Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 1, 2016, (124-133)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

Предпочитани гостоприемници на PPV изолати в овощна градина в Унгария

Янош Адам[1]*, Рейка Саараи[1], Боряна Стефанова[2], Иштван Тобиас[3], Ласло Палкович[1]

[1]Университет "Сент Ищван" , Катедра по растителна патология, Будапеща, Унгария
[2]Институт по планинско животновъдство и земеделие, Троян, България
[3]Институт по растителна защита, Център за селскостопански изследвания, Унгарска академия на науките, Будапеща, Унгария
Адрес: 44. Ménesi road, Будапеща, H-1118

**Email: adam.janos@kertk.szie.hu*

The host preference of PPV isolates in a Hungarian orchard

János Ádám[1]*, Réka Sáray[1], Boryana Stefanova[2], István Tóbiás[3], László Palkovics[1]

[1]Szent István University, Department of Plant Pathology, Budapest, Hungary
[2]Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan, Bulgaria
[3]Plant Protection Institute, Centre for Agricultural Research, HAS, Budapest, Hungary
Address: 44. Ménesi road, Budapest, H-1118

РЕЗЮМЕ

Plum pox virus (PPV) е причинителят на шарка, най-опустошителната вирусна болест при род *Prunus*. Първите сведения са публикувани от Атанасов през 1932 в България. Растенията гостоприемници с икономическо значение са синя слива, праскова и кайсия, но изследванията показват също и някои тревожни наличия при череша и вишна. Поради изменчивостта на вируса са открити девет молекулярно различни PPV щама. В Унгария преобладават щамове PPV-M, PPV-D и PPV-Rec. Изследвания от различни държави показват, че вирусните щамове предпочитат специфични гостоприемници или по-честото присъствие на различни източници.

За да се изследва тази характе-

SUMMARY

Plum pox virus (PPV) is the causative agent of Sharka disease, the most devastating viral disease on *Prunus* species. The first report was published by Atanasoff in 1932 from Bulgaria. The economically important host plants are the plum, peach and apricot species but studies show some disturbing occurrences on cherry and sour cherry as well. The variability of the virus shows that nine molecularly different PPV strains have been discovered. In Hungary the PPV-M, PPV-D and the PPV-Rec strains are in majority. Surveys from different countries suggest that the virus strains have some host preference or more frequent presence on different hosts.

In this research 36 leaf samples

ристика на вируса в настоящото изследване са взети 36 листни проби от естествено заразено петнадесетгодишно насаждение, по 12 проби от всеки вид (синя слива, праскова и кайсия). Трите вида дървета са разположени едни до други в овощната градина, разделени от път с широчина 2 m, което води до сериозен шанс за заразяване от всеки наличен вирусен щам. Вирусната инфекция е потвърдена от листните проби, като PPV щамове са установени чрез традиционния RT-PCR метод. Според резултатите са установени PPV-D, M, и Rec изолати, както и смесени инфекции.

Ключови думи: PPV**,** щамове, предпочитан гостоприемник, синя слива, праскова, кайсия

Съкращения: PPV = Plum pox virus, M = Marcus, D = Dideron, Rec = Recombinant, RT = обратна транскрипция, PCR = полимеразноверижна реакция

were taken from naturally infected, 15-year-old plantation, 12 samples from each significant species (plum, peach and apricot) to investigate this attribute of the virus. In the orchard this three species located next to each other separated by a 2m wide road, resulted a serious chance for infection by any present virus strain.

The virus infection was verified from the leaf samples and the PPV strains were identified by conventional RT-PCR method. According to the results PPV-D, M, and Rec isolates, furthermore mixed infections were detected.

Key words: PPV, strains, host preference, plum, peach, apricot

Abbreviations: PPV = Plum pox virus, M = Marcus, D = Dideron, Rec = Recombinant, RT = reverse transcription, PCR = polymerase chain reaction

УВОД

Plum pox virus (+ssRNA) е член на семейство *Potyviridae.* Първите симптоми са наблюдавани през 1917-1918 при синята слива в България, а първият доклад е представен през 1932 от Атанасов. Първият доклад за костилкови с икономическо значение в Унгария е направен от Szirmai за кайсии (1948), от Husz и Klement за сините сливи (1950) и от Németh за прасковите (1963). PPV заразява не само костилкови видове, но и бадем (Pribék et al., 2001), както и трънка (Salamon and Palkovics, 2002), която е естествен див гостоприемник, застрашаващ овощните градини, като резервоар на заразата. Значението на растения-

INTRODUCTION

Plum pox virus (+ssRNA) is a member of the *Potyviridae* family. The first symptoms of the presence were observed in 1917-1918 on plum in Bulgaria, and the first report was taken in 1932 by Atanasoff.

In Hungary the first report from the economically important stone fruits was taken by Szirmai from apricot (1948), by Husz and Klement from plum (1950) and by Németh from peach (1963). PPV infects not only stone fruits but almond (Pribék et al., 2001) and blackthorn (Salamon and Palkovics, 2002) as well, which is a natural wild host species endanger orchards as a reservoir.
The importance of the reservoir

та резервоари на заразата се подценява, афидите вирусоносители (листни въшки - б.п.) разпространяват вируса по неперзистентен начин. Листните въшки играят най-значимата роля за разпространението на вируса на малки разстояния. Най-ефективни преносители при видовете от род *Prunus* са видовете *Myzus persicae* и *Aphis spiraecola*, но също толкова значими за разпространението му при други растения са *Aphis fabae* или *Aphis hederae* (Labonne et al., 1995).

Трите най-често срещани щама на PPV в Унгария са PPV-M, PPV-D и PPV-Rec (Ádám et al., 2015). Щамът D с френски произход е установен при кайсиеви дървета. Основно се среща при синя слива и кайсията, рядко при праскована (Myrta and Boscia, 2001), въпреки че Dallot et al. описват някои PPV-D изолати, които могат ефективно да заразят праскoвени дървета (1998).

Щамът PPV-M произлиза от Гърция (Myrta et al., 1998), но е широко разпространен в цяла Европа и причинява сериозни проблеми в праскoвени насаждения, но може да зарази също синята слива и кайсията. Афидите разпространяват този щам по-ефективно, отколкото PPV-D.

Повечето PPV-Rec изолати са от сливов гостоприемник, но кайсията и праскoвата (и различни гостоприемници от вида *Prunus*) могат да бъдат инфектирани чрез изкуствено заразяване. Изглежда

plants are underrated, the aphid vectors spread the virus in a non-persistent manner.

The aphids play the most important role in the short distance spread of the virus and the form of epidemics. The most effective vectors are the *Myzus persicae* and the *Aphis spiraecola*, but during the dissemination the role of the aphids from non *Prunus* plants could be equally significant such as the *Aphis fabae* or the *Aphis hederae* (Labonne et al., 1995).

The three common strains in Hungary the PPV-M, PPV-D and the PPV-Rec (Ádám et al., 2015).The Dideron isolate origins from France, and it was collected from an apricot tree. The PPV-D strain mainly occurs on plum and apricot, and it is rare on peach (Myrta and Boscia, 2001), however Dallot et al. describe some PPV-D isolates that can effectively infect peach trees (1998).

The Marcus isolate collected from peach, origins from Greece (Myrta et al., 1998). The PPV-M strain is widely spread all over Europe and cause serious problems in peach orchards, but it can also infect plum and apricot. Aphids can propagate this strain more effectively than PPV-D.

Most of the PPV-Rec isolates are from plum host, but the apricot and peach (and different *Prunus* hosts) can be infected by artificial inoculation.

It seems that the host preference

че предпочитанията към гостоприемника на PPV-Rec изолати са сходни с PPV-D (Glasa et al., 2004).

of the PPV-Rec isolates is similar to PPV-D (Glasa et al., 2004).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

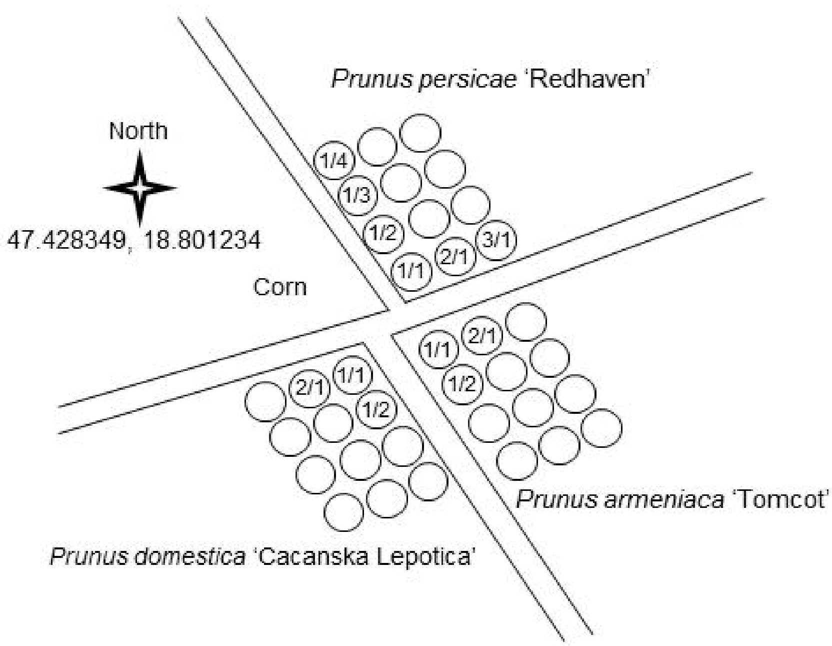
През лятото на 2015 г. са взети дванадесет листни проби: от слива – сорт "Чачанска лепотица", върху подложка *Prunus cerasifera; праскова – сорт* "Ред хевън" върху подложка *Prunus amygdalus* (бадем) и кайсия – сорт "Томкот", върху джанкова подложка. 36 от пробите произхождат от други екземпляри но от същата градина близо до Будапеща.

Сливовите, прасковени и кайсиеви дървета са разделени от път широк 2 метра (Фиг. 1).

MATERIAL AND METHODS

Twelve leaf samples were collected from *Prunus domestica* 'Cacanska Lepotica' on *Prunus cerasifera* (myrabolan) rootstock, from *Prunus persicae* 'Redhaven' on *Prunus amygdalus* (almond) rootstock and from *Prunus armeniaca* 'Tomcot' on myrabolan rootstock in the summer of 2015. The 36 samples were originated from different specimens but from the same orchard near Budapest.

The plum, peach and apricot trees were separated by a 2 metres wide road (Fig. 1).



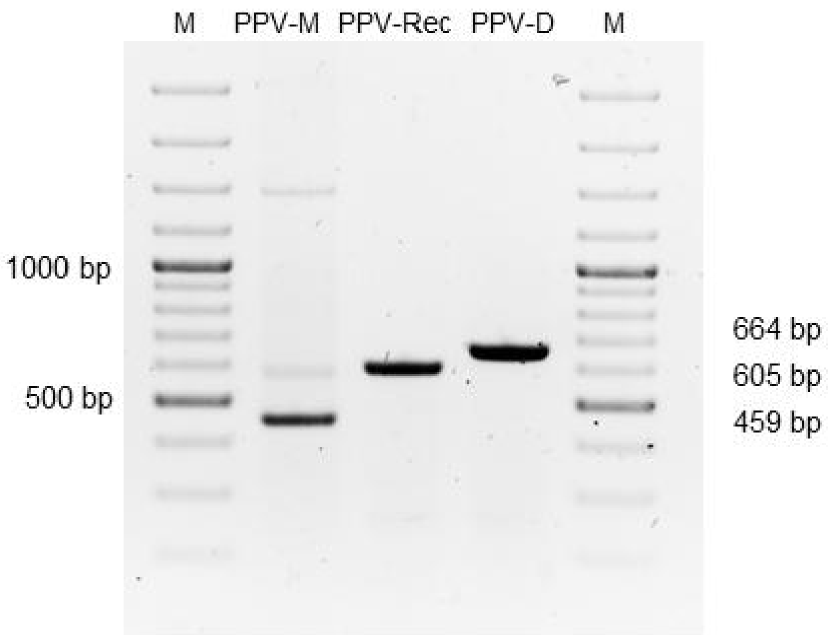
Фиг. 1. Експериментално поле
Fig. 1. The experimental field

Извличането на РНК е извършено чрез Spectrum Plant Total RNA Kit (Sigma-Aldrich) и GeneJet Plant RNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific), според ръководството на производителя. За подготовката на кДНК чрез обратна транскриптаза (Thermo Scientific) е използвана 1500 ng РНК. При реакцията от (Maiss et al., 1989), обратният праймер е M4T (Chen and Adams, 2001) разположен на 3' края, на полиА-опашката на вируса. За да се потвърди присъствието на PPV и за идентификация на трите най-често срещани PPV щама в Унгария са използвани праймери mM5, mD5, mM3 и mD3 (Таблица 1) (Šubr et al., 2004) за PCR, насочени към рекомбинационната точка разположена в 3' край на ген NIb. Резултатите са визуализирани чрез електрофореза с 1 % агарозен гел. Чрез този метод, трите щама имат различни PCR продукти (Фиг. 2).

RNA extraction was performed by Spectrum Plant Total RNA Kit (Sigma-Aldrich) and GeneJet Plant RNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific) according to the manufacturer's instruction. For cDNA preparation by RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Scientific) 1500 ng RNA were used. In the RT reaction (Maiss et al., 1989) the reverse primer was the M4T (Chen and Adams, 2001) located at the 3' end, at the polyA tail of the virus. To confirm the presence of PPV, and for the identification of the three most common PPV strains in Hungary the mM5, mD5, mM3 and the mD3 primers (Table 1.) were used (Šubr et al., 2004) in the PCR, targeted the recombination breakpoint located in the 3' end of the NIb gene. The results were visualised by gel electrophoresis on 1 % agarose gel. By this method the tree strain have different PCR products in length (Fig. 2.).

Таблица 1. Ориентация на праймери, секвенции и целеви геномни участъци
Table 1. The primer orientations, the sequences and the targeted genomic regions

Праймер (ориентация) Primer (orientation)	Секвенция Sequence (5'-3')	Геномен участък Genomic region
M4T (-)	GTTTTCCCAGTCACGACT$_{(15)}$	polyA tail
mM5 (+)	GCTACAAAGAACTGCTGAGAG	3'NIb-5'CP
mM3 (-)	CATTTCCATAAACTCCAAAAGAC	3'NIb-5'CP
mD5 (+)	TATGTCACATAAAGGCGTTCTC	3'NIb-5'CP
mD3 (-)	GACGTCCCTGTCTCTGTTTG	3'NIb-5'CP



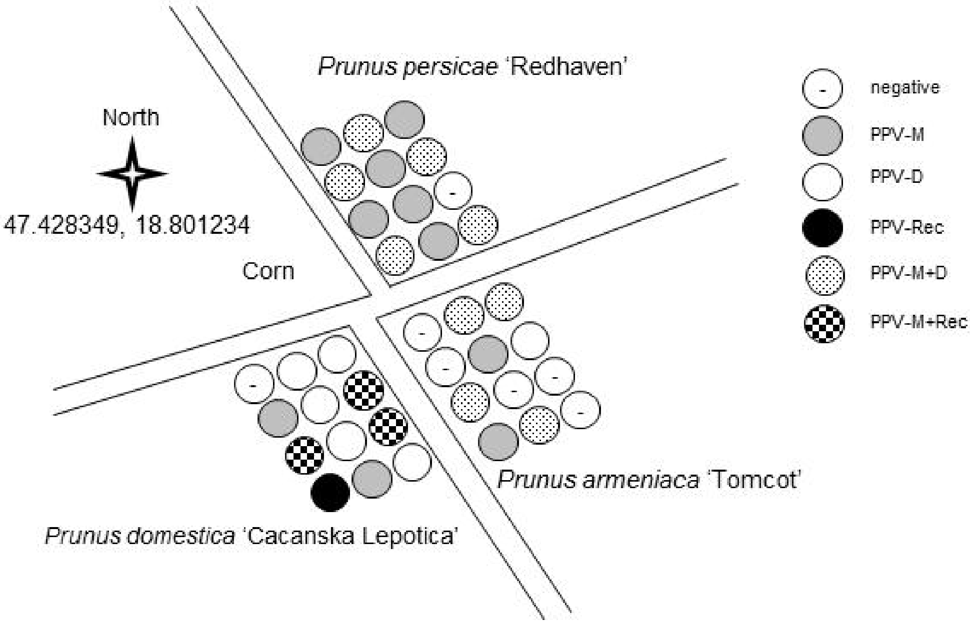
Фиг. 2. Продукт на PCR от три щама в 1% агарозен гел
Fig. 2. The PCR product of the three strains on 1 % agarose gel

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от изследването посочват, че *Plum pox virus* присъства в овощната градина при изследваните дървета на сини сливи, праскови и кайсии. В 36 листни проби са открити щамове PPV-D, PPV-M и PPV-Rec чрез традиционна RT-PCR. Седем проби са отрицателни (20%), десет са заразени само с PPV-M (28%), шест са заразени с PPV-D (16.5%), и в един случай е наблюдавана инфекция от PPV-Rec (2.5%). Установени са девет смесени инфекции на PPV-M+D (25%), и три инфекции PPV-M+Rec (9%) (Фиг. 3).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the study indicate that the *Plum pox virus* was present in the orchard on the investigated plum, peach and apricot trees. In the 36 leaf samples PPV-D, PPV-M and PPV-Rec strains were detected by conventional RT-PCR. Seven samples were negative (20%), ten was individually PPV-M infected (28%), six was PPV-D infected (16.5%) and in one case PPV-Rec infection was observed (2.5%). Nine PPV-M+D mixed infection (25%), and three PPV-M+Rec infection (9%) were identified (Fig. 3) among the trees.



Фиг. 3. Резултати от експериментално поле
Fig. 3. The results on the experimental field

В случаите на пробите от праскови, 50% от изследваните дървета са заразени само от PPV-M, но в единадесет проби е открит PPV-M като при 42% има инфекция от PPV-M+D. Изолати на PPV-D не са открити самостоятелно при прасковени дървета, а изолатът PPV-Rec изобщо не е открит.

42% от изследваните кайсиеви проби са отрицателни спрямо трите PPV щама. 16% от пробите са изследвани от PPV-M, 8% са заразени само от щама PPV-D. При кайсиите, 32% от пробите съдържат смесената инфекция M+D, според нашите резултати щамове PPV-M и D се появяват приблизително при 50-50% от

In case of peach samples 50% of the studied trees were infected by only PPV-M, but in eleven samples PPV-M was detected as in 42% PPV-M+D infection occurred. PPV-D isolates were not detected solo in peach trees, and PPV-Rec isolate was not detected at all.

42% of the examined apricot samples were negative to these three PPV strains. 16% of the samples were infected by PPV-M, 8% were infected by PPV-D strain individually. In case of apricot 32% of the samples contain M+D mixed infection, according to our results the PPV-M and D strains occur approximately 50-50% on the изследваните кайсиеви дървета. Рекомбинантен изолат не е отчетен нито при кайсиеви, нито при прасковени дървета.

При пробите от сини сливи е забелязан само един отрицателен резултат, и са открити всички три щама. 40% от сливовите проби са заразени с PPV-D, 16% с PPV-M и 8% са заразени от PPV-Rec. В три случая (24%) е потвърдена инфекция от PPV-M+Rec.

examined apricot trees. Recombinant isolate was detected neither on apricot nor on peach trees.

From plum samples one negative result was observed, and all of the three strains were identified. 40% of the plum samples were infected by PPV-D, 16% with PPV-M and 8% was PPV-Rec infected. In three cases (24%) PPV-M+Rec infection was verified.

ИЗВОДИ

При изследваните прасковени дървета, според очакванията, преобладава щам PPV-M. От 12 дървета, 11 са заразени с този щам и една отрицателна проба произлиза от дърво в много лошо състояние. Въпреки че изолатите PPV-D не се пренасят ефективно от листните въшки и не се срещат често при прасковите, почти половината изследвани прасковени проби бяха със смесена инфекция от PPV-M+D.

Естествените зарази на праскови с PPV-Rec са много редки и не успяхме да открием рекомбинантни изолати в пробите от праскова (например в проекта SharCo, от 223 рекомбинантни изолата, един произлиза от праскова).

Трудно е да се направи заключение по отношение на кайсиевите дървета, понеже почти половината проби са отрицателни. При заразените

CONCLUSIONS

Among the examined peach trees the PPV-M strain was in majority as it was expected. From 12 trees 11 were infected by this strain and the one negative sample was originated a tree which was in very bad condition. Despite the PPV-D isolates are not effectively transmittable by aphids and not too common on peach, almost the half of the studied peach samples were infected by this strain in a mixed infection with PPV-M.

Naturally PPV-Rec infected peach trees are very rare according to studies (e.g. in SharCo project from 223 recombinant isolates one originated from peach), and in connection with these results we do not manage to detect recombinant isolates in the samples.

It is hard to make conclusion in regards of apricot trees, because almost the half of the samples were negative. In the дървета щамове PPV-D и PPV-M се появяват по отделно и в смесени инфекции.

Очакването бе за преобладаващ PPV-D, но в тази част на овощната градина PPV-M успява лесно да се разпространи към кайсиевите дървета от прасковите, чрез най-ефективния преносител *M. persicae*, което води до приблизително 50-50% зараза от щамове Marcus и Dideron. В настоящото изследване не са установени рекомбинантни изолати при кайсията.

При сливовите дървета, според очакванията, са открити трите щама обичайни за Унгария, както и смесената инфекция на PPV-M+Rec. Интересно е, че измежду пробите от праскови и кайсии смесената инфекция на D+M е често срещана; при сливовите проби е открит само M+Rec. Рекомбинантните изолати се срещат само при синята слива в този експеримент.

Според нашите резултати, в експерименталната овощна градина преобладава щам PPV-M; от 36 проби, 22 съдържат този вид изолат в самостоятелна или смесена зараза. 15 проби са заразени от щам PPV-D и в 4 проби е открит PPV-Rec.

Броят на пробите е прекалено малък за сериозни изводи, но предпочитанието на PPV щамовете към гостоприемниците, споменати в проучването изглежда се потвърждава

virus infected trees PPV-D and PPV-M strains occur individually and in mixed infection.

The expectation was PPV-D dominance, but in this part of the orchard PPV-M could spread easily to apricot trees from peach by the most effective vector *M. persicae,* result the approximately 50-50% infection by Marcus and Dideron strains.

In this study recombinant isolate was not identified on apricot.

On the plum trees the three strains common in Hungary were identified as it was expected, and PPV-M+Rec mixed infection was detected on this part of the orchard. It is interesting that among the peach and apricot samples D+M mixed infection was frequent; in the plum samples only M+Rec was detected. Recombinant isolates only occur on plum in this experiment.

According to our results in the experimental orchard the PPV-M strain is dominant; from 36 samples 22 contain this type of isolate in solo or mixed infection. 15 samples were infected by PPV-D strain and in 4 samples PPV-Rec were detected.

This number of samples is too low for serious conclusions, but the host preference of PPV strains mentioned by studies seems to be confirmed.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторите благодарят на Д-р Геза Наги и Sóskút Fruct Ltd за растителния материал.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Dr. Géza Nagy and the Sóskút Fruct Ltd. for the plant material.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Ádám J., Palkovics L., Tóbiás I., Almási A.**. Presence Of Sharka Disease In The North-Hungarian Counties. *Acta Horticulturae*, 2015, 1063, 55-60.

2. **Atanasoff D.**. Sarka po slivite, Edna nova virus a bolest. [Plum pox. A new virus disease.]. *Yearbook University of Sofia, Faculty of Agriculture*, 1932, 11, 49-70.

3. **Chen J., M. J. Adams.** A universal PCR primer to detect members of the Potyviridae and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. *Archives of Virology*, 2001, 146, 757-766.

4. **Dallot S., G. Labonne, M. Boeglin, L. Quiot-Douine, J. B. Quiot, T. Candresse.** Peculiar plum pox potyvirus D-populations are epidemic in peach trees. *Acta Horticulturae*, 1998, 472, 355–365.

5. **Glasa M., L. Palkovics, P. Komínek, G. Labonne, S. Pittnerová, O. Kúdela, T. Candresse, Z. Šubr.** Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of Plum pox virus (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. *Journal of General Virology*, 2004, 85, 2671–2681.

6. **Husz B., Z. Klement.** A csonhéjas gyümölcsfák vírusos mozaik-betegsége. Agrártudományi Egyetem Kert- és Szőlőgazdaságtudományi Karának Évkönyve, 1950, 83-94. p.

7. **Labonne, G., Yvon, M., Quiot, J. B., Avinent, L., Llacer, G.** Aphids as potential vectors of plum pox virus: comparison of methods of testing and epidemiological consequences. *Acta Horticulturae*, 1995, 386: 207–218. p.

8. **Maiss E., U. Timpe, A. Brisske, W. Jelkmann, R. Casper, G. Himmler, D. Mattanovich, H. W. D. Katinger.** The complete nucleotide sequence of plum pox virus RNA. *Journal of General Virology*, 1989, 70, 513–524.

9. **Myrta A., B. Di Terlizzi, D. Boscia, K. Caglayan, I. Gavriel, G. Ghanem, C. Varveri, V. Savino.** Detection and serotyping of Mediterranean plum pox virus isolates by means of strain-specific monoclonal antibodies. *Acta Virology*, 1998, 42, 251-253.

10. **Myrta, A., Boscia, D.** Plum pox virus: a risk for the Mediterranean fruit tree industry. 45–52. p. 2001. In: Myrta A., Di Terlizzi B., Savino V. : Production and exchange of virus-free plant propagating material in the Mediterranean region. [Bari, Italy: CIHEAM-IAMB.] (Options Méditerranéennes: Serie B. Studies and Research, 35) 212 p.

11. **Németh M.** Field and greenhouse experiments with plum pox virus. *Phytopathologia Mediterranea*, 1963, 2, 162–166.

12. **Pribék D., L. Palkovics, R. Gáborjányi.** Molecular characterization of plum pox virus almond isolate. *Acta Horticulturae*, 2001, 550, 91-95.

13. **Salamon P., L. Palkovics** Characterization of Plum pox virus PPV-BT-H isolated from naturally infected blackthorn (Prunus spinosa L.) in Hungary. *European Journal of Plant Pathology*, 2002, 108, 903-907.

14. **Šubr Z., S. Pittnerová, M. Glasa.** A simplified RT-PCR-based detection of recombinant Plum pox virus isolates. *Acta Virologica*, 2004, 48, 3, 173–176.

15. **Szirmai J.** Kajszivírus a faiskolában. *Kert és Szőlő*, 1948, 2, 10.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 1, 2016, (134-147)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

ДИНАМИКА НА КОРЕНООБРАЗУВАНЕТО ПРИ РЕЗНИЦИ ОТ КИТАЙСКА ЧЕРНИЦА (*CUDRANIA TRICUSPIDATA* (CARRIÈRE.) BUR. EX LAV.)

Александър Марковски

Селскостопански институт-Скопие, Скопски университет „Св. св. Кирил и Методий, Скопие, Република Македония

E-mail: maraleks@yahoo.com

DYNAMICS OF ROOTING OF STOREHOUSEBUSH (*CUDRANIA TRICUSPIDATA* (CARRIÈRE.) BUR. EX LAV.) CUTTINGS

Aleksandar Markovski

Institute of Agriculture-Skopje, Ss. Cyril and Methodius University in Skopje, Skopje, Republic of Macedonia

РЕЗЮМЕ

Изследвана е динамиката при вкореняване на зрели и зелени резници от новия овощен вид китайска черница (*Cudrania tricuspidata* (Carrière.) Bur. ex Lav.). Bur. ex Lav.). При изследване на способността за вегетативно размножаване на видовете резници са използвани различни условия и ауксин (IBA 1%) за вкореняване. Зелените резници се вкореняват по-добре (53,8 %), отколкото зрелите резници (28,3%). Най-висок процент на вкореняване е получен във вариант със зелени резници, покрити с прозрачно фолио (61,1%). Най-висок процент калусообразуване (40.0%) е постигнат при вариант със зелени резници, третирани с ауксин (IBA 1%). Зелените резници третирани с ауксин имат най-добре оформена коренова система.

Ключови думи: китайска черница, резник, вкореняване, ауксин

SUMMARY

The rooting dynamics of hardwood and semi-hardwood cuttings from new fruit species Storehouse bush (*Cudrania tricuspidata* (Carrière.) Bur. ex Lav.) is investigated. Different conditions and auxin (IBA 1 %) to root cuttings are used for the investigation of species ability for vegetative propagation. The semi-hardwood cuttings are rooting better (53.8 %) than the hardwood cuttings (28.3 %).

The highest rooting percent is obtained in variant of semi-hardwood cuttings covered with transparent foil (61.1 %). The highest callusing percent (40.0 %) is achieved in semi-hardwood cuttings treated with auxin (IBA 1 %). The semi-hardwood cuttings treated with auxin have the best formed root system.

Key words: Storehousebush, cutting, rooting, auxin

УВОД

Китайската черница – известна още и като: Cudrang, Mandarin melon berry, Silkworm thorn или Che (*Cudrania tricuspidata* (Carrière.) Bur. ex Lav.) е нов плоден вид, който отскоро е въведен в овощарството. Произлиза от Източен Китай (провинции Дзянси и Шандун) до непалските Хималаи. Въпреки, че произлиза от области със субтропичен климат, този вид плод е достатъчно толерантен да издържи на зимата в Македония, или под – 20 °C. В Европа е въведен през 1870, а в САЩ през 1909. Дървото достига височина от 6-8 метра, и с подходящи резитби този вид може да бъде култивиран в насаждения като малко плодно дърво или храст. Китайската черница принадлежи към семейство Черничеви и е двудомен овощен вид (Jo et al., 2015), което означава че едно дърво има само мъжки или само женски цветове, така че в овощната градина трябва да има мъжки (неплододаващи) екземпляри за опрашване и плодопроизводство. Тя дава изобилни добиви от червени плодове със среден диаметър от 2.5 cm, с вкус между черница и смокиня. В Китай, освен плодовете, листата на черницата се използват за изхранване на копринената пеперуда. Кората на стъблото и корените на този вид, се изпол-

INTRODUCTION

Storehousebush, also known as: Cudrang, Mandarin melon berry, Silkworm thorn or Che (*Cudrania tricuspidata* (Carrière.) Bur. ex Lav.) is a new fruit kind which recently introduced in agriculture. It is originated from East China (Jiangxi and Shandong provinces) up to Nepalese sub-Himalayas. Although, it is originated from areas with subtropical climate, this fruit kind is an enough cold hardy to tolerate the Macedonian winter, or below – 20 °C. In Europe it was introduced in 1870, and in USA in 1909.

The tree reaches high of 6-8 meters, and with appropriate pruning this kind can be cultivated in plantations as small fruit tree or as shrub. The Storehousebush botanically belong to Moreaceae family and it is dioecious fruit species (Jo et al., 2015), which mean that, one individual tree has functionally only male or female flowers, so in the orchards should be include also a male (infertile) individuals for pollination and for fruit production. It gives abundant yields of red fruits in average diameter of 2.5 cm with taste between mulberry and fig.

In China, except the fruits, the leaves of Storehousebush are used in feeding of the silk moth. The stem and root bark from this fruit kind are used as a traditional зва като традиционно лекарство против възпаления и тумори (Lee et al., 1996). Много изследвания потвърждават инхибиторното действие на екстракта от дървесната кора при туморни клетки (Chang et al., 2008). Екстрактът помага за ле-чение на различни заболявания на костната система, като например ревматоиден артрит (Lee et al., 2010).

Способността за вегетативно размножаване на даден вид, определя неговото присъствие в селското стопанство. Вкореняването на резници от овощни видове е най-лесният, най-бърз и най-евтин начин за производство на еднакви и качествени подложки (Markovski et al., 2015). На лице е различно влияние на условията на околната среда и етапа на развитие на частите на растението, върху корено-вата ефективност при различни плодни видове. В някои случаи, вкореняването на зрели резници изглежда по-ефективно, отколкото вкоеняване на зелени резници (Markovski et al., 2015). Размножаването чрез зрели резници е възможно най-евтиният и лесен безполов метод за сливовите сортове. То не изисква специално оборудване, растителният материал не е толкова нежен колкото при размножаване със зелени резници и могат лесно да бъдат съхранени и транспортирани (Shandor, 2011). Резниците от някои видове се

medicine for curing inflammation and tumors (Lee et al., 1996). Many investigations confirm the inhibitory activity of the extract from tree bark over tumor cells (Chang et al., 2008).

The extract helps in the curing of different kind of bone diseases, such as rheumatoid arthritis (Lee et al., 2010).

The ability of one fruit kind for vegetative propagation determines its inclusion in the agriculture. The rooting of the cuttings from the fruit kinds is the simplest, the fastest and the cheapest way for production of uniform and quality rootstocks (Markovski et al., 2015).

There is different influence of environmental conditions and development stage on the rooting efficiency of the plant parts in different fruit kinds. In some instances, the rooting of the hardwood cuttings appears more efficient than the rooting of the softwood cuttings (Markovski et al., 2015). Propagation by hardwood cuttings is potentially the cheapest and simplest asexual method for plum stocks.

It requires no special equipment, the plant material is not delicate such as on softwood cuttings propagation, and can easily be stored and transported (Shandor, 2011). Cuttings from some species root readily without auxin вкореняват веднага без третиране с ауксин, докато резниците от други не се вкореняват лесно (Avci et al., 2010). От друга страна, присъствието на листа е важно за вкореняване на зелени или летни резници, въпреки че подрязването на листата и отстраняването на някои листа от резници с много възелчета е традиционна практика за намаляване на изпаренията (Leakey, 1989). Много изследвания посочват голямото значение на наличието на листа за подобряване на вкореняването на резници (Suarez et al., 1999). Нещо повече, наличието на листа при стъблените резници е необходи-мо за оптимално вкореняване, тъй като обезлистването пони-жава вкореняването, дори когато периодът за вкореняване е удължен от 5 до 10 дни (Malik et al., 2012). По време на експеримента за вкореняване на резници се наблюдава значително взаимодействие между субстрата и листната област по отношение процента на вкореня-ване,, което също така повлиява значително броя на корените от един резник (Mpeck et al., 2007). В подкрепа на тези и подобни изследвания, се стигна до целта, чрез изследване на различни условия и биостимулатори да се открие най-добрият начин за ефективно размножаване на този нов овощен вид.

treatment, while cuttings from others do not root easily (Avci et al., 2010).

In other hand, the presence of leaves is essential for rooting in softwood or summer cuttings, although leaf trimming and the removal of some leaves from multi-node cuttings has been a traditional practice to minimize water stress caused by transpiration (Leakey, 1989). Many investigations suggest the great importance of the leaf presence for improving the rooting of the cuttings (Suarez et al., 1999). Even more, the presence of leaf with the stem cutting is necessary for optimal rooting as defoliation drastically reduced rooting, even when the rooting time is extended from 5 to 10 days (Malik et al., 2012).

Significant substrate and leaf area interaction on rooting percentage is observed throughout the experiment of rooting cuttings, also this affect significantly on the number of roots per cutting (Mpeck et al., 2007).

Encouraged by these and similar investigations is built in the aim, that through investigation of the different conditions and biostimulators, to find best way to effectively propagate this new fruit kind.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Извършено е изследване на способността за вкореняемост на зрели и зелени резници на *Cudrania tricuspidata,* в периода 2014-2015. За вкореняване са използвани едногодишни резници от млади (4-5 годишни) майчини дървета, заложени в оранжерийни условия, с въздушна температура от 20 ^{o}C и влажност над 80%. Зрелите резници са със средна дължина 20-25 cm, и 6-8 mm дебелина, заложени на 15 ноември. Докато зелените резници са с 10-15 cm дължина, с 1-3 листа и са заложени на 15 септември. Резниците са заложени в два варианта: 1^{ви} – третирани с биостимулатор 1% IBA (C12H13NO2 (индол-3-маслена киселина)) в съд с талк; 2^{ри} – 5 cm от горния край на резниците покрити с прозрачно фолио; и контрола. Във вариант 1, долната част на резника е третирана с биостимулатор. Контролата и вариант 1 се поливат с автоматична система за пръскане с водна мъгла, докато във вариант 2 се използва капилярна подложка.

Резниците са пръскани с Превикур и Беномил веднага след като са заложени, и на всеки 10-12 дни след това.

Резниците са вкоренени на дълбочина от 10 cm в речен пясък, при разстояние от 15 x 10 cm. Динамиката на вкореняване и процентът на калусообразуване се изчислява с произволно изваж-

MATERIAL AND METHODS

Investigation of rooting ability of the hardwood and semi-hardwood cuttings of *Cudrania tricuspidata* in the period 2014-2015 is performed. One year old cuttings from young (4-5 years) mother trees for rooting are used and set in greenhouse conditions with air temperature of 20 ^{o}C and humidity over 80 %. The hardwood cuttings are in average 20-25 cm long, and 6-8 mm thick. They are set on 15th November, while the semi-hardwood cuttings are 10-15 cm long, with 1-3 leaves and set on 15th September. The cuttings are set in two variants: 1 - treated with biostimulator 1 % IBA ($C_{12}H_{13}NO_2$ (Indole-3-butyric acid)) in talc carrier; 2 – covered with transparent plastic folio – 5 cm from the top of the cuttings; and control. In variant 1, the cutting basal part is treated with biostimulator.

The control and the variant 1 are watered with automatic misting system, while in the variant 2 capillary mating is used.

The cuttings are protected with proper solution of Previcur and Benomil immediately after cuttings set, and every 10-12 days after that.

The cuttings are rooted in 10 cm deep river sand, on 15 x 10 cm distance between the cuttings. The dynamics of rooting and callusing percent is calculated at the cuttings дане на резници на всеки 15 дни.

Данните са статистически анализирани с ANOVA и критерий на Фишер за множествено сравнение при ниво 0.05 като е използван софтуер "Minitab".

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Майчините дървета, от които са взети резниците, са в отлично състояние и здраве. Зелените резници се характеризират с ранно формиране на калус (15.8%) на 30-и ден, най-вече в долната част на резниците. Наличието на листа значително благоприятства калусообразуването и оформянето на корена, като също намалява или инхибира израстването от пъпки до филизи при маслината (Suárez et al., 1999). В подобно изследване е установено, че наличието на листа повишава нивата на путресцин, а резници които нямат листа не показват увеличаване на нивата на путресцин и не произвеждат корени при резници от китайски горчив пъпеш (Malik et al., 2012). В нашето изследване, контролата показва бързо увеличаване на процента на калуса при зелени резници (36.3 %) до 60-и ден от залагането (Фигура 1). Процентът на калусообразуването до 90-и ден не се променя значително, достига максимално 37.8%. Застой в калусообразуването настъпва в периода на начало на вкореняването на резниците (около 60-и ден). След около три месеца,

random extraction every 15 days.

The data are statistically analyzed by ANOVA and Fisher's multiple comparison test at a level of 0.05 using the Minitab software.

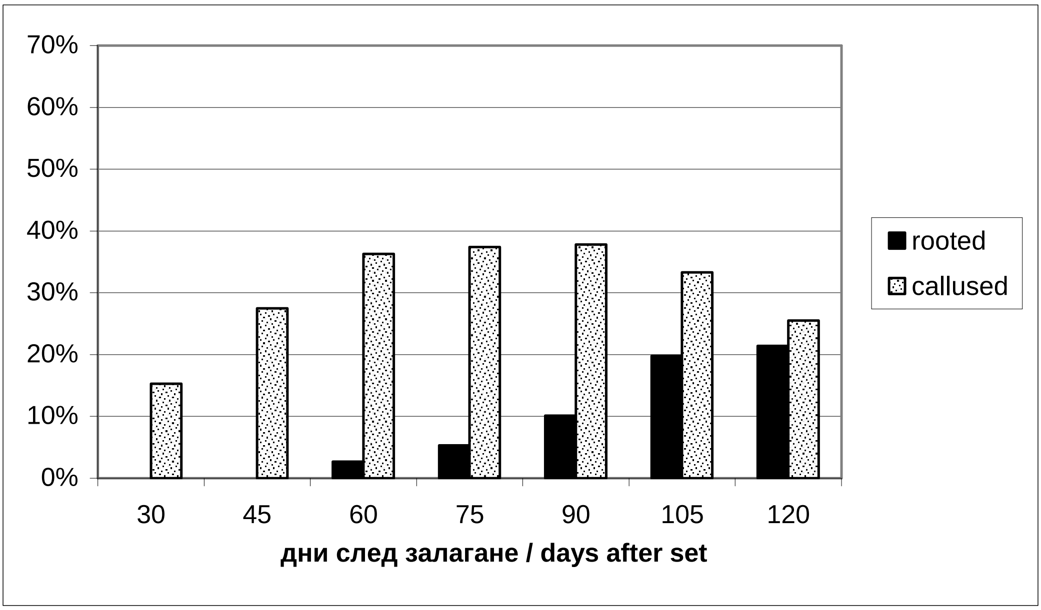
RESULTS AND DISCUSSION

The mother trees from which are taken the cuttings are in excellent condition and health. The semi-softwood cuttings are characterized with early beginning of the callusing (15.8 %) in the 30th day, mostly in basal part of the cuttings. Presence of leaves significantly favoured callus and root formation and decreased or inhibited the outgrowth of buds to shoot in olive (Suárez et al., 1999).

In the similar investigation is recorded that the presence of leaf promoted the levels of putrescine and cuttings that did not have leaf did not show an increase in putrescine levels and did not produce roots in cuttings of bitter melon (Malik et al., 2012). In our investigation, the control shows the rapid increasing of the percent of callusing cuttings (36.3 %) up to 60th day from the set, at semi-softwood cuttings (Figure 1). The callusing percent until 90th day did not change significantly, when reaches maximum 37.8 %. The stagnation in the callusing is at the same time with the beginning of the cuttings rooting (around 60th day). After about three months from the set of the cuttings it can при заложените резници може да бъде забелязано понижаване на процента на калуса, тъй като повечето са вече вкоренени, или преди това са премахнати, защото са изсъхнали или изгнили. За разлика от динамиката при калусообразуването, вкореняването на зелени резници се увеличава постоянно до 105-и ден (19.8%) и в края то достига максимално 21.4%. Интересно е да се отбележи периодът (до 30-и ден), когато листата на резниците падат, така че повечето резници са вкоренени като зрели. Освен това, при повечето резници от контролата се появява вторичен растеж (Таблица 1).

be noted decreasing of the callusing cuttings percent, because most of them have been already rooted, or before removed as dried out, or rotten.

Unlike the callusing dynamic, it is recorded that the rooting of semi-hardwood cuttings is in continuous increase until the 105th day (19.8 %), and at the end it reached maximum of 21.4 %. It is interesting to note the period (until 30th day) when cuttings leaf drop, so the most of the cuttings are rooted as hardwood cuttings. Also, at the most of the control cuttings the secondary growth is appearing (Table1).



(rooted – вкоренени; callused – калусообразуване)

Фиг. 1. Калусообразуване и вкореняване на зелени резници (контролна група)
Fig. 1. Callusing and rooting of semi-hardwood cuttings (control group)

Таблица 1. Характеристика на коренова система на вкоренени резници
Table 1. The characteristics of root system on rooted cuttings

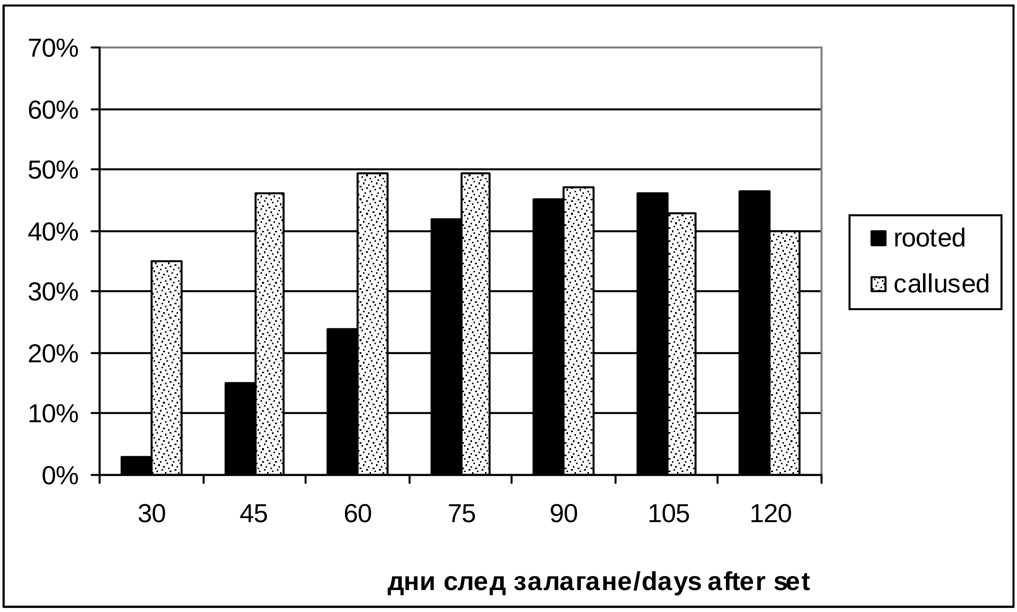
Заложени през / Set in	Растеж Growth (cm)	Обем на корени Root volume (cm^3)	Бр. Корени Root number	Дължина на акорени Root length (cm)
Септември покрити с фолио September, covered with folio	3,2 ab	0,43 b	5,0 ab	5,8 a
Септември в парник (контрола) /September, in greenhouse (control)	2,1 abc	0,15 c	2,8 bc	3,5 a
Септември, в парник/IBA 1% September, in greenhouse/IBA 1%	4,2 a	0,79 a	7,5 a	6,3 a
Ноември, в парник/IBA 1% November, in greenhouse/IBA 1%	3,8 ab	0,2 bc	3,7 bc	4,3 a

***** Стойностите следвани от същата буква във всяка колона нямат значима разлика при P ≤0.05 по критерий на Фишер за множествено сравнение.
***** The means followed by the same letter in each column are not significantly different at P ≤0.05 by Fisher's multiple comparisons test.

Зелените резници третирани с ауксин (IBA 1 %) се вкореняват почти с двойно по-голям процет до 30-и ден (35.0%), за разлика от контролните резници (Фигура 2). Увеличаването на процента на калуса при резниците, продължава до 60-и ден (49.3%), когато остава в застой или се понижава. Процентът калус се понижава, когато се достигне най-голямо увеличение на кореновата система. Резниците третирани с ауксин се характеризират с калус в долната част и с очички в долната част на резниците. Друго изследване показва, че кореновото развитие на резници на нийм е силно повлияно от листната област и IBA, а оттам и растежа на вкоренените резници (Kamaluddin, 1996). Вкореняването на резници третирани с ауксин започва само три дни след залагането им и се

The semi-hardwood cuttings treated with auxin (IBA 1 %) are rooted almost in doubled percent until 30th day (35.0 %), than the control cuttings (Figure 2). The increasing of the percent of callusing of the cuttings, runs to the 60th day (49.3 %), when begins the stagnation or decrease of the callusing percent. The callusing percent decrease, when reached the largest increase of the rooting percent. The cuttings treated with auxin are characterized with callusing of the basal part and with the lenticels callusing at the bottom of the cuttings. Another investigation shown that, the root development in cuttings of Neem is highly influenced by the leaf area and IBA, and hence the growth of rooted cuttings (Kamaluddin, 1996). The rooting of the cuttings treated with auxin beginning only thirty days after set of the cuttings, and increasing увеличава бързо до 75-и ден, когато достига 42.1%, като по-късно процентът на вкореняване се увеличава постепенно до максимално 46.4%. Дори при слаба концентрация на IBA (100 ppm), вкореняването на *Cudrania tricuspidata* показва добри резултати (Kim et al, 2004). Вкоренените резници от тази група, се характеризират с най-доброто качество, от изследваните варианти, със статистически значим вторичен растеж, най-голям брой корени и най-голям обем на кореновата система (Таблица 1). Статистически значим е процентът на вкоренени зелени резници третирани с ауксин, в сравнение с контролната група.

rapidly up to 75th day, when reached 42.1 %, and later the rooting percent increase gradually to maximum 46.4 %. Even at small concentrations of IBA (100 ppm) the rooting of *Cudrania tricuspidata* showed good results (Kim et al, 2004). The rooted cuttings from this group of cuttings, are characterized with the best quality, in treatment comparison, with statistically significant the bigger secondary growth, the largest number of roots, and the biggest volume of the root system (Table 1). Also, statistically significant the bigger is the rooting percent of the semi-hardwood cuttings treated with auxin, compared with the control group cuttings.



(rooted – вкоренени; callused – калусообразуване)

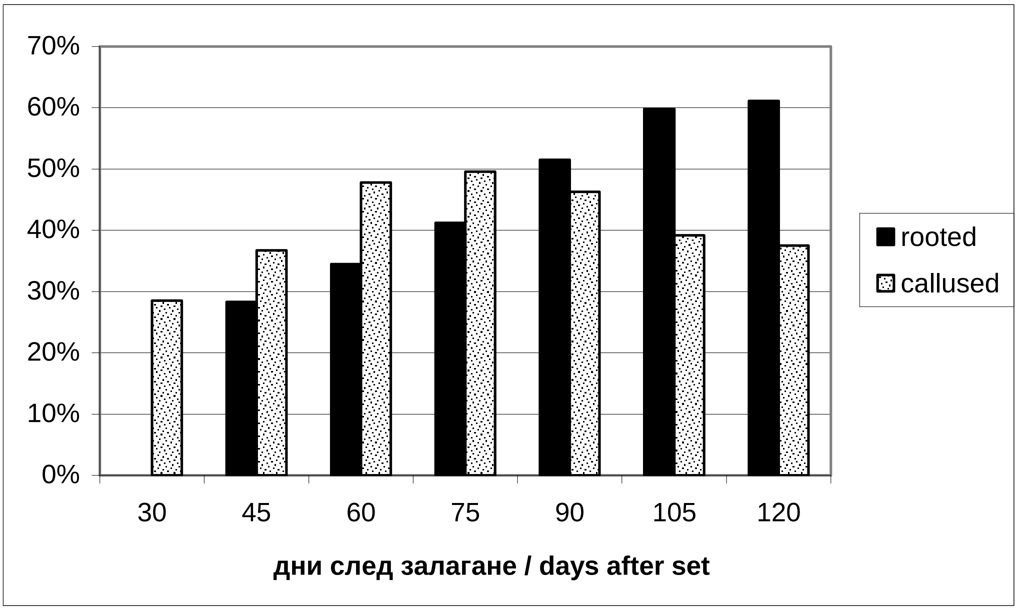
Фиг. 2. Калусообразуване и вкореняване на зелени резници третирани с ауксин (IBA 1%)

Fig. 2. Callusing and rooting of semi-hardwood cuttings treated with auxin (IBA 1%)

Покрити с прозрачно фолио без третиране с ауксин, зелените резници се характеризират с отлично калусообразуване и вкореняване (Фигура 3). Калусът започват интензивно образуване през първия месец, когато достигат 28.5%. Периодът на задържане на листата продължава до 60-и ден, а при 16% от резниците до края на изследването (120-и ден). За размножаване чрез резници, една от важните променливи, които повлияват вкоренителната способност е задържането на листа (Bona et al., 2010). Като цяло, калусообразуването е по-слабо в сравнение с това при зелените резници третирани с ауксин (Фигура 2). Вкореняването на резниците от тази група, започва усилено, но продължава след 90-и ден, за разлика от третираните резници с ауксин (Фигура 3). Покритите зелени резници имат най-висок процент вкореняване (61.1%). Освен това, покритите резници се характеризират с добро качество, но не са толкова добри колкото зелените резници третирани с ауксин (Таблица 1). Установено е, че зелените резници покрити с прозрачно фолио имат статистически значим по-висок процент вкореняване, в сравнение с контролата (21.4%) и със зрелите резници третирани с ауксин (28.3%).

Covered with transparent foil without auxin treatment, semi-hardwood cuttings are characterized with excellent callusing and rooting (Figure 3). The callusing begins intensively even in the first month, when is reached 28.5 %. The period of leaf retention, lasts almost to the 60th day and at 16 % of the cuttings to the end of the investigation (120th day). During cutting propagation, one of the important variables that influence the rooting capacity of cuttings is the leaf retention (Bona et al., 2010). In general, the callusing is weaker compared with semi-hardwood cuttings treated with auxin (Figure 2). The rooting of the cuttings in this group of cuttings, beginning intensive, but continues after the 90th day, unlike the treated cuttings with auxin (Figure 3).

The covered semi-hardwood cuttings are prominent by the highest percent of rooting (61.1 %). Also, the covered cuttings are characterized with good quality, but not as good as the semi-hardwood cuttings treated with auxin (Table 1). It has been determined that the semi-hardwood cuttings covered with transparent foil have statistically significant higher rooting percent compared to the control (21.4 %) and to the hardwood cuttings treated with auxin (28.3 %).

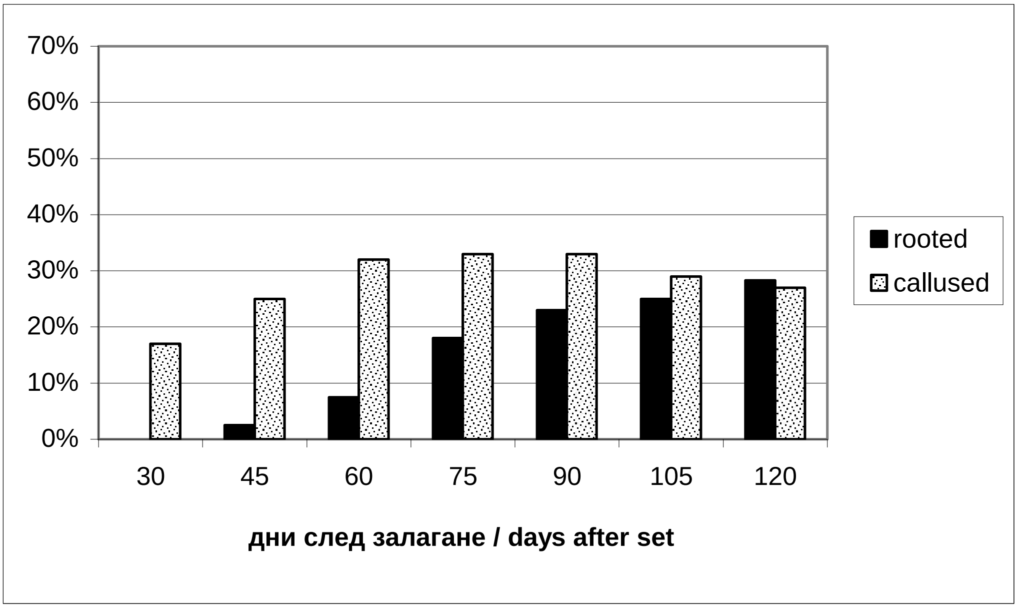


(rooted – вкоренени; callused – калусообразуване)

Фиг. 3. Калусообразуване и вкореняване на зелени резници покрити с прозрачно фолио
Fig. 3. Callusing and rooting of semi-hardwood cuttings covered with transparent foil

Значително понижена способност за образуване на калус и вкореняване е забелязана при зрели резници, поставени през ноември и третирани със същата концентрация на IBA (1%) (Фигура 4). Влиянието на ауксин върху зрелите резници също е понижено, така че динамиката при калусообразуването е сходна с тази при нетретираните с ауксин зелени резници (Фигура 1). Вкореняването на резници започва след 45-и ден, а броят на вкоренените резници бързо нараства до 75-и ден и на 120-и ден достига 28.3%. Вкоренените резници се характеризират с лошо качество (Таблица 1).

Considerably decreased ability for callusing and rooting is noted at the hardwood cuttings placed in November and treated with same concentration of IBA (1 %) (Figure 4). The influence of the auxin over hardwood cuttings is also decreased, so the dynamic of callusing is similar to that of the untreated with auxin semi-hardwood cuttings (Figure 1). The rooting of the cuttings beginning after 45 days and the rooted cuttings number rapidly increases until the 75th day, and at the 120th day is reached 28.3 %. The rooted cuttings are characterized with poor quality (Table 1).

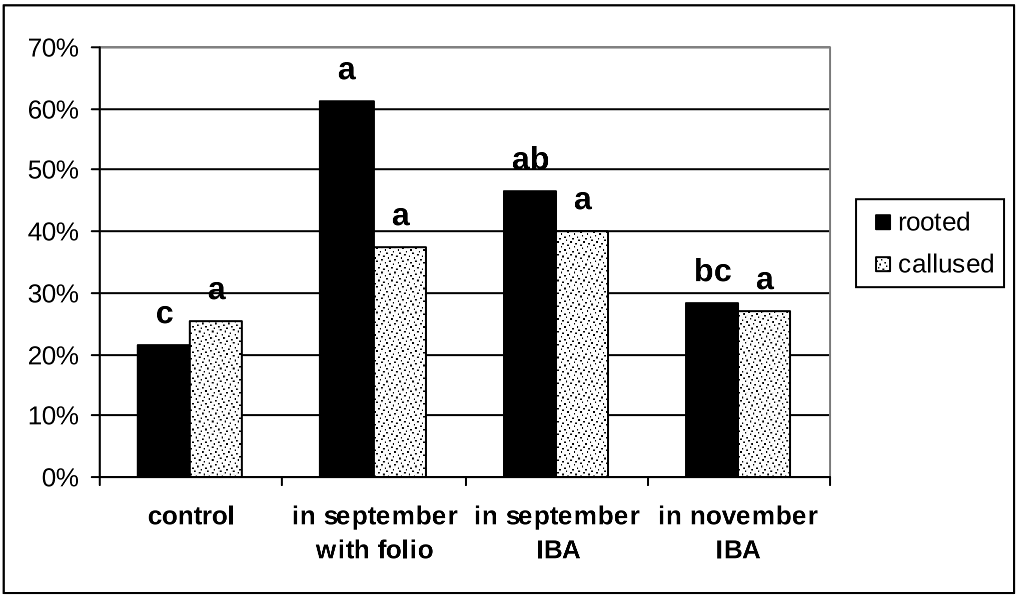


(rooted – вкоренени; callused – калусообразуване)

Фиг. 4. Калусообразуване и вкореняване на зрели резници третирани с ауксин (IBA 1%)
Fig. 4. Callusing and rooting of hardwood cuttings treated with auxin (IBA 1%)

Зелените резници третирани с ауксин имат статистически значима разлика при вторичния растеж и при обема на корените, в сравнение с другите варианти. Броят на корените в тази група се отличава статистически в сравнение с контролата (Таблица 1). От гледна точка на калусообразуването не е установена статистически значима разлика сред третиранията (Фигура 5).

The semi-hardwood cuttings treated with auxin statistically significant differ by secondary growth of the cuttings and by root volume, compared with the other treatments. The roots number of this group of cuttings significant distinguished compared with the control (Table 1). In terms of the cuttings callusing, it is not found statistically significant difference among the treatments (Figure 5).



(rooted – вкоренени; callused – калусообразуване)

Фиг. 5. Сравнение на калусообразуването и вкореняването по варианти
Fig. 5. Comparison of callusing and rooting of the treated cuttings

ИЗВОДИ

Тези иследвания показват, че новият овощен вид *Cudrania tricuspidata* (китайската черница) има висока вкоренителна способност. Вкореняването на септемврийските зелени резници се оказва значително по-ефективно, отколкото вкореняването на зрели резници, заложени през ноември. Лесният метод на ниско покриване на резниците с прозрачно фолио, което позволява по-продължително задържане на листа, предоставя по-добра способност за вкореняване на зелени резници, в сравнение със зелени резници третирани с ауксин (IBA 1 %). Препоръчва се употребата на този или сходен метод и химикали за по-

CONCLUSIONS

These investigations show that the new fruit kind *Cudrania tricuspidata* (Storehousebush) have high rooting ability. Rooting of the September semi-hardwood cuttings has proved significantly as more efficient, than the rooting of the hardwood cuttings, set in November. The simple method such as using of the cuttings low covering with transparent foil, which enables longer leaf retention, gives the better rooting ability of the semi-hardwood cuttings, compared with the semi-hardwood cuttings treated with auxin (IBA 1 %).

It is recommended using of this or similar methods and chemicals for добро задържане на листата на зелени резници на *Cudrania tricuspidata*, тъй като те имат голямо влияние върху способността за вкореняване.

better leaf retention of the semi-hardwood cuttings at *Cudrania tricuspidata*, because they have high influence over cuttings rooting ability.

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. **Avci S., Cocu S., Aasim M., Sancak C., Ozcan S.** Effects of treating with auxin solutions on rooting of cuttings of sainfoin (Onobrychis viciifolia). *Tropical Grasslands*, 2010, Vol. 44, pp.123–127.
2. **Bona C. M., Biasi L. A.** Influence of leaf retention on cutting propagation of Lavandula dentata L.. *Revista Ceres*, 2010, *57*(4), 526-529.
3. **Chang SH, Jung EJ, Lim DG, Oyungerel B, Lim KI, Her E, Choi WS, Jun MH, Choi KD, Han DJ, Kim SC.** Anti-inflammatory action of Cudrania tricuspidata on spleen cell and T lymphocyte proliferation. *J Pharm Pharmacol*, 2008, No. 60, pp.1221-1226.
4. **Jo Y. H., Choi K, Liu Q., Kim S. B., Ji H., Kim M., Shin S., Do S., Shin E., Jung G., Yoo H., Hwang B. Y., Lee M. K.** Anti-Obesity Effect of 6,8-Diprenylgenistein, an Isoflavonoid of Cudrania tricuspidata Fruits in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*, 2015, No.7, pp.10480–10490.
5. **Kim I.J., Kim M.J., Nam S.Y., Lee C.H., Kim H.S.** Effect of bedsoil and Growth regulator on cutting propagation of Cudrania tricuspidata Bureau. *Korean J. Medical Crop.Sci*. 2004, No.12, pp. 285-288.
6. **Leakey R.R.B. and Couitts M.P.** The dynamics of rooting in Triplochiton scleroxylon cuttings: their relation to leaf area, node position, dry weight accumulation, leaf water potential and carbohydrate composition. *Tree Physiology*, 1989, No.5, pp.135-146.
7. **Lee E., Yun H., Lee S., Yoo W.** Ethyl Acetate Fraction from Cudrania Tricuspidata Inhibits IL-1β-Stimulated Osteoclast Differentiation through Downregulation of MAPKs, c-Fos and NFATc1. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 2010, Vol. 25, No. 1, pp. 92-100.
8. **Lee IK, Kim CJ, Song KS, KIM HM, Koshino H, Uramoto M., Yoo ID.** Cytotoxic benzyl dihydroflavonolsfrom Cudrania tricuspidata. *Phytochemistry*; 1996, No.41, pp.213-216.
9. **Malik N. S. A., Perez J. L., Kunta M.** The effect of leaf presence on the rooting of stem cutting of bitter melon and on changes in polyamine levels. *Agricultural Sciences*, 2012, Vol.3, No. 7, pp. 936-940.
10. **Markovski A., Popovska M., Gjamovski V.** Investigation of the possibility for production of some stone fruit species rootstocks with rooting cuttings. *Acta Agriculturae Serbica*, 2015, Vol. XX, No. 39, pp. 75-83.
11. **Mpeck M. N., Atangana A.** Rooting of Leafy Stem Cuttings of Baillonella toxisperma. *Forest Science*, 2007, Vol.53, No.5, pp. 571-579.
12. **Sandor G.** Changes of auxin content in the rooting zone of hardwood plum cuttings. *Thesis of PhD Dissertation*. 2011, Corvinus University of Budapest Department of Pomology, Budapest.
13. **Suárez M.P., López-Rivarés E.P., Lavee S., Troncoso A.** Rooting capability of olive cuttings, cv. gordal: influence of the presence of leaves and buds. *Acta Hortic*., 1999, 474, pp.39-42.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 1, 2016, (148-157)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

РАВНОМЕРНОСТ НА РАЗПРЕДЕЛЕНИЕТО НА РАЗТВОРЕНИ В ПОЛИВНАТА ВОДА СУБСТАНЦИИ ПРИ КАПКОВО НАПОЯВАНЕ

Куман Куманов*, Ирина Станева, Георги Корнов

Институт по овощарство, 4004 Пловдив, България
**E-mail: kskoumanov@hotmail.com*

DISTRIBUTION UNIFORMITY OF DISSOLVED IN THE IRRIGATION WATER SUBSTANCES UNDER DRIP IRRIGATION

Kouman Koumanov*, Irina Staneva, Georgi Kornov

Fruit-Growing Institute, 4004 Plovdiv, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

Равномерността на разпределението на внасяните с поливната вода агрохимикали чрез системата за микронапояване е решаваща за този начин на използването им, известен като химигация. Оценката ú е предмет на експеримент, изведен в 0.55 ha капково напоявана черешова градина. За целта в 30 точки, равномерно разпределени върху територията на поливната система, са определени дебитите на изтичане, концентрациите и количествата на инжектираните торове [нитратен ($N\text{-}NO_3^-$) и амониев ($N\text{-}NH_4^+$) азот, фосфор (PO_4^{3-}) и калий (K^+)], както и pH на поливната вода. Още една проба е взета от сондажната вода преди преминаването й през торосмесителя. Равномерността на разпределение е определена чрез коефициента на Кристиянсен (UC). Във втори експеримент е изследвано времето за придвижване на разтворените в поливната вода субстанции от мястото на постъпването им в капковата система до най-отдалечените точки на полето, както и

SUMMARY

The distribution uniformity of the agrochemicals applied with the irrigation water through a microirrigation system is decisive for this mode of their usage known as chemigation. The uniformity was evaluated in an experiment carried out in a 0.55 ha drip-irrigated cherry orchard. For the purpose, the dripper's discharge, the concentrations and the quantities of the injected fertilizers [nitrate ($N\text{-}NO_3^-$) and ammonium (N-NH4+) nitrogen, phosphorus (PO_4^{3-}) and potassium (K^+)], as well as the irrigation water pH were estimated/measured in 30 locations, uniformly distributed over the irrigation system territory. An additional sample was taken from the ground water in a point before the fertilization tank. The distribution uniformity was evaluated using the Christiansen's uniformity coefficient (CU). A second experiment studied the time necessary for the dissolved substances to travel from the entrance to the most distant points of the drip system, as well as their concentrations' change in these points at изменението на концентрацията им в тези точки при стартиране и прекратяване на фертигацията. В този случай проби за анализ са вземани в началото и в двете симетрични крайни точки на системата през всеки пет минути в течение на 30 минути след старта на химигацията и 30 минути след прекратяването ѝ. Резултатите показват една много добра равномерност на разпределение (UC = 80÷90%), съответстваща на изискванията на химигацията.

Ключови думи: химигация, азот, фосфор, калий, pH, инерционност на системата

both the start and the cessation of chemigation. In that case samples were taken at the entrance and at the two symmetrical most distant points of the system, at time intervals of five minutes for periods of 30 minutes following the start and the cessation of chemigation.

The results show a very good distribution uniformity (UC = 80÷90%), which corresponds to the chemigation requirements.

Key words: chemigation, nitrogen, phosphorus, potassium, pH, lag of the system

УВОД

Освен предимствата си при осигуряване на благоприятен воден режим за културните растения, системите за микронапояване предоставят възможност за внасяне с поливната вода на някои от използваните в растениевъдството химикали. Тази практика е известна под термина "химигация" и може да включва внасянето на торове, хербициди, инсектициди, фумиганти, нематоциди, почвени подобрители и други субстанции (Aitken, 1985; Burt et al., 1995; Haydock et al., 2006; Neilsen et al., 2000; Waterman, 2001; Ajwa et al., 2002; Burt, 2003, Morales-Sillero et al., 2008; Tognetti et al., 2008).

Технически въпросът с внасянето на химични агенти с поливната вода при микронапояване е решен на едно високо ниво като са разработени цяла гама от средства за смесване, инжектиране и дозиране (Burt, 1995; Rolston et al., 1986). Не така

INTRODUCTION

Besides the advantage of providing favourable water regime to crops, the microirrigation systems can be used for application of some chemicals, used in crop production.

This practice is known as "chemigation" and can include the application of fertilizers, herbicides, insecticides, fungicides, fumigants, nematicides, soil amendments, and other substances (Aitken, 1985; Burt et al., 1995; Haydock et al., 2006; Neilsen et al., 2000; Waterman, 2001; Ajwa et al., 2002; Burt, 2003, Morales-Sillero et al., 2008; Tognetti et al., 2008).

The application of chemical agents with the irrigation water is developed to a high technical level. There is a gamma of devices for mixing, injecting and dosing (Burt, 1995; Rolston et al., 1986).

From technological point of view,

стоят нещата обаче от технологична гледна точка, където изследванията са малко, а информацията за сроковете и дозите на внасяне, придвижването на агрохимикалите в почвата, динамиката на усвояването им от растенията и времето за разграждането им е недостатъчна. Важна за подобряване технологията на химигация е също темата за придвижването и равномерността на разпределението на разтворените в поливната вода субстанции в рамките на системата за микронапояване, на която е посветена настоящата публикация.

however, the investigations are rare and the information is scarce concerning the timing and the application doses, the agrochemicals' migration and localization in the soil, the dynamics of their absorption by plants, and the time for their decomposition. Another issue, important for the improvement of chemigation technology, is the transportation and the distribution uniformity of dissolved substances throughout the system of microirrigation, and this is the objective dealt with in the present publication.

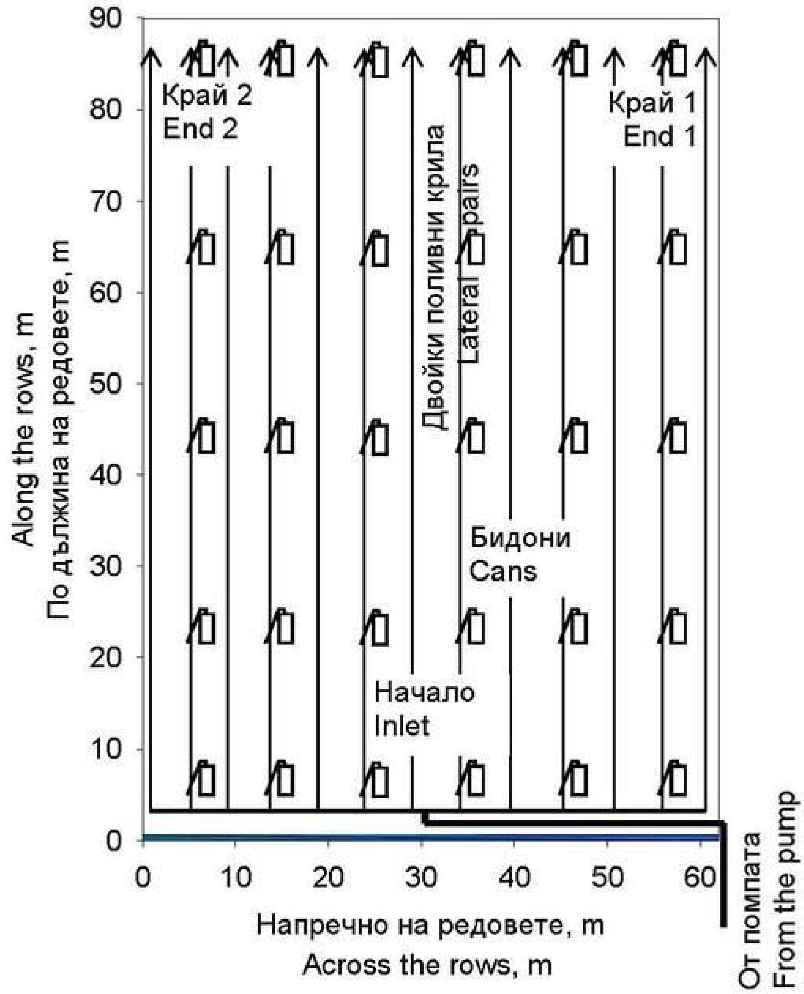
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Равномерността на разпределението на внасяните с поливната вода агрохимикали в системата за микронапояване е изследвана през 2015 г., по време на фертигация със сложния тор "Кристалон" на YARA. За целта в 30 точки, равномерно разпределени върху територията на 0.55 ha овощна градина, върху поливните крила са монтирани микротръбички с дебит 4 l s^{-1} като изтичащият през тях воден разтвор е събиран в пластмасови бидони в продължение на целия цикъл на фертигацията (Фиг. 1). Още една проба е взета от сондажната вода преди преминаването ѝ през торосмесителя. Торосмесителят е от типа с непрекъснато разреждане.

MATERIAL AND METHODS

The distribution uniformity of dissolved agrochemicals in a system of microirrigation was studied in 2015, during a fertigation event with the complex fertilizers “Kristalon” of YARA. For the purpose, microtubings with discharge of 4 l s^{-1} were mounted onto drip laterals in 30 locations uniformly distributed over the territory of a 0.55 ha orchard.

The running out solution was collected in plastic cans during the whole span of the fertigation, (Fig. 1). An additional sample was taken from the well-water before it passed through a differential fertilization tank.



Фиг. 1. Схема на опитния участък за определяне равномерността на разпределение
Fig. 1. Experimental setup for distribution uniformity estimation

Събраните проби са анализирани за съдържание на нитратен (N-NO_3^-) и амониев (N-NH_4^+) азот, фосфор (PO_4^{3-}) и калий (K^+), както и за pH. Едновременно със събирането на пробите е измерен и дебитът на микротръбичките. От установените кон-

The collected samples were analyzed for content of nitrate (N-NO_3^-) and ammonium (N-NH_4^+) nitrogen, phosphorus (PO_4^{3-}) and potassium (K^+), as well as for pH. The discharge of microtubes was measured in the same time with the samples collection. The центрации на минералните елементи и дебита на изтичане са изчислени подадените количества от всеки минерален елемент, след което определените стойности са редуцирани с количествата в сондажната вода. Равномерността на разпределение е определена чрез коефициента на Кристиянсен:

applied quantities of each mineral element were calculated from its estimated concentrations in the irrigation water and the measured discharge. Then the obtained values were reduced with the element's quantities in the well-water. The distribution uniformity was evaluated using the Christiansen's coefficient:

$$UC = \frac{\sum_i^n |x_{av} - x_i|}{n x_{av}} 100, \%$$

където x_{av} е средното аритметично от всички измервания, а x_i е поредното измерване.

Във втори експеримент е изследвано времето за придвижване на разтворените в поливната вода субстанции от мястото на постъпването им в капковата система до най-отдалечените точки на полето, както и изменението в концентрацията им при стартиране и прекратяване на фертигацията. За целта проби за анализ са вземани в началото и в двата симетрични края на системата през всеки пет минути в течение на 30 минути след старта на фертигацията и още 30 минути след прекратяването ѝ на тридесетата минута от началото на експеримента. Като индикатори са използвани съдържанието в поливната вода на нитрати ($N\text{-}NO_3^-$), фосфор (PO_4^{3-}) и калий (K^+), както и pH стойностите.

where x_{av} is the average of all measurements, and x_i is the *i*-th measurement.

A second experiment studied the time needed for the dissolved in the irrigation water substances to travel from the inlet to the endmost points of the drip block, as well as the change of their concentrations in the sampling locations with the time after starting and holding the fertigation.

In that case, water samples were taken every five minutes in a period of 30 min from the start till the termination of the fertigation, and for another 30 min after the fertilizer injection had been terminated.

The content of nitrate ($N\text{-}NO_3^-$) and ammonium ($N\text{-}NH_4^+$) nitrogen, phosphorus (PO_4^{3-}) and potassium (K^+), as well as the pH values were used as indicators.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите относно равномерността на разпределение на разтворените в поливната вода различни субстанции, изразена чрез коефициента на равномерност на Кристиянсен, са представени в Таблица 1. Стойностите на коефициента варират от 80% до 97% и доказват една много добра равномерност на разпределение, съответстваща на целите на химигацията.

RESULTS AND DISCUSSION

The Christiansen's coefficient values representing distribution uniformity of the substances dissolved in irrigation water are given in Table 1.

The obtained values of 80% to 97% prove very good distribution uniformity, corresponding to the requirements of chemigation.

Таблица 1. Стойности на коефициента на равномерност на Кристиянсен (CU) по отношение на концентрацията в поливната вода и внесеното количество от изследваните субстанции за един цикъл на фертигация
Table 1. Cristiansen's coefficient values regarding the concentrations in irrigation water and the applied quantities of the studied substances for a fertigation cycle

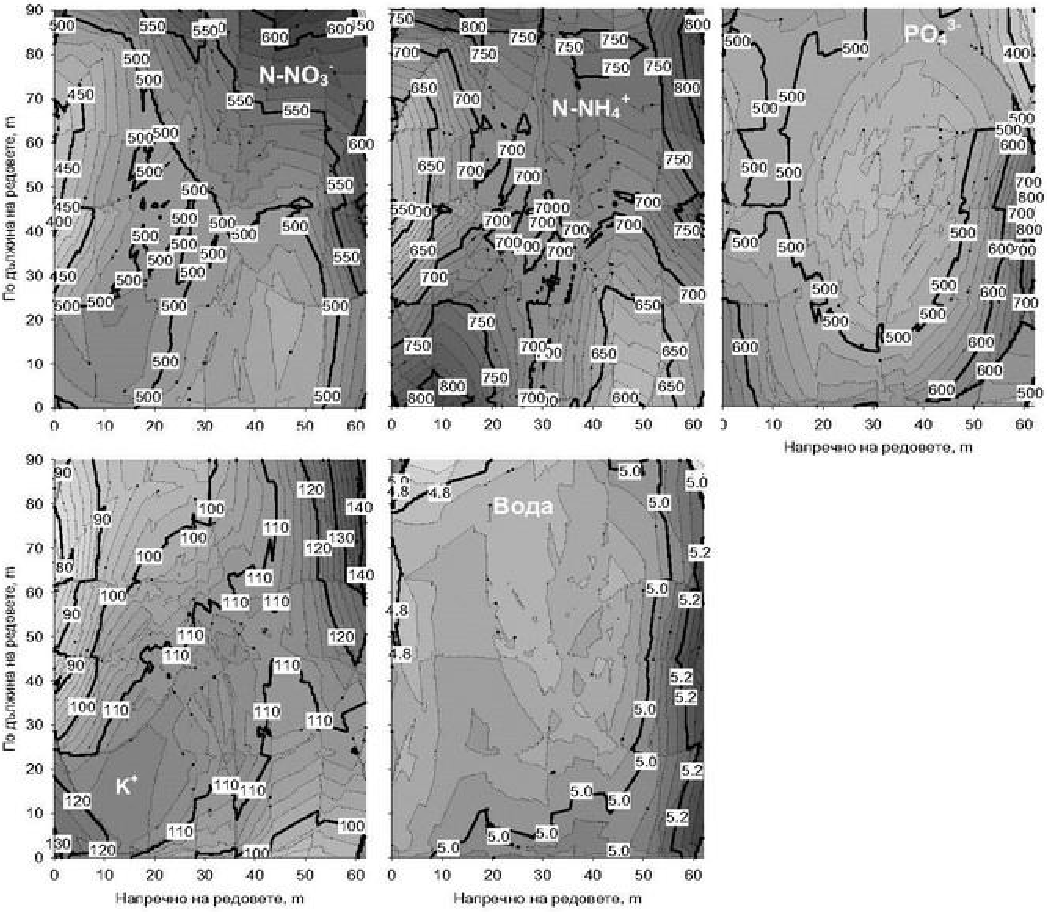
Показатели Indices	Стойности на коефициента на равномерност на Кристиянсен, % Cristiansen's coefficient values, %					
	$N\text{-}NO_3^-$	$N\text{-}NH_4^+$	PO_4^{3-}	K^+	pH	Вода Water
Концентрация Concentration	89.5	87.4	80.0	86.7	97.1	-
Количество Quantity	88.5	87.2	79.8	85.9	-	96.5

Разпределението на подадените количества торове и вода върху територията на овощната градина за изследвания цикъл на фертигация е показано на Фиг. 2.

Трябва да се отбележи обаче, че в крайната оценка на равномерността на разпределение се включват също така производствената и хидравличната неравномерност, както и грешката на химичния анализ.

The distribution of the applied fertilizer and water quantities over the orchard territory during the studied fertigation cycle is shown on Fig. 2.

It has to be noted, however, that the final estimates of the distribution uniformity comprise also the production and the hydraulic non-uniformity, as well as the errors of the chemical-analysis methods.



Фиг. 2. Разпределение на количествата (mg) на разтворени в поливната вода субстанции и на подадените водни обеми (dm^3) върху територията на овощната градина

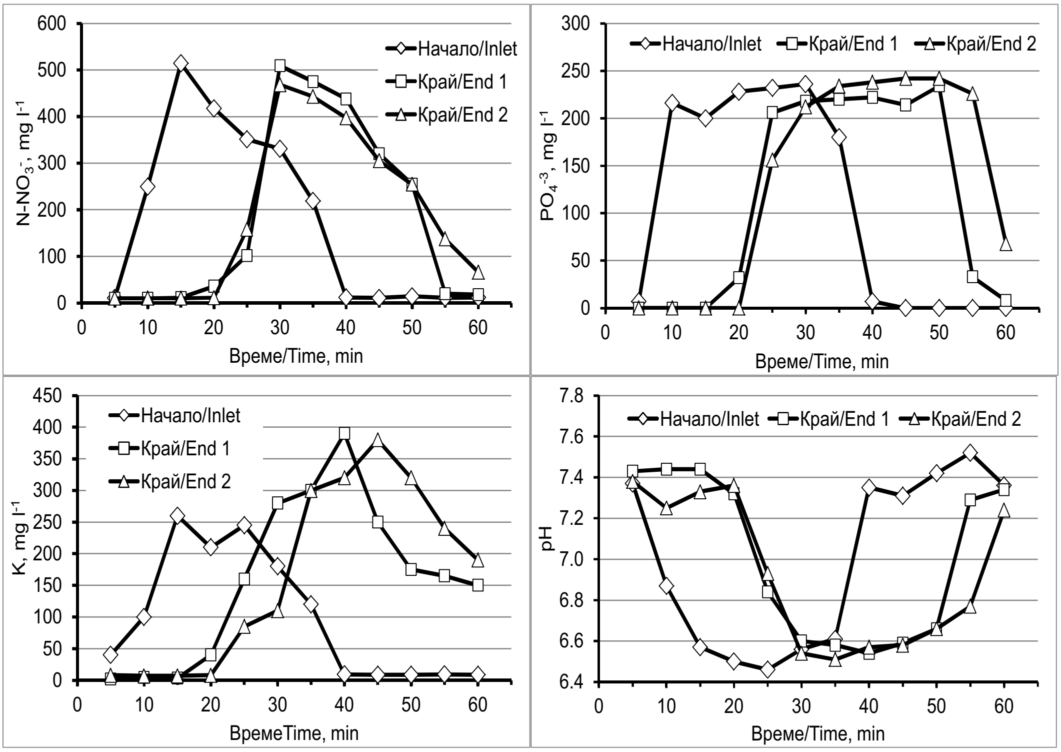
Fig. 2. Distribution of the quantities (mg) of dissolved in irrigation water substances and of the applied water volumes (dm^3) over the orchard territory

Измененията в концентрациите на торовете в поливната вода и в стойностите на pH на поливната вода, измерени в началото на поливната батерия и в двете ѝ най-отдалечени точки са онагледени на Фигура 3. Като правило всички изследвани субстанции са достигнали крайните точки с 15-минутно закъс-

The alterations of the fertilizer concentrations and the pH values in the irrigation water, measured at the inlet and at the utmost parts of the drip-irrigation block, are illustrated on Fig. 3.

Generally, all studied substances reached the endmost points with a 15-minute delay as compared to нение по отношение на входа в поливната батерия. Същото време е било необходимо и за промиването на системата. В началната точка на поливната батерия нитратите достигат най висока концентрация на 15-та минута от началото на фертигацията, след което започва разреждането им, а веднага след прекратяване на фертигацията на 30-та минута – и промиването им.

the irrigation-block inlet. The same space of time was needed to flush the system. At the inlet of the irrigation block, the nitrates reached their highest concentration 15 minutes after the start of fertigation. That was immediately followed by progresssive dilution and, respectively, by system flushing immediately after the fertigation termination at the 30-th minute.



Фиг. 3. Изменения в концентрациите на разтворени в поливната вода субстанции и в стойностите на pH на поливната вода, измерени в началото на поливната батерия и в двете ѝ най-отдалечени точки
Fig. 3. Changes in the concentrations of dissolved in irrigation water substances and in the irrigation water pH measured at the inlet and at the both endmost points of the drip block

Вероятно това е следствие от високата разтворимост на

Probably, this pattern was determined by the high solubility of нитратния азот, в резултат на която той бива изнесен от торо-смесителя по-бързо от другите минерални елементи. Подобни резултати са съобщени и от Do Bomfim et al. (2013).

Фосфорът от друга страна поддържа постоянна концентрация в поливната вода във фазата на инжектирането му и бързо бива промит след прекратяване на фертигацията, т.е. неговото придвижване в капковата система е по-компактно.

Калият е заел междинно положение, което съответства на неговата умерена разтворимост и подвижност както във вода, така и в почвата.

Фертигацията е понижила pH на поливната вода с 0.8 до 1.0 единица като тенденцията на изменението ѝ е следвала тази на инжектираните торове.

the nitrate nitrogen, which was washed out of the fertilization tank faster than the other mineral elements. Similar results were reported also by Do Bomfim et al. (2013).

On the other hand, phosphorus maintained constant concentration in the irrigation water during the injection phase and was rapidly flashed after the fertigation termination, i.e. its transportation through the drip-irrigation system was more compact.

The pattern of potassium behavior was intermediate, which corresponds to its moderate solubility and mobility in both water and soil.

Fertigation lowered the irrigation-water pH values by 0.8 to 1.0 and its alteration trend followed that of the injected fertilizers.

ИЗВОДИ

Получените резултати доказват една много добра равномерност на разпределение на разтворените в поливната вода субстанции, съответстваща на целите на химигацията.

Като правило всички изследвани субстанции са достигнали крайните точки на поливната батерия с 15-минутно закъснение по отношение на входа в поливната батерия.

Придвижването и измененията в концентрациите на изследваните субстанции в рамките на системата за микронапоя-

CONCLUSIONS

According to the obtained results, the distribution uniformity of the dissolved in irrigation water substances is very good and agrees with the chemigation requirements.

Generally, all studied substances reached the endmost points of the drip-irrigation block with a 15-minute delay as compared to the irrigation-block inlet.

The travel and the concentration alterations of the studied substances throughout the drip irrigation system manifested ване се проявява с известна специфика, обусловена от тяхната разтворимост в поливната вода.

themselves with some specifics determined by their solubility in the irrigation water.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Aitken, J.B.** Chemigation in pecans. *Proceedings, 3-rd International Drip/Trickle Irrigation Congress*, 1985, ASAE Publication 10-85, Vol. II, pp. 495-499.
2. **Ajwa, H.A., Trowt, T., Mueller, J., Wilhelm, S., Nelson, S.D., Soppe, R. and Shatley, D.** Application of alternative fumigants through drip irrigation systems. *Phytopathology*, 2002, 92(12): 1349-1355.
3. **Burt, C.** Fertigation – the next frontier. *Irrigation Business and Technology*, 1995, (3)4: 16-19.
4. **Burt, C.** Chemigation and fertigation basics for California. 2003, ITRC, Cal Poly, San Luis Obispo, CA, 21 pp.
5. **Do Bomfin, G., Manzano, H., De Azevedo, B.M., Vasconselos, D.V. and De A. Viana, T.V.** Potassium distribution in drip irrigation with fertigation for different injection distances in the mail line. *Eng. Agríc. Jaboticabal*, 2014, 34(6): 1150-1161.
6. **Haydock, P.P.J., Woods, S.R., Grove, I.G. and Hare, M.C.** Chemical control of nematodes. 2006, In: (Perry, R.N and M. Moens Eds.) Plant Nematology: 393-410.
7. **Morales-Sillero A., Fernández J.E., Beltrán G., Jiménez R., Troncoso A.** Influence of fertigation in 'Manzanilla de Sevilla' olive oil quality. *HortScience*, 2007, 42(5):1157-1162.
8. **Neilsen, G.H., Parchomchuk, P., Neilsen, D., and Zebarth, B.J.** Drip-fertigation of apple trees affects root distribution and development of K deficiency. *Can. J. Soil Sci.*, 2000, 80: 353-361.
9. **Rolston, D.E., Miller, R.J. and Schulbach, H.** Fertilization. In: Nakayama, F.S. and D.A. Bucks (Eds.), Trickle Irrigation for Crop Production, 1986, Elsevier Science Publishers B.V., pp.317-344.
10. **Tognetti R., Morales-Sillero A., D'andria R., Fernández J.E., Lavini A., Sebastián L., Troncoso A.** Deficit irrigation and fertigation practices in olive growing: convergences and divergences in two case studies. *Plant Biosystems*, 2008, 142: 138-148.
11. **Waterman P.** Fertigation guidelines in highdensity apples and apple nurseriesin the Okanagan-Similkameen. 2001, Okanagan Valley Tree Fruit Authority, british Columbia, 33 pp.