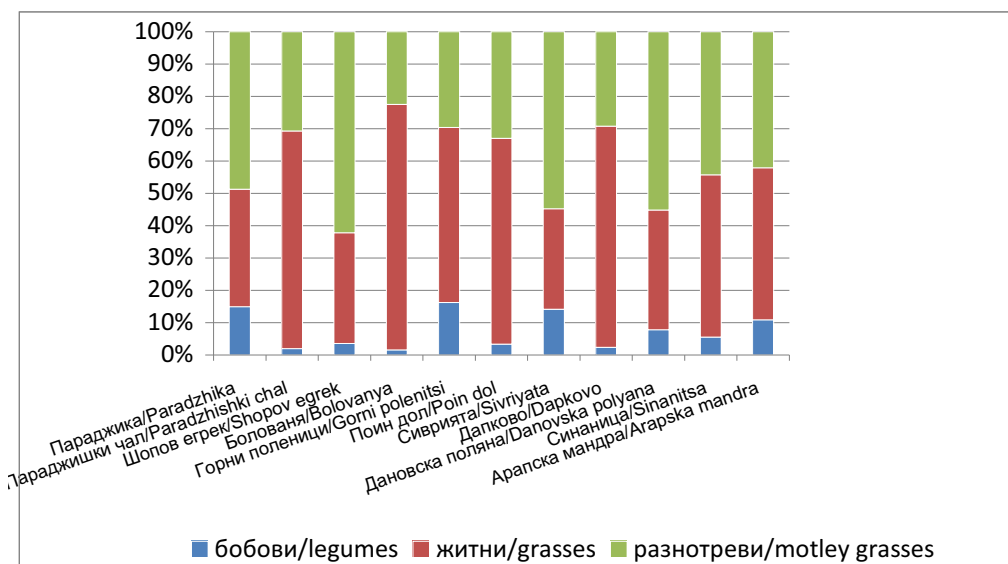
Тридесет и седем вида са храстови и дървесни и не са обект на настоящото изследване.

and *Medicago*, *Lotus*, *Vicia* and *Coronilla* were represented by 1 species.

*Grasses* – Included 46 species, the following genera had the greatest diversity of species – *Poa* (7 species), *Carex* (6), *Festuca* (5), *Bromus* and *Luzula* – with 3 species, *Agrostis*, *Phleum*, *Cynosurus* and *Koeleria* – with 2, and the other genera (*Danthonia*, *Dichanthium*, *Lolium*, *Brachypodium*, *Holcus*, *Anthoxanthum*, *Vulpia*, *Juncus*, *Chrysopogon*, *Dactylis*, *Nardus*, *Calamagrostis*, *Deschampsia* and *Sesleria*) had 1 species.

Motley grasses – Includes 216 species. The following genera had the greatest number of species: *Potentilla* (9 species), *Centaurea* (7); *Viola*, *Veronica*, *Ranunculus* – with 6; *Achillea*, *Galium*, *Stachys* and *Thymus* – with 5; *Alchemilla*, *Geranium*, *Hieracium*, *Rumex* and *Verbascum* – with 4 and *Campanula*, *Cirsium*, *Euphorbia*, *Geum*, *Hypericum*, *Leontodon*, *Plantago*, *Potentilla*, *Sedum* and *Silene* with 3 species. The other genera were presented with 1 or 2 species.

Thirty-seven species were shrub-like and wood-like, and they were not a subject of the present study.



**Фиг. 2. Ботаничен състав на моделните територии**  
**Fig. 2. Botanical composition of model territories**

При повечето проучвани територии преобладаващи са житните или разнотревните видове, а бобовите са много малък процент. По моделни територии състоянието е дадено на Фиг. 2.

Делът на реалното тревно покритие на всяко пасище определя добива на суха маса и съответно на крѐмни единици от единица площ (Таблица 2). С най-висок добив на суха маса и съответно на КЕМ е моделната територия Горни поленци. С подобни стойности са и Шопов егрек, Болованя и Арапска мандра.

In most studied territories, grasses or motley grass species were predominant, and legumes were a very small percentage. The situation is presented for the model territories in Fig. 2.

The share of real grass coverage of each pasture determines dry matter yield and respectively the feed units per unit of area (Table 2). The highest dry matter yield and hence FUM was the model territory of Gorni poletsi. Similar values had Shopov egrek, Bolovanya and Arapska mandra.

**Таблица 2. Теоретичен добив на суха маса и КЕМ и натовареност на пасищата с животни**

**Table 2. Theoretical yield of dry matter and FUM load-bearing of grazing animals**

Показатели Indicators	Моделни територии Model territories										Средно Average	
	Параджика Paradzhihka	Парадж. Чал Paradzhihki chal	Шопов егрек Shorov egrek	Боло-ваня Bolovanya	Горни Пол. Gorni Pol.	Поин дол Poin dol	Сиврия Sivriya	Дарково Darpkovo	Дановска поляна. Danovska polyana	Синаница Sinanitsa		Арал. Мандра Arapska mandra
Средно проективно покритие от тревни видове Average grass species horizontal projection cover	78,63	48,18	75,45	74,55	78,18	68,00	54,55	62,27	78,64	63,19	82,27	<b>69,45</b>
Добив СВ M yield, kg/da x (min-max)	168,0 (136,5 – 199,5)	111,3 (42,0 – 189,0)	174,3 (136,5 – 199,5)	172,2 (105,0 – 210,0)	180,6 (105,0 – 199,5)	157,1 (84,0 – 205,8)	126,0 (42,0 – 210,0)	143,8 (52,5 – 199,5)	162,8 (63,0 – 210,0)	164,8 (84,0 – 199,5)	172,2 (126,0 – 199,5)	<b>157,6</b>
Добив КЕМ Yield FUM/da x (min-max)	147,0 (110,5 – 161,5)	90,1 (34,0 – 153,0)	141,1 (110,5 – 161,5)	139,4 (85,0 – 170,0)	146,2 (85,0 – 161,5)	127,2 (68,0 – 161,5)	102,0 (34,0 – 170,0)	116,4 (42,5 – 161,5)	131,8 (51,0 – 170,0)	133,4 (68,0 – 161,5)	139,4 (102,0 – 161,5)	<b>128,5</b>
<b>Натовареност на пасището според добива на КЕМ, брой животни на 10 да Load-bearing of the pasture according to FUM, number of animals per da</b>												
Овце Sheep	8,91 (6,69 – 9,78)	5,46 (2,06 – 9,27)	8,55 (6,70 – 9,78)	8,45 (5,15 – 10,3)	8,86 (5,15 – 9,79)	7,71 (4,12 – 10,1)	6,18 (2,06 – 10,3)	7,06 (2,57 – 9,79)	7,98 (3,09 – 10,3)	8,08 (4,12 – 9,79)	8,45 (6,18 – 9,79)	<b>7,8</b>
Кози Goats	8,10 (6,08 – 8,89)	4,96 (1,87 – 8,43)	7,77 (6,08 – 8,90)	7,68 (4,68 – 9,37)	8,05 (4,68 – 8,90)	7,01 (3,75 – 9,18)	5,61 (1,87 – 9,37)	6,42 (2,34 – 8,90)	7,25 (2,81 – 9,37)	7,35 (3,74 – 8,90)	7,68 (5,62 – 8,90)	<b>7,1</b>
Крави Cows	1,75 (1,31 – 1,92)	1,07 (0,40 – 1,82)	1,68 (1,31 – 1,92)	1,66 (1,01 – 2,02)	1,74 (1,01 – 1,92)	1,51 (0,81 – 1,98)	1,21 (0,40 – 2,02)	1,39 (0,50 – 1,92)	1,57 (0,61 – 2,02)	1,59 (0,81 – 1,92)	1,65 (1,21 – 1,92)	<b>1,5</b>
Крави, дойни Dairy cows	1,05 (0,79 – 1,16)	0,65 (0,24 – 1,10)	1,01 (0,79 – 1,16)	1,0 (0,61 – 1,22)	1,05 (0,61 – 1,15)	0,91 (0,48 – 1,16)	0,73 (0,24 – 1,22)	0,83 (0,30 – 1,15)	0,94 (0,36 – 1,22)	0,96 (0,49 – 1,16)	1,0 (0,73 – 1,16)	<b>0,8</b>
Коня* Horses*	1,98 (1,49 – 2,17)	1,21 (0,45 – 2,05)	1,89 (1,48 – 2,17)	1,87 (1,14 – 2,28)	1,96 (1,14 – 2,17)	1,71 (0,91 – 1,16)	1,37 (0,46 – 2,29)	1,57 (0,57 – 2,17)	1,77 (0,68 – 2,28)	1,80 (0,91 – 2,17)	1,87 (1,37 – 2,17)	<b>1,7</b>

\*Броят е определен на база добив суха маса

\*The number was determined on the basis of dry matter yield

Тези територии се характеризират с най-голям дял затревена площ, с която се обяснява повишения добив на суха маса и КЕМ и съответно по-голямо натоварване с животни на единица площ в сравнение с останалите територии. Изчисленията са теоретични, направени на база среден добив, но той би могъл да е различен в зависимост от метеорологичните условия през съответната година. Най-точна оценка би се получила от реално отчитане на добива, химичния състав и съответното съдържание на КЕМ и КЕР в момента на пашуване.

### **ИЗВОДИ**

Върху проучваните 11 моделни територии в НП „Централен Балкан“ са установени 46 видове житни треви, 16 вида бобови и 216 вида разнотравие.

С най-добро тревно покритие и добив, и съответно с потенциал за най-висока натовареност с животни са пасищните територии Горни поленци, следвани от Шопов егрек, Болованя и Арапска мандра.

Изследваните моделни територии позволяват да бъдат натоварвани, без това да вреди а биологичното разнообразие, средно с едни от следните видове животни овце 7,8 броя на 10 da, 7,1 кози/10 da, сухостойни крави 1,5/10 da, дойни крави 0,8/10 da или 1,7 броя коне на 10 da.

These territories are characterized with the highest share of grassed area, by which is explained the higher dry matter yield and FUM and respectively the greater load with animals per unit of area in comparison with the other territories. Calculations are theoretical, made on the basis of average yield, but it could be different depending on the meteorological conditions in the respective year. The most precise evaluation could be obtained by the actual reporting of yield, chemical composition and hence the content of FUM and FUG in the grazing period.

### **CONCLUSIONS**

For the 11 model territories in Central Balkan National Park were found 46 grass species, 16 legume species and 216 motley grasses.

The following grazing territories have the best grass cover and yield, and respectively with potential for the highest load-bearing of animals: Gorni polentsi, followed by Shopov egrek, Bolovanya and Arapska mandra.

The studied model territories allow load-bearing of animals, without any harm on the biodiversity, averagely with the following animal species: 7.8 sheep on 10 da, 7.1 goats/10 da, dry cows 1.5/da, milk cows 0.8/10 da or horses 1.7 on 10 da.

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Апостолова И., Славова Л.** Конспект на растителните съобщества в България, публикувани през периода 1891-1995. Печат ЕТ „К. Беливанов“, София, 1997.
2. **Тодоров Н., Крачунов И., Джовинов Д., Александров А.** Справочник по хранене на животните. Изд. МАТКОМ, София, 2007, ISBN 978-954-9930-47-4. с.399.
3. **Petrova A.** Atlas of Bulgarian endemic plants. Gea-Libris Publishing House, Sofia, 2006.
4. **Petrova A., Vladimirov V.** Balkan endemics in the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica*, 2010, 16: 293–311.
5. **Todorova P. and Kirilov A.** Changes in the permanent grassland composition and feeding value during the growing season. In: J.L. Durand. J.C. Emile, C. Huyghe and G. Lemaire (eds), Multi-function grasslands. *Grassland Science in Europe*, 2002, vol. 7, 170-171.
6. **Peeters A., Beaufoy G., Canals R.M., De Vlieger A., Huyghe Ch., Isselstein J., Jones G., Kessler W., Kirilov A., Mosquera-Losada M.R., Nilsson-Linde N., Parente G., Peyraud J.-L., Pickert J., Plantureux S., Porqueddu C., Rataj D., Stypinski P., Tonn B., van den Pol – van Dasselaar A., Vintu V. and Wilkins R.,** Grassland term definitions and classifications adapted to the diversity of European grassland-based systems. In EGF at 50: The Future of European Grasslands. Ed. A. Hopkins et al., *Grassland Science in Europe*, 2014, vol. 19, 743-750.  
<http://visitcentralbalkan.net/bg/pages/index/t:%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B5%D0%BA%D1%82-%D0%BF%D0%B0%D1%80%D0%BA-%D0%B7%D0%B0-%D0%B2%D1%81%D0%B8%D1%87%D0%BA%D0%B8/c:%D0%B0%D0%BA%D1%82%D1%83%D0%B0%D0%BB%D0%BD%D0%BE>

## REFERENCES

1. **Apostolova I., Slavova L.** Synopsis of plant communities in Bulgaria, published during the period 1891-1995 „K. Belivanov“ Publishing, Sofia, 1997. (In Bulgarian)
2. **Todorov N., Krachunov I., Dzhovinov D., Alexandrov A.** Guide for animal nutrition. МАТКОМ, Publishing, Sofia, 2007, ISBN 978-954-9930-47-4. p. 399. (In Bulgarian)
3. **Petrova A.** Atlas of Bulgarian endemic plants. Gea-Libris Publishing House, Sofia, 2006.
4. **Petrova A., V. Vladimirov.** 2010. Balkan endemics in the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica*, 16: 293–311.
5. **Todorova P. and Kirilov A.** Changes in the permanent grassland composition and feeding value during the growing season. In: J.L. Durand. J.C. Emile, C. Huyghe and G. Lemaire (eds), Multi-function grasslands. *Grassland Science in Europe*, 2002, vol. 7, 170-171.
6. **Peeters A., Beaufoy G., Canals R.M., De Vlieger A., Huyghe Ch., Isselstein J., Jones G., Kessler W., Kirilov A., Mosquera-Losada M.R., Nilsson-Linde N., Parente G., Peyraud J.-L., Pickert J., Plantureux S., Porqueddu C., Rataj D., Stypinski P., Tonn B., van den Pol – van Dasselaar A., Vintu V. and Wilkins R.,** Grassland term definitions and classifications adapted to the diversity of European grassland-based systems. In EGF at 50: The Future of European Grasslands. Ed. A. Hopkins et al., *Grassland Science in Europe*, 2014, vol. 19, 743-750.  
<http://visitcentralbalkan.net/bg/pages/index/t:%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B5%D0%BA%D1%82-%D0%BF%D0%B0%D1%80%D0%BA-%D0%B7%D0%B0-%D0%B2%D1%81%D0%B8%D1%87%D0%BA%D0%B8/c:%D0%B0%D0%BA%D1%82%D1%83%D0%B0%D0%BB%D0%BD%D0%BE>

## **Пластидни пигменти и азот в добива надземна маса в някои тревни смеси**

Анна Илиева и Вилиана Василева\*

*Институт по фуражните култури, ул. "Генерал Владимир Вазов" 89,  
5800 Плевен, България*

*\*E-mail: viliana.vasileva@gmail.com*

## **Plastid pigments content and nitrogen in dry mass yield in some mixtures**

Anna Ilieva and Viliana Vasileva\*

*Institute of Forage Crops, 89 "General Vladimir Vazov" Str., 5800 Pleven, Bulgaria*

### **РЕЗЮМЕ**

Определени са съдържанието на пластидни пигменти и азот в добива надземна маса на някои бобови фуражни култури в съдов опит, изведен в Институт по фуражните култури, Плевен, България (2013-2014). Звездан, еспарзета и подземна детелина са отглеждани самостоятелно (100%) и в смеси с пасищен райграс при следните съотношения: звездан + пасищен райграс (50:50%), еспарзета + пасищен райграс (50:50%), подземна детелина + пасищен райграс (50:50%), звездан + подземна детелина + пасищен райграс (33:33:33%), еспарзета + подземна детелина + пасищен райграс (33:33:33%). Съдържанието на пластидни пигменти в самостоятелно отглежданите култури е както следва: еспарзета (333.96 mg/100 g FW), звездан (172.54 mg/100 g FW) и подземна детелина (95.73 mg/100 g FW). В смеси с пасищен райграс съдържанието на пластидни пигменти при бобовите култури се увеличава в сравнение със самостоятелните и намалява при пасищен райграс. Най-голямо увеличение в съдържанието на пластидни пигменти е установено в подземна детелина - от 64.5% за

### **SUMMARY**

Plastid pigments content and nitrogen in dry mass yield in some forage legumes crops were determined in a pot trial carried out in the Institute of Forage Crops, Pleven, Bulgaria (2013-2014). Birdsfoot trefoil, sainfoin and subterranean clover were pure grown (100%) and in mixtures with perennial ryegrass in the next ratios: birdsfoot trefoil + perennial ryegrass (50:50%); sainfoin + perennial ryegrass (50:50%); subterranean clover + perennial ryegrass (50:50%); birdsfoot trefoil + subterranean clover + perennial ryegrass (33:33:33%); sainfoin + subterranean clover + perennial ryegrass (33:33:33%). Plastid pigments content in pure grown crops was found as follows: sainfoin (333.96 mg/100 g FW), birdsfoot trefoil (172.54 mg/100 g FW), subterranean clover (95.73 mg/100 g FW). Plastid pigments content in mixtures with perennial ryegrass increased in legumes as compared to pure grown crops and decreased in perennial ryegrass. In subterranean clover the highest increase of plastid pigments content was found, i.e. from 64.5% in subterranean clover + perennial ryegrass (50:50%) to 160% in birdsfoot trefoil +



смеската ѝ с пасищен райграс (50:50%) до 160% за тази със звездан и пасищен райграс (33:33:33%). Съдържанието на азот в добива надземна маса при самостоятелните звездан (5.95 g/kg суха маса) и подземна детелина (5.86 g/kg суха маса) е близко по стойности, и по-ниско при еспарзета (5.43 g/kg суха маса). Средно от двукомпонентните смеси на звездан, еспарзета и подземна детелина с пасищен райграс (50:50%) азотът в добива надземна маса е с 25.7% по-висок от този на самостоятелните бобови култури.

**Ключови думи:** звездан, еспарзета, подземна детелина, пасищен райграс, пластидни пигменти, азот в добива

## УВОД

Интересът към смесени системи, базиращи се на отглеждане на бобови и житни култури нараства през последните години, поради ролята им в изграждане на устойчиво и екологично чисто земеделие (Luscher et al., 2014; Kusvuran et al., 2014). Азотът от биологичната азотфиксация е един от основните източници на азот, който се използва директно от растенията (Graham, 2008; Solomon et al., 2012). Бобовият компонент чрез азотфиксиращата способност допринася за повишаване съдържанието на азот в смеската (Scholefield and Titcher, 1995; Peeters et al., 2006; Pozdisek et al., 2011). Смесените посеви са по-ефективни от самостоятелните по отношение използване ресурсите на околната среда, по-добре издържат на неблагоприятни условия и са по-продуктивни

subterranean clover + perennial ryegrass (33:33:33%). Nitrogen in dry mass yield in pure legumes was similar in birdsfoot trefoil (5.95 g/kg dry mass) and subterranean clover (5.86 g/kg dry mass), and lower in sainfoin (5.43 g/kg dry mass).

An averaged from the mixtures of birdsfoot trefoil, sainfoin and subterranean clover with perennial ryegrass (50:50%). Nitrogen in dry mass yield was found 25.7% higher as compared to nitrogen in dry mass yield in pure legumes.

**Key words:** birdsfoot trefoil, sainfoin, subterranean clover, perennial ryegrass, plastid pigments, nitrogen in yield

## INTRODUCTION

Interest towards intercrops based on growing legume and grasses is rising in recent years due to their role in development of sustainable and ecologically friendly agriculture (Luscher et al., 2014; Kusvuran et al., 2014).

Nitrogen derived from biological nitrogen fixation is the main source of nitrogen utilized directly by plants (Graham, 2008; Solomon et al., 2012). The legume component in such intercrops contributes to increase of nitrogen content in the mixture (Scholefield and Titcher, 1995; Peeters et al., 2006; Pozdisek et al., 2011).

Mixtures are more effective than pure grown crops in using environmental resources, better withstand adverse conditions and are more productive (Albayrak et al., 2011; Mihovski and Sabeva,

(Albayrak et al., 2011; Mihovski and Sabeva, 2011; Chourkova, 2014).

Един от най-важните фактори, определящи продуктивността, е процесът фотосинтеза, чрез който зелените растения натрупват органично вещество и енергия (Nichiporovich, 1971; Smirnova et al., 2013). Поглъщането и трансформацията на слънчевата енергия се осъществява чрез фотосинтетичните пигменти – хлорофили а и b, и каротиноиди. Основен хлорофил е хлорофил а, който обезпечава по-висока ефективност на процеса на превръщане на диоксида на въглерода и водата в органични съединения. Каротиноидите изпълняват и защитна функция – предотвратяват деструктивното фотоокисляване на органичните съединения на протоплазмата в присъствие на свободен кислород. Съдържанието на фотосинтетични пигменти е показател за реакцията на растенията към промените във факторите на външната среда и степента на адаптация към новите екологични условия (Titova, 2010; Nurmakova, 2013; Smirnova et al., 2013).

В смеси участват различни компоненти, които влизат в конкурентни отношения и от физиологичния им статус зависи продуктивността и качеството на фуража.

В настоящето проучване са включени традиционни пасищни фуражни култури (звездан, ес-

2011; Chourkova, 2014).

One of the most important factors determining productivity is the photosynthesis process by which green plants accumulate organic matter and energy (Nichiporovich, 1971; Smirnova et al., 2013). Ingestion and transformation of solar energy is achieved by photosynthetic pigments – chlorophyll a and b, and carotenoids. A major chlorophyll is chlorophyll a and it provides higher efficiency of the conversion of carbon dioxide and of water in the organic compounds.

Carotenoids also have a protective function - prevent destructive photo oxidation of organic compounds of protoplasm in the presence of free oxygen.

The content of photosynthetic pigments is an indication of the response of plants to changes in environmental factors and the degree of adaptation to new environmental conditions (Titova, 2010; Nurmakova, 2013; Smirnova et al., 2013).

In mixtures involving different components that come in competition, and productivity and quality of the forage depends on their physiological status.

In the present study traditional pasture forage crops (birdsfoot trefoil, sainfoin, perennial

парзета, пасищен райграс), използването на които в пасищата на страните с умерен климат е позната практика (Vučković, 2004; Katova, 2007; Chourkova, 2014).

Подземната детелина (*Trifolium subterraneum* L.) е широко разпространен компонент в пасищата в умерените области на Средна и Северна Европа, и Америка (Nichols et al., 2012), но проучванията през последните години показват, че тя има практическа приложимост и за климатичните условия на България (Василев, 2006; Vasileva and Vasilev, 2012; Ilieva et al., 2015).

Целта на настоящата работа е да се определят съдържанието на пластидни пигменти (хлорофили и каротиноиди) и азота в добива надземна маса на звездан, еспарзета и подземна детелина, отглеждани самостоятелно и в смеси с пасищен райграс.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът е изведен във вегетационната къща на Институт по фуражните култури, Плевен, България (2013-2014 г.), при полуконтролирани условия. Обект на изследване са: звездан (*Lotus corniculatus* L.) сорт "Търговище 1"; еспарзета (*Onobrychis Adans.*) - местна популация, подземна детелина (*Trifolium subterraneum* ssp. *brachycalycinum*) сорт "Antas" и пасищен райграс (*Lolium perenne* L.) сорт "Хармония - ИФК". Култу-

ryegrass) were included, the use of which in the pastures of temperate countries is known practice (Vučković, 2004; Katova, 2007; Chourkova, 2014).

Subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) is widely distributed in pastures of temperate climatic regions of Middle and Northern Europe and America (Nichols et al., 2012), but the studies in recent years showed that it has the practical applicability of the climatic conditions of Bulgaria as well (Vasilev, 2006; Vasilev and Vasileva, 2012; Ilieva et al., 2015).

The aim of this work was to determine plastid pigments content (chlorophylls and carotenoids) and nitrogen in dry mass yield of birdsfoot trefoil, sainfoin and subterranean clover, pure grown and in mixtures with perennial ryegrass

## MATERIAL AND METHODS

The trial was carried out in the greenhouse of Institute of Forage Crops, Plevna, Bulgaria (2013-2014) under semi controlled conditions. Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) cv. "Targovishte 1", sainfoin (*Onobrychis Adans.*) local population, subterranean clover (*Trifolium subterraneum* ssp. *brachycalycinum*) cv. "Antas" and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cv. "IFK - Harmoniya" were used. The crops were grown pure and in two and three

рите са проучени самостоятелно и в дву- и трикомпонентни смеси в следните варианти: звездан (100%); еспарзета (100%); подземна детелина (100%); звездан + пасищен райграс (50:50%); еспарзета + пасищен райграс (50:50%); подземна детелина + пасищен райграс (50:50%); звездан + подземна детелина + пасищен райграс (33:33:33%); еспарзета + подземна детелина + пасищен райграс (33:33:33%).

За опита са използвани съдове с вместимост 6 l, напълнени с почва (почвен подтип излужен чернозем). Сеитбата е извършена на дълбочина 1-1.5 cm за звездан, подземна детелина и пасищен райграс, и 3 cm за еспарзета. Повторността на вариантите е четирикратна.

В свежи растителни проби при прибиране на първи подраст за фураж е определено съдържанието на пластидни пигменти (хлорофил а, хлорофил б, каротиноиди, и общо) по метода на Зеленский и Могилева (1980). За целта са вземани растителни проби от растенията, отглеждани самостоятелно, а при смеските – от всеки компонент. Изчислени са съотношенията на пластидните пигменти – хлорофил а/хлорофил б и хлорофил а+б/каротиноиди.

В сухи растителни проби е определено съдържанието на общ азот по Келдал (% от абсолютно сухото вещество) в надземната маса (АОАС, 1990), азот

component mixtures in the next treatments: birdsfoot trefoil (100%); sainfoin (100%); subterranean clover (100%); birdsfoot trefoil + perennial ryegrass (50:50%); sainfoin + perennial ryegrass (50:50%); subterranean clover + perennial ryegrass (50:50%); birdsfoot trefoil + subterranean clover + perennial ryegrass (33:33:33%); sainfoin + subterranean clover + perennial ryegrass (33:33:33%).

Plastic pots with capacity of 6 l were used filled with soil (leached chernozem subtype). The sowing was made on the depth of 1-1.5 cm for birdsfoot trefoil, subterranean clover and perennial ryegrass, and 3 cm for sainfoin. Treatments were four replicated.

In fresh plant samples taken from the first cut harvested for forage plastid pigments content (chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, and total) (mg/100 g FW) was determined according Zelenskii and Mogileva (1980). For this purpose plant samples were taken from plants grown both, alone and in mixtures; for the mixtures – samples were taken from every component. Chlorophyll a/chlorophyll b and chlorophyll a+b/carotenoids ratios were calculated.

In dry plant samples total nitrogen content by Kjeldahl (as percentage of absolute dry matter) in aboveground mass was determined (АОАС, 1990), after

в добива суха надземна маса (произведение от продуктивността на суха надземна маса и % азот), (N, g/kg суха надземна маса). Експерименталните данни са обработени статистически, използвайки софтуерен продукт SPSS (2012).

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Съдържанието на пластидни пигменти като показател за физиологичния статус на растенията се променя под влияние на различни фактори.

Данните от нашето проучване са отразени на Таблица 1 и от тях се вижда, че при самостоятелно отглежданите култури, най-високо общо съдържание на пластидни пигменти е установено при еспарзетата (333.96 mg/100 g FW) и пасищния райграс (332.19 mg/100 g FW). При звездан това съдържание е 172.54 mg/100 g FW, а при подземната детелина - 95.73 mg/100 g FW.

В смеси съдържанието на пластидни пигменти варира в по-силна степен, поради конкурентните взаимоотношения между компонентите. В дву- и трикомпонентните смеси на звездан, еспарзета и подземна детелина с пасищен райграс, се наблюдава тенденция за увеличаване съдържанието на пластидни пигменти при бобовите култури в сравнение със самостоятелните и намаляване на това в пасищния райграс.

nitrogen in yield of dry mass (productivity of dry mass multiplied by the percentage of nitrogen), (N, g/kg dry mass). Data were averaged and statistically processed using SPSS (2012).

## RESULTS AND DISCUSSION

The content of plastid pigments as an indicator of the physiological status of the plant is changing under the influence of various factors.

The data from our study are shown in Table 1 and we can see that in pure grown crops the highest plastid pigments content was found in sainfoin (333.96 mg/100 g FW) and perennial ryegrass (332.19 mg/100 g FW).

Plastid pigments content in birdsfoot trefoil was found 172.54 mg/100 g FW and in subterranean clover - 95.73 mg/100 g FW.

Plastid pigments content in mixtures strongly varied due to the competitive relationships between the components.

In the two- and three component mixtures of birdsfoot trefoil, sainfoin and subterranean clover with perennial ryegrass the tendency plastid pigments content to increase in legumes and decrease in perennial ryegrass was observed.

**Таблица 1. Съдържание на пластидни пигменти при някои бобови култури, самостоятелно и в смески с пасищен райграс**

**Table 1. Plastid pigments content in some legumes, pure and in mixtures with perennial ryegrass**

Варианти Treatments	Хл а Chl. a	Хл. b Chl. b	Хл.а/б Chl. a/b	Хл.а+б Chl. a+b	Каротиноиди Carotenoids	Хл.а+б/ каротиноиди Chl. a+b/ carotenoids	Общо Total	% pure
mg/100 g FW								
B. trefoil	80.74	64.16	1.26	144.90	27.64	5.24	172.54	-
Sainfoin	155.1	126.21	1.23	281.31	52.65	5.34	333.96	-
Subclover	40.08	41.96	0.95	82.04	13.69	5.99	95.73	-
Ryegrass	150.78	127.95	1.18	278.73	53.46	5.21	332.19	-
SE (P=0.05)	22.98	21.84	0.07	49.76	9.77	0.18	59.53	
±SD	55.97	43.69	0.14	99.53	19.55	0.37	119.06	
смески/mixtures								
B. trefoil + ryegrass	131.52	106.05	1.24	237.57	46.20	5.14	283.77	+64.5
Sainfoin+ ryegrass	133.89	124.41	1.08	258.30	46.29	5.58	304.59	-8.3
Subclover+ ryegrass	172.14	141.84	1.21	313.98	60.21	5.21	374.19	+12.0
B. trefoil subclover+	147.66	129.00	1.14	276.66	55.74	4.96	332.40	+0.1
ryegrass+	103.68	98.00	1.06	201.68	39.28	5.13	240.96	+151.7
Sainfoin+	126.72	111.42	1.14	238.14	43.95	5.42	282.09	-15.1
ryegrass+	155.22	136.98	1.13	292.20	51.42	5.68	343.62	+99.2
B. trefoil subclover+	101.82	103.10	0.99	204.92	34.28	5.98	239.20	+149.9
ryegrass	134.4	117.33	1.14	251.73	46.05	5.47	297.78	-10.4
Sainfoin+	-	-	-	-	-	-	-	-
subclover+	102.81	110.46	0.93	213.27	36.09	5.91	249.36	+160.5
ryegrass	122.88	106.14	1.16	229.02	43.41	5.28	272.43	-18.0
SE (P=0.05)	6.77	4.34	0.02	10.87	2.36	0.09	13.14	
±SD	22.47	14.42	0.09	36.07	7.86	0.33	43.59	

От бобовите култури пластидните пигменти най-силно се увеличават при подземната детелина (т.е. в смеските, в които е включена подземна детелина). Така, съдържанието на пластидни пигменти се увеличава от 64.5% за подземна детелина+ пасищен райграс (50:50%) до 160% за звездан + подземна детелина + пасищен райграс (33:33:33%).

При смеската на еспарзета с пасищен райграс съдържанието на пластидни пигменти се увеличава при еспарзета с 12.0%, а при пасищен райграс е на нивото на контролата.

Съдържанието на пластидни пигменти в пасищния райграс

In the legumes the strongest increase of plastid pigments content was found in subterranean clover (i.e. in mixtures where subterranean clover was included). So, plastid pigments content increased from 64.5% in subterranean clover + perennial ryegrass (50:50%) to 160% in birdsfoot trefoil + subterranean clover + perennial ryegrass (33:33:33%).

Plastid pigments content in the mixture of sainfoin with perennial ryegrass was found to increase in sainfoin by 12.0% and in perennial ryegrass was on the level of the control.

Plastid pigments content in perennial ryegrass decreased from

намалява от 8.3% при двойната смеска със звездан до 18.0% в тройната смеска с еспарзета и подземна детелина. Най-силно е намалението при вариантите с участие на подземна детелина (с 15%-18%).

Възможна причина за увеличаване съдържанието на пластидни пигменти при бобовите и намаляване при пасищния райграс, е обменът на азот между културите. Пасищният райграс стимулира биологична фиксация на азота, получавайки го от бобовите (Davidson et al., 1986; Rogers et al., 1998).

Източник на енергия и електрони, необходими за процесите на азотфиксация е фотосинтезата в растенията (Lvov, 1983; O'Donohue et al., 1991; Kaiser et al., 1999). За степента за сформирание на фотосинтетичния апарат се съди по съотношението на хлорофил а към хлорофил b. Това съотношение е свързано с активността на основния хлорофил а. То е относително постоянна величина и се счита за генетично детерминирана (Petkova and Poryazov, 2007; Titova, 2010). Получените в нашето изследване стойности за съотношение на хлорофил а към хлорофил b варират в тесни граници, съответно при звездан (1.13-1.26), еспарзета (1.21-1.23), подземна детелина (0.93-1.06) и пасищен райграс (1.08-1.18).

8.3% in binary mixture with birdsfoot trefoil to 18.0% in triple mixtures with sainfoin and subterranean clover. The strongest decrease was found in the variants where subterranean clover was included (by 15%-18%).

Possible reason for the increase of plastid pigments content in legumes and decrease in perennial ryegrass is the nitrogen exchange between the crops. Perennial ryegrass stimulates biological fixation of nitrogen, inheriting it from legumes (Davidson et al., 1986; Rogers et al., 1998).

Photosynthesis is a source of energy and electrons needed for the process of nitrogen fixation in plants (Lvov, 1983; O'Donohue et al., 1991; Kaiser et al., 1999). The degree of formation of the photosynthetic apparatus was assessed by the ratio of chlorophyll a to chlorophyll b. This ratio is related to the basic activity of chlorophyll a.

It is a relatively constant and is considered to be genetically determined (Petkova and Poryazov, 2007; Titova, 2010). Values obtained for the chlorophyll a to chlorophyll b ratio varied within narrow limits, i.e. in birdsfoot trefoil (1.13-1.26), sainfoin (1.21-1.23), subterranean clover (0.93-1.06) and perennial ryegrass (1.08-1.18).

Съотношението на сумата на хлорофилите към каротиноидите (хлорофил a+b/каротиноиди) също има важно значение като характеристика на фотосинтетичния апарат и реагира на измененията на факторите на външната среда. В нашето изследване стойностите му при самостоятелно отглежданите култури са в границите от 5.21 при пасищен райграс до 5.99 при подземна детелина. При смеските стойностите са близки до тези на самостоятелните култури и варират от 4.96 при пасищен райграс до 5.98 при подземна детелина.

По отношение на съдържанието на азот в добива при самостоятелните бобови култури, то е 5.95 g/kg суха маса при звездан, 5.86 g/kg суха маса при подземна детелина, и по-ниско при еспарзета - 5.43 g/kg суха маса (Фигура 1).

Натрупването на азот при пасищния райграс е резултат единствено от асимилацията на нитратен азот през корените от нитратредуктазата, а при бобовите е включен и процесът на симбиотична азотфиксация. При успешна конкуренция между компонентите за достъпен азот, ефикасността на използването му е по-висока.

Има данни за потискане продуктивността на суха надземна маса в смеска с някои житни компоненти. Така е при смеска на звездан с гребенчат

The chlorophyll a+b/carotenoids ratio has also important significance as a characteristic of the photosynthetic apparatus and react to the changes of the environmental factors.

In our study the values of this ratio in pure grown crops had ranged from 5.21 in perennial ryegrass to 5.99 in subterranean clover.

In mixtures the values were close to those of the pure crops and varied from 4.96 in perennial ryegrass to 5.98 in subterranean clover.

Regarding nitrogen content in yield - in pure cultivated legumes it was 5.95 g/kg dry mass in birdsfoot trefoil, 5.86 g/kg dry mass in subterranean clover and lower was found in sainfoin - 5.43 g/kg dry mass (Figure 1).

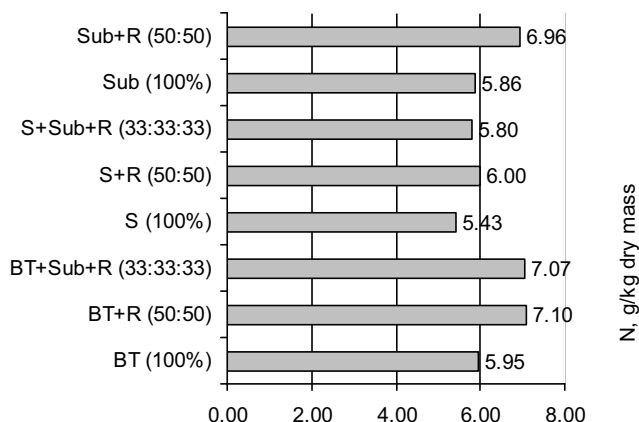
Nitrogen accumulation in perennial ryegrass was the result solely of nitrate nitrogen assimilation through the roots due to the activity of nitrate reductase, while in legumes the process of nitrogen fixation was included. After successful competition between the components for the available nitrogen, nitrogen use efficiency in mixtures was highest.

It has been reported to suppress the productivity of dry mass in a mixture with some grass components. That's mixture of birdsfoot trefoil with wheatgrass



житняк (Vasileva, 2011). Пасищният райграс в нашето проучване, макар и агресивен като вид, не оказва потискащо действие върху продуктивността на суха маса, което се отразява е върху съдържанието на азот в добива.

(Vasileva, 2011). Perennial ryegrass in our study although an aggressive species had no depressing effect on the productivity of dry mass which is reflected on the nitrogen content in the yield.



**Фиг. 1. Съдържание на азот в добива при някои бобови култури, самостоятелно и в смеси с пасищен райграс**

**Fig. 1. Nitrogen in dry mass yield in some legumes, pure and in mixtures with perennial ryegrass**

(BT – Birdsfoot trefoil, R – ryegrass, Sub – subterranean clover, S - sainfoin)

В смеси бобовият компонент чрез азотфиксиращата си способност снабдява житния с азот, което повлиява върху продуктивността на смеската. Бобовите и житни компоненти имат различен тип коренова система. Бобовите са с дълбоко проникваща, а житните, дори при тези с по-дълбока, по-голяма част от корените са концентрирани в горната част на почвата на дълбочина до 20 cm. Възможността житното да абсорбира фиксирания азот от бобовото е различна и зависи от

The legume component through nitrogen-fixing ability supplying grasses with nitrogen, which affects positively on the productivity of mixtures. It is known that legumes and grasses have different type of root system. Legumes have deep rooting system but grasses even when these which developed deeper root system most of the roots are concentrated in the top of the soil to a depth up to 20 cm. The ability grasses to absorb the fixed nitrogen from legumes are different for different grasses and

активността на корените (Matsunaka and Takahasi, 2001). Продуктивността в смеси е по-висока, след усвояване на част от азота от бобовата култура. Подобни са заключенията на Ledgard and Steel (1992).

Така, при звездан азотът в добива е по-висок в смеси с приблизително 20%, като няма доказана разлика за дву- и трикомпонентните му смеси.

При еспарзета превишението е по-малко, поради по-ниската продуктивност на тази култура и цялостното ѝ по-слабо развитие, както самостоятелно, така и в смеси. Hume (1985) и Hardarson and Atkins (2003) считат, че главният фактор за формиране на растителната маса при еспарзетата е азотът от почвата и от азотфиксацията. При тази култура обаче има особеност за фиксиране на сравнително малки количества азот от атмосферата. Това е установено при провеждане на изследвания с различни методи - изотопен метод  $^{15}\text{N}$  (Provorov and Tikhonovich, 2003; Campillo et al., 2005; Prosser et al., 2006), както и по метода на референтна култура (Carlsson and Huss-Danell, 2003; Hardarson and Atkins, 2003). В сравнение с други бобови (бяла и червена детелина, и люцерна) авторите измерват ниски количества фиксиран азот. Като възможна причина те посочват факта, че еспарзетата се нуждае от около

depend on the activity of roots (Matsunaka and Takahasi, 2001).

The productivity in mixtures is higher due to absorption by grass a part of the nitrogen of legume. Similar conclusions are reached and Ledgard and Steel (1992).

In birdsfoot trefoil's mixtures nitrogen in yield was found approximately 20% higher with having no proven difference to two- and three components mixtures.

The enhance in sainfoin was less due to the low productivity of this crop as well as its overall weaker development, both in pure and in mixtures. Hume (1985) and Hardarson and Atkins (2003) considered that the main factor for the formation of plant mass in sainfoin is the nitrogen from the soil and from the nitrogen fixation. In this culture, however, has a special feature for fixing of relatively small amounts of nitrogen from the atmosphere. It was found in the conduct of research with a variety of methods, i.e.  $^{15}\text{N}$  isotopic method (Provorov and Tikhonovich, 2003; Campillo et al., 2005; Prosser et al., 2006), as well as by the method of reference culture (Carlsson and Huss-Danell, 2003; Hardarson and Atkins, 2003). Authors measured low amounts of fixed nitrogen in comparison to other legumes (white and red clover, and alfalfa). As a possible reason they cited the fact that sainfoin needs about 20 mol CO<sub>2</sub>

20 mol CO<sub>2</sub> за свързване на 1 mol N<sub>2</sub>, за разлика от другите, включени в проучването бобови култури, при които са необходими около 10 mol. Еспарзетата е и с по-малка способност за усвояване на въглерод, както и с по-малка листна повърхност (Hume et al., 1985; Shakirov et al., 2010).

Съдържанието на азот в добива надземна маса в смеската на подземна детелина с пасищен райграс е по-високо от самостоятелно отгледаната подземна детелина с 18.7%.

Установена е силна зависимост между продуктивността на суха надземна маса и съдържанието на азот в добива в проучваните култури и смеси ( $r=0.961$ ).

Средно от смеските съдържанието на азот в добива е с 23.8% по-високо от това в самостоятелните култури, като превишението е най-голямо при двукомпонентните смеси (25.7%).

## ИЗВОДИ

Съдържанието на пластидни пигменти при самостоятелно отглеждане на звездан, еспарзета и подземна детелина е както следва: еспарзета (333.96 mg/100 g FW), звездан (172.54 mg/100 g FW) и подземна детелина (95.73 mg/100 g FW).

В смеси с пасищен райграс съдържанието на пластидни пигменти се увеличава при бобовите култури в сравнение със самостоятелните и намалява

for 1 mol N<sub>2</sub>, unlike others legumes, included in the study needed around 10 mol.

Hume et al. (1985) and Shakirov et al. (2010) considered that sainfoin has less ability to absorb carbon, as well as smaller leaf surface.

Nitrogen content in dry mass yield in mixture of subterranean clover with perennial ryegrass was higher than pure grown subterranean clover by 18.7%.

A strong correlation was found between the productivity of dry mass and nitrogen in dry mass yield in pure crops as well mixtures tested ( $r = 0.961$ ).

Nitrogen content in dry mass yield on averaged from mixtures was found be higher than in the pure grown crops by 23.8%, such the enhance of the nitrogen in yield was the highest in two components mixtures (25.7%).

## CONCLUSIONS

Plastid pigments content in pure grown crops was found as follows: sainfoin (333.96 mg/100 g FW), birdsfoot trefoil (172.54 mg/100 g FW), subterranean clover (95.73 mg/100 g FW).

Plastid pigments content in mixtures of birdsfoot trefoil, sainfoin and subterranean clover with perennial ryegrass increased in legumes and decreased in

при пасищен райграс. Най-голямо е увеличението в съдържанието на пластидни пигменти за подземна детелина – от 64.5% (в смеските ъ с пасищен райграс) до 160% (в тези със звездан и пасищен райграс).

Съдържанието на азот в добива надземна маса при самостоятелните звездан (5.95 g/kg суха маса) и подземна детелина (5.86 g/kg суха маса) е близко по стойност, и по-ниско при еспарзета (5.43 g/kg суха маса).

В смески съдържанието на азот в добива надземна маса е с 25.7% по-високо от това на самостоятелните култури.

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Василев Е.** Продуктивност на подземна детелина (*Tr. subterraneum* L.) в пасищни смеси с някои многогодишни житни за условията на Централна Северна България, Растениевъдни науки, 2006, 43, 2, с. 149-152.
2. **Петкова В.** Порязов И. Резултати от приложението на органичния регулатор и стимулатор Хумустим при градински фасул и брюкселско зеле. В: Хумустим дар от природата (ред проф. Сенгалевич Г. и кол.), 2007, с. 119-125.
3. **Albayrak S., Turk M., Yukse O.I., Yilmaz M.** Forage yield and the quality of perennial legume-grass mixtures under rainfed conditions. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.*, 2011, 39, pp. 114-118.
4. **AOAC** Official Methods of Analysis (15<sup>th</sup> ed.). Association of Official Analytical Chemists Arlington Va. K. Herlich (ed.), 1990, Arlington Va. USA
5. **Campillo R., Urquiaga S., Undurraga P., Pino I., Boddey R.** Strategies to optimize biological nitrogen fixation in legume/grass pastures in the

grass. The highest increase of plastid pigments content was found in subterranean clover - from 64.5% (for mixtures with perennial ryegrass to 160% (for these with birdsfoot trefoil and perennial ryegrass).

Nitrogen in dry mass yield in pure legumes was found be similar in birdsfoot trefoil (5.95 g/kg dry mass) and subterranean clover (5.86 g/kg dry mass) and lower in sainfoin (5.43 g/kg dry mass).

Nitrogen in dry mass yield was found 25.7% higher as compared to nitrogen in dry mass yield in pure legumes.

## REFERENCES

1. **Albayrak S., Turk M., Yukse O.I., Yilmaz M.** Forage yield and the quality of perennial legume-grass mixtures under rainfed conditions. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.*, 2011, 39, pp. 114-118.
2. **AOAC** Official Methods of Analysis (15<sup>th</sup> ed.). Association of Official Analytical Chemists Arlington Va. K. Herlich (ed.), 1990, Arlington Va. USA
3. **Campillo R., Urquiaga S., Undurraga P., Pino I., Boddey R.** Strategies to optimize biological nitrogen fixation in legume/grass pastures in the southern region of Chile. *Plant and Soil*, 2005, 273, 1-2, pp. 57-67.
4. **Carlsson G., Huss-Danell K.** Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. *Plant and Soil*, 2003, 253, 2, pp. 353-372.
5. **Chourkova B.** Productivity and Botanical Composition of a Mixed Sward of Birdsfoot Trefoil and Red Fescue Depending on the Term of Sowing and Proportion of Components. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 2014, 3, 1, pp. 276-280.

southern region of Chile. *Plant and Soil*, 2005, 273, 1-2, pp. 57-67.

6. **Carlsson G., Huss-Danell K.** Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. *Plant and Soil*, 2003, 253, 2, pp. 353-372.

7. **Chourkova B.** Productivity and Botanical Composition of a Mixed Sward of Birdsfoot Trefoil and Red Fescue Depending on the Term of Sowing and Proportion of Components. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 2014, 3, 1, pp. 276-280.

8. **Davidson I.A., Robson M.J., Drennan D.S.N.** Effect of temperature and nitrogen supply on the growth of perennial ryegrass and white clover. 1. Carbon and Nitrogen Economies of Mixed Swards at Low Temperature. *Annals of Botany*, 1986, 57, 5, pp. 697-708.

9. **Graham P.H.** Ecology of the root-nodule bacteria of legumes. In: Dilworth M.J., E.K. James, J. Sprent, W.E. Newton (eds). Nitrogen-fixing leguminous symbiosis. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2008, pp. 23-58.

10. **Hardarson G., Atkins G.** Optimizing biological N<sub>2</sub> fixation by legumes in farming system. *Plant and Soil*, 2003, 252, 1, pp. 41-54.

11. **Hume L.** An investigation into the efficiency of nitrogen fixation in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop). In: Proceedings of the New Zealand Grassland Association. Abstract thesis, Massey University, 1985, 46, pp. 239.

12. **Hume L. J., Withers N.J., Rhoades D.A.** Nitrogen fixation in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) 2. Effectiveness of the nitrogen-fixing system. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1985, 28, 3, pp. 337-348.

13. **Ilieva A., Vasileva V, Katova A.** The effect of mixed planting of birdsfoot trefoil, sainfoin, subterranean clover, and tall fescue on nodulation, and nitrate reductase activity in shoots. *Journal of Global Agriculture and Ecology*, 2015, 3, 4, pp. 222-228.

6. **Davidson I.A., Robson M.J., Drennan D.S.N.** Effect of temperature and nitrogen supply on the growth of perennial ryegrass and white clover. 1. Carbon and Nitrogen Economies of Mixed Swards at Low Temperature. *Annals of Botany*, 1986, 57, 5, pp. 697-708.

7. **Graham P.H.** Ecology of the root-nodule bacteria of legumes. In: Dilworth M.J., E.K. James, J. Sprent, W.E. Newton (eds). Nitrogen-fixing leguminous symbiosis. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2008, pp. 23-58.

8. **Hardarson G., Atkins G.** Optimizing biological N<sub>2</sub> fixation by legumes in farming system. *Plant and Soil*, 2003, 252, 1, pp. 41-54.

9. **Hume L.** An investigation into the efficiency of nitrogen fixation in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop). In: Proceedings of the New Zealand Grassland Association. Abstract thesis, Massey University, 1985, 46, pp. 239.

10. **Hume L. J., Withers N.J., Rhoades D.A.** Nitrogen fixation in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) 2. Effectiveness of the nitrogen-fixing system. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1985, 28, 3, pp. 337-348.

11. **Ilieva A., Vasileva V, Katova A.** The effect of mixed planting of birdsfoot trefoil, sainfoin, subterranean clover, and tall fescue on nodulation, and nitrate reductase activity in shoots. *Journal of Global Agriculture and Ecology*, 2015, 3, 4, pp. 222-228.

12. **Kaiser W., Weiner H, Huber S.** Nitrate reductase in higher plants: A case study for transduction of environmental stimuli into control of catalytic activity. *Physiologia Plantarum*, 1999, 105, pp. 385-390.

13. **Katova A.** Species and varieties of perennial grasses for high quality forage in Bulgaria. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*. 14<sup>th</sup> meeting of the FAO-CIHEAM Mountain Pasture Network, 30 May to 1 June 2007, Troyan, Bulgaria. Adapting management to the

14. **Kaiser W., Weiner H, Huber S.** Nitrate reductase in higher plants: A case study for transduction of environmental stimuli into control of catalytic activity. *Physiologia Plantarum*, 1999, 105, pp. 385-390.
15. **Katova A.** Species and varieties of perennial grasses for high quality forage in Bulgaria. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*. 14<sup>th</sup> meeting of the FAO-CIHEAM Mountain Pasture Network, 30 May to 1 June 2007, Troyan, Bulgaria. Adapting management to the new challenges of European Mountain Grasslands, 2007, pp. 156-161.
16. **Kusvuran A., Ralice Y, Saglamtimur T.** Determining the Biomass Production Capacities of Certain Forage Grasses and Legumes and their Mixtures under Mediterranean Regional Conditions. *Acta Adv. Agric. Sci.*, 2014, 2, pp. 13-24.
17. **Ledgard S. F., Steele K. W.** Biological nitrogen fixation in mixed legume/grass pastures. *Journal Plant and Soil*, 1992, 141, 1-2, pp. 137-153.
18. **Luscher A., Mueller-Harvey I., Soussana J.F., Rees R.M., Peyraud J.L.** Potential of legume-based grassland–livestock systems in Europe: a review. *Grass and Forage Science*, 2014, 69, pp. 206-228.
19. **Lvov N.** Molecular mechanisms of nitrogen assimilation by plants. M., Science, 1983, p. 250 (in Russian).
20. **Matsunaka T., Takahasi H.** Root weight as a principal factor responsible for difference in nitrogen absorption among cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.), Meadow Fescue (*Festuca elatior* L.) and Timothy (*Phleum pratense* L.) during first growing period. *Plant Nutrition, Developments in Plant and Soil Sciences*, 2001, 92, pp. 592-593.
21. **Mihovski Ts., Sabeva M.** 2011. New technological approaches to establishment of mixed stand of white clover and perennial ryegrass, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 2011, 14, 3, pp. 541-547.
- new challenges of European Mountain Grasslands, 2007, pp. 156-161.
14. **Kusvuran A., Ralice Y, Saglamtimur T.** Determining the Biomass Production Capacities of Certain Forage Grasses and Legumes and their Mixtures under Mediterranean Regional Conditions. *Acta Adv. Agric. Sci.*, 2014, 2, pp. 13-24.
15. **Ledgard S. F., Steele K. W.** Biological nitrogen fixation in mixed legume/grass pastures. *Journal Plant and Soil*, 1992, 141, 1-2, pp. 137-153.
16. **Luscher A., Mueller-Harvey I., Soussana J.F., Rees R.M., Peyraud J.L.** Potential of legume-based grassland–livestock systems in Europe: a review. *Grass and Forage Science*, 2014, 69, pp. 206-228.
17. **Lvov N.** Molecular mechanisms of nitrogen assimilation by plants. M., Science, 1983, p. 250 (in Russian).
18. **Matsunaka T., Takahasi H.** Root weight as a principal factor responsible for difference in nitrogen absorption among cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.), Meadow Fescue (*Festuca elatior* L.) and Timothy (*Phleum pratense* L.) during first growing period. *Plant Nutrition, Developments in Plant and Soil Sciences*, 2001, 92, pp. 592-593.
19. **Mihovski Ts., Sabeva M.** 2011. New technological approaches to establishment of mixed stand of white clover and perennial ryegrass, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 2011, 14, 3, pp. 541-547.
20. **Nichiporovich A.** Some principles to optimize photosynthetic activity of plants in crops. L., Nauka, 1971, p. 104-108 (in Russian).
21. **Nichols P.G.H., Revell C.K., Humphries A.W., Howie J.H., Hall E.J., Sandral G.A., Ghamkhar K., Harris C.A.** Temperate pasture legumes in Australia – their history, current use and future prospects. *Crop and Pasture Science*, 2012, 63, pp. 691-725.
22. **Nurmakova J.** Photosynthetic characteristics of sorghum, soybeans and

22. **Nichiporovich A.** Some principles to optimize photosynthetic activity of plants in crops. *L. Nauka*, 1971, p. 104-108 (in Russian).
23. **Nichols P.G.H., Revell C.K., Humphries A.W., Howie J.H., Hall E.J., Sandral G.A., Ghamkhar K., Harris C.A.** Temperate pasture legumes in Australia – their history, current use and future prospects. *Crop and Pasture Science*, 2012, 63, pp. 691-725.
24. **Nurmakova J.** Photosynthetic characteristics of sorghum, soybeans and mixed crops in agro-ecosystems. *Natural Science*, 2013, 2, pp. 196-201 (in Russian).
25. **O'Donohue M., Moriarty D., McRae I.** Nitrogen fixation in sediments and the rhizosphere *Zostera capricornia*. *Microb Ecol*, 1991, 22, pp. 53-64.
26. **Peeters A., Parente G., Gall A.** Temperate legumes: key-species for sustainable temperate mixtures. *Grassland Science in Europe*, 2006, 11, pp. 205-220.
27. **Pozdisek J., Henriksen B., Ponizil A., Loes A.K.** Utilizing legume-cereal intercropping for increasing self-sufficiency on organic farms in feed for monogastric animal. *Agron. Res.*, 2011, 9, pp. 343-356.
28. **Prosser J., Ignacio Rangel-Castro J., Killham K.** Studying plant-microbe interactions using stable isotope technologies. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, 17, 1, pp. 98-102.
29. **Provorov N., Tikhonovich I.** Genetic Resources for improving nitrogen fixation in legume-rhizobia symbiosis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2003, 50, 1, pp. 89-99 (in Russian).
30. **Rogers A., Fischer B.U., Bryant J., Frehner M., Blum M., H., Raines C.A., Long S.P.** Acclimation of photosynthesis to elevated CO<sub>2</sub> under low-nitrogen nutrition is affected by the capacity for assimilate utilization. Perennial ryegrass under free-air CO<sub>2</sub> enrichment. *Plant Physiology*, 1998, 118, 2, pp. 683-689.
23. **O'Donohue M., Moriarty D., McRae I.** Nitrogen fixation in sediments and the rhizosphere *Zostera capricornia*. *Microb Ecol*, 1991, 22, pp. 53-64.
24. **Peeters A., Parente G., Gall A.** Temperate legumes: key-species for sustainable temperate mixtures. *Grassland Science in Europe*, 2006, 11, pp. 205-220.
25. **Petkova V., Poryazov I.** Results from application of organic regulator and stimulator Humustim in garden bean and Brussels cabbage. In: Humustim – gift of nature (Ed. Sengalevich G. et al.), 2007, p. 119-125 (in Bulgarian).
26. **Pozdisek J., Henriksen B., Ponizil A., Loes A.K.** Utilizing legume-cereal intercropping for increasing self-sufficiency on organic farms in feed for monogastric animal. *Agron. Res.*, 2011, 9, pp. 343-356.
27. **Prosser J., Ignacio Rangel-Castro J., Killham K.** Studying plant-microbe interactions using stable isotope technologies. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, 17, 1, pp. 98-102.
28. **Provorov N., Tikhonovich I.** Genetic Resources for improving nitrogen fixation in legume-rhizobia symbiosis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2003, 50, 1, pp. 89-99 (in Russian).
29. **Rogers A., Fischer B.U., Bryant J., Frehner M., Blum M., H., Raines C.A., Long S.P.** Acclimation of photosynthesis to elevated CO<sub>2</sub> under low-nitrogen nutrition is affected by the capacity for assimilate utilization. Perennial ryegrass under free-air CO<sub>2</sub> enrichment. *Plant Physiology*, 1998, 118, 2, pp. 683-689.
30. **Scholefield D., Titchen N.M.** Development of a rapid field test for soil mineral nitrogen and its application to grazed grassland. *Soil Use and Management*, 1995, 11, pp. 33-44
31. **Shakirov Z.S., Khakimov S.A., Shomurodov K.F., Umarov B.R.** mixed crops in agro-ecosystems. *Natural Science*, 2013, 2, pp. 196-201 (in Russian).

31. **Scholefield D., Titchen N.M.** Development of a rapid field test for soil mineral nitrogen and its application to grazed grassland. *Soil Use and Management*, 1995, 11, pp. 33-44
32. **Shakirov Z.S., Khakimov S.A., Shomurodov K.F., Umarov B.R.** Nodulation in Onobrychis Perennial Legume Plants. *American Journal of Plant Sciences*, 2010, 1, pp. 119-130.
33. **Smirnova E., Reshetnikova V., Makarova T., Karavaeva G.** Features of genotic relations in the one-specy and mixed crops of *Mellilotus officinalis* L. *Proceedings of the Samara scientific center of RAS*, 2013, 15, 3, pp. 793-795.
34. **Solomon T., Pant L.M., Angaw T.** Effects of Inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* Strains on Nodulation, Nitrogen Fixation, and Yield of Soybean (*Glycine max* L. Merill) Varieties on Nitisols of Bako, Western Ethiopia. International Scholarly Research Network, ISRN Agronomy, Article ID 261475, 8 pages, 2012, doi:10.5402/2012/261475
35. **SPSS** 2012. SPSS Version 20.0. SPSS Inc., 233 S. Wacker Drive, Chicago, Illinois.
36. **Titova M.** Content of photosynthetic pigments in needles of Picea Abies и Picea koraiensis. Vestnik of taiga station of DVO RAS, 2010, 12, 118, pp. 9-12 (in Russian).
37. **Vasileva V.** Study on productivity of perennial legume crops in mixtures. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 2011, 14, 2, pp. 296-307.
38. **Vasileva V., Vasilev E.** Study on Productivity of some Legume Crops in Pure Cultivation and Mixtures. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 2012, 77, 2, pp. 91-94.
39. **Vučković S. M.** *Travnjaci*. Poljoprivredni fakultet Univerzitet, ISBN868073375X, 2004, 506 p.
40. **Zelenskii M., Mogileva G.** Comparative evaluation of photosynthetic ability of agricultural crops by photochemical activity of chloroplasts. VIR, Leningrad, 1980, pp. 36 (in Russian).
- Nodulation in Onobrychis Perennial Legume Plants. *American Journal of Plant Sciences*, 2010, 1, pp. 119-130.
32. **Smirnova E., Reshetnikova V., Makarova T., Karavaeva G.** Features of genotic relations in the one-specy and mixed crops of *Mellilotus officinalis* L. *Proceedings of the Samara scientific center of RAS*, 2013, 15, 3, pp. 793-795.
33. **Solomon T., Pant L.M., Angaw T.** Effects of Inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* Strains on Nodulation, Nitrogen Fixation, and Yield of Soybean (*Glycine max* L. Merill) Varieties on Nitisols of Bako, Western Ethiopia. International Scholarly Research Network, ISRN Agronomy, Article ID 261475, 8 pages, 2012, doi:10.5402/2012/261475
34. **SPSS** 2012. SPSS Version 20.0. SPSS Inc., 233 S. Wacker Drive, Chicago, Illinois.
35. **Titova M.** Content of photosynthetic pigments in needles of Picea Abies и Picea koraiensis. Vestnik of taiga station of DVO RAS, 2010, 12, 118, pp. 9-12 (in Russian).
36. **Vasilev E.** Productivity of subterranean clover (*Tr. subterraneum* L.) in pasture mixtures with some perennial grasses for the conditions of Central North Bulgaria. *Plant Science*, 2006, 4, 2, pp. 149-152. (In Bulgarian).
37. **Vasileva V.** Study on productivity of perennial legume crops in mixtures. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 2011, 14, 2, pp. 296-307.
38. **Vasileva V., Vasilev E.** Study on Productivity of some Legume Crops in Pure Cultivation and Mixtures. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 2012, 77, 2, pp. 91-94.
39. **Vučković S. M.** *Travnjaci*. Poljoprivredni fakultet Univerzitet, ISBN868073375X, 2004, 506 p.
40. **Zelenskii M., Mogileva G.** Comparative evaluation of photosynthetic ability of agricultural crops by photochemical activity of chloroplasts. VIR, Leningrad, 1980, pp. 36 (in Russian).



## **Качество на фуража и оценка на енергийната хранителна стойност при люцерна (*Medicago Sativa* L.), третирана с биологично активни съединения**

Ивелина Николова\*, Наталия Георгиева, Йорданка Найденова

*Институт по фуражните култури, ул. "Генерал Владимир Вазов" 89,  
5800 Плевен, България*

*\*E-mail: imnikolova@abv.bg*

## **Forage quality and energy feeding value estimation of alfalfa (*Medicago Sativa* L.), treated by biological active compounds**

Ivelina Nikolova\*, Natalia Georgieva, Yordanka Naydenova

*Institute of Forage Crops, 89 General Vladimir Vazov Str., 5800 Pleven, Bulgaria*

### **РЕЗЮМЕ**

Проучено е последствието на биологичните продукти Ним Азал Т/С и Пиретрум ФС ЕК (биологични инсектициди) върху химичния състав, ин витро смиланост, както и върху хранителната стойност на фураж от люцерната. Като стандарт за сравнение е използван синтетичния продукт Нуреле Д (инсектицид). Експериментът се провежда в Институт по фуражните култури, Плевен, България в периода 2012-2014. Третирането е извършено в началото на цъфтежа на втори подраст (10-20 юни) за контрол на неприятелите по семената на люцерна. Резултатите показват, че прилагането на изследваните биологични и синтетични активни съединения оказват положително въздействие върху състава, смиланост и енергийна хранителна стойност на люцерната. Третирането повишава съдържанието на суров протеин и намалява съдържанието на влакнини в клетъчните стени на растението – кисе-

### **SUMMARY**

The after-effect of organic products NeemAzal and Pyrethrum (biological insecticides) on chemical composition and enzyme in vitro digestibility, as well as on energy feeding value of the dry mass of alfalfa was studied. As a standard of comparison, the synthetic products Nurelle D (insecticide) was used. The field experiment was conducted in the period 2012-2014 at the Institute of Forage Crops, Pleven, Bulgaria. The treatments were carried out at the beginning of the flowering stage in the second undergrowth (from 10-20 June) for control of alfalfa seed pests. The results demonstrate that application of studied biological and synthetic active compounds had a positive impact on composition, digestibility and energy feeding value of alfalfa.

The treatment increased crude protein content and decrease plant cell walls fiber components content – acid detergent

линно-детергентен лигнин, кисилинно-детергентни влакнини, неутрално-детергентни влакнини и хемицелулоза. Оптимална комбинация от подчертано намаление на съдържанието на клетъчните влакнини компоненти в растителната клетка със значително увеличение на смилаемостта се установява след прилагането на Пиретрум. Смилаемостта достига 65.05%, с увеличение от 8.9% съответно. Най-високата енергийна хранителна стойност се установява също след използването на Пиретрум (UFL - 0,732; UFV - 0,625; PBD - 146.8; PDIN - 119.9 и PDIE - 96.0). Синтетичният продукт Нуреле Д води до увеличаване на параметрите, които характеризират енергийната хранителна стойност на фураж, но в относително по-ниска степен.

**Ключови думи:** химичен състав, ин витро смилаемост, енергийната хранителна стойност, биологично активни съединения, люцерна

## УВОД

Фуражите са в основата на хранителни дажби при изхранване на животните. Наличните хранителните вещества във фуража влияят върху производство на животинска продукция (например, печалбата от едно животно), а количеството на получения фураж, се влияе от производството на един акър (Newman et al., 2009).

Качеството на фуража може да се определи по много начини. То е свързано със съдържанието на хранителни вещества, енергия, протеини, смилаемост, влакнини, минерални, витамини, и понякога с животинската продукция (Newman et al., 2009).

При определянето на ка-

lignin, acid detergent fiber, neutral detergent fiber and hemicellulase.

An optimal combination of expressed decrease in plant cell walls fiber components content with a considerable increase of digestibility was established after applying of Pyrethrum. Digestibility reaches 65.05%, respectively with an increase from 8.9%. The highest energy feeding value was found after used of Pyrethrum (UFL – 0.732; UFV – 0.625; PBD – 146.8; PDIN – 119.9 and PDIE – 96.0).

The synthetic product Nurelle D led to an increase of parameters which characterize the forage energy feeding value, but in a relatively lower degree.

**Key words:** chemical composition, enzyme *in vitro* digestibility, energy feeding value, biological active compounds, alfalfa

## INTRODUCTION

Forages are the foundation of most rations in a forage-based livestock diet. The available nutrients in a forage influence individual animal production (e.g., gain per animal), while the amount of forage produced affects production per acre (Newman et al., 2009).

Forage quality can be defined in many ways. Forage quality is associated with nutrients, energy, protein, digestibility, fiber, mineral, vitamins, and occasionally animal production (Newman et al., 2009).

In defining forage quality,

чеството на фураж, има разлика между качеството на фураж и фуражна хранителна стойност, въпреки че тези термини често се използват взаимозаменяемо. Въпреки това, хранителната стойност на фуража обикновено се отнася за концентрацията на наличната енергия (общо несмилаеми хранителни вещества) и концентрация на суров протеин. За разлика от това, качество на фуража е по-широко понятие, което включва не само хранителна стойност, но и усвояемост на фуража (Adesogan et al., 2006).

Висококачествените фураж са в състояние да доставят в най-голямо количество необходимите хранителни вещества и ще имат по-голям процент на участие в дажбите, отколкото понискокачествените фуражи (Linn and Kuehn, 1994).

Факторите, които влияят върху качеството на фураж включват различни видове съотношение между листа и стъбла, фаза на растеж, почвени агенти, климат, фаза на прибиране на реколтата, болести и вредители (Arzani сътр 2001 г.).

Niwińska и др. (2005) установяват, че съставът на фуража по подрасти при люцерната се различава по съдържание на сухо вещество като най-високо е отчетено в трети подраст, а най-ниско във втори подраст. Според авторите съдържанието на суров протеин в сухото вещество на

there is distinguishes between forage quality and forage nutritive value even though these terms are often used interchangeably.

However, forage nutritive value typically refers to the concentration of available energy (total digestible nutrients) and concentration of crude protein.

By contrast, forage quality is a broader term that not only includes nutritive value but also forage intake (Adesogan et al., 2006).

High-quality forages are able to supply the most nutrients and will have a larger inclusion rate in diets than lower quality forages (Linn and Kuehn, 1994).

Factors that affect forage quality include different species, leaf-to-stem ratio, stage of growth, soil agents, climate, harvesting, diseases, and pests (Arzani et al., 2001).

Niwińska et al. (2005) found that the composition of the alfalfa cuts differed in dry matter content as the highest was found in cut III, the lowest in cut II.

According to authors, the crude protein content in the dry matter of cuts I and II was similar but lower

първи и втори подраст е сходно, но по-ниско в трети.

Насекомните вредители, могат да понижат качеството на фураж, особено ако предизвикват значителна загуба на листна маса. Най-високо качество на фураж се получава от младите растения на люцерната със здраво прикрепени листа. Насекомите, хранещи се с листната маса (люцернов листояд, различни видове листни въшки по люцерната), консумират най-сочните листа на люцерната и в резултат на нанесената повреда, при липса на контрол, загубата в добива достига до 0.5 тона фураж / акър (Alfalfa Production Guide for the Southern Great Plains, 2002). В допълнение, Dellinger и др. (2006) установяват няколко съществени разлики в добива на сухо вещество и качеството на фуража между третирани и нетретирани с инсектициди сортове люцерна, което показва, че неприятелите влияят не само върху количеството, но и върху качеството на фуража.

Също така, неприятелите като вектори на болести по растенията, може да повлияят върху качеството, в случаите, когато развиващите се болести предизвикват промяна във видовия състав на посевите на полето, и насърчават стареенето на листата (Cherney, 2008). Според автора, между вредителите, насекомите и болестите обикнове-

in cut III.

Insect pests can lower forage quality, particularly if they cause significant leaf loss. Highest quality forage is obtained from young alfalfa plants with healthy leaves attached.

Foliar feeding insects (alfalfa weevil, different species alfalfa aphids) consume the most succulent alfalfa leaves and as a result, there was a loss of 0.5 tons of alfalfa per acre when insects were not controlled (Alfalfa Production Guide for the Southern Great Plains, 2002).

In addition, Dellinger et al. (2006) found few significant differences detected in dry matter yields or forage quality between untreated and treated with insecticides alfalfa cultivars which showed that insect pests influence not only the quantity but also the quality of the forage.

Also, insect pest as vectors of plant diseases can affect quality when the developing diseases result in a shift in the species present in the field and when they promote leaf senescence (Cherney, 2008).

According to author insects and diseases generally have their greatest impact on yield and

но имат най-голямо влияние върху стабилността и добива на фураж. Следователно, за да се поддържат високи добиви и качество на фуража, вредителите трябва да бъдат контролирани.

Биопестицидите (включително биоинсектицидите) могат да бъдат отлична алтернатива на синтетичните пестициди. Предизвикателството пред нас е да се разработи нова наука, нови технологии, нови умения за управление, както и нови концепции за контрол на вредителите, за да се защити околната среда, и да се осигури необходимото наличие на безопасна и питателна храна в животновъдството и за хората (Saini, 2014). С оглед на нарастващия размер на биологичното производство, което не позволява употреба на химични средства, има малко информация за ефекта на биологични продукти (биологични инсектициди, органични регулатори, органични торове) върху хранителната стойност на фуража от люцерна.

Целта на настоящото проучване е да се определи последствието на биологичните продукти Ним Азал Т/С и Пиретрум ФС ЕК (биологични инсектициди, използвани за контрол на насекоми, повреждащи семената на люцерна) върху химичния състав, ин витро смиланост, както и върху хранителната стойност на фураж от люцерната.

persistence of forages among pests.

Therefore, to maintain high yields and quality, pests should be controlled.

Biopesticides (including bioinsecticides) may be excellent alternatives to chemical pesticides.

The challenge before us is to develop new science, new technology, new management skills, and new concepts of pest control in order to protect our environment, and ensure a continuous supply of safe and nutritious food in abundance in livestock and also for people (Saini, 2014). In view of the increasing scale of organic production, which withdraws any chemicals from use, there is little information about the effect of organic products (biological insecticides, organic regulator, organic fertilizer) on the nutritional value of alfalfa forage.

The aim of present study was to determine the after-effect of organic products NeemAzal and Pyrethrum (biological insecticides used for alfalfa seed insect control) on chemical composition and enzyme in vitro digestibility, as well as on energy feeding value of the dry mass of alfalfa.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено през периода 2012-2014г., на Опитното поле на Институт по фуражните култури, Плевен, България, с люцерна. Опитът е изведен по метода на дългите парцели със сеитбена норма 25 kg ha<sup>-1</sup>, големина на реколтната парцелка 10.4m<sup>2</sup> (8\*1.3m), в три повторения и естествен фон на запасяване на почвата с основните хранителни вещества. При метода на дългите парцели, повторенията са подредени в един удължен участък, т.е. повторенията са подредени едно след друго с цел изравняване на плодородието на почвата. Опитът е разположен на площ от 130 m<sup>2</sup>.

Проучено е последствието на биологичните продукти Ним Азал Т/С и Пиретрум ФС ЕК (биологични инсектициди, използвани за контрол на насекоми, повреждащи семената на люцерна) върху химичния състав, ин витро смилаемост, както и върху хранителната стойност на фураж от люцерната. Като стандарт за сравнение е използван синтетичния продукт Нуреле Д (инсектицид).

Нимазал-Т/С® е продукт от индийското дърво Ним *Azadirachta indica* A. Juss: *Meliaceae*. Съдържа 1 % азадирахтин А+ 0,5% азадирахтин Б, В, Г, Д и 2,5% нимсубстанция.

Пиретрум ФС ЕК е натура-

## MATERIAL AND METHODS

Over the period 2012-2014 in the experimental field of the Institute of Forage Crops, Bulgaria a trial was conducted with alfalfa.

The field trial was conducted using a long plot design with a sowing rate of 25 kg ha<sup>-1</sup>, plot size of 10.4 m<sup>2</sup> (8\*1.3m), in three replications and a natural background of soil supply with the major nutrients. In the long plot design, the replications are arranged in an elongate strip, i. e. the replications are arranged one after the other with the aim of equalization of the soil fertility.

The trial was occupied an area of 130 m<sup>2</sup>.

The after-action of organic products NeemAzal and Pyrethrum (biological insecticides used for alfalfa seed insect control) on chemical composition and enzyme in vitro digestibility, as well as on energy feeding value of the dry mass of alfalfa was studied.

As a standard of comparison, the synthetic products Nurelle D (insecticide) was used.

NeemAzal-T/S® is a product from the Indian Neem tree *Azadirachta indica* A. Juss: *Meliaceae*. Active substances: 1% azadirachtin A + 0.5% azadirachtin B,W,G,D and 2.5% neem substance.

Pyrethrum FS EC is a natural

лен екстракт от *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Съдържа 32% екстракт от пиретрум (25% пиретрин); 36% сусамово масло и 36% прилепители (меки калиеви сапуни).

Нуреле Д Хлорсирин 550 ЕК (50 g/l циперметрин + 500 g/l хлорпирифос - етил) – пиретроиден инсектицид.

Химичният състав на надземната маса, реколтирана във фаза начало на цъфтеж е определен чрез стандартни методи по Веенде системата (АОАС, 2001) и включва суров протеин/crude protein (СП/СР), по Keldahl (N x 6.25) и сурови влакнини crude fiber (СВ/СФ). Съдържанието на влакнинни компоненти на клетъчни стени или неутрално детергентни влакнини (НДВ/NDF), киселинно детергентни влакнини (КДВ/ADF) и киселинно детергентен лигнин (КДЛ/ADL) са определени по систематичния детергентен анализ на Goering & Van Soest (1970), а степента на лигнификация–коэффициент =  $\text{КДЛ/НДВ} \times 100$ . Ензимната разградимост / смилаемост *in vitro* на сухото вещество (DMD) е определена като процент по двустепенния пепсин-целулазен метод на Aufrere, 1982 (Тодоров, 2010).

Определянето на енергийната хранителна стойност се осъществява както следва:

1. Оценка на хранителната стойност на базата на влакнинните

extract of *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Components: 32 % extract from pyrethrum (25% pyrethrin) +32% sesame oil + 36% adhesives (soft potassium soap).

Nurelle D (50g a.i. l<sup>-1</sup> cypermethrin + 500g a.i. l<sup>-1</sup> chlorpyrifos-ethyl) - pyrethroid insecticide.

The chemical composition of aboveground mass harvested at the beginning of flower stage was determined by standard methods at Weende system (AOAC, 2001) and included crude protein (CP), by Keldahl (N x 6.25) and crude fiber (CF).

The content of plant cell walls fiber components is analysed as neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and acid detergent lignin (ADL) according to Goering and Van Soest (Goering et al., 1970), and the lignification degree is presented by coefficient as  $\text{ADL/NDF} \times 100$ .

Enzymes *in vitro* digestibility of dry (IVDMD) and the organic (IVOMD) matter was determined as two-stage pepsin-cellulase method by Aufrere (Todorov et al., 2010).

The energy feeding value estimation was performed as

1. Evaluation of feeding value on the basis of fiber components –

компонентите – относителна хранителна стойност RFV; потенциал прием на смилаемо сухо вещество (Linn & Martin, 1991). Определени са също смилаемост на сухото вещество ( $DDM\% = 88.9 - (0.779 \times ADF\%)$ ); усвояемост на сухото вещество ( $DMI / \% \text{ телесно тегло} / = 120 / NDF\%$ ) и относителна хранителна стойност ( $RFV = DDM \times DMI / 1.29$ ).

2. Потенциалната енергийна хранителна стойност е оценена по Френската система като UFL-UFV (INRA 1988), преизчислена по Българската за крѐмни единици за мляко и крѐмни единици за растеж чрез коефициентите, показани от Тодоров (1997) KEM-KEP/FUM-FUG) и по Холандската система (VEM-VEVI). Потенциалната протеиновата хранителна стойност ( $PDIN=PDIA+PDIMN$  и  $PDIE=PDIA+PDIME$ ) е оценена по Френската система (INRA 1988) чрез показателите: общ смилаем протеин TDP/PBD – Total Digestible Protein/Protein Brute Digestible, PDIN, смилаем протеин в тънките черва в зависимост от азота и PDIE – смилаем протеин в тънките черва в зависимост от енергията.

Данните са представени средно за периода 2012-2014. Статистическата обработка на експериментални данни е осъществена с помощта на софтуерната програма STATGRAPHICS Plus.

Relative feeding value RFV; potential intake of digestible dry matter (Linn & Martin, 1991).

The Digestible Dry Matter ( $DDM\% = 88.9 - (0.779 \times ADF\%)$ ); Dry Matter Intake ( $DMI / \% \text{ body weight} / = 120 / NDF\%$ ) and Relative Feeding Value ( $RFV = DDM \times DMI / 1.29$ ) were estimated.

2. The Energy feeding value was calculated by French system: UFL-UFV (INRA, 1988), recalculated in Bulgarian - Feed units for milk and Feed units for growth (FUM-FUG) by coefficients, followed by Todorov (1997) and Dutch (VEM-VEVI) systems.

The Protein feeding value ( $PDIN=PDIA+PDIMN$  and  $PDIE=PDIA+PDIME$  in the  $g\ kg^{-1}$  dry matter were established) was performed by French system (INRA 1988) by the parameters: TDP/PBD – Total Digestible Protein/Protein Brute Digestible and a really digestible protein in ruminant small intestine, PDIN (Protein digestible in the intestine, depending on nitrogen) and PDIE (Protein digestible in intestine depending on energy).

The data was presented on average for the period 2012-2014. The statistical processing of experimental data was conducted using the Statgraphics Plus software program.



## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Протеините съвместно с енергията на фуража са най-важните хранителни вещества за животновъдството. Тези хранителни вещества поддържат микробите в търбуха, които впоследствие разграждат фуража. Истинските протеини съставляват 60%-80% от общия растителен азот (N), заедно с разтворимите протеини и известно количество от влакнинно свързания азот, образуван в останалата част протеини (Newman et al., 2009). В литературата се посочва, че съдържанието на суров протеин при люцерната варира в границата 18% -25%. В настоящото изследване, варирането в съдържанието на суров протеин е ограничено от 164.4 до 190.8 g kg<sup>-1</sup> (Таблица 1).

## RESULTS AND DISCUSSION

Proteins plus the energy of the forage are the most important nutrients for livestock.

These nutrients support rumen microbes that consequently degrade forage.

True proteins make up 60%–80% of the total plant nitrogen (N), with soluble protein and a small portion of fiber-bound N making up the remainder (Newman et al., 2009).

In the literature, it was stated that the crude protein content in alfalfa varied in the range 18% -25%. In the present study, the variation of crude protein (CP) content in alfalfa forage was limited from 164.4 to 190.8 g kg<sup>-1</sup> (Table 1).

**Таблица 1. Основен състав, съдържание на влакнинните компоненти и смилаемост на суха биомаса от люцерна, 2012-2014**

**Table 1. Principal composition, fiber components content and digestibility of dry alfalfa biomass, 2012-2014**

Variants	CP	CF	NDF	ADF	ADL	Hemi	Cellu	Lignif	IVDMD	IVOMD
Control	168.2 a	309.3 b	442.7 b	349.2 b	78.0 a	93.4 b	271.2 a	17.6 a	59.7 a	58.9 a
NeemAzal	182.4ab	288.2ab	429.6 b	346.0 b	76.8 a	83.6ab	269.1 a	17.9 ab	63.2 ab	62.2 ab
Pyrethrum	190.8 b	284.3 a	436.8 b	353.8 b	79.1 a	83.0ab	274.7 a	18.0 b	65.1 b	64.5 b
Nurelle D	164.4 a	307.9 b	398.8 a	317.4 a	66.9 a	81.5 a	250.4 a	16.7 a	62.9 a	61.9 a
LSD <sub>0,05%</sub>	20.715	23.178	17.21	21.313	12.542	10.801	25.678	0.325	5.246	5.372

Legend: CP-Суров протеин/Crude protein; CF-Сурови влакнини/Crude fiber; HEMI – Хемицелулоза/Hemicellulose; CELLU–Целулоза/Cellulose; LIGNIF–Степен на лигнификация/Degree of lignification = ADL/NDFx100; NDF–Неутрално-детергентни влакнини/Neutral-detergent fiber; ADF – Киселинно-детергентни влакнини/Acid-detergent fiber; ADL – Киселинно-детергентен лигнин/Acid-detergent lignin; % dry matter; IVDMD–Смилаемост на сухо вещество / *In vitro* dry matter digestibility; %

Средните във всяка колона, последвани от едни и същите букви нямат статистически разлики (P > 0.05) / Means in each column followed by the same letters are not significantly different (P > 0.05)

С най-висока стойност се отличава третиране с Пиретрум, която надвишава доказано контролата с 13.4%. Обратна тенденция се наблюдава след третирането по отношение съдържанието на сурови влакнини (284.3-307.9 g kg<sup>-1</sup>), които заемат стойности, по-ниски от контролата (309.3 g kg<sup>-1</sup>).

Влакнините се отнасят до съставните елементи на клетъчната стена на хемицелулоза, целулоза и лигнин. Намалването на концентрацията на влакнините в клетъчната стена може да подобри приемането на фураж, и нарастналото усвояване на клетъчната стена ще подобри наличността на енергия (Jung и Allen, 1995). Стойностите на хемицелулоза и целулоза са ниски, варират в тесни граници и не се установяват доказани разлики между вариантите. Изключение се наблюдава след прилагане на Нуреле Д, където съдържанието на хемицелулоза доказано надвишава контролата.

Лигнинът е комплексно органично съединение, което свързва целулозните влакна и се втвърдява като укрепва клетъчните стени на растенията. Този процес се ускорява със узряването на растенията и осигурява структурна опора за растенията, които нарастват на височина. Лигнификацията е най-силно изразена в по-старите стъбла на зрели растения и

The treatment with Pyrethrum caused the highest CP value (exceeding by 13.4%) and the difference in compared with control was significant. The opposite trend after treatment was observed in terms of crude fiber content (284.3-307.9 g kg<sup>-1</sup>) which had lower values than the control (309.3 g kg<sup>-1</sup>).

Fiber refers to the cell-wall constituents of hemicelluloses, cellulose, and lignin. A reduction in the concentration of cell-wall fiber material may improve the intake of forages, and increased digestibility of the cell wall would improve energy availability (Jung and Allen, 1995).

The values of hemicellulose and cellulose were low, varied in a narrow range and did not identify significant differences between variants. An exception was observed after application of D Nurelle, wherein the content of hemicellulose significantly exceed the control.

Lignin is defined as a complex organic compound that binds cellulose fibers and hardens and strengthens the cell walls of plants. This process accelerates as plants mature and gives structural support to the plants as they become taller.

This lignification is most pronounced in older stems of mature plants and least

слабо изразена при младите подрастващи растения (The first low lignin alfalfa on the market, 2014). Увеличението на лигнин в зрялата растителна тъкан влияе негативно върху качеството на фураж и се отразява върху храносмилането. Люцерната за фураж с намалено съдържание на лигнин ще се храносмила по-бързо в търбуха на животното и като резултат, усвояването ѝ от животните ще нарастне (Srinivasa Reddy et al., 2005).

В настоящото проучване степента на лигнификация се повлиява от вида на използваните препарати като преобладава тенденция на повишаване. Най-благоприятно и доказано въздействие върху този процес оказва третирането с Пиретрум (повишение от 2.3%). Самостоятелното прилагане на Нуреле Д слабо подтикат процеса на лигнификация като разликите са недоказани.

Екстракцията на влакнини в фуража, която се осъществява чрез система за детергентни анализи, определена от съдържанието на неутрално-детергентни влакнини (NDF) и киселинно-детергентни влакнини (ADF), измерва смилаемостта.

Значимостта на NDF, ADF, ADL и целулоза за оценка качеството на фуража е тяхното ниско съдържание, което в настоящия експеримент основно заема стойности по-ниски от контролата. Неутрално-детер-

pronounced in young developing growth (The first low lignin alfalfa on the market, 2014). The increase in lignin in mature plant tissue negatively affects forage quality and interferes with animal digestion rates.

Alfalfa forage with reduced lignin will digest faster in the animal's rumen and as a result, the animal intake will increase (Srinivasa Reddy et al., 2005).

In that study, active compounds influenced the degree of lignification. It was found a tendency for increase predominantly. The treatment with Pyrethrum had the most favorable and significant influence on this process (increase by 2.3%). The independent application of Nurelle D low suppressed the lignification's process as the difference in compared with control was insignificant.

Fiber extraction in forages, which accomplished with the detergent-analyses system, a process defined by Neutral Detergent Fiber (NDF) and Acid Detergent Fiber (ADF) measures the digestibility.

The significance of NDF, ADF, ADL and cellulose for forage quality evaluation was their low content that in the following experiment had values primarily; lower than that of the control. The

гентните влакнини съставляват тоталното съдържание на влакнинните компоненти на клетъчните стени, изградени от лигнин, целулоза и хемицелулоза и варират от 399 до 443 g kg<sup>-1</sup>. Необходимо е да се отбележи, че доказано намаление, доближаващо 10% спрямо нетретирания вариант (442.7 g kg<sup>-1</sup>) се установява при Нуреле Д (с 43.9 g kg<sup>-1</sup>). Намалението при биоинсектицидите е в границата 1-3%. Киселинно-детергентните влакнини и киселинно-детергентния лигнин определят смилаемостта на фуража и тяхното съдържание е по-ниско спрямо неутрално-детергентните влакнини. Съдържанието на ADF при люцерната е в границата 317.4-353.8 g kg<sup>-1</sup> от сухото вещество на биомасата, а ADL – 66.9-79.1 g kg<sup>-1</sup>. Тези фракции се повлияват в по-слаба степен в сравнение с NDF като разликите спрямо контролата заемат пониски стойности. Изключение се наблюдава при биологичния инсектицид Пиретрум, който заема по-високи от контролата стойности по отношение на фракциите ADF – 353.8 и ADL – 79.1 g kg<sup>-1</sup> от сухото вещество, но разликите са недоказани. Доказано влияние и намаление от 14.2% за ADF се установява след третиране с Нуреле Д.

Ензимната смилаемост *in vitro* на сухото вещество (DMD) е мярка на относителното количество смилаеми (клетъчни раз-

Neutral detergent fiber comprises the total amount of plant cell walls fiber components (lignin, cellulose, hemicellulose) and varied from 399 to 443 g kg<sup>-1</sup>.

It is necessary to mark that a more significant decrease which approaching 10% compared to untreated variant (442.7 g kg<sup>-1</sup>) it was established in Nurelle D (by 43.9 g kg<sup>-1</sup>). The decrease in bioinsecticides was in the range 1-3%. The Acid detergent fiber and Acid detergent lignin determine forage digestibility and their content were lower than Neutral detergent fiber. The ADF content in alfalfa was in the referent limits 317.4-353.8 g kg<sup>-1</sup> dry matter of biomass and ADL – 66.9-79.1 g kg<sup>-1</sup>.

These fractions were influenced in a lower degree than NDF as the differences concerning the control had low values. An exception represented the biological insecticide Pyrethrum, which had the higher values concerning the fiber fractions ADF – 353.8 and ADL – 79.15 g kg<sup>-1</sup> of dry matter but the differences to control were insignificant. Strong influence and decrease by 14.2% about ADF was established even after treatment with Nurelle D.

The pepsin-cellulase *in vitro* digestibility of dry matter (IVDMD/DMD) is a measure of the relative amount digestible cell

творими вещества, белтъчини, хемицелулоза) и несмилаеми (лигнин, целулоза) компоненти във фуража. Повишената смилаемост е показател за високо качество на фуража. Смилаемостта на сухото вещество (DMD) се повишава под въздействието на използваните продукти и варира в границата 62.9-65.1%. Доказано повишена смилаемост от 9.0% се установява след прилагане на Пиретрум. Посоченият продукт увеличава и смилаемостта на общото количество вещество в най-висока степен.

Проучваните продукти оказват в различна степен влияние върху енергийната хранителна стойност на фуража (Таблица 2). Съдържанието на смилаемо сухо вещество е по-високо спрямо нетретирания вариант като повишението е от 0.4 до 4.0% (изключение се наблюдава при Пиретрум). Сходна е тенденцията относно DMI (поемане на сухо вещество) стойностите като увеличението е по-силно изразено и варира в границата 1.8-11.4%. Относителната хранителна стойност на фуража след третиране със синтетичния инсектицид Нуреле Д доказано надвишава контролата с 15.7%, докато повишението при биоинсектицидите е недоказано.

soluble matters, proteins, hemicelluloses) and no digestible (lignin, cellulose) components in the forage. Increased digestibility is the indicator for high forage quality. The digestibility of dry matter was increased influenced by the biological active products used and varied between 62.9-65.1%. Increased digestibility approaching 10% was established after application of Pyrethrum as the difference was significant. The biological active compound mentioned increased the digestibility of the total dry matter in the highest degree.

The implementation of testing products influenced in varying degrees the forage energy feeding value (Table 2). The content of digestible dry matter is higher in compared with the untreated variant as the increasing ranges from 0.4 to 4.0% (excluding is observed in Pyrethrum). A similar tendency was observed according to DMI values (Dry matter intake) as the increase was a stronger and varied within the range 1.8-11.4%.

The Relative Feeding Value of the forage after treatment with synthetic insecticide Nurelle D significantly increased the control by 15.7% while the increase at bioinsecticides was insignificant.

**Таблица 2. Енергийна хранителна стойност и протеинова хранителна стойност на суха биомаса от люцерна, средно за 2012-2014**

**Table 2. Energy feeding value and protein potential feeding value of dry alfalfa biomass, 2012-2014**

Variants	DDM	DMI	RFV	UFL	UFV	FUM	FUG	VEM	VEVI	PBD	PDIN	PDIE
Control	61.69a	2.71a	129.64a	0.680a	0.569a	0.564a	0.465a	843a	1796a	124.6a	105.6a	87.8a
NeemAzal	61.95a	2.80a	134.30a	0.708a	0.598a	0.586a	0.488a	869a	1836ab	138.6ab	114.5b	92.8b
Pyrethrum	61.34a	2.76a	131.58a	0.732b	0.625b	0.606a	0.511b	892b	1872b	146.8b	119.9b	96.0b
Nurelle D	64.18a	3.02a	150.05b	0.698a	0.588a	0.578a	0.481a	854a	1814a	121.4a	103.2a	89.0a
LSD <sub>0,05%</sub>	5.201	2.054	19.432	0.051	0.054	0.101	0.044	47.324	61.207	19.302	8.524	5.002

Legend: DDM – Смилаемо сухо в-во, %/Digestible Dry Matter, %; DMI - Поемане на сухо в-во, % от телесно тегло/Dry matter intake, % of body weight; RFV – Отн. хранит. стойност, отн %/Relative Feeding Value, relative %; UFL (Fr) FUM, VEM (Dutch) – Кръмни ед. за мляко/Feed units for milk; UFV (Fr) FUG, VEVI (Dutch) – Кръмни ед. за растеж g kg<sup>-1</sup>/Feed units for growth, g kg<sup>-1</sup>; PBD (TDP) – Общ смилаем протеин (Протеин смилаем в тънките черва)/Protein brute digestible (Total digestive protein), PDIN, PDIE in g kg<sup>-1</sup>

\* Средните във всяка колона, последвани от едни и същите букви нямат статистически разлики (P > 0.05) / Means in each column followed by the same letters are not significantly different (P > 0.05)

Съвременната оценка за качеството на биомасата се изготвя главно въз основа на енергийната хранителна стойност и се определя чрез кръмните единици за мляко и растеж (Петкова и Павлов, 2008). Използването на биологичноактивните вещества определя повишена енергийна хранителност при вариантите в сравнение с контролата. Максимална средна стойност с доказани разлики спрямо контролата се достига след третиране с Пиретрум с повишение от 7.6 и 9.8% за UFL-UFV, както и повишение от 7.4 и 9.9% по отношение на FUM-FUG (доказаност липсва при FUM стойността). Повишението при другите два варианта е по-слабо изразено и не е доказано.

Оценените средни стойности на енергийната хранителност чрез Холандската система

The contemporary assessment for the quality of biomass was indicted mainly on the base of energy feeding value and determined by the feed units for milk and growth (Petkova and Pavlov, 2008). The use of biological active substances led to an increase in the energy feeding value in compared with the control. A maximum average value was reached after treatment with Pyrethrum with an increase of 7.6 and 9.8 percent for UFL-UFV, and an increase of 7.4 and 9.9 percent in terms of FUM-FUG as differences to control were significant (significance missing to FUM value). The increase in the other two variants was less pronounced and it was missing a significance.

The estimated energy feeding values by the Dutch system (VEM-VEVI) followed the

(VEM-VEVI) следват посочените по-горе зависимости.

Общият смिलाем протеин (PBD) при люцерната под влияние на биологичните продукти се повишава с 11.2 и 17.8% като доказана разлика се наблюдава след използване на Пиретрум (146.8 спрямо 124.6 g kg<sup>-1</sup> при контролата. Намалението от 2.6% е установено при синтетичния инсектицид.

Сходна е тенденция по отношение на смिलाемия протеин в тънките черва в зависимост от азота (PDIN) и от енергията (PDIE). С най-висока PDIN стойност, надвишаваща контролата с 13.5% се откроява третирането с Пиретрум (119.9 g kg<sup>-1</sup>). Превъзходение се наблюдава и при използване на Ним Азал с 8.4%. Разликите спрямо контролата са доказани. Нуреле Д е свързан с понижаване на PDIN стойността с 2.3%.

По отношение PDIE се установява сходна тенденция като повишаване се установява при трите използвани продукта (1.4-9.3%), но доказаност спрямо контролата има само след прилагане на Пиретрум.

Може да се заключи, че третирането с биологичните продукти във фаза цъфтеж на люцерната влияе положително върху качеството на фуража и е свързано с повишаване на PBD, PDIN и PDIE стойностите докато резултатите при Нуреле Д са нееднозначни.

above-mentioned dependences.

The Total Digestible Protein (PBD) of alfalfa under the influence of biological products increased by 11.2 and 17.8% as the significant difference was observed after used of Pyrethrum (146.8 in compared with 124.6 g kg<sup>-1</sup> of control). Decrease by 2.6% was found after applied of the synthetic insecticide.

Similar was the trend as regards protein digestible in the intestine, depending on nitrogen (PDIN) and energy (PDIE). The highest PDIN value exceeding control by 13.5% stood the treatment with Pyrethrum (119.9 g kg<sup>-1</sup> dry matter). An increase was observed when using NeemAzal by 8.4%. Differences relative to the control were significant. Nurelle D was associated with a reduction in PDIN value by 2.3%.

Regarding PDIE, a similar trend was established after the used of the three products (1.4-9.3%), but significance to control was found only after application of Pyrethrum.

In general, the treatment with biological products in the flowering vegetative stage of alfalfa positively affected forage quality and was associated with an increase in PBD, PDIN and PDIE values while the results in Nurelle D were not unidirectional.

## ИЗВОДИ

Прилагането на биологичните (Ним Азал и Пиретрум) и синтетичено (Нуреле Д) активни съединения оказат положително въздействие върху състава, смилаемостта и енергийната хранителна стойност на фуража от втори откос на люцерна. Третирането повишава съдържанието на суров протеин и намалява съдържанието на влакнини в клетъчните стени на растението – киселинно-детергентен лигнин, киселинно-детергентни влакнини, неутрално-детергентни влакнини и хемицелулоза.

Оптимална комбинация от подчертано намаление на съдържанието на клетъчните влакнини компоненти в растителната клетка със значително увеличение на смилаемостта се установява след прилагането на Пиретрум. Смилаемостта достига 65.05%, с увеличение от 8.9% съответно. Най-високата енергийна хранителна стойност се установява също след използването на Пиретрум (UFL – 0.732; UFV – 0.625; PBD – 146.8; PDIN – 119.9 и PDIE – 96.0).

Синтетичният продукт Нуреле Д води до увеличаване на параметрите, които характеризират енергийната хранителна стойност на фураж, но в относително пониска степен.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Петкова Р., Павлов Д. Хранителна стойност на сортове зимна фуражна бакла при напояване. *Растениевъдни науки*, 2008, 45, с. 364-367.
2. Тодоров Н. Норми за хранене и

## CONCLUSIONS

The application of biological (NeemAzal and Pyrethrum and synthetic (Nurelle D) active compounds had a positive impact on composition, digestibility and energy feeding value of alfalfa.

The treatment increased crude protein content and decrease plant cell walls fiber components content – acid detergent lignin, acid detergent fiber, neutral detergent fiber and hemicellulase.

An optimal combination of expressed decrease in plant cell walls fiber components content with a considerable increase of digestibility was established after applying of Pyrethrum. Digestibility reaches 65.05%, respectively with an increase from 8.9%. The highest energy feeding value was found after used of Pyrethrum (UFL – 0.732; UFV – 0.625; PBD – 146.8; PDIN – 119.9 and PDIE – 96.0).

The synthetic product Nurelle D led to an increase of parameters which characterize the forage energy feeding value, but in a relatively lower degree.

## REFERENCES

1. Adesogan A.T., Sollenberger L.E., Moore J.E. Forage quality. *In Florida forage handbook*. C.G. Chambliss (ed), Univ. of Florida. Cooperative Extension Services, 2006.
2. **Alfalfa Production Guide for the**



хранителна стойност на фуражите за говеда и биволи. Pensoft, 1997, София, 223 с.

3. **Тодоров Н., Алексиев А., Илчев А., Ганчев Г., Михайлова Г., Гиргинов Д., Пенков Д., Шиндарска З., Найденова Й., Неделков К., Чобанова С.** Практикум по хранене на животните. Издателство "Изток Запад" – София, 2010, 462 с. ISBN 978-954-321-733-5.

4. **Adesogan A.T., Sollenberger L.E., Moore J.E.** Forage quality. *In Florida forage handbook. C.G. Chambliss (ed), Univ. of Florida. Cooperative Extension Services*, 2006.

5. **Alfalfa Production Guide for the Southern Great Plains.** *Oklahoma Cooperative Extension Service Division of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 2002. Circular E-826.

6. **AOAC.** Official methods of analysis, 18-th ed. *Association of Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland*, 2001, USA.

7. **Arzani H., Torkan J., Jafari M., Nikkhah A.** Investigation on effects of phenological stages and environmental factors (soil and climate) on forage quality of some important range species. *Journal of Agricultural Sciences*, 2001, 32, pp. 385 -397.

8. **Cherney J. H.** Forage Quality in Perspective. *Penn State Extension. Agronomy facts 30*. 2008, Code UC095 05/14pod.

9. **Dellinger TA, Youngman R.R., Laub C.A., Brewster C.C., Kuhar T.P.** Yield and forage quality of glandular-haired alfalfa under alfalfa weevil (Coleoptera: Curculionidae) and potato leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) pest pressure in Virginia. *Journal of Economic Entomology*, 2006, 99, No. 4, pp. 1235-44.

10. **Goering H. P., Van Soest P. J.** Forage fiber analysis, USDA-ARS, *Agric. Handbook No 379, Washington*, 1970, DC, 20 p.

11. **INRA.** Alimentation des bovines, ovens et caprins, Jarrige R.,Ed., *INRA*

**Southern Great Plains.** *Oklahoma Cooperative Extension Service Division of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 2002. Circular E-826.

3. **AOAC.** Official methods of analysis, 18-th ed. *Association of Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland*, 2001, USA.

4. **Arzani H., Torkan J., Jafari M., Nikkhah A.** Investigation on effects of phenological stages and environmental factors (soil and climate) on forage quality of some important range species. *Journal of Agricultural Sciences*, 2001, 32, pp. 385 -397.

5. **Cherney J. H.** Forage Quality in Perspective. *Penn State Extension. Agronomy facts 30*. 2008, Code UC095 05/14pod.

6. **Dellinger TA, Youngman R.R., Laub C.A., Brewster C.C., Kuhar T.P.** Yield and forage quality of glandular-haired alfalfa under alfalfa weevil (Coleoptera: Curculionidae) and potato leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) pest pressure in Virginia. *Journal of Economic Entomology*, 2006, 99, No. 4, pp. 1235-44.

7. **Goering H. P., Van Soest P. J.** Forage fiber analysis, USDA-ARS, *Agric. Handbook No 379, Washington*, 1970, DC, 20 p.

8. **INRA.** Alimentation des bovines, ovens et caprins, Jarrige R.,Ed., *INRA Publ, Versailles*, 1988, 471 p.

9. **Jung H. G., Allen M. S.** Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *Journal of Animal Science*, 1995, 73, pp. 2774-2790.

10. **Linn J., Kuehn C.** The effects of forage quality on performance and cost of feeding lactating dairy cows. *University of Minnesota, Department of Animal Science. St. Paul, MN*, 1994, 9 p. <<http://www.wcds.ca/proc/1997/ch04-97.htm>>

11. **Linn J.G., Martin N.P.** Forage quality analysis and interpretation. *Veterinary Clinics of North Americ.: Food*

Publ, Versailles, 1988, 471 p.

12. **Jung H. G., Allen M. S.** Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *Journal of Animal Science*, 1995, 73, pp. 2774-2790.

13. **Linn J., Kuehn C.** The effects of forage quality on performance and cost of feeding lactating dairy cows. *University of Minnesota, Department of Animal Science. St. Paul, MN*, 1994, 9 p. <<http://www.wcds.ca/proc/1997/ch04-97.htm>>

14. **Linn J.G., Martin N.P.** Forage quality analysis and interpretation. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 1991, 7, No. 2, pp. 509-523.

15. **Newman YC., Adesogan AT., Vendramini J., Sollenberger L.** Defining Forage Quality. *UF/IFAS Extension publications*, 2009, SS-AGR-322. <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/AG/AG33200.pdf>

16. **Niwińska B., Strzetelski J. A., Kowalczyk J., Borowiec F., Domański P.** The effect of phenological stage and season on nutritive value, chemical composition and nutrient digestibility of lucerne (*Medicago sativa* L.) green forage in the alimentary tract of cattle. *Czech Journal of Animal Science*, 2005, 50, No. 11, pp. 511–518.

17. **Saini R. K.** Compendium of lectures delivered during the Advanced Training Course on “Novel Approaches in Pest and Pesticide Management in Agro-Ecosystem”, *CCSHAU Press*, 2014, Hisar, 24p.

18. **Srinivasa Reddy M. S., Chen F., Shadle G., Jackson L., Aljoe H., Dixon R. A.** Targeted down-regulation of cytochrome P450 enzymes for forage quality improvement in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102, No. 46, pp. 16573–16578.

19. **The first low lignin alfalfa on the market.** Alfalfa and Forage excellent, 2014 Dow AgroSciences LLC. <http://www.alforexseeds.com>

*Animal Practice*, 1991, 7, No. 2, pp. 509-523.

12. **Newman YC., Adesogan AT., Vendramini J., Sollenberger L.** Defining Forage Quality. *UF/IFAS Extension publications*, 2009, SS-AGR-322.

<https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/AG/AG33200.pdf>

13. **Niwińska B., Strzetelski J. A., Kowalczyk J., Borowiec F., Domański P.** The effect of phenological stage and season on nutritive value, chemical composition and nutrient digestibility of lucerne (*Medicago sativa* L.) green forage in the alimentary tract of cattle. *Czech Journal of Animal Science*, 2005, 50, No. 11, pp. 511–518.

14. **Petkova R., Pavlov B.** Feeding value of winter forage bean varieties for irrigation. *Plant Science*, 2008, 45, pp. 364-367. (in Bulgarian)

15. **Saini R. K.** Compendium of lectures delivered during the Advanced Training Course on “Novel Approaches in Pest and Pesticide Management in Agro-Ecosystem”, *CCSHAU Press*, 2014, Hisar, 24p.

16. **Srinivasa Reddy M. S., Chen F., Shadle G., Jackson L., Aljoe H., Dixon R. A.** Targeted down-regulation of cytochrome P450 enzymes for forage quality improvement in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102, No. 46, pp. 16573–16578.

17. **The first low lignin alfalfa on the market.** Alfalfa and Forage excellent, 2014 Dow AgroSciences LLC. <http://www.alforexseeds.com>

18. **Todorov N.** Feeding norms and feeding value for bulls and buffaloes, Pensoft, phare, 1997, Sofia, 223 p. (in Bulgarian)

19. **Todorov N., Alexiev A., Ilchev A., Ganchev G., Mihailova G., Girginov D., Penkov D., Shindarska Z., Naydenova Y., Nedelkov K., Chobanova S.** Practices in Animal Nutrition, Ed. East-West, 2010, Sofia, Bulgaria, ISBN 978-954-321-733-5, 462. (in Bulgarian)

## **Оценка на протеинова хранителна стойност на многогодишни житни треви чрез спектрален анализ в близката инфрачервена област (NIRS)**

Йорданка Найденова

*Институт по фуражните култури, ул. "Генерал Владимир Вазов" 89,  
5800 Плевен, България*

*E-mail: y\_naydenova@abv.bg*

## **Protein feeding value estimation of forage perennial grasses by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)**

Yordanka Naydenova

*Institute of Forage Crops, 89 General Vladimir Vazov Str., 5800 Pleven, Bulgaria*

### **РЕЗЮМЕ**

Оценена е протеиновата хранителна стойност на ежова главица (*Dactylis glomerata* L.), тръстиковидна власатка (*Festuca arudinacea* Schreb.), безосилеста овсига (*Bromus inermis* Leyss.) чрез спектрален анализ в близката инфрачервена област – near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) при реален селекционен процес. Създадени са калибрационни модели – глобални, общи за трите вида многогодишни житни треви и специфични за всеки растителен вид въз основа на експерименталните стойности на протеиновата хранителна стойност, оценена по Френската система. Спектрите са получени като Log 1/R в областта 1100-2498 nm чрез сканиращ монохроматор 6500 NIRSystem Inc. Silver Spring, MD, USA; спектрална математическа обработка чрез ISI NIRS 3, ver.4 Software /Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA/. Приложен е анализ на основните компоненти за определяне на спектралните граници; предварителна

### **SUMMARY**

The protein feeding value of forage perennial grasses orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), tall fescue (*Festuca arudinacea* Schreb.), smooth bromegrass (*Bromus inermis* Leyss.) in the real breeding process is estimated by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS).

The global – common for the three perennial grasses and specific – for each perennial grass species calibration models are develop on the basis of experimental values of protein feeding value, estimated by French system.

The spectra are obtained as Log 1/R in the region 1100-2498 nm by scanning monochromator 6500 NIRSystem Inc. Silver Spring, MD, USA; spectral mathematical treatment – by ISI NIRS 3, ver.4 Software /Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA/.

The Principal component analysis is applied for determination of spectral limits; the previous math treatment: Detrend,

математическа обработка – Detrend, SNV, MSC, WMSC; математическа корекция – чрез математическо диференциране и сегмент-обхватен метод. Приложен е регресионен метод на Модифицирана регресия на най-малките средни квадрати. Оценката на регресионните модели е най-високи R2C и R2CV; най-ниски SEC и SECV; най-високо съотношение SD/SECV. Точността на предвиждането е много висока R2CV 0,96-0,99; SD/SECV е >4,0. Стабилността на моделите е висока (много ниски разлики между SEC и SECV). Точността и стабилността на моделите е по-добра за PDIN отколкото за PDIE. Плоскостната корекция на глобалните модели е винаги NSVD, а за специфичните модели е различна. Разликите между SEP и SECV са много ниски, поради което глобалните модели могат да се прилагат за оценка на протеиновата хранителна стойност на всеки един от трите растителни вида многогодишни житни треви вместо специфичните калибрационни модели.

**Ключови думи:** протеинова хранителна стойност, фураж, многогодишни житни треви, NIRS, *Dactylis glomerata* L., *Festuca arundinacea* Schreb., *Bromus inermis* Leyss.

**Съкращения:** NIRS – near infrared reflectance spectroscopy/спектрален анализ в близката инфрачервена област; MPLS – Modified partial least squares regression/Модифицирана регресия на най-малките средни квадрати; SNV and NSVD – standard normal variate/Стандартно нормално вариране и/ and standard normal variate and Detrend/ Стандартно нормално вариране и Детренд; DET – Detrend/Детренд; MSC – Multivariate scatter correction/Мултивариационна плоскостна корекция; WMSC – Weighted multiplicative scatter correction/Тегловна мултивариационна плоскостна корекция; R2C and R2CV – coefficients of determination of calibration and validation/коэффициенти на детерминация при калибрация и проверка, SD – standard deviation/стандартно отклонение, SEC and SECV – standard errors of calibration and

SNV, MSC, WMSC; math correction – by math differentiation and segment-gape method. Regression model is Modified partial least squares regression.

Evaluation of regression models is as highest R2C and R2CV; lowest SEC and SECV; highest SD/SECV. The accuracy of prediction is very high R2CV 0,96-0,99; SD/SECV is >4,0.

The stability of models is high (very low differences between SEC and SECV). The accuracy and stability of models are better for PDIN than PDIE. The scatter of global models is always NSVD but for the specific models is different.

The differences between SEP and SECV are very low, and that's why the global models may be applied for estimation of protein feeding value for the each one of the three perennial grass species instead the specific models.

**Keywords:** Protein feeding value, forage grasses, NIRS, *Dactylis glomerata* L., *Festuca arundinacea* Schreb., *Bromus inermis* Leyss.

**Abbreviations:** NIRS – near infrared reflectance spectroscopy;

MPLS – Modified partial least squares regression;

SNV and NSVD – standard normal variate and standard normal variate and Detrend;

DET – Detrend;

MSC – Multivariate scatter correction; WMSC – Weighted multiplicative scatter correction;

R2C and R2CV – coefficients of determination of calibration and validation,

SD – standard deviation,

SEC and SECV – standard errors of calibration

validation/стандартни грешки на калибрация и проверка, SEP – standard error of prediction/стандартна грешка на предвиждане, PDIN – protein digestible in intestine depending on nitrogen/протеин смилаем в тънките черва в зависимост от азота и PDIE – protein digestible in intestine depending on energy/ протеин смилаем в тънките черва в зависимост от енергията, g kg<sup>-1</sup> dry matter/сухо вещество; CP – crude protein/СП - суров протеин и CF - crude fiber/СВл - сурови влакнини, % of dry matter/сухо вещество; IVDMD, IVOMD - *in vitro* dry (organic) matter digestibility/ин витро смилаемост на сухо (органично) вещество, %; DT – theoretic degradability/теоретична разградимост; TDP/PBD - Total digestible protein/Protein brute digestible/Общ смилаем протеин, g kg<sup>-1</sup> dry matter/сухо вещество; GE – gross energy/обща (бруто) енергия и/and ME – metabolic energy/метаболитна (обменна) енергия в kcal kg<sup>-1</sup> сухо вещество

and validation,

SEP – standard error of prediction,

PDIN – protein digestible in intestine depending on nitrogen and PDIE – protein digestible in intestine depending on energy, g kg<sup>-1</sup> dry matter;

CP – crude protein and CF - crude fiber, % of dry matter;

IVDMD, IVOMD - *in vitro* dry (organic) matter digestibility, %;

DT – theoretic degradability;  
TDP/PBD - Total digestible protein/Protein brute digestible g kg<sup>-1</sup> dry matter;

GE – gross energy and ME – metabolic energy in kcal. kg<sup>-1</sup> dry matter

## УВОД

Протеиновата хранителна стойност на многогодишните житни треви е незаменима характеристика при оценка качеството на фуража от тях. Todorov (1997) посочва факторите, определящи протеиновата хранителност на фуражите и на първо място количеството на суровия протеин във фуража, както и най-вероятните, възприети в протеиновата система коефициенти за протеинова хранителност. Според Българската система основен показател за оценка на протеинова хранителност е протеина, смилаем в тънките черва, коефициент 0,6-0,9, отчитащ поотделно фуражния и микробния протеин. Българската протеинова система е аналогична на Френската (INRA, 1978; Demarquilly, 1989; Verite и

## INTRODUCTION

Protein feeding value of forage perennial grasses is essential characteristic in forage quality evaluation.

Todorov (1997) show factors determined protein feeding value and crude protein content as first important factor as well as the most probable, accepted in protein system, coefficients for protein feeding value.

According to Bulgarian system the principal parameter for protein feeding value estimation is protein, digestible in intestine, coefficient 0,6-0,9 counting separately forage and microbial protein.

Bulgarian protein system is analogous to French (INRA, 1978; Demarquilly, 1989; Verite and

Peyraud, 1989). Протеиновата хранителна стойност на някои бобови многогодишни е оценена по Френската PDI система (Petkova, 2006).

Фуражните многогодишни житни треви са туфести, с дълбока коренова система, дълготрайни многогодишни растения, достигащи височина 60-150 cm (Tomov 1987, Pavlov 1996, Katova 2007, Ecocrop 2010, Ecoport 2010). Като многогодишни треви от умерения климатичен пояс, те могат да бъдат покосявани четири пъти през годината и са продуктивни в продължение на 4- до 8 години (Katova 2007, GNIS 2011).

Многогодишните житни треви са най-богатите на протеиново съдържание треви на умерения климатичен пояс, който е обикновено 15-20% от сухото вещество, въпреки че може да достигне 25% протеин при млади растения, намалява при съзряване през вегетацията, може да е по-ниско от 10% от сухото вещество в края на цъфтеж (INRA 2007; Katova 2007; Katova 2016).

Многогодишните житни треви ежова главица (*Dactylis glomerata* L.), тръстиковидна власатка (*Festuca arundinacea* Schreb.) и безосилеста овсига (*Bromus inermis* Leyss.) са най-важните фуражни житни култури в България при създаване на устойчива фуражна база за преживното животновъдство при

Peyraud, 1989). The protein feeding value of some perennial legumes is evaluated by French PDI system (Petkova, 2006).

Forage grasses are strongly tufted, deep rooted, long-lived perennials reaching a height of 60-150 cm (Tomov 1987, Pavlov 1996, Katova 2007, Ecocrop 2010, Ecoport 2010).

As a cool season perennials they may be harvested four times a year and remains productive during 4- to 8 years (Katova 2007, GNIS 2011).

Perennial grasses are of the richest temperate grasses as measured by protein content, which is usually 15-20% of dry matter, although 25% protein is possible in young plants, declines with maturity and can be lower than 10% of dry matter at the end of flowering (INRA 2007; Katova 2007; Katova 2016).

Perennial grasses: orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and smooth bromegrass (*Bromus inermis* Leyss.) are the most important forage grass crops in Bulgaria in development of stable forage base for ruminant farming in marketing conditions.

пазарни условия. Те са компоненти на житно-бобови тревни смеси, подходящи за изпасване или приготвяне на сено, силаж и сенаж (Tomov 1987; Peeters 2004, INRA, 2007, Ecoport, 2010). За всеки от трите растителни вида са създадени местни сортове съответно „Дъбрава“, „Албена“, „Ника“ (Tomov 1993). Съчетавайки селекцията на вегетативно размножаващите се житни треви чрез Фенотипно проучени генотипове с отбор по качество на фуража – състав, смилаемост и хранителна стойност, се създава нов изходен материал за селекция на сортове с подобрени качествени характеристики (Naydenova et al. 1998, 2001; Naydenova 2008, 2009, 2012; Naydenova and Pavlov, 2005, 2009, Naydenova and Katova 2013). През вегетацията на фуражните треви настъпват промени, водещи до рязко понижаване на хранителния ефект от отглеждане на растенията (Pavlov 1996). Установяването му е свързано с прилагане на бързи, точни и евтини лабораторни методи и системи за оценка на химическия състав, смилаемостта и хранителната стойност. Смилаемостта, определена *in vitro* чрез ензими е бърз и надежден метод и приложението му при отглеждането на растенията, където малки количества от огромен брой проби от видове, сортове, генотипове,

They are the components of the grass-legume mixtures for grass production in grazing or as hay, silage, haylage (Tomov 1987; Peeters 2004, INRA, 2007, Ecoport, 2010). For each of the three perennial species are developed country varieties “Dabrava”, “Albena”, “Nika” (Tomov 1993) respectively. Combining breeding process of vegetative reproducing themselves perennial grasses by phenotype established perennial grasses with breeding for forage quality – composition, digestibility and feeding value, the new initial material for breeding of new varieties with improved quality characteristics are created (Naydenova et al. 1998, 2001; Naydenova 2008, 2009, 2012; Naydenova and Pavlov, 2005, 2009, Naydenova and Katova 2013). The changes leading to strong decreasing in nutritive effect of plant growing, in forage grass vegetation process, come on (Pavlov 1996).

Their establishment is connected with applying of rapid, accurate and low cost laboratory methods and systems for evaluation of chemical composition, digestibility and feeding value. Digestibility, determined *in vitro* by enzymes is rapid and promising method and its application in plant-growing, where small quantity of large number accessions of species, varieties, genotypes, cuts must be evaluated

откоси трябва да бъдат оценени при селекционен процес и технологични решения (Buxton and Redfearn, 1997; Casler et al., 2000). Спектралният анализ в близката инфрачервена област (NIRS) като бърз и надежден метод се прилага за оценка качеството на фуражите (Shenk et al., 1994; Atanassova, 1992) и състава им (Smith, 1988; Lindgren, 1988; Garcia-Criado et al., 1990; Amari et al., 1991; Atanasova, 1988). Albrecht et al. (1987), Reeves (1988) определят различни компоненти на карбохидрати и растителни клетъчни стени с висока точност. Clark et al. (1989) предвиждат минералния състав на фуражите; Lecomte et al. (1992) и Coleman et al. (1993) – смилаността на органичното вещество; Mizuno et al. (1988) – поемането на фуража от животните. Хранителната стойност на фуража е предвидена с висока точност от Cottyn et al. (1987), Bertrand et al. (1987), Atanasova (1992). NIRS метода се оценява като по-точен от приложението на емпирични коефициенти при оценката на хранителната стойност на фуражите (De Boever et al., 1994; Nordkvist et al., 1994), поради което е широко прилаган (Roehmoser, 1992). Приложението му е свързано с точна стандартизация и калибриране на инструментите.

Целта на това проучване е оценка на протеиновата хранител-

in breeding process or technological decisions (Buxton and Redfearn, 1997; Casler et al., 2000).

NIRS as a rapid and promising method is applied for analysis of forage quality (Shenk et al., 1994; Atanassova, 1992): composition (Smith, 1988; Lindgren, 1988; Garcia-Criado et al., 1990; Amari et al., 1991; Atanasova, 1988).

Albrecht et al. (1987), Reeves (1988) determine different components of carbohydrates and plant cell walls with high accuracy.

Clark et al. (1989) predict forage minerals; Lecomte et al. (1992) and Coleman et al. (1993) – organic matter digestibility; Mizuno et al. (1988) – ingestibility.

The forage feeding value is predicted with high accuracy by Cottyn et al. (1987), Bertrand et al. (1987), Atanasova (1992).

NIRS method is evaluated and stated as better than application of empirical coefficients (De Boever et al., 1994; Nordkvist et al., 1994) and that why it is broad applied (Roehmoser, 1992).

The method application is concerned with accurate standardized and calibrated instruments.

The aim of this study is estimation of protein feeding value



на стойност на фураж от многогодишните житни треви ежова главица (*Dactylis glomerata* L.), тръстиковидна власатка (*Festuca arundinacea* Schreb.), безосилеста овсига (*Bromus inermis* Leyss.) при селекционния им процес и установяване възможностите за предвиждане чрез отражателна спектроскопия в близката инфрачервена област.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследваният растителен материал за това проучване е представен от надземната част на три фуражни вида (сорта) многогодишни житни треви: ежова главица (*Dactylis glomerata* L.), сорт Дъбрава, тръстиковидна власатка (*Festuca arundanacea* Schreb.), сорт Албена, безосилеста овсига (*Bromus inermis* Leyss.), сорт Ника, отглеждан при полски условия в реален селекционен процес от селекционната програма на Института по фуражните култури, Плевен, България. Специфичните сортове от всеки растителен вид са признати в страната като стандартни. Общо 502 генотипове, отглеждани в колекционни питомници са проучвани в продължение на десетилетие. Растенията са покосявани при първи подраст във фаза – начало на изметляване, при поява на 2-3 метлици на растение и втори и трети подрасти (отава на 42 дневна възраст след покосяване на

of forage perennial grasses orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.), smooth bromegrass (*Bromus inermis* Leyss.) in plant breeding process and possibilities of its prediction by Near Infrared Reflectance Spectroscopy.

## MATERIAL AND METHODS

Plant material investigated is present as aboveground part of three forage perennial grass species (varieties): orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) var. Dabrava, tall fescue (*Festuca arundanacea* Schreb.), var. Albena, smooth bromegrass (*Bromus inermis* Leyss.), var. Nika, grown in field conditions in real breeding process from the breeding program of the Institute of Forage Crops, Pleven, Bulgaria.

The specific varieties from each one species are recognized in the country as standard. The total 502 genotypes grown in collection nurseries are studied in a period of decade.

The plants are harvested as first cut in vegetative stage – beginning of ear formation, appearing of 2-3 ears per plant and second and third cuts (aftergrass aged 42 days after harvesting of previous cut).

предходния подраст). Проучени са промените в протеиновата хранителна стойност на представителни за видовете успоредни проби в колекционните питомници през седмични периоди през вегетационния процес на всеки от трите растителни вида (сорта) многогодишни житни треви. За начало на вегетацията по литературни данни на Barton (1976) е приета условно четири седмична възраст на растенията, фаза на пасищна готовност след началото на активна вегетация. През първи подраст са изследвани осем седмични периода, а през втори (отава) шест.

*Съдържанието на протеин* е определено като суров протеин (CP) по Веенде систематичния анализ по Келдал метода на Келтек 1030 Автоанализатор, Швеция (AOAC, 2010). Ензимната *in vitro* смилаемост на сухото и органично вещество (IVDMD, IVOMD) е определена по двустепенен пепсин – целулазен метод на Aufrere (Todorov et al., 2010).

Оценката на хранителната стойност е извършена като обща (брuto) енергия /GE/, метаболитна (обменна) енергия /ME/ въз основа на уравнения, съгласно експерименталните стойности на суров протеин, сурови влакнини (AOAC 2010) и смилаемост. Коефициентът на смилаемост на органичното вещество  $dMO_{in vivo}$  (Andrieu and Demarquilly, 1987) е получен чрез зависимост на

The changes in protein feeding value of the representative for the species double samples from the same collection nurseries at weekly periods in the vegetation process for each of the three species (varieties) perennial grasses are establish. At the beginning of vegetation by reference data of Barton (1976) is accepted four week plant age, pasture vegetative stage after beginning of active vegetation.

Eight weekly periods at the first growth and six at the second (aftergrass) are studied.

The *protein content* is determinated as crude protein (CP) by Weende systematic analysis by the Kjeldahl method on Kjeltec 1030 Autoanalyser, Sweden. (AOAC, 2010). The enzyme *in vitro* digestibility of dry and organic matter (IVDMD, IVOMD) is determined by two-stage pepsin - cellulase method of Aufrere (Todorov et al., 2010).

The *feeding value estimation* is performed as gross energy /GE/, metabolic energy /ME/ on the basis of equations according to experimental values of crude protein, crude fiber (AOAC 2010) and digestibility.

The coefficient of digestibility of organic matter  $dMO_{in vivo}$  (Andrieu and Demarquilly, 1987) is received by dependence on the basis of

основата на експериментално установената *in vitro* смилаемост на органичното вещество.

*Протеиновата хранителна стойност* е оценена по нормите на Френската система (INRA, 1988) като действително смилаем протеин в тънките черва на преживните по лабораторно определения суров протеин. Стойностите на PDIN и PDIE са определени по следния начин.

*Смилаем протеин в тънките черва от хранителен произход:*

$PDIA = 1,11 \times CP(1-DT) \times dr_a \times AA \text{ g kg}^{-1} \text{ DM}$  където

CP в  $\text{g kg}^{-1}$  сухо вещество; DT (TP-N) – теоретична разградимост на протеина във фуража;

$dr_a$  - действителна смилаемост на аминокиселините в тънките черва, приета за 0,73

$AA_a$  – Аминокиселинно съдържание в разградените азотсъдържащи хранителни вещества, равно на 1;

1,11 – Фактор на превръщане между измерената *in sacco* разградимост на протеина и тази, измерената *in vivo*

$PDIA = 0,3652 \times CP$

*Смилаем микробиален протеин в тънките черва изчислен от разградимия азот*

$PDIMN = CP \{1 - [1,11 \times (1-DT)]\} \times dr_m \times AA_m$  където

$AA_m$  - Аминокиселинно съдържание в азотните вещества от микробиален произход 0,8;

$dr_m$  - действителна смилаемост на микробиалните аминокиселини 0,8, т.е.

$PDIMN = 0,2752 \times CP$

*Смилаем микробиален протеин, изчислен според енергията:*

$PDIME = MOF \times \text{efficiency}^* \times dr \times AA_m$  където

MOF – количеството на ферментиращото органично вещество в търбуха и следователно оползотворяемо от микроорганизми-

experimentally determined *in vitro* organic matter digestibility.

The *protein feeding value* is estimated by the norms of the French System (INRA, 1988) as really digestible protein in intestine of ruminants on the base of laboratory determined crude protein. The PDIN and PDIE values are estimate in the following way.

*Digestible protein in intestine of dietary origin:*

$PDIA = 1,11 \times CP(1-DT) \times dr_a \times AA \text{ g kg}^{-1} \text{ DM}$  where

CP in  $\text{kg}^{-1}$  dry matter; DT (TP-N) – theoretical degradability of protein in forage;

$dr_a$  - True digestibility of amino acids in intestine considered 0,73 and

$AA_a$  – Amino acid content in degraded nitrogen nutrients, equal to 1;

1,11 – conversation factor between measured degradability *in sacco* of protein and the measured *in vivo*

$PDIA = 0,3652 \times CP$

*Digestible microbial protein in intestine calculated from degradable nitrogen:*

$PDIMN = CP \{1 - [1,11 \times (1-DT)]\} \times dr_m \times AA_m$  where

$AA_m$  - Amino acid content in nitrogen matters of microbial origin, 0,8;

$dr_m$  - True digestibility of microbial amino acids 0,8, i.e.

$PDIMN = 0,2752 \times CP$

*Digestible microbial protein calculated according to energy:*

$PDIME = MOF \times \text{efficiency}^* \times dr \times AA_m$  where

MOF – quantity of fermentable organic matter in the rumen and therefore used by reproducible microorganisms and amino acid

те за размножаване и образуване на микробни аминокиселини, изчислено както следва:

MOF = MOD – MGB – CP (1-DT), където MOD – количество смилаемо органично вещество в  $\text{g kg}^{-1}$ ,

MGB (общи мазнини) - сурови мазнини, приети за  $18,5 \text{ g kg}^{-1}$  сухо вещество

DT (теоретична разградимост) – теоретична разградимост на азотните вещества, приета за 0,53.

ефективност\*: потенциално образуване на микробиален протеин.

Показателите за действително смилаем протеин в тънките черва при преживните PDIN (Протеин смилаем в тънките черва в зависимост от азота) PDIN = PDIA+PDIMN и PDIE (Протеин смилаем в тънките черва в зависимост от енергията) PDIE = PDIA+PDIME в  $\text{g kg}^{-1}$  сухо вещество са оценени и протеиновата хранителна стойност е определена.

*Спектрална база от данни за отразителна спектроскопия в близката инфрачервена област NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy)* са получени от целия растителен материал – проби от 502 генотипове многогодишни житни треви чрез двукратно сканиране и спектрите са събрани като Log 1/R в областта 1100-2500 nm, 2 nm стъпка на монохроматор, модел 6500, NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, USA. Спектралните и математически обработки са извършени при ползване на ISI NIRS 3, ver.4 Software (Infrasoft International, Port Matilda, PA). След осредняване на двойните спектри за всяка

production, calculated as follows:

MOF = MOD – MGB – CP (1-DT), where MOD is quantity digestible organic matter in  $\text{g kg}^{-1}$ , MGB (total Fat), i.e. crude fat considered  $18,5 \text{ g kg}^{-1}$  dry matter and

DT (theoretical degradability) – Theoretical degradability for nitrogen matters, considered 0,53.

The efficiency\* is potential productivity of microbial protein.

The parameters of really digestible protein in ruminant small intestine – PDIN (Protein digestible in intestine, depending on nitrogen) PDIN = PDIA+PDIMN and PDIE (Protein digestible in intestine depending on energy) PDIE = PDIA+PDIME in  $\text{g kg}^{-1}$  dry matter are established and forage protein feeding value is evaluated.

*Spectral data bases for NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy)* are obtained from all plant material of 502 genotypes perennial grass samples by scanning twice and the spectra are collected as a Log 1/R in the region 1100-2500 nm, 2 nm step on the monochromator, model 6500, NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, USA.

The spectral and mathematical treatments of data are performed using the ISI NIRS 3, ver.4 Software (Infrasoft International, Port Matilda, PA).

After averaging the duplicates the spectral boundaries of sample

проба са определени спектралните граници на популацията от проби, прилагайки метода на анализ на основните компоненти PCA (Principal Component Analysis). Същият е приложен и за оценка на спектралните разстояния между трите растителни вида (сорта) многогодишни житни треви (Shenk and Westerhouse, 1995). Спектрите са съхранени според тяхната Mahalanobis дистанция (H статистика). Осъществен е и скрининг и подобряване на представителността на всяка растителна проба чрез изчисляване на Mahalanobis дистанцията на всяка проба по отношение на останалите (Dardenne, 1990). Създадени са калибрационни модели с предварителна математическа обработка на спектралните данни чрез плоскостна (Scatter) корекция Нормално стандартно вариране и Детренд (NSVD) и първа и втора производни чрез сегмент-гейп метод (Shenk and Westerhouse, 1995). Калибрационните модели са получени чрез прилагане на Модифицирана множествена регресия на най-малките средни квадрати (MPLS) като регресионен метод и проверени чрез вътрешна проверка при максимален брой регресионни фактори (термини). Спектралните изследвания са извършени в CRA, SHB – Libramont, Белгия. Точността на калибрационните модели и резултатите от

population are determined by PCA (Principal Component Analysis) method.

It is applied also for evaluation of spectral distances between three perennial grasses, varieties (Shenk and Westerhouse, 1995). The spectra are stored according to their Mahalanobis distance (H statistics).

The screening and improving representation of each plant sample are performed by calculation of Mahalanobis distance of each sample in relation to all others (Dardenne, 1990).

Calibration models are developed with a pretreatment of the spectral data by Scatter correction NSVD and a first and second derivative by segment-gape method) (Shenk and Westerhouse, 1995).

The calibration models are obtained by using a MPLS as a regression method and tested in cross validation at maximum number of regression factors (terms).

Spectral studies are performed in CRA, SHB – Libramont, Belgium.

The accuracy of calibration models and cross-validation results for

вътрешната напречна проверка за всеки показател са оценени на основата на най-ниски стандартни грешки на калибрация и проверка (SEC и SECV) и най-високо съотношение на стандартно отклонение на оригиналните експериментални данни и стандартната грешка на вътрешна проверка (SD/SECV), което не зависи от мерните единици и позволява сравнение на различни калибрационни модели.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Многогодишните житни треви ежова главица (*Dactylis glomerata* L.), тръстиковидна власатка (*Festuca arudinacea* Schreb.), безосилеста овсига (*Bromus inermis* Leyss.) осигуряват на преживното животновъдство фураж с висока протеинова хранителна стойност, прибран във фаза начало на изметляване: PDIN 76-144; PDIE 84-112 и средно за генеративен и вегетативен стадии на развитие PDIN 74-143; PDIE 81-111 g kg<sup>-1</sup> сухо вещество.

Създадени са и са сравнени глобални линейни регресионни калибрационни модели, общи за трите вида (сорта) многогодишни житни треви и специфични за генотиповете на всеки растителен вид (сорт) чрез Модифицирана регресия на най-малките средни квадрати (MPLSR). Моделите са оптимизирани чрез приложение на шест вида предварителна математиче-

each parameter are evaluated on the base of the lowest standard errors (SEC and SECV) and the highest ratio of the standard deviation of the original data by the SECV (SD/SECV) which are independent of the measurement units and allows a comparison of different calibration models.

## RESULTS AND DISCUSSION

Perennial grasses orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), tall fescue (*Festuca arudinacea* Schreb.), smooth brome (*Bromus inermis* Leyss.) assure in ruminant nutrition high protein feeding value forage, harvested in early flowering stage:

PDIN 76-144; PDIE 84-112 and mean for the generative and vegetative stages PDIN 74-143; PDIE 81-111 g kg<sup>-1</sup> dry matter.

The global linear regression calibrate models, common for the three perennial grass species (varieties) and specific ones for the genotypes of each plant species (variety) by MPLSR are developed.

The models are optimized by six kind of previously applied mathematical treatment of spectral

ска обработка на спектралните данни на растителните проби. Отклоненията на спектрите са оптимизирани чрез промяна на сегментите и обхвата на проучваните спектри. Създадени са и са сравнени глобални и специфични калибрационни модели за оценка на хранителната стойност.

За всеки показател на хранителната стойност – обща, метаболитна и протеинова са създадени 60 калибрационни модели и са подбрани най-добрите калибрационни модели за предвиждане на хранителната стойност. Статистическите им показатели са представени на Таблица 1 за генотиповете на трите вида (сорта) многогодишни житни треви и на Таблица 2 за генотиповете на всеки растителен вид (сорт).

За проучване на статистическите критерии в анализа на всички проби (генотипове) чрез глобалните калибрационни модели е установено, че точността на определяне и предвиждане е много добра за показателите GE, PDIN и PDIE:  $R^2CV > 0,96$  и  $SD/SECV > 3,0$ ; и добра за ME  $R^2CV 0,87$  и  $SD/SECV 2,78$ . Тези съотношения на показателите са същите и при специфичните калибрационни модели. Отношение по-високо от 3,0 показва, че създаденият калибрационен модел е достатъчно точен за точно определяне на изследвания показател, а стойност на  $SD/SECV$  от 2,5 до 3,0 показва, че моде-

data source.

The deviations of the specters are optimized by changing the segments and ranges of the specters studied. Global and specific calibration models for feeding value estimation are developed and compared.

For each parameter of feeding value – gross, metabolic and protein, 60 calibration models are developed and the best predictive model and its statistical parameters are presented at Table 1 for the genotypes of three perennial grass species (varieties) and in Table 2 for the genotypes of each plant species (variety).

In terms of studying statistical criteria in analysis of all samples (genotypes) by global calibration models it is establish that the accuracy of determination and prediction is very good for the parameters GE, PDIN and PDIE:  $R^2CV > 0,96$  and  $SD/SECV > 3,0$ ; and good for ME  $R^2CV 0,87$  and  $SD/SECV 2,78$ .

These relations of the parameters are the same at specific calibration models.

The ratios higher than 3,0 show that the developed calibration model is accurate enough for exact calculation of the investigated parameter, but the value  $SD/SECV$  ranged from 2,5 to 3,0 shows that

лът е с точност, позволяваща скрининг на пробите (генотиповете) чрез високи и ниски стойности (Edney et al., 1994).

Разликите между SEC и SECV са малки за изследваните показатели, което доказва висока стабилност на калибрационните модели. От представените скатерграми на глобалните и специфични калибрационни модели за показателите на протеиновата хранителна стойност PDIN и PDIE е ясно, че всички проби (генотипове) са разположени на или близо до идеалната линейна зависимост между оценената протеинова хранителност като PDIN и PDIE стойности на основата на експерименталните данни за суров протеин и ензимна *in vitro* смилаемост на органичното вещество и NIRS предвидените стойности под ъгъл 45° към хоризонталната ос на координационната система. Не се наблюдава отклонение или дисонанс в позициите чрез концентрационен градиент за всеки показател, както и растителен вид (сорт). Съхранените спектрални данни (спектрални и оценени референтни) в база са доказателство за качеството на пробите на тревните генотипове на видовете (сортовете) и техните лабораторни и оценени данни доказват стабилността и референтната стойност на калибрационните проби.

the model has accuracy that permits sample (genotypes) screening by high and low values (Edney et al., 1994).

The differences between SEC and SECV are small for the parameters studies which prove the high stability of the calibration models. From the presented scattergrams of the global and specific calibration models for the parameters of protein feeding value PDIN and PDIE, it is obviously that all samples (genotypes) are situate on or near to ideal real relationship between estimated protein feeding PDIN and PDIE values on the basis of experimentally data of crude protein and enzyme *in vitro* digestibility of organic matter and NIRS predicted values on angle 45° to horizontal axis of the coordinate system.

It is not mentioned dividing or dissonance in positions by concentration gradient for each parameter, as well as by grass species (variety). Saving of all bases spectral data (spectral and estimated referent) is prove for the quality of grass genotype samples of species (varieties) and their laboratory and estimated data are condition for stability and referent ability of the calibration samples.



Таблица 1. Характеристика на референтните стойности и най-добрите измежду 60 глобални калибрационни модели чрез MPLS регресия, изследвани за всеки показател за предвиждане хранителната стойност на генотиповете на три вида (сорта) многогодишни житни треви

Table 1. Characteristics of the referent forage data bases and performance of the best predictive model among 60 global MPLSR calibration models tested for each parameter for prediction forage feeding value for the genotypes of three perennial grass species (varieties)

Показател Parameter	N	Mean	SD	T	R2C	SEC	SECV	R2CV	SD/SECV	Scatter	Math
GE	418	4806	57	9	0.99	5.07	5.76	0.99	9.87	NSVD	1.5.5
ME	418	2258	206	12	0.90	65.47	73.73	0.87	2.78	NSVD	1.5.5
PDIN	418	93.61	18.92	8	0.99	1.78	2.02	0.99	9.42	NSVD	1.5.5
PDIE	418	90.42	9.70	13	0.96	1.82	2.06	0.96	4.71	NSVD	1.5.5

GE, ME – kcal kg<sup>-1</sup>; PDIN, PDIE – g kg<sup>-1</sup>

Най-добрите калибрационни модели са създадени, прилагайки предварителна математическа обработка на спектрите чрез NSVD за всички показатели. Диференцирането на спектрите чрез първа производна на спектъра за всички показатели е достатъчно за получаване на висока точност на моделите. При генотиповете на ежова главица (*Dactylis glomerata* L.) е постигната висока точност за всички показатели при диференциране на спектрите чрез втора производна, а при генотиповете на тръстиковидната власатка (*Festuca arundinacea* Schreb.) втора производна на спектрите е необходима при определяне на показателите ME и PDINE. Броят на PLS факторите на регресия за създаване на най-добрия калибрационен модел на предвиждане е между 6 и 13.

The best global calibration models are developed applying of previously mathematical treatment of spectra NSVD for all parameters.

The differentiation on the first derivative of the spectra for all parameters, as well as the first derivative is sufficient for obtaining the great accuracy.

For the genotypes of *Dactylis glomerata* L. the accuracy is obtain for all parameters at second derivative and for the genotypes of *Festuca arundinacea* Schreb., the second derivative of the spectra is necessarily for the parameters ME and PDINE.

The number of PLS factors for develop the best predictive model is between 6 and 13.

**Таблица 2. Характеристика на референтните стойности и най-добрите измежду 60 специфични калибрационни модели чрез MPLS регресия, изследвани за всеки показател за предвиждане хранителната стойност на генотиповете на всеки растителен вид (сорт) многогодишна житна трева**  
**Table 2. Characteristics of the referent forage data bases and performance of the best predictive model among 60 specific MPLSR calibration models tested for each parameter for predicting forage feeding value for the genotypes of each perennial grass species (variety)**

Показател Parameter	N	Mean	SD	T	R2C	SEC	SECV	R2CV	SD/SECV	Scatter	Math
Ежова главица ( <i>Dactylis glomerata</i> L.), сорт Дъбрава Orchardgrass ( <i>Dactylis glomerata</i> L.), var. Dabrava											
GE	66	4808	70	6	0.99	8.0	11.18	0.97	6.24	WMSC	2.20.5
ME	66	2278	220	6	0.94	55.16	81.50	0.86	2.70	DET	2.5.5
PDIN	66	93.64	22.90	6	0.99	2.71	4.04	0.97	5.66	WMSC	2.15.5
PDIE	66	91.78	11.02	6	0.98	1.49	2.35	0.96	4.70	None	2.5.5
Тръстиковидна власатка ( <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.), сорт Албена Tall fescue ( <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.), var. Albena											
GE	228	4788	41	9	0.99	2.18	2.55	0.99	16.18	NSV	1.5.5
ME	228	2189	193	8	0.91	58.60	70.59	0.87	2.74	DET	2.5.5
PDIN	228	87.26	13.21	10	0.99	0.64	0.76	0.99	18.04	NSVD	1.5.5
PDIE	228	86.84	7.98	8	0.96	1.64	1.97	0.94	4.04	DET	2.5.5
Безосилеста овсига ( <i>Bromus inermis</i> Leyss.), сорт Ника Smooth bromegrass ( <i>Bromus inermis</i> Leyss.), var. Nika											
GE	124	4837	60	11	0.99	4.53	6.65	0.99	9.01	NSVD	1.20.5
ME	124	2372	160	13	0.85	58.64	69.97	0.81	2.29	NSVD	0.0.1
PDIN	124	105.27	19.55	8	0.99	1.79	2.54	0.98	7.70	NSVD	1.5.5
PDIE	124	96.28	8.83	13	0.97	1.53	1.96	0.95	4.50	NSVD	1.5.5

GE, ME – kcal kg<sup>-1</sup>; PDIN, PDIE – g kg<sup>-1</sup>

В селекцията на всяка култура в началото на селекционния процес броят на пробите не винаги е достатъчно висок за създаване на стабилни калибрационни модели и това може да повлияе точността на моделите. Затова при създаване на специфични калибрационни модели за всяка култура е необходимо първо да се създадат калибрационни модели, общи за култури с близка биология. В това проучване е оценена и сравнена точността на предвиж-

In plant breeding process for each crop in the beginning of breeding process the sample number is not always sufficient high to develop stable calibration models and this may influence calibration accuracy. That's why in developing of specific calibration models for each crop it is necessary to develop calibration models common for crops with similar biology.

In this study it is estimate and compares predictive accuracy of

дане на общите (глобални) калибрационни модели, както и тази на специфичните за всеки фуражен вид (сорт).

С цел да се установи дали за специфичните показатели или компоненти, кой вид калибрационен модел – глобален или специфичен от гледна точка на създаване на модел с висока степен на предвиждане, е най-добре да бъде приложен са сравнени стандартните грешки при вътрешна проверка SECV на глобалните и специфични модели. Изчислена е стандартната грешка на предвиждане SEP за всеки показател при всеки тревен вид в глобалните калибрационни модели (Shenk and Westerhaus, 1995). Тези стойности са сравнени със стандартната грешка при вътрешна проверка SECV за същите показатели на специфичните калибрационни модели. Получена е по-висока точност на предвиждане при глобалните модели в сравнение със специфичните за *in vitro* смилаемостта, показател участващ в оценката на протеиновата хранителна стойност за *Dactylis* и *Bromus*. За останалите показатели SEP за специфичните модели са по-ниски, отколкото тези на глобалните. Разликите между SEP стойностите са малки. Това позволява, когато се изследват нови проби (генотипове) от тези фуражни многогодишни житни треви, т. е. от друга година на отглеждане да

common (global) calibration models as well as specific for each forage plant species (variety).

In purpose to establish if for specific parameter or component which kind of calibration model – global or specific in reason of creating of high predictive model is right applied, the SECV in global and specific calibration models are compare.

Standard error of prediction SEP for each parameter and for each grass species in global calibration models is calculated (Shenk and Westerhaus, 1995).

These values are compared with Standard error in internal cross validation SECV for the same parameters of the specific models. Higher accuracy of prediction is obtained for global models in comparison with specific ones for *in vitro* digestibility, the parameter participating in protein feeding value estimation for *Dactylis* and *Bromus*.

For other parameters SEP for the specific models is lower than those of global models. The differences between SEP values are small.

That permit when investigate new samples (genotypes) from these forage perennial grasses, i.e. from other year of growing to apply with

се приложат с най-добра точност на предвиждане глобалните калибрационни модели.

За показателите на протеиновата хранителна стойност разликите между SEP и SECV са много ниски, което показва, че е възможно да се прилагат с най-висока точност също глобалните калибрационни модели за трите вида (сорта) многогодишни житни треви.

За оценка възможността за бързо определяне на хранителната стойност чрез NIRS във всеки момент на вегетационния процес, калибрационните модели за оценка на протеиновата хранителна стойност са създадени за трите вида треви при първа производна за показателите ME, PDIN и PDIE и при втора – за GE (Table 3). Стандартните грешки на вътрешна проверка SECV за всички проучвани показатели сравнение с тези на SECV на глобалните модели са по-ниски или близки до тях. Отношението SD/SECV на калибрационните модели за оценка динамиката на вегетация в сравнение с тези на глобалните модели е значително по-високо: PDIN 21,58 и 9,95 за PDIN и PDIE съответно (сравнени с 9,42 и 4,71) за същите показатели при глобалните модели.

Коефициентите на детерминация R<sup>2</sup>C са 0,98 и 0,99 при първа, както и при втора производна на спектъра, отношението SD/SECV е винаги по-голямо от

best predictive accuracy the global calibration models.

For the parameters of protein feeding value the differences between SEP and SECV are very close which indicate that it is possible to apply with the best accuracy also global calibration models for three grass species (varieties).

The possibility for the rapid evaluation in feeding value estimation by NIRS at each moment in vegetation process, the calibration models for protein value estimation are develop for the three grasses at first derivative for ME, PDIN and PDIE and second – for GE (Table 3).

Standard errors of internal validation SECV for all parameters study in comparison with those of SECV of global models are lower or close to them. The ratio SD/SECV of calibration models for evaluation of dynamic in vegetation in comparison with those of global models is significant higher: PDIN 21,58 and 9,95 for PDIN and PDIE respectively (compared with 9,42 and 4,71) for the same parameters in global calibration models.

The coefficients of determination R<sup>2</sup>C are 0,98 and 0,99 in the first as well as the second derivative of spectra, the ratio SD/SECV is always more

5,0, т.е. показателите за протеинова хранителна стойност са предвидени прецизно. Точността на предвиждане е висока R2CV 0,98 за ME и 0,99 за GE, PDIN and PDIE. Отношението SD/SECV е винаги високо осигуряващо точно и прецизно предвиждане.

than 5,0, i.e. the parameters of protein feeding value are predicted precise. The accuracy of prediction is high R2CV 0,98 for ME and 0,99 for GE, PDIN and PDIE. The ratio SD/SECV is always high providing accurate and precise prediction.

**Таблица 3. Характеристика на референтните стойности и калибрационни модели чрез MPLS регресия, изследвани за всеки показател за предвиждане хранителната стойност на три вида (сорта) многогодишни житни треви ежова главица, тръстиковидна власатка, безосилеста овсига през вегетацията**

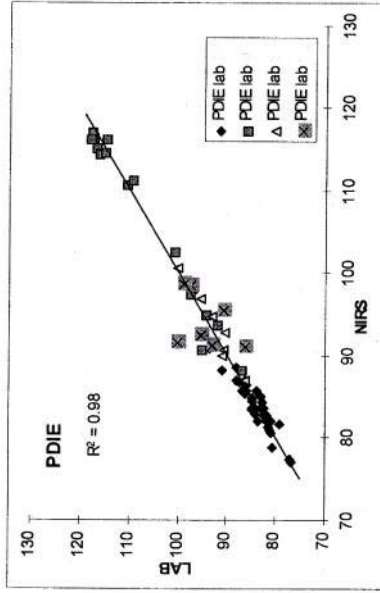
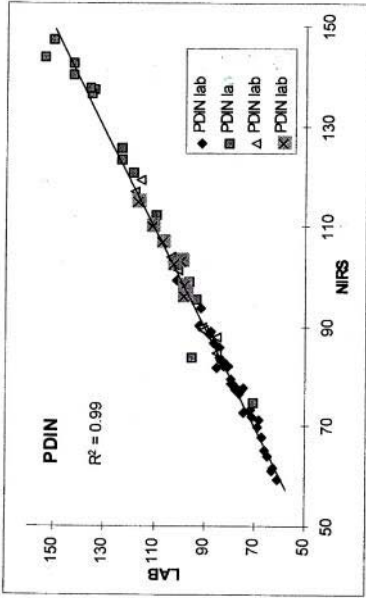
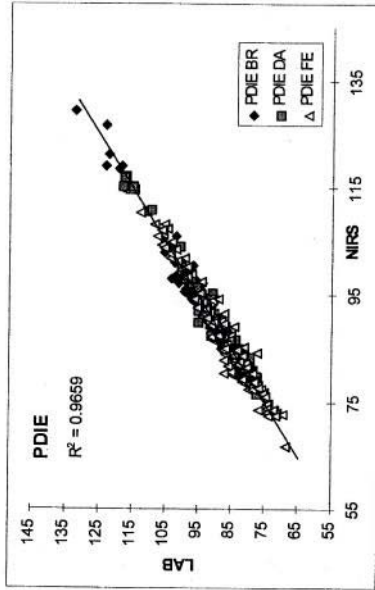
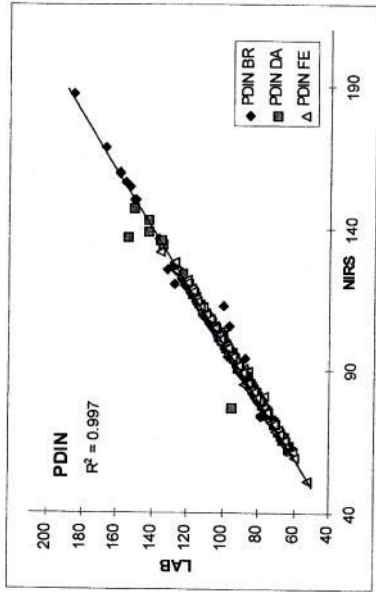
**Table 3. Characteristics of the referent forage data bases and performance of predictive calibration models by MPLSR for prediction forage feeding value of three perennial grass species (varieties) orchardgrass, tall fescue, smooth bromegrass in the vegetation process**

Показател Parameter	N	Mean	Min	Max	SD	T	R2C	SEC	SECV	R2CV	SD/SECV	Scatter	Math
GE	84	11.59	11.21	12.13	0.23	6	0.99	0.011	0.014	0.99	16.42	NSVD	2.5.5
ME	78	5.70	4.33	7.08	0.65	8	0.98	0.093	0.015	0.97	5.65	NSVD	1.5.5
PDIN	81	110.0	58.15	181.6	32.45	7	0.99	1.22	1.50	0.99	21.58	NSVD	1.5.5
PDIE	79	97.1	67.11	131.9	16.88	7	0.99	1.29	1.70	0.99	9.95	NSVD	1.5.5

GE, ME – kcal kg<sup>-1</sup>; PDIN, PDIE – g kg<sup>-1</sup>

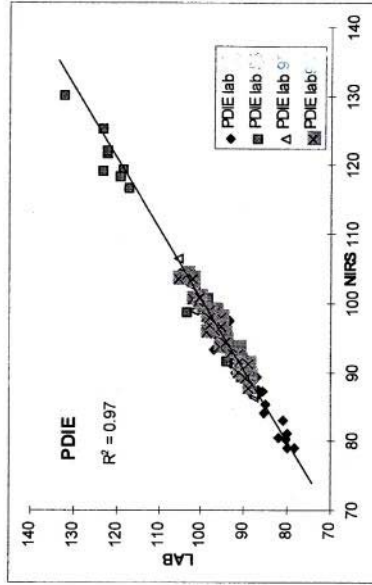
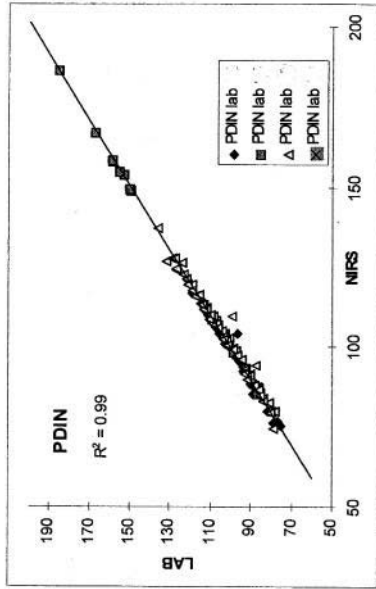
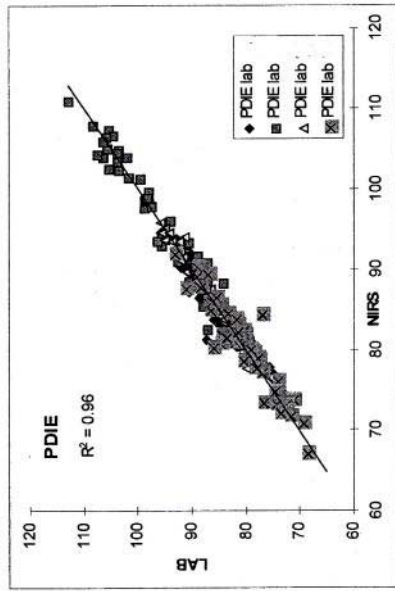
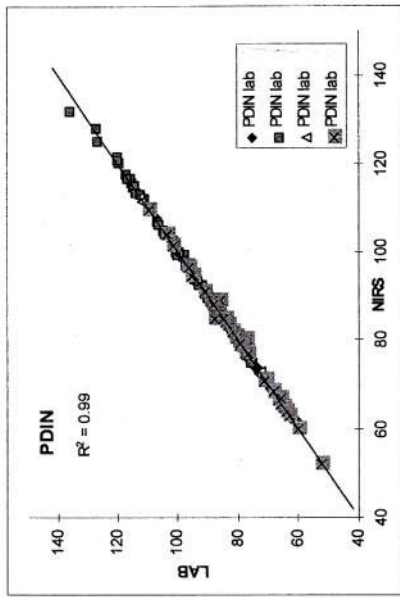
Следователно с цел разширяване обхвата от стойности за всеки показател на хранителната стойност по време на вегетационния процес на фуражните видове (сортове) многогодишни житни треви, в противоположност на прибирането на фуража при точно определена вегетативна фаза на развитие, точността на предвиждане чрез NIRS калибрационите модели значително се повишава.

Consequently in reason of enlargement the range of values for each parameter of feeding value in vegetative process of forage perennial grass species (varieties), in contrast of the plant harvesting at definitive vegetation stage, the accuracy of prediction by NIRS calibration models significantly increase.



Scattergrams of NIRS predicted and referent values for PDIE and PDIN in the best 60 GLOBAL calibration models by Modified PLS Regression for genotypes of three perennial grasses *Dactylis glomerata* L., *Festuca arundinacea* Schreb., *Bromus inermis* Leyss.

*Dactylis glomerata* L.,



Scattergrams of NIRS predicted and referent values for PDIE and PDIN in the best 60 SPECIFIC calibration models by Modified PLS Regression for genotypes of tall fescue *Festuca arundinacea* Schreb. and smooth bromegrass *Bromus inermis* Leyss.

## ИЗВОДИ

Многогодишните житни треви ежова главица (*Dactylis glomerata* L.), тръстиковидна власатка (*Festuca arudinacea* Schreb.), безосилеста овсига (*Bromus inermis* Leyss.) осигуряват на преживното животновъдство фураж с висока протеинова хранителна стойност, прибран във фаза начало на изметляване: PDIN 76-144; PDIE 84-112 и средно за генеративен и вегетативен стадии на развитие PDIN 74-143; PDIE 81-111 g kg<sup>-1</sup> сухо вещество.

Статистическите показатели на създадените най-добри калибрационни глобални и специфични модели в близката инфрачервена отражателна област на спектъра при математическа обработка и диференциация на спектъра демонстрират висока точност и стабилност за PDIN, както и за PDIE – SD/SECV е винаги по-високо от 4,0.

При оценка на възможностите за прилагане на глобалните калибрационни модели успешно за оценяване на различните видове (сортове) житни треви, SEP на глобалните модели са сравнени с тези на специфичните. Разликите между SEP и SECV са много ниски, поради което глобалните модели могат успешно да се прилагат за оценка на протеиновата хранителна стойност на всеки един от трите вида многогодишни житни треви.

## CONCLUSIONS

Perennial grasses orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), tall fescue (*Festuca arudinacea* Schreb.), smooth bromegrass (*Bromus inermis* Leyss.) assure in ruminant nutrition high protein feeding value forage, harvested in early flowering stage: PDIN 76-144; PDIE 84-112 and mean for the generative and vegetative stages PDIN 74-143; PDIE 81-111 g kg<sup>-1</sup> dry matter.

The statistical parameters of the best calibration global and specific models in Near Infrared Reflectance Spectroscopy at different mathematical treatment and differentiation of the spectrum studied demonstrate high degree of accuracy and stability for the PDIN as well as PDIE – SD/SECV is always higher than 4,0.

For evaluation possibilities of applying the global calibration models successfully for assessing of different forage grass species (varieties), SEP of global models are compared with SEP of specific ones.

The differences between SEP and SECV are very close, and that's why the global models may be applied for estimation of protein feeding value for the each one of the three perennial grass species.



С цел разширяване обхвата от стойности за всеки показател на протеиновата хранителната стойност по време на вегетационния процес на фуражните видове (сортове) многогодишни житни треви, в противоположност на прибирането на фуража при точно определена вегетативна фаза на развитие, NIRS калибрационните модели демонстрират повишаване точността на предвиждане, изразена чрез коефициентите на детерминация за PDIN и PDIE 0,99; за GE 0,99 и ME 0,98.

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Атанасова С.**, 1988. Възможност за повишаване точността на определяне състава на фуражи чрез отражателна спектроскопия в близката инфрачервена област при използване на нелинейна калибровка, Конф. „Физика-Селскостопанско производство“, Плевен, България, 28-30 септември 1988, част 1, 117-122.
2. **Атанасова С.**, 1992. Приложение на спектралния анализ в близката инфрачервена област за определяне хранителната стойност на обемисти фуражи, Дисертация, ВИЗВМ, Стара Загора, България.
3. **Найденова Й.**, 2009. Анализ и оценка качеството на фураж при селекцията на многогодишни житни треви, *Field Crop Studies, Dobroudja Agricultural Institute, General Toshevo, Bulgaria*, ISSN 1312-3882, V-2, 357-375.
4. **Павлов Д.**, 1996. Продуктивност, хранителна стойност, качествени характеристики при различни групи фуражни култури и възможности за предсказването им, Докторска дисертация, София, 569 стр.
5. **Тодоров Н.**, 1997. Норми за хранене и хранителна стойност на фуражите за говеда и биволи,

In reason of enlargement the range of values for each parameter of protein feeding value in the vegetative process, in contrast of the plant harvesting in definitive vegetation stage of forage species (varieties) perennial grasses, NIRS calibration models demonstrate increasing of predictive accuracy expressed by coefficients of determination for PDIN and PDIE 0,99; for GE 0,99 and ME 0,98.

## REFERENCES

1. **Andrieu J. and Demarquilly C.**, 1989. Prediction digestibility and metabolizable energy content of forages on their chemical composition and organic matter digestibility, Proc. XVI Int. Grassl. Cong., Nice, France, p. 875-879.
2. **AOAC** 2010. Official methods of analysis, 17-th ed. Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA, AOAC International.
3. **Albrecht K.A., Marten G.C., Halgerson J.R., Wedin W.F.**, 1987. Analysis of cell wall carbohydrates and starch in alfalfa by near infrared reflectance spectroscopy, *Crop Sci.*, 27, 586-588.
4. **Amari M.B., Abe A., Kawano S., Cho R.**, 1991. Near infrared reflectance spectra of fibrous constituents in forages and rice straw, *Bull. Natl. Inst. Anim. Husb.*, 51, 17-27.
5. **Атанасова С.**, 1988. Increasing possibility of accuracy for determination of forage composition by near infrared reflectance spectroscopy using non-linear calibration, Conf. “Physics and Agriculture”, Plevен, Bulgaria, 28-30 Sept. 1988, 1<sup>st</sup> part, 177-122. (in Bulgarian)
6. **Атанасова С.**, 1992. Application of spectroscopy in near infrared region for

Пенсофт, ФАР, София, 223 стр.

6. **Тодоров Н., Атанасов А., Илчев А., Ганчев Г., Михайлова Г., Гиргинов Д., Пенков Д., Шиндарска З., Найденова И., Неделков К., Чобанова С.**, 2010. Практикум по хранене на животните, Изд. Изток-Запад, София, България, ISBN 978-954-321-733-5, 426 стр.

7. **Томов П.**, 1987. Изследвания върху селекцията и семепроизводството на ежова главица (*Dactylis glomerata* L.), Докторска дисертация, Пловдив, България, 273 стр.

8. **Томов П.**, 1993. Регистрация на сортове Дъбрава ежова главица (*Dactylis glomerata* L.), Албена тръстиковидна власатка (*Festuca arundinacea* Schreb.), Ника безосилеста овсига (*Bromus inermis* Leyss.), Държавна сортова комисия, София, България.

9. **Andrieu J. and Demarquilly C.**, 1989. Prediction digestibility and metabolizable energy content of forages on their chemical composition and organic matter digestibility, Proc. XVI Int. Grassl. Cong., Nice, France, p. 875-879.

10. **AOAC 2010.** Official methods of analysis, 17-th ed. Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA, AOAC International.

11. **Albrecht K.A., Marten G.C., Halgerson J.R., Wedin W.F.**, 1987. Analysis of cell wall carbohydrates and starch in alfalfa by near infrared reflectance spectroscopy, Crop Sci., 27, 586-588.

12. **Amari M.B., Abe A., Kawano S., Cho R.**, 1991. Near infrared reflectance spectra of fibrous constituents in forages and rice straw, Bull. Natl. Inst. Anim. Husb., 51, 17-27.

13. **Bertrand D., Lila M., Furtoss V., Robert P., Downey G.**, 1987. Application of principal component analysis to the prediction of Lucerne forage content and *in vitro* dry matter digestibility by NIR spectroscopy, J. Sci. Food Agric., 41, 4,

determination of forage feeding value, PhD, VIZVM, Stara Zagora, Bulgaria (in Bulgarian)

7. **Bertrand D., Lila M., Furtoss V., Robert P., Downey G.**, 1987. Application of principal component analysis to the prediction of Lucerne forage content and *in vitro* dry matter digestibility by NIR spectroscopy, J. Sci. Food Agric., 41, 4, 299-307.

8. **Buxton D.R. and Redfearn D.D.**, 1997. Plant limitations to fiber digestion and utilization, Journal of Nutrition, 127: 814S-818S.

9. **Casler M., Vogel K., Balasko J.A., Berdahl J.D., Miller D.A., Hansen J.L. and Fritz J.O.**, 2000. Genetic progress from 50 years of smooth brome grass breeding, Crop Science 40:13-22.

10. **Clark D.H., Cary E.E., Mayland H.F.**, 1989. Analysis of trace elements in forages by near infrared reflectance spectroscopy, Agronomy J., 81, 91-95.

11. **Coleman S.W., Murray I.**, 1993. The use of near infrared reflectance spectroscopy to define nutrient digestion of hay by cattle, Anim. Feed. Sci. Technol., 44, 3-4, 237-249.

12. **Cottyn B., De Boever J., Vanacker J.**, 1987. The evaluation of feeding value of forage and concentrates for dairy cows, Revue d'Agriculture, 40, 6, 1537-1551.

13. **Dardenne P.**, 1990. Contribution a l'utilisation de la spectrometrie dans le proche infrarouge pour l'etude de criteres de quantite des cereals et des fourrages, These de Doctorat, Gembloux, Fac.Sci. Agr., Belgique, 173 p.

14. **De Boever J.L., Waes J., Cottyn B.G., Bouquee C.**, 1994. The prediction of forage maize digestibility by near infrared reflectance spectroscopy, Neth. J. Agric. Sci., 42, 2, 105-113.

15. **Demarquilly C.**, 1989. The feeding value of forages, Proc 16-th Int. Grassl. Cong., Nice, France, 1817-1823.

16. Ecocrop, 2010, Ecocrop database. FAO.

299-307.

14. **Buxton D.R. and Redfearn D.D.**, 1997. Plant limitations to fiber digestion and utilization, *Journal of Nutrition*, 127: 814S-818S.

15. **Casler M., Vogel K., Balasko J.A., Berdahl J.D., Miller D.A., Hansen J.L. and Fritz J.O.**, 2000. Genetic progress from 50 years of smooth bromegrass breeding, *Crop Science* 40:13-22.

16. **Clark D.H., Cary E.E., Mayland H.F.**, 1989. Analysis of trace elements in forages by near infrared reflectance spectroscopy, *Agronomy J.*, 81, 91-95.

17. **Coleman S.W., Murray I.**, 1993. The use of near infrared reflectance spectroscopy to define nutrient digestion of hay by cattle, *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 44, 3-4, 237-249.

18. **Cottyn B., De Boever J., Vanacker J.**, 1987. The evaluation of feeding value of forage and concentrates for dairy cows, *Revue d'Agriculture*, 40, 6, 1537-1551.

19. **Dardenne P.**, 1990. Contribution à l'utilisation de la spectrométrie dans le proche infrarouge pour l'étude de critères de quantité des céréales et des fourrages, *Thèse de Doctorat*, Gembloux, Fac.Sci. Agr., Belgique, 173 p.

20. **De Boever J.L., Waes J., Cottyn B.G., Bouquee C.**, 1994. The prediction of forage maize digestibility by near infrared reflectance spectroscopy, *Neth. J. Agric. Sci.*, 42, 2, 105-113.

21. **Demarquilly C.**, 1989. The feeding value of forages, *Proc 16-th Int. Grassl. Cong.*, Nice, France, 1817-1823.

22. **Ecocrop**, 2010, *Ecocrop database*. FAO.

23. **Ecoport**, 2010. *Ecoport database*.Ecoport.

24. **Edney M.J., Morgan J.E., Williams P.C., Campbell L.D.**, 1994. Analysis of feed barley by near infrared reflectance technology, *J. Near Infrared Spectrosc.*, 2, 33-41.

25. **Garcia-Criado B., Garcia-Criado A.**, 1990. Application of near infrared

17. **Ecoport**, 2010. *Ecoport database*. Ecoport.

18. **Edney M.J., Morgan J.E., Williams P.C., Campbell L.D.**, 1994. Analysis of feed barley by near infrared reflectance technology, *J. Near Infrared Spectrosc.*, 2, 33-41.

19. **Garcia-Criado B., Garcia-Criado A.**, 1990. Application of near infrared reflectance spectroscopy to protein analysis of grassland herbage samples, *J. Sci. Food Agric.*, 50, 4, 479-484.

20. **GNIS**, 2011. *Choix des espèces et des variétés fourragères : le dactyle*. Prairies GNIS.

21. **INRA** 1978. *Alimentation des ruminants*, INRA Publ. Versailles, France, 597 pp.

22. **INRA** 1988. *Alimentation des bovins, ovins et caprins*, R. Jarrige (ed.), INRA Publ. Versailles, France, 471 pp.

23. **INRA** 2007. *Alimentation des bovins, ovins et caprins, Besoins des animaux – valeurs des aliments*. Tables INRA 2007Quae édition.

24. **Katova A.**, 2007. Species and varieties of perennial grasses for high quality forage in Bulgaria, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 14-th Meeting of the FAO-CIHEAM Mountain pasture, 156-161.

25. **Katova A.**, 2016. Species and varieties of perennial grasses for high quality forage in Bulgaria, *Heilongjiang Agricultural Sciences*, ISSN 1002-2767; CN 23-1204/S, 1, 138-144.

26. **Lecomte Ph., Dardenne P., Agnessens R.**, 1992. Prediction of organic matter digestibility of green fodder using enzymatic and near infrared spectroscopic methods, *Revue de l'Agriculture*, 45, 1, 77-82.

27. **Lindgren E.**, 1988. Prediction of energy value and protein content of forages by near infrared spectroscopy, *Swed. J. Agric. Res.*, 18, 1, 21-26.

28. **Mizuno K., Ishigushi T., Kondo T., Kato T.**, 1988. Prediction of forage composition and sheep responses by near

- reflectance spectroscopy to protein analysis of grassland herbage samples, *J. Sci. Food Agric.*, 50, 4, 479-484.
26. **GNIS**, 2011. Choix des especes et des varietes fourrageres : le dactyle. Prairies GNIS.
27. **INRA** 1978. Alimentation des ruminants, INRA Publ. Versailles, France, 597 pp.
28. **INRA** 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins, R. Jarrige (ed.), INRA Publ. Versailles, France, 471 pp.
29. **INRA** 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins, Besoins des animaux – valeurs des aliments. Tables INRA 2007Quae edition.
30. **Katova A.**, 2007. Species and varieties of perennial grasses for high quality forage in Bulgaria, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 14-th Meeting of the FAO-CIHEAM Mountain pasture, 156-161.
31. **Katova A.**, 2016. Species and varieties of perennial grasses for high quality forage in Bulgaria, *Heilongjiang Agricultural Sciences*, ISSN 1002-2767; CN 23-1204/S, 1, 138-144.
32. **Lecomte Ph., Dardenne P., Agnessens R.**, 1992. Prediction of organic matter digestibility of green fodder using enzymatic and near infrared spectroscopic methods, *Revue de l'Agriculture*, 45, 1, 77-82.
33. **Lindgren E.**, 1988. Prediction of energy value and protein content of forages by near infrared spectroscopy, *Swed. J. Agric. Res.*, 18, 1, 21-26.
34. **Mizuno K., Ishigushi T., Kondo T., Kato T.**, 1988. Prediction of forage composition and sheep responses by near infrared reflectance spectroscopy. III. Comparison of near infrared reflectance analyses for predicting sheep responses to orchardgrass, *Bull. Natl. Grassl. Res. Inst., Japan*, 38, 56-61.
35. **Naydenova Y.**, 2008. Spectral NIR approaches in forage perennial grass breeding, *Proc. Int. Conf. "Conventional and molecular breeding of field and vegetable crops"* Novi Sad, Serbia, 24-27
- infrared reflectance spectroscopy. III. Comparison of near infrared reflectance analyses for predicting sheep responses to orchardgrass, *Bull. Natl. Grassl. Res. Inst., Japan*, 38, 56-61.
29. **Naydenova Y.**, 2008. Spectral NIR approaches in forage perennial grass breeding, *Proc. Int. Conf. "Conventional and molecular breeding of field and vegetable crops"* Novi Sad, Serbia, 24-27 Nov. 2008, p. 499-502.
30. **Naydenova Y.**, 2009. Forage quality analysis and evaluation in breeding process, *Field Crop Studies, Dobroudja Agricultural Institute, General Toshevo, Bulgaria*, ISSN 1312-3882, V-2, 357-375. (in Bulgarian)
31. **Naydenova Y.**, 2012. Forage quality analysis and evaluation of perennial grasses in the vegetation, *Field Crop Studies, Dobroudja Agricultural Institute, General Toshevo, Bulgaria*, ISSN 1312-3882, VIII-1, 111-128.
32. **Naydenova Y. and Katova A.**, 2013. Forage quality evaluation of perennial grass species in breeding process, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, ISSN 1311-0489; 13, 6, 1519-1538.
33. **Naydenova Y. and Pavlov D.**, 2005. Near Infrared Reflectance Spectroscopy for forage quality analysis of cell wall components and digestibility in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) vegetation, *Plant Science, Sofia*, 42, 3, 243-249.
34. **Naydenova Y. and Pavlov D.**, 2009. Near infrared spectroscopy analysis and prediction of amino acids in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), *Proc. "Challenges of the Balkan animal industry and the role of science and cooperation"*, IV Int. Sci. Conf. BALNIMALCON 2009, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria, 14-16 May 2009; 296-301.
35. **Naydenova Y., Tomov P. and Dardenne P.**, 1998. Near infrared spectroscopy estimation of feeding value of forage perennial grasses in breeding

Nov. 2008, p. 499-502.

36. **Naydenova Y.**, 2012. Forage quality analysis and evaluation of perennial grasses in the vegetation, *Field Crop Studies, Dobroudja Agricultural Institute, General Toshevo, Bulgaria*, ISSN 1312-3882, VIII-1, 111-128.

37. **Naydenova Y. and Katova A.**, 2013. Forage quality evaluation of perennial grass species in breeding process, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, ISSN 1311-0489; 13, 6, 1519-1538.

38. **Naydenova Y. and Pavlov D.**, 2005. Near Infrared Reflectance Spectroscopy for forage quality analysis of cell wall components and digestibility in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) vegetation, *Plant Science, Sofia*, 42, 3, 243-249.

39. **Naydenova Y. and Pavlov D.**, 2009. Near infrared spectroscopy analysis and prediction of amino acids in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), *Proc. "Challenges of the Balkan animal industry and the role of science and cooperation", IV Int. Sci. Conf. BALNIMALCON 2009, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria, 14-16 May 2009; 296-301.*

40. **Naydenova Y., Tomov P. and Dardenne P.**, 1998. Near infrared spectroscopy estimation of feeding value of forage perennial grasses in breeding programmes by global and specific calibrations. Estimation of chemical composition and digestibility, *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 6 (1-4): 153-165.

41. **Naydenova Y., Tomov P. and Dardenne P.**, 2001. Mahalanobis distance in Near Infrared Technology for study of spectral differences between perennial grass species and varieties, *Compts Rendues de L'Academie Bulgare des Sciences*, 54 (9): 79-82.

42. **Nordkvist E., Larson K.**, 1994. An approach to the use of multivariate analysis of near infrared spectroscopy (NIR) data from field trials, *Field Crops*

programmes by global and specific calibrations. Estimation of chemical composition and digestibility, *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 6 (1-4): 153-165.

36. **Naydenova Y., Tomov P. and Dardenne P.**, 2001. Mahalanobis distance in Near Infrared Technology for study of spectral differences between perennial grass species and varieties, *Compts Rendues de L'Academie Bulgare des Sciences*, 54 (9): 79-82.

37. **Nordkvist E., Larson K.**, 1994. An approach to the use of multivariate analysis of near infrared spectroscopy (NIR) data from field trials, *Field Crops Research*, 37, 1, 33-38.

38. **Pavlov D.**, 1996. Productivity, nutritive value, quality characteristics of different groups forage plants and possibilities of their prediction, *Doctoral thesis MSc, Sofia*, 569 p. (in Bulgarian)

39. Peeters A., 2004. Wild and sown grasses. Profiles of a temperate species selection, ecology, biodiversity and use, *FAO Blackwell Publ., Rome*, 311 p.

40. **Petkova M.**, 2006. Energetic and protein values of new Bulgarian feedstuffs, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 22, 1-2, 133-138.

41. **Reeves J.**, 1988. Chemical assays for fiber, lignin and lignin components: interrelationships and near infrared reflectance spectroscopic analysis results, *J. Dairy Sci.*, 71, 11, 2976-2985.

42. **Roehmoser G.**, 1992. Feed evaluation routines in practical activities of the advisory service, *Bull. Inform., Cheh. Zootechniki Inst.*, 30, 3, 168-200.

43. **Shenk J.S. and Westerhaus M.O.**, 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis, 406-449. In: Fahey G., Ed. *Forage quality evaluation and utilisation*, Madison, WI, USA.

44. **Shenk J.S. and Westerhaus M.O.**, 1995. *ISI NIRS 3, ver. 4, Infrasoft International*, Port Matilda, PA, USA, 391 pp.

Research, 37, 1, 33-38.

43. **Peeters A.**, 2004. Wild and sown grasses. Profiles of a temperate species selection, ecology, biodiversity and use, FAO Blackwell Publ., Rome, 311 p.

44. **Petkova M.**, 2006. Energetic and protein values of new Bulgarian feedstuffs, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 22, 1-2, 133-138.

45. **Reeves J.**, 1988. Chemical assays for fiber, lignin and lignin components: interrelationships and near infrared reflectance spectroscopic analysis results, *J. Dairy Sci.*, 71, 11, 2976-2985.

46. **Roehrmoser G.**, 1992. Feed evaluation routines in practical activities of the advisory service, *Bull. Inform., Cheh. Zootehniki Inst.*, 30, 3, 168-200.

47. **Shenk J.S. and Westerhaus M.O.**, 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis, 406-449. In: Fahey G., Ed. *Forage quality evaluation and utilisation*, Madison, WI, USA.

48. **Shenk J.S. and Westerhaus M.O.**, 1995. *ISI NIRS 3, ver. 4, Infrasoft International*, Port Matilda, PA, USA, 391 pp.

49. **Smith A.**, 1988. Approaches to the analysis of animal feedstuffs, *Analytical proceeding*, 25, 4, 124-126.

50. **Verite R. and Peyraud J.**, 1989. Protein: The PDI systems. In: R.Jarrige (Ed.) *Ruminant nutrition: Recommended allowances and Feed Tables*, INRA Paris and Jones Libb. Eurotext, Paris, London, 33-47.

45. **Smith A.**, 1988. Approaches to the analysis of animal feedstuffs, *Analytical proceeding*, 25, 4, 124-126.

46. **Todorov N.**, 1997. Norms for nutrition and feeding value of forages for Bulls and Buffalos, Pensoft, Sofia, 223 p. (in Bulgarian)

47. **Todorov N., A. Atanassov A., Ilchev A., Ganchev G., Mihailova G., Girginov D., Penkov D., Shindarska Z., Naydenova Y., Nedjalkov K., Tshobanova S.**, 2010. *Practice in Animal nutrition, East-West Edition*, Sofia, Bulgaria, ISBN 978-954-321-733-5, 426 pp. (in Bulgarian)

48. **Tomov P.**, 1987. Study on breeding and seed production of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), Doctoral thesis MSc, Plovdiv, Bulgaria, 273 pp. (in Bulgarian)

49. **Tomov P.**, 1993. Registration of varieties Dabrava orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), Albena tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.), Nika smooth bromegrass (*Bromus inermis* Leyss.), State Variety Commission, Sofia, Bulgaria. (in Bulgarian)

50. **Verite R. and Peyraud J.**, 1989. Protein: The PDI systems. In: R.Jarrige (Ed.) *Ruminant nutrition: Recommended allowances and Feed Tables*, INRA Paris and Jones Libb. Eurotext, Paris, London, 33-47.