Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (4), 257-264 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Качество на оранжерийни домати, отглеждани при различни нива на напояване

Елена Грънчарова[1]*, Галина Патаманска[1], Георги Костадинов[1], Антоанета Гигова[1], Даниела Митева[2], Илиана Начева[2], Красимир Димов[2]

[1]Институт по почвознание,агротехнологии и защита на растенията „Никола Пушкаров“, 1331 София, България
[2]Институт по криобиология и хранителни технологии, 1407 София, България

Quality of greenhouse tomatoes cultivated under different irrigation levels

Elena Grancharova[1]*, Galina Patamanska[1], Georgi Kostadinov[1], Antoaneta Gigova[1], Daniela Miteva[2], Iliana Nacheva[2], Krasimir Dimov[2]

[1]Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection “Nikola Pushkarov”, 1331 Sofia, Bulgaria
[2]Institute of Cryobiology and Food Technology, 1407 Sofia, Bulgaria
**E-mail: eveha@abv.bg*

Received: 17.04.2018 *Accepted:* 18.10.2018 *Published:* 12.12.2018

РЕЗЮМЕ

В оранжерийното производство на зеленчуци се прилагат големи количества вода за напояване. Една възможност за пестене на водата е използването на т.нар дефицитно напояване. Неговото прилагане е свързано с въпроса как водният дефицит влияе както на добива, така и качеството на продукцията. През 2017 г. е изведен опит по метода на дългите парцелки с домати, отглеждани на канелена горска почва в неотопляема полиетиленова оранжерия на опитно поле Челопечене на Института по почвознание, агротехнологии и защита на растенията „Никола Пушкаров“ - гр. София. Доматите са сорт *Solanum lycopersicum “Big Beef”*, отглеждани при капково напояване и под мулчиращо фолио. В това изследване са анализирани някои показатели на качеството на

SUMMARY

A large volume of irrigation water is used in the greenhouse vegetable cultivation. An opportunity to save water is application of *so-called* deficit irrigation or supplemental irrigation. Its application is related to how water deficit affects yield and quality of production. A long plots design experiment is conducted during 2017 in an unheated plastic greenhouse at the Chelopechene experimental field, Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection “Nikola Pushkarov”, Sofia on tomatoes in Chromic Luvisols.

Tomato variety is *Solanum lycopersicum “Big Beef”* cultivated under drip irrigation and mulching. Some indicators of the quality of the tomato fruits obtained at different levels of irrigation 100 %, 80%,

продукцията от домати, получени при различни нива на напояване: 100 %, 80%, 60 % от оптималната поливна норма, както и поливна норма, определена по евапотранспирация от изпарител. Извършени са физикохимични анализи за определяне на някои качествени показатели на изследвания сорт домати. При статистическата обработка на получените резултати за различните нива на напояване са получени статистически значими разлики между отделните варианти по отношение на показателите витамин С и активна киселинност.

Ключови думи: домати, оранжерия, капково напояване, витамин С

60 % of optimal irrigation rate and evapotranspiration-based irrigation rate were analyzed in this study.

Physicochemical analyzes to determine of some quality indicators of the studied tomato variety were performed. The statistical processing of the results obtained under different levels of irrigation produced statistically significant differences between the variants in terms of vitamin C and active acidity.

Key words: tomato, greenhouse, drip irrigation, vitamin C

УВОД

Добре известно е, че доматите са важна зеленчукова култура за България с висока степен на потребление. Доматите се характеризират с висока хранителна стойност поради съдържащите се в тях антиоксиданти, каротеноиди, ликопен, витамини С и А. От произведените зеленчуци у нас през 2016 г. най-голям е делът на доматите – 141,4 хил. тона, от които 35% са оранжерийни (MAFF, 2017). В оранжерийното производство на зеленчуци се прилагат големи количества вода за напояване и една възможност за пестене на водата е използването на т.нар дефицитно напояване. То допуска известен воден стрес за растенията по време на определени фази от развитието им или по време на целия поливен сезон, без това да повлияе значително върху добивите и качеството на продукцията (Banjaw et al., 2017). При воден стрес количеството на глюкоза, фруктоза, захароза, ябълчна киселина, аскорбинова киселина и лимонена киселина значително се увеличава (Nahar and Gretzmacher, 2002). Намаляването на поливната норма оказва положително влияние върху съдържанието на сухо вещество, редуциращи захари (Shao et al., 2014) и ликопен (Dumas et al., 2003).

Целта на изследването е да се анализират някои показатели на качеството на продукцията от домати, получени при различни нива на напояване.

INTRODUCTION

It is well known that tomato is important vegetable crop cultivated in Bulgaria with high consumption rate. Tomato fruits are rich in antioxidants, carotenoids, lycopene, vitamin C and A and have high nutritional value. A 141.4 thousand tons tomato of which 35% from greenhouses was produced in Bulgaria in 2016. Tomatoes have largest share of vegetables production in Bulgaria (MAFF, 2017). A large volume of irrigation water is used in the greenhouse cultivation and an opportunity to save water is application of so-called deficit irrigation. The deficit irrigation allows some water stress during a certain crop stage or the whole irrigation season without a significant reduction in yield and production quality (Banjaw et al., 2017). Glucose, fructose, sucrose, malic acid, ascorbic acid and citric acid content increased significantly with water stress (Nahar and Gretzmacher, 2002). Decreased level of irrigation exerted beneficial effects to total soluble solid and soluble sugar contents (Shao et al., 2014) and lycopene (Dumas et al., 2003).

The aim of this study was to analyze some indicators of the quality of the tomato production obtained at different levels of irrigation.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експериментът беше проведен през 2017 г. в неотопляема полиетиленова оранжерия на Опитно поле на ИПАЗР „Никола Пушкаров“ в кв. Челопечене (42°73´N, 23°46´E и 550 m надморска височина) в района на гр. София, с домати сорт *Solanum lycopersicum "Big Beef",* отглеждани при капково напояване и под мулчиращо фолио. Климатът е умерено континентален. Почвата е канелена горска, излужена. За 40 cm слой водно-физичните свойства на почвата са ППВ - 21.9 % и обемна плътност – 1.46 g cm^{-3}.

Площта на експеримента в оранжерията е 288 m^2. Проведен е едно-факторен експеримент с експериментален фактор – напояване. Изпитани са четири варианта при различни нива на фактора: (Т1) –оптимално напояване със 100% поливна норма с поддържане на предполивна влажност 90% от ППВ; (Т2) - напояване с 60% от оптималната поливна норма; (Т3) - напояване с 80% от оптималната поливна норма; (Т4) - напояване със 100% поливна норма, определена по изпарител клас А. Схемата на опита е по метода с дълги парцелки в 4 повторения. Големината на опитната парцелка е 18 $m^{.2}$ и се състои от два реда домати. За допълнително намаляване на загубите от вода и подтискане развитието на плевели е използвано черно полиетиленово мулчиращо фолио (+UV 15 mic/1.20 m).

За физикохимичните анализи са използвани по 4 добре узрели, здрави плодове от всеки вариант. Те са хомогенизирани в блендер и са определени: сухото вещество, активна киселинност, титруема киселинност, витамин С и редуциращи захари, съответно чрез влагомерна везна „Kern“; pH-метър „Hanna“; титриметричен метод с 0,1n NaOH; титруване с 2,6-дихлорфенол-индофенол, метод на Мури; метод на Шоорл.

При статистическата обработка на получените резултати, рангът на

MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted in 2017 in unheated plastic greenhouse located in the Chelopechene experimental field of the Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection "Nikola Pushkarov" (42° 44′ 23″ N, 23° 28′ 4″ E and 550 m a.s.l.), Sofia region on drip irrigated tomato (*Solanum lycopersicum "Big Beef")* under mulch. The climate is moderate continental. The soil type is Chromic Luvisol. For the 40-cm deep soil layer the average values are: field capacity - 21.9 % and dry bulk density – 1.46 g cm^{-3}.

The experimental area in the greenhouse was 288 m^2. A one-factor experiment was conducted with an experimental factor – irrigation. The following treatments were tested: (T1) - optimal irrigation in pre-irrigation soil moisture 85-90% of the field capacity; (T2) - 60% of optimal irrigation rate; (T3) - 80% of optimal irrigation rate; (T4) - 100% evapotranspiration-based irrigation rate. The experimental treatments were arranged according to the method with long plots in four replications; each plot has a surface of 18 m^2 and consisted of twin rows. A black plastic mulch (+UV 15 mic/1.20 m) was used to suppress weeds and conserve water.

Four uniform, mature and disease-free fruits at harvest were selected from each plot and used for physicochemical analysis. The fruits were homogenized in a blender, and then the contents of total soluble solids (TSS), active acidity (pH), titratable acidity (TA) reducing sugars (RS), vitamin C (VC), were measured. TSS was determined by a Moisture analyzer "Kern", pH was determined by a pH Meter "Hanna", TA was determined by titrating diluted tomato product to pH 8.00 with 0.1n NaOH, VC was determined by titrating with 2.6-Dichlorophenol-indophenol sodium salt (VC $C_{12}H_6Cl_2NNaO_2$), method of Muri, reducing sugars was determined by method of Schoorl.

In statistical processing of the

доказаност за разликите между отделните варианти е определен чрез сравняване на опитно получената стойност на критерия на Фишер (F_{exp}) с критичната му стойност (F_{crit}). В случаите, когато опитно получената стойност е по-голяма, са налице статистически достоверни разлики между съответните варианти.

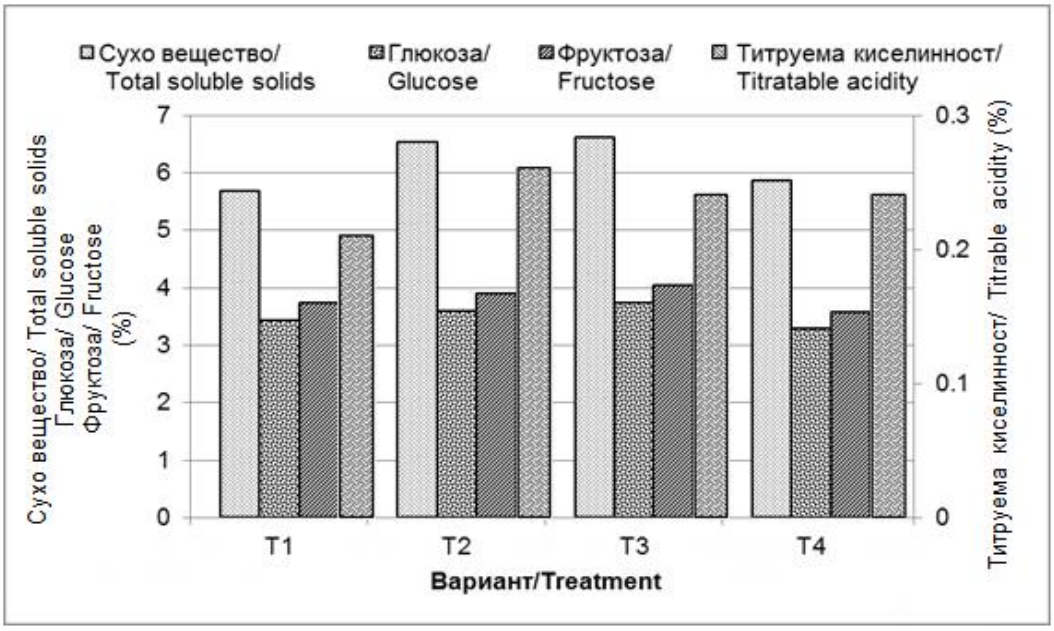
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от анализа на качеството на доматените плодове са представени на Фигура 1 и Фигура 2. Съдържанието на сухо вещество е най-голямо при варианти Т2 и Т3 с редуцирана поливна норма в сравнение с варианта Т1 с 100% поливна норма и вариант Т4 с поливна норма определена по изпарител. Предишни проучвания на други автори показат също, че определени нива на воден стрес могат да подобрят качеството на доматените плодове и да повишат съдържанието на сухо вещество (Du et al., 2017; Mitchell et al., 1991; Sun et al., 2013). Това се дължи главно на увеличения синтез на захароза (Qi et al., 2003).

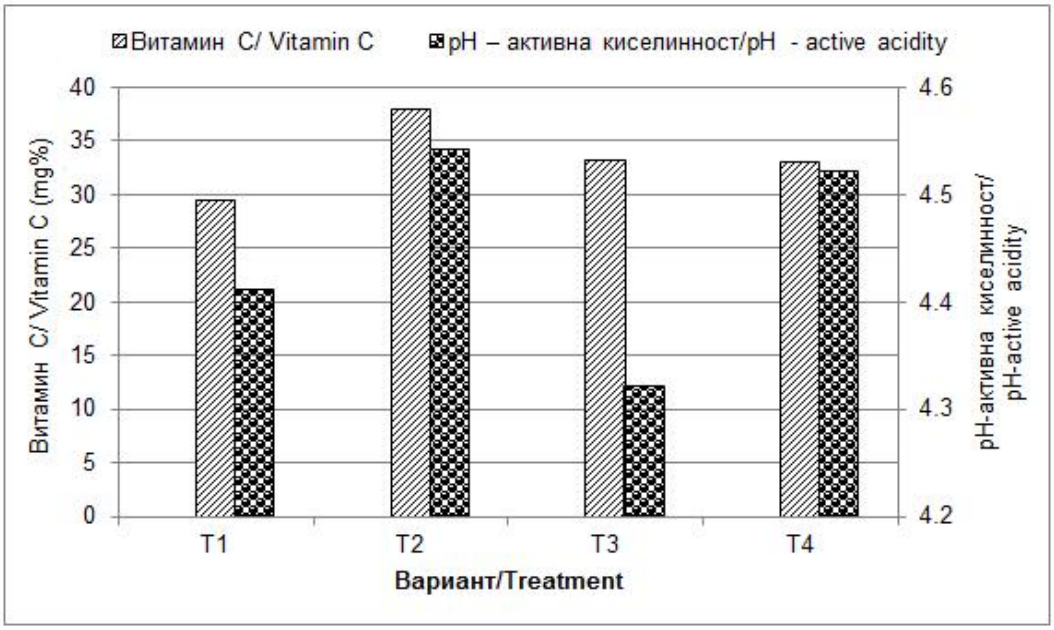
results obtained, the rank of evidence of differences between the different treatments was determined by comparing the experimentally obtained value of the Fisher criterion (F_{exp}) with its critical value (F_{crit}). In case where the experimentally obtained value is higher, there is statistically significant difference between the treatments**.**

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the analysis of fruit quality are presented in Figure. 1 and Figure. 2. Total soluble solids content was higher in treatment T3 and T2 with lover irrigation rate compared to the treatment T1 with 100% irrigation rate and treatment T4 with evapotranspiration-based irrigation rate. Previous studies also reported that a certain level of water stress can improve the tomato fruit quality and increase total soluble solids content (Du et al., 2017; Mitchell et al., 1991; Sun et al., 2013). This is mainly due to the increased synthase of sucrose (Qi et al., 2003).



Фиг. 1. Физикохимични показатели на доматени плодове
Fig. 1. Physicochemical indicators of tomato fruits



Фиг. 2. PH и съдържание на витамин С на доматени плодове
Fig. 2. PH and vitamin C content in tomato fruits

Резултатите от статистическия анализ са представени в Таблица 1 и Таблица 2. Вижда се, че има съществени разлики в показателя сухо вещество между отделните варианти. Този резултат е очакван, тъй като те се реализират при различни нива на напояване. Статистически несъществени разлики се получават единствено между варианти Т1 и Т4 и варианти Т2 и Т3.

От фигурите се вижда, че титруемата киселинност и витамин С са най-високи при вариант Т2 с най-ниска поливна норма и най-ниски - при вариант Т1 с оптимална поливна норма. Същата тенденция е наблюдавана и при предишни проучвания (Veit-Köhler et al., 1991; Yang et al., 2017) и се дължи на по-ниската акумулация на вода в плодовете. По отношение на показателя витамин С са получени по-високи стойности при всички варианти в сравнение с Т1, като при вариант Т2, тази разлика е и статистически доказана (Таблица 1 и Таблица 2). По отношение на показателя титруема киселинност

The results of the statistical analysis are presented in Table 1 and Table 2. Table 1 and Table 2 show that there were significant differences in the Total soluble solids indicator between the different treatments, which is the expected result, since they are implemented at different levels of irrigation. Only between treatment T1 and T4 and between T2 and T3 the differences were not statistically significant.

The figures show that Ttitratable acidity (Figure 1) and Vitamin C (Figure 2) content were higher in treatment T2 with the lowest irrigation rate and least under optimal irrigation (treatment T1). The same trend was reported in previous studies (Veit-Köhler et al., 1991; Yang et al., 2017) due to the lower accumulation of water in the fruits (Mitchell et al., 1991; Guichard et al., 1999). Regarding the vitamin C indicator, higher values were obtained in all treatments compared to T1 and for treatment T2 the difference was also statistically proven (Table 1 and

(Таблица 1 и Таблица 2) са получени по-високи стойности за всички варианти в сравнение с Т1, но разликите са статистически незначителни. Активната киселинност (pH) е най-висока при вариант Т2 (Фигура 2). Такива резултати са получени и при други проучвания (Yang et al., 2017). За показателя активна киселинност (Таблица 1 и Таблица 2) е констатирана статистически значима по-ниска стойност на този показател в сравнение с варианти Т2 и Т4.

Table 2). Regarding to the titratable acidity content (Table 1 and Table 2) higher values were obtained for all treatments compared to T1, but the differences were not statistically significant. Active acidity (pH) was higher in treatment T2 (Figure 2). These results agree with other studies (Yang et al., 2017). Regarding to the active acidity (Table 1 and Table 2) a statistically significant lower value of this indicator was found compared to T2 and T4.

Таблица 1. Сравнителна оценка между всички варианти чрез критерия на Фишер при съответни нива на значимост P=0.05; 0.01 и 0.0 01
Table 1. Comparative assessment between all treatments by Fisher criteria at levels of significance P=0.05; 0.01 and 0.001

Показател / Indicators	Между всички варианти Between all treatments	
	F_{exp}	Rank
Сухо вещество / Total soluble solids	9.90	**
Витамин С / Vitamin C	3.94	*
Титруема киселинност / Titratable acidity	1.55	-
pH – активна киселинност / pH - active acidity	3.34	-
Глюкоза / Glucose	0.35	-
Фруктоза / Fructose	0.33	-

При критични стойности на критерия: F_{crit} = 3.49; 5.95; 10.80 съответно за P=0.05; 0.01 и 0.001
In critical values of the criterion: F_{crit} = 3.49; 5.95; 10.80 for P=0.05; 0.01 и 0.001, respectively

Таблица 2. Сравнителна оценка между вариантите чрез критерия на Фишер при съответни нива на значимост P=0.05; 0.01 и 0.0 01
Table 2. Comparative assessment between treatments by Fisher criteria at levels of significance P=0.05; 0.01 and 0.001

Показател Indicators	Между Т1 и Т2 Between T1 and T2		Между Т1 и Т3 Between T1 and T3		Между Т1 и Т4 Between T1 and T4		Между Т2 и Т3 Between T2 and T3		Между Т2 и Т4 Between T2 and T4		Между Т3 и Т4 Between T3 and T4	
	F_{exp}	R	F_{exp}	R	F_{exp}	R	F_{exp}	R	F_{exp}	R	F_{exp}	R
Сухо вещество Total soluble solids	62.24	***	11.46	*	2.13	-	0.07	-	32.67	**	7.19	*
Витамин С Vitamin C	8.20	*	1.94	-	1.94	-	3.74	-	4.92	-	0.02	-
Титруема киселинност Titratable acidity	3.65	-	2.27	-	3.56	-	0.27	-	0.61	-	0.03	-
pH – активна киселинност pH - active acidity	1.91	-	1.78	-	1.95	-	7.31	*	0.03	-	8.97	*
Глюкоза / Glucose	0.13	-	0.78	-	0.11	-	0.11	-	0.30	-	0.79	-
Фруктоза / Fructose	0.13	-	0.78	-	0.08	-	0.11	-	0.26	-	0.74	-

При критични стойности на критерия: $F_{crit.}$= 5.99; 13.75; 35.51 съответно за P=0.05; 0.01 и 0.001
In critical values of the criterion: $F_{crit.}$= 5.99; 13.75; 35.51 for P=0.05; 0.01 и 0.001, respectively

Съдържанието на глюкоза и фруктоза (Фигура 1) е най-високо при вариант Т3 и най-ниско при вариант Т4. Други проучвания също показват, че при дефицитно напояване се натрупват повече захари (Ripoll et al. 2016). По-високо средно съдържание на редуциращи захари се наблюдава при варианти Т2 и Т3 с редуцирани поливни норми, но разликите не са статистически значими (Таблица 1 и Таблица 2).

Glucose and fructose content (Figure 1) was higher in treatment T3 and least in T4. In other studies also reported that under deficit irrigation more sugars are accumulated. (Ripoll et al. 2016). Higher average reducing sugars content were occurred in treatments T2 and T3 with lower irrigation rates applied but the differences were not statistically significant (Table 1 and Table 2).

ИЗВОДИ

Получените резултати показват, че дефицитното напояване може да повлияе положително върху качеството на плодовете. Най-високите стойности на глюкоза, фруктоза и сухо вещество се наблюдават при напояване с 60 % от оптималната поливна норма, а най-високите стойности на витамин С, титруема киселинност и активна киселинност при напояване с 80 % от оптималната поливна норма.

CONCLUSIONS

The results obtained show that appropriate water deficit can have a positive effect on fruit quality. In present study the highest content of glucose, fructose and total soluble solids were occurred in irrigation with 60% of the optimal irrigation rate and the highest values of vitamin C, titratable acidity and active acidity were occurred in irrigation with 80% of the optimal irrigation rate.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Ripoll, J., L. Urban, Б. Brunel and H. Bertin**, 2016. Water deficit effects on tomato quality depend on fruit developmental stage and genotype. *Journal of Plant Physiology*, 190: 26-35.
2. **Banjaw, D., H. Megersa and D. Lemma**, 2017. Effect of water quality and deficit Irrigation on tomatoes yield and quality: a review. *Advances in Crop Science and Technology*, 5: 29-33.
3. **Du, Y., H. Cao, Sh. Liu, X. Gu and Y. Cao**, 2017. *Journal of Integrative Agriculture,* 16(5), 1153-1161.
4. **Dumas, Y, A. Dadomo, G. Di Lucca and P. Grolier**, 2003. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *J Sci Food Agric,* 83: 369-382.
5. MAFF, 2017. Annual report on the situation and development of agriculture.
6. **Mitchell, J., C. Shennan and S. Grattan**, 1991. Developmental changes in tomato fruit composition in response to water deficit and salinity, *Physiology Plant*, 83: 177-185.
7. **Nahar, K. and R. Gretzmacher**, 2002 Effect of water stress on nutrient uptake,yield and quality of tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) under subtropical conditions. *Die Bodenkultur,* 53: 45-51.
8. **Qi, H., T. Li, J. Zhang, L. Wang and Y. Chen**, 2003. Effects on sucrose metabolism, dry matter distribution and fruit quality of tomato under water deficit. *Journal of Integrative Agriculture*, 11: 1253-1258

9. **Shao, G., M. Wang, N. Liu, M. Yuan and P. Kumar**, 2014. Growth and comprehensive quality index of Tomato under Rain Shelters in Response to Different Irrigation and Drainage Treatments. *The Scientific World Journal,* 1-12.
10. **Sun, Y., K. Hu, Z. Fan, Y Wei, S. Lin and J. Wang**, 2013. Simulating the fate of nitrogen and optimizing water and nitrogen management of greenhouse tomato in North China using the EU-Rotate-N model. *Agricultural Water Management*, 128: 72-84.
11. **Veit−Köhler, U., Ang. Krumbein and H. Kosegarten**, 1999. Effect of different water supply on plant growth and fruit quality of Lycopersicon esculentum. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science,* 162, 583-588.
12. **Yang, H., H. Cao, X. Hao, L.Guo and H. Li, X. Wu**, 2017. Evaluation of tomato fruit quality response to water and nitrogen management International. *Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 10(5), 85-94.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (4), 265-272
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Получаване на биологично активен екстракт от *Ocimum americanum* L. (Лимонов босилек) чрез използване на метод на екстракция при ниска температура с оглед неговото практическо приложение в различни области

Катя Узунджалиева[1]*, Николай Солаков[2], Станислава Статева[1]

[1]Институт по растителни генетични ресурси, бул. „Дружба" №2, 4122 Садово, България
[2]Институт по криобиология и хранителни технологии, бул. "Черни връх"№ 53, 1407 София, България

Obtaining of bioactive extract from *Ocimum americanum* L. using the method of extraction in low temperatures with the view of its practical application

Katya Uzundzhalieva[1]*, Nikolay Solakov[2], Stanislava Stateva[1]

[1]Institute of Plant Genetic Resources, 2 Droujba Blvd., 4122 Sadovo, Bulgaria
[2]Institute of Cryobiology and Food Technologies, 53 Cherni Vrah Blvd., 1407 Sofia, Bulgaria
**E-mail: k_spassova@abv.bg*

Received: 09.05.2018 *Accepted:* 01.10.2018 *Published:* 12.12.2018

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящата разработка е да се получи биологично активен екстракт, съдържащ Евгенол, от сухи листа на *Ocimum americanum* L. (Лимонов босилек), отгледан в Ботаническата градина и част от колекцията от медицински видове на Института по Растителни Генетични Ресурси - Садово. Сухата листна маса е подложена на обработка като е стартиран технологичния ред включващ рехидратация с дестилирана вода, екстракция чрез ензимно смилане на клетъчните стени за максимално запазване на биологично-активните вещества без промяна. Чрез хроматографско изследване е констатирано наличие на пик в областта на времето на излизане на Евгенол. С

SUMMARY

The aim of the current study is to receive bioactive extract, containing Eugenol, from dry leaves of *Ocimum americanum* L., grown in the Botanical garden and part of the Medicinal plants collection of the Institute of Plant Genetic Resources - Sadovo. The dried leaf is processed by starting the process line including rehydrating with distilled water, extracting by enzymatic digestion of the cell walls for maximum preservation of the biologically active substances without change. Chromatographic analysis revealed peak in Evgenol exit time.

This proves that biologically active

това се доказва, че биологично активните вещества са освободени от клетката, без използване на органични разтворители и висока температура. За допълнително доказване на ензимното смилане на растителната клетка е направено микроскопско наблюдение на епидерма от свеж лист на босилек и препарат, приготвен от полученият след ензимното смилане екстракт.

Ключови думи: биологично активен екстракт, Евгенол, Лимонов босилек, *in vitro*, шоково замразяване, ензимна екстракция, лиофилизация

substances are released from the cell without the use of organic solvents and high temperature.

For further proof of the enzymatic digestion of the plant cell, microscopic observation of a fresh basil leaf epidermis and an extract obtained after the enzyme digestion was made.

Key words: bioactive extract, Eugenol, *Ocimum americanum* L., *in vitro*, shock freezing, enzyme extraction, liofilization

УВОД

Босилекът е растение, чиито листа се използват като подправка по целия свят. За негова родина се считат тропиците на Азия и Африка. Твърди се, че първи започват да го използват индийците, но днес той е неделима част от тайландската, италианската, виетнамската и лаоската кухня. Съществуват повече от 60 разновидности на босилека, които се различават на външен вид и вкус. Някои сортове дори предлагат уникални вкусове на лимон, анасон и канела.

*Ocimim americanum (*Syn*. Ocimum canum)* принадлежи към сем. *Lamiaceae*. При него се различават три основни типа– лимонов, камфоров и лютив.

Освен като подправка, босилекът е познат и със своите лечебни свойства. Той е отличен източник на витамините K, A и C, на минерали като желязо, калций, манган, магнезий, калий, както и етеричното масло от листата е богато на Евгенол, който е с изразено силно антимикробно действие (Avetisyan et al., 2017; Amit et al., 2014).

Установено е, че етеричното масло, получено от O. americanum проявява антибактериална активност срещу *Staphylococcus aureus, Streptomyces pyogenes, Escherechia coli and Salmonelld typhosa.* Притежава и силна противогъбична активност (Shadia et al., 2007).

Той има силно противовъзпалително действие и е изключително ефективен в борбата с възпаленията на червата и ревматоидния артрит. Освен това той

INTRODUCTION

Basil is a plant whose leaves are used as a spice around the world. The tropics of Asia and Africa are considered to be its place of origin. It is considered that the Indians first started using it, but today it is an integral part of Thailand, Italian, Vietnamese and Laos cuisine. There are over 60 varieties of basil that differ in appearance and taste. Some varieties even offer unique flavors of lemon, anise and cinnamon.

*Ocimim americanum (*Syn*. Ocimum canum)* belongs to *Lamiaceae*. There the three varieties – lemon, cynamon and mint.

Basil is also known for its healing properties. It is an excellent source of vitamins K, A and C, minerals such as iron, calcium, manganese, magnesium, potassium, and the essential oil of the leaves is rich in Eugenol, which has a strong antimicrobial action (Avetisyan et al., 2017; Amit et al., 2014).

It is established that the essential oil obtained from *O. americanum* exhibits antibacterial activity against *Staphylococcus aureus, Streptomyces pyogenes, Escherechia coli and Salmonelld typhosa.*It also has antifungal activity (Shadia et al., 2007).

It has a strong anti-inflammatory effect and is extremely effective in fighting inflammation of the gut and rheumatoid arthritis. In addition, it contains flavonoids

съдържа флавоноиди, които осигуряват защита на клетъчно ниво и срещу нежелано бактериално развитие (Benedec et al., 2012).

Чаят от босилек е полезен след хранене, защото успокоява раздразнения стомах, помага при диария, язва, инфекции на пикочните пътища и дори анорексия. Маслото от босилек често се използва, за да отблъсне мухите и комарите. Освен това то убива техните ларви.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията са направени на сухи листа от *O. americanum*, отгледан при оранжерийни условия в ИРГР - Садово. Листната маса е предварително изсушена при стайна температура. Сухият растителен материал е смесен с дестилирана вода в съотношение 1:10 (20g листна маса: 200ml дестилирана вода). Към разтворът е добавена 1% лимонена киселина и следните ензими: DeniLight (Лаказа), Lipopan (Липаза), Fungamyl 4000 SG (Алфа амилаза), Celluclast 1,5 L (Целулаза) в количество 0,5 g всеки, с цел разграждане на клетъчните стени. Процесът продължава 72h при стайна температура. Половината от получеият разтвор беше отделен за определяне на микробиална активност. Останалата част от разтвора беше центрофугиран със скорост 10 000 об./min. при t 7° C. В така получеият разтвор растителната маса следва да бъде с разрушени клетъчни стени и освободени биологично активни вещества в него.

След центрофугирането беше направена филтрация на супернатанта, която беше подложена на хроматографски анализ. Първата филтрация беше направена през нетъкан текстил, втората филтрация – през филтърна хартия с големина на порите 100 µ и трета филтрация през филтърна хартия с големина на порите 40 µ. Накрая беше направена Картридж филтрация при която големината на порите е 0,45 µ.

Направен беше хроматографски анализ при следните условия: апарат HP Agilent 1260 Infinity Quaternary LC, DAD [λ=270 nm], RP-C18 [250 mm], исократен

that provide protection at the cellular level and against unwanted bacterial development (Benedec et al., 2012).

Basil tea is useful after eating because it soothes irritated stomach, helps with diarrhea, ulcer, urinary tract infections and even anorexia. Basil oil is often used to repel flies and mosquitoes. It also kills their larvae.

MATERIAL AND METHODS

The investigations were conducted on dry leaves of *O. americanum*, grown under greenhouse conditions in IPGR - Sadovo. The foliage is pre-dried at room temperature. The dry plant material is mixed with 1:10 distilled water (20 g leaf weight: 200 ml distilled water). To the solution are added 1% citric acid and the following enzymes: DeniLight (Lipase), Lipopan (Lipase), Fungamyl 4000 SG (Alpha Amylase), Celluclast 1.5 L (Cellulose) at 0.5 g each to degrade the cell walls. The process was continued for 72 hours at room temperature. Half of the resulting solution was separated to determine microbial activity. The remainder of the solution was centrifuged at 10,000 rpm. at 7ºC. In the solution thus obtained, the plant mass should be with destroyed cell walls and released biologically active substances therein.

After centrifugation, the supernatant was filtered off and subjected to chromatographic analysis. The first filtration was done through nonwoven fabric, the second filtration was through a 100 µ filter pore paper and a third filtration through a 40 µ pore filter paper. Finally, a Cartridge filtration was made in which the pore size was 0.45 m.

Chromatographic analysis was performed under the following conditions: HP Agilent 1260 Infinity Quaternary LC Apparatus, DAD [λ = 270 nm], RP-C18

режим и течна фаза със състав 1% Оцетна киселина (H_2O) : MeOH [70:30].

За доказване на разграждането на клетъчната стена е направено микроскопско наблюдение на микроскоп Олимпус, при общо увеличение X40 на епидерма от свеж лист и препарат от получения разтвор след ензимното смилане.

[250 mm], and a 1% Acetic Acid (H2O): MeOH [70:30].

To prove the degradation of the cell wall, microscopic observation was made, using of Olympos microscope, at a total X40 magnification of a fresh leaf epidermis and a preparation of the resulting solution after enzymatic digestion.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

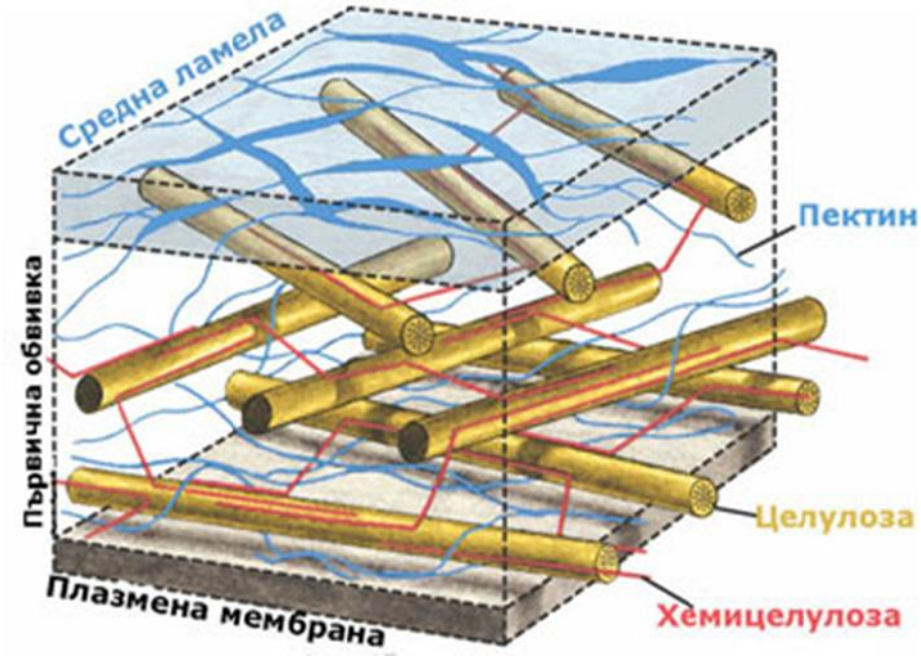
Приложената методика доказа възможността обвивката на растителната клетка да бъде разрушена без използване на органични разтворители и висока температура. Това става благодарение на използваните ензими DeniLight (Лаказа), Lipopan (Липаза), Fungamyl 4000 SG (Алфа амилаза), Celluclast 1,5 L (Целулаза).

Клетъчната стена на растителната клетка е изградена от целулозни микрофибрили потопени в силно хидратиран матрикс от хемицелулози, пектинови вещества и малки количества гликопротеини и липиди (Фигура 1) http://www.mylessons.net/index.php/lectures-bg/13-cell-bg?showall=&start=15.

RESULTS AND DISCUSSION

The applied methodology proved the possibility of the plant cell shell being destroyed without the use of organic solvents and high temperature. This is due to the enzymes DeniLight (Lipase), Lipopan (Lipase), Fungamyl 4000 SG (Alpha Amylase), Celluclast 1.5 L (Cellulose).

The wall of the plant cell is made up of cellulose microfibrils immersed in a highly hydrated matrix of hemicelluloses, pectin substances and small amounts of glycoproteins and lipids (Figure 1) (http://www.mylessons.net/index.php/lectures-bg/13-cell-bg?showall=&start=15).



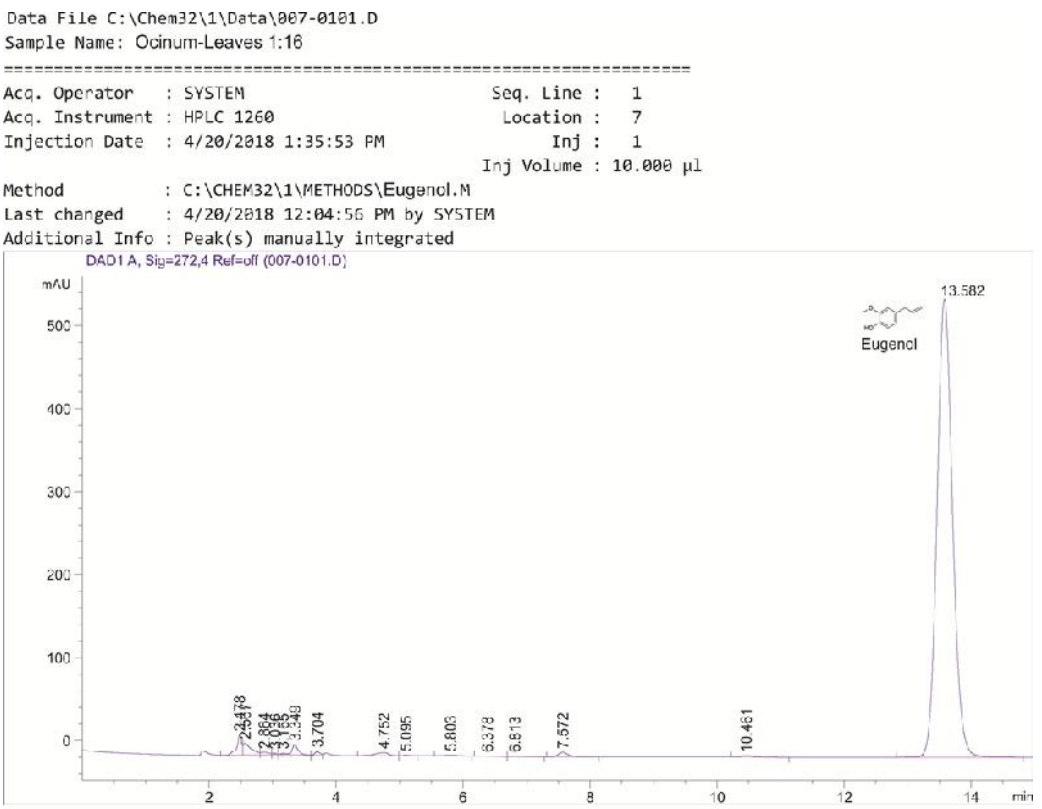
Фиг. 1. Устройство на клетъчна стена
Fig. 1. Structure of the cell wall

Целулозата е основният компонент на клетъчната обвивка на растителните клетки и е най-разпространеният структурен полизахарид в растителния свят. Тя е изградена от свързани помежду си, повтарящи се гликозни мономери. Характеризира се с изключителна механична и химична устойчивост. Неразтворима е във вода, слаби киселини и основи и обикновени органични разтворители. Матриксът на клетъчната стена е изграден от хемицелулози, пектинови вещества и гликопротеини. Хемицелулозите са полизахариди с дълги, неразклонени вериги, изградени основно от ксилоза и маноза и малки количества арабиноза и галактоза. Химичният им състав варира силно, както при различните типове клетки, така и сред различните таксономични групи. Те ограничават еластичността на клетъчната стена, като се свързват посредством водородни връзки с целулозните микрофибрили и фиксират позициите им една спрямо друга. Пектините са калциеви и магнезиеви соли на галактуроновата киселина и арабинозата. Те имат силно разклонени молекули, без определена пространствена ориентация. Пектините изграждат изцяло средната ламела, която свързва съседните клетки и се съдържат в големи количества в първичната клетъчна обвивка (до 65%). Те са силно хигроскопични полизахариди и имат способността да поглъщат и задържат значителни количества вода. Гликопротеините са или структурни протеини или ензими. Най-добре познати от структурните гликопротеини са екстензините, които заздравяват клетъчната стена и намаляват разширяването и еластичността и (Terziyski et al., 1998).

Хроматографският анализ на супернатантата показа наличие на пик в областта на времето на детектиране на Евгенол, с което се доказва, че клетъчната стена е разрушена и биологично активните вещества от клетката са преминали във водният разтвор, без използване на органични разтворители и висока температура (Фигура 2).

Cellulose is the main component of the plant cell wall and is the most common structural polysaccharide in the plant world. It is made up of interconnected, repeating glycosylation monomers. It possesses good mechanical and chemical resistance. It is insoluble in water, weak acids and bases, and simple organic solvents. The cell wall matrix is composed of hemicelluloses, pectin substances and glycoproteins. Hemicelluloses are long, unbranched chain polysaccharides, mainly made of xylose and mannose, and small amounts of arabinose and galactose. Their chemical composition varies greatly between cell types and among taxonomic groups. They restrict cell wall elasticity by binding hydrogen bonds to cellulose microfibrils and fixing their positions relative to each other. Pectins are calcium and magnesium salts of galacturonic acid and arabinose. They have highly branched molecules with no definite spatial orientation. Pectins form the entire middle lamella that binds neighboring cells and is contained in large quantities in the primary cell envelope (up to 65%). They are highly hygroscopic polysaccharides and have the ability to swallow and retain significant amounts of water. Glycoproteins are either structural proteins or enzymes. The most well-known structural structurally glycoproteins are the extensions which heal the cell wall and reduce its expansion and elasticity (Terziyski et al., 1998).

The chromatographic analysis of the supernatant showed a peak in the area of Eugenol detection time, demonstrating that the cell wall was destroyed and the biologically active substances from the cell were transferred to the aqueous solution without the use of organic solvents and high temperature (Figure 2)



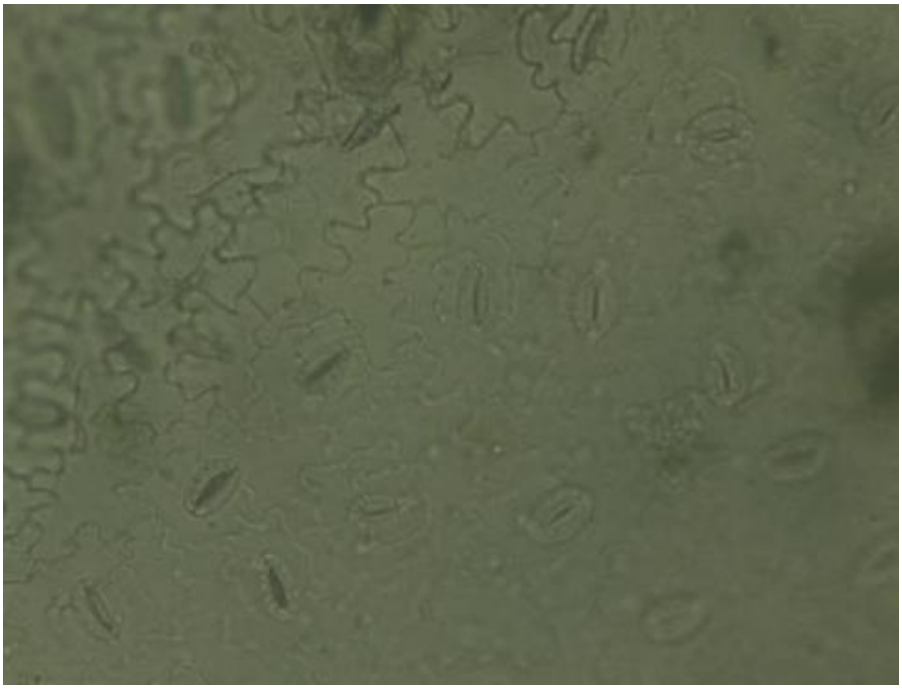
Фиг. 2. Хроматографски анализ за качествено определяне на наличието на Евгенол

Fig. 2. Chromatographical analysis for quality determination of presence of Eugenol

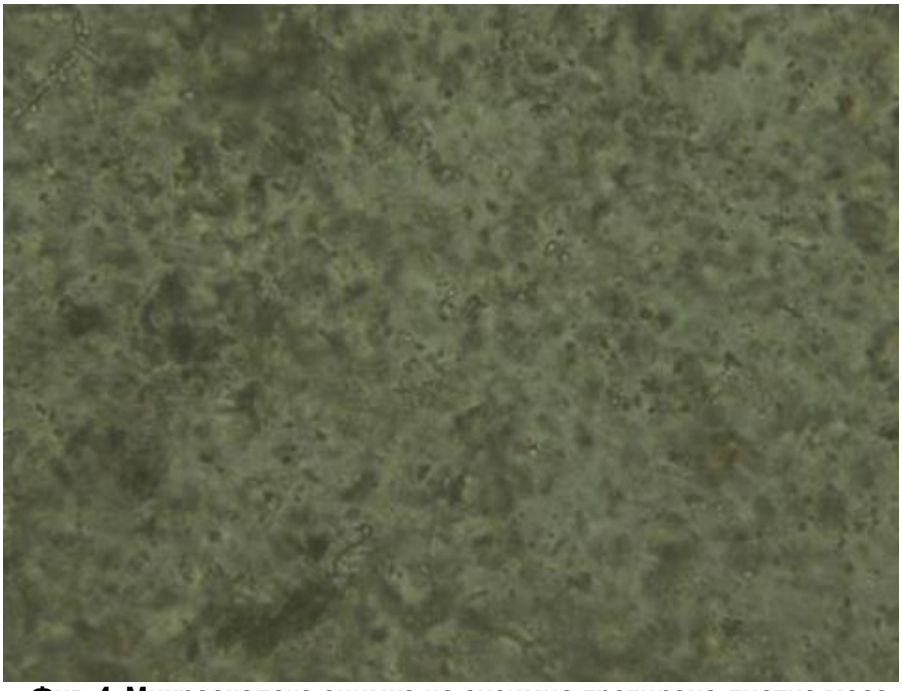
Допълнително доказателство за разрушаването на клетъчната стена на растителните клетки е наблюдението, направено под микроскоп (Фигура 3 и 4). На Фигура 3 се виждат ясно обособени епидермални клетки на *O. americanum*. На Фигура 4 е показано наличие на фрагменти, получени вследствие ензимното разграждане на клетъчната стена. Наблюдават се фрагменти от различен характер, което показва наличие на вътреклетъчни елементи и части от клетъчната стена.

Further evidence of the destruction of plant cells wall is the observation done under the microscope (Figures 3 and 4). Figure 3 shows clearly distinct epidermal cells of *O. americanum.*

Figure 4 shows the presence of fragments resulting from enzymatic cell wall degradation. Fragments of a different nature are observed, indicating the presence of intracellular elements and parts of the cell wall.



Фиг. 3. Микроскопска снимка на клетки на *O. americanum*
Fig. 3. *O. americanum* cells



Фиг. 4. Микроскопска снимка на ензимно третирана листна маса на *O. americanum*
Fig. 4. *O. americanum* leaf mass after enzyme treatment

ИЗВОДИ

Проведеното изследване доказва, че обвивката на растителната клетка може да бъде разрушена без използване на органични разтворители и висока температура.

Този метод е приложим за всички видове биологична материя, от която се цели получаване на завършен екстракт със запазено максимално количество на биологично активни компоненти, непроменени по време на обработката. Това се постига само чрез цели подбор на условията, както и на видовете използвани в процеса ензими, така че да се копират максимално естествените процеси, протичащи в природата.

Този експеримент доказва, че директното третиране с ензими осигурява освобождаване на наличните вещества, намиращи се вътре в клетката и в слоевете от клетъчната стена. По този начин се получава високоефективен биологично активен екстракт от изходната суровина, като за обработката е използвано единствено вода, лимонена киселина и целеви ензими. Това е междинна суровина, която може да бъде използвана директно за влагане в производство на краен биологично активен натурален продукт.

CONCLUSIONS

The study shows that the plant cell wall can be destroyed without the use of organic solvents and high temperature.

This method is applicable to all types of biological matter from which it is intended to obtain a finished extract with a preserved maximum amount of biologically active components unchanged during processing. This is only achieved by selecting the conditions as well as the types of enzymes used in the process so as to maximize the natural processes taking place in nature.

This experiment demonstrates that direct enzyme treatment provides for the release of the substances present inside the cell and in the cell wall layers. In this way a highly effective biologically active extract of the feedstock is obtained, only water, citric acid and target enzymes being used for the treatment. It is an intermediate feedstock that can be used directly for incorporation in the production of a finite biologically active natural product.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Amit, J., A.K. Pathak and M. Tailang**, 2014. Analytical method development for determination of eugenol concentrations in selected species of Ocimum. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(10), 1358-1368.
2. **Avetisyan, A., A. Markosian, M. Petrosyan, N. Sahakyan, A. Babayan, S. Aloyan and A. Trchounian**, 2017. Chemical composition and some biologicalactivities of the essential oils from basil Ocimum different cultivars. Avetisyan et al. BMC Complementary and Alternative Medicine (2017) 17:60.
3. **Benedec, D., L. Vlase, D. Hanganu and I. Oniga**, 2012. Antioxidant potential and polyphenolic content of Romanian Ocimum basilicum. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures,* 7(3), July - September, 1263-1270.
4. **Shadia, E., Abd El-Aziz, Elsayed A. Omer and Aly S. Sabra**, 2007. Chemical Composition of Ocimum americanum Essential Oil and Its Biological Effects Against, Agrotis ipsilon, (Lepidoptera: Noctuidae). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3(6), 740-747.
5. **Terziyski, D, M. Popova and I. Cheshmedjiev**, 1998. Anatomy and morphology of plants (Bg).
6. http://www.mylessons.net/index.php/lectures-bg/13-cell-bg?showall=&start=15

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (4), 273-279
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Регенерация на експланти от вида *Calendula officinalis* L.

Станислава Статева

Институт по растителни генетични ресурси, бул. „Дружба" №2, 4122 Садово, България

Regeneration of explants of the species *Calendula officinalis* L.

Stanislava Stateva

Institute of Plant Genetic Resources, 2 Droujba Blvd., 4122 Sadovo, Bulgaria
E-mail: stanislava.stateva@gmail.com

Received: 08.05.2018 *Accepted:* 24.11.2018 *Published:* 12.12.2018

РЕЗЮМЕ

Проучена е възможността за създаване на ефективна система за регенерация на експланти от лист при вида *Calendula officinalis* L. чрез изпитване на четири типа модифицирани хранителни среди G1 - *QL* с добавен 1.0 mg/l TDZ, 0.05 mg/L IBA и 0.03 mg/l GA), G2 (*MS* с добавен 1.0 mg/l *BAP*, 0.05 mg/l IBA и 0.03 mg/l GA), G3 (*QL* с добавен 1.0 BAP mg/l, 0.05 mg/L IBA и 0.03 mg/l GA) и G4 (*MS* с добавен 1.0 mg/l TDZ, 0.05 mg/L *IBA* и 0.03 mg/l GA. За проучване на регенерационната способност са използвани листа от цялата част на растението. Те са наранени на 2-3 места, напречно на централния нерв. Най-голям брой регенерирали листни експланти с по един регенерант се наблюдава във вариант G4 с $\bar{X}$ =0.8 броя. При вида *Calendula officinalis* L. е наблюдавана регенерация от листен експлант с максимум 5 получени експланта от 1 заложен лист в модифицираната хранителна среда *Murashige & Skoog* с добавени хормони 1.0 mg/l *TDZ*, 0.05 mg/l *IBA* и 0.03 mg/l *GA.*

Ключови думи: *in vitro*, медицински вид, ауксини, цитокинни, регенерация, *Calendula officinalis* L.

SUMMARY

We have explored the possibility of creating an effective *Calendula officinalis* L. leaf explants regeneration system by testing four types of modified G1 - QL culture media with 1.0 mg/l TDZ added, 0.05 mg/L IBA and 0.03 mg/l GA), G2 (MS with 1.0 mg/l BAP, 0.05 mg/l IBA and 0.03 mg/l GA), G3 (QL with 1.0 BAP mg/l, 0.05 mg/L IBA and 0.03 mg/G4 (MS with 1.0 mg/l TDZ added, 0.05 mg/L IBA and 0.03 mg/l GA. For the regeneration study, leaves are used from the entire plant part. They are injured at 2-3 sites across the central nerve. The largest number of regenerated leaf explants with one regenerant was observed in variant G4 $\bar{X}$ = 0.8 number. In the case of *Calendula officinalis* L., foliar explant regeneration with a maximum of 5 obtained explants of 1 layered leaf in modified *Murashige & Skoog* broth with added hormones 1.0 mg/l TDZ, 0.05 mg/l IBA and 0.03 mg/l GA was observed.

Key words: *in vitro*, medical species, auxins, cytokines, regeneration, *Calendula officinalis* L.

УВОД

Видът *Calendula officinalis* L. е едногодишно, тревисто растение от семейство Asteraceae. Отглежда се като декоративно растение в цяла Европа (Evstatieva, 2001; Atanasova and Nedkov 2004). Екстрактът от невен има антивирусно и противовъзпалително свойство (Jimenez et al., 2006). Метаноловият и етанолов екстракт от вида дават добри противогъбични резултати (Efstratiou et a.l, 2012). Препаратите от невен се използват при мъчно заздравяващи рани, при заболявания на дихателните пътища. В народната медицина невенът има широка употреба – от използването му за чай до приготвяне на кремове за кожни проблеми (Isaev, 1977).

Прилагане на *in vitro* методите при *C. officinalis* дава възможност за проучване реакцията на вида в контролирани условия. Авторът Victorio (2008) е установил, че хранителната среда *Murashige & Skoog* (1962) без добавени хормони затруднява максималното развитие на вида. Взаимодействието между ауксините и цитокините и използването на точната концентрация спрямо изискванията на растителните видове е от важно значение за растежа и диференциацията на растителните клетки (Turk et al., 1994; Durkovic, 2003; Kyozuka, 2007). Авторите Sriskandarajah et al., (1990) изследват разликата във възрастта на листата и установяват, че младите листа са податливи към образуване на калус. Проучено е, че с най-добра регенерационна способност се отличават 4 до 7 лист от експлантите (Welander et al., 1992).

При медицинския вид *Plantago major* L. се наблюдава регенерация след петата седмица от залагане на опита върху хранителна среда MS с добавени 0.2 mg/l indole-3–acetic acid (IAA) и 1.0 mg/l TDZ. Получените експланти по-късно са били адаптирани към околната среда (Li, 2005).

Целта на настоящия опит е възможността за проучване на регенерационният потенциал на *in vitro* експланти от *Calendula officinalis* L. чрез проучване на четири вида модифицирани хранителни среди.

INTRODUCTION

The species *Calendula officinalis* L. is an annual herbaceous plant of the Asteraceae family. It is grown as a decorative plant throughout Europe (Evstatieva, 2001; Atanasova and Nedkov 2004). The marigold extract has an antiviral and anti-inflammatory property (Jimenez et al., 2006). Methanol and ethanol extract of the species give good antifungal results (Efstratiou et al., 2012). Calendula preparations are used in severe healing wounds, in respiratory diseases. In folk medicine marigold is widely used – from its use for tea to making creams for skin problems (Isaev, 1977).

Application of the *in vitro* methods of C. officinalis allows for the study of the species reaction under controlled conditions. Author Victorio (2008) found that Murashige & Skoog (1962) without added hormones impeded the development of the species. The interaction between axins and cytokines and the use of the exact concentration to the requirements of the plant species is important for the growth and differentiation of plant cells (Turk et al., 1994; Durkovic, 2003; Kyozuka, 2007). The authors Sriskandarajah et al., (1990) investigated the difference in leaf age and found that the young leaves were prone to callus formation. It has been investigated that 4 to 7 leaves of explants have the best regenerative capacity (Welander et al., 1992).

For *Plantago major* L., post-5 weeks recovery from MS assay with added indole-3-acetic acid (IAA) and 1.0 mg/l TDZ was observed. The resulting explants were later adapted to the environment (Li, 2005).

The aim of the present experiment is to study the regenerative potential *of in vitro* explants *of Calendula officinalis* L. by studying four types of modified nutrient media.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За проучване на регенерационната способност *in vitro* отглеждани растения от *C. officinalis* са използвани листни експланти, развиващи се на основна хранителна среда MS, без включени растежни регулатори. Използвани са листа от цялата част на растението. Те са наранени на 2-3 места, напречно на централния нерв, и заложени с са поставени с адаксиларната си повърхност към хранителната среда.

В експеримента са включени четири броя хранителни среди, разработени в зависимост от целта на изследването от доц. д-р Виолета Кондакова (Таблица 1). Добавянето на цитокинина TDZ се извърши след автоклавиране на хранителната среда в ламинар–бокс.

MATERIAL AND METHODS

To examine the regeneration capacity of *in vitro* grown plants of *C. officinalis*, leaf explants developed on MS basic media without growth regulators included. The leaves are used throughout the plant. They are injured at 2-3 sites, across the central nerve, and laid down with their adapaxary surface to the nutrient medium.

The experiment included four nutrient media developed according to the purpose of the study by Assoc. Prof. Dr. Violeta Kondakova (Table 1). The addition of the TDZ cytokinin was performed after autoclaving of the culture medium in laminar box.

Таблица 1. Хранителни среди за адвентивен органогенез
Table 1. Nutritional media for adventitious organogenesis

Среда	Основна хранителна среда	Вид и количество на растежните регулатори		
G1	Quorin & Lepoivre (1977)	TDZ 1mg/l	IBA 0.05 mg/l	GA 0.03 mg/l
G2	Murashige & Skoog (1962)	BAP 1 mg/l	IBA 0.05 mg/l	GA 0.03 mg/l
G3	Quorin & Lepoivre (1977)	BAP 1 mg/l	IBA 0.05 mg/l	GA 0.03 mg/l
G4	Murashige & Skoog (1962)	TDZ 1mg/l	IBA 0.05 mg/l	GA 0.03 mg/l

Експлантите са поставени в петриеви блюда, след което са затворени с безцветно залепващо фолио за предпазване от инфекция. Всяко петриево блюдо съдържа 10 ml хранителна среда.

Хранителните среди, използвани за регенерация, съдържат 30 g/l захароза, 7 g/l агар и 5.6 pH. Така приготвените среди се съхраняват в хладни и тъмни помещения до 30 дни преди тяхното използване.

Отглеждането на експлантите в етапите на изпитване се осъществи в камера с температурен режим 24±2°C и фотопериод 16 часа светлина и 8 часа тъмнина с осветление 3000 lx.

Отчетените показатели са брой регенерирали експланти и получени регенеранти от един експлант.

The explants are placed in petri dishes and then closed with a colorless adhesive foil to prevent infection. Each petri dish contains 10 ml of culture medium.

The nutrient media used for regeneration contained 30 g/l sucrose, 7 g/l agar and 5.6 pH. The prepared media are stored in cool and dark rooms for up to 30 days prior to use.

Exploitation of the explants in the test steps was carried out in a chamber with a temperature of 24 ± 2°C and a photoperiod of 16 hours of light and 8 hours of darkness with 3000 lx of light.

The reported ratios are the number of regenerated explants and regenerants obtained from one explant.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Разработването на система за регенерация се определя от изискването на генотипа на вида. Факторите, които оказват влияние върху регенерационният потенциал са различни: генотип на експланта, състав на хранителните среди.

От направените визуални наблюдения регенерация от листни сегменти в хранителните среди G1 и G2 се отчита след 20-я ден от залагането на опита. Регенерацията е свързана и с индуциране на калус с бял цвят. Калусните тъкани са разположени по повърхността на експланта. Във варианти G3 и G4 регерации от листни сегменти се отчита след 23 ден от залагане на опита.

Във вариант G1 се откроява с 1 и 2 получени регенеранти на 22 ден от залагане на опита. Сравнявайки ефекта на различни цитокининови и ауксинови добавки се установи, че комбинацията от TDZ и IBA (с добавка от GA 0.03 mg/l) оказва стимулиращ ефект върху регенерацията. Във вариант G1 се наблюдава максимум регенериранти от листен експлант с по 1 брой със $\bar{X}$ =0.3 броя. Тези получени резултати са най-добри за проученият вариант.

Хранителна среда G2 се различава от G1 по получени резултати. Регенерацинният процес се наблюдава след 25 ден от залагане на опита с образуване на калус с бял цвят. Динамиката на регенерация от листни експланти варира с един до четири броя в модифицираните хранителни среди. На 35 ден от залагане на опита се наблюдават $\bar{X}$ =0.6 броя листни експланти с по 2 броя образувани регенеранти, които са много жизнени и нарастват бързо (Фигура 1). Отчита се 20% от заложените микрорастения са с по 4 образували се регенеранта от лист. Причината за тези получени резултати се дължи на основната хранителна среда MS с добавени BAP 1 mg/l, IBA 0.05 mg/l GA 0.03 mg/l, които дават възможност за максимално реализиране на вида.

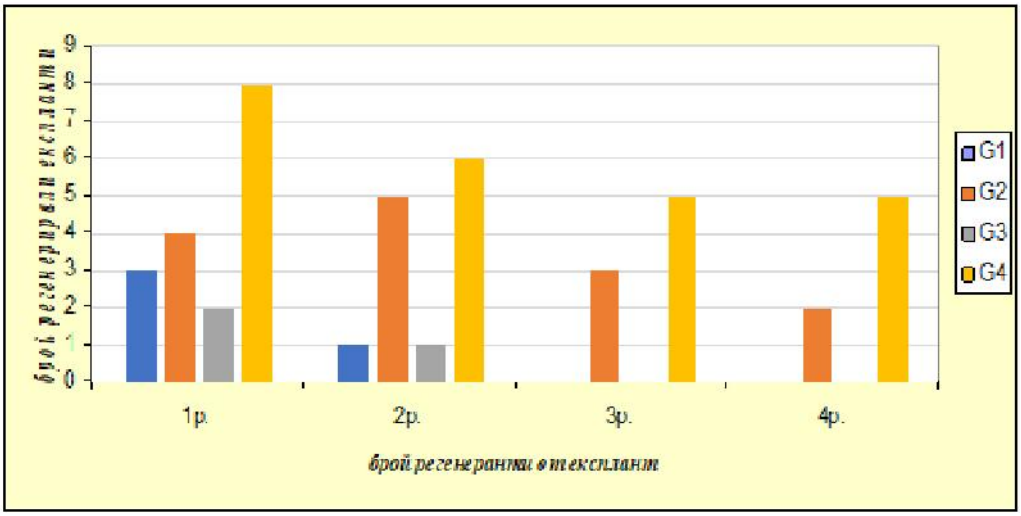
RESULTS AND DISCUSSION

The development of a regeneration system is determined by the genotype requirement of the species. The factors that affect the regeneration potential are different: the explant genotype, the composition of the nutrient media.

Visual observations of leaf segment regeneration in nutrient media G1 and G2 were recorded after the 20th day of the trial. Regeneration is also associated with callus induction with white color. Callus tissues are located on the surface of the explant. In G3 and G4 variants leaf segment segments are counted after 23 days of betting of the test.

In variant G1 stands out with 1 and 2 received regenerators on the 22nd day of betting of the trial. By comparing the effect of different cytokinin and auxin supplements, it was found that the combination of TDZ and IBA (with the addition of GA 0.03 mg / l) had a regenerative stimulating effect. In variant G1, maximum recurrences of leaf explant of 1 number with $\bar{X}$ = 0.3 were observed. These results are best for the study.

The G2 nutrient medium differs from G1 on the results obtained. The regeneration process was observed after 25 days of experimentation with white callus formation. The regeneration dynamics of leaf explants ranged from one to four in the modified nutrient media. On the 35th day of experimentation, $\bar{X}$ = 0.6 follicular explants with 2 regenerants formed, which are very viable and rising rapidly, are observed (Figure 1). From 20% of the deposited micro-plants are recorded with 4 regenerated leaves per sheet. The reason for these results is due to the MS main nutrient medium with added BAP 1 mg/l, IBA 0.05 mg/l GA 0.03 mg/l, which allow for maximum realization of the species.



Фиг. 1. Регенерация при *Calendula officinalis* L. в модифицирана хранителна среда G1, G2, G3 и G4 с получени 1, 2 , 3 и 4 регенеранта от заложен лист
Fig. 1. Regeneration in Calendula officinalis L. in modified broth G1, G2, G3 and G4 with 1, 2, 3 and 4 leaf regeneration

В получените данни се наблюдават по-ниски стойности на регенерацията във вариант G3. На 23 ден от залагане на опита се отчитат най-малко новообразували регенеранти $\bar{X}$ =0.6 броя листни експланти с по 1 регенерант. Образувалият се калус е с бял цвят със средна плътност. При повече от половината заложени листни сегменти в среда G3 не се наблюдава регенерационен процес при вида *C. officinalis*. Получените резултати са вероятно повлияни от основната хранителна среда QL.

Добра реализация на вида *C. officinalis* се отчита в хранителната среда G4 където се наблюдава образуване до 4 регенеранта от заложен листен експлант. Появата на първите регенеранти след изолиране на листните експланти се наблюдава 20-25 дни след началото на култивирането върху регенерационната среда. Получени регенерирали листни експланти с по един регенерант се наблюдава във вариант G4 с $\bar{X}$ =0.8 броя. Получените резултати вероятно се дължат на въз-

In the obtained data, lower values of the regeneration in variant G3 were observed. On day 23 of the assay, at least new regenerants $\bar{X}$ = 0.6 follicular explants with 1 regenerant were counted. The callus is white in color with average density. More than half of the foliar segments in G3 medium did not show a regeneration process in the species *C. officinalis*. The results obtained are likely influenced by the QL core nutrient medium.

A good realization of the *C. officinalis* species was recorded in the G4 medium where formation of up to 4 regenerants from the embedded leaf explant was observed. The appearance of the first regenerants after isolating the leaf explants was observed 20-25 days after the onset of cultivation on the regeneration medium. Regenerated leaf explants obtained with one regenerant were observed in variant G4 $\bar{X}$ = 0.8.

The results obtained are probably due to

действието на комбинацията от хормони TDZ 1mg/l, IBA 0.05 mg/l и GA 0.03 mg/l в хранителна среда MS. Идентични резултати с образуване на три и четири регенеранта от един заложен листен сегмент се наблюдава в G4 с $\bar{X}$ =0.5 броя. Вариант G4 се отличава с 70% регенерирали листни експланти, най-добрите резултати получени за целият период на опита. Благоприятното влияние на хранителната среда *Murashige & Skoog* (1962) съчетано с оптимална концентрация от растителни хормони дава възможност на вида да релизира максимален брой регенеранти. Това е вероятността причината за голям брой регенеранти – 4 броя от един експлант.

От извършените наблюдения на вида *Calendula officinalis* L. се наблюдава много добра реганеративна способност (Фигура 2). Регенерационният отговор на вида *C. officinalis* е с най-добри резултати в модифицираните хранителни среди G2 и G4. Прилагането на основната хранителна среда QL води до слаба проява на регенерационния потенциал на изследване на вида.

the combination of hormones TDZ 1mg/l, IBA 0.05mg/l and GA 0.03mg/l in MS medium. Identical results of formation of three and four regenerants from one set leaf segment were observed in G4 $\bar{X}$ =0.5. Variant G4 is distinguished by 70% regenerated follicular explants, the best results obtained for the entire trial period.

The beneficial influence of *Murashige & Skoog* (1962), combined with an optimal concentration of plant hormones, enables the species to regenerate the maximum number of regenerants. This is the probability of causing a large number of regenerators – 4 pieces of one explant.

Observations of the species *Calendula officinalis* L. show very good rearing ability (Figure 2). The regenerative response of *C. officinalis* has the best results in the modified nutrient media G2 and G4. The application of the primary nutrient medium QL leads to a low occurrence of the regenerative potential of the species.

Фиг. 2. Регенерация при *Calendula officinalis* L. от листен сегмент в хр. среда G4
Fig. 2. Regeneration from *Calendula officinalis* L. leaf segment in G4 medium

ИЗВОДИ

1. Проучено е влиянието на различни хранителни среди и растежни регулатори върху регенеративната способност на *Calendula officinalis* L. на *in vitro* ниво, използвайки листни сегменти. Регенерационният отговор на експлантите е с удовлетворителна регенеративна способност.
2. При вида *Calendula officinalis* L. е отчетена 70% регенерация от листен

CONCLUSIONS

1. The impact of various nutrient media and growth regulators on the regenerative ability of *Calendula officinalis* L. at an in vitro level using leafy segments was studied. The regeneration response of explants has satisfactory regenerative ability.

2. In the case of *Calendula officinalis* L., 70% foliar explant regeneration was

експлант при изпитване на основната хранителна среда – Murashige & Skoog с добавка на 1 mg/l TDZ +0.05 mg/l IBA +0.03 mg/l GA.

observed in the Murashige & Skoog primary broth, supplemented with 1 mg/l TDZ +0.05 mg/l IBA +0.03 mg/l GA.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Atanasova, M. and N. Nedkov**, 2004. Essential oil and medicinal crops, Sofia, pp. 287 (Bg)
2. **Durkovic, J.**, 2003. Regeneration of *Acer caudatifolium Hayata* plantlets from juvenile explants. *Cell Biology and Morphogenesis*, 21(11), 1060-1064.
3. **Efstratiou, E., Hussain, Nigam, Moore, Ayub and Rao**, 2012. Antimicrobial activity of Calendula officinalis petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complement Ther Clin Pract.*, 18(3), 173-176.
4. **Evstatieva, L.**, 2001. Cultivation of medicinal plants: Pirin tea, painting brochure, marigold, echinacea, sage, pp. 76 (Bg).
5. **Isaev, I., I. Lancev and G. Neshev**, 1977. The Herbs in Bulgaria and Their Use, III ed, Sofia, Zemizdat (Bg).
6. **Jimenez-Medina, E, Garcia-Lora, Paco Algarra and Collado Garrido**, 2006. A new extract of the plant Calendula officinalis produces a dual in vitro effect: cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation, BMC Cancer. 6: 119.
7. **Kyozuka, J.**, 2007. Control of shoot and root meristems function by cytokinin. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(05), 442-446.
8. **Li, P., H. Chen and Y. X. Li**, 2005. Establishment and optimization of in vitro regeneration system for Plantago major L. *Chinese Journal of Biotechnology*, 21(6), 916-22.
9. **Murashige, T. and F**. **Skoog**, 1962. Physiol. Plant., 15: 473-497.
10. **Sriskandarajah, S., R. M. Skirvin, H. Abu – Quaud and S. S. Korban**, 1990. Factors involved in shoot elongation and growth of adventitious and axillary shoots of three apple scion cultivars in vitro. *J. Hort. Sci.*, 65(2), 113-121.
11. **Turk, B., H. Swartz and R. Zimmerman**, 1994. Adventitious shoot regeneration from in vitro-cultured leaves of Rubus genotypes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 38: 11-17.
12. **Victorio, C. P.**, 2008. Sucrose on in vitro cultures of Calendula officinalis L. *Plant Cell Culture & Micropropagation*, v. 04, p. 34-41.
13. **Welander, M. and G. Maheswaran**, 1992. Shoot regeneration from leaf explants of dwarfing apple rootstoks. *J. Plant Physiology*, 140: 223-228.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (4), 280-286
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Проучване ефекта на органични торове при азалия за отглеждане в стайни условия

Бистра Атанасова*, Искра Филипова

Институт по декоративни растения, 1222 Негован, София, България

Study on the effect of organic fertilizer in indoor azaleas

Bistra Atanassova*, Iskra Filipova

Institute of Ornamental Plants, 1222 Negovan, Sofia, Bulgaria
**E-mail: iop_sofia@abv.bg*

Received: 26.04.2018 *Accepted:* 05.11.2018 *Published:* 12.12.2018

РЕЗЮМЕ

Постиженията на агрохимическата наука допринасят за разработване на нови екологични чисти торове с различен произход, които да осигуряват балансирано хранене на растенията с минимални количества остатъчни вещества под допустимите стойности в растителната продукция и околната среда, съгласно приетите стандарти, Съвременните изисквания за опазване здравето на човека и природата налагат новите торове предварително да бъдат изпитвани за установяване на подходящите начини на внасяне, оптималните норми и срокове на торене.

При проучване на органичните торове Комповет и Коковет при азалия за отглеждане в стайни условия се установи стимулиране на растежа и увеличаване на: височината на растенията, съответно с 21,3% и 18,0%, диаметъра – с 12,7% и 3,2% и на броя на разклоненията, съответно с 20,4% и 6,8%. При изпитване на органичните торове, по-добър ефект е получен при кореново подхранване на растенията с 2,0% разтвор на Комповет (биотор от калифорнийски червей), в сравнение с поливане на растенията с 0,5% разтвор на Коковет (птичи тор).

Ключови думи: органични торове, Комповет, Коковет, азалия, растеж, развитие

SUMMARY

The achievements of agrochemical science contributed to the formulation of new organic fertilizers with different origin that provided balanced nutrition to plants with minimal residues in plant products and environment, i.e. below the values of the current standards. The concern for human health and environmental protection require that new fertilizers are subject to preliminary tests for suitable methods of application, optimal quantities and terms.

The tests of the organic fertilizers Kompovet and Kokovet in indoor azaleas showed growth stimulation and increase of plant height with 21.3% and 18.0%; increase of diameter with12.7% and 3.2% and increase of number of lateral branches with 20.4% and 6.8%, respectively.The application of 2.0% solution of Kompovet (biofertilizer from California worms) on the roots showed a better effect, compared to watering with 0.5% solution of Kokovet (poultry fertilizer).

Key words: organic fertilizers, Kompovet, Kokovet, azalea, growth, height, diameter, lateral branches

УВОД

За опазване природата и здравето на човека, в резултат на активна научна дейност през последните години се предлагат на пазара нови екологично чисти и биологичноактивни торове, чиито остатъчни вещества не се натрупват в растителната продукция и околната среда (Malinova, 2007; Sengalevich, 2007; Petkova and Kutev, 2017). За въвеждане в производството се налага новите минерални и органични торове да бъдат предварително изпитани при редица селскостопански култури.

Цветята за своето развитие изискват балансирани и рационални системи на хранене с подходящи биоминерални и органични торове, съответстващи на съвременните технологии на отглеждане (Ivanova et al., 2005). Предимство на органичните торове е, че не съдържат вредни примеси, които могат да доведат до увреждане на растенията или до натрупване на остатъчни вещества в почвата и продукцията. Освен това те са удобни за употреба, тъй като могат да се внасят с поливките при кореново торене или при листно третиране, комбинирани с препаратите за растителна защита.

Проучвания у нас в тази насока с цветните видове се извършват предимно в Института по декоративни растения - София. При изпитване на органичните торове Биостим, Хумустим, Байкал, Лумбрикол и Плантагра при култури за отрязан цвят и саксийни цъфтящи видове – саксиен карамфил, мини карамфил, хризантема, петуния, импатиенс, гипсофила и други е доказан положителен ефект върху растежа и развитието на растенията (Atanassova et al., 2007; Kotopanova and Atanassova, 2008; Atanassova, 2012; Atanassova and Nencheva, 2012; Atanasova and Zapryanova, 2013). У нас не са извършвани проучвания с органични торове при азалия за отглеждане в стайни условия.

Цел: Установяване ефекта на органичните торове Комповет и Коковет върху растежа и развитието на саксийна азалия.

INTRODUCTION

In their efforts to preserve the environment and human health, scientists have developed new environmentally friendly and organic fertilizers that do not accumulate residues in plants and the environment (Malinova, 2007; Sengalevich, 2007; Petkova and Kutev, 2017). Priorto using them in production, the new mineral and organic fertilizers have to be tested on a number of farm cultures.

Flowers need balanced and rational nutrition systems with suitable biomineral and organic fertilizers, corresponding to the modern growing technologies (Ivanova et al., 2005). The advantage of organic fertilizers is the lack of harmful additives that could damage the plants or accumulate residues in the soil or produce.Besides, they are handy to use as they can be applied by pouring in case of root fertilization or foliar treatment in combination with the plant protection products.

The studies of this subject with regard to flowers in Bulgaria are mainly carried out at the Institute of Ornamental Plants - Sofia.The tests of the organic fertilizers Biostim, Humustim, Baikal, Lumbricol and Plantagra in the production of cut flower or pot flower species such as pot carnation, spray carnation, chrysanthemum, petunia, impatiens and gypsophila, etc., showed a proven positive effect on plant growth and development (Atanassova et al., 2007; Kotopanova and Atanassova, 2008; Atanassova, 2012; Atanassova and Nencheva, 2012; Atanasova and Zapryanova, 2013). No studies with organic fertilizers have been done on indoor azalea in our country.

Aim: Study of the Effect of Organic Fertilizers Compovet and Cocovet on the growth and development of indoor azaleas.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През 2017 г. в Института по декоративни растения - София е заложен съдов опит при оранжерийни условия с 2 органични тора Комповет и Коковет, продукти на фирма «Агробиовет» ЕООД – София:

- Комповет: течен тор, получен от биотор на калифорнийски червей, съдържащ минимум 40% органично вещество, 110 mg/l нитратен азот, 250 mg/l амониев азот, 1100 mg/l P_2O_5, 4200 mg/l K_2O, 20 mg/l MgO, 70 mg/l CaO, 10 mg/l Fe и тежки метали под допустимата норма;
- Коковет: течен концентриран, получен от птичи тор, съдържащ минимум 45% органично вещество, 250 mg/l нитратен азот, 335 mg/l амониев азот, 2580 mg/l P_2O_5, 7580 mg/l K_2O, 11 mg/l MgO, 50 mg/l CaO, 10 mg/l Fe и тежки метали под допустимата норма.

За залагане на опита са използвани едногодишни растения, които са пензирани 2 пъти за оформяне на хабитуса. Растенията са засадени в саксии № 9 в подходящ субстрат за азалия (торф, пръст от угнили борови иглички, почва и перлит в съотношение 1:1:0,5:0,25).

Опитът е заложен на 22 юни в 3 варианта, с по 10 растения във всеки вариант:

I – Контрола (неторени растения);

II – торене с 2,0% разтвор на Комповет;

III – торене с 0,5% разтвор на Коковет.

Дозите използвани за кореново торене на растенията са препоръчани от фирмата производител, като всяко растение е поливано с 100 ml разтвор. Първото подхранване е извършено 15 дни след пензиране и прехвърляне на растенията в саксии № 14 (7 юли), а следващите 5 през 15 дни. Неторените растения са поливани със 100 ml вода (Контрола).

Отчитани са следните показатели: височина и диаметър на растения-

MATERIAL AND METHODS

In 2017, a pot trial was set up in glasshouse conditions at the Institute of Ornamental Plants in Sofia with two organic fertilizers - Compovet and Cocovet, both products of Agrobiovet Ltd. (Sofia):

- Compovet: liquid fertilizer, obtained from California worms organic fertilizer, contains a minimum of 40% of organic matter; 110 mg/lnitrate nitrogen; 250 mg/lammonium nitrogen; 1100 mg/l P_2O_5, 4200 mg/l K_2O, 20 mg/l MgO, 70 mg/l CaO, 10 mg/l Feand heavy metals below the limit;
- Cocovet: liquid concentrate, obtained from poultry fertilizer, contains a minimum of 45% organic matter; 250 mg/lnitrate nitrogen; 335 mg/lammonium nitrogen; 2580 mg/l P_2O_5, 7580 mg/l K_2O, 11 mg/l MgO, 50 mg/l CaO, 10 mg/l Feand heavy metals below the limit.

The trial was set with one year old plants that were pinched twice for habitus shaping. They were planted in #9 pots in a suitable substrate for azaleas (turf, decomposing pine needles, soil and perlite in a ratio of 1:1:0.5:0.25).

The trial was set on June 22 in three variants, ten plants each:

I – Control (non-fertilized plants);

II – fertilization with 2.0% Compovet solution;

III – fertilization with 0.5% Cocovet solution.

The doses used for root fertilization of plants were recommended by the manufacturer, each plant being watered with 100mlsolution.The first application was done fifteen days after pinching and moving the plants to No14 pots (July 7) and the following five applications were done at fifteen-day intervals. The non-fertilized plants were watered with 100 mlof water (control).

The following indexes were recorded: plant height and diameter and

та, и брой разклонения на 1 растение (през 30 дни).

Статистическата обработка на данните е извършена по ANOVA тест. Достоверната разлика между контролата и вариантите е представена със знака * (P≤0.05), ** (P≤0.01), *** (P≤0.001), а недоказаната разлика – ns.

number of lateral branches per plant (at thirty-day intervals).

Statistical data processing was done with ANOVA test. The significant difference between the control and variants was presented as * (P ≤ 0.05), ** (P ≤ 0.01), *** (P ≤ 0.001) and the non-significant – as ns.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При торене на растенията с двата органични тора се наблюдава положително влияние върху растежа (Таблица 1). При височината най-добър ефект е постигнат при подхранване на растенията с Комповет, като стойностите на прираста надвишават тези на неторените растения с 21,3%. Растенията торени с Коковет са също по-високи от контролните растения, но прирастът е по-малък – 18,0%. И при двата органични тора разликите в прираста с този на контролата са много добре доказани (P≤0.001).

RESULTS AND DISCUSSION

The application of the two organic fertilizers had a positive effect on plant growth (Table 1). In terms of height, the application of Compovet produced the best results with a growth rate exceeding that of non-fertilized plants with 21.3%. The plants, fertilized with Cocovet, were higher than the control as well but with a smaller growth rate of 18.0%. The differences in growth rate with the application of both organic fertilizers vs. the control were significant (P≤0.001).

Таблица 1. Влияние на органичните торове върху височината на растенията
Table 1. Effect of organic fertilizers on plant height

Вариант Variant	Височина на растенията (cm) Plant height							Прираст Total growth	
	07.07.	22.07.		22.08.		22.09.		cm	% спрямо К % vs. C
	начална initial cm	cm	%	cm	%	cm	%		
I - неторени растения I - non-fertilized plants	5,7	6,0	100,0	9,4	100,0	11,8	100,0	6,1	100,0
II - 2,0% Комповет II - 2,0% Kompovet	5,7	5,7	95,0	9,9	105,3	13,1	111,0	7,4 ***	121,3
III - 0,5% Коковет III - 0,5% Kokovet	5,7	6,3	105,0	9,5	101,1	12,9	109,3	7,2 ***	118,0

* (P≤0.05), ** (P≤0.01), *** (P≤0.001), а недоказаната разлика / non-significant – ns

На Таблица 2 са дадени резултатите за диаметъра на растенията. И при двата органични тора е наблюдаван положителен ефект, като най-високи стойности са отчетени при растенията подхранвани с течния тор Комповет, при който прирастът надвишава този на контролните растения с 12,7% (много добра доказаност – P≤0.001. Стойностите на прираста при птичия тор Коковет са близки до тези

Table 2 shows the results on plant diameter. A positive effect was observed from the application of both organic fertilizers, the highest values being reported for the plants fertilized with the liquid Compovet, where the growth rate exceeded that of control plants with 12.7% (highly significant at P≤0.001).The values of growth rate with the application of poultry fertilizer Cocovet were close to those of non-fertilized plants, therefore,

на неторените растения, поради което няма доказанст на резултатите (ns).

the results were not significant (ns).

Таблица 2. Влияние на органичните торове върху диаметъра на растенията
Table 2. Effect of organic fertilizers on plant diameter

Вариант Variant	Диаметър на растенията (cm) Plant diameter (cm)							Прираст Total growth	
	07.07.	22.07.		22.08.		22.09.			
	начална initial cm	cm	%	cm	%	cm	%	cm	% спрямо К % vs. C
I - неторени растения I - non-fertilized plants	9,5	9,7	100,0	14,6	100,0	15,8	100,0	6,3	100,0
II - 2,0% Комповет II - 2,0% Kompovet	9,5	9,8	101,0	14,4	98,6	16,6	105,1	7,1 ***	112,7
III - 0,5% Коковет III - 0,5% Kokovet	9,5	10,3	106,2	15,2	104,1	16,0	101,3	6,5 ns	103,2

* (P≤0.05), ** (P≤0.01), *** (P≤0.001), а недоказаната разлика / non-significant – ns

По отношение на показателя – брой разклонения на 1 растение най-добри резултати отново са наблюдавани при течния органичен тор Комповет (Таблица 3). Процентът на прираста при него надвишава този на неторените растения с 20,4%, като разликата с контролата е много добре доказана при P≤0.001. Стойностите на прираста на разклоненията при птичия тор Коковет са близки до тези на контролните растения и не са доказани (ns).

In terms of number of lateral branches per plant, again, the best results were observed with the application of the liquid organic fertilizer Compovet (Table 1). In this case, the growth rate percentage exceeded that of non-fertilized plants with 20.4%, the difference with the control being highly significant at P≤0.001.The values for the growth rate of lateral branches with the application of Cocovet were close to those of the control plants and were not significant (ns).

Таблица 3. Влияние на органичните торове върху разклоненията на растенията
Table 3. Effect of organic fertilizers on lateral branches

Вариант Variant	Брой разклонения на едно растение Number of branches per plant							Прираст Total growth	
	07.07.	22.07.		22.08.		22.09.			
	начален initial, no.	бр. no.	%	бр. no.	%	бр. no.	%	cm	% спрямо К % vs. C
I - неторени растения I - non-fertilized plants	4,3	4,7	100,0	4,9	100,0	8,7	100,0	4,4	100,0
II - 2,0% Комповет II - 2,0% Kompovet	4,3	4,4	93,6	5,2	106,1	9,6	110,3	5,3 ***	120,4
III - 0,5% Коковет III - 0,5% Kokovet	4,3	4,8	102,1	5,0	102,0	9,0	103,4	4,7 ns	106,8

* (P≤0.05), ** (P≤0.01), *** (P≤0.001), а недоказаната разлика / non-significant – ns

Положителният ефект установен при изпитване на двата органични тора Комповет и Коковет се дължи на високото съдържание на хуминови, фулво- и аминокиселини, азот, фосфор и калий, както и на добре балансираното

The positive effect, established during the tests of the two organic fertilizers Compovet and Cocovet, resulted from the high contents of humic, fulvic and amino acids, nitrogen, phosphorus and potassium as well as the

съотношение на макро- и микроелементите, което допринася за по-добро развитие на коренова система и растенията (Фигура 1). Направените от нас проучвания с двата органични тора Комповет и Коковет потвърждават положителното влияние на органичните торове при цветните култури (Kotopanova and Nencheva, 2008; Atanassova, 2011; Zapryanova and Atanassova, 2013; Atanassova, 2015).

well balanced ratio of macro and micro elements that contributed to the better development of the root system and plants (Figure 1). Our studies with the two organic fertilizers Compovet and Cocovet confirmed the positive effect of organic fertilizers in flower cultures (Kotopanova and Nencheva, 2008; Atanassova, 2011; Zapryanova and Atanassova, 2013; Atanassova, 2015).

A/ B/

Фиг. 1. Двугодишни растения след приключване на опита, преминали фаза цъфтеж

Fig. 1. Two-year old plants after the experiment and after the flowering phase

A/ растения подхранвани с 2,0% Комповет / plants fertilized with 2.0% Kompovet

B/ неторени растения / non-fertilized plants

ИЗВОДИ

▪ Новите органични торове Комповет и Коковет оказват положително влияние върху растежа и развитието на азалия.

▪ При подхранване с течните органични торове стойностите на височината, диаметъра на растенията и броя на разклоненията са по-високи от тези на неторените растения, съответно с 21,3%, 12,7% и 20,4% при Комповет и с 18,0%, 3,2% и 6,8% при Коковет.

CONCLUSIONS

▪ The new organic fertilizers Compovet and Cocovet had a positive effect on azalea growth and development.

▪ The application of the liquid organic fertilizers resulted in higher values of plant height and diameter and number of lateral branches, compared to non-fertilized plants, with 21.3%, 12.7% and 20.4% for Compovet and 18.0%, 3.2% and 6.8% for Cocovet, respectively.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Atanassova, B.**, 2011. Study of the effect of Lumbricol on the initial phases of spray carnation growth and development. I. Study of the effect of concentration. *Soil Science Agrochemistry and Ecology*, XLV (1-4), 224-226 (Bg).
2. **Atanassova, B.**, 2012. Biological study of the new organic fertilizer Baykal in spray-carnation. In: Reports of the IX National Scientific and Technical Conference with international participation "Ecology and Health", Plovdiv, pp. 237-242 (Bg).
3. **Atanassova, B.**, 2015. Efeect of the biomineral fertilizer Plantagra fn the growth of spray-carnation. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 18 (2), 376-387.
4. **Atanassova, B., Y. Kotopanova, D. Slavov and I. Valchovski**, 2007. Study of the effect of the humic fertilizer Humustim on spray carnation yield and quality. Humustim – a Gift of Nature. The fertilizer of the future, „DIMI 99" Ltd (Bg).
5. **Atanassova, B. and D. Nencheva**, 2012. Use of Evironmentally Friendly Biological Fertilizer Lumbricol in Cultivation of Pot Carnation. Proceedings "Seminar of ecology", Sofia, pp. 20-25 (Bg).
6. **Atanasova, B. and N. Zapryanova**, 2013. Effect of biological fertilizer Lumbrikol on growth and development of gypsophila. II. Determination of the optimal amount of fertilizer in soil dieting of plants. *Subtropical and Ornamental Horticulture Sochi,* Russia, V. 49, 300-306 (Ru).
7. **Ivanova, V., P. Nikolov and O. Tafradjiiski**, 2005. The application of biohumus in the production of seedlings from annual flowers. Sci. Rep. Jubilee Scientific Conference on the Condition and Problems of Agrarian Science and Education, L (6), 477-482 (Bg).
8. **Kotopanova, Y. and B. Atanassova**, 2008. The application of the complex mineral liquid fertilizer Crystalon in spray carnation. Sci. art. Institute of Agrarian Science, IV Scientific and Practical Conference on Ecological Problems of Agriculture, Plovdiv, XLIV, pp. 315-320 (Bg).
9. **Kotopanova, Y. and D. Nencheva**, 2008. Study of the organic fertilizer Humustim in pot chrysanthemum. *Ecological Engineering and Environmental Protection "Ecology"*, 7 (2-3), 103-105 (Bg).
10. **Malinova, P.** 2007. Organic fertilization - a guarantee to the organic farming of the future. Humustim – a Gift of Nature. The fertilizer of the future, „DIMI 99" Ltd (Bg).
11. **Petkova, Z. and V. Koutev**, 2017. Influence of organic liquid fertilizer from composted plant residues with manure in a pot experiments. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans,* 20 (4), 396-406.
12. **Sengalevich, G.**, 2007. The European Union calls for organic fertilizers. Humustim – a Gift of Nature. The fertilizer of the future „DIMI 99" Ltd (Bg).
13. **Zapryanova, N. and B. Atanassova**, 2013. Study of the effect of the organic product Lumbricol on the growth and development of pot flower seedlings – impatiens (Impatiens New-Guinea) and petunia (Petunia x hybrid). *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans,* 16 (4), 1035-1048.