*Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (1), 110-122* ISSN 1311-0489 (Print)
*Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan* ISSN 2367-8364 (Online)

# Тетрани – първият български тетраплоиден сорт пасищен райграс (*Lolium perenne* L.)

Анелия Кътова

*Институт па фуражните култури, 5800 Плевен, България*
*E-mail: katova66@abv.bg*

# Tetrany – the first Bulgarian tetraploid perennial ryegrass variety (*Lolium perenne* L.)

Aneliya Katova

*Institute of Forage Crops, 5800 Pleven, Bulgaria*

## РЕЗЮМЕ

През периода 2000-2014 г. в Институт по фуражните култури - Плевен е създаден първият за България тетраплоиден сорт пасищен райграс Тетрани – ранен до средно ранен, високопродуктивен, екологично стабилен (зимоустойчив и толерантен на засушаване) и дълготраен. Създаден е по методите: индуцирана полиплоидия на местна селекционна популация, флоуцитометричен скрининг и фенотипен отбор на тетраплоиди, последван от поликрос (множествена хибридизация) на 45 елитни генотипове пасищен райграс и репродукция до $C_4$ генерация. Сортът е многофункционален, подходящ е за пасищно, сенокосно-пасищно и декоративно направление на използване, самостоятелно или в смески с люцерна и бяла детелина за фураж, или с червена власатка за декоративни и спортно-технически тревостои, с висок процент почвено покритие. Представени са резултатите от успешно конкурсно сортово изпитване (КСИ) в Плевен (2007-2009 г.) общо 22172.0 kg ha $^{-1}$ добив суха маса и средногодишно 7390.7 kg ha $^{-1}$, и Официално държавно сортоизпитване за биологични и стопански качества (БСК) в три пункта (Чепинци, Пловдив и Селановци) със средногоди-

## SUMMARY

During the period 2000-2014, at the Institute of Forage Crops - Pleven the first for Bulgaria tetraploid perennial ryegrass variety Tetrany – early to medium early, highly productive, environmentally stable (winter hardy and tolerant to drought) and persistent was created. It is based on methods, induced polyploidy of the local breeding population, flow cytometric screening and phenotypic selection of tetraploids followed by polycross (multiple hybridization) of 45 elite genotypes perennial ryegrass and reproduction to C 4 generation. The variety is multifunctional, suitable for pasture, hay-pasture and decorative direction of use, alone or in mixtures with alfalfa and white clover to feed or red fescue for ornamental and sport-technical swards with a high percentage of ground cover. The results of a successful competitive variety trial (CVT) in Pleven (2007-2009) a total of 22172.0 kg ha $^{-1}$ dry matter yield and annual average 7390.7 kg ha $^{-1}$, and official state variety testing for cultivation and use (VCU) in three points (Chepinci, Plovdiv and Selanovtsi) with an average yield of dry mass of 12557.9 kg ha $^{-1}$, and distinctness, uniformity and stability (DUS)

шен добив суха маса 12557.9 kg ha $^{-1}$, и за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) в 1 пункт (Чепинци) на Изпълнителна Агенция за сортоизпитване, апробация и семеконтрол (ИАСАС) (2014-2016 г.), както и описание на сорт Тетрани. Сортът ще бъде регистриран в Официалната сортова листа (ОСЛ) на България за 2018 г., в OECD листа за 2018 г. и в Общия Европейски каталог на сортове селско-стопански култури за 2018 г., очаква се сертификат от Патентно Ведомство на Република България през 2017 г.

**Ключови думи:** пасищен райграс, първият тетраплоиден сорт в България, описание, БСК, РХС

at 1 point (Chepinci) Executive Agency for Variety and Seed (IASAS) (2014-2016) and a description of the variety Tetrany are presented.

The variety will be registered in the Official Variety List (OVL) of Bulgaria for 2018, in the OECD list for 2018 and in the common European catalog of varieties of agricultural crops for 2018, is expected certificate from the Patent Office of the Republic of Bulgaria in 2017.

**Keywords**: perennial ryegrass, the first tetraploid variety in Bulgaria, description, VCU, DUS

## УВОД

Пасищният райграс (*Lolium perenne* L.) е икономически най-важната многогодишна житна трева, отглеждана в Европа, Нова Зеландия, и умерените райони на Япония, Австралия, Южна Африка и Южна Америка, използвана за фураж, декоративни и спортно технически цели. Извършва се усилена селекционна дейност през над 100 годишен период и като резултат е големия брой сортове в OECD листа за 2017г. (1558 броя). Семепроизводството след 2000 г. за ЕС – 27 страни е средно 83660 t семена от пасищен райграс годишно, а в световен мащаб 209674 t годишно (Humphreys et al., 2010). Пасищният райграс е предпочитан от фермерите, заради редица предимства: толерантност към интензивно изпасване, утъпкване и чести коситби, отлично усвояване на азота и най-важното – по-висока хранителна стойност, в сравнение с останалите житни треви (Frame, 1991; Peeters, 2004). Световната селекция е създала много сортове райграс, характеризиращи се със специфична екоадаптивност. Изпитаните до сега у нас чуждестранни сортове пасищен райграс са в повечето случаи високо продуктивни, но със слаба приспособимост към нашите условия за развитие, не дълготрайни и са неподходящи за пряко внедряване в производството (Katova, 2005; 2016).

## INTRODUCTION

Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), is the economically main forage grass sown in Europe, New Zealand, and in the temperate regions of Japan, Australia, South Africa and South America. Perennial ryegrass is also widely used in amenity grassland including sports turf. This is reflected in a 100 years period of effort in plant breeding activity and high number of varieties on the OECD list and in 2017 (1558) and seed production since 2000 the EU-27 countries have produced, on average, 83,660 t perennial ryegrass seed per year and in global scale 209674 t per year (Humphreys et al., 2010). Perennial ryegrass is preferred by farmers owing to a number of advantages: tolerance to intensive grazing, trampling and frequent cutting, excellent nitrogen assimilation and the most important quality – higher nutritive value as compared to the other grasses (Frame, 1991; Peeters, 2004). The world breeding developed many ryegrass varieties characterized by specific eco-adaptability. The foreign varieties tested in our country in most cases were high productive but have slight adaptability to our agro-climatic conditions, weren't persistent and not suitable for direct introduction in agricultural practice (Katova, 2005; 2016).

В света, първата селекционна дейност започва през 1889 г. в Уелската опитна станция (Великобритания), където през 1930 г. е създаден и първият сорт пасищен райграс Aberystwith S.23 (Jenkin, 1949; Stapledon and Davies, 1941; Wilkins and Lovatt, 2010). Селекцията се насочва към създаването на високопродуктивни сортове. За сравнително кратко време са създадени сортове, отличаващи се с високи добиви на фураж и семена (Camlin, 1997; Casler et al., 1997; Jensen et al., 2001; Jung et al., 1996). Средногодишният добив на фураж зависи силно от географския район на отглеждане и е между 7000-8000 kg СВ $ha^{-1}$ за Сърбия (Sokolovič et al., 2010); 9000-10000 kg СВ $ha^{-1}$ за Русия и Латвия (Shpakov et al., 2002; Bumanne and Berzins, 2008); 15000 kg СВ $ha^{-1}$ за Швейцария (Jeangros and Thomet, 2004), до 17500 kg СВ $ha^{-1}$ за Северна Ирландия (Connolly, 2001). Във Великобритания повишението на добива при новорегистрираните сортове е с 0,5-0,6 % годишно (Humphreys et al., 2006; Boller et al., 2010).

През 1995 г. е стартирана селекционна програма с пасищен райграс в ИФК - Плевен и през 2010 г. е регистриран и защитен със сертификат на Патентно ведомство първият български диплоиден сорт ИФК Хармония (Katova, 2011). В ОСЗ - Средец е създаден нов сорт пасищен райграс Странджа, с произход от местна адаптирана популация (Stoeva, 2010). Тетраплоидните сортове са високопродуктивни на фураж и семена, с високо качество на фуража и устойчивост на листни болести (Humphreys et al., 2010; Burns et al., 2012; Katova et al., 2016).

Целта е създаване на нов тетраплоиден сорт пасищен райграс, провеждане на сортоизпитвания (БСК и РХС) и описание.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Селекционният процес (2000-2014 г.) по години включва:

2000 г. – Третиране с колхицин на селекционна популация с местен произ-

In the world first breeding activity started in 1889 г. in Welsh experimental station (Grate Britain), where during 1930 the first perennial ryegrass variety Aberystwith S.23 was developed (Jenkin, 1949; Stapledon and Davies, 1941; Wilkins and Lovatt, 2010). The breeding is directed to development of high productive varieties. For comparatively short time the high forage and seed yielding varieties were developed (Camlin, 1997; Casler et al., 1997; Jensen et al., 2001; Jung et al., 1996). Average annual forage yield strongly depends from geographical region of growing and its between 7000-8000 kg CB $ha^{-1}$ in Serbia (Sokolovič et al., 2010); 9000-10000 kg CB $ha^{-1}$ in Russia and Latvia (Chpakov et al., 2002; Bumanne and Berzins, 2008); 15000 kg CB $ha^{-1}$ in Switzerland (Jeangros and Thomet, 2004), up to 17500 kg CB $ha^{-1}$ for Northern Ireland (Connolly, 2001). In Great Britain yield increase for newly registered variety by 0,5-0,6 % yearly (Humphreys et al., 2006; Boller et al., 2010).

In 1995 a breeding program with perennial ryegrass was started in the IFC-Pleven and in 2010 the first Bulgarian diploid variety IFK Harmonia (Katova, 2011) was registered and protected with a certificate of the Patent Office. A new variety of perennial ryegrass Strandja, originated from a local adapted population (Stoeva, 2010) was created in the ESA - Sredets. The tetraploid varieties are highly productive on fodder and seed, with high feed quality and leaf diseases resistance (Humphreys et al., 2010; Burns et al., 2012; Katova et al., 2016).

The aim is to create a new tetraploid variety of perennial ryegrass, to carry out variety tests (VCU and DUS) and description.

## MATERIAL AND METHODS

Breeding process (2000-2014) by years included:

2000 – Treatment by colchicine of breeding population with local origin (2000

ход (2000-семена) – пониции за 1-2 месеца, Преживяемост – % живи растения – от 10 до 50 % и скрининг на 4х растения чрез Флоуцитометър – от тях 5-10 % - тетраплоиди; Потомства на 45 родителски растения (генотипове) - $C_1$ – 190 индивидуални растения – 4х, (Katova, 2015 a,b).

2001 г. – засаждане на полето – в поликроси при изолация със зимна ръж;

2002 г. – първи семена от тетраплоидните растения - $C_1$ – NBG - 316,58 g. Скрининг за плоидно ниво;

2003 г.– разсад – размножение при изолация;

2004 г. – $C_2$ семена;

2005 г. – скрининг за плоидно ниво- $C_3$ – 100% - тетраплоиди;

2007 г. – $C_4$ проверка на плоидност– 100% - тетраплоиди;

2007 г. до 2009г. – конкурсно сортово изпитване (КСО);

2011 г. – сеитба на предварително размножение (ПР) – 2012 г. и 2013 г. – първи семена на селекционера за заявяване и сортоизпитване.

Селекционният процес е осъществен чрез приложение на съвременни селекционни методи (индуцирана полиплоидия, поликрос и изпитване на генеративните потомства по комплекс признаци – тандем селекция „висока продуктивност – екологична стабилност) → сортоизпитване → нов сорт → авторски семена и високи категории семена. Експерименталният растителен материал е проучен по многобройни признаци (количествени и качествени), показатели и свойства, по методиките на UPOV. За обработка на данните е изпол-зван статистически метод вариационен анализ ANOVA, съвременни програмни продукти и калкулационни таблици на Excel. За комплексна оценка при селекцията са използвани: Международния класификатор за проучване на колекции от семейство *Poacea* (Buktheeva et al., 1985); технически въпросници за РХС и БСК по UPOV - TG/4/7/ (UPOV, 1990), TG/35/13/ (UPOV, 1999), TG/4/8 (UPOV, 2006), CPVO-TP/004/1 Final English Date: 23/06/2011.

Районът на проучването Плевен, където е изведен КСО за фураж,

seeds) – seedlings for 1-2 months:, Survival - % alive plants – from 10 to 50 % and screening for 4x plants by Flowcytometer – from them 5-10 % - tetraploids; progenies of 45 parental plants (genotypes) - $C_1$ – 190 individual plants – 4x , (Katova, 2015 a,b).

2001 – field establishment – in polycrosses under isolation with winter rye;

2002 – first seeds from tetraploid plants - $C_1$ – NBG - 316,58 g. Screening for ploidy level;

2003 – seedlings – multiplication under isolation;

2004 – $C_2$ seeds;

2005 – screening for ploidy level - $C_3$ – 100% - tetraploids;

2007 – $C_4$ ploidy check – 100% - tetraploids;

2007 till 2009 – competitive variety testing (CVT);

2011 – sowing of prenatal multiplication (PM) – 2012 and 2013 – first Breeder's seeds for application and Official testing.

Breeding process carried out by application of modern breeding methods (induced poliploidization, polycross and progeny testing for complex characteristics – tandem selection „high productivity – ecological stability) → variety testing → new variety → Breeder's seeds and high category seeds.

The experimental plant material was studied for many traits (quantitative and qualitative), characters and properties, according to UPOV methodical guides. For data processing the statistical method ANOVA was applied, modern programmes and calculation tables in Excel were used. International classifier for studying collections from *Poacea* for complex estimation was used (Buktheeva et al., 1985); technical questioners for DUS and VCU according to UPOV - TG/4/7/ (UPOV, 1990), TG/35/13/ (UPOV, 1999), TG/4/8 (UPOV, 2006), CPVO-TP/004/1 Final English Date: 23/06/2011.

The region of the study – Pleven, where the competitive variety trial for

съчетава климатичните особености на Централна Северна България, умерено континентална област. За периода 1964–2014 г., средногодишната сума на валежите е 550 mm. Средногодишните температури за 2007-2009 г. период са по-високи (13,3ºС) от тези за предходния 50-г. период (11,9 ºС), което потвърждава тенденцията към глобално затопляне. През последната декада са отчетени температурни максимуми (46 ºС) за юли и август, а най-студени са януари и февруари, с температури достигащи до -15ºС и - 28ºС. Почвеният тип е излужен чернозем, бедно до средно хумусен, със слабо кисела до неутрална реакция. Тези почвено климатични условия са своеобразен провокационен фон за отбор и адаптация на генетични ресурси към суша и студ.

КСО е заложен на 03 април 2007 г., отчитането на добив суха маса започва през 2007 г. – 1 подраст, 2008 г. – 3 подрасти за българския вариант и 2 за белгийските сортове, 2009 г. – 3 подрасти за българския и 2 за белгийските сортове и общо за периода – 7 подраста за фураж за българския и 5 за белгийските варианти, като за стандарт е средното от двата белгийски сорта. Големината на реколтната парцелка е 5 $m^2$, 3 варианта (NBG (Tetrany), Roy, Pandora), в 4 повторения; неполивни условия, торене: суперфосфат 200 kg ha $^{-1}$, ежегодно пролет и есен амониева селитра – по N а.в. 60 kg ha $^{-1}$, сеитба – ръчна, сеитбена норма 50 kg ha $^{-1}$, междуредие 12 cm, дълбочина 1,5 cm, валиране, при неполивни условия.

Държавното сортоизпитване за БСК е проведено в три пункта, както следва:

ТСЗ – с. Селановци – почвен тип карбонатен чернозем, надморска височина – 168 m, предшественик – угар, големина на реколтната парцелка – 10 $m^2$, 2 варианта, в 4 повторения, торене суперфосфат – 200 kg ha $^{-1}$, амониева селитра – 80 kg ha $^{-1}$, сеитба – 24.03.2014 г., със сеялка «Саксония», сеитбена норма 25 kg ha $^{-1}$, междуредие 11,5 cm, дълбочина 1,5 cm, валиране. Отчитането на добив суха маса през 2015г. е при 2

forage was conducted, combined climatic peculiarities in North Central Bulgaria-temperate continental climate area. Average annual precipitation sum was 550 mm during the period of 1964–2014. Average annual temperatures for the period 2007-2009 were higher (13,3 ºC) to that for previous 50 years period (11,9 ºC), which confirmed the tendency of global warming. During the last decade the temperature maximums for July and August (46 ºC), and minimums for January and February reached to -15 -28 ºC were recorded. The soil type is leached chernozem, poor to medium for humus, with slightly acid to neutral pH reaction. These soil climatic conditions are provoke background for selection and adaptation of genetic resources to drought and cold.

Competitive Variety Trial (CVT) was established on 3$^{rd}$ April 2007 and measurement of dry biomass productivity started in 2007 year – 1 cut, 2008 – 3 cut for the Bulgarian and 2 cuts Belgian varieties, 2009 – 3 cut for the Bulgarian and 2 cuts Belgian varieties, and in total for the period – 7 cuts for forage for the Bulgarian and 5 cuts Belgian varieties as standard the average between two Belgian varieties used. Plot size was 5 $m^2$, 3 variants (NBG (Tetrany), Roy, Pandora), 4 replicates; fertilizing: $P_2O_5$ – 200 kg ha $^{-1}$, $K_2O$ - 150 kg ha $^{-1}$, N a.s. – 60 kg ha $^{-1}$, sowing – manual, sowing rate 50 kg ha $^{-1}$, inter row distance 12 cm, depth 1,5 cm, without irrigation.

Official variety testing for VCU was conducted in three locations as follows:

Location Selanovci – soil type carbonate chernozem, above sea level height – 168 m, precursor – set aside, plot size was – 10 $m^2$, 2 variants, 4 replicates; fertilizing: $P_2O_5$ – 200 kg ha $^{-1}$, N – 80 kg ha $^{-1}$, sowing – 24.03.2014, sowing machine «Saxonia», sowing rate 25 kg ha $^{-1}$, inter row distance 11,5cm, depth 1,5 cm. Reporting of dry mass production in 2015 is at 2 cuts and in 2016 also 2

откоса и през 2016 г. също 2, общо 4 откоса при неполивни условия.

ТСЗ - гр. Пловдив почвен тип алувиално ливаден, надморска височина – 166 m, предшественик – пшеница, големина на реколтната парцелка – 10 $m^2$, 2 варианта, в 4 повторения, торене суперфосфат – 300 kg ha $^{-1}$, калиев сулфат 150 kg ha $^{-}$1, амониева селитра – 80 kg ha $^{-1}$, сеитба – 04.04.2014 г., ръчна, сеитбена норма 25 kg ha $^{-1}$, междуредие 12 cm, дълбочина 1,5 cm, валиране. Добив суха маса е отчетен от 4 откоса през 2015 г. и 4 – през 2016 г., общо 8 откоса при поливни условия.

ТСЗ – с. Чепинци почвен тип алувиално ливаден, надморска височина - 515 m, предшественик – фуражен грах, големина на реколтната парцелка – 10 $m^2$ , 2 варианта, в 4 повторения, торене суперфосфат – 250 kg ha $^{-1}$, калиев сулфат 130 kg ha $^{-}$1, амониева селитра – 80 kg ha $^{-1}$, сеитба – 04.04.2014 г., ръчна, сеитбена норма 25 kg ha $^{-1}$, междуредие 13,7 cm, дълбочина 1,5 cm, валиране. Добив суха маса е отчетен от 4 откоса през 2015 г. и 4 – през 2016 г., общо 8 откоса при поливни условия. Отчитане за БСК (добив на сухо вещество) в трите пункта е през 2015 и 2016 г., като стандарт е включен сорт ИФК Хармония, а за РХС през 2014-2016 г.

cuts, a total of 4 cuts under non-irrigating conditions.

Location Plovdiv - soil type alluvial lawn, above sea level height – 166 m, precursor – wheat, plot size – 10 $m^2$, 2 variants, 4 replicates, fertilizing: $P_2O_5$ – 300 kg ha $^{-1}$, $K_2O$ 150 kg ha $^{-}$1, N – 80 kg ha $^{-1}$, sowing – manual in 04.04.2014, sowing rate 25 kg $^{1}$, inter row distance 12 cm, depth 1,5 cm. Reporting of dry mass production in 2015 is at 4 cuts and in 2016 also 4, a total of 8 cuts under irrigating conditions.

Location Chepinci – soil type alluvial lawn, above sea level height - 515 m, precursor – forage pea, plot size – 10 $m^2$ , 2 variants, 4 replicates, fertilizing: $P_2O_5$ – 250 kg ha $^{-1}$, $K_2O$ 130 kg ha $^{-}$1, N – 80 kg ha $^{-1}$, sowing – 04.04.2014., manual, sowing rate 25 kg ha $^{-1}$ , inter row distance 13,7 cm, depth 1,5 cm. Reporting of dry mass production in 2015 is at 4 cuts and in 2016 also 4, a total of 8 cuts under irrigating conditions.

VCU (dry matter yield) was measured in the three locations during years 2015 and 2016, and for DUS – 2014-2016, as a standard variety IFK Harmoniya is included.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

I. Описание на пасищен райграс сорт *Тетрани*

Сорт Тетрани е тетраплоиден и е създаден по методите: полиплоидизация на местна селекционна популация, трикратен флоуцитометричен скрининг и отбор на тетраплоиди, поликрос на 45 тетраплоидни елитни генотипове пасищен райграс с местен произход и репродукция до С 4 – поколение.

Растенията на сорт Тетрани са многогодишни житни с добре развита брадеста коренова система, интензивно братене, с полуизправен до междинен хабитус (бал 3-5). Сорт Тетрани образува многобройни и добре облистени генеративни и вегетативни издънки. Генеративните издънки са с 2,8 mm дебелина на

## RESULTS AND DISCUSSION

I. Description of perennial ryegrass variety *Tetrany*

Variety Tetrany is tetraploid and had been developed by the methods: poliploidization of local breeding population, three-fold flow cytometric screening and phenotypic selection of tetraploids followed by polycross (multiple hybridization) of 45 elite genotypes perennial ryegrass and reproduction to C 4 generation.

Tetrany's plants are perennial, with well developed tuft root system, intensive tillering, semi-erect to intermediate habit (score 3-5). Variety Tetrany formed many and very leafy generative and vegetative stems.

Generative shoots are 2,8 mm width of

стъблата, гладки, сравнително устойчиви на полягане, с 4-5 броя листа. Облистеността на растенията е 53-66%. Растенията са високи в начало на изкласяване 50-58 cm и в пълно изкласяване 78 cm.

Листата са линейно плоски, или леко огънати, много тъмно зелени, гладки и с блясък от долната страна. Езичето е ципесто, средно високо със заострен край. Ушичките са къси и не обгръщат стъблото. Дължината (17 cm) и ширината на листа (3-4 mm) са средни до големи по размер. Съцветието е клас с дължина 19-25 cm и брой класчета в клас – 21-25. Семената са продълговати, лодкообразни . Масата на 1000 семена е 2,38-3,71 g.

Растенията на сорт Тетрани отрастват рано напролет при затопляне на почвата до 3-4 °C и продължават вегетацията си до първите мразове. Към 15-20 април се достига пасищна зрелост (височина на тревостоя 25 -30 cm). Сортът устоява на чести коситби и паша. Сорт Тетрани е ранен до средно ранен – фенофаза изкласяване се наблюдава от 15-21 май.

Отличава се с по-голяма дълготрайност от интродуцираните сортове, зимоустойчивост и толерантност към засушаване и високи летни температури, толерантност на листни болести – коронеста ръжда (Бал 7-9).

Добивът на сено е средно 800-1100 kg da $^{-1}$, а на семена 60-80 kg da $^{-1}$.

Биомасата е с най-висока хранителна стойност в сравнение с останалите многогодишни житни треви – съдържание на СП – 17-19%, съдържание на водоразтворими захари – 6-10% и смилаемост 70-82 %.

Сорт Тетрани е подходящ за създаване на пасища и озеленяване. Може да участва като компонент на пасищни смески с бяла детелина или звездан, а също и с диплоидни сортове пасищен райграс, а за декоративни цели в смески с червена власатка.

II. Резултати от КСО пасищен райграс, вкл. Тетрани (NBG), ИФК - Плевен, 2007-2009 г.

Проучваните варианти са един

stems, smooth surface, comparatively lodging resistant, with 4-5 number of leaves. The plant leafness is 53-66%. Plants are medium in height at the beginning of heading 50-58 cm and in full heading 78 cm.

Leaves are linear flat or slightly curve, very dark green, smooth and have brightness in lower surface. The tong is membranous, medium in height with sharp edge. Auricles are short and they don't blank the stem. The length (17 cm) and width of the leaves (3-4 mm) are medium to long in size. Inflorescence is spike with length 19-25 cm. the number of spikelets per spike are 21-25. Seeds are elongate, boat-like. Thousand seed weight (TSW) is 2,38-3,71 g.

Plants grow up early in spring when soil temperature is 3-4 °C and continued vegetation till the first frosts. Pasture stage (maturity) reached till 15-20 April (height of the stand 25-30 cm). The variety persist mani cuttings and grazing. Tetrany is early to medium type – heading is between 15-21 May.

This variety differs to introduced foreign varieties with higher persistency, winter hardiness and tolerance to drought and high summer temperatures, tolerance to leaf diseases – crown rust (score 7-9).

Average dry matter yield is 8000-11000 kg. ha $^{-1}$, and seed yield 600-800 kg. ha $^{-1}$. Biomass has the highest nutritive value in comparison to the other perennial grass species – crud protein content – 17-19 %, water soluble carbohydrates content – 6-10 % and in vitro dry matter digestibility 70-82 %.

The variety is multifunctional, suitable for pasture, hay-pasture and amenity direction of use, in pure stands or in mixtures with white clover, and also with diploid perennial ryegrass for forage, or with red fescue for ornamental and sports fields, with high percent of density.

II. Results from Competitive Variety trial (CVT) with perennial ryegrass, including Tetrany (NBG), IFC - Pleven, 2007-2009

The variants of the study are one

кандидат сорт NBG и 2 белгийски сортове при среден стандарт от тях (Roy и Pandora). За три годишния период (2007-2009 г.) по методика за БСК в Таблица 1 са представени данните за добив суха биомаса общо и средно за периода и като процент спрямо среден стандарт.

С най-висок общ добив суха маса е NBG (22172,0 kg $ha^{-1}$), а средногодишно 7390.7 kg $ha^{-1}$. Превишението спрямо посочения среден стандарт е 62 % за NBG.

Разпределението на добив суха маса по години, в дял, % от общия добив за периода на проучването, приет за 100% е както следва: в годината на създаване на тревостоите делът на добива е от 16,2% за пасищен райграс NBG, до 27,4% при сорт Roy. През втората година се постига максимална продуктивност за всички варианти, като делът от общата продуктивност варира от 53,8 % за NBG до 69,5% за пасищен райграс сорт Pandora. Добивът като дял от общата продуктивност през третата година е най-висок при NBG 30 %, а при белгийските най-нисък за целия период 11,1% за Pandora и 12,2% за Roy. Сортовете имат различна стратегия за многогодишност и се различават по броя на откосите и разпределението на добива. С най-висок добив на фураж се отличава NBG в резултат на най-големия брой откоси и най-равномерно разпределение по сезони през годините. Белгийските сортове имат по-малка дълготрайност при нашите условия, по-нисък добив на фураж, формират по-малък брой откоси, тъй като продуктивността на фураж се влияе силно от условията на средата, а те са селекционирани при условия, характеризиращи се с различни стойности на температурите и валежите (Кътова, 2017). Потвърждава се тенденцията, че местните форми са по-високопродуктивни и дълготрайни от интродуцираните (Katova, 2005a; Katova et al., 2016).

candidate variety NBG, and two Belgian reference – standard varieties average from them (Roy and Pandora). For the three-year period (2007-2009) according to the VCU methodology in Table 1 are presented the data on the production of dry biomass total and average for the period and as a percentage relative to the average standard.

The highest total yield is the NBG (22172.0 kg $ha^{-1}$) and the annual average is 7390.7 kg $ha^{-1}$. The excess over the specified average is 62% for the NBG.

The distribution of dry mass production per year, per share, of the total yield for the survey period, accepted as 100%, is as follows: in the year of establishment of the swards, the share of the yield is 16.2% for perennial ryegrass NBG, up to 27,4% for Roy variety.

In the second year, maximum productivity is achieved for all variants, with a share of total productivity ranging from 53.8% for NBG to 69.5% for Pandora grassland. The yield as a share of total productivity in the third year is highest for NBG 30% and for Belgian the lowest for the whole period 11.1% for Pandora and 12,2% for Roy. Varieties have a different multi-year strategy and differ in the number of cuts and distribution of yields. The highest yield of fodder is NBG as a result of the largest number of cuts and the most even distribution over seasons over the years. Belgian varieties have less longevity under our conditions, lower forage yields, a smaller number of cuts, as feed productivity is strongly influenced by environmental conditions and they are selected under conditions characterized by different values of temperatures and precipitations (Katova, 2017). The tendency that local forms are higher productive and more persistent in comparison with introduced varieties was confirmed (Katova, 2005a; Katova et al., 2016).

**Таблица 1. Резултати от КСО пасищен райграс, вкл. NBG (Тетрани), ИФК - Плевен, 2007-2009 г.**
**Table 1. Results from Competitive Varietal Trail, including NBG (Tetrany), IFC - Pleven, 2007-2009**

| Вариант Variant | Добив сухо вещество / Dry matter yield, kg.ha $^{-1}$ | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2007 | 2008 | 2009 | Общо / Total | Средно годишно, Annual average | % against St (2+3) |
| 1. NBG | 3628.6 | 11928,9 | 6614.5 | **22172.0** | **7390.7** | **162** |
| 2. Roy | 4142.0 | 9150.3 | 1849.9 | 15142.2 **13671.9** | 5047.4 **4557.3** | 111 **100** |
| 3. Pandora | 2371.0 | 8477.0 | 1353.6 | 12201.6 | 4067.2 | 89 |
| Average | 3380.5 | 9852.1 | 3272.7 | 16505.3 | 5501.8 | |
| STDEV | 911.2 | 1829.8 | 2904.7 | 5123.1 | 1707.7 | |
| P 0.1% | 865.3 | 1737.7 | 2758.5 | 4865.1 | 1621.7 | |
| P 0.01% | 1355.1 | 2721.2 | 4319.8 | 7618.8 | 2539.6 | |

III. Резултати от официалното държавно сортоизпитване за биологични и стопански качества (БСК) за добив суха маса kg.ha $^{-1}$ (2015 – 2016)

След ускорено размножение на семената на селекционера за сорт Тетрани и попълване на техническите въпросници е направена заявка за сертифициране и сортоизпитване. За БСК резултатите са представени в Таблица 2 по пунктове, години и средно за 3 пункта и две години (в екологична мрежа) и са сравнени със стандарта (ИФК Хармония). В пункт Селановци на почвен тип карбонатен чернозем са получени най-високи добиви на фураж в сухо вещество от сорт Тетрани за 2016 г. при 34,6 % превишение спрямо стандарта и за 2015 г. – с 3,6 %. Средната стойност по добив суха маса за Тетрани за периода и пунктовете е 12557.9 kg.ha $^{-1}$ и превишава стандарта с 14,6%, което определя сортът като високо продуктивен за този географски район като сравним новорегистрирания сръбски сорт пасищен райграс К-11 със средногодишен добив сухо вещество 10760 kg.ha $^{-1}$ (Sokolovic et al., 2010; 2011).

III. Results from Official national variety testing for Value of Cultivation and Use (VCU) for dry matter yield kg.ha $^{-1}$ (2015 – 2016)

After accelerated multiplication of original Breeder's seeds of the variety IFK Harmoniya and fulfill technical questioners the application for certification and variety testing was done. Results from VCU test are presented on Table 2 for locations, years and average from three locations and two years (in ecological net) and comparison with standard (IFK Harmoniya). The highest dry matter yield was obtained in location Selanovci, soil type carbonate chernozem where for 2016 year DMY of Tetrany exceeded standard by 34,6 % and for 2015 by 3,6%. Average value of dry matter yield of Tetrany for the period and locations was 12557.9 kg.ha $^{-1}$ and exceeded standard by 14%, which determined the variety as high productive for this geographical region, without irrigation. For comparison the new Serbian variety of perennial ryegrass K-11 has annual average dry matter yield 10760 kg.ha $^{-1}$ (Sokolovic et al., 2010; 2011).

**Таблица 2. Резултати от официалното държавно сортоизпитване за биологични и стопански качества (БСК) за добив суха маса kg.ha $^{-1}$ (2015-2016)**

**Table 2. Results from the National Official varietal testing for VCU, dry matter yield kg.ha $^{-1}$ (2015-2016)**

| ТЗС Location | Чепинци Chepinci | | Пловдив Plovdiv | | Селановци Selanovci | | Средно от 3 пункта Average from 3 locations | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Години Years / Сорт Variety | 2015 | 2016 | 2015 | 2016 | 2015 | 2016 | 2015 | 2016 | Average 2015-2016 |
| 1. ИФК Хармония IFK Harmoniya - St | 17095.0 100% | 12462.5 100% | 6082.5 100% | 4305.0 100% | 7977.3 100% | 17640.5 100% | 10384.9 100% | 11469.3 100% | **10927.1 100%** |
| 2. Тетрани Tetrany | 19167.5 112.1% | 13065.0 104.8% | 6435.0 105.8% | 4670.0 108.5% | 8261.3 103.6% | 23748.3 134.6% | 11287.9 108.7% | 13827.8 120.6% | **12557.9 114.6%** |
| GD 5% | 320.6 | 363.9 | 287.1 | 96.4 | 154.9 | 864.1 | | | |
| GD 1% | 460.7 | 522.9 | 417.5 | 138.4 | 222.6 | 1241.6 | | | |
| GD 0.1% | 677.7 | 769.2 | 606.8 | 203.6 | 327.5 | 1826.5 | | | |
| Точност на опита, % Accuracy of trial,% | 0.54 | 0.84 | 1.44 | 0.67 | 0.53 | 1.38 | | | |

**Таблица. 3. Резултати от официалното държавно сортоизпитване за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) за периода 2014-2016 г.**

**Table 3.Results of national official varietal testing for distinctness, uniformity and stability (DUS) for the period 2014-2016**

| № | Сорт / Variety | Тетрани / Tetrany | |
|---|---|---|---|
| | Признаци / Characteristics | Изява / Expression | Score / Бал |
| 1. | Плоидност / Ploidy | Тетраплоид / Tetraploid | 4 |
| 2. | Растение: хабитус през есента / Plant: habitus in the autumn | Полуизправен/Semi-erect | 3 - 5 |
| 3. | Тенденция към образуване на съцветие в год. на засяване/Tendency to form inflorescence in sowing year | Липсва / Absent | 1 |
| 4. | Време на поява на съцветие в годината на засяване Time of inflorescence appearance in the year of sowing | - | - |
| 5. | Лист: цвят / Leave: color | Много тъмно зелен Very dark green | 9 |
| 6. | Растение: хабитус през пролета Plant: habitus in spring | Полуизправен до междинен / Semi erect to intermedium | 3 - 5 |
| 7. | Растение: естествена височина през пролета Plant: natural height in spring | Високо / High | 7 |
| 8. | Време на поява на съцветие през втората година Time of heading in the second year | Рано до средно рано early to intermediate | 3 - 5 |
| 9. | Растение: естествена височина при поява на съцветията Plant: natural height during inflorescences appearance | Високо / High | 7 |
| 10. | Флагов лист: дължина / Flag leave: length | Много дълъг / Very long | 9 |
| 11. | Флагов лист: ширина / Flag leave: width | Широк / Wide | 7 |
| 12. | Стъбло: дължина на най-дългото стъбло (вкл. и съцветието, когато е напълно развито) / Stem: length of the longest stem (including inflorescence when is fully expended) | Дълго / Long | 7 |
| 13. | Съцветие: дължина (когато е напълно развито) Inflorescence: length (when is fully developed) | Дълго / Long | 7 |
| 14. | Съцветие: брой на класчетата Inflorescence: number of spikelets | Много / Many | 7 |

IV. Резултати от официалното държавно сортоизпитване за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) за периода 2014-2016 г.

Резултатите за РХС (Таблица 3.) са от 1 пункт – ТСЗ Чепинци в продължение на 3 години и са еднопосочни, съответни на описанието на автора. Плоидното ниво е определено от автора флоуцитометрично в Институт по генетика и селекция – Мелле, Белгия през 2000, 2002, 2005 и 2007 г. Сортът е нов оригинален, хомогенен и стабилен и се различава от сортовете еталони. Основните признаци са отчетени в Таблица 3 с изява и бал.

IV. Results from Official national variety testing for Distinctness, Uniformity and Stability (DUS) for 2014-2016 period

Results for DUS (Table 3.) were obtained from one location – Chepinci in 3 years period and they were unidirectional, corresponding the author's description. Ploidy level was determined by the author using flowcytometric method in Institute of Genetics and Plant breeding, Melle, Belgium in 2000, 2002, 2005 and 2007. The variety Tetrany is new, original, uniform and stable and differs from reference varieties. Main characters are measured and presented in Table 3 with expression and score.

## ИЗВОДИ

Създаден е първият тетраплоиден български сорт пасищен райграс Тетрани– ранен до средно ранен, високопродуктивен, екологично стабилен (зимоустойчив и толерантен на засушаване) и дълготраен по методите: индуцирана полиплоидия на местна селекционна популация, флоуцитометричен скрининг и фенотипен отбор на тетраплоиди, последван от поликрос (множествена хибридизация) на 45 елитни генотипове пасищен райграс и репродукция до С 4 генерация. Сортът е многофункционален, подходящ е за пасищно, сенокосно-пасищно и декоративно направление на използване, самостоятелно или в смески с люцерна и бяла детелина за фураж, или с червена власатка за декоративни и спортно-технически тревостои, с висок процент почвено покритие. Представени са резултатите от успешно конкурсно сортово изпитване (КСИ) в Плевен (2007-2009 г.) общо 22172.0 kg ha $^{-1}$ добив суха маса и средногодишно 7390.7 kg ha $^{-1}$, и Официално държавно сортоизпитване за биологични и стопански качества (БСК) в три пункта (Чепинци, Пловдив и Селановци) със средногодишен добив суха маса 12557.9 kg ha $^{-1}$, и за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) в 1 пункт (Чепинци) на Изпълнителна Агенция за сортоизпитване, апробация и семеконтрол (ИАСАС) (2014-2016 г.), както и описание на сорт

## CONCLUSIONS

The first for Bulgaria tetraploid perennial ryegrass variety Tetrany - early to medium early, highly productive, environmentally stable (winter hardy and tolerant to drought) and persistent was created. It is based on methods, induced polyploidy of the local breeding population, flow cytometric screening and phenotypic selection of tetraploids followed by polycross (multiple hybridization) of 45 elite genotypes perennial ryegrass and reproduction to C 4 generation. The variety is multifunctional, suitable for pasture, hay-pasture and decorative direction of use, alone or in mixtures with alfalfa and white clover to feed or red fescue for ornamental and sport-technical swards with a high percentage of ground cover. The results of a successful competitive variety trial (CVT) in Pleven (2007-2009) a total of 22172.0 kg ha $^{-1}$ dry matter yield and annual average 7390.7 kg ha $^{-1}$, and official state variety testing for cultivation and use (VCU) in three points (Chepinci, Plovdiv and Selanovtsi) with an average yield of dry mass of 12557.9 kg ha $^{-1}$, and distinctness, uniformity and stability (DUS) at 1 point (Chepinci) Executive Agency for Variety and Seed (IASAS) (2014-2016) and a description of the variety Tetrany are presented.

Тетрани. Сортът ще бъде регистриран в Официалната сортова листа (ОСЛ) на България за 2018 г., в OECD листа за 2018 г. и в Общия Европейски каталог на сортове селскостопански култури за 2018 г., очаква се сертификат от Патентно Ведомство на Република България от 2017 г.

На този етап след сертифициране има необходимите количества оригинални семена на селекционера за зареждане на системата за семепроизводство. В ИФК се произвеждат високите категории семена ПБ и Б. Има голямо потребител-ско търсене – предстои внедряване и реализация.

The variety will be registered in the Official Variety List (OVL) of Bulgaria for 2018, in the OECD list for 2018 and in the common European catalog of varieties of agricultural crops for 2018, is expected certificate from the Patent Office of the Republic of Bulgaria in 2017.

At this stage after Certification there is necessary quantity of original breeder's seed to set up seed production system. In Institute of Forage Crops the high category PB and B seeds are producing. There are high consumer's demands – forthcoming implementation and realization.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES


1. **Boller, B., U.K. Posselt and Veronesi (Eds.)**, 2010. Handbook of Plant Breeding 5, Fodder Crops and Amenity Grasses, Springer Science+Business Media, LLC.
2. **Bukhteeva, A.V., Z.P. Shutova, V.A. Korneichuk, V. Vatsek, B. Krcmar, I. Bares, L. Horvat, B Osinsky, E. Kelner, M. Neaggu,** 1985. The International Comecon List of Descriptors for the family Poacea. USSR, Leningrad, 22-46 (Ru).
3. **Bumanne S. and P. Berzins**, 2008. Development of new forage grass varieties at the Skriveri research institute of agriculture, *Agronomijas Vestis (Latvian Journal of Agronomy)*, 11, LLU, 43-46.
4. **Burns, G.A., T.J. Gilliland, D. Grogan, S. Watson, O'Kiely**, 2012 Assessment of herbage yield and quality traits of perennial ryegrass from a national variety evaluation scheme, Cambridge University Press, *Journal of Agricultural Science*, 1-16.
5. **Camlin, M. S.**, 1997. Grasses, In: Wedel, J.R.(ed.) Seeds of Progress 2 – 14. British Grassland Society Occasional Symposium, 31 BGS.
6. **Casler, M.D.**, 2001. Breeding perennial grasses for abiotic stress tolerance, In: P.Monjardino, A. da Camara Machado, V. Carnide (eds.): Breeding for stress tolerance in fodder crops and amenity grasses; Department of Agricultural Science, University of Azores, Terceira, 119-125.
7. **Casler, M.D., C.C. Berg, I.T. Carlson, D.A. Sleper**, 1997. Convergent - divergent selection for seed production and forage traits in orchardgrass. II. Correlated responses for forage traits. Crop Sci.37: 1059-1065.
8. **Connolly, V.**, 2001.Breeding improved varieties of perennial ryegrass, End of project report 3495. Dublin, Ireland, TEAGASC, *ISBN* 1 84170 199 8, 1-17.
9. CPVO-TP/004/1 23/06/2011
cpvo.europa.eu/en/applications-and-examinations/technical.../technical-protocols
10. **Humphreys, M.W., R.S. Yadav, A.J. Cairns, L.B. Turner, J. Humphreys, L. Skøt**, 2006. A changing climate for grassland research. New Phytol., 169, 9-26.
11. **Humphreys, M.W., U. Feurstein, M. Vandewalle, J. Baert**, 2010. Raygrasses. In: B. Boller et al. (eds.) Fodder Crops and Amenity Grasses, Handbook of Plant breeding 5, Springer Science Business Media, LLC 2010, 211-260.
12. **Jenkin, T.J.**, 1949. Selecting new grasses for breeding. Research 2:502–506. Butterworths Scientific Publications Ltd, London.

13. **Jensen, B.K., K.H. Asay and B. L. Waldron**, 2001. Dry Matter Production of Orchardgrass and Perennial Ryegrass at Five Irrigation Levels, *Crop Sci*. 41, 479-487.
14. **Jung, G. A., A.J.P. Van Wijk, W.F. Hunt, C.E. Watson**, 1996. Ryegrasses In: L. E. Moser et al. (ed.) Cool - season forage grasses. Agron. Monog. 34 ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, 605-641.
15. **Katova, A.**, 2005. Evaluation of Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.) Local Populations: Forage and Seed Productivity, *Plant Science*, 42, 80– 85, Vol. XLII, № 1
16. **Katova, A.**, 2005a. Study of morphological traits, biological properties and agricultural value of plant germplasm of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) with a view to breeding, *Abstract of Thesis for Doctor* (PhD), Pleven, 44p.
17. **Katova, A.**, 2011. New perennial ryegrass variety (*Lolium perenne* L.) IFK Harmoniya. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 14(4), 721-739.
**18. Katova, A.**, 2015a. Development of tetraploid perennial ryegrass varieties I. Colchicine treatment. In: Proceedings of the Union of Scientists – Ruse, *Agrarian and veterainary Sciences*, 7(3), 83-89.
19. **Katova, A.**, 2015b. Development of tetraploid perennial ryegrass varieties II. Flow cytometric analyses, In: Proceedings of the Union of Scientists – Ruse, *Agrarian and veterainary Sciences*, 7(3), 90-95.
20. **Katova, A.**, 2017. Forage yield and its elements in competitive variety testing of tetraploid perennial ryegrass. *Field Crops Studies* (in press).
21. **Katova, A., J. Baert and D. Reheul**, 2016. Comparative characteristics of newly developed perennial ryegrass varieties in Bulgaria, Breeding in a World of Scarcity: In Proceedings of the 2015 Meeting of the section of "Fodder crops and amenity grasses" of Eucarpia, Ghent, edited by Isabel Roldán-Ruiz, Joost Baert, Dirk Reheul, Springer, Switzerland, 2016, 35-40. DOI 10.1007/978-3-319-28932-8, Print ISBN 978-3-319-28930-4, Online ISBN 978-3-319-28932-8, Publisher Springer International Publishing, Copyright Holder Springer International Publishing Switzerland.
22. OECD, 2017, Grasses and Legumes variety list, 25-49.
23. Official bulletin of Patent Office of The Republic Bulgaria, № 2/ 26.02.2010, 58 p.
24. **Peeters A.**, 2004. Wild and Sown Grasses. Publ. FAO, Rome, 2004, pp.311.
25. **Shpakov, A.S., L.S. Trofimova, A. A. Kutuzova, Z. C. Schamsudinov, A. I. Fitsev and N.I. Georgnady**, 2002. Adaptive forage production: problems and decisions, Moskva, FGNU "Rossinformagroteh", 524.
26. **Sokolovic, D., Z. Tomic, and S. Babic**, 2010 Perennial Forage grasses breeding in Serbia: Achievements, limits and prospects, Biotechnology in Animal Husbandry, 25 (spec. issue), Institute for Animal Husbandry, Belgrade - Zemun, 91-106.
27. **Sokolović, D., J. Radović and Z. Tomić**, 2011. Perennial forage grasses, from breeding to healthy ruminant feed, Biotechnology in Animal Husbandry 27 (3), 599-614.
28. **Stapledon, R.G. and W. Davies**, 1941. Ley farming. Faber and Faber Limited 24 Russell Square, London.
29. **Stoeva, K.**, 2010. Strandja – new perennial ryegrass, *Plant Science*, 47(2), 190-192 (Bg).
30. **UPOV,** 2006 TG/4/8 Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability (DUS) of Ryegrass, 26 p.
31. **Wilkins, P.W. and J.A. Lovatt**, 2010. Gains in dry matter yield and herbage quality from breeding perennial ryegrass, In: Grasses for the future, International Conference, Teagasc, 14-15.10.2010, 43-50.

*Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (1), 123-134* ISSN 1311-0489 (Print)
*Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan* ISSN 2367-8364 (Online)

# Терамис – нов тетраплоиден сорт пасищен райграс (*Lolium perenne* L.)

Анелия Кътова

*Институт па фуражните култури, 5800 Плевен, България*
*E-mail: katova66@abv.bg*

# Tetramis – new tetraploid perennial ryegrass variety (*Lolium perenne* L.)

Aneliya Katova

*Institute of Forage Crops, 5800 Pleven, Bulgaria*

## РЕЗЮМЕ

През периода 2000-2014 г. в Институт по фуражните култури -Плевен е създаден новият сорт пасищен райграс Тетрамис – тетраплоиден, много ранен, високопродуктивен, екологично стабилен (зимоустойчив и толерантен на засушаване) и дълготраен. Създаден е по методите: индуцирана полиплоидия на местна селекционна популация, флоуцитометричен скрининг и фенотипен отбор на тетраплоиди, последван от поликрос (множествена хибридизация) на 52 елитни генотипове пасищен райграс и репродукция до $C_4$ генерация. Сортът е многофункционален, подходящ е за пасищно, сенокосно-пасищно и декоративно направление на използване, самостоятелно или в смески с люцерна и бяла детелина за фураж, или с червена власатка за декоративни и спортно-технически тревостои. Представени са резултатите от успешно конкурсно сортово изпитване (КСИ) в Плевен (2007-2009 г.) общо 19769,7 kg ha $^{-1}$ добив суха маса и средногодишно 6589.9 kg ha $^{-1}$, и Официално държавно сортоизпитване за биологични и стопански качества (БСК) в три пункта

## SUMMARY

During the period 2000 - 2014, at the Institute of Forage Crops - Pleven the new tetraploid perennial ryegrass variety Tetramis – very early, highly productive, environmentally stable (winter hardy and tolerant to drought) and persistent was created. It is based on methods, induced polyploidy of the local breeding population, flow cytometric screening and phenotypic selection of tetraploids followed by polycross (multiple hybridization) of 52 elite genotypes perennial ryegrass and reproduction to C 4 generation.

The variety is multifunctional, suitable for pasture, hay-pasture and decorative direction of use, alone or in mixtures with alfalfa and white clover to feed or red fescue for ornamental and sport-technical swards.

The results of a successful competitive variety trial (CVT) in Pleven (2007-2009) a total of 19769,7 kg ha $^{-1}$ dry matter yield and annual average 6589.9 kg ha $^{-1}$, and official state variety testing for cultivation and use (VCU) in three points (Chepinci, Plovdiv and Selanovtsi) with an average

(Чепинци, Пловдив и Селановци) със средногодишен добив суха маса 13549.7 kg ha $^{-1}$, и за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) в 1 пункт (Чепинци) на Изпълнителна Агенция за сортоизпитване, апробация и семеконтрол (ИАСАС) (2014-2016 г.), както и описание на сорт Тетрамис. Сортът ще бъде регистриран в Официалната сортова листа (ОСЛ) на България за 2018 г., в OECD листа за 2018 г. и в Общия Европейски каталог на сортове селскостопански култури за 2018 г., очаква се сертификат от Патентно Ведомство на Република България от 2017 г.

**Ключови думи:** пасищен райграс, нов тетраплоиден сорт, описание, БСК, РХС

yield of dry mass of 13549.7 kg ha $^{-1}$, and distinctness, uniformity and stability (DUS) at 1 point (Chepinci) Executive Agency for Variety and Seed (IASAS) (2014-2016) and a description of the variety Tetramis are presented.

The variety will be registered in the Official Variety List (OVL) of Bulgaria for 2018, in the OECD list for 2018 and in the common European catalog of varieties of agricultural crops for 2018, is expected certificate from the Patent Office of the Republic of Bulgaria in 2017.

**Key words**: perennial ryegrass, new Bulgarian tetraploid variety, description, VCU, DUS

## УВОД

Пасищният райграс (*Lolium perenne* L.) е най-разпространената многогодишна житна трева в цял свят в умерените райони, заради съчетаването на висока смилаемост и толерантност на изпасване. Основна цел на селекцията за селскостопанското му използване е повишаване на общия и сезонен добив суха биомаса, дълготрайност, толерантност на суша и студ, листни болести и адекватен добив на семена. Освен за фураж се използва широко за декоративни и спортно технически цели (Wilkins, 1991, Humphreys et al. 2010). Изпитаните до сега у нас чуждестранни сортове пасищен райграс са в повечето случаи високо продуктивни, но със слаба приспособимост към нашите условия за развитие, не дълготрайни и са неподходящи за пряко внедряване в производството (Katova, 2005; 2016; 2017).

Многооткосността и многогодишността на пасищния райграс са важни предпоставки за формирането на общата продукция вегетативна маса за целия период на използване на тревостоя. Той е подложен целогодишно, и по години, на влиянието на факторите

## INTRODUCTION

Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) is the most common perennial grass in the world in moderate areas because of the combination of high digestibility and tolerance of grazing. The main objective of the breeding for its agricultural use is to increase the total and seasonal yield of dry biomass, durability, tolerance of drought and cold, leaf diseases and adequate seed yield.

Except for fodder it is widely used for decorative and sporting technical purpose (Wilkins, 1991, Humphreys et al. 2010). The foreign varieties tested in our country in most cases were high productive but have slight adaptability to our agro-climatic conditions, weren't persistent and not suitable for direct introduction in agricultural practice (Katova, 2005; 2016; 2017).

Multi-cutting and perenniality of English ryegrass are important prerequisites for accumulation of the total production of vegetative mass for whole period of using the sward. Perennial ryegrass is under the influence of the environmental factors often with stressful

на околната среда, с чести стресови ситуации (Casler, 2001). Устойчивостта на популацията към неблагоприятните фактори на местните екологични условия е от голямо значение за продуктивността и дълготрайността. България се намира в Средиземноморският генцентър, където е възникнал вида. Тук, в природните популации, има генотипове, които съчетават устойчивост към неблагоприятни условия на средата с висок потенциал за продуктивност и добивност. Създаването на нови сортове се постига главно чрез хибридизация, рекурентен отбор, поликрос или приложение на полиплоидия (Connolly, 2001; Humphreys, 2006; Boller et al., 2010; Katova, 2011; 2016).

Тетраплоидизацията се прилага широко при съвременните сортове в световен мащаб, а в ИФК – Плевен този метод се прилага в селекционните програми от 2000 г., като след дълготрайни селекционен процес (15-17 г.) се изпитват и първите тетраплоидни сортове пасищен райграс в България (Katova, 2016; 2017; Katova et al., 2016).

Целта е създаване на нов тетраплоиден сорт пасищен райграс, провеждане на сортоизпитвания (БСК и РХС) и описание.

situation during the year, for many years. (Casler, 2001). The population resistance to unfavorable factors of local ecological conditions has great importance for productivity and persistency. Bulgaria is situated in Mediterranean gene center were the species was originated. Here, in natural populations there are genotypes, which combined resistance to unfavorable environmental conditions with high potential for productivity and yielding. Creating new varieties is achieved mainly by hybridization, recurrent selection, polycross and application of induced poliploidization (Connolly, 2001; Humphreys, 2006; Boller et al., 2010; Katova, 2011; 2016).

The tetraploidization is widely applied in modern varieties worldwide, and in IFC - Pleven this method is applied in the breeding programs since 2000, and after a long selection process (15-17 years) the first tetraploid varieties of perennial ryegrass in Bulgaria are tested (Katova, 2016; 2017; Katova et al., 2016).

The aim is to create a new tetraploid variety of perennial ryegrass, to carry out variety tests (VCU and DUS) and description.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Селекционният процес (2000-2014 г.) включва:

2000 г. – Третиране с колхицин на селекционна популация с местен произход х 2000 семена – поници за 1-2 месеца. Преживяемост - % живи растения – от 10 до 50 % и скрининг на 4 х растения чрез Флоуцитометър – от тях 5-10 % - тетраплоиди, Потомства на 52 родителски генотипове $C_1$ – 265 – 4х , (Katova, 2015 a; b).

2001 г. – засаждане на полето – в поликроси при изолация със зимна ръж;

2002 г. – първи семена от тетраплоидните растения $C_1$ – SBG – 560,62g, Скрининг за плоидно ниво;

2003 г. – разсад – размножение при изолация;

## MATERIAL AND METHODS

Breeding process (2000-2014) by years included:

2000 – Treatment by colchicine of breeding population with local origin (2000 seeds) – seedlings for 1-2 months. Survival % alive plants – from 10 to 50 % and screening for 4x plants by Flowcytometer – from them 5-10 % – tetraploids; progenies of 52 parental plants (genotypes) - $C_1$ – 265 individual plants – 4x , (Katova, 2015 a; b).

2001 – field establishment – in polycrosses under isolation with winter rye;

2002 – first seeds from tetraploid plants - $C_1$ – SBG – 560,62 g. Screening for ploidy level;

2003 – seedlings – multiplication under isolation;

2004 г. – $C_2$ семена;

2005 г.– скрининг за плоидно ниво- $C_3$ – 100% - тетраплоиди;

2007 г. – $C_4$ проверка на плоидност– 100% - тетраплоиди;

2007 г. до 2009г.– Конкурсен сортов опит (КСО);

2011 г. – ПР – 2012 г. и 2013 г. – първи семмена на селекционера за заявяване и сортоизпитване през 2014 г.

Селекционният процес е осъществен чрез приложение на съвременни селекционни методи (индуцирана полиплоидия, флоуцитометрия, поликрос и изпитване на генеративните потомства по комплекс признаци – тандем селекция „висока продуктивност – екологична стабилност) → сортоизпитване → нов сорт → авторски семена и високи категории семена.

Експерименталният растителен материал е проучен по многобройни признаци (количествени и качествени), показатели и свойства, по методиките на UPOV. За обработка на данните е използван статистически метод – вариационен анализ ANOVA, съвременни програмни продукти и калкулационни таблици на Excel. За комплексна оценка при селекцията са използвани: Международния класификатор за проучване на колекции от семейство *Poacea* (Buktheeva *et al*., 1985); технически въпросници за РХС и БСК по UPOV - TG/4/7/ (UPOV, 1990), TG/35/13/ (UPOV, 1999), TG/4/8 (UPOV, 2006), CPVO-TP/004/1 Final English Date: 23/06/2011.

Районът на проучването Плевен, където е изведен КСО за фураж, съчетава климатичните особености на Централна Северна България – умерено континентална област. За периода 1964–2014 г., средногодишната сума на валежите е 578 mm. Средногодишните температури за следващия 15 г. период са по-високи (12,3 °C) от тези за предходния 50-г. период (11,6 ºC), което потвърждава тенденцията към глобално затопляне. През последната декада са отчетени температурни максимуми (46 ºC) за юли и август, а най-студени са януари и февруари, с температури достигащи до -15 -28 ºC. Почвеният тип е излужен черно-

2004 – $C_2$ seeds;

2005 – screening for ploidy level - $C_3$– 100% - tetraploids;

2007 – $C_4$ ploidy check – 100% - tetraploids;

2007 till 2009 – competitive variety testing (CVT);

2011 – sowing of prenatal multiplication (PM) – 2012г. и 2013г. – first Breeder's seeds for application and Official testing.

Breeding process carried out by application of modern breeding methods (induced poliploidization, polycross and progeny testing for complex characteristics – tandem selection „high productivity – ecological stability) → variety testing → new variety → Breeder's seeds and high category seeds.

The experimental plant material was studied for many traits (quantitative and qualitative), characters and properties, according to UPOV methodical guides. For data processing the statistical method ANOVA was applied, modern programmes and calculation tables in Excel were used. International classifier for studying collections from *Poacea* for complex estimation was used (Buktheeva *et al*., 1985); technical questioners for DUS and VCU according to UPOV - TG/4/7/ (UPOV, 1990), TG/35/13/ (UPOV, 1999), TG/4/8 (UPOV, 2006), CPVO-TP/004/1 Final English Date: 23/06/2011.

The region of the study – Pleven, where the competitive variety trial for forage was conducted, combined climatic peculiarities in North Central Bulgaria- temperate continental climate area. Average annual precipitation sum was 550 mm during the period of 1964-2014. Average annual temperatures for the period 2007-2009 were higher (13,3 ºC) to that for previous 50 years period (11,9 ºC), which confirmed the tendency of global warming. During the last decade the temperature maximums for July and August (46 ºC), and minimums for January and February reached to -15 -28 ºC were recorded. The soil type is leached

зем, бедно до средно хумусен, със слабо кисела до неутрална реакция. Тези почвено климатични условия са своеобразен провокационен фон за отбор и адаптация на генетични ресурси към суша и студ.

КСО е заложен на 03 април 2007 г., отчитането на добив суха маса започва през 2007 г. – 1 подраст, 2008 – 3 за българския и 2 за белгийските сортове, 2009 г. – 3 за българския и 2 за белгийските сортове и общо за периода – 7 подраста за фураж за българския и 5 за белгийските варианти, като за стандарт е средно от двата белгийски сорта. Големината на реколтната парцелка е 5 $m^2$ , 3 варианта: SBG (Тетрамис), Roy и Pandora, в 4 повторения; неполивни условия, торене: суперфосфат 200 kg ha $^{-1}$, ежегодно пролет и есен амониева селитра – по N а.в. 60 kg ha $^{-1}$, сеитба – ръчна, сеитбена норма 50 kg ha $^{-1}$, междуредие 12 cm, дълбочина 1,5 cm, валиране, при неполивни условия.

Държавното сортоизпитване за БСК е проведено в три пункта, както следва:

ТЗС – с. Селановци – почвен тип карбонатен чернозем, надморска височина – 168 m, предшественик – угар, големина на реколтната парцелка – 10 $m^2$ , 2 варианта, в 4 повторения, торене суперфосфат – 200 kg ha $^{-1}$, амониева селитра – 80 kg ha $^{-1}$, сеитба – 24.03.2014 г., със сеялка «Саксония», сеитбена норма 25 kg ha $^{-1}$, междуредие 11,5 cm, дълбочина 1,5 cm, валиране. Отчитането на добив суха маса през 2015г. е при 2 откоса и през 2016 г. също 2 откоса, общо 4 откоса при неполивни условия.

ТСЗ - гр. Пловдив почвен тип алувиално ливаден, надморска височина – 166 m, предшественик – пшеница, големина на реколтната парцелка – 10 $m^2$, 2 варианта, в 4 повторения, торене суперфосфат – 300 kg ha $^{-1}$, калиев сулфат 150 kg ha $^{-1}$, амониева селитра – 80 kg ha $^{-1}$, сеитба – 04.04.2014 г., ръчна, сеитбена норма 25 kg ha $^{-1}$, междуредие 12 cm, дълбочина 1,5 cm, валиране. Добив суха маса е отчетен от 4 откоса през 2015 г. и 4 – през 2016 г., общо 8 откоса при поливни условия.

chernozem, poor to medium for humus, with slightly acid to neutral pH reaction. These soil climatic conditions are provoke background for selection and adaptation of genetic resources to drought and cold.

Competitive Variety Trail (CVT) was established on 3 April 2007 and measurement of dry biomass productivity started in 2007 year – 1 cut, 2008 – 3 cut for the Bulgarian and 2 cuts Belgian varieties, 2009 – 3 cut for the Bulgarian and 2 cuts Belgian varieties, and in total for the period - 7 cuts for forage for the Bulgarian and 5 cuts Belgian varieties as standard the average between two Belgian varieties used. Plot size was 5 $m^2$, 3 variants (SBG (Tetramis), Roy, Pandora), 4 replicates; fertilizing: $P_2O_5$ - 200 kg ha $^{-1}$, $K_2O$ - 150 kg ha $^{-1}$, N a.s. – 60 kg ha $^{-1}$, sowing – manual, sowing rate 50 kg ha $^{-1}$, inter row distance 12 cm, depth 1,5 cm, without irrigation.

Official variety testing for VCU was conducted in three locations as follows:

Location Selanovci – soil type carbonate chernozem, above sea level height – 168 m, precursor – set aside, Plot size was – 10 $m^2$, 2 variants, 4 replicates; fertilizing: $P_2O_5$ – 200 kg ha $^{-1}$, N – 80 kg ha $^{-1}$, sowing – 24.03.2014, sowing machine «Saxonia», sowing rate 25 kg ha $^{-1}$, inter row distance 11,5cm, depth 1,5 cm. Reporting of dry mass production in 2015 is at 2 cuts and in 2016 also 2, a total of 4 cuts under non-irrigating conditions.

Location Plovdiv – soil type alluvial lawn, above sea level height – 166 m, precursor – wheat, plot size – 10 $m^2$, 2 variants, 4 replicates, fertilizing: $P_2O_5$ – 300 kg ha $^{-1}$, $K_2O$ 150 kg ha $^{-1}$, N – 80 kg ha $^{-1}$, sowing – manual in 04.04.2014, sowing rate 25 kg $^{1}$, inter row distance 12 cm, depth 1,5 cm. Reporting of dry mass production in 2015 is at 4 cuts and in 2016 also 4, a total of 8 cuts under irrigating conditions.

ТСЗ – с. Чепинци почвен тип алувиално ливаден, надморска височина – 515 m, предшественик – фуражен грах, големина на реколтната парцелка – 10 $m^2$, 2 варианта, в 4 повторения, торене суперфосфат – 250 kg ha $^{-1}$, калиев сулфат 130 kg ha $^{-}$1, амониева селитра – 80 kg ha $^{-1}$, сеитба – 04.04.2014 г., ръчна, сеитбена норма 25 kg ha $^{-1}$, междуредие 13,7 cm, дълбочина 1,5 cm, валиране. Добив суха маса е отчетен от 4 откоса през 2015 г. и 4 – през 2016 г., общо 8 откоса при поливни условия.

Отчитане за БСК (добив на сухо вещество) в трите пункта е през 2015 и 2016 г., като стандарт е включен сорт ИФК Хармония, а за РХС през 2014-2016 г.

Location Chepinci – soil type alluvial lawn, above sea level height – 515 m, precursor – forage pea, plot size – 10 $m^2$, 2 variants, 4 replicates, fertilizing: $P_2O_5$ – 250 kg ha $^{-1}$, $K_2O$ 130 kg ha $^{-}$1, N – 80 kg ha $^{-1}$, sowing – 04.04.2014., manual, sowing rate 25 kg ha $^{-1}$, inter row distance 13,7 cm, depth 1,5 cm. Reporting of dry mass production in 2015 is at 4 cuts and in 2016 also 4, a total of 8 cuts under irrigating conditions.

VCU (dry matter yield) was measured in the three locations during years 2015 and 2016, and for DUS – 2014-2016, as a standard variety IFK Harmoniya is included.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

### I. Описание на пасищен райграс сорт Тетрамис

Сорт Тетрамис е тетраплоиден и е създаден по методите: полиплоидизация на местна селекциона популация, трикратен флоуцитометричен скрининг и отбор на тетраплоиди, поликрос на 52 тетраплоидни елитни генотипове пасищен райграс с местен произход и репродукция до С 4 – поколение.

Растенията на сорт Тетрамис са многогодишни житни с добре развита брадеста коренова система, интензивно братене, с изправен хабитус (бал 1). Сорт Тетрамис образува добре облистени генеративни и вегетативни издънки. Генеративните издънки са с 2,9 mm дебелина на стъблата, гладки, сравнително устойчиви на полягане, с 4-5 броя листа. Облистеността на растенията е 35-43%.

Растенията са високи в начало на изкласяване 65 cm и в пълно изкласяване 88 cm. Листата са линейно плоски, или леко огънати, зелени, гладки и с блясък от долната страна. Езичето е ципесто, средно високо със заострен край. Ушичките са къси и не обгръщат стъблото. Дължината (15-17 cm) и ширината на листа (3-4 mm) са

## RESULTS AND DISCUSSION

### I. Description of perennial ryegrass variety Tetramis

Variety Tetramis is tetraploid and had been developed by the methods: poliploidization of local breeding population, three-fold flow cytometric screening and phenotypic selection of tetraploids followed by polycross (multiple hybridization) of 52 elite genotypes perennial ryegrass and reproduction to C 4 generation.

Tetramis's plants are perennial, with well developed tuft root system, intensive tillering, erect habit (score 1). Variety Tetramis formed many and very leafy generative and vegetative stems. Generative shoots are 2,9 mm width of stems, smooth surface, comparatively lodging resistant, with 4-5 number of leaves.

The plant leafness is 35-43%. Plants are tall in height at the beginning of heading 65 cm and in full heading 88 cm. Leaves are linear flat or slightly curve, light green, smooth and have brightness in lower surface. The tong is membranous, medium in height with sharp edge. Auricles are short and they do not blank the stem. The length (15-17 cm) and width of the leaves (3-4 mm) are

средни до големи по размер. Съцветието е клас с дължина 22-29 cm и брой класчета в клас – 21-23. Семената са продълговати, лодкообразни. Масата на 1000 семена е 3,71-4,89 g.

Растенията на сорт Тетрамис отрастват много рано напролет при затопляне на почвата до 3-4 °C и продължават вегетацията си до първите мразове. Към 10 април се достига пасищна зрелост (височина на тревостоя 25-30 cm). Сортът устоява на чести коситби и паша. Сорт Тетрамис е много ранен – фенофаза изкласяване се наблюдава от 26-30 април. Отличава се с по-голяма дълготрайност от интродуцираните сортове, зимоустойчивост и толерантност към засушаване и високи летни температури, толерантност на листни болести – коронеста ръжда (Бал 7-9).

Добивът на сено е средно 8000-10000 kg ha $^{-1}$, а на семена 700-900 kg ha $^{-1}$.

Биомасата е с най-висока хранителна стойност в сравнение с останалите многогодишни житни треви – съдържание на СП – 17%, съдържание на водоразтворими захари – 6-8 % и смилаемост 70 – 75 %.

Сорт Тетрамис е подходящ за създаване на ливади и пасища и озеленяване. Може да участва като компонент на сенокосни и пасищни смески с бобови видове, в пасищни смески с диплоидни сортове райграс, а за декоративни цели в смески с червена власатка.

**II. Резултати от КСО тетраплоиден пасищен райграс, вкл. SBG (Тетрамис), ИФК - Плевен, 2007-2009 г.**

Проучваните варианти са един кандидат сорт SBG (Тетрамис) и 2 белгийски сортове при среден стандарт от тях (Roy и Pandora). За три годишния период (2007-2009 г.) по методика за БСК в Таблица 1 са представени данните за добив суха биомаса общо и средно за периода и като процент спрямо среден стандарт.

medium to long in size. Inflorescence is spike with length 22-29 cm and number of spikelets per spike are 21-23. Seeds are elongate, boat-like. Thousand seed weight (TSW) is 3,71-4,89 g.

Plants grow up very early in spring when soil temperature is 3-4 °C and continued vegetation till the first frosts. Pasture stage (maturity) reached till 10 April (height of the stand 25-30 cm).

The variety persist mani cuttings and grazing. Tetramis is very early heading is between 26-30 April. This variety differs to introduced foreign varieties with higher persistency, winter hardiness and tolerance to drought and high summer temperatures, tolerance to leaf diseases – crown rust (score 7-9).

Average dry matter yield is 8000-10000 kg. ha $^{-1}$, and seed yield 700-900 kg. ha $^{-1}$.

Biomass has the highest nutritive value in comparison to the other perennial grass species – crude protein content – 17 %, water soluble carbohydrates content – 6-8 % and in vitro dry matter digestibility 70-75 %.

The variety Tetramis is multifunctional, suitable for pasture, hay-pasture and amenity direction of use, in pure stands or in mixtures with legumes, and also with diploid perennial ryegrass for forage, or with red fescue for ornamental and sports fields, with high percent of density.

**II. Results from Competitive Variety trial (CVT) with perennial ryegrass, including SBG Tetramis (Tetramis), IFC - Pleven, 2007-2009**

The variants of the study are one candidate variety SBG (Tetramis), and two Belgian reference – standard varieties average from them (Roy and Pandora). For the three-year period (2007-2009) according to the VCU methodology in Table 1 are presented the data on the production of dry biomass total and average for the period and as a percentage relative to the average standard.

С най-висок общ добив суха маса е SBG – 19769,7 kg ha $^{-1}$ и средно-годишно 6589,9 kg ha $^{-1}$. Превишението спрямо посочения среден стандарт е 45 % за SBG.

Разпределението на добив суха маса по години, в дял, % от общия добив за периода на проучването, приет за 100% е както следва: в годината на създаване на тревостоите делът на добива е от 17,5% за пасищен райграс SBG, до 27,4% при сорт Roy. През втората година се постига максимална продуктивност за всички варианти, като делът от общата продуктивност варира от 61,3 % за SBG до 69,5% за пасищен райграс сорт Pandora. Добивът като дял от общата продуктивност през третата година е най-висок при SBG 21.2 %, а при белгийските най-нисък за целия период 11,1% за Pandora и 12, 2% за Roy. Сортовете имат различна стратегия за многогодишност и се различават по броя на откосите и разпределението на добива.

The highest total yield is the SBG (19769,7 kg ha $^{-1}$) and the annual average is 6589,9 kg ha $^{-1}$. The excess over the specified average is 45% for the SBG.

The distribution of dry mass production per year, per share, of the total yield for the survey period, accepted as 100%, is as follows: in the year of establishment of the swards, the share of the yield is 17.5% for perennial ryegrass SBG, up to 27,4% for Roy variety. In the second year, maximum productivity is achieved for all variants, with a share of total productivity ranging from 61.3% for SBG to 69.5% for Pandora perennial ryegrass.

The yield as a share of total productivity in the third year is highest for SBG 21,2% and for Belgian the lowest for the whole period 11.1% for Pandora and 12,2% for Roy. Varieties have a different multi-year strategy and differ in the number of cuts and distribution of yields.

**Таблица 1. Резултати от КСО пасищен райграс, вкл. SBG (Тетрамис), ИФК - Плевен, 2007-2009 г.**

**Table 1. Results from Competitive Varietal Trail, including SBG (Tetramis), IFC - Pleven, 2007-2009**

| Вариант Variant | Добив сухо вещество / Dry matter yield kg.ha $^{-1}$ | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2007 | 2008 | 2009 | Общо Total | | Средно годишно Annual average | | % against St (2+3) |
| 1. SBG (Tetramis) | 3464.5 | 12121.6 | 4183.6 | **19769.7** | | **6589.9** | | **145** |
| 2. Roy | 4142.0 | 9150.3 | 1849.9 | 15142.2 | **13671.9** | 5047.4 | **4557.3** | 111 **10** |
| 3. Pandora | 2371.0 | 8477.0 | 1353.6 | 12201.6 | | 4067.2 | | 89 |
| Average | 3325.8 | 9916.3 | 2462.4 | 15704.5 | | 5234.8 | | |
| STDEV | 893.6 | 1939.3 | 1511.2 | 3815.3 | | 1271.8 | | |
| P 0.1% | 848.6 | 1841.7 | 1435.1 | 3623.2 | | 1207.7 | | |
| P 0.01% | 1328.9 | 2884.0 | 2247.3 | 5673.9 | | 1891.3 | | |

С най-висок добив на фураж се отличава SBG в резултат на най-големия брой откоси и най-равномерно разпределение по сезони през годините. Белгийските сортове имат по-малка дълготрайност при нашите условия, по-нисък добив на фураж, формират по-малък брой откоси, тъй като продуктивността на фураж се влияе силно от условията на средата, а те са селекционирани при условия, характеризиращи се с различни стойности

The highest yield of fodder is SBG as a result of the largest number of cuts and the most even distribution over seasons over the years. Belgian varieties have less longevity under our conditions, lower forage yields, a smaller number of cuts, as feed productivity is strongly influenced by environmental conditions and they are selected under conditions characterized by different values of temperatures and precipitations (Katova, 2017). The tendency

на температурите и валежите (Katova, 2017). Потвър-ждава се тенденцията, че местните форми са по-високопродуктивни и дълготрайни от интродуцираните (Katova, 2005; Katova et al., 2016).

**III. Резултати от официалното държавно сортоизпитване за биологични и стопански качества (БСК) за добив суха маса kg.ha $^{-1}$ (2015-2016)**

След ускорено размножение на семената на селекционера за сорт Тетрамис и попълване на техническите въпросници е направена заявка за сертифициране и сортоизпитване. За БСК резултатите са представени в Таблица 2 по пунктове, години и средно за 3 пункта и две години (в екологична мрежа) и са сравнени със стандарта (ИФК Хармония–100%).

that local forms are higher productive and more persistent in comparison with introduced varieties was confirmed (Katova, 2005; Katova et al., 2016).

**III. Results from Official national variety testing for Value of Cultivation and Use (VCU) for dry matter yield kg.ha $^{-1}$ (2015-2016)**

After accelerated multiplication of original Breeder's seeds of the variety IFK Harmoniya and fulfill technical questioners the application for certification and variety testing was done. Results from VCU test are presented on Table 2 for locations, years and average from three locations and two years (in ecological net) and comparison with standard (IFK Harmoniya).

**Таблица 2. Резултати от официалното държавно сортоизпитване за биологични и стопански качества (БСК) за добив суха маса kg ha $^{-1}$ (2015-2016)**

**Table 2. Results from the National Official varietal testing for VCU, dry matter yield kg.ha -1 (2015-2016)**

| ТЗС Location | Чепинци Chepinci | | Пловдив Plovdiv | | Селановци Selanovci | | Средно от 3 пункта Average from 3 locations | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Години Years / Сорт Variety | 2015 | 2016 | 2015 | 2016 | 2015 | 2016 | 2015 | 2016 | Средно Average 2015-2016 |
| 1. ИФК Хармония IFK Harmoniya - St | 17095.0 100% | 12462.5 100% | 6082.5 100% | 4305.0 100% | 7977.3 100% | 17640.5 100% | 10384.9 100% | 11469,3 100% | **10927.1 100%** |
| 2. Тетрамис Tetramis | 20117.5 122% | 15947.5 128% | 61425.0 101% | 4590.0 106.6% | 10643.0 133% | 23157.8 131.3% | 12534.4 120.7% | 14565,0 127% | **13549.7 123.9%** |
| GD 5% | 320.6 | 363.9 | 287.1 | 96.4 | 154.9 | 864.1 | | | |
| GD 1% | 460.7 | 522.9 | 417.5 | 138.4 | 222.6 | 1241.6 | | | |
| GD 0.1% | 677.7 | 769.2 | 606.8 | 203.6 | 327.5 | 1826.5 | | | |
| Точност на опита, % Accuracy of trail,% | 0.54 | 0.84 | 1.44 | 0.67 | 0.53 | 1.38 | | | |

В пункт Селановци на почвен тип карбонатен чернозем са получени най-високи добиви на фураж в сухо вещество от сорт Тетрамис за 2015 г. при 31,3 % превишение спрямо стандарта и за 2016– с 33,0 %. В пункт Чепинци са получени високи добиви от новия сорт, като по години превишението спрямо стандарта е 22% през 2015 г и 28% през 2016 г. В третия пункт Пловдив превишението на добива е от 1 до 7 %. Средната

The highest dry matter yield was obtained in location Selanovci, soil type carbonate chernozem where for 2015 year DMY of Tetramis exceeded standard by 31,3 % and for 2016 by 33,0%. In Chepintsi, high yields of the new variety have been obtained, with years exceeding the standard by 22% in 2015 and by 28% in 2016. In the third place Plovdiv exceeds the yield from 1 to 7%. Average value of dry matter yield of Tetramis for the period and

стойност по добив суха маса за Тетрамис за периода и пунктовете е 13549.7 kg.ha $^{-1}$ и превишава стандарта (10927,1 kg.ha $^{-1}$) с 23,9%, което определя сортът като високо продуктивен за този географски район като сравним новорегистрирания сръбски сорт пасищен райграс К-11 със средногоди-шен добив сухо вещество 10760 kg.ha $^{-1}$ (Sokolovic et al., 2010; 2011).

**IV. Резултати от официалното държавно сортоизпитване за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) за периода 2014-2016 г.**

Резултатите за РХС (Таблица 3) са от 1 пункт – ТСЗ Чепинци в продължение на 3 години и са еднопосочни, съответни на описанието на автора. Плоидното ниво е определено от автора флоуцитометрично в Институт по генетика и селекция – Мелле, Белгия през 2000, 2002, 2005 и 2007 г. Сортът е нов оригинален, хомогенен и стабилен и се различава от сортовете еталони. Основните признаци са отчетени в Таблица 3 с изява и бал.

locations was 13549.7 kg.ha $^{-1}$ and exceeded standard (10927,1 kg.ha $^{-1}$) by 23,9%, which determined the variety as high productive for this geographical region, without irrigation. For comparison the new Serbian variety of perennial ryegrass K-11 has annual average dry matter yield 10760 kg.ha $^{-1}$ (Sokolovic et al., 2010, 2011).

**IV. Results from Official national variety testing for Distinctness, Uniformity and Stability (DUS) for 2014-2016 period**

Results for DUS (Table 3.) were obtained from one location – Chepinci in 3 years period and they were unidirectional, corresponding the author's description. Ploidy level was determined by the author using flowcytometric method in Institute of Genetics and Plant breeding, Melle, Belgium in 2000, 2002, 2005 and 2007. The variety Tetramis is new, original, uniform and stable and differs from reference varieties. Main characters are measured and presented in Table 3 with expression and score.

**Таблица. 3. Резултати от официалното държавно сортоизпитване за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) за периода 2014 – 2016 г.**
**Table 3.Results of national official varietal testing for distinctness, uniformity and stability (DUS) for the period 2014 -2016**

| № | Сорт / Variety | Тетрамис / Tetramis | |
|---|---|---|---|
| | Признаци / Characteristics | Изява / Expression | Бал / score |
| 1. | Плоидност / Ploidy | Тетраплоид / Tetraploid | 4 |
| 2. | Растение: хабитус през есента / Plant: habitus in the autumn | Изправен / Erect | 1 |
| 3. | Тенденция към образуване на съцветие в год. на засяване Tendency to form inflorescence in sowing year | Липсва / Absent | 1 |
| 4. | Време на поява на съцветие в годината на засяване Time of inflorescence appearance in the year of sowing | - | - |
| 5. | Лист: цвят / Leave: color | Зелен / Green | 5 |
| 6. | Растение: хабитус през пролета / Plant: habitus in spring | Изправено / Erect | 1 |
| 7. | Растение: естествена височина през пролета Plant: natural height in spring | много високо / Very tall | 9 |
| 8. | Време на поява на съцветие през втората година Time of heading in the second year | много рано / Very early | 1 |
| 9. | Растение: естествена височина при поява на съцветията Plant: natural height during inflorescences appearance | много високо / Very tall | 9 |
| 10. | Флагов лист: дължина / Flag leave: length | Дълъг / Long | 7 |
| 11. | Флагов лист: ширина / Flag leave: width | Широк / Wide | 7 |
| 12. | Стъбло: дължина на най-дългото стъбло (вкл. и съцветието, когато е напълно развито) / Stem: length of the longest stem (including inflorescence when is fully expended) | много Дълго / very long | 9 |
| 13. | Съцветие: дължина (когато е напълно развито) Inflorescence: length (when is fully developed) | Дълго / Long | 7 |
| 14. | Съцветие: брой на класчетата Inflorescence: number of spikelets | Много / Many | 7 |

## ИЗВОДИ

Създаден е нов сорт пасищен райграс Тетрамис – тетраплоиден, много ранен, високопродуктивен, екологично стабилен (зимоустойчив и толерантен на засушаване) и дълготраен. Приложени са методите: индуцирана полиплоидия на местна селекционна популация, флоуцитометричен скрининг и фенотипен отбор на тетраплоиди, последван от поликрос (множествена хибридизация) на 52 елитни генотипове пасищен райграс и репродукция до $C_4$ генерация. Сортът е многофункционален, подходящ е за пасищно, сенокосно-пасищно и декоративно направление на използване, самостоятелно или в смески с люцерна и бяла детелина за фураж, или с червена власатка за декоративни и спортно-технически тревостои. Представени са резултатите от успешно конкурсно сортово изпитване (КСО) в Плевен (2007-2009г.) общо 19769,7 kg ha $^{-1}$ добив суха маса и средногодишно 6589.9 kg ha $^{-1}$, и Официално държавно сортоизпитване за биологични и стопански качества (БСК) в три пункта (Чепинци, Пловдив и Селановци) със средногодишен добив суха маса 13549.7 kg ha $^{-1}$, и за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) в 1 пункт (Чепинци) на Изпълнителна Агенция за сортоизпитване, апробация и семеконтрол (ИАСАС) (2014-2016 г.), както и описание Тетрамис. Сортът ще бъде регистриран в Официалната сортова листа (ОСЛ) на България за 2018 г., в OECD листа за 2018 г. и в Общия Европейски каталог на сортове селскостопански култури за 2018 г., очаква се сертификат от Патентно Ведомство на Република България от 2017 г.

На този етап след сертифициране има необходимите количества оригинални семена на селекционера за зареждане на системата за семепроизводство.

В ИФК ще се произвеждат високите категории семена ПБ и Б, има голямо потребителско търсене – предстои внедряване и реализация.

## CONCLUSIONS

New Bulgarian tetraploid perennial ryegrass variety Tetramis – very early, highly productive, environmentally stable (winter hardy and tolerant to drought) and persistent was created. It is based on methods, induced polyploidy of the local breeding population, flow cytometric screening and phenotypic selection of tetraploids followed by polycross (multiple hybridization) of 52 elite genotypes perennial ryegrass and reproduction to C 4 generation. The variety is multifunctional, suitable for pasture, hay-pasture and decorative direction of use, alone or in mixtures with alfalfa and white clover to feed or red fescue for ornamental and sport-technical swards. The results of a successful competitive variety trial (CVT) in Pleven (2007-2009) a total of 19769,7 kg ha $^{-1}$ kg ha $^{-1}$ dry matter yield and annual average 6589.9 kg ha $^{-1}$, and official state variety testing for cultivation and use (VCU) in three points (Chepinci, Plovdiv and Selanovtsi) with an average yield of dry mass of 13549.7 kg ha $^{-1}$, and distinctness, uniformity and stability (DUS) at 1 point (Chepinci) Executive Agency for Variety and Seed (IASAS) (2014 - 2016) and a description of the variety Tetramis are presented.

The variety will be registered in the Official Variety List (OVL) of Bulgaria for 2018, in the OECD list for 2018 and in the common European catalog of varieties of agricultural crops for 2018, is expected certificate from the Patent Office of the Republic of Bulgaria in 2017.

At this stage after Certification there are necessary quantities of original breeder's seed to set up seed production system.

In Institute of Forage Crops the high category PB and B seeds are producing. There is high consumer's demands – forthcoming implementation and realization.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES


1. **Boller, B., Posselt, U.K. and Veronesi (Eds.)**, 2010. Handbook of Plant Breeding 5, Fodder Crops and Amenity Grasses , Springer Science+Business Media, LLC.
2. **Bukhteeva, A.V., Z.P. Shutova, V.A. Korneichuk, V. Vatsek, B. Krcmar, I. Bares, L. Horvat, B Osinsky, E. Kelner, M. Neaggu**, 1985.The International Comecon List of Descriptors for the family Poacea. USSR, Leningrad, 22-46.
3. **Casler, M.D.**, 2001. Breeding perennial grasses for abiotic stress tolerance, In: P.Monjardino, A. da Camara Machado, V. Carnide (eds.): Breeding for stress tolerance in fodder crops and amenity grasses; Department of Agricultural Science, University of Azores, Terceira, 119-125.
4. **Connolly, V.**, 2001. Breeding improved varieties of perennial ryegrass, End of project report 3495. Dublin, Ireland, TEAGASC, ISBN 1 84170 199 8, 1-17.
5. CPVO-TP/004/1 23/06/2011.
cpvo.europa.eu/en/applications-and-examinations/technical.../technical-protocols
6. **Humphreys, M.W., R.S. Yadav, A.J. Cairns, L.B. Turner, J. Humphreys, L. Skøt**, 2006. A changing climate for grassland research. New Phytol. 169, 9-26.
7. **Humphreys, M.W., U. Feurstein, M. Vandewalle, J. Baert**, 2010. Raygrasses. In: B. Boller et al. (eds.) Fodder Crops and Amenity Grasses, Handbook of Plant breeding 5, Springer Science Business Media, LLC, 211-260.
8. **Katova, A**., 2005. Study of morphological traits, biological properties and agricultural value of plant germplasm of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) with a view to breeding. Abstract of Thesis for Doctor (PhD), Pleven, pp. 44.
9. **Katova, A.**, 2011. New perennial ryegrass variety (*Lolium perenne* L.) IFK Harmoniya. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 14(4), 721-739.
**10.** **Katova, A.**, 2015 a. Development of tetraploid perennial ryegrass varieties I. Colchicine treatment. In: Proceedings of the Union of Scientists – Ruse, *Agrarian and veterainary Sciences*, 7(3), 83-89.
11. **Katova, A.**, 2015 b. Development of tetraploid perennial ryegrass varieties II. Flow cytometric analyses. In: Proceedings of the Union of Scientists – Ruse, *Agrarian and veterainary Sciences*, 7(3), 90-95.
12. **Katova, A.**, 2017. Forage yield and its elements in competitive variety testing of tetraploid perennial ryegrass. *Field Crops Studies* (in press).
13. **Katova, A., Baert, J. and D. Reheul**, 2016. Comparative characteristics of newly developed perennial ryegrass varieties in Bulgaria, *Breeding in a World of Scarcity*: Proceedings of the 2015 Meeting of the section of “Fodder crops and amenity grasses” of Eucarpia, Ghent, edited by Isabel Roldán-Ruiz, Joost Baert, Dirk Reheul, Springer, Switzerland, 2016, 35-40. DOI 10.1007/978-3-319-28932-8, Print ISBN 978-3-319-28930-4, Online ISBN 978-3-319-28932-8, Publisher Springer International Publishing, Copyright Holder Springer International Publishing Switzerland.
14. **Sokolovic, D., Z. Tomic and S. Babic**, 2010. Perennial Forage grasses breeding in Serbia: Achievements, limits and prospects, Biotechnology in Animal Husbandry, 25 (spec. issue), Institute for Animal Husbandry, Belgrade - Zemun, 91-106.
15. **Stapledon, R.G. and W. Davies**, 1941. Ley farming. Faber and Faber Limited 24 Russell Square, London.
16. **UPOV**, 2006 TG/4/8 Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability (DUS) of Ryegrass, pp. 26.
17. **Wilkins, P.W. and J.A. Lovatt**, 2010. Gains in dry matter yield and herbage quality from breeding perennial ryegrass, In: Grasses for the future, International Conference, Teagasc, 14-15.10.2010, 43-50.

*Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (1), 135-147*
*Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan*
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

# Химичен състав, смилаемост и хранителна стойност на пасищен райграс

Анелия Кътова*, Йорданка Найденова

*Институт по фуражните култури, ул. „Генерал Владимир Вазов“ 89, 5800 Плевен, България*
**E-mail: katova66@abv.bg*

# Chemical composition, digestibility and feeding value of perennial ryegrass

Aneliya Katova*, Yordanka Naydenova

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

## РЕЗЮМЕ

Оценено е качеството на фуража по химичен състав, смилаемост и енергийна и протеинова хранителна стойност на 21 образци от колекции КП1 и КП2 пасищен райграс (*Lolium, perenne* L.), в това число български и интродуцирани екотипове и сортове от пролетен, летен и есенен подрасти в полски опит в Институт по фуражните култури, Плевен. Определени са показателите за основен химически състав (Веенде анализ), влакнинни компоненти на клетъчните стени по детергентен анализ (Van Soest), ензимна *in vitro* смилаемост на сухото и органично вещество (метод на Aufrere), потенциалната енергийна и протеинова хранителна стойност по различни системи. През ***първи пролетен*** подраст с най-високо съдържание на протеин 20,88%, най-ниско на влакнинни компоненти Свл. 17,92%, НДВ 42,56%, КДВ 28,37%, КДЛ *1,83%* и най-висока смилаемост на сухо вещество 78,00% е Вар.13, следван от **тетраплоидите** Вар.10, 11, 12, 14, 17 от КП1. Средната относителна хранителна стойност (RFV) е 108 отн%. Най-висока е при Вар.13 – 146 отн.%.

## SUMMARY

Forage quality by chemical composition, digestibility, energy and protein feeding value of 21 accessions perennial ryegrass (*Lolium, perenne* L.) from collection nurseries KN1 and KN2 – Bulgarian and introduced ecotypes and varieties in spring, summer and autumn growths are evaluated in field trial in the Institute of Forage Crops, Pleven. The parameters of general chemical composition (Weende analysis), plant cell walls fiber components content by detergent analysis (Van Soest), enzyme *in vitro* digestibility of dry and organic matter (method d'Aufrere), potential energy and potential protein feeding value by different systems are determined. In the ***first spring growth*** the highest protein content 20,88%, the lowest of fiber components CF 17,92%, NDF 42,56%, ADF 28,37%, ADL *1,83%* and the highest digestibility of dry matter 78,00% belongs to Var.13, followed by **tetraploids** of variants 10, 11, 12, 14, 17 in KN1.

The mean Relative Feeding Value (RFV) is 108 rel.% and the highest is in Var.13 – 146 rel.%. Energy feeding value is also

Енергийната хранителност е също най-висока за Вар.13. С максимална протеинова хранителност са Вар.13 – 160 g $kg^{-1}$ сухо вещество и Вар.14 – 166 g $kg^{-1}$. През ***втори подраст*** с най-добро качество на фуража – високо съдържание на протеин и ниско на влакнинни компоненти е Вар.12, следван от Вар.13. Средната относителна хранителна стойност е 101 отн.%, като Вариантите 10,11,12,13,14 от КП1 и Вар.3 и 5 от КП2 надвишават средната. С максимална RFV е Вар.13 –130 отн. %. Енергийната нето хранителност е най-висока също при Вар.12 и Вар.13, UFL-UFV съответно 0,854-0,782 Вар.12 и 0,815-0,717 Вар.13. Максимална протеинова хранителност на фуража - Вар.12 е PBD-PDIN-PDIE:174,137,110 g $kg^{-1}$. Промените в хода на смилаемостта на пасищния райграс от висока към по-ниска са в последователност от първи към трети и втори подрасти. Средната RFV на образците от ***трети подраст*** е 111 отн.%, а най-високата е при Вар.10 – 136 отн.%, който демонстрира и най-висока нето енергийна и протеинова хранителна стойност – общ смилаем протеин 162 g $kg^{-1}$ сухо вещество при средна стойност 125 g $kg^{-1}$.

**Ключови думи:** пасищен райграс *(Lolium perenne* L.), селекция, смилаемост, енергийна и протеинова хранителна стойност

the highest in Var.13 as well the same variant shows the highest energy feeding value. The maximal protein feeding value demonstrates Var.13 – 160 g $kg^{-1}$ dry matter and Var.14 – 166 g $kg^{-1}$. In the ***second summer growth*** the better forage quality – high protein content and low fiber components content belong to Var.12, followed by Var.13. The mean RFV is 101 rel.% as Variants 10,11,12,13,14 from КП1 and Var.3 and 5 from КП2 exceed the mean. The maximal RFV belong to Var.13 – 130 rel.%. Energy net feeding value is the highest for Var.12 and Var.13, UFL-UFV 0.854-0.782 respectively for Var.12 and 0.815-0.717 for Var. 13. The maximal protein feeding value belongs to Var.12: PBD-PDIN-PDIE: 174, 137, 110g $kg^{-1}$ respectively. The changes in perennial ryegrass forage digestibility from high to low are consequently from first toward third and second growths. The mean RFV of the accessions from ***third autumn growth*** is 111 rel.% and the highest is for Var.10 – 136 rel.%, which demonstrates the highest net energy and protein feeding value – Total Digestible Protein 162 g $kg^{-1}$ dry matter at mean value 125 g $kg^{-1}$.

**Key words:** perennial ryegrass *(Lolium perenne* L.), breeding, digestibility, energy and protein feeding value

## УВОД

Пасищният райграс е един от най-използваните видове многогодишни житни треви за създаване на ливади и пасища в умерените райони и е обект на значителни селекционни усилия и разпространение в целия свят. Той се отглежда особено в Европа, където представлява до 50% от търгуваните тревни семена (Humphreys et al., 2010). Пасищният райграс е облистен и силно братящ тревен вид, който дава високи добиви на фуражна биомаса с добра хранителна стойност за преживните животни в продължение на няколко

## INTRODUCTION

Perennial ryegrass is one of the most used grass species for sowing grasslands in temperate areas, and it has received significant breeding efforts throughout the world. It is especially used in Europe where it represents as far as 50% of the marketed grass seed (Humphreys et al., 2010).

It is a leafy and highly tillering grass that can produce high herbage yields of good feeding value for ruminant animals during several years.

години. Сортове, съчетаващи подобрено качество и отлични стопански ценни признаци, са нашият фокус. Тъй като селекционният процес на многогодишни треви е значително по-дълъг от другите полски култури, работа за повече от десетилетие обикновено предхожда създаването на нов сорт (Humphreys et al., 2010). Селекцията на пасищен райграс в България има над 20 годишна традиция, по-специално в Институт по фуражните култури - Плевен. През тези години са създадени 3 нови сортове с местен произход и стартира тяхната реализация на българския пазар (Katova et al., 2016). Повечето селекционни програми в миналото не включват биохимични характеристики, свързани с хранителната стойност, като критерии за подбор. Въпреки това, напредъкът в разбирането на хранителната стойност на фуражната биомаса помога да се определят съответните биохимични критерии, които сега лесно могат да бъдат предсказани чрез методите на NIRS.

Следователно проучването на тези биохимични свойства става все по-познато през последните 10 години, както за оценка на хранителната стойност на сорта, така и за създаване на сорт с подобрена хранителната стойност (Sampoux et al., 2010).

Целта на изследването е да се оцени качеството на фуража чрез химичен състав, смилаемост, енергийна стойност и протеинова хранителна стойност от образци пасищен райграс (*Lolium perenne* L.) в колекции като изходен селекционен материал с оглед на селекцията.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През есента на 2015 г. в опитното поле на ИФК - Плевен е заложен колекционен питомник с общо 21 образци (13 сортове и 2 кандидат сорта и 6 екотипове; по произход – български – 9, белгийски – 9, румънски – 2 и китайски – 1; по плоидност – 10 – диплоидни и 11 –

Varieties combining improved quality with excellent agronomic performance are our focus. Because the breeding process of perennial ryegrass is significantly longer than other arable plants, work of more than a decade usually precedes cultivar release (Humphreys et al. 2010).

Perennial ryegrass breeding in Bulgaria has a strong 20 year-long tradition, especially in the Institute of Forage Crops in Pleven. During these 20 years, three cultivars from local origin were created and release has started on the Bulgarian market (Katova et al., 2016).

Most breeding programmes had long not included bio-chemical traits related to feeding value as selection criteria.

However, progress in the understanding of herbage feeding value has helped to define relevant bio-chemical criteria that can now be easily predicted by NIRS methods.

Consequently, the use of these biochemical traits has become increasingly familiar in the last 10 years both to assess cultivar feeding value and to breed for improved feeding value (Sampoux et al., 2010).

The aim of the study is to evaluate forage quality by chemical composition, digestibility, energy and protein feeding value of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) accessions from collection nurseries as the initial breeding resource with a view to the breeding.

## MATERIAL AND METHODS

During the autumn of 2015, in the experimental field of the Institute of forage Crops - Pleven a collection nursery is based consisting of 21 samples (13 species and 2 candidates and 6 ecotypes of origin – Bulgarian – 9, Belgian – 9, Romanian – 2 and Chinese – 1; by ploidy

тетраплоидни) популации пасищен райграс, с индивидуално разположение на растенията, чрез разсад, при разстояние 50/50 cm, всеки образец е представен от 50 индивидуални растения. През 2016 г. паралелно с оценката на продуктивния потенциал от всеки подраст и номер са взети проби за химичен анализ. Основният химически състав и смилаемостта на сухото вещество са определени във фуража, получен от три подраста – пролетен, летен и есенен. Растителният материал съставлява надземната част на цели растения. Подготовката му е извършена чрез вентилаторно сушене при 65$^0$C до трошливост при предварително фиксиране за 20 min на 105$^o$C, и смилане до големина на частиците 1.0 mm последователно на лабораторни мелници QC 136 и QB 114, Labor Mim, Унгария, и задължително пресяване.

Основният химически състав на фуража е определен по Веенде системата по показателите суров протеин и сурови влакнини. Структурните влакнинни компоненти на клетъчните стени – по систематичния детергентен анализ (Goering and Van Soest, 1970) (AOAC, 2010) (EN ISO13906 2008) като процент от сухото вещество. Определени са следните влакнинни фракции: Неутрално-детергентни влакнини /Neutral-detergent fiber (НДВ/NDF)/, Киселинно-детергентни влакнини /Acid-detergent fiber (КДВ/ADF)/ и Киселинно-детергентен лигнин /Acid-detergent lignin (КДЛ/ADL)/. Полиозидите хемицелулоза и целулоза са определени като компоненти на клетъчните стени, съдържащи се във влакнинната фракция: Хемицелулоза = НДВ - КДВ; Целулоза = КДВ - КДЛ. Степента на лигнификация е представена чрез коефициент като съотношение на КДЛ и НДВ (КДЛ/НДВх100) (Akin and Chesson, 1990). Ензимната смилаемост *in vitro* на сухото (СмСВ/IVDMD) и органично (СмОВ/IVOMD) вещество е определена като процент чрез двустепенен пепсин-целулазен ензимен метод на Aufrere (1982) (Todorov et al., 2010). Оценката на хранителната стойност въз основа на съдържанието на влакнинните компоненти е извършена

10 – Diploid and 11 – tetraploid) grassland populations, with plants being individually arranged, through seedings at a distance of 50/50 cm. Each sample is represented by 50 individual plants. In 2016 simultaneously to the assessment of the production potential of each growth and number, samples are taken for chemical analysis. The forage is obtained from three growths – spring, summer and autumn and its principal chemical composition and digestibility of dry matter are determined. Plant sample preparation from the above ground part of the plants is effectuate by air ventilation at 65$^0$C till crumbly at previous fixing for 20 min at 105$^0$C and grinding till particle size 1,0 mm consequently at laboratory mill QC 136 and QB 114, Labor Mim, Hungary, and obligatory screening.

The forage principal chemical composition is determined by Weende systematic analytic procedure (AOAC 2010) and the parameters are established: Dry matter; Crude ash (Mineral matter, MM); Crude protein (CP) by Kjeldhal method; Crude fiber (CF) - by Heneberg&Stoman method. Detergent analysis of Goering&Van Soest (1970) (EN ISO13906 2008) was performed as a standard systematic chemical analysis of plant cell walls fiber components. The following fiber fractions: Neutral-detergent fiber (NDF); Acid-detergent fiber (ADF), Acid-detergent lignin (ADL) are determined. Polyosides hemicellulose and cellulose as a cell walls components, contained in fiber fraction are presented emperically: Hemicellulose = NDF – ADF; Cellulose = ADF – ADL. The degree of lignification is presented as relation of ADL and NDF/100 (Akin&Chesson 1989). Enzyme in vitro digestibility of dry (IVDMD) and organic (IVOMD) matter is determined by two stage pepsin-cellulase enzyme method of Aufrere (Todorov et al. 2010). Evaluation of feeding value on the basis of fiber components is performed as Relative feeding value RFV; potential intake of digestible dry matter

като Относителна хранителна стойност RFV; потенциално поемане на смилаемо сухо вещество (Linn&Martin, 1991). Смилаемото сухо вещество (DDM%=88,9-(0,779xADF%); Поемане на сухо вещество (DMI /% body weight/=120/NDF%) и Относителна хланителна стойност (RFV=DDMxDMI/1,29) са определени.

*Оценката на хранителната стойност* е извършена като: 1. *Енергийната хранителна стойност* е изчислена по Френската система UFL-UFV (INRA, 1988), преизчислена в Българската (КЕМ-КЕР/FUM-FUG), Кръмни единици за мляко-Кръмни единици за растеж по коефициенти, посочени от Todorov (1997). Изчислени са следните параметри: Обща енергия (ОЕ); Метаболитна енергия (МЕ) въз основа на уравнения според експерименталните стойности на суровия протеин, суровите влакнини (AOAC 2010) и смилаемостта на органичното вещество. Коефициентът на смилаемост на органичното вещество $dMO_{in\ vivo}$ е определен по Andrieu и Demarquilly (1989) чрез зависимост, ползваща *in vitro* смилаемостта на органичното вещество, определена експериментално. Нето енергийната хранителност е определена по Френската (UFL-UFV), Българската (КЕМ-КЕР) и Холандска (VEM-VEVI) системи.

2. *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.

В сравнителен анализ при подрастите са оценени индивидуалните и средни стойности и степента на вариране на показателите за състав, смилаемост и хранителна стойност на фуража от пасищен райграс.

(Linn&Martin, 1991). The Digestible Dry Matter (DDM%=88,9-(0,779xADF%); Dry Matter Intake (DMI /% body weight/=120/NDF%) and Relative Feeding Value (RFV=DDMxDMI/1,29) are estimated.

*The feeding value estimation* – energy and protein is performed as: 1. *The Energy feeding value* is calculated by French system: UFL-UFV (INRA, 1988), recalculated in Bulgarian by coefficients, followed by Todorov (1997). The following parameters are estimated: Gross energy /GE/, Metabolic energy /ME/ on the basis of equations according to experimental values of CP, CF (AOAC 2010) and IVOMD. The coefficient of digestibility of organic matter $dMO_{in\ vivo}$ (Andrieu and Demarquilly, 1989) is received by relashionship on the basis of *in vitro* organic matter digestibility, determined experimentally. Net energy is determined according French (UFL-UFV), Bulgarian – Feed units for milk and Feed units for growth (FUM-FUG) and Dutch (VEM-VEVI) systems.

2. *The potential Protein feeding value* is performed by French system (INRA 1988). The parameters: TDP/PBD - Total Digestible Protein/Protein Brute Digestible and a 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+PDIMN in g $kg^{-1}$ dry matter are established.

In comparative analysis in two vegetative stages and organic active products the individual and mean values and coefficients of variation of the parameters of forage feeding value are evaluated.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Проучено е качеството на фураж от 21 колекционни образци пасищен райграс на КП1 в първи подраст

## RESULTS AND DISCUSSION

The forage quality of 21 collection samples of pasture ryegrass of collection nursery CN1 in the first growth is studied

(Таблица 1). Средната стойност на суровия протеин е 15,75%, а максималната 20,88% (вар. 3) от сухото вещество. Броят на образците със съдържание на суров протеин над средната стойност е 10. По съдържание на сурови влакнини с най-ниско съдържание са образците от Вар 12 – 17,32% и Вар.13– 17,92%. С най-ниски стойности на тотални влакнинни компоненти НДВ е също Вар. 13 – 42,56% при средна стойност на НДВ за всички образци от КП1 54,69%. КДЛ е с най-ниска стойност също при Вар. 13 – 1,83%, следвана от Вариантите 10, 11, 12, 13, 14 и 17.

(Table 1). The mean value of crude protein in dry matter is 15,75% and the maximal is 20,88% (Var.13). The number of samples with a crude protein content above the mean value is 10.

The crude fiber content is lowest in Var.12– 17,32% and Var.13 – 17,92%. With the lowest valuesof total fiber components, NDF is also Var.13 – 42,56% at the mean value of NDF for all samples of CN1 54,69%. ADL is also the lowest for Var.13 – 1,83%, followed by Variants 10, 11, 12, 14 and 17.

**Таблица 1. Основен състав, влакнинни компоненти и смилаемост на пасищен райграс в колекционни питомници, ПЪРВИ ПОДРАСТ**
**Table 1. Principal composition, fiber components content and digestibility of perennial ryegrass in collection nurseries, first growth**

| Вариант | СВ | Пепел | СП | СВл | НДВ | КДВ | КДЛ | Хеми-целулоза | Целулоза | Степен Лигниф. | СмСВ | СмОВ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Variant | DM | Ash | CP | CF | NDF | ADF | ADL | HEMI | CELLU | LIGNIF | IVDMD | IVOMD |
| 1 КП1 / | 91,27 | 8,49 | 13,65 | 25,22 | 59,46 | 34,46 | 3,47 | 25,00 | 31,00 | 5,8 | 64,48 | 67,32 |
| 2 CN1 | 92,42 | 8,55 | 12,96 | 22,94 | 58,38 | 33,24 | 3,23 | 25,14 | 30,01 | 5,5 | 65,04 | 67,55 |
| 3 | 91,54 | 10,67 | 13,88 | 25,84 | 59,42 | 38,69 | 4,61 | 20,73 | 34,08 | 7,8 | 55,55 | 58,97 |
| 4 | 91,97 | 9,09 | 11,22 | 27,61 | 56,80 | 40,44 | 5,72 | 16,36 | 34,72 | 10,1 | 59,07 | 62,16 |
| 5 | 92,25 | 11,82 | 14,68 | 22,66 | 52,88 | 33,89 | 3,42 | 18,99 | 30,47 | 6,5 | 64,00 | 67,08 |
| 6 | 91,84 | 11,28 | 15,16 | 23,00 | 56,85 | 34,08 | 3,44 | 22,77 | 30,64 | 6,1 | 65,19 | 37,17 |
| 7 | 90,56 | 15,90 | 18,76 | 21,04 | 54,93 | 29,18 | 2,54 | 25,75 | 26,64 | 4,6 | 69,27 | 75,54 |
| 8 | 91,77 | 10,38 | 14,41 | 23,05 | 60,58 | 34,26 | 3,56 | 26,32 | 30,70 | 5,9 | 61,82 | 64,08 |
| 9 | 92,14 | 11,87 | 16,85 | 21,13 | 58,26 | 34,56 | 3,38 | 23,70 | 31,18 | 5,8 | 66,26 | 68,49 |
| 10 | 90,66 | 14,63 | 18,18 | 19,68 | 45,58 | 29,14 | 2,28 | 16,44 | 26,86 | 5,0 | 71,21 | 76,15 |
| 11 | 92,66 | 12,56 | 17,88 | 19,84 | 46,32 | 29,32 | 2,28 | 17,02 | 27,04 | 4,9 | 71,17 | 75,11 |
| 12 | 90,63 | 14,61 | 20,20 | 17,32 | 46,39 | 28,78 | 2,15 | 17,61 | 26,63 | 4,6 | 77,93 | 79,68 |
| 13 | 90,92 | 14,87 | 20,88 | 17,97 | 42,56 | 28,37 | 1,83 | 14,19 | 26,54 | 4,3 | 78,00 | 81,94 |
| 14 | 92,02 | 12,60 | 19,51 | 20,81 | 53,26 | 31,11 | 2,45 | 22,15 | 28,66 | 4,6 | 71,29 | 72,53 |
| 15 | 91,94 | 10,28 | 15,36 | 21,21 | 56,79 | 29,86 | 4,16 | 26,93 | 25,70 | 7,3 | 69,07 | 71,34 |
| 16 | 91,07 | 11,80 | 19,41 | 20,80 | 49,30 | 29,28 | 2,50 | 20,02 | 26,78 | 5,1 | 75,07 | 66,09 |
| 17 | 93,02 | 9,54 | 9,46 | 30,56 | 58,42 | 42,62 | 6,29 | 15,89 | 36,33 | 10,8 | 53,92 | 55,70 |
| 3 КП2/ | 91,92 | 10,65 | 14,61 | 27,06 | 58,49 | 37,09 | 3,97 | 21,40 | 33,12 | 6,8 | 61,55 | 64,52 |
| 4 CN2 | 92,59 | 9,04 | 12,47 | 27,21 | 61,93 | 37,47 | 4,24 | 24,46 | 33,23 | 6,8 | 60,01 | 62,88 |
| 5 | 91,40 | 10,68 | 13,70 | 25,92 | 55,83 | 36,39 | 3,90 | 19,44 | 32,49 | 7,0 | 61,89 | 64,04 |
| 6-1 | 91,43 | 10,75 | 17,38 | 23,85 | 53,50 | 34,47 | 3,27 | 19,03 | 31,20 | 6,1 | 65,56 | 67,46 |
| 6-2 | 92,21 | 11,78 | 16,06 | 25,29 | 57,36 | 37,80 | 3,40 | 19,56 | 34,40 | 5,9 | 62,96 | 65,00 |
| Min | 90,56 | 8,49 | 9,46 | 17,32 | 42,56 | 28,37 | 1,83 | 14,19 | 25,70 | 4,3 | 53,92 | 55,70 |
| Max | 93,02 | 15,90 | 20,88 | 30,56 | 61,73 | 42,62 | 6,29 | 26,93 | 36,33 | 10,8 | 78,00 | 81,94 |
| **Mean** | **91,74** | **11,45** | **15,75** | **23,18** | **54,69** | **33,84** | **3,46** | **20,63** | **30,38** | **6,2** | **65,92** | **67,76** |
| *SD* | *0,68* | *2,09* | *3,02* | *3,37* | *5,41* | *4,12* | *1,11* | *3,70* | *3,16* | *1,68* | *6,48* | *6,91* |
| **CV** | **0,7** | **18,2** | **19,2** | **14,5** | **9,9** | **12,2** | **32,2** | **17,9** | **10,4** | **27,2** | **9,8** | **10,2** |

Тези образци са тетраплоиди. Средната смилаемост на сухото вещество на фуража на образците от КП1 е висока– 65,92%. Девет от образците превишават средната стойност на смилаемост-

These accessions are tetraploids. The mean digestibility of the forage dry matter of CN1 accessions is high – 65,92%. Nine of the accesions exceeded the mean digestibility, the highest being the

та, като най-висока е тя на образец пасищен райграс Вар. 13 – 78,00% и Вар. 12 – 77,93%. Смилаемостта на органичното вещество на фуража от пасищен райграс съответства на тази на сухото вещество. Вариант 13 на КП1 в първи подрасте с най-високо качество на фуража. Потенциалните енергийна и протеинова хранителна стойност на образците паси-щен райграс от КП1, първи подраст е представена на Таблица 2. Средната стойност на относителната хранителна стойност (RFV) е 108 отн%. Най-висока е при Вар.13 – 146 отн. %. Енергийната хранителност е също най-висока за Вар. 13. С максимална протеинова хра-нителност са Вар.13 – 160 g $kg^{-1}$ сухо вещество и Вар. 14 – 166 g $kg^{-1}$.

specimen of a perennial ryegrass Var.13– 78,00% and Var.12 – 77,93%.

Digestibility of organic matter of perennial ryegrass corresponds to that of the dry matter. Var.13 of CN1 in the first growth has the highest forage quality.

The potential energy and the potential protein feeding value of the perennial ryegrass accessions from CN1, the first growth is presented in Table 2. The mean value of the relative feeding value (RFV) is 108 rel.%. The highest is of Var.13 - 146 rel.%. Energy feeding value is also the highest for Var.13. Maximum of protein feeding value has Var.13 - 160 g $kg^{-1}$ of dry matter and Var.14 - 166 g $kg^{-1}$.

**Таблица 2 Енергийна и протеинова хранителна стойност на пасищен райграс, отглеждан в колекционни питомници, ПЪРВИ ПОДРАСТ**
**Table 2. Energy and protein feeding value of perennial ryegrass in collection nurseries, first growth**

| Вариант | ССВ | Поемане На СВ | Отн. Хр.ст. | ОЕ | ME | UFL | UFV | КЕМ | КЕР | VEM | VEVI | PBD | PDIN | PDIE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | DDM | DMI | RFV | GE | ME | UFL | UFV | FUM | FUG | VEM | VEVI | PBD | PDIN | PDIE |
| 1 КП1 | 62,06 | 2,02 | 97 | 11,42 | 6,05 | 0,768 | 0,671 | 0,637 | 0,548 | 893 | 1873 | 94 | 85 | 87 |
| 2 CN1 | 63,01 | 2,06 | 100 | 11,39 | 6,03 | 0,772 | 0,676 | 0,640 | 0,553 | 892 | 1871 | 88 | 81 | 86 |
| 3 | 58,76 | 2,02 | 92 | 11,45 | 5,59 | 0,664 | 0,553 | 0,551 | 0,452 | 814 | 1750 | 97 | 87 | 82 |
| 4 | 57,40 | 2,11 | 94 | 11,32 | 5,72 | 0,706 | 0,602 | 0,586 | 0,492 | 836 | 1784 | 71 | 70 | 79 |
| 5 | 62,50 | 2,27 | 110 | 11,49 | 5,89 | 0,736 | 0,632 | 0,610 | 0,517 | 871 | 1838 | 106 | 92 | 89 |
| 6 | 62,35 | 2,11 | 102 | 11,51 | 5,94 | 0,742 | 0,639 | 0,615 | 0,522 | 878 | 1850 | 110 | 95 | 90 |
| 7 | 66,17 | 2,18 | 112 | 11,73 | 6,13 | 0,777 | 0,676 | 0,644 | 0,552 | 921 | 1915 | 146 | 118 | 103 |
| 8 | 62,11 | 1,98 | 96 | 11,47 | 5,83 | 0,720 | 0,615 | 0,597 | 0,502 | 858 | 1819 | 102 | 90 | 86 |
| 9 | 61,98 | 2,06 | 99 | 11,60 | 6,01 | 0,752 | 0,649 | 0,623 | 0,530 | 893 | 1872 | 126 | 106 | 94 |
| 10 | 66,20 | 2,63 | 135 | 11,72 | 6,23 | 0,800 | 0,701 | 0,663 | 0,573 | 938 | 1942 | 147 | 118 | 103 |
| 11 | 66,06 | 2,59 | 132 | 11,65 | 6,28 | 0,812 | 0,717 | 0,673 | 0,586 | 943 | 1950 | 137 | 112 | 101 |
| 12 | 66,48 | 2,59 | 133 | 11,78 | 6,42 | 0,838 | 0,745 | 0,695 | 0,609 | 972 | 1996 | 136 | 127 | 108 |
| 13 | 66,80 | 2,82 | 146 | 11,82 | 6,52 | 0,857 | 0,766 | 0,710 | 0,626 | 990 | 2023 | 160 | 131 | 111 |
| 14 | 64,67 | 2,25 | 113 | 11,73 | 6,22 | 0,786 | 0,685 | 0,651 | 0,560 | 931 | 1931 | 166 | 122 | 102 |
| 15 | 65,64 | 2,11 | 108 | 11,51 | 6,17 | 0,796 | 0,702 | 0,660 | 0,573 | 920 | 1915 | 111 | 96 | 93 |
| 16 | 66,09 | 2,43 | 125 | 11,72 | 6,37 | 0,820 | 0,725 | 0,680 | 0,592 | 956 | 1971 | 152 | 122 | 104 |
| 17 | 55,70 | 2,05 | 89 | 11,24 | 5,29 | 0,619 | 0,506 | 0,513 | 0,413 | 761 | 1668 | 151 | 59 | 70 |
| 3КП2 | 60,01 | 2,05 | 95 | 11,48 | 5,84 | 0,717 | 0,611 | 0,594 | 0,500 | 859 | 1820 | 104 | 92 | 87 |
| 4CN2 | 59,71 | 1,94 | 90 | 11,37 | 5,79 | 0,715 | 0,611 | 0,593 | 0,499 | 848 | 1803 | 83 | 78 | 82 |
| 5 | 60,55 | 2,15 | 101 | 11,44 | 5,79 | 0,713 | 0,608 | 0,591 | 0,496 | 851 | 1807 | 96 | 86 | 85 |
| 6-1 | 62,05 | 2,24 | 108 | 11,61 | 6,05 | 0,750 | 0,647 | 0,622 | 0,529 | 895 | 1877 | 131 | 109 | 97 |
| 6-2 | 59,45 | 2,09 | 96 | 11,56 | 5,85 | 0,713 | 0,606 | 0,591 | 0,495 | 862 | 1824 | 119 | 101 | 90 |
| Min | 55,70 | 1,94 | 89 | 11,24 | 5,29 | 0,619 | 0,506 | 0,513 | 0,413 | 761 | 1668 | 71 | 59 | 70 |
| Max | 66,80 | 2,82 | 146 | 11,82 | 6,52 | 0,857 | 0,766 | 0,710 | 0,626 | 990 | 2023 | 166 | 131 | 111 |
| **Mean** | **62,53** | **2,22** | **108** | **11,54** | **6,00** | **0,753** | **0,652** | **0,624** | **0,533** | **890** | **1868** | **120** | **99** | **92** |
| *SD* | *3,21* | *0,24* | *16* | *0,16* | *0,29* | *0,057* | *0,062* | *0,047* | *0,051* | *54* | *84* | *27* | *19* | *10* |
| **CV** | **5,1** | **10,9** | **15,2** | **1,4** | **4,8** | **7,5** | **9,6** | **7,5** | **9,6** | **6,1** | **4,5** | **22,5** | **19,5** | **11,1** |

Във втори подраст образците пасищин райграс на КП1 имат средно съдържание на суров протеин 15,88% (Таблица 3). Отново образците от Вариантите 12 – 21,86% и 13 – 20,99% са с най-високо протеиново съдържание и кореспондиращо на него най-ниско съдържание на влакнинни компоненти. Вар.12 съдържа 45,26% НДВ, а Вар. 13 – 49,22%. С най-добро качество на фуража – високо съдържание на протеин и ниско на влакнини е Вар.12, следван от Вар.13.

In a second growth, perennial ryegrass accessions of CN1 have a mean protein content of 15,88% (Table 3). Also here Var.12 – 21,86% and Var.13 – 20,99% have the highest protein content and the lowest content of corresponding fiber components. Var.12 contains 45,26% of NDF, and Var.13 – 49,22%.

The best forage quality - high protein and low in fiber belong to Var.12, followed by Var.13.

**Таблица 3. Основен състав, влакнинни компоненти и смилаемост на пасищен райграс в колекционни питомници, ВТОРИ ПОДРАСТ**
**Table 3. Principal composition, fiber components content and digestibility of perennial ryegrass in collection nurseries, second growth**

| Вариант | СВ | Пепел | СП | СВл | НДВ | КДВ | КДЛ | Хеми-целулоза | Целулоза | Степен Лигниф. | СмСВ | СмОВ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Variant | DM | Ash | CP | CF | NDF | ADF | ADL | HEMI | CELLU | LIGNIF | IVDMD | IVOMD |
| 1 КП1 | 92,63 | 9,15 | 13,24 | 28,19 | 63,93 | 39,79 | 5,02 | 24,14 | 34,77 | 9,4 | 50,6 | 52,61 |
| 2 CN1 | 92,61 | 10,36 | 14,70 | 26,53 | 61,33 | 36,60 | 4,84 | 24,73 | 31,76 | 7,9 | 54,71 | 55,85 |
| 3 | 92,74 | 10,75 | 15,18 | 27,18 | 58,66 | 36,35 | 5,12 | 22,31 | 31,23 | 8,7 | 54,65 | 56,80 |
| 4 | 93,0 | 10,21 | 14,41 | 28,46 | 60,75 | 37,18 | 5,19 | 23,57 | 31,99 | 8,5 | 51,28 | 52,46 |
| 5 | 93,40 | 9,59 | 14,61 | 28,13 | 60,88 | 37,74 | 5,28 | 23,14 | 32,46 | 8,7 | 52,40 | 54,42 |
| 6 | 92,67 | 9,41 | 14,66 | 27,51 | 62,48 | 36,69 | 4,77 | 25,79 | 31,92 | 7,6 | 56,07 | 57,96 |
| 7 | 91,74 | 10,53 | 15,45 | 26,17 | 59,80 | 35,02 | 5,30 | 24,78 | 29,72 | 8,8 | 59,43 | 61,69 |
| 8 | 92,76 | 8,94 | 13,34 | 26,78 | 62,69 | 39,07 | 5,61 | 23,62 | 33,46 | 8,9 | 53,24 | 54,76 |
| 9 | 92,82 | 10,51 | 15,66 | 27,05 | 59,03 | 35,68 | 4,83 | 23,35 | 30,85 | 8,2 | 56,86 | 58,41 |
| 10 | 93,26 | 11,58 | 17,02 | 23,63 | 53,83 | 33,42 | 4,91 | 20,41 | 28,51 | 9,1 | 60,15 | 62,26 |
| 16 | 93,89 | 9,8 | 15,64 | 25,18 | 61,67 | 35,75 | 4,42 | 25,92 | 31,33 | 7,2 | 52,57 | 55,64 |
| 17 | 94,20 | 9,62 | 12,65 | 28,47 | 60,38 | 39,27 | 5,74 | 21,11 | 33,53 | 9,5 | 49,74 | 51,28 |
| 11 КП1 | 94,04 | 10,05 | 17,09 | 25,33 | 53,09 | 30,19 | 3,71 | 22,90 | 26,48 | 7,0 | 65,61 | 65,80 |
| 12 CN2 | 94,61 | 11,49 | 21,86 | 18,66 | 45,26 | 33,49 | 3,27 | 11,77 | 30,22 | 7,2 | 76,64 | 77,64 |
| 13 | 94,61 | 11,30 | 20,99 | 20,85 | 49,22 | 26,02 | 3,36 | 23,20 | 22,66 | 6,8 | 73,54 | 73,90 |
| 14 | 94,20 | 11,30 | 19,82 | 21,41 | 50,32 | 27,31 | 3,85 | 23,01 | 23,46 | 7,6 | 67,80 | 68,44 |
| 3 КП2 | 93,76 | 10,0 | 14,87 | 25,63 | 57,60 | 32,22 | 3,70 | 25,38 | 28,52 | 6,4 | 63,00 | 64,08 |
| 4 CN2 | 93,18 | 9,30 | 12,43 | 24,99 | 61,78 | 33,44 | 3,71 | 28,34 | 29,73 | 6,0 | 58,76 | 60,70 |
| 5 | 94,00 | 10,86 | 16,57 | 22,50 | 53,71 | 26,91 | 3,32 | 26,80 | 23,52 | 6,2 | 67,75 | 69,03 |
| 6 | 91,94 | 10,66 | 17,53 | 22,76 | 64,40 | 30,08 | 3,21 | 34,32 | 26,87 | 4,3 | 69,74 | 71,37 |
| Min | 91,74 | 8,94 | 12,43 | 18,66 | 45,26 | 26,02 | 3,21 | 11,77 | 22,66 | 4,3 | 49,74 | 51,28 |
| Max | 94,61 | 11,58 | 21,86 | 28,47 | 64,40 | 39,79 | 5,74 | 34,32 | 34,77 | 9,5 | 76,64 | 77,64 |
| **Mean** | **93,30** | **10,24** | **15,88** | **25,27** | **58,04** | **34,41** | **4,50** | **24,43** | **29,65** | **7,7** | **59,73** | **61,26** |
| *SD* | *0,83* | *0,83* | *2,59* | *2,80* | *5,34* | *4,17* | *0,85* | *4,59* | *3,48* | *1,33* | *8,04* | *7,63* |
| **CV** | **0,9** | **8,1** | **16,3** | **11,1** | **9,2** | **12,2** | **19,0** | **18,8** | **11,8** | **17,3** | **13,4** | **12,4** |

При КП2, първи подраст, Вар. 6 е с най-ниска степен на лигнификация – коеф. 4,3 при средна стойност 7,7. Във втори подраст степента на лигнификация на образците пасищен райграс е по-висока в сравнение с тази при първи, при еднакво протеиново съдържание (Таблица 3). Смилаемостта на

At CN2, in the first growth, Var.6 has the lowest degree of lignification - coefficient 4,3 at a mean value of 7,7. In a second growth, the degree of lignification of the accessions of perennial ryegrass is higher than the first, with the same protein content (Table 3). The digestibility of tetraploid perennial

образците тетраплоиден пасищен райграс е най-висока: Вар.12 – 76,64% и Вар.13 – 73,54%, при средна стойност 59,73%. Осем от вариантите, всички те са тетраплоидни форми на пасищен райграс и надвишават по смилаемост на фуража средната стойност.

Средната стойност на относителната хранителна стойност е 101 отн.%, като Вариантите 10,11, 12, 13 и 14 от КП1 и Вар. 3 и 5 от КП2 надвишават средната (Таблица 4). С максимална RFV е Вар.13 – 130 отн.%. Енергийната нето хранителна стойност е най-висока също при Вар. 12 и Вар. 13, UFL-UFV съответно 0,854-0,782 Вар. 12 и 0,815-0,717 Вар.13. Максимална протеинова хранителност на фуража има Вар.12, PBD-PDIN-PDIE: 174, 137, 110 g $kg^{-1}$.

ryegrass accessions is the highest: Var.12 – 76,64% and Var.13 – 73,54%, at an average of 59,73%. Accession digestibility exceeds the mean value in eight of the variants, all of which are tetraploid forms of perennial ryegrass.

The mean relative feeding value which is 101 rel.%, is exceeded in variants 10, 11, 12, 13 and 14 of CN1 and Var.3 and 5 of CN2 (Table 4). Maximal RFV has Var.13 – 130 rel.%. The net energy feeding value is also the highest in Var.12 and Var.13, UFL-UFV, respectively, of 0,854-0,782 Var.12 and 0,815-0,717 Var.13. Maximal protein feeding value of the forage has Var.12, PBD-PDIN-PDIE: 174, 137, 110 g $kg^{-1}$.

**Таблица 4. Енергийна и протеинова хранителна стойност на пасищен райграс, отглеждан в колекционни питомници, ВТОРИ ПОДРАСТ**
**Table 4. Energy and protein feeding value of perennial ryegrass in collection nurseries, second growth**

| Вариант | ССВ | Поемане На СВ | Отн. Хр.ст. | ОЕ | МЕ | UFL | UFV | КЕМ | КЕР | VEM | VEVI | PBD | PDIN | PDIE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Variant | DDM | DMI | RFV | GE | ME | UFL | UFV | FUM | FUG | VEM | VEVI | PBD | PDIN | PDIE |
| 1 КП1 | 57,90 | 1,88 | 84 | 11,41 | 5,37 | 0,614 | 0,498 | 0,509 | 0,406 | 774 | 1687 | 91 | 83 | 76 |
| 2 CN1 | 60,39 | 1,96 | 92 | 11,48 | 5,50 | 0,637 | 0,522 | 0,528 | 0,426 | 797 | 1724 | 105 | 92 | 81 |
| 3 | 60,58 | 2,05 | 96 | 11,51 | 5,53 | 0,642 | 0,527 | 0,532 | 0,431 | 803 | 1734 | 110 | 95 | 83 |
| 4 | 59,94 | 1,98 | 92 | 11,46 | 5,35 | 0,604 | 0,486 | 0,501 | 0,397 | 771 | 1683 | 102 | 90 | 79 |
| 5 | 59,50 | 1,97 | 91 | 11,47 | 5,47 | 0,628 | 0,512 | 0,521 | 0,419 | 791 | 1714 | 104 | 92 | 80 |
| 6 | 60,32 | 1,92 | 90 | 11,47 | 5,63 | 0,664 | 0,552 | 0,551 | 0,451 | 819 | 1758 | 104 | 92 | 83 |
| 7 | 61,62 | 2,01 | 96 | 11,52 | 5,76 | 0,692 | 0,583 | 0,574 | 0,476 | 843 | 1795 | 112 | 97 | 87 |
| 8 | 58,46 | 1,91 | 87 | 11,41 | 5,48 | 0,638 | 0,524 | 0,529 | 0,428 | 792 | 1716 | 92 | 84 | 78 |
| 9 | 61,11 | 2,03 | 96 | 11,53 | 5,63 | 0,660 | 0,547 | 0,547 | 0,447 | 820 | 1759 | 114 | 98 | 85 |
| 10 | 62,87 | 2,23 | 109 | 11,60 | 5,78 | 0,692 | 0,581 | 0,573 | 0,474 | 848 | 1803 | 128 | 107 | 90 |
| 16 | 61,05 | 1,95 | 92 | 11,52 | 5,58 | 0,647 | 0,532 | 0,536 | 0,435 | 809 | 1742 | 114 | 98 | 83 |
| 17 | 58,31 | 1,99 | 90 | 11,38 | 5,27 | 0,597 | 0,479 | 0,495 | 0,392 | 758 | 1662 | 85 | 79 | 74 |
| 11КП1 | 65,38 | 2,26 | 115 | 11,59 | 6,00 | 0,739 | 0,634 | 0,613 | 0,518 | 886 | 1863 | 128 | 107 | 93 |
| 12 CN1 | 62,61 | 2,65 | 129 | 11,83 | 6,58 | 0,854 | 0,762 | 0,708 | 0,623 | 892 | 2028 | 174 | 137 | 110 |
| 13 | 68,63 | 2,44 | 130 | 11,78 | 6,40 | 0,815 | 0,717 | 0,675 | 0,586 | 960 | 1977 | 166 | 132 | 106 |
| 14 | 67,63 | 2,38 | 125 | 11,73 | 6,14 | 0,759 | 0,654 | 0,629 | 0,535 | 912 | 1902 | 155 | 124 | 100 |
| 3 КП2 | 63,80 | 2,08 | 103 | 11,49 | 5,87 | 0,721 | 0,616 | 0,598 | 0,503 | 962 | 1825 | 107 | 93 | 87 |
| 4 CN2 | 62,85 | 1,94 | 95 | 11,37 | 5,68 | 0,694 | 0,587 | 0,575 | 0,480 | 930 | 1775 | 86 | 78 | 80 |
| 5 | 67,94 | 2,23 | 118 | 11,57 | 6,08 | 0,766 | 0,666 | 0,635 | 0,544 | 903 | 1888 | 123 | 104 | 94 |
| 6 | 65,47 | 1,61 | 82 | 11,62 | 6,20 | 0,792 | 0,694 | 0,656 | 0,567 | 927 | 1926 | 132 | 110 | 98 |
| Min | 57,90 | 1,61 | 82 | 11,37 | 5,27 | 0,597 | 0,479 | 0,495 | 0,392 | 758 | 1662 | 85 | 79 | 74 |
| Max | 68,63 | 2,65 | 130 | 11,83 | 6,58 | 0,854 | 0,762 | 0,708 | 0,623 | 962 | 2028 | 174 | 137 | 110 |
| **Mean** | **62,32** | **2,07** | **101** | **11,54** | **5,74** | **0,695** | **0,580** | **0,577** | **0,473** | **845** | **1798** | **116** | **100** | **87** |
| *SD* | *3,24* | *0,23* | *15* | *0,13* | *0,47* | *0,070* | *0,081* | *0,061* | *0,067* | *66* | *102* | *25* | *16* | *10* |
| **CV** | **5,2** | **11,2** | **14,9** | **1,1** | **8,2** | **10,1** | **14,0** | **10,5** | **14,2** | **7,8** | **5,7** | **21,6** | **16,3** | **11,5** |

На Таблица 5 са представени състава и смилаемостта на образците пасищен райграс от трети подраст. Средната стойност на протеиновото съдържание е 16,72%, а максималната стойност е на Вар. 10 – 20,47%. На него съответства и най-ниско влакнинно съдържание 18,42%, при средна стойност 21,82%. Съдържанието на НДВ е съответстващо – 46,49% при средна стойност 54,71%. Съдържанията на КДВ, КДЛ и степента на лигнификация са също съответстващи. Най-ниска степен на лигнификация имат образците от Вар. 3 – коеф. 3,7 при средна стойност на коеф. на лигнификация 7,4. Най-високо смилаем е образец пасищен райграс Вар.10 – 71,13%. Промените в хода на смилаемостта на пасищния райграс от висока към по-ниска е в последователност от първи към трети и втори подрасти.

Table 5 shows the composition and digestibility of the perennial ryegrass accessions in a third growth. The mean protein content is 16,72% and the maximal value is in Var.10 – 20,47%. It also has the lowest fiber content of 18,42%, at mean value 21,82%. The content of the NDF is corresponding – 46,49% at an average of 54,71%.

The contents of ADF, ADL and degree of lignification are also corresponding. The degree of lignification is lowest in Var.3 – coeff. 3,7 at an mean value of coeff. 7,4.

The highest digestibility is in perennial ryegrass Var.10 – 71,13%. The changes in digestibility of perennial ryegrass from high to low are as follows: from first to third and second growths.

**Таблица 5. Основен състав, влакнинни компоненти и смилаемост на пасищен райграс в колекционни питомници, ТРЕТИ ПОДРАСТ**
**Table 5. Principal composition, fiber components content and digestibility of perennial ryegrass in collection nurseries, third growth**

| Вариант | СВ | Пепел | СП | СВл | НДВ | КДВ | КДЛ | Хеми-целулоза | Целулоза | Степен Лигниф. | СмСВ | СмОВ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Variant | DM | Ash | CP | CF | NDF | ADF | ADL | HEMI | CELLU | LIGNIF | IVDMD | IVOMD |
| 1 КП1 | 94,23 | 8,90 | 13,14 | 24,37 | 61,02 | 33,21 | 4,60 | 27,86 | 28,61 | 7,5 | 58,05 | 58,81 |
| 2 CN1 | 94,65 | 11,19 | 15,16 | 22,81 | 56,40 | 29,57 | 4,20 | 26,83 | 25,57 | 7,4 | 63,09 | 64,80 |
| 3 | 94,18 | 11,19 | 16,64 | 23,16 | 53,64 | 30,15 | 2,00 | 23,49 | 28,15 | 3,7 | 70,43 | 71,26 |
| 4 | 94,40 | 11,94 | 17,65 | 21,54 | 53,71 | 29,55 | 4,13 | 24,16 | 25,42 | 7,7 | 63,43 | 64,57 |
| 5 | 94,42 | 10,65 | 15,99 | 23,69 | 57,44 | 31,60 | 4,43 | 25,84 | 27,17 | 7,7 | 59,66 | 59,73 |
| 6 | 94,61 | 11,49 | 18,76 | 18,99 | 53,53 | 27,34 | 4,11 | 26,19 | 23,23 | 7,6 | 66,93 | 67,65 |
| 7 | 94,29 | 12,01 | 16,27 | 20,62 | 56,28 | 30,14 | 4,12 | 26,14 | 26,02 | 7,3 | 65,91 | 67,80 |
| 8 | 94,32 | 11,37 | 14,87 | 22,39 | 56,78 | 32,02 | 4,62 | 24,76 | 27,40 | 8,1 | 60,40 | 62,15 |
| 9 | 93,92 | 11,54 | 18,84 | 22,64 | 51,87 | 29,24 | 4,14 | 22,63 | 25,10 | 8,0 | 67,80 | 69,56 |
| 10 | 93,83 | 13,71 | 20,47 | 18,42 | 46,49 | 26,56 | 3,95 | 19,93 | 22,61 | 8,5 | 71,13 | 73,76 |
| 16 | 93,63 | 11,76 | 16,96 | 21,20 | 54,48 | 29,50 | 3,77 | 24,98 | 25,73 | 6,9 | 67,07 | 69,07 |
| 17 | 94,26 | 11,04 | 15,85 | 22,10 | 54,81 | 34,72 | 4,93 | 20,09 | 29,79 | 9,0 | 62,40 | 63,68 |
| Min | 93,63 | 8,90 | 13,14 | 18,42 | 46,49 | 26,56 | 2,00 | 19,93 | 22,61 | 3,7 | 58,05 | 58,81 |
| Max | 94,65 | 13,71 | 20,47 | 24,37 | 61,07 | 34,72 | 4,93 | 27,86 | 29,69 | 9,0 | 71,13 | 73,76 |
| **Mean** | **94,23** | **11,40** | **16,72** | **21,82** | **54,71** | **30,30** | **4,08** | **24,41** | **26,23** | **7,4** | **64,69** | **66,07** |
| *SD* | *0,30* | *1,09* | *2,00* | *1,79* | *3,52* | *2,30* | *0,73* | *2,51* | *2,11* | *1,31* | *4,19* | *4,58* |
| **CV** | **0,3** | **9,6** | **11,9** | **8,2** | **6,4** | **7,6** | **17,9** | **10,3** | **8,0** | **17,6** | **6,5** | **6,9** |

Средната относителна хранителна стойност на образците пасищен райграс от трети подраст е 111 отн.%, а най-високата е при Вар. 10 – 136 отн.% (Таблица 6). Този вариант демонстрира и най-висока нето енергийна хранителна

The mean relative feeding value of the accessions of perennial ryegrass from the third growth is 111 rel.% and the highest is for Var.10 - 136 rel.% (Table 6). This variant also demonstrates the highest net energy feeding value and

стойност и протеинова хранителна стойност – общ смилаем протеин 162 g $kg^{-1}$ сухо вещество при средна стойност 125 g $kg^{-1}$.

protein feeding value - total digestible protein 162 g $kg^{-1}$ dry matter at a mean value of 125 g $kg^{-1}$.

**Таблица 6. Енергийна и протеинова хранителна стойност на пасищен райграс, отглеждан в колекционни питомници, ТРЕТИ ПОДРАСТ**
**Table 6. Energy and protein feeding value of perennial ryegrass in collection nurseries, third growth**

| Вариант | ССВ | Поемане | Отн. | ОЕ | МЕ | UFL | UFV | КЕМ | КЕР | VEM | VEVI | PBD | PDIN | PDIE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | На СВ | Хр.ст. | | | | | | | | | | | |
| Variant | DDM | DMI | RFV | GE | ME | UFL | UFV | FUM | FUG | VEM | VEVI | PBD | PDIN | PDIE |
| 1 КП1 | 63,03 | 1,96 | 96 | 11,40 | 5,64 | 0,680 | 0,571 | 0,564 | 0,466 | 823 | 1763 | 90 | 82 | 80 |
| 2 CN1 | 65,86 | 2,13 | 109 | 11,51 | 5,84 | 0,720 | 0,614 | 0,597 | 0,502 | 861 | 1823 | 110 | 95 | 88 |
| 3 | 65,41 | 2,24 | 113 | 11,58 | 6,16 | 0,784 | 0,686 | 0,650 | 0,560 | 917 | 1911 | 124 | 104 | 96 |
| 4 | 65,88 | 2,23 | 114 | 11,63 | 5,87 | 0,713 | 0,604 | 0,591 | 0,494 | 867 | 1832 | 134 | 111 | 93 |
| 5 | 64,28 | 2,09 | 104 | 11,54 | 5,69 | 0,675 | 0,563 | 0,560 | 0,460 | 831 | 1777 | 118 | 100 | 87 |
| 6 | 67,80 | 2,24 | 118 | 11,68 | 6,06 | 0,751 | 0,647 | 0,623 | 0,529 | 900 | 1884 | 144 | 118 | 97 |
| 7 | 65,42 | 2,13 | 108 | 11,57 | 5,96 | 0,744 | 0,641 | 0,617 | 0,523 | 884 | 1858 | 121 | 102 | 93 |
| 8 | 63,96 | 2,11 | 105 | 11,50 | 5,72 | 0,693 | 0,584 | 0,574 | 0,477 | 839 | 1788 | 107 | 93 | 86 |
| 9 | 66,12 | 2,31 | 118 | 11,69 | 6,14 | 0,765 | 0,663 | 0,634 | 0,541 | 913 | 1904 | 145 | 118 | 99 |
| 10 | 66,21 | 2,58 | 136 | 11,79 | 6,24 | 0,789 | 0,688 | 0,654 | 0,562 | 937 | 1940 | 162 | 128 | 105 |
| 16 | 65,92 | 2,20 | 112 | 11,60 | 6,05 | 0,759 | 0,657 | 0,629 | 0,537 | 898 | 1881 | 127 | 106 | 95 |
| 17 | 61,85 | 2,19 | 105 | 11,54 | 5,83 | 0,712 | 0,604 | 0,590 | 0,494 | 858 | 1818 | 116 | 100 | 89 |
| Min | 61,85 | 1,96 | 96 | 11,40 | 5,64 | 0,675 | 0,563 | 0,560 | 0,460 | 823 | 1763 | 90 | 82 | 80 |
| Max | 67,80 | 2,58 | 136 | 11,79 | 6,24 | 0,789 | 0,688 | 0,654 | 0,562 | 937 | 1940 | 162 | 128 | 105 |
| **Mean** | **65,13** | **2,20** | **112** | **11,58** | **5,93** | **0,734** | **0,627** | **0,603** | **0,512** | **877** | **1848** | **125** | **105** | **92** |
| *SD* | *1,58* | *0,15* | *10* | *0,10* | *0,20* | *0,038* | *0,043* | *0,033* | *0,035* | *36* | *57* | *19* | *15* | *7* |
| **CV** | **2,4** | **6,8** | **8,9** | **0,9** | **3,3** | **5,2** | **6,8** | **5,5** | **6,8** | **4,2** | **3,1** | **15,5** | **14,0** | **7,3** |

## ИЗВОДИ

⇒ Оценката по качество на фуража съпътства оценката по продуктивен потенциал в селекционните програми с пасищен райграс в ИФК - Плевен още от изходния материал в колекции.

⇒ Съществува значително вариране по показателите, обуславящи качеството и хранителната стойност на колекционните образци.

⇒ Извършен е първи цикъл на отбор и са излъчени, образци, превишаващи средната стойност за колекцията, Топ 5, както следва:

⇒ По съдържание на суров протеин: № 13 (20,88%), №12 (20,20%), №14 (19,51%), 16 (19,41%), № 7(18,76%), при средна стойност 15,75%;

⇒ По степен на лигнификация: №№ 13, 12, 14, 11, и 7, с най- ниски стойности за показателя, като селекционен критерий (4,3 до 4,9) при средна стойност 6,2;

## CONCLUSIONS

⇒ The forage quality evaluation accompanies the evaluation by productive potential in the breeding programs with perennial ryegrass in IFC – Pleven since the initial material in the collections.

⇒ There are significant variations in the parameters determining the forage quality and feeding value of the collection accessions.

⇒ The first breeding cycle has been performed and the accesions exceeded the mean value for the collection, Top 5, as follows:

⇒ By Crude protein content: 13 (20,88%), 12 (20,20%), 14 (19,51%), 16 (19,41%), No 7 (18,76%) , At a mean value of 15.75%;

⇒ By degree of lignification: №№ 13, 12, 14, 11, and 7, with the lowest values for the parameter as a breeding criterion (4.3 to 4.9) at an average of 6.2;

⇒ По смилаемост на сухото вещество: №№ 13,12,14,16,10 с най-високи стойности от 71,07% до 78,0%, при средна стойност 65,92%;

⇒ По енергийна и протеинова хранителна стойност, резултатите кореспондират с основния състав на биомасата при отбраните образци.

⇒ Образците с най-висока комплексна оценка по качество са тетраплоидни сортове, което затвърждава индуцираната полиплоидия като подходящ селекционен метод при пасищен райграс.

⇒ By digestibility of dry matter: №№ 13,12,14,16,10 with the highest values of 71,07% to 78,0%, at an average of 65,92%;

⇒ By energy and protein feeding value, the results correspond to the principal biomass composition of the selected accesssions.

⇒ Accesssions with the highest complex forage quality evaluation are tetraploid varieties, which proves induced polyploidy as a suitable breeding method for perennial ryegrass.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES


1. **Akin, D.E. and A. Chesson**, 1990. Lignification as the major factor limiting forage feeding value especially in warm conditions. In: Proc. XVI Int. Grassland Cong., Vol. III. Association Francaise pour la Production Fourragere. Versailles, France, 1753-1760.
2. **Andrieu, J., and C. Demarquilly**, 1989. Prediction of the digestible and metabolisable energy content of forages from their chemical composition and organic matter digestibility. In: Proceedings (p. 875-876). Presented at 16. International Grassland Congress, Nice, FRANCE (1989-10-04-1989-10-11). 1989. Versailles, FRA: Association Française pour la Production Fourragère.
3. **AOAC,** 2010. Official methods of analysis, 17-th ed. Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA,, AOAC International.
4. **Aufrère, J**., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique, *Ann. Zootech.*, 31, 11-30.
5. **EN ISO13906**, 2008. Animal feeding stuffs – Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergrnt lignin (ADL) contents – www.iso.org/www.cen.eu.
6. **Goering, H. K. and P.J. Van Soest**, 1970. Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). USDA Agricultural Handbook, No. 379.
7. **Humphreys, M.W., U. Feurstein, M. Vandewalle, J. Baert**, 2010. Raygrasses, In: B. Boller et al. (eds.) *Fodder Crops and Amenity Grasses* , Handbook of Plant breeding 5, Springer Science Business Media, 211–260.
8. **INRA,** 1988**.** Alimentation des bovins, ovins et caprins, R. Jarrige (ed.) INRA Publ., Versailles, France, pp. 471.
9. **Katova, A., J. Baert and D. Reheul**, 2016. Comparative characteristics of newly developed perennial ryegrass varieties in Bulgaria, *Breeding in a World of Scarcity*: Proceedings of the 2015 Meeting of the section of “Fodder crops and amenity grasses” of Eucarpia, Ghent, edited by Isabel Roldán-Ruiz, Joost Baert, Dirk Reheul, Springer, Switzerland, 2016, 35-40. DOI 10.1007/978-3-319-28932-8, Print ISBN 978-3-319-28930-4, Online ISBN 978-3-319-28932-8, Publisher Springer International Publishing, Copyright Holder Springer International Publishing Switzerland
10. **Linn, J.G. and N.P. Martin**, 1991. Forage quality analysis and interpretation, *Vet. Clin. North Am.: Food Animal Practice*, 7(2), 509-523.

11. **Sampoux, J.P., R. Metral, M. Ghesquиre, P. Baudouin, B. Bayle, V. Beguier, P. Bourdon, J.F. Chosson, K. de Bruijn, F. Deneufbourg, C. Galbrun, W. Pietraszek, B. Tharel and A. Viguie**, 2010. Genetic improvement in ryegrass (Lolium perenne) from turf and forage breeding over the four past decades. In: Huyghe, C. (Ed.), Sustainable Use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding. Springer, Dordrecht, pp. 325-330

12. **Todorov, N.**, 1997. Feeding norms and feeding value for bulls and buffaloes, Pensoft, Phare, Sofia, pp. 223 (Bg).

13. **Todorov, N., A. Atanassov, A. Ilchev, G. Ganchev, G. Mihailova, D. Girginov, D. Penkov, Z. Shindarska, Y. Naydenova, K. Nedjalkov, S. Tshobanova,** 2010. Practice in Animal nutrition, East-West Edition, Sofia, Bulgaria, pp. 463, ISBN 978-954-321-733-5 (Bg).

*Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (1), 148-158*
*Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan*
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

# Съдържание на пластидни пигменти и водоразтворими захари на пасищен райграс, отглеждан самостоятелно и в смески с люцерна

Анна Илиева и Анелия Кътова*

*Институт по фуражните култури, ул. „Генерал Владимир Вазов“ 89, 5800 Плевен, България*
**E-mail: katova66@abv.bg*

# Plastid pigments and water soluble carbohydrates content in perennial ryegrass, grown in pure stand and in mixtures with alfalfa

Anna Ilieva and Aneliya Katova*

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

## РЕЗЮМЕ

Целта е да се проучи съдържанието на пластидни пигменти и водоразтворими захари на първия български сорт пасищен райграс Хармония и първият тетраплоиден кандидат сорт NBG, отглеждани самостоятелно и в смесени посеви с люцерна – най-разпространените сортове на ИФК - Плевен 6 и Дара. През периода 2012-2014 г. в ИФК-Плевен е изведен полски опит върху излужен чернозем при неполивни условия, по блоков метод в 3 повторения. Вариантите на опита са 8**:** от 1 до 4 – едновидови, самостоятелни посеви, а от 5 до 8 – смесени - двукомпонентни. Съдържанието на водоразтворими захари е определено по метода на Ermakov et al. (1987), а на пластидни пигменти (хлорофил a, хлорофил b и каротиноиди) по метода на Zelenskii и Mogileva (1980). Представени са данни за съдържание на пластидни пигменти и водоразтворими захари (средни, минимални, максимални, стан-

## SUMMARY

The aim is to study the content of plastid pigments and water-soluble carbohydrates of the first Bulgarian perennial ryegrass variety Harmoniya and the first tetraploid candidate variety NBG, grown alone and in mixed crops with alfalfa – the most common varieties of IFC - Pleven 6 and Dara. During the period 2012-2014 in the IFC-Pleven the field experiment on leached black soil in non-irrigated conditions, by block method in 3 repetitions was carried on. Experimental variants are 8: 1 to 4 – alone single crops, and 5 to 8 – mixed - binary. The content of water-soluble carbohydrates is determined by the method of Ermakov et al. (1987) and plastid pigments (chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids) by the method of Zelenskii and Mogileva (1980). Data on plastid pigments and water-soluble carbohydrates (average, minimum, maximum, standard deviations) are presented by regrowths and total

дартни отклонения) по подрасти и общо средно за периода. Установено е, че смеската NBG + Дара е с най – високо общо съдържание на пластидни пигменти – 3 47.07 mg/100g fr wt. Съдържанието на водоразтворими захари в пасищен райграс е значително – три пъти по-високо в сравнение с люцерна. Средно за пет подраста то е 6,56% при сорт Хармония и 7,26% при кандидат – сорт NBG, който е тетраплоиден, при сорт люцерна Плевен 6 е 1,96%, а при сорт Дара – 1,68%. При смеските на пасищен райграс с люцерна съдържанието на водоразтворими захари се доближава до това при сортове люцерна, отглеждани самостоятелно.

**Ключови думи:** пасищен райграс, люцерна, сортове, самостоятелно отглеждане, смески, пластидни пигменти, водоразтворими захари

average for the period. The NBG + Dara mixture has been found to have the highest total plastid pigment content of 347.07 mg / 100g fr wt. The content of water-soluble carbohydrates in perennial ryegrass is significant – three times higher than alfalfa.

On average, for five regrowths, it is 6.56% for the Harmoniya variety and 7.26% for the candidate variety NBG, which is tetraploid, in the alfalfa variety Pleven 6 is 1.96% and in the Dara variety – 1.68%. In mixtures of perennial ryegrass with alfalfa the content of water-soluble carbohydrates is similar to that of lucerne varieties grown in pure stand.

**Key words:** perennial ryegrass, alfalfa, varieties, self-cultivation, mixtures, plastid pigments, water-soluble sugars

## УВОД

Смесените посеви на люцерна и житни култури откриват възможност за осигуряване на по-висока продуктивност, поемане и качество на фуражите в сравнение със самостоятелните им посеви. Те са по-устойчиви към стресови фактори, болести и неприятели (Piskovatskii et al., 2014; Komarek et al. 2007). Смеските на бобови и житни треви имат добър баланс в дажбите на селскостопанските животни. В бобовите култури са с достатъчно протеини и калций, но те са бедни на въглехидрати, а житните треви са богати на въглехидрати, но бедни на протеини. Затова е от значение съдържанието на водоразтворими захари, което оказва благоприятно влияние върху поемането, смилането и използването на фуража (Ilieva and Vasileva, 2016; Vasileva and Ilieva, 2017). С увеличаване съдържанието на водоразтворими захари се подобрява протеин – въглехидратния баланс, както при растения, така и при животните. По този начин се повишава смилаемостта на протеини при животните и се намалява съдържанието

## INTRODUCTION

Mixed stands of alfalfa and grasses open up the possibility of providing higher productivity, intake and quality of feed compared to their pure stands.

They are more resistant to stress factors, diseases and enemies (Piskowitzky et al., 2014, Komarek et al., 2007). Mixtures between legumes and grasses have a good balance in livestock supplies. The legumes have enough protein and calcium, but they are poor in carbohydrates, and the perennial grasses are rich in carbohydrates but poor in protein. Therefore, the content of water-soluble carbohydrates is important, which has a beneficial effect on the intake, digestibility and use of the feed (Ilieva and Vasileva, 2016; and Ilieva, 2017). Increasing the water soluble carbohydrates content improves protein - carbohydrate balance, both in plants and animals.

In this way, the digestibility of proteins in animals is increased and the content of nitrates in the environment is reduced

на нитрати в околната среда (Jolaosho et al., 2009; Luscher et al., 2014).

Един от най-важните фактори, определящи продуктивността на посевите е процесът на фотосинтеза, чрез който зелените растения натрупват органично вещество и енергия. Фотосинтезата е показател за реакцията на растенията към промените във факторите на външната среда и степента на адаптация към новите условия (Nurmakova, 2013; Smirnova et al., 2013). Поглъщането и трансформацията на слънчевата енергия се осъществява чрез фотосинтетичните пигменти – хлорофили a и b, и каротиноиди. Основен хлорофил е "a", който обезпечава по-висока ефективност на процеса на превръщане на диоксида на въглерода и водата в органични съединения. Каротиноидите, освен светосъбираща, изпълняват и защитна функция срещу фотоокисление на хлорофилите и предотвратяват деструктивното фотоокисляване на органичните съединения на протоплазмата в присъствие на свободен кислород (Gilmore and Govindjee, 1999). Продуктивността и дълготрайността на тревните смески зависят в голяма степен от съвместимостта на видовете (Vasileva, 2011). Затова е важен подборът на компонентите на смеските и тяхното проучване по различни показатели. Интерес представляват смеските на люцерна – основна тревно-фуражна култура с пасищен райграс, имащ по-висока продуктивност и хранителна стойност в сравнение с други житни треви. Като резултат от подобрия физиологичен статус на растенията, изразен със съдържание на пластидни пигменти, е и полученото повисоко съотношение листа/стъбла на пасищен райграс в смеска с различни бобови култури (звездан, еспарзета, подземна детелина) (Vasileva, 2015). При подходящи условия в Латвия добивът на фураж сухо вещество от смеска на пасищен райграс и люцерна е 8-9 t $ha^{-1}$, а за дълъг период до 10 години – (Jolaosho et al., 2009; Luscher et al., 2014).

One of the most important factors determining crop productivity is the process of photosynthesis by which green plants accumulate organic matter and energy. Photosynthesis is an indicator of the reaction of plants to the changes in the external environment factors and the degree of adaptation to the new conditions (Nurmakova, 2013; Smirnova et al., 2013). The absorption and transformation of solar energy is achieved through photosynthetic pigments – chlorophyll a and b, and carotenoids.

The base chlorophyll is "a" that provides greater efficiency in the process of converting carbon dioxide and water into organic compounds. Carotenoids, in addition to light-collecting, also have a protective function against photo-oxidation of chlorophylls and prevent the destructive photocoevation of organic protoplasmic compounds in the presence of free oxygen (Gilmore and Govindjee, 1999).

The Productivity and durability of grass mixtures depend to a large extent on the compatibility of species (Vasileva, 2011). Therefore, it is important to select the components of blends and their research on different indicators. Interestingly, alfalfa mixtures are a major grass-fodder crop with a perennial ryegrass, with higher productivity and nutritional value than other grasses.

As a result of the better physiological status of the plants, expressed by the content of plastid pigments, is also the higher proportion of leaves/stems of perennial ryegrass mixed with different legumes (birdfoot's trefoil, sainfoin, subterranian clover) (Vasileva, 2015).

Under suitable conditions, in Latvia, the yield of dry matter from perennial ryegrass and alfalfa is 8-9 t $ha^{-1}$, and for a long period of up to 10 years – an average of

средно 6,5 t $ha^{-1}$, т.е високопродуктивна и дълготрайна смеска (Kadziuliene et al., 2011). У нас няма данни за смесено отглеждане на пасищен райграс и люцерна, а има регистрирани нови сортове и от двете култури, което ни мотивира за провеждане на проучването.

Целта е да се проучи съдържанието на пластидни пигменти и водоразтворими захари на първия български сорт пасищен райграс Хармония и първият тетраплоиден кандидат сорт, отглеждани самостоятелно и в смесени посеви с люцерна – най-разпространените сортове на ИФК - Плевен 6 и Дара.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът е заложен през пролетта на 2012 г. в ИФК - Плевен върху излужен чернозем при неполивни условия. Предсеитбено е внесен 20 kg $da^{-1}$ $P_2O_5$ и N – 5 kg $da^{-1}$, а през следващите години същото количество амониева селитра рано през пролетта при първа възможност. Схема: Блоков метод в 3 повторения, големина на опитната парцелка – 5$m^2$. Варианти на опита са 8: от 1 до 4 – едновидови, самостоятелни посеви, а от 5 до 8 – смесени – двукомпонентни, както следва: 1. Пасищен райграс сорт ИФК – Хармония – диплоид; 2. Пасищен райграс селекционна тетраплоидна популация – NBG; 3. Люцерна сорт Плевен 6; 4. Люцерна сорт Дара; 5. Пасищен райграс Хармония + люцерна Плевен 6 (50:50); 6. Пасищен райграс Хармония + люцерна Дара (50:50); 7. Пасищен райграс NBG + люцерна Плевен 6 (50:50); 8. Пасищен райграс NBG + люцерна Дара (50:50). Сеитбата е извършена на 26.03.2012, ръчно на дълбочина 1 cm със следните сеитбени норми: люцерна – 3 kg $da^{-1}$ при самостоятелен посев и 1,5 kg $da^{-1}$ при смесено отглеждане; пасищен райграс - 3 kg $da^{-1}$ при самостоятелен посев и 1,5 kg $da^{-1}$при смесено отглеждане за диплоиден сорт и 4 kg $da^{-1}$ при самостоятелен посев и 2 kg $da^{-1}$ при смесено отглеждане за тетраплоидната селекционна популация. Опитът е реколтиран за фураж в началото на изкласяване на житния компонент при първи подраст и в начало 6.5 t $ha^{-1}$, is a high-yield and persistent mixture (Kadziuliene et al., 2011). There is no data in Bulgaria about mixed cultivation of perennial ryegrass and alfalfa, and there are registered new varieties of both crops, which motivates us to conduct the survey.

The aim is to study the content of plastid pigments and water-soluble carbohydrates of the first Bulgarian perennial ryegrass variety Harmoniya and the first tetraploid candidate variety NBG, grown alone and in mixed crops with alfalfa – the most common varieties of IFC - Pleven 6 and Dara.

## MATERIAL AND METHODS

The experiment is established in the spring of 2012 in IFC - Pleven on black soil, without irrigation. Before sowing is imported 200 kg $ha^{-1}$ $P_2O_5$ and N - 50 kg $ha^{-1}$ and in coming years the same amount of ammonium nitrate in early spring as soon as possible. Scheme: Block method in three replications, size of the experimental plots - 5$m^2$. Variants of the experiment are 8: 1 to 4 - single species, individual crops, and from 5 to 8 - mixed – binary, as follows: 1. Perennial ryegrass variety IFC - Harmoniya - diploid; 2. tetraploid perennial ryegrass breeding population - NBG; 3. Alfalfa variety Pleven 6; 4. Alfalfa variety Dara; 5. Harmoniya ryegrass + alfalfa Pleven 6 (50:50); 6. ryegrass Harmoniya + alfalfa Dara (50:50); 7. ryegrass NBG + alfalfa Pleven 6 (50:50); 8. ryegrass NBG + alfalfa Dara (50:50). Sowing was carried out on 26.03.2012, by hand to a depth of 1 cm sowing the following rates: lucerne – 30 kg $ha^{-1}$ in separate sowing and 15 kg $ha^{-1}$ for mixed farming; ryegrass - 30 kg $ha^{-1}$ in separate sowing and 15 kg $ha^{-1}$ for mixed cultivation of diploid variety and 40 kg $ha^{-1}$ in separate sowing and 20 kg $ha^{-1}$ for mixed cultivation of tetraploid breeding population. The experiment is harvested for forage at the beginning of ear formation of the grass component in the first growth and early bloom alfalfa in next growths.

лото на цъфтеж на люцерната при следващите подрасти. Съдържанието на водоразтворими захари е определено по метода на Ermakov et al. (1987), а на пластидни пигменти (хлорофил a, хлорофил b и каротиноиди) по метода на Zelenskii и Mogileva (1980). Представени са данни за съдържание на пластидни пигменти и водоразтворими захари (средни, минимални, максимални, стандартни отклонения) по подрасти и общо, средно за периода.

The content of water-soluble carbohydrates (WSC) is determined by the method of Ermakov et al. (1987) and plastid pigments (chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids) by the method of Zelenskii and Mogileva (1980). Data on plastid pigments and water-soluble carbohydrates (average, minimum, maximum, standard deviations) are presented by regrowths and total average for the period.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Получените данни показват, че общото съдържание на пластидни пигменти при сортове райграс и люцерна в самостоятелни посеви и при техните смески варира по подрасти (Таблица 1). При самостоятелно отглеждане на двете култури по-големите различия в стойностите на този показател в зависимост от сорта са установени в първия подраст. При пасищен райграс сорт Хармония общото съдържание на пластидните пигменти е 343.44 mg/100 g fr. wt, а при кандидат сорт NBG е 215.34 mg/100 g fr. wt., при люцерна сорт Плевен 6 – 286.56 mg/100g fr. wt, а при сорт Дара – 342.87 mg/100 g fr. wt. При следващите подрасти стойностите на общото съдържание на пластидни пигменти при сортовете пасищен райграс са близки. Само в петия подраст общото съдържанието на пластидни пигменти при кандидат – сорт NBG (243,40 mg/100 g fr. wt) превишава това съдържание при сорт Хармония (205,20 mg/100 g fr. wt). При сортове люцерна също не се наблюдават съществени различия по този показател във втория, третия и петия подрасти. В четвъртия подраст е установено значително по-ниско съдържание на пластидни пигменти при сорт Дара (211,88 mg/100g fr wt.) в сравнение със сорт Плевен 6 (337.50 mg/100g fr wt.). При смеските на пасищен райграс с люцерна получените данни показват вариране на общото съдържание на пластидните пигменти в

## RESULTS AND DISCUSSION

The obtained data show that the total content of plastid pigments in ryegrass and lucerne varieties in individual crops and their mixtures varies according to the regrowths (Table 1). In the case of pure stand cultivation of the two crops the larger differences in the values of this indicator depending on the variety were found in the first growth. In perennial ryegrass variety Harmoniya the total content of plastid pigments is 343.44 mg/100 g fr. wt, and for the candidate variety NBG is 215.34 mg/100 g fr. wt., for alfalfa variety Pleven 6 – 286.56 mg / 100g fr. wt, and in Dara variety – 342.87 mg/100 g fr. wt. In the following regrowths, the values of the total content of plastid pigments in perennial ryegrass are closely related. Only in the fifth regrowth the total content of plastid pigments in the NBG variety (243.40 mg/100 g fr. Wt) exceeds this content in the Harmoniya variety (205.20 mg/100 g fr. wt).

For alfalfa varieties, there are also no significant differences in this indicator in the second, third and fifth growth. In the fourth growth, a significantly lower content of Dara variety plastid pigments was found (211.88 mg/100g fr wt) compared to Pleven 6 (337.50 mg 100g fr wt).

In the mixtures of perennial ryegrass with alfalfa, the obtained data show a variation of the total content of plastid pigments as

сравнение със самостоятелни посеви на тези култури при различни подрасти (Таблица 1).

compared to the pure stands of these crops in different regrowths (Table 1).

**Таблица 1. Общо съдържание на пластидни пигменти при пасищен райграс и люцерна в самостоятелни посеви и в смески**
**Table 1. Total plastid pigments content in perennial ryegrass and Lucerne in pure stands and in mixtures**

| № | Вариант Variant | Пластидни пигменти Plastid pigments, mg/100 g fr. wt. | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 подраст growth | 2 подраст growth | 3 подраст growth | 4 подраст growth | 5 подраст growth | Средно Average |
| 1 | L.p. Harmoniya | 343,44 | 325,77 | 386,22 | 306,51 | 205,2 | 313,42 |
| 2 | L.p. NBG | 215,34 | 314,88 | 392,72 | 294,54 | 243,4 | 292,18 |
| 3 | M.s. Pleven 6 | 286,56 | 314,85 | 370,64 | 337,5 | 268,36 | 315,59 |
| 4 | M.s. Dara | 343,87 | 314,28 | 390,6 | 211,88 | 284,12 | 308,75 |
| 5 | Harmoniya+Pleven 6 | 293,19 | 312,78 | **420,64** | 322,2 | 273,2 | **324,4** |
| 6 | Harmoniya + Dara | 304,8 | 356,2 | 369,72 | 280,89 | 314,96 | 315,41 |
| 7 | NBG + Pleven 6 | 263,04 | 335,34 | 310,1 | 225,6 | 308,4 | 304,63 |
| 8 | NBG + Dara | 257,97 | 313,41 | **517,48** | 287,58 | 315,08 | **347,07** |
| | average | 288,53 | 323,44 | 394,77 | 283,34 | 276,59 | 315,18 |
| | min | 215,34 | 312,78 | 310,10 | 211,88 | 205,20 | 292,18 |
| | max | 343,87 | 356,20 | 517,48 | 337,50 | 315,08 | 347,07 |
| | SD | 40,79 | 14,43 | 55,00 | 41,19 | 35,88 | 14,95 |
| | P 0,05 | 28,26 | 10,00 | 38,11 | 28,54 | 24,86 | 10,36 |

Това вариране, вероятно е свързано със сложните взаимоотношения в смесени посеви, включващи различна височина на растенията, различно поглъщане на светлина, конкурентни отношения. Най-високо общо съдържание на пластидни пигменти, както при самостоятелни посеви на двете култури, така и при техните смеските е установено при 3 подраст. Смеските Хармония+Плевен 6 (420,64 mg/100g fr. wt) и NBG + Дара (517.48 mg/100g fr wt.) са с най-високи стойности в сравнение с компонентите на тези смески при самостоятелно отглеждане. За увеличаване в смеските с пасищен райграс на съдържанието на пластидни пигменти в бобовите култури звездан, еспарзета, подземна детелина в сравнение със самостоятелните съобщават Vasileva (2015), Ilieva and Vasileva (2016) и Vasileva et al. (2017). В четвъртия и петия подрасти съдържанието на пластидни пигменти при всички варианти се намалява.

This variation is probably related to complex relationships in mixed crops, including different plant height, different light absorption, competitive relations.

The highest total content of plastid pigments, both in pure stands of both crops and in their mixtures, was found in third regrowth.

Mixtures Harmoniya + Pleven 6 (420.64 mg/100g fr.wt) and NBG + Dara (517.48 mg/100g fr wt.) are highest in comparison to the components of these mixtures in pure stands. In order to increase the content of perennial ryegrass in the plastid pigments in legumes, birdfoot's trefoil, sainfoin, subterranian clover in comparison with the pure stands reported (2015), Ilieva and Vasileva (2016) and Vasileva et al. (2017). In the fourth and fifth regrowths the content of plastid pigments in all variants is reduced.

Средните данни за пет подраста показват, че стойностите на съдържанието на хлорофили a и b, каротиноиди и респективно общото съдържание на пластидни пигменти са близки, както при самостоятелни посеви на сортовете пасищен райграс и люцерна, така и при техните смески. Общото съдържанието на хлорофили a+b се движи в границите между 247,87 mg/100g fr. wt. и 299,71 mg/100g fr. wt., на каротиноиди между 44, 07 mg/100g fr. wt. и 47,36 mg/100g fr. wt., а на общото съдържание на пластидни пигменти между 292.18 mg/100g fr. wt. и 347.07 mg/100g fr. wt. (Таблица 2).

The mean data for five regrowths show that the content of chlorophyll a and b, carotenoids and, respectively, the total content of plastid pigments are close to both the pure stands of perennial ryegrass and alfalfa varieties and their mixtures.

The total content of chlorophylls a + b ranges between 247.87 mg / 100g fr. wt. and 299.71 mg/100g fr. wt., of carotenoids between 44, 07 mg/100g fr. wt. and 47.36 mg/100g fr. wt. and the total content of plastid pigments between 292.18 mg/100g fr. wt. and 347.07 mg / 100g fr. wt. (Table 2).

**Таблица 2. Съдържание на пластидни пигменти при пасищен райграс и люцерна в самостоятелни посеви и в смеските (средно за периода по подрасти)**

**Table 2. Plastid pigments in perennial ryegrass and Lucerne in pure stands and in mixtures (average for the period by regrowths)**

| № | Вариант Variant | Пластидни пигменти / Plastid pigments, mg/100 g fr. wt. | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | хл.а chl. a | хл.в chl.b | хл.а+в chl. a+b | каротиноиди carotenoids | Общо total |
| 1 | L.p. Harmoniya | 152,02 | 114,68 | 266,70 | 46,72 | 313,42 |
| 2 | L.p. NBG | 140,60 | 107,27 | 247,87 | 44,31 | 292,18 |
| 3 | M.s. Pleven 6 | 157,64 | 111,38 | 269,02 | 46,57 | 315,59 |
| 4 | M.s. Dara | 155,81 | 108,87 | 264,68 | 44,07 | 308,75 |
| 5 | Harmoniya + Pleven 6 | 164,01 | 113,68 | 277,69 | 46,71 | 324,40 |
| 6 | Harmoniya + Dara | 163,21 | 104,86 | 268,07 | 47,34 | 315,41 |
| 7 | NBG + Pleven 6 | 155,54 | 104,86 | 260,40 | 44,23 | 304,63 |
| 8 | NBG + Dara | 175,99 | 123,72 | 299,71 | 47,36 | 347,07 |
| | average | 158,10 | 111,17 | 269,27 | 45,91 | 315,18 |
| | min | 140,60 | 104,86 | 247,87 | 44,07 | 292,18 |
| | max | 175,99 | 123,72 | 299,71 | 47,36 | 347,07 |
| | SD | 10,26 | 6,28 | 14,94 | 1,45 | 15,98 |
| | P 0,05 | 7,11 | 4,35 | 10,36 | 1,00 | 11,07 |

Смеската NBG + Дара е с най-високо общо съдържание на пластидни пигменти – 347.07 mg/100g fr wt. Получените данни показват, че при смесено отглеждане на пасищен райграс и люцерна те не оказват негативно влияние един на друг като компоненти на смеските, не предизвикват засенчване и осъществяват интензивна фотосинтеза.

The NBG + Dara mixture has the highest total content of plaster pigments – 347.07 mg/100g fr wt. The data obtained show that, when perennial ryegrass and alfalfa are mixed, they do not adversely affect each other as components of the mixtures, they do not cause shading and do intensive photosynthesis.

Съдържанието на водоразтворими захари в пасищен райграс е значително по-високо в сравнение с люцерна (Таблица 3). Средно за пет подраста то е 6,56% при сорт Хармония и 7,26% при кандидат – сорт NBG. При сорт люцерна Плевен 6 е 1,96%, а при сорт Дара – 1,68%. Съдържанието на водоразтворими захари се променя по подрасти. При сортове пасищен райграс то е най-високо във втория и третия подрасти, намалява в четвъртия и се увеличава в есения подраст. За подобна тенденция съобщават Lawson and Kelly (2014) и Katova (2005). В първия, третия и четвъртия подрасти стойностите на съдържанието на водоразтворими захари при проучените сортове пасищен райграс са много близки. Във втория и петия подрасти кандидат – сорт NBG е с най-високо съдържание – 9,50% и 8,60% съответно. Подобна тенденция за намаляване съдържанието на водоразтворими захари през летните месеци и увеличаване в есения подраст се наблюдава и при люцерната. В първия, третия и петия подрасти сортове люцерна Плевен 6 и Дара показват близки стойности на съдържанието на водоразтворими захари. Във втория и четвъртия подрасти сорт Плевен 6 е с по-високо съдържание – 3,50% и 0,90% съответно срещу 2,40% и 0, 20% при сорт Дара. При смеските на райграс с люцерна съдържанието на водоразтворими захари се доближава до това при сортове люцерна отглеждани самостоятелно. Средно за пет подраста съдържанието на захари при смеската Хармония + Плевен 6 е 1,80%, Хармония + Дара – 1,86%, NBG + Плевен 6 1,84% и NBG + Дара – 1,64%.

The content of water-soluble carbohydrates in perennial ryegrass is significantly higher than alfalfa (Table 3).

On average, for five regrowths, it is 6.56% for the Harmoniya variety and 7.26% for the NBG variety candidate. In the alfalfa variety Pleven 6 is 1.96% and in the variety Dara - 1.68%. The content of water-soluble carbohydrates varies with regrowths. In perennial ryegrass varieties, it is the highest in the second and third growth, decreases in the fourth and increases in autumn growth. Lawson and Kelly (2014) and Katova (2005) reported such a trend. In the first, third and fourth regrowths the values of the water-soluble carbohydrates in the perennial ryegrass varieties studied are very close. In the second and fifth growth NBG perennial ryegrass candivar has the highest content - 9.50% and 8.60% respectively. A similar tendency to reduce the water-soluble carbohydrates in the summer months and increase in spring growths is observed in alfalfa.

In the first, third and fifth growth alfalfa varieties Pleven 6 and Dara show close values of the content of water-soluble carbohydrates. In the second and fourth growth Pleven 6 variety has a higher content of 3.50% and 0.90%, respectively, against 2.40% and 0.20% respectively in the Dara variety.

In alfalfa ryegrass mixtures, the water soluble sugar content is close to that of alfalfa cultivars grown alone. Average from five growths WSC content in the mixture Harmony + Pleven 6 is equal to 1.80%, Harmony + Dara - 1.86%, NBG + Pleven 6 1.84% and NBG + Dara - 1.64%.

**Таблица 3. Съдържание на водоразтворими захари при пасищен райграс и люцерна в самостоятелни посеви и в смеските по подрасти, средно за периода**
**Table 3. Water soluble carbohydrates content in in perennial ryegrass and Lucerne in pure stands and in mixtures (average for the period by regrowths)**

| № | Вариант Variant | Водоразтворими захари, Water Soluble Carbohydrates, % | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 подраст growth | 2 подраст growth | 3 подраст growth | 4 подраст growth | 5 подраст growth | Средно Average |
| 1 | L.p. Harmoniya | 6,4 | **7,8** | **7,7** | 3,8 | **7,1** | **6,56** |
| 2 | L.p. NBG | 6,4 | **9,5** | **7,7** | 4,1 | **8,6** | **7,26** |
| 3 | M.s. Pleven 6 | 2,4 | 3,5 | 0,6 | 0,9 | 2,4 | 1,96 |
| 4 | M.s. Dara | 3 | 2,4 | 0,6 | 0,2 | 2,2 | 1,68 |
| 5 | Harmoniya + Pleven 6 | 2,4 | 3,2 | 0,6 | 0,6 | 2,2 | 1,8 |
| 6 | Harmoniya + Dara | 2,7 | 3,2 | 0,5 | 0,4 | 2,5 | 1,86 |
| 7 | NBG + Pleven 6 | 3 | 2,7 | 0,9 | 0,6 | 2 | 1,84 |
| 8 | NBG + Dara | 2,4 | 2,6 | 0,6 | 0,9 | 1,7 | 1,64 |
| | average | 3,59 | 4,36 | 2,40 | 1,44 | 3,59 | 3,08 |
| | min | 2,40 | 2,40 | 0,50 | 0,20 | 1,70 | 1,64 |
| | max | 6,40 | 9,50 | 7,70 | 4,10 | 8,60 | 7,26 |
| | SD | 1,64 | 2,53 | 3,06 | 1,47 | 2,50 | 2,22 |
| | P 0,05 | 1,14 | 1,76 | 2,12 | 1,02 | 1,73 | 1,54 |

## ИЗВОДИ

- Средните данни за периода на проучването от пет подраста показват, че се наблюдават различия по съдържанието на пластидни пигменти (хлорофили a и b, каротиноиди и респективно общото съдържание), както между проучените сортове пасищен райграс и люцерна в самостоятелни посеви, така и между техните смески.
- Смеската NBG + Дара е с най-високо общо съдържание на пластидни пигменти – 347.07 mg/100g fr wt, следвана от смеската Хармония+ Плевен 6 – 324,40 mg/100g fr wt.
- Съдържанието на водоразтворими захари в пасищен райграс е значително (три пъти) по-високо в сравнение с люцерна. Средно за пет подраста то е 6,56% при сорт Хармония и 7,26% при кандидат – сорт NBG, който е тетраплоиден, при сорт люцерна Плевен 6 е 1,96%, а при сорт Дара – 1,68%.
- При смеските на пасищен райграс с люцерна съдържанието на водоразтворими захари се доближава до това при сортове люцерна, отглеждани самостоятелно.

## CONCLUSIONS

- The average data for the study period of five regrowths show differences in the content of plastid pigments (chlorophyll a and b, carotenoids and, respectively, the total content) both between the studied perennial ryegrass and alfalfa in pure stands and between their Mixtures.
- The NBG + Dara mixture has the highest total content of plastid pigments - 347.07 mg / 100g fr wt, followed by Harmonia + Pleven 6 - 324.40 mg / 100g fr wt.
- The content of water-soluble carbohydrates in perennial ryegrass is significantly (three times) higher than alfalfa. On average, for five regrowths, it is 6.56% for the Harmoniya variety and 7.26% for the candidate variety NBG, which is tetraploid, in the alfalfa variety Pleven 6 is 1.96% and in the Dara variety– 1.68%.
- In mixtures of perennial ryegrass with alfalfa, the water soluble carbohydrates content is similar to that of alfalfa varieties grown in pure stands.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES


1. **Ermakov, A., V. Arasimovich, N. Yaroch, U. Peruanskii, G. Lukovnikova and M. Ikonomova**, 1987. Biochemical research methods for plants. Agropromizdat, Moscow, 134-135 (Ru).
2. **Gilmore, A. and M. Govindjee**, 1999. How higher plant respond to excess light: energy dissipation in photosystem II. In: Singhal, G. S. G. Renger, S. K. Sopory, K. D. Irrgang, Govindjee Eds.) Concepts in photobiology: photosynthesis and photomorphogenesis. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 513-518.
3. **Ilieva, A. and V. Vasileva**, 2016 a. Plastid pigments content and nitrogen in dry mass yield in some mixtures. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 19(1), 61-77.
4. **Ilieva, A. and V. Vasileva**, 2016 b. Biochemical Composition and Phosphorus Use Efficiency in Some Mixtures. Internationl Journal of Bioassays, 5(7), 4694-4698.
5. **Jolaosho, A., U. Anele, O. Arigbede, J. Olanite, O. Onifade**, 2009. Effects of growth habits of legumes on weed population in grass/legume mixed swards. *Arch. zootec.*, 58(221), 133-136.
6. **Kadziuliene, Z., Kadziulis L and L. Sarunaite**, 2011. Lucerne and white clover for long term grassland: impact on sward and yield stability, Grassland Farming and Land Management Systems in Mountainous Regions. *Grassland Science in Europe*, 16, 229-231.
7. **Katova, A.**, 2005. Study of morphological traits, biological properties and agricultural value of plant germplasm of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) with a view to breeding. PhD thesis, Sofia, pp. 141 (Bg).
8. **Komarek, P., P. Nerusil, A. Kohoutek and V. Odstrcilova**, 2007. The effect of repeated direct sowing of grass-legume seed mixtures into grasslands on forage production and quality. Grassland Sci. Eur., 2007, 12: 39-42.
9. **Lawson, A. and K. Kelly**, 2014. Changes in water soluble carbohydrate content during regrowth of three temperate grasses in northern Victoria. In: Proceedings of the 5th Australasian Dairy Science Symposium 2014, 229-231.
10. **Luscher, A., I. Mueller-Harvey, J. F. Soussana, R. M. Rees, J. L. Peyraud**, 2014. Potential of legume-based grassland–livestock systems in Europe: a review. *Grass and Forage Science*, 69, 206-228.
11. **Nurmakova, J.**, 2013. Photosynthetic characteristics of sorghum, soybean and mixed crops in agro-ecosystems. *Natural Sciences*, 2, 196-201 (Ru).
12. **Piskovatskiiq, U., M. Lomova, L. Solojentseva, M. Lomov, A. Piyankov, N. Saprykina**, 2014. Phenocenotic breeding of alfalfa. Multifunctional adaptive forage production: Environmental formation functions of forage plants ecosystems. In: Proceedings of scientific papers, Moscow, 3(51) (Ru).
13. **Smirnova, E., V. Rechetnikova, T. Makarova, G. Karavaeva**, 2013. Features of cenose relations in pure and in mixed sward of *Mellilotus officinalis* L., In: Proceedings of the Samara scientific center of RAS, 15(3), 793-795 (Ru).
14. **Vasileva, V.**, 2011. Study on productivity of perennial legume crops in mixtures. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 14(2), 296-307.
15. **Vasileva, V. and A. Ilieva**, 2017. Some physiological parameters in mixtures of cocksfoot and tall fescue with subterranean clover. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 23(1), 71-75
16. **Vasileva, V.**, 2015. Morphological parameters and ratios in some mixtures with subclover. *Science International*, 3(4), 107-112.

17. **Vasileva, V., A. Ilieva, S. Vuckovic, N. Abumhadi**, 2017**.** Changes in plastid pigments content and amount of fixed nitrogen in mixtures of alfalfa and sainfoin. International Conference “Ecological condition of the environment and the scientific and practical aspects of modern resource – saving technologies in agroindustrial complex”, (Ed. Vinogradov, D.V.), February 16-17, Ryazan, 69-75 (Ru).
18. **Zelenskii, M. and G. Mogileva**, 1980. Methodological instructions. Comparative evaluation of photosynthetic ability of agricultural crops by photochemical activity of chloroplasts – Leningrad: VIR, 36-37 (Ru).

*Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (1), 159-171*
*Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan*
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

# Подсяване на деградирали семепроизводни посеви с подземна детелина

Вилиана Василева

*Институт по фуражните култури, ул. „Генерал Владимир Вазов" 89, 5800 Плевен, България*
*E-mail: viliana.vasileva@gmail.com*

# Under sowing of degraded seed production stands with subterranean clover

Viliana Vasileva

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

## РЕЗЮМЕ

Проучена е възможността за директно подсяване с подземна детелина на разредени (деградирали) семепроизводни посеви от бяла детелина и последващото им използване за фураж. Опитът е изведен на опитното поле на Институт по фуражните култури, Плевен, България. Три подвида подземна детелина, а именно, *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* (сорт "Antas"), *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* (сорт "Trikkala") и *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum* (сорт "Denmark") са използвани. Подсяването е извършено с 400 броя кълняеми семена/$m^2$ през есента на четвъртата година от използване на семепроизводния посев бяла детелина. В продължение на три години след подсяването посевът е използван за фураж, като са реколтирани по два подраста всяка година. Установено е, че подземната детелина не повлиява негативно върху развитието на бялата детелина, увеличава продуктивността на суха маса и намалява заплевеляването. Най-добро развитие и най-голям дял от тревостоя заема *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum*. От подсятите с

## SUMMARY

The possibility for under sowing of degraded white clover seed production stands with subterranean clover and thereafter used for forage was studied in a field trial in the Institute of Forage Crops, Pleven, Bulgaria.

Three subterranean clover subspecies, i.e. *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* (cv. "Antas"), *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* (cv. "Trikkala") and *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum* (cv. "Denmark") were used. The under sowing was performed during the autumn of the fourth year of using of white clover stands with 400 germinated seeds/$m^2$.

The stands were used for forage for three years after under sowing and every year two cuts were harvested. It was found that subterranean clover did not negatively effect the white clover development, increased dry mass productivity and reduced the weed infestation.

*Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* showed the best development. Dry mass yield from under

*Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* деградирали семепроизводни посеви бяла детелина, средно за периода е получен с 11.70% по-висок добив на суха маса. Подсяването на деградирали семепроизводни посеви бяла детелина с подземна детелина е възможно агротехническо мероприятие, след прилагането на което, посевът може да се използва за фураж.

**Ключови думи:** подсяване, деградирали семепроизводни посеви, подземна детелина, бяла детелина

sowed degraded white clover seed production stands with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* on average for the period was found 11.70% higher. Under sowing of degraded seed production white clover stands with subterranean clover is possible agrotechnical measurement and the stands thereafter could be used for forage.

**Key words:** under sowing, degraded seed production stands, subterranean clover, white clover

## УВОД

Бобовите култури придобиват все по-голямо значение в системата на устойчиво земеделие (Nacheva and Georgieva, 2007; De Vliegher et al., 2011; Luscher et al., 2014). Тяхната продуктивност обаче, с напредване възрастта на посева (за многогодишни бобови) намалява, поради отпадане на растения, посевите се разреждат, а освободените пространства се заемат от плевели (Dimitrova, 1986; Vasilev, 2004, 2008; Sulas et al., 2006; Petkova et al., 2015).

Едно от мероприятията, които дават възможност за подобряване на ботаничния състав на деградирали тревостои е директното подсяване. То се използва за възстановяване и/или удължаване на дълготрайността на деградирали пасищни тревостои. Прилага се при разредени тревостои, в които бобовите са отпаднали, поради краткотрайност, по-слаба адаптивност към преизползване, неблагоприятни почвени и климатични условия или други фактори. Чрез подсяването, освен, че се удължава дълготрайността на посевите, се повишава продуктивността и качеството на фуража (Springer, 1997).

За районите с умерен климат най-използвани култури за директно подсяване са видовете от родовете детелина (*Trifolium* spp.), звездан (*Lotus* spp.) и люцерна (*Medicago* spp.) (Entz et al., 2007; Escaray et al., 2012). Много подходящи за целта са самозасяващи

## INTRODUCTION

Legumes are becoming increasingly important in the system of sustainable agriculture (Nacheva and Georgieva, 2007; De Vliegher et al., 2011; Luscher et al., 2014). However, their productivity with advancing age of the crop (for perennial legumes) decreased due to loss of plants, the swards diluted and free spaces are occupied by weeds (Dimitrova, 1986; Vasilev, 2004, 2008; Sulas et al., 2006; Petkova et al., 2015).

Direct under sowing is one of measures which allow the improvement of botanical composition of degraded stands. It is using for the recovering and/or prolonging the persistence of the degraded pasture stands. Under sowing is applying in degraded stands, where the legume components are dropped due to the short duration, less adaptability to over use, adverse soil and climatic conditions or other factors. Through under sowing expect that it prolongs the durability of the stands and enhance the productivity and quality of the forage (Springer, 1997).

For areas with a temperate climate most used crops for under sowing are species of the genera clover (*Trifolium* spp.), trefoil (*Lotus* spp.) and alfalfa (*Medicago* spp.) (Entz et al., 2007; Escaray et al., 2012). Very suitable for this purpose are self-seeding crops due to

се култури, поради възможността за продължително присъствие в тревостоя. В един сезон те биха могли да осигурят както продуктивност на фураж, така и семена за размножаване (Carneiro, 1999; Naydenova et al., 2013; Bartholomew, 2014).

Подземната детелина (*Trifolium subterraneum* L.) е култура със способност за самозасяване (Yakimova and Yancheva, 1986; Piano et al., 1996). Тя е с нисък стелещ се хабитус и заема свободните пространства между другите растения от най-ниския етаж на тревостоя, като съжителства много добре с многогодишни житни и бобови видове. Отраства рано през пролетта и формира плътен тревостой (Porqueddu et al., 2003). Репродуктивните й органи се образуват в началото на месец май, а семената узряват до края на пролетта в таралежовидни бобове, които остават на почвената повърхност (Frame et al., 1998). Голяма част от семената са твърди и поникват след две-три години. Тази биологична особеност на културата превръща повърхностния слой на почвата в своеобразна семенна банка (Pecetti and Piano, 1994). Валежите в края на лятото спомагат за поникване на нови самозасели се растения (Vasilev, 2006, 2009). За райони със Средиземноморски климат се води селекция за твърдосеменност, която позволява постепенното поникване и съответно самоподдържане в тревостоя в продължение на няколко години, въпреки, че видът е едногодишен (Loi et al., 2005).

Подземната детелина е широко разпространен компонент в пасищата в умерените области на Средна и Северна Европа и Америка (Nichols et al., 2012; Lucas et al., 2015). За България е сравнително нова култура и се среща по открити, сухи тревисти места в равнини и низини, в състава на сухи тревни съобщества (Assyov et al., 2012). Проучванията през последните години показват, че тя има практическа приложимост за климатичните условия на страната (Ilieva and Vasileva, 2011;

their possibility of prolonged presence in the sward. In one season they could provide productivity of forage as well seeds for propagation (Carneiro, 1999; Naydenova et al., 2013; Bartholomew, 2014).

Subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) is speices with self-seeding ability (Yakimova and Yancheva, 1986; Piano et al., 1996). It has a low widespread habitat and occupies open spaces between other plants from the lowest floor of the sward, as well coexists well with perennial grasses and legumes. It grows up early in the spring and forms a dense sward (Porqueddu et al., 2003). Reproductive organs are formed in early May and the seeds ripen before the end of the spring in hedgehog-shaped heads that remain on the soil surface (Frame et al., 1998). Substantial part of the formed seeds is hard and germinates after two-three years. This biological specificity turns the superficial soil layer into an original seed bank (Pecetti and Piano, 1994). The precipitations during the late summer contribute to emergence of new self-sown plants (Vasilev, 2006, 2009). For areas with a Mediterranean climate the selection of subterranean clover for hardiness of the seeds is leading, which allows its gradual emergence and thus self-supporting in the stands for several years, although it is an annual type (Loi et al., 2005).

Subterranean clover is a widespread component in the pastures and other grasslands of the temperate areas of Central and Northern Europe and America (Nichols et al., 2012; Lucas et al., 2015). For Bulgaria it is relatively new crop and is found in open dry grasslands in the plains and lowlands (Assyov et al., 2012). The studies with subterranean clover in recent years showed that it has practical applicability for the climatic conditions of Bulgaria (Ilieva and Vasileva, 2011; Vasileva et al., 2011;

Vasileva et al., 2011; Ilieva et al., 2015; Naydenova and Vasileva, 2015, 2016; Kirilov and Vasileva, 2016; Vasileva et al., 2016). Част от проучванията включват използване на вида за директно подсяване на деградирали семепроизводни посеви. Такива са извършени при люцерна (Vasileva, 2015; Vasileva et al., 2015). Резултатите показаха, че при това мероприятие се подобрява ботаничния състав на тревостоите, заплевеляването намалява дву- и трикратно, и се получава по-висок добив на суха маса.

В настоящата работа си поставихме за цел да проучим възможността за директно подсяване с подземна детелина на деградирали семепроизводни посеви от бяла детелина и последващото им използване за фураж.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експерименталната работа е извършена на опитното поле на Институт по фуражните култури, Плевен, върху почвен подтип излужен чернозем, без напояване. Семепроизводните посеви бяла детелина са засяти през 2007 г. и полагани грижи през вегетацията съгласно възприета технология (Chakarov et al., 2005). Използван е метода на дългите парцели, големина на отчетната парцела 5 $m^2$ и 4 повторения на вариантите. През есента на четвъртата (2010) година от използване на посевите, напречно на редовете е извършено подсяване с три подвида подземна детелина – *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* (сорт "Antas"), *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* (сорт "Trikkala") и *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum* (сорт "Denmark"). Подсяването е извършено с 400 броя кълняеми семена/$m^2$ при междуредово разстояние 12 cm. Вариантите са както следва: бяла детелина (без подсяване) - контрола; бяла детелина + *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum*; бяла детелина + *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum*; бяла детелина + *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum*.

Ilieva et al., 2015; Naydenova and Vasileva, 2015, 2016; Kirilov and Vasileva, 2016; Vasileva et al., 2016). Some of studies involved the use of the species for direct under sowing of degraded seed production stands. They were performed in alfalfa (Vasileva, 2015; Vasileva et al., 2015). The results showed that this measure improves botanical composition, weed infestation decreased two- and threefold and increased dry mass yield.

In this study we aim to investigate the possibility for under sowing of degraded white clover seed production stands with subterranean clover and thereafter use for forage.

## MATERIAL AND METHODS

The experimental work was carried out on the experimental field of Institute of Forage Crops, Pleven, Bulgaria on slight leached chernozem soil subtype without irrigation. Seed production white clover stands was sown in 2007 and cared according with accepted technology (Chakarov et al., 2005).

Long plots method was used, plot size of 5 $m^2$ and 4 replications of the treatments. During the fourth year (2010) from the use of the swards, across the rows, under sowing with three subterranean clover subspecies was performed, i.e. *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* (cv. Antas), *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* (cv. Trikkala) and *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum* (cv. Denmark). Under sowing was done with 400 germinated seeds/$m^2$ and between rows spacing of 12 cm. Treatments were as follows: white clover (without under sowing) – control; white clover + *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum*; white clover + *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum*; white clover + *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum*.

Посевите са използвани в направление за фураж три години след подсяването, като във всяка година са получавани по два подраста (прибрани на 9.05. и 15.06. през първата; на 08.05. и 19.06. през втората, и на 26.04. и 19.06. през третата година). Непосредствено преди всяко покосяване са вземани проби от 0.25 $m^2$ и направен ботаничен анализ (%). Отчетен е добив на суха маса (изчислен от добива свежа маса и съдържанието на сухо вещество в проценти) (сушене до постоянно тегло). Експерименталните данни са обработени статистически, използвайки софтуерен продукт SPSS 2012.

The swards was used in the direction for forage three years after under sowing and each year two cuts were harvested (on 9.05. and 15.06. in the first; on 08.05. and 19.06. in the second, and on 26.04. and 19.06. in the third year). Immediately before each cutting samples from 0.25 $m^2$ was taken and botanical analysis performed. Dry mass yield was recorded (calculated from fresh mass yield and dry matter content in percent) (drying to the constant weight). Experimental data were processed statistically using a software product SPSS 2012,

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Агрометеорологичните условия за периода на извеждане на експеримента биха могли да се определят като неблагоприятни (Таблица 1). В годината след подсяването настъпи продължителен сух период с екстремно високи температури. Неравномерно разпределени валежи и дълготрайно (продължителност 82 дни) засушаване през лятото, характеризират втората експериментална година.

## RESULTS AND DISCUSSION

Agrometeorological conditions during the period of study could be determined as unfavourable (Table 1). In the year after under sowing long dry period with extremely high temperatures occurs. Unevenly distributed rainfall and long drought (duration of 82 days) in the summer characterized the second experimental year.

**Таблица 1. Агрометеорологични условия за периода на проучване**
**Table 1. Agro meteorological conditions for the period of study**

| Месеци/години Months/years | Първа година след подсяване/First year after under sowing | | Втора година след подсяване/Second year after under sowing | | Трета година след подсяване/Third year after under sowing | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | температура temperature | валежи rainfall | температура temperature | валежи rainfall | температура temperature | валежи rainfall |
| | $^oC$ | $l/m^2$ | $^oC$ | $l/m^2$ | $^oC$ | $l/m^2$ |
| I | -1.0 | 32.8 | -0.1 | 44.2 | 0.5 | 19.0 |
| II | 0.2 | 27.2 | -5.2 | 17.8 | 3.9 | 60.9 |
| III | 6.1 | 25.7 | 8.5 | 7.6 | 6.3 | 39.6 |
| IV | 11.4 | 28.2 | 14.8 | 46.3 | 14.0 | 50.8 |
| V | 16.8 | 79.8 | 17.4 | 85.2 | 19.5 | 63.7 |
| VI | 21.4 | 33.6 | 24.1 | 40.3 | 21.3 | 112.4 |
| VII | 23.5 | 50.2 | 27.8 | 1.4 | 22.7 | 105.8 |
| VIII | 23.6 | 41.3 | 25.8 | 35.6 | 24.9 | 20.2 |
| IX | 22.0 | 0.0 | 21.1 | 21.0 | 18.4 | 15.8 |
| X | 11.1 | 50.2 | 15.0 | 56.0 | 12.2 | 59.2 |
| XI | 7.6 | 0.4 | 8.1 | 4.0 | 8.7 | 29.1 |
| XII | 3.9 | 28.6 | -1.0 | 56.7 | 0.2 | 2.3 |
| Средно, сума Average, sum | 12.2 | 398.0 | 13.0 | 416.1 | 12.7 | 578.8 |

Ботаничен състав

Ботаничният състав на посевите през първата година след подсяване показва високо заплевеляване в първи подраст (Таблица 2). В контролния вариант то достига 90%. Във вариантите с подсяване заплевеляването варира от 73.79% при посева, подсят с *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* до 78.03% при посева, подсят с *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum*. В тези посеви се наблюдава и най-висок дял на подземната детелина – *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* (16.89%) vs. бяла детелина (9.32%) и *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* (14.05%) vs. бяла детелина (9.72%).

Botanical composition

Botanical composition of the swards in the first year after under sowing showed high weed infestation in the first cut (Table 2). In the control variant the weed infestation reached 90%. In the variants with under sowing the weed infestation varied from 73.79% in the swards under sowed with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* to 78.03% in the swards under sowed with *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum*. In these swards the highest part of subterranean clovers was observed - *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* (16.89%) vs. white clover (9.32%) and *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* (14.05%) vs. white clover (9.72%).

**Таблица 2. Ботаничен състав на подсяти с подземна детелина деградирали семепроизводни посеви бяла детелина, %**
**Table 2. Botanical composition of under sowed degraded white clover seed production stands with subterranean clover, %**

| Варианти Treatments | Бяла детелина White clover | | Подземна детелина Tr. subterraneum | | Плевели Weeds | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Първи подраст First cut | Втори подраст Second cut | Първи подраст First cut | Втори подраст Second cut | Първи подраст First cut | Втори подраст Second cut |
| | Първа година след подсяване/First year after under sowing | | | | | |
| Контрола/Control | 8.79 | 16.23 | - | - | 91.21 | 83.77 |
| + brachycalicinum | 9.32 | 15.90 | 16.89 | 6.57 | 73.79 | 77.53 |
| + yaninicum | 9.72 | 13.71 | 14.05 | 5.47 | 76.23 | 80.82 |
| + subterraneum | 13.95 | 16.07 | 8.02 | 3.33 | 78.03 | 80.60 |
| SE (P=0.05) | 1.18 | 0.59 | 2.61 | 0.95 | 3.89 | 1.27 |
| | Втора година след подсяване/Second year after under sowing | | | | | |
| Контрола/Control | 35.82 | 50.00 | - | - | 64.18 | 50.00 |
| + brachycalicinum | 37.91 | 38.46 | 30.46 | 15.38 | 31.63 | 46.15 |
| + yaninicum | 31.59 | 43.53 | 27.25 | 10.59 | 41.16 | 45.88 |
| + subterraneum | 21.39 | 44.44 | 18.20 | 11.11 | 60.41 | 44.44 |
| SE (P=0.05) | 3.67 | 2.36 | 3.67 | 1.51 | 7.76 | 1.18 |
| | Трета година след подсяване/Third year after under sowing | | | | | |
| Контрола/Control | 24.84 | 30.00 | - | - | 75.16 | 70.00 |
| + brachycalicinum | 27.60 | 28.30 | 15.34 | 8.38 | 57.06 | 63.32 |
| + yaninicum | 23.13 | 23.34 | 13.76 | 7.28 | 63.11 | 69.38 |
| + subterraneum | 18.63 | 20.41 | 10.10 | 6.02 | 71.27 | 73.57 |
| SE (P=0.05) | 1.88 | 2.21 | 1.55 | 0.68 | 4.06 | 2.12 |

Делът на подземната детелина във втори подраст намалява почти трикратно спрямо първи, а делът на бялата детелина се увеличава. Бялата детелина има способността да „колонизира“ (заема) всяка свободна площ в съседство (Mihovsky, 1993). Не се забелязва различие в участието на подземната детелина в зависимост от използвания подвид, но заплевеляването при *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* е по-слабо в сравнение с останалите. Така, в годината след подсяване на деградиралите семепроизводни посеви бяла детелина, *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* възпрепятства заплевеляването.

През втората година след подсяване заплевеляването е относително по-слабо. По-голям дял на плевелите се наблюдава във вариантите от контролата и тези с подсяване с *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum* в първи подраст, съответно 64.18% и 60.41%. Този подвид подземна детелина е по-дребнолистна и по-слабо конкурентна (Lucas et al., 2015). Значително по-ниско е заплевеляването във вариантите с подсяване с *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* и *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* (31.63 и 41.16%).

Във втори подраст делът на плевелите в контролата е 50%. Подземната детелина допринася за намаляване на заплевеляването в посевите, но много слабо. Не се забелязва различие за изпитваните подвидове и делът на плевелите варира в тесни граници (от 44.44% до 46.15%).

През третата след подсяването година, напредналото развитие на бялата детелина възпрепятства развитието на подземната, и възможността за развитието ú е значително намалена. Ботаничният състав показва най-слабо участие на подземните детелини в посевите и в двата подраста. В първи подраст делът им е 10.10% до 15.34%, а във втори от 6.02% до 8.38%.

The part of subterranean clover in the second cut decreased almost threefold compared to the first cut, while the part of white clover increased. White clover has the ability to "colonize" any free space in the neighborhood (Mihovsky, 1993). No noticeable difference in the participation of subterranean clover depending on the subspecies was found, but weed infestation in under sowed swards with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* was less compared to others. Thus, *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* prevent weed infestation in the year after under sowing the degraded seed production white clover stands.

In the second year after under sowing the weed infestation was relatively weak. A larger part of weeds was observed in the control variant and those under sowed with *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum* in the first cut, 64.18% and 60.41%, respectively. This subterranean clover subspecies has small size of leafes and is less competitive (Lucas et al., 2015). Significantly lower was the weed infestation in variants with under sowing with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* and *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* (31.63% and 41.16%).

In the second cut the part of weeds was 50%. Subterranean clover contributes to reducing weed infestation in the swards, but very weak. No noticeable difference for the subspecies tested and the part of weeds varied in a narrow range (from 44.44% to 46.15%).

During the third year after under sowing, the advanced development of white clover prevent the development of subterranean clover and the possibility for its development was significantly reduced. Botanical composition showed low participation of subterranean clovers in the two cuts. In the first cut the part of subterranean clover was from 10.10% to 15.34%, while in the second - from 6.02% to 8.38%.

Очертава се тенденция от трите изпитвани подвида, *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* да има най-добро развитие и заема най-голям дял от тревостоя.

There is a trend, *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* (from the three subterranean clover subspecies) to have the best development and biggest part in the swards.

Добив на суха маса

По отношение на продуктивността на суха маса, в първи подраст през първата година след подсяването, от посевите, подсяти с *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* и *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum*, добивът на суха маса е с 13.48% и 9.44% по-висок от неподсятите (Таблица 3). Във втори подраст подобна тенденция е забелязана само за *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum.* Средно от двата подраста полученият добив суха маса от подсяти с *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* деградирали семепро-изводни посеви бяла детелина, е с 12.03% по-висок.

През втората година данните за добив на суха маса кореспондират с тези за ботаничен състав. Присъствието на подземна детелина повишава добива на суха маса в първи подраст с 13.43% и 14.18%, съответно при подсяване с *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* и *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum*. Във втори подраст превишението в добива суха маса спрямо контролата е с 12.82% за *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* и 8.97% за останалите два подвида. Средният добив на суха маса за годината е най-нисък при контролата (128.00 kg/da). В посевите, подсяти с *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* и *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* добивът на суха маса е по-висок с 13.50% и с 11.22%, и се получават със 17.29 kg/da и 14.36 kg/da повече суха маса в сравнение с неподсятите.

През третата година добивът на суха маса е нисък и средно от двата подраста доказано се увеличава само при подсяване с *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum*. Полученото допъл-

Dry mass yield

Regarding the dry mass productivity, in the first cut in the first year after under sowing from the swards under sowed with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* and *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum*, it was found dry mass yield being higher as compared to non under sowed by 13.48% and 9.44%, respectively (Table 3). In the second cut a similar trend was observed for *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* only. On average for the two cuts, dry mass yield obtained from under sowed degraded white clover seed production stands with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* was by 12.03% higher.

Data for dry mass yield in the second year corresponded with these for botanical composition. The presence of subterranean clover increased dry mass yield in the first cut with 13.43% and 14.18% when under sowing was done with *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* and *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum*, respectively. In the second cut the exceeding in dry mass yield as compared to the control was by 12.82% for *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* and by 8.97% for the other two subspecies. The average dry mass yield for the year was found be lowest in the control (128.00 kg/da). In swards under sowed with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* and *Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* dry mass yield was by 13.50% and 11.22% higher. From these swards there were 17.29 kg/da and 14.36 kg/da more dry mass obtained compared to non under sowed ones.

During the third year dry mass yield was low and on average from the two cuts it increased significantly only for under sowing with *Trifolium subterraneum*

нително количество суха маса (9.46 kg/da) също е по-малко от това през предходните години.

*ssp. brachycalicinum*. The additional amount of dry mass (9.46 kg/da) was also less than in previous years.

**Таблица 3. Добив суха маса от подсяти деградирали семепроизводни посеви на бяла детелина с три подвида подземна детелина, kg/da**
**Table 3. Dry mass yield from under sowed degraded white clover seed production stands with subterranean clover, kg/da**

| Варианти<br>Treatments | Първи подраст<br>First cut | Втори подраст<br>Second cut | Средно<br>Average | +, kg/da |
|---|---|---|---|---|
| | Първа година след подсяване/First year after under sowing | | | |
| Контрола/Control | 159.59 | 137.02 | 148.30 | - |
| + brachycalicinum | 181.11 | 151.16 | 166.14 | 17.84 |
| + yaninicum | 174.65 | 142.38 | 158.52 | 10.22 |
| + subterraneum | 161.13 | 138.12 | 149.63 | 1.32 |
| SE (P=0.05) | 5.23 | 3.21 | 4.16 | |
| | Втора година след подсяване/Second year after under sowing | | | |
| Контрола/Control | 128.80 | 127.20 | 128.00 | - |
| + brachycalicinum | 147.06 | 143.51 | 145.29 | 17.29 |
| + yaninicum | 146.10 | 138.62 | 142.36 | 14.36 |
| + subterraneum | 137.45 | 138.62 | 138.03 | 10.03 |
| SE (P=0.05) | 4.27 | 3.46 | 3.77 | |
| | Трета година след подсяване/Third year after under sowing | | | |
| Контрола/Control | 108.82 | 100.20 | 104.51 | - |
| + brachycalicinum | 119.30 | 108.63 | 113.97 | 9.46 |
| + yaninicum | 115.77 | 103.27 | 109.52 | 5.01 |
| + subterraneum | 111.23 | 100.00 | 105.62 | 1.11 |
| SE (P=0.05) | 2.33 | 2.01 | 2.14 | |

Средно за трите години добивът суха маса при подсяване с *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* е с 11.70% по-висок от този на неподсятите посеви (Фигура 1). Получават се 14.86 kg/da допълнително количество суха маса.

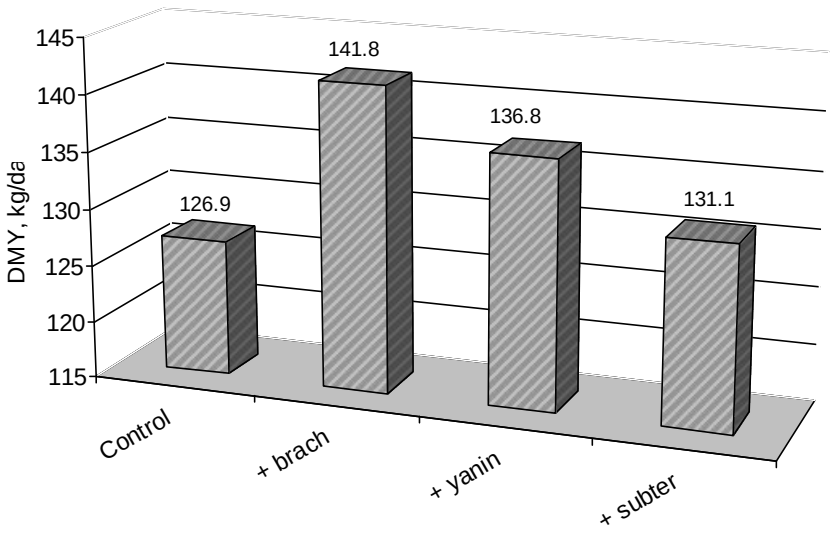
Настъпилите през последните десетилетия трайни изменения в климата са сериозен риск особено за многогодишните посеви, тъй като засягат капацитета им в продължение на няколко години (Mannetje, 2006; Gornall et al., 2010; Aranjueloa et al., 2014). Подземната детелина е едногодишен бобов вид, но поради биологичната ú способност за самозасяване, присъства в тревостоя в началото и края на вегетацията, държи се като

Dry mass yield on average for three years when under sowing was done with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* was by 11.70% higher than that of non under sowed swards (Figure 1). There was 14.86 kg/da additionally amount of dry mass.

The permanent changes having occurred in the last ten-year periods in the climate, present a serious risk to the perennial swards because they relate to their capacity for several years (Gornall et al., 2010; Aranjueloa et al., 2014). Subterranean clover is an annual leguminous species, but because of the biological ability for self-seeding with the presence in the sward at the beginning and end of vegetation, behaves as a perennial type and increases the

многогодишен вид и удължава дълготрайността на посевите. В нашето проучване установихме, че тази култура би могла да се използва за подсяване на деградирали тревостои.

persistence of the swards. In our study we found this crop could be used for under sowing of degraded stands.




**Фиг. 1. Добив суха маса от подсяти с подземна детелина деградирали семепроизводни посеви бяла детелина, средно за трите години след подсяване (SE=0.05, 3.25)**

**Fig. 1. Dry mass yield from under sowed Degraded white clover seed production stands with subterranean clover, average for three years after under sowing (SE=0.05, 3.25)**

## ИЗВОДИ

Подземната детелина може да се използва за директно подсяване на разредени (деградирали) семепроизводни посеви от бяла детелина. Тя не повлиява негативно върху развитието на бялата детелина, увеличава добива на суха маса и намалява заплевеляването, а посевите могат да бъдат използвани за фураж. От проучваните три подвида (*Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum, Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* и *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum*) най-добро развитие и най-голям дял от тревостоя заема *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum*. Средно

## CONCLUSIONS

Subterranean clover can be used for under sowing of degraded white clover seed production stands. It did not negatively effect the white clover development, increased dry mass productivity and reduced the weed infestation, thereafter the stands could be used for forage. From the three subspecies studied (*Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum, Trifolium subterraneum ssp. yaninicum* and *Trifolium subterraneum ssp. subterraneum*) *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* showed the best development and took the biggest part in the swards.

за периода на проучване добивът на суха маса при подсяване с *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* се увеличава с 11.70% и се получават допълнително 14.86 kg/da суха маса.

After under sowing with *Trifolium subterraneum ssp. brachycalicinum* dry mass yield on average for the period was found to increase by 11.70% and 14.86 kg/da additional dry mass yield was obtained.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES


1. **Aranjueloa, I., C. Arrese-Igor and G. Moleroc**, 2014. Nodule performance within a changing environmental context. *Journal of Plant Physiology*, 171, 1076-1090.
2. **Assyov, B., A. Pertova, D. Dimitrov, P. Vassilev**, 2012. Conspectus of the Bulgarian Vascular Flora: Distribution maps and floristic elements. Fourth edition, Bulgarian Biodiversity Foundation, pp. 424 (Bg).
3. **Bartholomew, P. W.**, 2014. Self-Seeding Warm-Season Legumes for Low-Input Forage Production in the Southern Great Plains of the USA. *Agricultural Sciences*, 5, 1112-1118 /http://dx.doi.org/10.4236/as.2014.512121/
4. **Carneiro, J. P.**, 1999. Avaliação de luzernas anuais em solos á cidos, Estudo do efeito de alguns factores com vista ao melhoramento deplantas. Doutoramento em Engenharia Agronomica, Univercidade Técnica de Lisboa.
5. **Chakarov, R., A. Kirilov, Tsv. Dimitrova, N. Damyanova, E. Vasilev and M. Stoykova**, 2005. *Background technology for improvement and use of natural meadows and pastures.* Institute of Forage Crops, Pleven (Bg).
6. **De Vliegher, A., S. Kratovalieva, T. Mihovsky, M. Vlahova, L. Tosev and L. Carlier**, 2011. Leguminous crops as basis for organic farming in Macedonia. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 14, 3, 548-563.
7. **Dimitrova, Tsv.,** 1986. Chemical weed control in white clover swards. *Plant Science*, XXV (8) 55-60 (Bg).
8. **Entz, M. H., J. R. Thiessen, W. Ma Martens, G. P. Lafond**, 2007. Black medic *(Medicago lupulina)* germplasm screening for use as a self-regenerating cover crop on the Canadian Prairies. *Can. J. Plant Sci.,* 87, 873-878.
9. **Escaray, F., A. Menendez, A. Garriz, F. Pieckenstain, M. Estrella, L. Castagno, P. Carrasco, J. Sanjuan, O. Ruiz**, 2012. Ecological and agronomic importance of the plant genus Lotus. Its application in grassland sustainability and the amelioration of constrained and contaminated soils. *Plant Science*, 182, 121-133.
10. **Frame, J., J.F.L. Charlton and A. S. Laidlaw**, 1998. Temperate Forage Legumes. CAB International, Wallingford, pp. 327.
11. **Gornall, J., R. Betts, E. Burke, R. Clark, J. Camp, K. Willett, A. Wiltshire**, 2010. Implications of climate change for agricultural productivity in the early twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, 365*, 2973-2989.
12. **Ilieva, A. and V. Vasileva**, 2011. Study on nodulation and nitrate reductase activity in some mixtures. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 14(3), 513-530.
13. **Ilieva, A., V. Vasileva and A. Katova**, 2015. 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*, 3(4), 222-228.
14. **Kirilov, A. and V. Vasileva**, 2016. Palatability of subterranean clover and some perennial grasses and legume forage crops. *Journal of Global Innovations in Agricultural and Social Sciences*, 4(4) 152-155., ISSN (Online): 2311-3839, ISSN (Print): 2312-5225, 2016, DOI:https://doi.org/10.22194/JGIASS/4.4.761
15. **Loi, A., J. G. Howieson, B.J. Nutt and S.J. Carr**, 2005. A second generation of annual pasture legumes and their potential for inclusion in Mediterranean-type farming systems. *Aust. J. Exp. Agric*., 45, 289-299.

16. **Lucas, R.J., A. Mills, S. Wright, A. D. Black, D.J. Moot**, 2015. Selection of sub clover cultivars for New Zealand dryland pastures. *Journal of New Zealand Grasslands*, 77, 203-210.
17. **Luscher, A., I. Mueller-Harve, I. F. Soussana, R.M. Rees, J.L. Peyraud**, 2014. Potential of legume-based grassland-livestock systems in Europe: a review. *Grass and Forage Science*, 69, 206-228.
18. **Mannetje, L.'t.,** 2006. Climate change and grassland through the ages- an overveiw. *Grassland Science in Europe*, 11, 733-738.
19. **Mihovsky. T.**, 1993. Les recherches sur le trefle blanc en Bulgarie. Particularites biologiques et morphologiques. *Fourrages*, 136, 537-546.
20. **Nacheva, I. and L. Georgieva**, 2007. Application of food cryobiotehnologies for qualitative and extended shelf life of plant products. *Plant Science*, 44(3), 271-275 (Bg).
21. **Naydenova, G., Ts. Hristova and Y. Aleksiev**, 2013. Objectives and approaches in the breeding of perennial legumes for use in temporary pasturelands. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 29(2), 233-250.
22. **Naydenova, Y. and V. Vasileva**, 2015. Forage quality analysis of perennial legumes - subterranean clover mixtures. *Science International*, 3 (4), 113-120.
23. **Naydenova, Y. and V. Vasileva**, 2016. Analysis of Forage Quality of Grass Mixtures – Perennial Grasses with Subterranean Clover. *Journal of Basic and Applied Research* (JBAAR), 2(4), 534-540.
24. **Nichols, P.G.H., C. K. Revell, A. W. Humphries, J.H. Howie, E.J. Hall, G.A. Sandral, K. Ghamkhar, C.A. Harris**, 2012. Temperate pasture legumes in Australia – their history, current use and future prospects. *Crop and Pasture Science*, 63, 691-725.
25. **Pecetti, L. and E. Piano**, 1994. Observations on the rapidity of seed and burr growth in subterranean clover. *Journal of Genetics and Breeding*, 48, 225-228.
26. **Petkova, D., D. Marinova, I. Ivanova and P. Momchilova**, 2015. Influence of meteorological conditions and stand age on alfalfa seeds yield. In: Proceedings of the Union of Scientists - Ruse, *Agrarian and Veterinary Sciences*, 3(7), 61-64 (Bg).
27. **Piano, E., L. Pecetti and A. M. Carroni**, 1996. Climatic adaptation in subterranean clover populations. *Euphytica*, 92(1-2), 39-44.
28. **Porqueddu, C., G. Parente and M. Elsaesser**, 2003. Potential of grasslands. In: A. Kirilov, N. Todorov and I. Katerov (eds.). *Grassland Science in Europe*, 8. pp. 11-20.
29. **Springer, T.L.**, 1997, Effect of Bermuda grass height on clover establishment. *Crop Sci*., 37, 1663-1665.
30. **SPSS**, 2012. SPSS Version 20.0. SPSS Inc., 233 S. Wacker Drive, Chicago, Illinois.
31. **Sulas, L., A. Franca and S. Caredda**, 2006. Persistence and regeneration mechanisms in forage legumes *CIHEAM - Options Mediterraneennes*, 331-345.
32. **Vasilev, E.**, 2006. Productivity of subterranean clover (*Tr. subterraneum* L.) in pasture mixtures with some perennial grasses for the conditions of Central North Bulgaria. *Plant Science*, 43(2), 149-152.
33. **Vasilev, E.**, 2008. Effect of type of management of birdsfoot trefoil on botanical composition of sward and dry mass yield. 80 year agrarian science in Rhodopes. *Proceedings from the jubilee conference with international participation, Smolyan*, 25-26.09.2008, 166-169 (Bg).
34. **Vasilev, E.**, 2009. Chemical composition of subclovers forage (*Tr. subterraneum* L.) and crude protein yield in pasture mixtures with grasses. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans,* 12(2), 329-341.
35. **Vasileva, V.**, 2015. Self-seeding of subterranean clover in degraded alfalfa stands. In: *Jubilee proceedings, 90 year Experimental station of soybean, Pavlikeni*.

Georgiev G., Todorova T. and Sabev V. (eds.), Agricultural Academy, Sofia, 144-150.
36. **Vasileva, V., E. Vasilev and M. Athar**, 2011. Nodulation and root establishment of two clover species grown in pasture mixtures with wheatgrass. *FUUAST Journal of Biology*, 1(1), 1-4.
37. **Vasileva, V., E. Vasilev and R. Tzonev**, 2016. Subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) as a promising forage species in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 22(2), 222-227.
38. **Vasileva, V., E. Vasilev and Ts. Dimitrova**, 2015. Undersowing with subterranean clover of degraded alfalfa seed production stands. Agricultural University- Plovdiv. *Scientific Works*, vol. LIX, book 2, Jubilee Scientific Conference with International Participation Traditions and Challenges of Agricultural Education, Science and Business, 113-122.
39. **Vasilev, E.**, 2004. Seed productivity from alfalfa (*Medicago sativa* L.) depending on the swards type. *Plant Science*, 41(5), 474-478 (Bg).
40. **Yakimova, Y. and H. Yancheva**, 1986. Phytocenological and ecological characteristics of some annual clovers in Strandja region, *Plant Science,* S., 23, 47-53 (Bg).