Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (2), 100-113
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Биологични, морфологични и качествени характеристики на многогодишни бобови фуражни треви третирани с растежни регулатори и биоторове

Татяна Божанска*, Боряна Чуркова, Цветослав Миховски

Институт по планинско животновъдство и земеделие, ул. В.Левски 281, 5600 Троян, България
**E-mail: tbozhanska@mail.bg*

Biological, morphological and qualitative characteristics of perennial legume forage grasses treated with growth regulators and biofertilizes

Tatyana Bozhanska, Boryana Churkova, Tsvetoslav Mihovski

Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture
281 Vasil Levski Str., 5600 Troyan, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

През периода 2014-2016 година е изведен полски опит в опитното поле на ИПЖЗ-Троян, в който е проучено влиянието на растежните регулатори РЕНИ, РЕНИ D и биоторовете Бормакс и Молибденит, прилагани във фаза бутонизация върху тревостои от звездан и бяла детелина.

Данните от ботаничния анализ на звездана и бялата детелина доказват видова разлика и специфична реакция на двете култури към действието на включените в експеримента препарати. Листно приложени, регулаторите стимулират по-високо участието на звездана в тревостоите, сравнено с това на бялата детелина. Препаратът Бормакс оказа най-силно положително влияние върху относителният дял на фуражните треви през първата година от растежния цикъл. За периода на проучване присъствието на *Lotus corniculatus* L. в тревната асоциация е повлияно в най-висока степен от растежния регулатор РЕНИ D, а вида *Trifolium repens* L. от биостимулиращата функция на препарата Молибденит.

SUMMARY

During the period of 2014-2016 in the experimental field at RIMSA-Troyan was conducted a field experiment. The influence of growth regulators RENI, RENI D and biofertilizers Bormax and Molibdenit was studied, applied in the bud formation period on grasslands of bird's-foot-trefoil and white clover.

Data of the botanical analysis prove the species differences and specific reaction of both crops to the action of the preparations, included in the experiment. The regulators, with foliar application, encourage the higher participation of bird's-foot trefoil in grasslands, compared with the white clover. Bormax had the greatest positive impact on the share of forage grasses in the first year of growth cycle. For the period of study, the presence of *Lotus corniculatus* L. in the grass association was influenced at the highest level by the growth regulator RENI D, and species of *Trifolium repens* L. by the biostimulating function of Molibdenit.

От данните за морфологичния състав на тревостоите става ясно, че изследваните регулатори оказват по-слабо влияние върху процента на листната маса в детелиновите тревостои, докато във фуража на звездана листата преобладават (53% от общата фуражна маса) спрямо стъблата. Най-голямо положително влияние върху количеството листна маса оказа биоторът Молибденит (за звездана) и комбинацията от РЕНИ+РЕНИ D при бялата детелина. Растителната биомаса на звездана третирана с препарата Бормакс има най-висока смилаемост на сухото вещество (703,1 g kg^{-1} СВ), а положителното влияние на съставите РЕНИ D осигуриха най-високо качество и смилаемост (729,2 g kg^{-1} СВ) на фуражната маса от детелинови растения.

Ключови думи: биологично-активни вещества, *Lotus corniculatus* L., *Trifolium repens* L., морфологични особености, влакннини компоненти

The morphological composition data of grasslands make clear that studied regulators had a less impact on the rate of foliage in clover grasslands, while leaves were predominant in bird’s-foot trefoil forage (53% of the total forage) in comparison to stems. Molibdenit (for the bird’s-foot trefoil) had the greatest positive influence on the amount of foliage, and the combination RENI + RENI D for the white clover. Plant biomass of bird’s-foot trefoil treated by Bormax had the highest dry matter digestibility (703.1 g kg^{-1} DM), as the positive effect of RENI D provided the highest quality and digestibility (729.2 g kg^{-1} DM) of the forage mass of clover plants.

Key words: biologically active substances, *Lotus corniculatus* L., *Trifolium repens* L., morphological features, fiber components

УВОД

В планински условия, използването на многогодишни бобови ливадни треви е тясно свързано с тяхната устойчивост, адаптивна способност и преживяемост. *Lotus corniculatus* L. и *Trifolium repens* L. са приоритетни видове за района на Средна Стара планина. Продуктивността им е продиктувана от ценните биологични и морфологични особености. Тя се влияе от тяхната отзивчивост към широко прилаганите агротехнически и агрохимически мероприятия с цел повишаване добива и подобряване качеството на фуражната биомаса.

Технологиите за биологично производство са в основата на съвременното земеделие, защото акцентират върху използването на биоматериали, които стимулират растежа и развитието на растенията и осигуряват високи и качествени добиви от селскостопанските култури.

Препаратите РЕНИ, РЕНИ D, Бормакс и Молибденит са признати и одобрени течни биостимулатори на

INTRODUCTION

In mountain conditions, the use of legume perennial meadow grasses is closely related to their sustainability, adaptive capacity and endurance. *Lotus corniculatus* L. and *Trifolium repens* L. are priority species for the region of the Central Balkan Mountain. Their productivity is dictated by their valuable biological and morphological characteristics. It is influenced by their responsiveness to the widely applied agricultural and agrochemical activities in order to increase the yield and improve the quality of forage biomass.

The organic production technologies are the basis of modern agriculture because they focus on the use of biomaterials that stimulate the growth and development of plants and provide high and quality yields of agricultural crops.

Preparations, such as RENI, RENI D, Bormax and Molibdenit are recognized and approved liquid growth biostimulators растежа за производство на биологична продукция. Резултатите от анализите на Minev et al. (2011) сочат, че след третиране на фуражен грах сорт Мир с Молибденит и РЕНИ+В стойностите на суровия протеин се повишават с 6,0% и 3,4%, докато сорт Весела реагира найдобре при изпитването на Манганов хелат, Молибденит и Бормакс, като увеличението е 13,3%, 7,5% и 6,7%. Биостимулаторите оказват влияние върху структурните елементи на добива (Chourkova, 2008; Sabev and Pachev, 2008) като засилват обмяната на веществата, усвояването и преразпределението на хранителните елементи в растителния организъм (Nickel, 1982). В този смисъл Dzimotudis et al. (2008) проучват възможностите на РЕНИ и РЕНИ А върху растежа и продуктивността на градински грах, третиран във фаза бутонизация и начало на цъфтеж с доза 200 ml/da. Анализът на морфологичните данни сочи повишаване теглото на едно растение, както и броя и теглото на бобовете. Препаратите компенсират влиянието на неблагоприятните фактори на околната среда за получаване на продукция с подобри технологични и вкусови качества (Popov and Dzimotudis, 2007). Растежните регулатори от групата РЕНИ, увеличават скоростта на фотосинтезата и натрупването на молибден в зърното на фасула, което провокира неговия по-добър първоначален растеж (Popov et al., 1999). Предпосевната обработка на семената на зимуващ грах с Молибден се отразява положително на растежа и развитието, продуктивността и добива на белтък в растителния организъм (Popov et al., 1994). Увеличаване добива семена от еспарзета с 25%, кълняемата енергия и кълняемостта с 40 и 16%, и абсолютното тегло на семената с 23% след третирне с биологично-активни вещества, установяват Vasileva и Kertikov (2001; 2004). В планинските условия конкуретната способност, устойчивостта и дълго-

for the production of organic products. The results of the analyzes of Minev et al. (2011) suggest, that after treatment of field pea "Peace" variety with Molibdenit and RENI + B, the values of crude protein increased by 6.0% and 3.4%, while "Vesela" variety responded best to Manganese chelate Molibdenitee and Bormax, as the increase was by 13.3%, 7.5% and 6.7%. Biostimulators affect the yield structural components (Chourkova, 2008; Sabev and Pachev, 2008) by increasing metabolism, absorption and redistribution of nutrients in the plant organism (Nickel, 1982).

In this sense Dzimotudis et al. (2008) explored the possibilities of RENI and RENI A for growth and productivity of peas, treated in the bud formation period and beginning of flowering at a dose of 200 ml/da. The morphological data analysis shows an increase in weight of a plant, as well as the number and weight of pods. Preparations compensate the impact of adverse environmental factors in production of products with better technology and taste qualities (Popov and Dzimotudis, 2007).

Growth regulators of the group of RENI increase the rate of photosynthesis and the accumulation of molybdenum in the seeds of beans, which provokes its better initial growth (Popov et al., 1999). Pre-sowing treatment of seeds of wintering peas by Molybdenum has a positive influence on growth and development, productivity and yield of protein in plant organism (Popov et al., 1994).

Vasileva and Kertikov (2001; 2004) found an increase in the seed yield of sainfoin by 25%, germination energy and germination rate by 40% and 16%, and the absolute weight of seeds by 23% after treatment with biologically active substances. In mountain conditions, the competitive ability, sustainability and трайността на видовете, съответно генотиповете бобови треви в сятите тревостои, повлияват продуктивността и хранителната стойност (Goranova, 2007) на фуража. Морфологичната характеристика на бобовите треви е фактор, който влияе върху основни качествени параметри на получената биомаса – съдържание на протеин, влакнини компоненти и смилаемост на сухото вещество. Качеството на растителната маса е в тясна зависимост от сезонните колебания в района на отглеждане, ботаническите особености на растенията свързани с натрупването на целулоза на определен етап от вегетацията им и от съотношението листа:стъбла (Kicheva and Angelova, 2006; Badrzadeh et al., 2008; Larbi et al., 2010).

Целта на настоящото проучване е да се установи влиянието на растежните регулатори РЕНИ, РЕНИ D и биоторовете Бормакс и Молибденит, върху биологичните, морфологичните и качествени характеристики на звездан и бяла детелина.

permanence of species, respectively genotypes of legume grasses in sown grasslands affect productivity and nutritional value (Goranova, 2007) of forage. The morphological characteristics of legume grasses is a factor that influences on the main quality parameters of the obtained biomass – protein content, fiber components and dry matter digestibility. The quality of plant matter is highly dependent on seasonal fluctuations in the region of cultivation, botanical characteristics of the plants associated with the accumulation of cellulose at a particular stage of their vegetation and the ratio of leaves:stems (Kicheva and Angelova, 2006; Badrzadeh et al., 2008; Larbi et al., 2010).

The aim of the present study was to determine the effect of growth regulators, such as RENI, RENI D and biofertilizers Bormax and Molibdenit on biological, morphological and qualitative characteristics of bird's-foot-trefoil and white clover.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През периода 2014-2016 година в опитното поле на Института по планинско животновъдство и земеделие - Троян е проведен полски опит със звездан и бяла детелина третирани с растежните регулатори РЕНИ, РЕНИ D и биоторовете Бормакс и Молибденит при неполивни условия. Сеитбата е осъществена в оптималния агротехнически срок, ръчно при максимална чистота и кълняемост на семената в норма 1,2 kg/da за двете бобови култури. Опитът е изведен в четири повторения, с големина на реколтната парцелка 5 m^2, при следните варианти: 1. Контрола – нетретирана; 2. РЕНИ – 200 ml/da; 3. РЕНИ D – 200 ml/da; 4. РЕНИ + РЕНИ D – 100+100 ml/da; 5. Бормакс - 200 ml/da; 6. Молибденит – 200 ml/da; 7. Бормакс + Молибденит – 100+100 ml/da. Третирането по време на вегетацията е извършено във фаза бутонизация на

MATERIAL AND METHODS

During the period of 2014-2016 in the experimental field at the Research Institute on Mountain Stockbreeding and Agriculture - Troyan was conducted a field experiment with bird's-foot-trefoil and white clover, which were treated with growth regulators, such as RENI, RENI D and biofertilizes Bormax and Molibdenit, without irrigation. Sowing was carried out in the optimum agrotechnical period, manually with a maximum purity and germination rate at 1.2 kg/da for both legumes. The experiment was conducted at four replications, with a size of the plot of 5m^2 in the following variants: 1. Control – nontreated; 2. RENI – 200 ml/da; 3. RENI D– 200 ml/da; 4. RENI + RENI D – 100 + 100 ml/da; 5. Bormax – 200 ml/da; 6. Molibdenit – 200 ml/da; 7. Bormax + Molibdenit – 100 + 100 ml/da. The treatment during vegetation was performed in the bud formation period of plants. Preparations растенията. Препаратите РЕНИ представляват комбинации от микроелементите молибден (Mo), манган (Mn), магнезий (Mg) в различни съотношения (от 0,1 до 0,00015% по отношение на микроелемента) (Popov, 1995). Растежният регулатор РЕНИ D е обогатен допълнително с елемента бор (B) в същите концентрации. Молибденитът е биотор съдържащ 3% Mo (33 g Mo в 1 l тор) и азот 4,5% N-NH_2. Съдържанието (тегловно) на хранителният елемент бор (B) в Бормаксът е 11,0% (150 g в 1 l тор).

Проследен е ботаническия и морфологичен състав (%) на тревостоите от звездан и бяла детелина по години за периода 2014-2016 година. Анализиран е химичният състав (СП – по метода на Келдал; СВл – по Weende анализа; НДВ, КДВ, КДЛ – по метода на Van Soest и Robertson*,* 1979) на сухата биомаса от двата вида тревостои и *in vitro* смилаемостта на сухото вещество (СмСВ) по двустепенен пепсин-целулазен метод на Aufrere (1982).

RENI represent combinations of microelements, such as molybdenum (Mo), manganese (Mn), mangnesium (Mg) in different ratios (from 0.1 to 0.00015% regarding the microelement) (Popov, 1995). Growth regulator RENI D is enriched with additional elements boron (B) into the same concentrations. Molibdenit is a biofertilizer containing 3 % Mo (33 g Mo in 1 l of manure) and nitrogen 4.5% N-NH_2. The content (by weight) of nutrient boron (B) in Bormax is 11.0% (150 g in 1 l of manure).

The botanical and morphological content (%) of grasslands of bird's-foot-trefoil and white clover was followed during the years in the period of 2014-2016. The chemical content was analyzed (CP by Kjeldhal method; CF by Weende systematic analysis; NDF, ADF, ADL – according to the method of Van Soest and Robertson, 1979) of dry biomass of both kinds of grasslands and *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) by a two-way pepsin-cellulase method of Aufrere (1982).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Ботаничен състав на тревостоите от звездан и бяла детелина третирани с растежни регулатори и биоторове

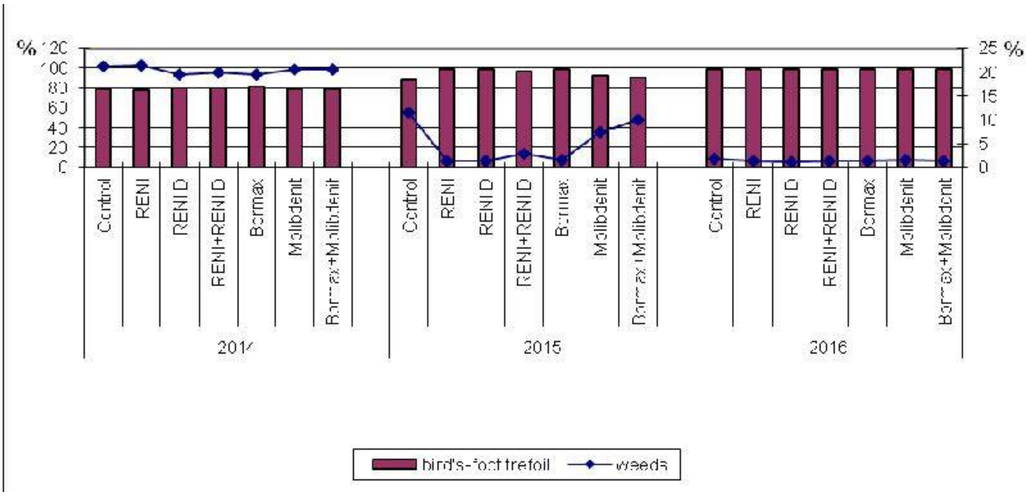
Според резултатите от ботаничния анализ по години, в първа вегетация, когато чувствителността на бобовите култури към заплевеляване е найвисока, използваните биостимулатори не повишават конкурентната им способност спрямо плевелната растителност (Фигура 1 и 2). Делът на звездана в покосената фуражна маса варира от 78,5% след третиране с биостимулатора РЕНИ (вар. 2) до 80,6% в тревостоя с Бормакс (вар. 5), а на бялата детелина от 78,8% във варианта пръскан с комбинацията Бормакс + Молибденит (вар. 7) до 82,2% в биомасата с внесен Бормакс. Листно приложен препарата Бормакс, оказа най-силно положително влияние върху относителният дял на двете бобови култури в първата година от растежния цикъл.

RESULTS AND DISCUSSION

Botanical composition of grasslands of bird's-foot-trefoil and white clover treated with growth regulators and biofertilizers

According to the botanical analysis for different years, in the first vegetation, when the sensitivity of legume crops to weed infestation is the highest, the biostimulators do not increase their competitive ability against weeds (Figure 1 and 2). The share of bird's-foot trefoil in cut forage mass ranged from 78.5% after treatment with biostimulator RENI (var. 2) to 80.6% in grassland with Bormax (var. 5), and white clover by 78.8 percent in the variant sprayed by combination Bormax + Molibdenit (var. 7) to 82.2% in biomass with Bormax.

The foliar application of Bormax had the greatest positive influence on the share of both legume crops in the first year of the growth cycle.



Фиг. 1. Ботаничен състав на *Lotus corniculatus* L. третиран с растежни регулатори и биоторове за периода 2014-2016 година (%)

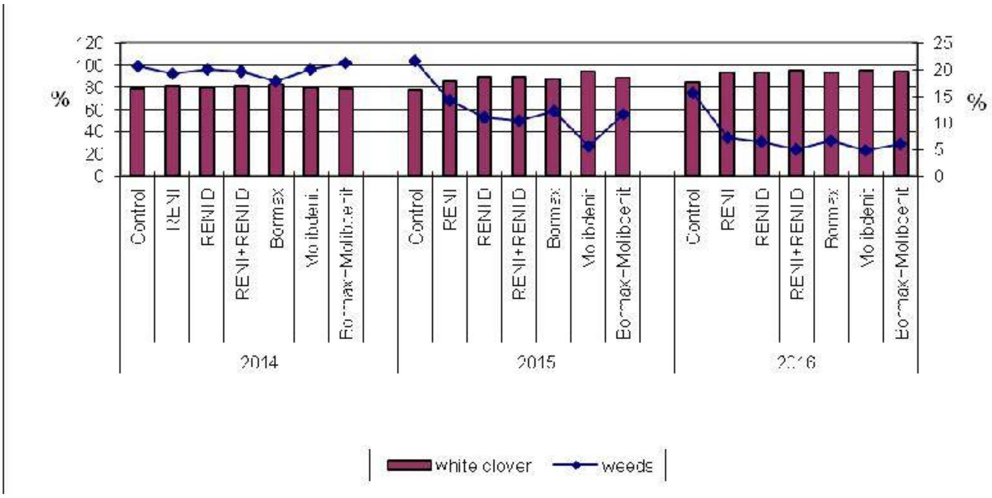
Fig. 1. Botanical composition of *Lotus corniculatus* L. treated by growth regulators and biofertilizers for the period 2014-2016 (%)

Като вероятно обяснение на този резултат може да се посочи физиолого-биохимичната функция на бора, тясно свързана с обменните процеси в растителния организъм, придвижването на хранителните елементи и растежа на растенията (Stanchev et al.,1989).

Във втора вегетация, бобовите треви третирани с изследваните био-регулатори запазват високо присъст-вие в тревостоя и съответно трево-стоите им са с по-ниска степен на заплевеленост в сравнение с контро-лата. Процентното участие на звезда-на варира от 90,0% (вар. 7) до 98,7% (вар. 3), а това на бялата детелина – от 85,7% (вар. 2) до 94,3% (вар. 6). Най-слаб ефект върху дела на звездана в покосената биомаса показа самостоятелното внасяне на биотора Молибденит (вар. 6) и комбинацията му с Бормакс. В контраст, във втора вегетация, действието на биотора Молибденит осигури най-високо при-съствие на бялата детелина в трево-стоя (с 16% по-високо от това в контро-лата), а растежния регулатор РЕНИ най-ниско (но спрямо контролата пре-вишението е 7,4%).

As a likely explanation for this result may be given the physiological and biochemical function of boron, which is closely related to metabolic processes in plant organism, the movement of nutrients, and plant growth (Stanchev et al., 1989).

In the second vegetation, legume grasses were treated by the studied bioregulators, and they retained a high presence in the grassland. Respectively, their grasslands had a lower level of weed infestation compared with the control. The percentage share of bird's-foot trefoil varied from 90.0% (var.7) to 98.7% (var.3), and that of the white clover – from 85.7% (var.2) to 94.3% (var. 6). The independent introduction of biofertilizer Molibdenit and its combination with Bormax had the slightest effect on the share of bird's-foot trefoil in the biomass. In contrast, in the second vegetation, the effect of biofertilizer Molibdenit ensured the highest presence of white clover in the grassland (with 16% higher than in the control), and the growth regulator RENI had the lowest (but compared to the control the excess was 7.4%).



Фиг. 2. Ботаничен състав на *Trifolium repens* L. третирана с растежни регулатори и биоторове за периода 2014-2016 година (%)
Fig. 2. Botanical composition of *Trifolium repens* L. treated by growth regulators and biofertilizers for the period 2014-2016 (%)

През 2016 година, вариантите пръскани листно с регулатора на растежа РЕНИ D осигуриха най-високо (98,8%) участие на звездана в тревостоя. Течният препарат Молибденит повлия максимално (95,2%) присъствието на бялата детелина в третираните варианти и осигури най-ниска степен на заплевеленост (1,6%) в посевите на звездана.

В резултат на данните получени от ботаничния анализ на звездана и бялата детелина установяваме, че двете култури реагират специфично на действието на включените в експеримента препарати в зависимост от техните състави. За периода на проучване присъствието на звездана в тревната асоциация е повлияно положително в най-висока степен от растежния регулатор РЕНИ D, а това на бялата детелина – от биостимулиращата функция на листния препарат Молибденит.

Морфологичен състав на тревостоя от звездан и бяла детелина третиран с растежни регулатори и биоторове

В първа и втора вегетация включените в експеримента биостимулатори повлияват незначимо процентното

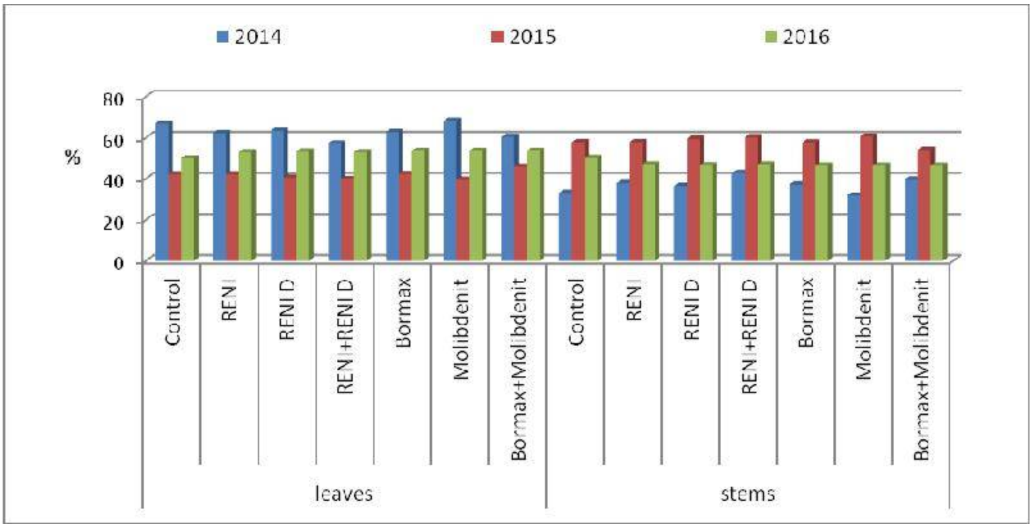
In 2016, the variants sprayed by the foliar growth regulator RENI D provided the highest (98.8%) participation of bird's-foot trefoil in the grassland. The liquid fertilizer Molibdenit had a maximum effect (95.2%) over the presence of white clover into treated variants and provided the lowest level of weed infestation (1.6%) in crops of bird's-foot trefoil.

As a result of botanical data analysis of bird's-foot trefoil and white clover, we found that both cultures reacted specifically to the action of the included preparations in the experiment depending on their composition. For the period of study, the presence of bird's-foot trefoil in the grass association was influenced positively to the highest level by the growth regulator RENI D, and white clover – by biostimulating function of leaf preparation Molibdenit.

Morphological composition of the grassland of bird's-foot-trefoil treated by growth regulators and biofertilizers

In the first and second vegetation, biostimulators included in the experiment affected insignificantly the percentage участие на листната фракция в покосената маса на звездана (Фигура 3). Превишение с 1,3 и 3,7% спрямо контролата наблюдаваме единствено във вариантите с Молибденит (2014г.) и Бормакс + Молибденит (2015г.).

share of the leaf fraction in the mowed grass of bird's-foot trefoil (Figure 3). There was an excess by 1.3 and 3.7% compared to the control only in variations with Molibdenit (2014) and Bormax + Molibdenit (2015).



Фиг. 3. Морфологичен състав на *Lotus corniculatus* L. третиран с растежни регулатори и биоторове за периода 2014-2016 година (%)
Fig. 3. Morphological composition of *Lotus corniculatus* L. treated by growth regulators and biofertilizers for the period 2014-2016 (%)

Резултатите от морфологичния анализ на тревостоите от *Trifolium repens* L. в първа опитна година, са напълно противоположни спрямо данните на *Lotus corniculatus* L. (Фигура 4). Количеството на листата в третитраните тревостои от бяла детелина превиши контролата с от 3,9 (РЕНИ D) до 40,2% (РЕНИ + РЕНИ D), като изключение прави регулаторът РЕНИ. Във втората, по-суха в климатично отношение година, във фуража от бяла детелина относителният дял на листните дръжки (65-85%) преобладава спрямо листната маса. Наблюдавана е тенденция, при която бялата детелина при един и същ вариант (комбинацията от растежни регулатори РЕНИ + РЕНИ D), през първата опитна година формира най-малко листни дръжки (26,9%), а през втората най-много (85,4%).

С нарастване възрастта на

The morphological analysis results for the grasslands with *Trifolium repens* L. in the first experimental year are completely opposite to data for *Lotus corniculatus* L. (Figure 4). The amount of leaves in treated grasslands of white clover exceeded the control from 3.9 (RENI D) to 40.2% (RENI + RENI D), as the regulator RENI was an exception. In the second year, which had a drier climate, in the white clover forage the relative share of stem fraction leaf stalks (65-85%) prevailed against foliage.

There was a trend in which the white clover in one and the same variant (combination of growth regulators RENI + RENI D), in the first experimental year, formed the smallest amount of leaf stalks (26.9%) and in the second year they were the most (85.4%).

With increasing the age of the

растението, фракцията на листата намалява, а на листни дръжки се увеличава, което е важен предиктор за определяне потенциалната хранителна стойност на бялата детелина.

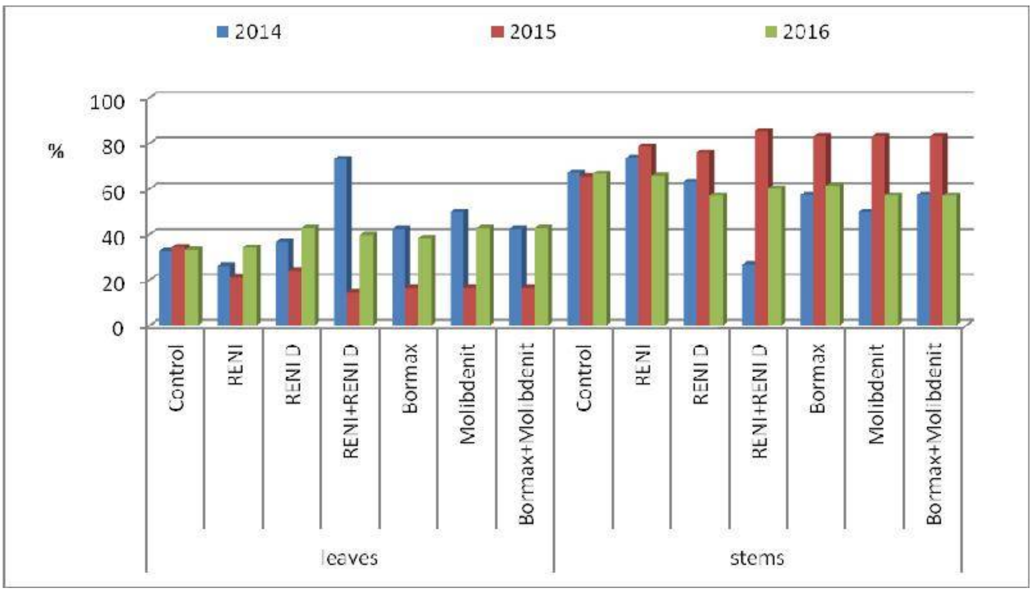
В трета вегетация, биостимулаторът РЕНИ има изразен положителен ефект върху признака многолистие при звездана (листата доминират с над 50% в общия добив). В същите варианти на бялата детелина превес има отново количеството на листните дръжки (над 65% в общото количество растителна биомаса). При звездана с най-висок процент листна маса (53,6%) са вариантите със самостоятелно внасяне на препаратите Бормакс и Молибденит и тяхната комбинация. Разликата в относителния дял на листата в тревната биомаса на останалите варианти е минимална и превишението им спрямо контролата е около 3%.

За 2016 година бялата детелина също образува по-висок процент листна маса спрямо контролата във всички вариантите с внесени регулатори и биоторове (Фигура 4).

plant, the fraction of leaves reduces, while leaf stalks increase, which is an important predictor for determination the potential nutritional value of white clover.

In the third vegetation, biostimulator RENI had an expressed positive effect over multifoliolate of bird's-foot trefoil (leaves dominate with over 50% in the total yield). At the same variants of white clover, the amount of leaf stalks prevailed (over 65% in the total plant biomass). For bird's-foot trefoil the highest percentage of leaf mass (53.6%) had the variants with independent introducing of Bormax and Molibdenit and their combination. The difference in the proportion of leaves in the grass biomass of the rest variants was minimal and their excess compared to control was about 3%.

For 2016, white clover also formed a higher percentage of foliage compared to the control in all variants with introduced regulators and fertilizes (Figure 4).



Фиг. 4. Морфологичен състав на *Trifolium repens* L. третирана с растежни регулатори и биоторове за периода 2014-2016 година (%)

Fig. 4. Morphological composition of *Trifolium repens* L. treated by growth regulators and biofertilizers for the period 2014-2016 (%)

Изследваните биостимулатори оказват положително влияние върху дяловото участие на листата и повлияват по-слабо върху съдържанието на листните дръжки в реколтирания фураж. В контраст, израстването и количеството на стъблата в биомасата на *Lotus corniculatus* L. е повлияно в по-висока степен от действието на изпитваните препарати, спрямо делът на листата.

За периода 2014-2016 година, комбинацията РЕНИ + РЕНИ D оказа най-голямо положително влияние върху признака многолистие в тревостоите на бялата детелина, където превишението спрямо контролата е с 8,9%. Подобна тенденция наблюдаваме и във вариантите със самостоятелно пръскане на Молибденит, РЕНИ D и комбинацията Бормакс + Молибденит. Внасянето на растежния регулатор РЕНИ стимулира максимално развитието и количеството на листните дръжки при детелината (72,7%) и определи варианта с най-нисък процент на листата (27,3%) в реколтирания фураж. За звездана, с най-висок процент листна маса са тревостоите третирани с биостимулатора Молибденит (вар. 6) и комбинацията му с Бормакс (вар. 7), а най-нисък отчитат тези със самостоятелно внесен Бормакс (вар. 5). Получените резултати са сходни с получените от други автори (Darleen et al., 2004; Kof et al., 2006; Sevov et al., 2007; Sevov, 2011; Vasileva, 2015) за положителния ефект на растежните регулатори върху признака облистеност при бобовите култури.

Качествена характеристика на тревостоите от звездан и бяла детелина третирани с растежни регулатори и биоторове

Резултатите от биохимичния анализ (Таблица 1) сочат, че растежните регулатори и биоторове повлияват стойностите на суров протеин и сурови влакнини в състава на фураж-

The studied biostimulators had a positive influence on the share of leaves and has a slighter effect on the content of leaf stalks in harvested forage. In contrast, the growth and the amount of stems in the biomass of *Lotus corniculatus* L. was influenced to a greater extent by the action of tested preparations compared to the share of leaves.

For the period 2014–2016, the combination RENI + RENI D had the greatest positive influence on the multifoliolate in grasslands of white clover, where the excess in comparison to the control was 8.9%. A similar trend can be observed in the variants with independent spraying by Molibdenit, RENI D, and the combination Bormax + Molibdenit. The introducing of growth regulator RENI stimulate maximally the development and amount of leaf stalks in clover (72.7%) and defined the variant with the lowest percentage of leaves (27.3%) in the harvested forage.

For bird's-foot trefoil, grasslands treated by biostimulator Molibdenit had the highest percentage of leaf mass (var. 6) and its combination with Bormax (var. 7), and the lowest percentage was recorded for the independently introduced Bormax (var. 5). These results are similar to those of other authors (Darleen et al., 2004; Kof et al., 2006; Sevov et al., 2007; Sevov, 2011; Vasileva, 2015) for the positive effect of growth regulators over the multifoliolate of legume crops.

Qualitative characteristics of grasslands of bird's-foot-trefoil and white clover treated with growth regulators and biofertilizes

Biochemical analysis results (Table 1) show that growth regulators and biofertilizers affect the values of crude protein and crude fiber in the composition of the forage mass of both legume ната маса на двете бобови треви. Количеството на белтъка в тревостоите на звездана превиши контролата с 0,7-1,4%, а при бялата детелина от 1,4 до 3,7%. Според анализа на структурните влакнинни компоненти на клетъчните стени, растенията на звездана пръскани с препарата Бормакс във фаза бутонизация и доза 200 ml/da, регистрират най-ниски стойности по отношение съдържанието на целулоза, неутрално и киселинно-детергентни влакнини. Биомасата от тези варианти е с най-високо съдържание на суров протеин (169,1 g kg^{-1} CB) и с най-висока смилаемост на сухото вещество (703,1 g kg^{-1} CB) спрямо контролата.

grasses. The protein amount in the grasslands of bird's-foot trefoil exceeded the control with 0.7-1.4 %, while the white clover from 1.4 to 3.7%. According to the analysis of structural fibrous components of cell walls, when bird's-foot trefoil plants were sprayed with Bormax in the bud formation period at a dose of 200 ml/da, they registered the lowest values in relation to the content of cellulose, neutral and acid detergent fiber. The biomass of these variants had the highest content of crude protein (169.1 g kg^{-1} CB), and the highest dry matter digestibility (703.1 g kg^{-1} CB) compared to the control.

Таблица 1. Влакнинни компоненти на клетъчните стени и *in vitro* смилаемост на сухото вещество на тревостои от звездан и бяла детелина третирани с растежни регулатори и биоторове за периода 2014-2016 година (g kg^{-1} CB)

Table 1. Fibrous components of cell walls and *in vitro* dry matter digestibility of grasslands of bird's-foot-trefoil and white clover treated by growth regulators and biofertilizers for the period 2014-2016 (g kg^{-1} DM)

	***Lotus corniculatus* L.**							
Варианти Variants	СП CP	СВл CF	НДВ NDF	КДВ ADF	КДЛ ADF	Хемицелулоза Hemicellulose	Целулоза Cellulose	*in vitro* СмСВ/DMD
Контрола/Control	155,0	313,7	382,3	274,6	75,2	107,7	199,4	675,1
РЕНИ/RENI	162,7	276,5	360,3	257,1	82,9	103,2	174,2	688,7
РЕНИ D/RENI D	165,7	287,9	384,4	260,6	88,3	123,7	172,4	686,0
РЕНИ+РЕНИ D RENI+RENI D	161,9	288,3	364,4	245,1	71,1	119,2	174,0	698,0
Бормакс/Bormax	**169,1**	**284,4**	**349,7**	**238,6**	**79,9**	**111,0**	**158,7**	**703,1**
Молибденит/Molibdenit	163,3	283,6	393,3	278,1	59,7	115,3	218,4	672,4
Бормакс+Молибденит Bormax+Molibdenit	166,2	299,5	371,5	268,8	82,7	102,7	186,0	679,6
	***Trifolium repens* L.**							
Варианти Variants	СП CP	СВл CF	НДВ NDF	КДВ ADF	КДЛ ADF	Хемицелулоза Hemicellulose	Целулоза Cellulose	*in vitro* СмСВ/DMD
Контрола/Control	160,9	214,0	305,3	214,5	42,7	90,8	171,8	721,9
РЕНИ/RENI	182,9	222,3	297,4	215,8	38,2	81,6	177,6	720,9
РЕНИ D/RENI D	**188,0**	**207,8**	**285,7**	**205,1**	**35,9**	**80,5**	**169,3**	**729,2**
РЕНИ+РЕНИ D RENI+RENI D	171,5	200,8	291,6	211,9	37,1	79,7	174,8	723,9
Бормакс/Bormax	176,4	219,4	293,0	205,7	23,3	87,3	182,4	728,8
Молибденит/Molibdenit	179,7	219,4	299,0	216,3	30,4	82,6	185,9	720,5
Бормакс+Молибденит Bormax+Molibdenit	187,0	207,4	291,9	210,5	36,8	81,4	173,6	725,1

Биологичната пълноценност на фуража от бяла детелина е повлияна в най-висока степен от еднократното и самостоятелно третиране на тревостоите с растежния регулатор РЕНИ D. Във варианта, листата като основен структурен елемент заемат над 34% в общата биомаса, а белтъчното съдържание на многогодишната бобовата трева е най-високо – 188,0 g kg^{-1} СВ (с 2,7% по-високо спрямо нетретираната контрола). Обогатеният с елемента бор растежен регулатор (РЕНИ D) понижи количеството на влакнинните компоненти: целулоза, неутрално и киселинно-детергентни влакнини в сухото вещество съответно с 0,2; 2,0 и 0,9% спрямо нетретираната контрола и определи варианта с най-високата смилаемост на фуражната маса (729,2 g kg^{-1} СВ). Положителното влияние на РЕНИ D върху биохимичните показатели на бялата детелина е свързано със стимулиране растежа и развитието на растенията и повишаване хранителната стойност на получения от тях фураж.

ИЗВОДИ

Растежните регулатори РЕНИ, РЕНИ D и биоторовете Бормакс и Молибденит, влияят положително, като повишават процента на листната и стъблена фракция в тревостоя на *Lotus corniculatus* L. и *Trifolium repens* L. Степента на влияние зависи от вида на бобовата фуражна културата и нейната реакция към основните състави на включените в експеримента биопрепарати.

За периода на проучване присъствието на звездана в тревостоя е повлияно в най-висока степен от растежния регулатор РЕНИ D (92,6%), а видът бяла детелина от биостимулиращата функция на препарата Молибденит (89,8%).

Самостоятелното пръскане на звездана с Молибденит увеличи дела на листната маса до 53% от общото количество на реколтираната фуражна маса, докато при бялата детелина

Biological value of white clover forage was influenced to the highest degree by the single and independent treatment of grasslands by the growth regulator RENI D. In this variant, the leaves took over 34% as a main structural element in the total biomass, and protein content of perennial legume grass was the highest – 188.0 g kg^{-1} DM (with 2.7% higher compared to the non-treated control). Growth regulator (RENI D), enriched by boron as a growth regulator, reduced the amount of fiber components: cellulose, neutral and acid detergent fiber in dry matter respectively by 0.2; 2.0 and 0.9% compared to the non-treated control and defined the variant with the highest digestibility of the forage mass (703,1 g kg^{-1} DM).

The positive influence of RENI D is associated with stimulating growth and development of legumes, and the changes in biochemical indicators increase the nutritional value of their forage.

CONCLUSIONS

Growth regulators RENI, RENI D and biofertilizers Bormax and Molibdenite have a positive influence, as they increase the percentage of leaf and stem fractions in grassland of *Lotus corniculatus* L. and *Trifolium repens* L. The degree of influence depends on the type of legume forage culture and its response to the basic compositions of the biofertilizers included in the experiment.

For the period of study, the presence of bird's-foot trefoil in the grassland was influenced at the highest degree by the growth regulator RENI D (92.6%), and species white clover by the biostimulating function of the preparation Molibdenit (89.8%).

The independent spraying of bird's-foot trefoil by Molibdenit increased the share of the foliar mass up to 53% of the total quantity of the harvested forage mass, while the combination RENI - RENI комбинацията РЕНИ - РЕНИ D оказа най-висок положителен ефект по този признак.

Смилаемостта на сухото вещество във фуража на *Trifolium repens* L. третиран с растежния регулатор РЕНИ D е с 2,61% по-висока от тази на звездана във варианта с Бормакс, независимо, че дельт на листата в общия тревостой от бялата детелина е по-малък от този на звездана.

D had the highest positive effect for the white clover according to this characteristic.

Dry matter digestibility of the forage of *Trifolium repens* L. treated by the growth regulator RENI D was 2.61% higher than that of the bird's-foot trefoil in the variant with Bormax, although the leaf share in the joint grassland of white clover was less than that of the bird's-foot trefoil.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Aufrere, J.**, 1982. Etude de la prevision de la digestibilite de la fourrages par une method enzymatic. *Ann. Zootech.,* 31(2), 111-130.
2. **Badrzadeh, M., F. Zaragarzadeh and B. Esmaielpour**, 2008. Chemical composition of some forage Vicia spp. in Iran. *J. Food Agric. Environ,* 6, 178-180.
3. **Chourkova, B.**, 2008. Influence of some biologically active substances over the productivity of seeds of bird's-foot-trefoil. *Plant Science,* 45(1), 82-85 (Bg).
4. **DeMason, D. A. and R. Chawla**, 2004. Roles for auxin during morphogenesis of the compound leaves of pea (Pisum sativum). *Planta*, 218(3), 435-448.
5. **Dzimotudis, A., N. Popov and Sl. Kalupchieva**, 2008. A study of the impact of the compositions RENI on growth and productivity of peas. *Plant Science*, 45(2), 144-148 (Bg).
6. **Goranova, G.**, 2007. Importance of ecotypic selection for forage grass breeding. *Journal of Balkan Ecology*, 10(2), 147-153.
7. **Kicheva, P. and S. Angelova**, 2006. Study on the productive potential of some Vicia L. species. *Bulgarian Journal of Agricultural Science,* 12, 29-34.
8. **Kof, E., I. Vinogradova, A. Oorzhak, V. Karagin, Z. Kalibernaya, I. Machàčková, I. Kondykov, E. Chuvasheva**, 2006. ABA content in shoots and roots of pea mutants *af* and *tl* as related to their growth and morphogenesis. *Russian Journal of Plant Phisiology*, 53(3), 359-365.
9. **Larbi, A., S. Hassan, G. Kattash, A. M. Abd El-Moneim, B. Jammal, H. Nabil, H. Nakkul**, 2010. Annual feed legume yield and quality in dryland environments in north-west Syria: 1. Herbage yield and quality. *Animal Feed Science and Technology*, 160, 81-89.
10. **Minev, N., H. Yancheva and N. Popov**, 2011. Research on the productivity and quality of forage pea varieties treated with growth regulators. Climate change: challenges and opportunities in agriculture. Agrisafe final conference, Budapest, Hungary, pp. 430-433.
11. **Nickel, L. G.**, 1982. Plant Growth Regulators. Agricultural Uses. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York, 128 pp.
12. **Popov, N.**, 1995. Means to reduce nitrate levels in vegetables and other crops. Patent Office, Sofia, Newsletter №12 (Bg).
13. **Popov, N. and A. Dzimotudis**, 2007. Study of the effect of 'RENI" on the quality and productivity of garden peas. *Journal of Central European Agriculture,* 8(4), 413-418.
14. **Popov, N., K. Kostov and N. Petkov**, 1994. Influence of molybdenum and specific nitrogen fixers of the symbiotic nitrogen fixation and the primary inclusion of ammonia in wintering peas for grain variety No 11. *Plant Science,* 31(1-2), 54-56 (Bg).

15. **Popov, N., D. Svetleva and A. Vasilev**, 1999. Exploring possibilities to regulate the absorption of nitrates in beans. ‘Achievements and prospects of physiology and biochemistry of mineral nutrition and water regime of plants in Bulgaria", Bulgarian Academy of Sciences IFR "M. Popov’, 1, 57-60 (Bg).
16. **Sabev, V. and Iv. Pachev**, 2008. Influence of biostimulant "RENI-2" on the growth and structural components of harvest of pea crop (*Pisum sativum* L.). Harkivski National Agrarian University ‘V. V. Dokuchaeva’, 4, 62-64 (Ru).
17. **Sevov, A.**, 2011. Study on the influence of some agrotechinical factors on productivity and quality of multifoliolate alfalfa. Doctoral thesis, Plovdiv, Bulgaria (Bg).
18. **Sevov, A., Hr. Yancheva, N. Popov, Hr. Kirchev**, 2007. Study on the influence of preparation RENI on the productivity of alfalfa ’Mnogolistna 1’ variety. *Field Crops Studies*, IV(2), 337-341 (Bg).
19. **Stanchev, L., V. Velchev, S. Gorbanov, J. Matev, H. Tanev**, 1989. Agrochemistry. Zemizdat, Sofia, Bulgaria (Bg).
20. **Van Soest, P. J. and J. B. Robertson**, 1979. Systems of analysis evaluating fibrous feeds. Cornell University-Ithaca, N.Y.
21. **Vasileva, V.**, 2015. Aboveground to root biomass ratios in pea and vetch after treatment with organic fertilizer. *Global Journal of Environmental Science and Management* (GJESM), 1(2), 71-74.
22. **Vasileva, V. and T. Kertikov**, 2001. Study the influence of biological active substance ‘XP-55’ on seed productivity of sainfoin (*Onobrychis Adans*). Agricultural University-Plovdiv, Scientific Works, Jubilee Scientific Conference ‘80 years agricultural education in Bulgaria’, XLVI(2), 217-222 (Bg).
23. **Vasileva, V. and T. Kertikov**, 2004. Changes in some yield elements and seed quality of sainfoin (*Onobrychis Adans*.) after applying biologically-active substance XP-55. *Plant science,* 41, 453-456 (Bg).

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (2), 114-127 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Чувствителност на не генно модифицирани генотипове соя (*Glycine max* (L.) Merrill) към глифозат II. Модификационен и мутационен ефект

Ирена Голубинова[1], Пламен Маринов-Серафимов[1]*, Асения Алексиева[2]

[1]*Институт по фуражните култури, 5800 Плевен, България*
[2]*Опитна станция по соята, 5200 Павликени, Бълария*
**E-mail: plserafimov@abv.bg*

Sensitivity of non-genetically modified soybean genotypes (*Glycine max* (L.) Merrill) to glyphosate II. Modification and mutation effect

Irena Golubinova[1], Plamen Marinov-Serafimov[1]*, Akseniya Aleksieva[2]

[1]*Institute of Forage Crops, 5800 Pleven, Bulgaria*
[2]*Soybean Experimental Station*, 5200 *Pavlikeni, Bulgaria*

РЕЗЮМЕ

През периода 2009-2010 година в Опитна станция по соята, Павликени, България при полски условия беше проучена чувствителността, преживяемостта, модификационния и мутационен ефект при осем генотипа соя (*Glycine max* (L.) Merrill) към три дози 0.720, 1.440 и 2.160 g a. в., ha глифозат.

Установено е, че приложените дози глифозат във фаза „трети троен лист“ на соята, намаляват статистически доказано (P=0.05) преживяемостта на културата. Генотиповете соя могат да се ранжират в следния ред: Rr и F5№24 (31.4%) → №18/4 (35.7%) → Дивна (38.3%) → Авигея (41.5%) → Карина (49.6%) → Сребрина (57.4%).

Глифозатът приложен в дози 0.720 и 1.440 g a. в., ha във фаза “трети троен лист” на соята увеличава честотата и обогатява спектъра на

SUMMARY

The effect of three application doses of glyphosate 0.720, 1.440 and 2.160 g a. i., ha on the sensitive, survival and the modification and mutation effect on eight soybean genotypes (*Glycine max* (L.) Merrill) were determinated in field conditions at Soybean experimental station, Pavlikeni, Bulgaria within 2009-2010.

It was found that the applied doses of glyphosate at the growth stage “third trifoliate leaf“ of the soybean reduce statistically proven (P=0.05) survival of culture. Soybean genotypes can be arranged in the following order: Rr and F5№24 (31.4%) → №18/4 (35.7%) → Divna (38.3%) → Avigea (41.5%) → Karina (49.6%) → Srebrina (57.4 %).

The glyphosate applied at doses 0.720 and 1.440 g a. in., ha at the growth stage “third trifoliate leaf” of soybeans increases the frequency and enrich the

мутационните изменения в M_2 поколение при четири не генно модифицирани български генотипове соя Сребрина, Авигея, Дивна и Линия 18/4.

Идентифициран е типа и спектъра на наблюдаваните хлорофилни, морфологични и физиологични мутации в M_2 поколение при четири не генно модифицирани български генотипове соя Сребрина, Авигея, Дивна и Линия 18/4.

Излъчени са мутантни линии с по-къс вегетационен периоди и такива с редуцирана височина на стъблото и увеличен брой разклонения – „храстовиден тип растения“.

Ключови думи: соя, генотипове, глифозат, фитотоксичност, модификационен и мутационен ефект

spectrum of mutational changes in the M_2 generation at four non-genetically (non-GM) modified Bulgarian soybean genotypes (Srebrina, Avigea, Divna and Line 18/4).

Identified was the type and spectrum of observed chlorophyll, morphological and physiological mutations in M_2 generation at four (non-GM) modified Bulgarian soybean genotypes (Srebrina, Avigea, Divna and Line 18/4).

Mutant lines were emitted with - a short growing period and those with a reduced stem height and increased number of branches – "brush-type plants."

Key words: soybean, genotypes, glyphosate, phytotoxicity, modification and mutation effect

УВОД

При извеждане на борбата срещу плевелите в конвенционалното земеделие се прилагат редица селективни хербициди, които не оказват фитотоксично въздействие, върху културните растения (Oerke, 2006; Fickett et al., 2013).

В резултат на смесеното заплевеляване в обработваемите площи и неефективността на някои съвремени хербициди срещу устойчиви плевелни видове, земеделските производители използват комбинации от хербициди в различни фенофази от развитието на културите за борба срещу плевелните видове (Al-Khatib and Peterson, 1999; Nelson and Renner, 2001; Isman, 2008; Rizwan et al., 2015).

През последните няколко десетилетия са извършени проучвания за установяване чувствителност на редица не-генно модифицирани (не-ГМ) селскостопански култури към глифозат, като средство за борба срещу плевелите в селскостопанското производство (McCann et al, 2005; Bonny, 2009; Bajpai and Srivastava, 2013). Глифозатът (N-(фосфонометил)-глицин) е активната субстанция на системния тотален, широкоспектърен хербицид Раундъп (360 g/l глифозат + 180 g/l сърфъктант), който се използва за

INTRODUCTION

In conventional agriculture for the weed control used only selective herbicides, which do not have any harmful effect, on crop plants (Oerke, 2006; Fickett et al., 2013).

As a result of the weed infested (mixed species) in cultivated areas and ineffectiveness of some herbicides against some resistant weed species, farmers use spay combinations of herbicides at different growth stages of crop for weed control (Al-Khatib and Peterson, 1999; Nelson and Renner, 2001; Isman, 2008; Rizwan et al., 2015).

In last few decades, considerable efforts were put in for the study of sensitivity to glyphosate in non-genetically (non-GM) modified crops, as a means for weed control in agricultural practice (McCann et al, 2005; Bonny, 2009; Bajpai and Srivastava, 2013).

Glyphosate (N-phosphonomethyl-glycine) is the active ingredient of the systemic and no selective (or broad-spectrum) herbicide Roundup (360 g/l glyphosate +

борба срещу редица едногодишни и многогодишни плевелни видове. Продуктът се характеризира с висока ефективност и ниски производствени разходи при прилогението му (Pesticide Information Profiles, 1996). Проучванията си Duke (1998) и King et al. (2001) установяват, че глифозатът инхибира синтеза на ензима 5-enolpyruvylshikimate3-phosphate (EPSP), който е отговорен за синтеза на аминокиселините в растителните организми. Powles et al. (1998); Zambrano et al. (2003); Main et al. (2004); Beckie et al. (2006); Davis (2006); Neumann et al. (2006) и Cedergreen (2008) съобщават за не генетично контролирана устойчивост към хербициди включително и към глифозат при редица култури - *Glycine max* L. Merrill, *Helianthus annus* L., *Triticum aestivum* L., *Zea mays* L. и *Lolium rigidum* Gaud, която не е резултат на генното инженерство. Според проучванията на Powles et al. (1998); Zambrano et al. (2003); Main at al. (2004); Davis (2006) и Svetleva et al. (2009) са установени сортове и видове селско-стопански култури с толерантност към хербициди, включително и към глифозат, които не са с нетрансгенна природа, а толерантността към хербицида е получена чрез физичен и/или химичен мутагенез.

Чувствителността при различните селскостопански култури към глифозат не е напълно изяснена, а на пазара се предлагат нови търговски продукти (хербициди) на база - активно вещество глифозат (Mueller et al., 2003; Johnson et al., 2009; Duke et al., 2012). В литературата липсват данни относно модификационния и мутационния ефект на глифозата след приложение при не генно модифицирани геногипове соя.

Целта на изследването е да се проучи модификационен и мутационен ефект след прилагането на хербицида Раундъп (360 g/l глифозат + 180 g/l сърфактант) във фаза “трети троен лист” при не генно модифицирани български генотипове соя.

180 g/l surfactant), that controls most annual and perennial weeds. It is characterized by high efficiency and low production costs (Pesticide Information Profiles, 1996). Studies conducted by Duke (1996) and King et al. (2001) showed that the glyphosate suppressed on the enzyme 5-enolpyruvylshikimate3-phosphate (EPSP) synthase responsible for amino acid synthesis in plants. Powles et al. (1998); Zambrano et al. (2003); Main et al. (2004); Beckie et al. (2006); Davis (2006); Neumann et al. (2006) and Cedergreen (2008) reported naturally arising genetically controlled herbicide resistance to glyphosate that was not due to gene engineering in *Glycine max* L. Merrill, *Helianthus annus* L., *Triticum aestivum* L., *Zea mays* L. и *Lolium rigidum* Gaud According the study of Powles et al. (1998); Zambrano et al. (2003); Main at al. (2004); Davis (2006) and Svetleva et al. (2009) the established crops and variety with tolerance to the herbicide including glyphosate are non-transgenic because tolerance to herbicides was incorporated in them through physical/chemical mutagenesis.

The sensitivity of different agricultural crops towards the glyphosate is not fully understood, and the chemical industry is still providing new chemical preparations (herbicides) on the basis - active ingredients glyphosate (Mueller et al., 2003; Johnson et al., 2009; Duke et al., 2012). In the literature data is missing on modification and mutational effects of glyphosate in non-genetically (non-GM) modified soybean genotypes.

In this study our goal was to determine modification and mutation effect after application of herbicide Roundup (360 g/l glyphosate + 180 g/l surfactant) on Bulgarian non-genetically (non-GM) modified soybean genotypes with the growth stage "third trifoliate leaf".

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Полският опит е изведен през 2009 и 2010 година в експерименталното поле на Опитна станция по соята, Павликени, при неполивни условия. Опитът е заложен рандомизирано (125 бр. семена на ред с дължина 5 m за всеки генотип) и с обща големина на опитната площ 126 m^2. Характеристиките на генотиповете соя са представени в Таблица 1.

MATERIAL AND METHODS

A field experiment was conducted on non-irrigated conditions in experimental field, located at Soybean experimental station, Pavlikeni, Bulgaria within 2009-2010. The trial was laid out in a randomized (125 number seeds in row with length 5 m for each genotype) and the total plot size of 126 m^2. Soybean genotypes and characteristics are shown in Table 1.

Таблица 1. Генотипове соя
Table 1. Soybean genotypes

Генотип Genotype	Метод Method	Група на зрелост Maturity group
Мира 96/Mira 96	Експериментален мутагенез Experimental mutagenesis	II
Сребрина/Srebrina	Хибридизация / Hybridization	II
Авигея/Avigea	Хибридизация / Hybridization	I
Дивна/Divna	Хибридизация / Hybridization	0
Карина/Karina	Хибридизация / Hybridization	I
Линия F5№24/Line F5№24	Хибридизация / Hybridization	I
Линия M–18/4/Line M–18/4	Експериментален мутагенез Experimental mutagenesis	II
Линия Rr/Line Rr	Междувидова хибридизация Interspecies hybridization	II

Във фенофаза "трети троен лист" на генотиповете соя е извършено пръскане с Раундъп (360 g/l глифозат + 180 g/l сърфъктант) в три дози: 0.720, 1.440 и 2.160 g a. в., ha, а в контролните варианти с дестилирана вода. Третиранията са извършени с гръбна пръскачка "PTP 18" с конична дюза, при налягане P_{max} 3 bar, V_{max} 1.68 l и Q_{max} 0.65 l/min с работен разтвор от 500 l/ha.

За всички варианти на опита са проследени следните показатели: Процент преживели растения, %; Фитотоксичност на хербицида в зависимост от използваните дози при генотиповете соя по скалата на EWRS (бал 1 – без повреди; бал 9 – напълно унищожени растения), като отчитанията са извършвани на 7, 15, 30 и 45 ден след третирането. В периода между 15 и 30

At the growth stage of "three trifoliate leaves" the tested soybean genotypes were sprayed with tree different doses of Roundup (360 g/l glyphosate + 180 g/l surfactant): 0.720, 1.440 and 2.160 g a. i., ha and with distilled water in the control treatments. Treatments were conducted with a knapsack sprayer "PTP 18" with conic nozzle, pressure P_{max} 3 bar, V_{max} 1.68 l, and Q_{max} 0.65 l/min, with a working solution quantity of 500 l/ha.

The following indicators were studied for all treatments: The percentage of surviving plants, %; Selectivity (herbicide phytotoxicity) of glyphosate toward soybean genotypes were assessed by marks, according to the EWRS notation scale, where (rating 1 – without damages, rating 9 – culture is completely destroyed), the recording being performed on the 7^{th}, 15^{th}, 30^{th} and 45^{th} day after treatment (DAT). Between 15 and 30 days after treatment дни след третирането част от растенията на тестваните генотипове соя Сребрина, Дивна, Авигея и линия 18/4 реагираха с различни хлорофилни и морфологични изменения, които бяха маркирани и условно приети като M_1 поколение.

Семената от преживелите в M_1 фертилни растения от генотиповете соя бяха засяти през 2010 година като M_2 поколение за проследяване на характера на измененията – модификационен или мутационен.

За определяне на честотата на мутиране е използван методът на Gaul (1964), а спектърът на мутациите – по класификацията на Priylinn et al., (1976).

Процентът на преживяемост на растенията за всеки вариант е предварително трансформиран по уравнението $Y = arcsin\sqrt{(x_{\%} / 100)}$ (Hinkelmann and Kempthorne, 1994).

some of the plants of tested soybean genotypes Srebrina, Divna, Avigea and line 18/4 have reacted with different chlorophyll and morphological changes that were marked and conditionally accepted as M_1 generation.

The seeds from surviving in M_1 fertile plants of soybean genotypes were planted in 2010 as M_2 generation to identify the nature of the amendments – modification or mutation.

To determine the frequency of the mutations the method of Gaul (1964) was used and the spectrum of mutations – according to the classification of Priylinn et al. (1976).

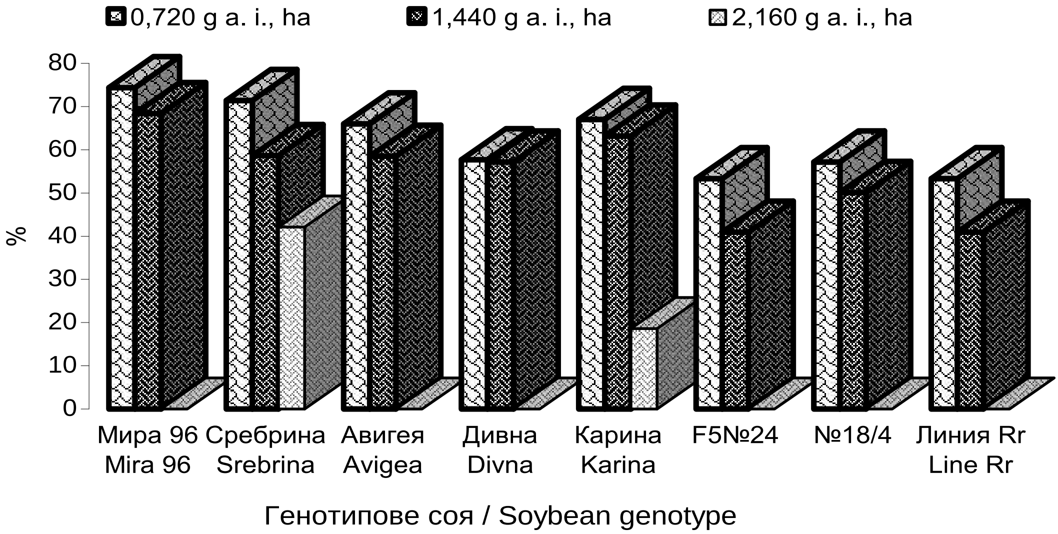
The percentage of surviving plants in each treatment was previously transformed by the equation $Y = arcsin\sqrt{(x_{\%} / 100)}$ (Hinkelmann and Kempthorne, 1994).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Дозите от 0.720, 1.440 и 1.160 g а. в., ha на използвания глифозат приложени във фенофаза “трети троен лист” на соята оказват статистически доказан инхибиращ ефект (P=0.05) върху преживяемостта на генотиповете соя и условно могат да се представят в следния ред: Rr и F5№24 (31.4%) → №18/4 (35.7%) → Дивна (38.3%) → Авигея (41.5%) → Карина (49.6%) → Сребрина (57.4%). С увеличаване дозите на хербицида (от 0.720 до 1.160 g а. в., ha) се наблюдава обща тенденция за снижаване преживяемостта на растенията, спрямо контролните варианти при всички генотипове соя (от 0.9 до 100.0%) (Фигура 1).

RESULTS AND DISCUSSION

The doses of glyphosate 0.720, 1.440 and 1.160 g a. i., ha, applied at the soybean at growth stage “third trifoliate leaf” had statistically significant effect (P=0.05) on the survival soybean genotypes and can be presented conditionally in the following order: Rr and F5№24 (31.4%) → №18/4 (35.7%) → Divna (38.3%) → Avigea (41.5%) → Karina (49.6%) → Srebrina (57.4%). With the increase of the herbicide doses (from 0.720 to 1.160 g a. i., ha) there was a general tendency of its decrease in all soybean genotypes from 0.9 to 100.0%, as against the control treatments (Figure 1).



Фиг. 1. Преживяемост на проучваните генотипове соя в зависимост от дозата на използвания глифозат в процент спрямо контролните варианти през 2009 год.
Fig.1. Survival of the soybean genotypes, depending on glyphosate application dose as percentage of the control treatments in 2009

Генотиповете Дивна, F5№24, №18/4 и линия Rr могат да се определят, като по-силно чувствителни, тъй като при всички проучвани дози преживяемостта им варира в границите от 40.9 до 57.7%. Генотиповете Мира 96, Сребрина, Авигея и Карина са по-слабо чувствителни към приложения глифозат, а преживяемостта им е от 58.6 до 74.4%. Глифозатът приложен в доза 0.720 g a. в., ha предизвиква слаб фитотоксичен ефект (бал 2) до 45 ден след третирането (45 DAA) при всички тествани генотипове соя (Таблица 2).

С увеличаване дозата на глифозата до 1.140 g a. в., ha фитотоксичността при генотипове соя нараства от умерена до силна (бал 2.8 – 5.8), изразяваща се в хлорофилни изменения (Фигура 2a), редуциране на листната петура или морфологични малфорации (Фигура 2b) и некрози (Фигура 2c). Глифозат приложен в доза 2.160 g a. в., ha предизвиква летален ефект (бал 9) при генотиповете соя с изключение на сортовете Сребрина и Карина (Таблица 2).

The genotypes Divna, F5№24, №18/4 and line Rr can be considered highly sensitive because their survival under all doses varied from 40.9 to 57.7%, where as genotypes Mira 96, Srebrina, Avigea, and Karina are less sensitive to applications glyphosate and their survival varied from 58.6 to 74.4%. The glyphosate applied at the dose of 0.720 g a. i., ha caused low phytotoxicity (score 2) to the 45th day after treatment (45 DAT) in all tested soybean genotypes (Table 2).

With increasing the dose of glyphosate to 1.140 g a. in., ha, phytotoxicity to the soybean genotypes was moderate to high (score 2.8 – 5.8) and manifested as leaf chlorophyll modifications (Figure 2a), reduction of leaf blade or morphological malformations (Figure 2b) and necrosis (Figure 2c). Glyphosate applied at a dose of 2.160 g a. in., ha show lethal effect (score 9) at all tested soybean genotypes with the exception of Srebrina and Karina (Table 2).

Таблица 2. Фитотоксичност на глифозат при генотипове соя през 2009 год.
Table 2. Phytotoxicity of glyphosate in soybean genotypes in 2009

Генотипове Genotypes	Доза g a. в., ha Dose g a. i, ha	Фитотоксичност / Phytotoxicity				
		7 DAT	15 DAT	30 DAT	45 DAT	Средно Average
		EWRS	EWRS	EWRS	EWRS	EWRS
Мира 96 Mira 96	0.720	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	1.440	7.0	7.0	5.0	4.0	5.8
	2.160	8.0	9.0	9.0	9.0	8.8
Сребрина Srebrina	0.720	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	1.440	4.0	3.0	2.0	2.0	2.8
	2.160	8.0	5.0	5.0	3.0	5.3
Авигея Avigeia	0.720	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	1.440	5.0	3.0	2.0	2.0	3.0
	2.160	7.0	9.0	9.0	9.0	8.5
Дивна Divna	0.720	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	1.440	3.0	4.0	3.0	3.0	3.3
	2.160	8.0	9.0	9.0	9.0	8.8
Карина Karina	0.720	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	1.440	4.0	5.0	4.0	3.0	4.0
	2.160	7.0	8.0	6.0	6.0	6.8
Линия F5№24 Line F5№24	0.720	2.0	3.0	2.0	2.0	2.3
	1.440	5.0	6.0	5.0	5.0	5.3
	2.160	7.0	9.0	9.0	9.0	8.5
Линия M – 18/4 Line M – 18/4	0.720	4.0	3.0	2.0	2.0	2.8
	1.440	6.0	6.0	5.0	4.0	5.3
	2.160	8.0	9.0	9.0	9.0	8.8
Линия Rr Line Rr	0.720	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	1.440	7.0	7.0	5.0	5.0	6.0
	2.160	8.0	9.0	9.0	9.0	8.8

Легенда: Девет бална сакала на EWRS (бал 1 – без повреди; бал 9 – напълно унищожени растения)
Legend: Nine ball scale of EWRS (rating 1 – without damages, rating 9 – culture is completely destroyed)

Вероятно, глифозатът също както и някои други хербициди като Трефлан (Petkova and Svetleva,1995) и Афалон (Dimova et al., 1990) предизвиква мутагенен ефект при бобовите култури, изразяващ се в различни хромозомни нарушения, които са индикатор за наличие на генетични повреди (Svetleva, 1991; Svetleva et al., 1992).

Probably, also glyphosate and other herbicides such as Treflan (Petkova and Svetleva, 1995) and Afalon (Dimova et al., 1990) induced a mutagenic effect in legume crops expressed in different chromosomal disturbances, which are an indicator of genetic damages (Svetleva, 1991; Svetleva et al., 1992).

Хлорофилни изменения (Фиг. 2a)
Changes of chlorophyll (Fig. 2a)

Некрози (Фиг. 2c)
Necrosis (Fig. 2c)

Морфологични малформации (Фиг. 2b)
Morphological malformations (Fig. 2b)

Фиг. 2. Модификационни изменения в M_1
Fig. 2. Modification changes to the M_1

Четиридесет и пет дни след третиране (45 DAT) с глифозат, преживелите растения възстановяват растежа си. Наблюдаваните модификационни изменения при някой от генотиповете соя (Сребрина, Авигея, Дивна и Линия 18/4) се запазват до фенофаза – пълна зрелост. Затова тези растенията със модификационни изменения от генотиповете соя Сребрина, Авигея, Дивна и Линия 18/4 бяха условно приети за M_1 поколение. Наблюдаваните изменения бяха класифицирани като хлорофилни, морфологични и физиологични.

Преобладаващ тип бяха морфологичните изменения (Таблица 3 и Фигура 3). При отделните генотипове соя в зависимост от приложените дози глифозат, морфологичните изменения варират в диапазона от 1.17 до 3.77%. В зависимост от генотипа най-много изменения бяха наблюдавани при сорта Сребрина при всички приложени концентрации глифозат.

Морфологични изменения при генотиповете соя бяха отчетени в промяна формата и броя на листните петури на листата (Фигура 3), както и в редуциране на височина на стъблото и формиране на много разклонения от първи, втори и трети порядък „храстовиден тип растения“ (Фигура 4).

Forty-five days after treatment (45 DAT) with glyphosate, surviving plants recovered the growth. The observed modification changes at soybean genotypes – Srebrina, Avigea, Divna, and Line 18/4 is maintained until full maturity growth stage. Therefore, these plants with modification changes of soybean genotypes Srebrina, Avigea, Divna, and Line 18/4 were conditionally accepted for M_1 generation. The observed changes were classified as chlorophyll, morphological and physiological.

Morphological changes were predominant (Table 3 and Figure 3). In different genotypes of soybean, according to applied doses glyphosate, morphological changes vary in the range from 1.17 to 3.77%. According genotype most changes were observed in variety Srebrina at all applied concentrations of the glyphosate.

Morphological changes were established in the form and number of leafs blade of the leaves (Figure 3), as well as in the reduction of stem height and formation of many branches of first, second and third order "bushy-type plants" (Figure 4).

Фиг. 3. Морфологични изменения по листата
Fig. 3. Morphological changes of leaves blade

Фиг. 4. „Храстовиден тип растения“
Fig. 4. “Brush-type plants"

Физиологичните изменения са представени основно от изменения в продължителността на вегетационния период. Бяха наблюдавани растения със скъсен вегетационен период, спрямо съответния контролен вариант.

Наблюдаваните хлорофилни мутации бяха представени от два типа – albomaculata и chlorina. Първият тип albomaculata е наблюдаван при сорта Авигея (Фигура 5), а chlorine при линия 18/4 (Фигура 6). Хлорофилни мутации бяха наблюдавани и по бобовете на сорт Авигея (Фигура 7).

Physiological changes are represented mainly by changes in length of growing season. They were observed plants with a shortened vegetation period, according to the control treatment.

Observed chlorophyll mutations were presented by two types – albomaculata and chlorina. The first type albomaculata was observed in variety Avigea (Figure 5) and chlorine at line 18/4 (Figure 6). Chlorophyll mutations were observed in pods of a variety Avigea (Figure 7).

Фиг. 5. Хлорофилна мутация – albomaculata
Fig. 5. Chlorophyll mutations – albomaculata

Фиг. 6. Хлорофилна мутация – chlorina
Fig. 6. Chlorophyll mutations – chlorina

Фиг. 7. Хлорофилни мутации по бобовете
Fig. 7. Chlorophyll mutations in pods

По отношение на концентрационните зависимости е видно, че с увеличаване дозата на приложения глифозат, намалява непропорционално честотата и типа на модификационни изменения при генотиповете соя Сребрина, Авигея, Дивна и Линия 18/4 в M_1 поколение (Таблица 3). Сравнителния анализ показва, че честотата и типа на всички наблюдавани модификационни изменения в M_1 поколение е най-широк при концентрация 0.720 g a. в., ha – 3 типа, следван от 1.440 g a. в., ha – 2 типа и най-нисък при 2.160 g a. в., ha – 1 тип.

With regard to the concentration relations, it was evident that with increase of the applications dose of glyphosate, frequency and type of modification changes reduce the disproportionately in soybean genotypes Srebrina, Avigea, Divna, and Line 18/4 in M_1 generation (Table 3). The comparative analysis shows that the frequency and type of observed modification changes in the M_1 generation is widest at a concentration of 0.720 g a. i., ha – 3 types, followed by 1.440 g a. i., ha – 2 types and the lowest at 2.160 g a. i., ha – 1 type.

Таблица 3. Изменения в M_1 в зависимост от дозата на приложения глифозат – 2009
Table 3. Variations in M_1 according to the doses applications of glyphosate – 2009

Genotypes	Варианти / Treatments																
	Доза g a. в., ha / Dose g a. i, ha																
	0.720							1.440							2.160		
	TNP	Хлоро-филни Chlorophyll		Морфо-логични Morpho-logical		Физио-логични Physio-logical		TNP	Хлоро-филни Chlorophyll		Морфо-логични Morpho-logical		Физио-логични Physio-logical		TNP	Морфо-логични Morpho-logical	
	Брой /Number	Брой /Number	%	Брой /Number	%	Брой /Number	%	Брой /Number	Брой /Number	%	Брой /Number	%	Брой /Number	%	Брой /Number	Брой /Number	%
Мира 96 Mira 96	102							95							0	-	-
Сребрина Srebrina	106			3	2.83			86			1	1.16	-	-	53	2	
Авигея Avigea	101			3	2.97	2	1.98	88			-	-	-	-	0	-	-
Дивна Divna	85	1	1.17	1	1.17	4	4.70	84			2	2.38	2	2.38	0	-	-
Карина Karina	100							94							12		
Линия F5№24 Line F5№24	72							48							6		
Линия M–18/4 Line M–18/4	60	1	1.66	-	-	-	-	50			1	2.00	-	-	0	-	-
Линия Rr Line Rr	72							48							0		

Легенда: TNP – общ брой растения, бр.
Legend: TNP - total number of plants, num.

Установена е силна отрицателна корелационна зависимост между проявената фитотоксичност на приложения

A negative correlation relationship between the phytotoxicity of applications of glyphosate (EWRS) in the genotypes глифозат (EWRS) при генотиповете соя и честотата и типа на всички наблюдавани модификационни изменения в M_1 (*r* варира в диапазона от -0.492 до -0.999), както и в зависимост дозата на приложения глифозат и честотата и типа на всички наблюдавани модификационни изменения в M_1 поколение (*r* е от -0.643 до -0.942) (Таблица 4).

of soybean and the frequency and type of all the observed modification changes in M_1 (*r* ranges from -0.492 to -0.999), as well as depending on the dose of applications of glyphosate and the frequency and type modification changes in M_1 generation was established (*r* is from -0.643 to -0.942) (Table 4).

Таблица 4. Корелационни зависимости между дозата, фитотоксичността и типа и честота на модификационните изменения при генотипове соя
Table 4. Correlation interactions between dose, phytotoxicity and type and frequency of modification changes in soybean genotypes

Покзатели Characteristics	Типове изменения Types of changes	Генотипове соя / Soyben genotypes			
		Сребрина Srebrina	Авигея Avigea	Дивна Divna	Линия 18/4 Line 18/4
Глифозат, g a. в., ha Glyphosate, g a. in., ha	Хлорофилни Chlorophyll	-	-	-0.866	-0.866
	Морфологични Morphological	-0.995	-0.866	-0.492	-
	Физиологични Physiological	-	-0.866	-0.999	-
Фитотоксичност EWRS, бал Phytotoxicity EWRS, score	Хлорофилни Chlorophyll	-	-	-0.643	-0.814
	Морфологични Morphological	-0.919	-0.619	-0.760	-
	Физиологични Physiological	-	-0.619	-0.942	-

С малки изключения изменените растения от M_1 се потвърдиха напълно в M_2 генерация, като най-висок процент е отчетен при морфологичните мутации – от 1.40 до 3.57%, следвани от физиологичните мутации – от 1.96 до 3.22%. При хролофилните мутации спектърт е стеснен до един тип (Таблица 5).

От потвърдените морфологични и физиологични мутации при генотиповете соя бяха излъчени мутантни линии с по-къс вегетационен период, такива с редуцирана височина на стъблото и увеличен брой разклонения.

With some exceptions modified plants from M_1 is fully confirmed in M_2 generation, the highest percentage was recorded in morphological mutations – from 1.40 to 3.57%, followed by physiological mutations – from 1.96 to 3.22%. In hrolofilnite mutation spectrum is a narrowed to one type (Table 5).

Confirmed by morphological and physiological mutations in soybean genotypes were shown mutant lines with shorter period of vegetation those with reduced height of the stem and an increased number of branches.

Таблица 5. Честота и спектър на мутационните изменения, наблюдавани в M_2 – 2010
Table 5. Frequency and spectrum of mutations by treatments, observed in M_2 – 2010

Варианти Treatments	Общ брой растения в M_2 Total number of plants in M_2	Типове мутации / Type of mutations								
		Хлорофилни Chlorophyll			Морфологични Morphological			Физиологични Physiological		
		Типове мутации Type of mutations	Общ брой мутации Total number of mutations	В % от общия брой растения In % of the total number of plants	Типове мутации Type of mutations	Общ брой мутации Total number of mutations	В % от общия брой растения In% of the total number of plants	Типове мутации Type of mutations	Общ брой мутации Total number of mutations	В % от общия брой растения In% of the total number of plants
Сребрина / Srebrina										
0.720 g a. i, ha	88				1	3	3.41			
1.440 g a. i, ha	71				1	1	1.40			
2.160 g a. i, ha	63							1	2	3.17
Авигея / Avigea										
0.720 g a. i, ha	102							1	2	1.96
Дивна / Divna										
0.720 g a. i, ha	98	1	1	1.02	1	1		1	2	2.04
1.440 g a. i, ha	62							1	2	3.22
Линия 18/4 / Line 18/4										
1.440 g a. i, ha	28	1	1	1.40	1	1	3.57			

ИЗВОДИ

Установено е, че приложените дози глифозат (0.720, 1.440 и 2.160 g a. в., ha) във фаза "трети троен лист" на соята, статистически доказано намалява (P=0.05) преживяемостта на културата. Генотиповете соя могат да се ранжират в следния ред: Rr и F5№24 (31.4%) → №18/4 (35.7%) → Дивна (38.3%) → Авигея (41.5%) → Карина (49.6%) → Сребрина (57.4%).

Глифозатът приложен в дози 0.720 и 1.440 g a. в., ha във фаза „трети троен лист" на соята увеличава честотата и обогатява спектъра на мутационните изменения в M_2 поколение при четири не генно модифицирани български генотипове соя – Сребрина, Авигея, Дивна и Линия 18/4.

Идентифициран е типа и спектъра

CONCLUSIONS

It was found that the applied doses of glyphosate (0.720, 1.440 and 2.160 g a. i., ha) at the growth stage "third trifoliate leaf" of the soybean reduce statistically significant (P = 0.05) survival of culture. Soybean genotypes can be arranged in the following order: Rr and F5№24 (31.4%) → №18/4 (35.7%) → Divna (38.3%) → Avigea (41.5%) → Karina (49.6%) → Srebrina (57.4 %).

The glyphosate applied at doses 0.720 and 1.440 g a. in., ha at the growth stage "third trifoliate leaf" of soybeans increases the frequency and enrich the spectrum of mutational changes in the M_2 generation at four non-genetically (non-GM) modified Bulgarian soybean genotypes (Srebrina, Avigea, Divna and Line 18/4).

Identified was the type and spectrum

на наблюдаваните хлорофилни, морфологични и физиологични мутации в M_2 поколение при четири не генно модифицирани български генотипове соя – Сребрина, Авигея, Дивна и Линия 18/4.

of observed chlorophyll, morphological and physiological mutations in M_2 generation at four (non-GM) modified Bulgarian soybean genotypes – Srebrina, Avigea, Divna and Line 18/4.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Al-Khatib, K. and D. Peterson**, 1999. Soybean (*Glycine max*) response to simulated drift from selected sulfonylurea herbicides. Dicamba, Glyphosate and Glufosinate. *Weed Technology,* 13(2), 264-270.
2. **Bajpai, J. and A. Srivastava**, 2013. Evaluation of germination and seedling toleranve index of black gram genotypes in response to herbicide glyphosate. *Annals of Plant Sciences*, 2(9), 351-357.
3. **Beckie, H., K. Harker, L. Hall, S. Warwick, A. Legere, P. H. Sikkema, G. W. Clayton, A. G. Thomas, J. Y. Leeson, G. Séguin-Swartz and M. J. Simard**, 2006. A decade of herbicide-resistant crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, 86(4), 1243-1264.
4. **Bonny, S.**, 2009. Genetically Modified Glyphosate-Tolerant Soybean in the USA: Adoption Factors, Impacts and Prospects – A Review. *Agron Sustain Dev Journal,* 28, 257-272.
5. **Cedergreen, N.**, 2008. Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained over time? *Environmental pollution*, 156(3), 1099-1104.
6. **Davis, W.**, 2006. Soybean seeds and plants exhibiting natural herbicide resistance. United States Natural Genes, Inc. (Plainview, TX, US) 7135626 http://www.freepatentsonline.com/7135626.html.
7. **Dimova, D., D. Svetleva and V. Vancheva**, 1990. Study of the independent and combined action of $/NH_4/_2SO_4$ and herbicides on the growth of seeds of *Pisum sativum* L., *Fabaceae* Lind L. *Scientific papers*, XXXV(4), 175-183 (Bg).
8. **Duke, S.**, 1996. Herbicide Resistant Crops. CRC Press, New York.
9. **Duke, S., J. Lydon, W. Koskinen, T. Moorman, R. Chaney and R. Hammerschmidt**, 2012. Glyphosate Effects on Plant Mineral Nutrition, Crop Rhizosphere Microbiota, and Plant Disease in Glyphosate-Resistant Crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 60, 42, 10375-10397.
10. **Fickett, N., D., C. M. Boerboom and D. E. Stoltenberg**, 2013. Soybean Yield Loss Potential Associated with Early-Season Weed Competition across 64 Site-Years. *Weed Science,* 61(3), 500-507.
11. **Gaul, H.**, 1964. Mutations in plant Breeding. *Rad. Bot*., 4, 155-232.
12. **Hinnkelmann, K. and O. Kempthorne**, 1994. Design and Analysis of Experiments. Vol. 1, Wiley and Sons, New York.
13. **Isman, M. B.**, 2008. Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Management Science*, 64, 8-11.
14. **Johnson, W. G., V. M. Davis, G. R. Kruger, S. C. Weller**, 2009. Influence of glyphosate-resistant cropping systems on weed species shifts and glyphosate-resistant weed populations. *European Journal of Agronomy,* 31, 162-172.
15. **King, A., L. Purcell and E. Vories**, 2001. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. *Agronomy Journal*, 93(1), 179-186.
16. **Main, Ch., V. Pantalone and T. Mueller**, 2004. A novel approach to determine the glyphosate tolerant trait in soybeans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1224-1227.

17. **McCann, M. C., K. Liu, W. A. Trujillo and R. C. Dobert**, 2005. Glyphosate-tolerant soybeans remain compositionally equivalent to conventional soybeans (*Glycine max* L.) during three years of field testing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 5331-5335.
18. **Mueller, T. C., J. H. Massey, R. M., Hayes, C. L. Main and C. N. Stewart**, 2003. Shikimate accumulates in both glyphosate-sensitive and glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 680-684.
19. **Nelson, K. and K. Renner**, 2001. Soybean growth and development as affected by glyphosate and postemergence herbicide tank mixtures. *Agronomy Journal*, 93(2), 428-434.
20. **Neumann, G., S. Kohls, E. Landsberg, K. Souza, T. Yamada and V. Römheld**, 2006. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. *Journal of Plant Diseases and Protection Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz Sonderheft*, 20, 963-969.
21. **Oerke, E. C.**, 2006. Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.
22. **Petkova, S. and D. Svetleva**, 1995. Studies on the individual and combined effect of Trifluralin and Potassium nitrate during the G_1-period of the bean mitotic cycle. Materialy Ogolnopolskiej Naukowej” Nauka Praktyce Ogrodniczej”, Akademia Rolnicza – Lublin.
23. Pesticide Information Profiles Glyphosate 1996.
http://ace.ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/glyphosa.htm.
24. **Powles, S. B., D. F. Lorraine-Colwill, J. J. Dellow and C. Preston**, 1998. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed science*, 46(5), 604-607.
25. **Priilinn, O., T. Schneider and T. Orav**, 1976. Research on chemical mutagenesis in agricultural plants. Edg. Valgus, Tallinn (Ru).
26. **Rizwan, M., S. Akhtar, M. Aslam and M.Asghar**, 2015. Development of herbicide resistant crops through induced mutations. *Advancements in Life Sciences,* 3(1), 01-08.
27. **Svetleva, D.**, 1991. Effect of N-nitroso-N-ethylurea on *Phaseolus vulgaris* (L.) Savi. *Genetics and Selection*, 4 (1), 21-28 (Bg).
28. **Svetleva, D., D. Dimova and V. Vancheva**, 1992. Influence of potassium nitrate and treflane during the S-period of the mitotic cycle of *Pisum sativum* L. *Genetics and Selection*, 25 (2), 160-165 (Bg).
29. **Svetleva, D., S. Petkova and U. Vijaranakul**, 2009. The effect of trifluralin, potassium nitrate (KNO_3) on chromosome aberrations of *Phaseolus vulgaris* Savi, var. *subcompressus* (No. 564) during S, G_1 and G_2-phase of cell cycle. Procedeengs Utah Academy of Sciences, Arts and Letters, Annual Conference, April 10, 2009, Brigham Young University, N. Eldon Tanner Buildingh, Provo, Utan, 1-19.
30. **Zambrano, A., R. Demey and V.Gonzalez**, 2003. In vitro selection of a glyphosate-tolerant sugarcane cellular line. *Plant Molecular Biology Reporter,* 21, 365-373.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (2), 128-138 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Сравнителна стопанска характеристика на перспективни форми суданка (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf) I. За семена

Ирена Голубинова*, Пламен Маринов-Серафимов

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

Comparative biological and economic characteristics of perspective forms sudan grass (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf) I. For seeds

Irena Golubinova*, Plamen Marinov-Serafimov

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

РЕЗЮМЕ

През периода 2014-2016 година в опитното поле на Институт по фуражни култури - Плевен в условия на конкурсен сортов опит са проучени 2 мутантни форми М 300/43 и М200/86 суданка (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf). За стандарти са използвани сорт суданка Kazitachi (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf) и Ендже 1 (*Sorghum vulgare var. sudanense (Piper) Stapf x Sorghum vulgare var. saccharatum*). Проучвани са някои биометрични показатели с пряко отношение върху семенната продуктивност. В проучването е установено, че мутантна форма М-300/43 по признаците височина на растението, дължина на метлицата, маса на семената от една метлица и маса на 1000 семена при конкретните агрометеорологични условия през периода на проучване превишават стандарта Kazitachi съответно от 6,9 % до 115,8 %, докато спрямо Ендже 1 са от -6,5 до 35,4 %.

SUMMARY

During the period 2014-2016 year in the experimental field of the Institute of Forage Crops - Pleven in terms of competitive variety trials were studied 2 mutant forms M 300/43 и M200/86 Sudan grass(*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf). Standards are used variety Sudan grass Kazitachi and Endje 1 (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf x *Sorghum vulgare* var. saccharatum). Some biometric parameters directly related to seed productivity were studied.

The study found that the mutant form M-300/43 on grounds of plant height, length of panicle, seed weight of a panicle and mass of 1000 seeds in the specific agrometeorological conditions during the study exceeded the standard Kazitachi respectively from 6.9 % to 115.8%, as compared Endje 1 are from -6.5 to 35.4%.

Ключови думи: *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf., суданка, селекция, мутантни форми

УВОД

Мутационната селекция все още е един алтернативен метод на класическата селекция за индуциране на генетична вариабилност в еволюционното развитие на живите организми. Експериментално индуцираните мутации са един от класическите подходи за получаване на нови форми и обогатяване на съществуващото генетично разнообразие при селскостопанските култури, което е от първостепенно значение за всяка селекционна програма (Kostina, 2000; Makeen et al., 2010; Parry et al., 2010). Посредством експерименталния мутагенез са създаване на огромен брой високопродуктивни сортове – директно или чрез включване на мутантни форми в селекционните програми при икономически най-важните земеделски култури (Muthusamy and Jayabalan, 2011).

При видовете от род *Sorghum* изпитването на различни физични и химични агенти за индуциране на генетично разнообразие е обект и на съвременни проучвания (Larik et al., 2009; Sihono et al., 2010). Използването на гама-лъчите в мутационната селекция при видовете от род *Sorghum* е доказан и перспективен селекционен метод за разширяване на мутационния спектър и индуциране на наследствена изменчивост на стопански ценни признаци и свойства, като подобряване качеството и химичния състав на зърното и фуража (Kostina et al., 1995; Song et al., 1993; Sihono, 1998), подобряване на признаци с пряко отношение към повишаването на продуктивността (Li et al., 2001), сухоустойчивостта (Song et al., 1993; Human and Nakanishi, 2003) и устойчивостта на болести и неприятели (Kostina et al., 1995), промяна във восъчния налеп (Jenks et al., 1994), скъсяване на вегетационния период (Song et al., 1993), повишаване комбинативната им способност като родителски форми за хибридизация (Kenga et al., 2005).

Key words: *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf., Sudan grass, breeding, mutant forms

INTRODUCTION

Mutation breeding is still the an alternative method of classical breeding to induce genetic variability in the evolutionary development of living organisms. Experimentally induced mutations are one of the classic approaches for the preparation of new forms and enrich the existing genetic diversity in crops, which is of paramount importance for each selection program (Kostina, 2000; Makeen et al., 2010; Parry et al., 2010).

There are a huge number of highly productive varieties by experimental mutagenez – directly or by incorporating mutant forms in breeding programs in the most economically important crops (Muthusamy and Jayabalan, 2011).

In species of the genus *Sorghum* testing of various physical and chemical agents to induce genetic diversity is the object of recent studies (Larik et al., 2009; Sihono et al., 2010). The use of gamma-rays in the mutation selection in species of the genus *Sorghum* is a proven and promising selection method for expanding the mutational spectrum and induction of familial variability of economically valuable traits and characteristics, such as improved quality and chemical composition of the grain and forage (Kostina et al., 1995; Song et al., 1993; Sihono, 1998), improving the signs in direct relation to the increased productivity (Li et al., 2001), drought tolerance (Song et al., 1993; Human and Nakanishi, 2003) and resistance to diseases and pests (Kostina et al., 1995), change in a waxy coating (Jenks et al., 1994), shortening the growing season (Song et al., 1993), enhancing their combinatorial ability as corresponding to parental forms for hybridization (Kenga et al., 2005).

Суданката (суданска трева, тревисто сорго) (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) е фуражна култура с относително висока приспособимост и пластичност към почвено-климатичните условия (Valenzuela and Smith, 2002). Намира приложение предимно за паша, сено и силаж, благодарение на високия си продуктивен потенциал и ценните си стопански качества, особено в условията на засушаване (Moyer et al., 2003; Tahir et al., 2005). У нас при културата са проучвани отделни звена от технологията на отглеждане. Изследванията за въздействието на гама-радиацията върху суданката в достъпната чуждестранна литература са много противоречиви и оскъдни, а такива данни у нас не са публикувани.

Целта на проучването е да се направи оценка на създадените мутантни форми суданка по някои от елементите на продуктивността на семена в условията на конкурсен сортов опит.

Sudan grass (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) is a fodder culture with relatively high adaptability as and plasticity of the soil and climatic conditions (Valenzuela and Smith, 2002). It is used primarily for pasture, hay and silage thanks to its high productive potential and valuable economic qualities, especially under drought conditions (Moyer et al., 2003; Tahir et al., 2005). At the Sudan grass in our country separate units of the technology of cultivation was studied. Studies on the effects of gamma-radiation on Sudan grass in foreign literature are very contradictory and scarce and such data in our country have not been published.

The aim of this study was to evaluate created mutant forms Sudan grass on some elements of productivity of seeds in a competitive variety trial.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експерименталната работа е извършена през периода 2014-2016 година на Второ опитно поле на ИФК - Плевен при неполивни условия върху почвен подтип излужен чернозем. Изпитани са две мутантни форми М 300/43 и М200/86 суданка – (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf) в конкурсен сортов опит със сорт Kazitachi (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf. – изходен сорт за мутантните форми) и сорт Ендже 1 – вписан в Официалната сортова листа на Р. България (*Sorghum vulgare var. sudanense (Piper) Stapf x Sorghum vulgare var. saccharatum*) (Kikindonov and Slanev, 2011).

Сеитбата е извършвана ръчно при трайно затопляне на десет сантиметровия почвен слой (втората половина на месец април). Опитът е заложен по блоков метод в четири повторения и големината на опитната парцелка 10 m^2 (по методика на ИАСАС). През вегетацията е спазена технологията за отглеждане на сорго за зърно и силаж (Dechev et al., 1987).

През вегетацията са проведени фенологични наблюдения по BBCH

MATERIAL AND METHODS

The experimental work was carried out during the period 2014-2016 year on the second field to the Institute of forage crops - Pleven without irrigation on soil subtype leached Chernozem. Tested two mutant forms M 300/43 и M200/86 Sudan grass in a competitive variety experience with variety Kazitachi (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf – starting variety of mutant forms) and variety Endje 1 – entered in official variety list of Bulgaria (*Sorghum vulgare* var. sudanense (Piper) Stapf x *Sorghum vulgare* var. saccharatum) (Kikindonov and Slanev, 2011).

Sowing was done manually with permanent warming of 10 cm soil layer (the second half of April). The trial is set in block method in three replicates and the size of the plot treatment 10 m^2 (according to the technique of IASAS). During the vegetation was respected technology for growing sorghum for grain and silage (Dechev et al., 1987).

During the vegetation were conducted phenological observations BBCH scale скалата на Meier (2001) при следните фенофази: а) от поникване (BBCH-09-10) до отваряне на флаговия лист (BBCH-47), б) от поникване (BBCH-09-10) до пълна зрелост (BBCH-89). Отчетени са следните количествени признаци с пряко отношение към семенната продуктивност: Височина на централното стъбло (BBCH-47 и BBCH-89), cm; Дължина на метлицата, cm; Маса на семената от една метлица, g; Маса на 1000 семена, g. Измерванията са извършени на 20 растения за всяко повторение на всички варианти на опита.

Математико-статистическата обработка на експерименталните данни е извършена с програмния продукт Satistica version 10.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Репродуктивните възможности на генотипове суданка са в пряка зависимост от агрометеорологичните условия през вегетационния период (април-септември) в годините на изследване (2014-2016 г.), като критични за развитието се явяват фенофази първи-трети лист (BBCH 11-13). Стойностите на основните показатели среднодневна температура на въздуха и валежи са сравнени със същите за многогодишен период (1964-2009 г.). Годините на изследване обхващат периоди различаващи се по сумата на валежите и температурата, така и по разпределението им през вегетацията (Таблица 1). Средноденонощните температури на въздуха средно за вегетационните периоди са с наднормални стойности (от +0,2 до +1,1 °C) в сравнение със същите за многогодишен период. По отношение на количеството на валежите се наблюдава по-силна вариабилност и неравномерно разпределение през веге-тационните периоди спрямо биологичните изисквания на културата.

Meier (2001) with the following phenophases: a) of germination (BBCH-09-10) to open the flags leaf (BBCH-47) b) of emergence (BBCH-09-10) to full maturity (BBCH-89). The following quantitative features of direct relevance to the seed productivity are reported: Height of the central stem (BBCH-47 and BBCH-89), cm; Panicle length, cm; Seed weight from a panicle, g; Weight of 1000 seeds, g. Measurements were made on 20 plants for each replication of all experimental variants of the experiment.

Mathematical and statistical processing of the experimental data was carried out with the software Satistica version 10.

RESULTS AND DISCUSSION

Reproductive performance of genotypes Sudan grass are directly dependent on agro-meteorological conditions during the growing season (April to September) in the survey years (2014-2016) as critical for development appear growth stage first-third sheet (BBCH 11-13). The values of the main indicators average temperature of air and precipitation were compared with the same in a multiannual period (1964-2009). The years of the study covering periods differing in rainfall and temperature and different distribution through the period of vegetation (Table 1). The average daily air temperatures medium for the vegetation periods are over-values (from +0.2 to +1,1°C) as compared with a multi-year. In terms of precipitation is observed stronger variability and uneven distribution during the vegetation period to the biological requirements of the culture.

Таблица 1. Метеорологични показатели през годините и средно за периода (2014-2016г.)
Table 1. Meteorological indicators during the years and period average (2014-2016)

Период на изследване Period of study	Вегетационен период Vegetation period						Средно за IV-IX, *t* °*C* Average for IV-IX, *t* °*C*
	Средномесечна температура на въздуха, *t* °*C* The average monthly emperature of the air, *t* °*C*						
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
2014	14,9	16,7	20,6	23,1	23,7	17,9	19,5
Отклонение °C/Deviation °C	*2,9*	*-1*	*-0,6*	*-0,3*	*0,8*	*-0,4*	*0,2*
2015	12,2	18,8	20,7	25,5	24,4	20,0	20,3
Отклонение °C/Deviation °C	*0,2*	*1,1*	*-0,5*	*2,1*	*1,5*	*1,7*	*1,0*
2016	15,4	16,4	23,0	24,6	23,5	19,4	20,4
Отклонение °C/Deviation °C	*3,4*	*-1,3*	*1,8*	*1,2*	*0,6*	*1,1*	*1,1*
Средно за 2014-2016 *Average 2014-2016*	*14,2*	*17,3*	*21,4*	*24,4*	*23,9*	*19,1*	*20,1*
Средно за 45 г. (1964-2013) *Average 45 years (1964-2013)*	*12,0*	*17,7*	*21,2*	*23,4*	*22,9*	*18,3*	*19,3*
Период на изследване Period of study	Месечни суми на валежите, mm Monthly rainfall, *mm*						Сума за IV-IX, *mm* Amount for IV-IX, *mm*
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
2014	32,3	83	54,3	71,8	23,9	142,6	407,9
Отклонение, % / Deviation,%	*66,3*	*132,0*	*85,2*	*116,7*	*52,5*	*314,8*	*124,5*
2015	43,6	30,6	95,9	21,5	29,9	130,3	351,8
Отклонение, % / Deviation,%	*89,5*	*48,6*	*150,5*	*35,0*	*65,7*	*287,6*	*107,4*
2016	72,5	77,2	46,1	7,8	31,2	61,8	296,6
Отклонение, % / Deviation,%	*148,9*	*122,7*	*72,4*	*12,7*	*68,6*	*136,4*	*90,5*
Средно за 2014-2016 Average 2014-2016	49,5	63,6	65,4	33,7	28,3	111,6	352,1
Средно за 45 г. (1964-2013) ***Average 45 years (1964-2013)***	***48,7***	***62,9***	***63,7***	***61,5***	***45,5***	***45,3***	***327,7***
Период на изследване Period of study	Индекс на сухота De Martonne De Martonne aridity index, I_{ar}-*DM*						Средно за IV-IX Average for IV-IX
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
2014	15,6	37,3	21,3	26,0	8,5	61,3	27,7полувлажен
2015	23,6	12,8	37,5	7,3	10,4	52,1	23,3 умереносух
2016	34,3	35,1	16,8	2,7	11,2	25,2	19,5 полусух
Средно за 45 г. (1964-2013) ***Average 45 years (1964-2013)***	***26,6***	***27,3***	***24,5***	***22,1***	***16,6***	***19,2***	***22,4*** ***умереносух***

Сравнително благоприятно и равномерно е разпределението на валежите през 2014 година, спрямо критичните фенофази от развитието на културата – поникване – първи-трети лист (BBCH 09–

Comparing favorably and evenly is the distribution of rainfall in 2014 compared to the critical growth stages from the development of culture – germination – first-third leaf (BBCH 09–

11/13). В температурно отношение вегетационния период на проучване се отличава с поднормални средномесечни стойности (от -0.3 до -1.0 °C), с изключение на месеците април и август (от + 0.8 до +2.9 °C) в сравнение със същите отчетени за периода 1964-2013.

През вегетационния период на 2015 година са отчетени по-високи стойности (от +0.2 до +2.1 °C) на средномесечната температурата на въздуха с изключение на месец юни в сравнение със същите за средномногогодишния период 1964–2013. Количеството и разпределението на валежите е със значителна неравномерност, наблюдава се ясно изразена тенденция към засушаване в най-критичните фенофази от развитието на културата - поникване – първи лист (BBCH 09–11).

Сравнително добре обезпечена с вегетационни валежи е суданката през 2016 година. Отчетените високи суми на вегетационни валежи (от 122,7 до 148,9%) и относително благоприятното им разпределение в критичните фенофази от развитието на културата, оказват коригиращ ефект върху повишените стойности на средномесечните температури на въздуха (+ 3.4 °C), което благоприятства равномерното поникване и гарниране на посевите.

Оценявайки интегралното въздействие на някои от основните метеорологични фактори – сума на валежи и средномесечни температури на въздуха аридността през вегетационния период на културите (IV – IX) се определя по години както следва: 2014 полувлажен (I (Мартон) = 27,7) > 2015 умерено сух (I (Мартон) = 23,3) > 2016 полусух (I (Мартон) = 19,5) (Таблица 1).

Отчетената динамика на метеорологичните условия през отделните години и взаимодействието й с генотипа са предпоставка за различните репродуктивни възможности при изпитваните генотипове суданка. Анализът на данните, касаещи височината на растенията, показва ясно разграничаване в началните етапи от развитието им (Таблица 2).

11/13). The temperature during the vegetation period of a study is characterized by sub-average monthly values (-0.3 to -1.0 °C), with the exception of April and August (from + 0.8 to +2.9 °C) compared to the same for the period 1964-2013.

During the vegetation period of 2015 reported higher values (from +0.2 to + 2.1 °C) of the average monthly air temperature with the exception of June compared with the same term values for the period 1964-2013. The amount and distribution of precipitation has a significant unevenness, there is a clear tendency to drying in the most critical phenophases by the development of culture - germination - a first leaf (BBCH 09-11).

Relatively well-stocked with vegetation rainfall is Sudangrass in 2016. The reported high sums of precipitation in period of vegetation (from 122.7 to 148.9%) and their relatively favorable distribution in the critical growth stages from the culture development have a corrective effect on the increased values of the average monthly air temperatures (+ 3.4 °C), which helps to germination of crops.

Estimating the integral effect of climatic factors – the amount of rainfall and the monthly average air temperatures aridity during the growing period of crops (IV - IX) is determined by year as follows: 2014, semi-moist (I (Marton) = 27.7)> 2015 moderately dry (I (Marton) = 23.3)> 2016 semi-dry (I (Marton) = 19.5) (Table 1).

Reported dynamics of weather conditions over the years and its interaction with genotype prerequisite for various reproduction of the tested genotypes Sudan grass. Analysis of the data relating to the height of the plants showed a clear distinction in the initial stages of their development (Table 2).

Таблица 2. Структурни елементи на добива при суданка
Table 2. Structural elements of production with Sudan grass

Варианти Variants	Височина на растенията Plant height cm		Дължина на метлицата Length of panicle		Маса на семената от една метлица Seed weight of a panicle		Маса на 1000 семена Weight of 1000 seeds	
	BBCH-47	BBCH-89	cm	% of St	g	% of St	g	% of St
2014								
Endje 1-St	215,48c	263,48c	30,60a	100	33,90c	100	17,30bc	100
Kazitachi	184,50b	224,50b	33,66b	110,0	12,94a	38,2	16,22ab	93,8
M 300/43	217,17c	267,67c	44,92c	146,8	31,05c	91,6	17,25bc	99,7
M 200/86	166,20a	214,48a	33,86b	110,7	17,31b	51,1	16,43ab	95,0
2015								
Endje 1-St	123,38ab	170,28ab	29,11a	100	26,20c	100	16,90bc	100
Kazitachi	135,14b	179,12b	35,62b	122,4	13,91a	53,1	15,64ab	92,5
M 300/43	129,68b	175,98b	39,79c	136,7	27,16bc	103,7	16,52bc	97,8
M 200/86	119,23a	165,27a	34,22ab	117,6	15,87ab	60,6	15,55ab	92,0
2016								
Endje 1-St	179,56bc	220,25bc	33,10a	100	13,68b	100	14,50b	100
Kazitachi	151,55a	198,85a	33,35a	100,8	5,13a	37,5	13,65a	94,1
M 300/43	170,80b	214,26b	40,55b	122,5	10,79b	78,9	14,85b	102,4
M 200/86	180,68c	225,75c	34,05a	102,9	7,77a	56,8	13,00a	89,7
Средно за 2014-2016/Average for 2014-2016								
Endje 1-St	*172,81*	*218,00*	*30,83*	100	*24,59b*	100	*16,23bc*	100
Kazitachi	*157,06*	*200,82*	*34,21*	111,0	*10,66a*	43,4	*15,17ab*	93,5
M 300/43	*172,55*	*219,30*	*41,75*	135,4	*23,00b*	93,5	*16,21bc*	99,9
M 200/86	*155,37*	*201,83*	*34,04*	110,4	*13,65a*	55,5	*14,99ab*	92,4

Височината на формираните стъбла до фенофаза начало на изметляване (BBCH-47) и физиологична зрелост (BBCH-89) варира в зависимост от метеорологичните условия през годините на проучване, като най-ниски стъбла за всички варианти на опита са формирани през 2015, а най-високи през 2014 година. В зависимост от генотипа, в края на вегетацията при мутантна форма М 300/43 височината на стъблата превишава тази при Ендже 1, а при изходния сорт с 9,2 %.

Семенната продуктивност при суданката е в пряка зависимост от показателите дължина на метлицата, семената от една метлица, височината на централното стъбло и маса на 1000 семена (Таблица 3 и 4).

The height of the stems to growth stage open the flags leaf (BBCH-47) and physiological maturity (BBCH-89) varies depending on weather conditions during the years of study with the lowest stems for all variants of experience were formed in 2015 and the highest in 2014. Depending on the genotype, at the end of vegetation in a mutant form M 300/43 height of the stems exceed negligible in this Endje 1, and when the starting strain of 9.2%.

Seed productivity in Sudan grass depends on the parameters length of the panicle, seed from a panicle, height of the central stem and the weight of 1000 seeds (Table 3 and 4).

Таблица 3. Корелационни зависимости (*r*) между показатели обуславящи добива от семена при суданска трева
Table 3. Correlations (*r*) between indicators determining the yield of seeds in Sudan grass

	Фактори / Factors	1	2	3	4
1	Височина на растенията / Plant height	1,000			
2	Дължина на метлицата / Length of panicle	0,320	1,000		
3	Маса на семената от една метлица Seed weight of a panicle	0,980	0,171	1,000	
4	Маса на 1000 семена / Weight of 1000 seeds	0,986	0,258	0,955	1,000

Дължината на метлицата при суданката зависи основно от генотипа и факторите на околната среда, при които е формирана и не зависи съществено от височината на централното стъбло (r=0,320). От друга страна показателят дължина на метлицата не влияе съществено върху количеството на семената на една метлица (r=0,171) и маса на 1000 семена (r=0,258). Основните фактори, влияещи върху формирането на масата на семената от една метлица, са височината на централното стъбло (r=0,980) и маса на 1000 семена (r=0,955).

Резултатите от изведените дисперсионни анализи за установяване влиянието и взаимовръзката на проучваните фактори (години на изследване (А) и генотип (В)) върху добивът от семена от генотиповете суданка, показват, че относително най-голям дял от общото вариране се дължи на Фактор А (33,36%), а делът на Фактор В е незначителен (0,84%) (Таблица 4).

The length of panicle in Sudan grass is mainly dependent on the genotype and environmental factors in which it is formed and does not depend significantly on the length of the central stem (*r*=0,320). Of the other part the length of panicle not substantially affect amount of seeds of a panicle (*r*=0,171) and the weight of 1000 seeds (*r*=0,258). The main factors influencing the mass of seeds from a panicle are the height of the central stem (*r* = 0,980) and the weight of 1000 seeds (*r*=0,955).

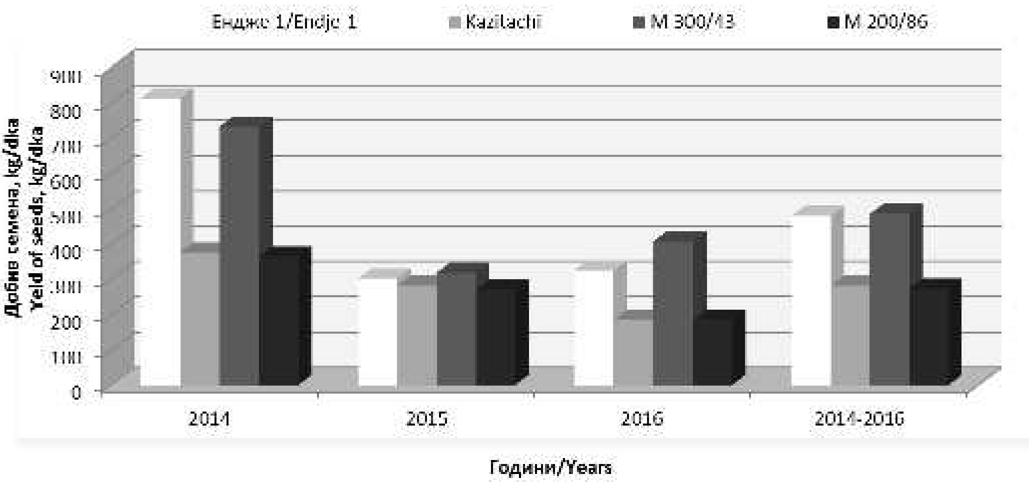
The results of dispersion analysis to identify the impact and relationship of the studied factors (years of study (A) and genotype (B)) on the yield of the seeds of sudan grass show that relatively the largest share of the total variation due to factor A (33,36 %) and a minor share of the Factor B (0,84%) (Table 4).

Таблица 4. Анализ на вариансите и степен на влияние на факторите в общата дисперсия върху добива от семена при генотипове суданска трева
Table 4. Analysis of variance and degree of influence of the factors in the total dispersion on the yield of seeds at genotypes Sudan grass

Източници на вариране Sources of variation	SS	df	MS	F	p	η^2
Interceps	5202882	1	5202882	1407,249	0,000000	
Години (А)/Years (A)	662851	2	331425	89,642	0,000000	33,36
Генотип (В)/Genotype (B)	381269	3	127090	34,375	0,000000	0,84
AxB	226626	6	37771	10,216	0,000012	0,74
Грешка/Error	88733	24	3697			65,10
Общо/Average	1359479	35				100,00

Количеството семена при изследваните генотипове суданка варира през отделните години, като най-голям е добивът от семена през 2014 година (Фигура 1). Средно за трите години, изпитваните генотипове формират различно количество семена. С най-висок добив средно за периода се откроява мутантна форма М 300/43 превишаваща изходния сорт с 73,1%, а Енджe 1 с 1,2%.

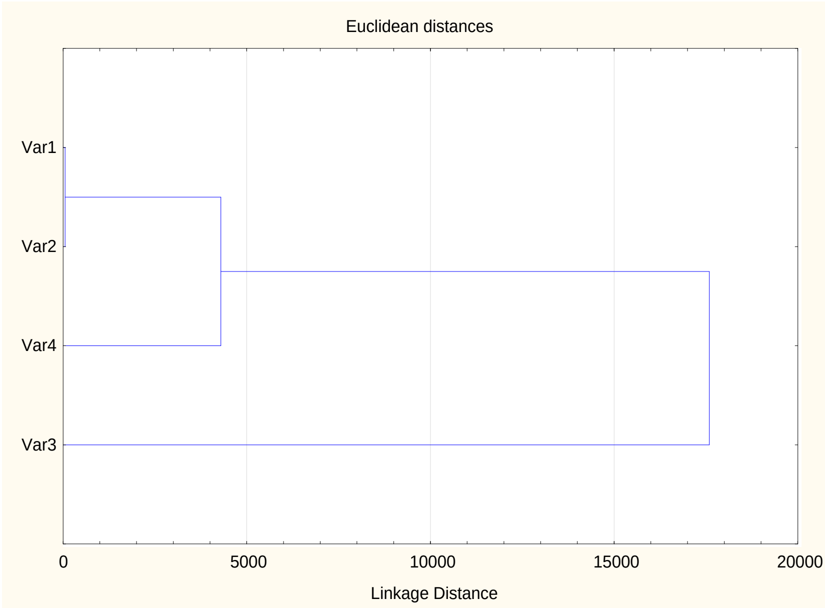
The quantity of seed in the studied genotypes sudangrass in different years. Highest yield of seeds in 2014 (Figure 1). Average genotypes tested for three years form different amounts of seed. Average for the years with the highest yield is mutant form M 300/43 exceeding the variety Kazitachi of 73.1%, and Endje 1 to 1.2%.



Фиг. 1. Добив семена по години и средно за периода, kg/da
Fig. 1. Yield of seed per year and average for the period, kg/da

Използвайки осреднените данни от количествените признаци е извършено кластеризиране (групирне) на генотиповете по сходство, като резултата от анализа е представен във вид на дендрограма (Фигура 2). Като мярка за отдалеченост е използвано евклидовото разстояние. От представената дендрограма може да се приеме, че отдалечеността на мутантна форма М 300/43 се дължи на комплекс от количествени признаци, свързани със семенната продуктивност.

Using the averaged data from the quantitative indication is made clustering (grouping) of the genotypes in similarity as a result of the analysis is presented as a dendrogram (Figure 2). As a measure of distance used Euclidean distance. From the documents dendrogram can be assumed that the distance of the mutant form M 300/43 grass due to the complex quantitative traits associated with seed productivity.



Фиг. 2. Дендрограма на генотипове суданка по количествени признаци
Fig. 2. The dendrogram of genotypes Sudan grass on quantitative traits
Легенда: Var1 – сорт Енджe 1; Var2 – сорт Kazitachi; Var3 – мутантна форма М 300/43; Var4 – мутантна форма М 200/86
Legend: Var1 – variety Endje 1; Var2 – variety Kazitachi; Var3 – mutant form M 300/43; Var4 – mutant form M 200/86

ИЗВОДИ

Семенната продуктивност при суданката е генотипно обусловена, но съществено влияние оказват и абиотичните фактори на средата – тепература на въздуха и количество на валежите.

Количеството на семената формирани от една метлица са в корелационна зависи-мост от височината на централното стъбло (*r*=0,980) и от масата на 1000 семена (*r*=0,955).

С най-висок добив семена при генотиповете суданка, средно за периода на проучване се откроява мутантна форма М 300/43, която превишава изходния сорт с 73,1%, а Енджe 1 с 1,2%.

CONCLUSIONS

Seed productivity in Sudan grass is genotypically determined, but significantly influenced and abiotic factors – air temperature and rainfall.

The quantity of seeds are correlation interaction from a panicle depend primarily on the height of the central stem (*r*=0,980) and the weight of 1000 seeds (*r*=0,955).

Average for the period of study the highest yield of seed from the studied genotypes sudangrass mutant form M 300/43 exceeding the variety Kazitachi of 73.1%, and Endje 1 to 1.2%.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Dechev, I., Z. Tzoukov, B. Gramatikov, D. Tanchev and S. Ivanov**, 1987. Technology for growing sorghum for grain and silage. National Agro-Industrial Union. Sofia (Bg).

2. **Human, S. and T. M. Nakanishi**, 2003. Obtaining induced mutations of drought tolerance in sorghum. *Journal Radioisotopes*, 52(1), 15-21.

3. **Jenks, M. A., R. J. Joly, P. J. Peters, P. J. Rich and J. D. Axtell**, 1994. Ashworth EN: Chemically induced cuticle mutation affecting epidermal conductance to water vapor and disease susceptibility in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Plant Physiology*, 105(4), 1239-1245.
4. **Kenga, R., S. O. Alabi and S. C. Gupta**, 2005. Heterosis and combining ability for grain yield and its Components in induced sorghum mutants. *African Crop Science Journal*, 13(2), 143-152.
5. **Kikindonov, Ts. and K. Slanev**, 2011. Productivity of the new sudangrass variety Endje -1, *Journal of mountain agriculture on the Balkans*, 3(14), 564-575.
6. **Kostina, G. I., S. V. Kudanov and E. V. Morozov**, 1995. Breeding of fodder sorghum. *Corn and sorghum*, 2: 17-18 (Ru).
7. **Kostina, G. I.**, 2000. Breeding of sorghum crops with the use of experimental mutagenesis in arid Povolzhe. Author's abstract, Thesis of the Dr. of Agricultural Sciences, Saratov (Ru).
8. **Larik, A. S., S. Memon and Z. A. Soomro**, 2009. Radiation induced polygenic mutations in *Sorghum bicolor* L. *Journal of Agricultural Research*, 47(1), 11-19.
9. **Li JG, Liu GQ, Zhang J, Jiang XC**, 2001. Study on induced mutation of sorghum seeds on recoverable satellites. *Space Medicine & Medical Engineering*, 14(1), 57-59.
10. **Makeen, K., B. G. Suresh and G. R. Lavanya**, 2010. Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma–rays, sodium azide and their synergistic effects in black gram (*V. mungo* L.) *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 9(5), 860-865.
11. **Meier, U.** 2001. Growth stages of mono-and dicotyledonous plants. BBCH Monograph. 2. Edition, Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. http://pub.jki.bund.de/index.php/BBCH/article/viewFile/515/464
12. **Moyer, J. L., J. O. Fritz and J. J. Higgins**, 2003. Relationships among forage yield and quality factors of hay-tipe sorghum. Online. *Crops Management*. doi:10.1094/CM-2003-1209-01-RS
13. **Muthusamy, A. and N. Jayabalan**, 2011. Induced floral variations in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant Mutation Reports*, 2(3), 12-17.
14. **Parry, M. A., J. Madgwick, J. Pippa, C. Bayon, K. Tearall, A. Hernandez-Lopez, M. Baudo, M. Rakszegi, W. Hamada, A. Al-Yassin, H. Ouabbou, M. Labhilili and A. Phillips**, 2009. Mutation discovery for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 60(10), 2817-2825
15. **Sihono, H. S.**, 1998. Mutation breeding in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) for improving plants as ruminant feed. Badan Tenaga Atom Nasiona, Jakarta (Indonesia).
16. **Sihono, H. S.**, 2010. Sorghum breeding for improved drought tolerance using induced mutation with gamma irradiation. *J. Agron. Indonesia*, 38(2), 95-99.
17. **Song, G., Y. Su and C. Zhang**, 1993. A study on M_2 mature period and seed quality characters in sorghum irradiated by gamma - rays under ultralow temperature. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 14(5), 201-205.
18. **Tahir, M., H. Sadaqat and I. Khan**, 2005. Genetic potrntial of forage yielding sorghum x sudangrass hybrids for resistance to stem borer (*Chilo partellus*) and shoot fly (*Atherigona soccata*). *Pak. Entomol.,* 27(1), 57-62.
19. **Valenzuela, H. and J. Smith**, 2002. Sorghum - sudangrass hybrids. Publication number SA-GM-10, Sustainable Agriculture, Green Manure Crops. Cooperative Extension Service, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa. Honolulu, HI.