Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (2), 168-181 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Изследване на самонесъвместимост (*S*) в генотипи при местни видове череши, отглеждани в Балканския регион

Сладжана Марич[1]*, Саня Радичевич[1], Небойша Милочевич[1], Мелпомена Поповска[2], Светослав Малчев[3], Ивана Глишич[1], Милена Джорджевич[1]

[1]Изследователски институт по овощарство, "Краля Петра I" 9, 32000 Чачак, Република Сърбия
[2]Университет ,,Св. св. Кирил и Методий,, Аграрен институт - Скопие, бул. Александър Македонски, 1000 Скопие, Република Северна Македония
[3]Институт по овощарство, Остромила 12, 4004 Пловдив, Република България

An overview of self-incompatibility (*S*) genotypes of autochthonous sweet cherries grown in Balkan region

Slađana Marić[1]*, Sanja Radičević[1], Nebojša Milošević[1], Melpomena Popovska[2], Svetoslav Malchev[3], Ivana Glišić[1], Milena Đorđević[1]

[1]Fruit Research Institute, Kralja Petra I/9, 32000 Čačak, Republic of Serbia
[2]University ‘Ss. Cyril and Methodius’, Institute of Agriculture - Skopje, Blvd. Aleksandar Makedonski bb, 1000 Skopje, Republic of North Macedonia
[3]Fruit Growing Institute, Ostromila 12, 4004 Plovdiv, Republic of Bulgaria
**E-mail: smaric@institut-cacak.org*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Определянето на *S*-алелни конституции на стари генотипове череши е важна стъпка в молекулярната характеристика, а също и от огромно значение за производителите и селекционерите, тъй като черешата проявява гаметофитна самосъвместимост, контролирана от многоалелния *S*-локус, който предотвратява самоопрашването. Целта на настоящото изследване е да се обобщят известните и да се разкрият нови данни за *S*-алелите в стари генотипове с произход от балканските страни – Република Сърбия (15 генотипа), Република Северна Македония (8 генотипа) и Република

SUMMARY

Determination of *S*-allelic constitutions of autochthonous sweet cherry genotypes is an important step in molecular characterization of this material and also of enormous significance for growers and breeders, since this fruit species exhibits a gametophytic self-incompatibility, controlled by the multi-allelic *S*-locus which prevents self-fertilisation. The aim of this work was to summarize known and to reveal new data of the *S*-alleles in autochthonous genotypes originated in the Balkan countries – Republic of Serbia (15 genotypes), Republic of North Macedonia (8 genotypes) and Republic of Bulgaria (2

България (2 генотипа). Чрез полимеразна верижна реакция (PCR) с консенсусни праймери за втория интрон (PaConsII-F/R) на *S-RNase* и специфични за алела праймери се разкриха осем алела, генериращи следните *S*-алелни конституции: S_1S_2 (един генотип), S_1S_5 (един генотип), S_2S_3 (пет генотипа), S_2S_4 (един генотип), S_3S_4 (два генотипа), S_3S_6 (два генотипа), S_3S_9 (два генотипа), S_3S_{12} (шест генотипа), S_6S_9 (два генотипа), S_4S_x (два генотипа) и S_5S_x (един генотип). Най-честите *S*-алелни и алелни конституции в настоящото проучване са S_3 и S_3S_{12} (38.6% и 24%, съответно). Въз основа на получените резултати изследваните генотипи са разпределени в девет несъвместими групи. Настоящото проучване представлява първият основен етап на характеризиране на автохтонни генотипи от череши, произхождащи от гореспоменатите страни, който трябва да бъде разширен чрез включване на нови местни сортове.

Ключови думи: *Prunus avium* L., местен генотип, *S*-алелна конституция, гаметофитна самонесъвместимост, Балкански полуостров

genotypes). The use of the polymerase chain reaction (PCR) with consensus primers for the second intron (PaConsII-F/R) of *S-RNase* and allele-specific primers revealed eight alleles that generated the following *S*-allelic constitutions: S_1S_2 (one genotype), S_1S_5 (one genotype), S_2S_3 (five genotypes), S_2S_4 (one genotype), S_3S_4 (two genotypes), S_3S_6 (two genotypes), S_3S_9 (two genotypes), S_3S_{12} (six genotypes), S_6S_9 (two genotypes), S_4S_x (two genotypes) and S_5S_x (one genotype). The most frequent *S*-allele and allelic constitution in this work were S_3 and S_3S_{12} (38.6% and 24%, resp.). Based on the obtained results, the assessed genotypes have been assigned to nine incompatibility groups. This study represents the first fundamental stage of characterization of autochthonous sweet cherry genotypes originating from aforementioned countries, which needs to be enlarged through inclusion of new landraces.

Key words: *Prunus avium* L., indigenous genotype, *S*-allelic constitution, gametophytic self-incompatibility, Balkan Peninsula

УВОД

Черешата (*Prunus avium* L.) е икономически важен овощен вид в страните на Балканския полуостров. Според Организацията по прехрана и земеделие на Организацията на обединените нации, средното годишно производство на череши (2014–2018) е 44 983 t, 22 044 t и 5 606 t съответно в Република България, Република Сърбия и Република Северна Македония. Webster (1996) и Quero-García et al. (2019) посочват, че този вид може да е възникнал в регион около Каспийско и Черно море, както и че редица местни генотипи, адаптирани към конкретни агроекологични условия, са резултат от разпространението му в Европа. Също така, Faust and Surányi (1997) посочват, че черешата се среща естествено в

INTRODUCTION

Sweet cherry (*Prunus avium* L.) is an economically important fruit species in the countries of the Balkan Peninsula. According to Food and Agriculture Organization of the United Nations, the average annual sweet cherry production (2014–2018) was 44,983 t, 22,044 t and 5,606 t in the Republic of Bulgaria, Republic of Serbia and Republic of North Macedonia, respectively. Webster (1996) and Quero-García et al. (2019) reported that this fruit species may have originated within a region around the Caspian (Sea) and the Black Sea, as well as that a number of local genotypes, adapted to particular agro-ecological conditions, resulted from its spreading across Europe. Also, Faust and Surányi (1997) pointed out that sweet cherry occurs

Европа и районите на Северна Африка. Тъй като произходът на старите генотипи е неизвестен и могат да възникнат случаи на омоними или синоними, е необходимо надеждно идентифициране. Това също представлява повтарящ се проблем при събирането и опазването на автохтонни генотипи череши по целия свят.

Черешовата зародишна плазма в балканските страни е адаптирана към различни и неподходящи среди; потенциално е снабдена с полезна генетична променливост (т.е. качество на плодовете, устойчивост), напр. Охридската област е типична зона за отглеждане на череши, чийто асортимент се основава предимно на автохтонните генотипи на висококачествени плодове, главно „Охридска долга Шишка" (Gjamovski et al., 2016). В допълнение, настоящата статия с полезните си характеристики може да разшири списъка с потенциални родителски сортове, които да бъдат използвани в селекционните програми, а също така може да бъде основният фактор за съживяване на основните македонски райони за отглеждане на череши. Fotirić-Akšić и др. (2016) отбелязват, че току-що пуснатият сръбски сорт череши „Канетова" произхожда от естествена популация. „Ранна Черна" е един от най-разпространените рано зреещи местни сортове череши в Република България, доста често използван като родител в рамките на развъдните програми (Malchev, 2016). Първият сорт череши, създаден в Институт по овощарство, Пловдив, Република България, е „Косара", получен от кръстоски на „Ранна Черна" × „Бигаро Бурла" (Malchev and Zhivondov, 2016; Marić et al., 2018).

При черешите, с много малко изключения, повечето генотипи са несъвместими и някои двойки генотипи са несъвместими за кръстосване (реципрочно или едностранно). Тази гаметофитна несъвместимост се контролира от мултиалелни два свързани гена от *S*-локус – *S-RNase* гени (Bošković and

naturally in Europe and areas of northern Africa. Since the origin of these old genotypes is mostly undocumented, and cases of homonyms or synonyms might occur, a reliable identification is required. This also represents a recurrent problem in the collection and conservation of autochthonous sweet cherry genotypes worldwide.

Cherry germplasm in the Balkan countries is adapted to different and inappropriate environments; it is potentially provided with useful genetic variability (i.e. fruit quality, resistance), e.g. the Ohrid region is a typical area for sweet cherry growing whose assortment is primarily based on the autochthonous genotypes of high quality fruits, mainly 'Ohridska Dolga Šiška' (Gjamovski et al., 2016). In addition, this material with useful traits can extend the list of potential parental cultivars to be used in breeding programmes and can also be the main factor for revitalizing major Macedonian sweet cherry growing regions.

Fotirić-Akšić et al. (2016) reported that newly released Serbian sweet cherry cultivar 'Canetova' originated from natural population. 'Ranna Tcherna' is one of the most widespread early ripening local sweet cherry cultivar in the Republic Bulgaria, quite often used as parent within breeding programmes (Malchev, 2016).

The first sweet cherry cultivar released at Fruit Growing Institute (FGI), Plovdiv, Republic of Bulgaria was 'Kossara', which was derived from the cross 'Ranna Tcherna' × 'Bigareau Burlat' (Malchev and Zhivondov, 2016; Marić et al., 2018).

In sweet cherry, apart from very few exceptions, most genotypes are self-incompatible and certain pairs of genotypes are cross-incompatible (reciprocally or unilaterally). This gametophytic self-incompatibility mechanism is controlled by the multiallelic two linked genes of *S*-locus – *S-RNase* (Bošković and Tobutt, 1996)

Tobutt, 1996) и *SFB* (Yamane et al., 2003), изразени съответно в стълбчето и тичинковия прашец. Продуктът на стълбчето (S-RNase) взаимодейства по алелно специфичен начин с поленовия продукт (SFB), за да инхибира растежа на прашниковата тръбичка в стълбчето о, съдържаща идентичен *S*-хаплотип. Към днешна дата са посочени 25 *S*-алела при черешата (Vaughan et al., 2008). Анализът на общо 1300 сорта череши разкри полиморфизъм (18 различни *S* - алела: S_1 до S_7, S_9, S_{10} , S_{12} до S_{14} , S_{16} , S_{18} , S_{19} , S_{21} , S_{22} и S_{24}), което позволява идентифициране на 60 групи за несъвместимост (ГН), група от '0' уникални *S*-генотипи и група от самосъвместими (СС) сорта (Schuster, 2017). Vaughan et al. (2008) съобщават за шест *S*-алела, идентифицирани само при дивата череша в Западна Европа, които са приписани на S_{27} на S_{32} алели. В допълнение, нов алел S_{37} и вишна S_{34}-алел са идентифицирани при турските череши и генотипи, избрани от диви популации в района на Черно море (Szikriszt et al., 2013). Поради прилагането алел-специфични PCR-базирани методи и постигнатия висок полиморфизъм, *S*-локусът се използва също като генетичен маркер за генотипиране и идентификация на местни и чуждестранни сортове череши в Изследователски институ по овощарство (FRI), Чачак, Република Сърбия (Marić and Radičević, 2014; Radičević et al., 2015). Освен това, *S*-генотипирането се е превърнало в полезен инструмент за оценка на разнообразието в местната зародишна черешова плазма в различни страни на Европа и Северна и Западна Азия, което разкрива високо ниво на генетично разнообразие сред местните сортове (Ipek et al., 2011; Ercisli et al., 2012; Cachi and Wünsch, 2014a; Lisek et al., 2015; Schuster, 2017; Marchese et al., 2017).

Mariette et al. (2010) съобщават за намаляване на генетичното разнообразие от дивата природа до местни-

and *SFB* (Yamane et al., 2003) genes, expressed in the style and the pollen, respectively. The stylar product (S-RNase) interacts in an allele specific manner with the pollen product (SFB) to inhibit pollen tube growth in the styles containing an identical *S*-haplotype.

To date, 25 *S*-alleles have been reported in sweet cherry (Vaughan et al., 2008). The analysis of in total 1,300 sweet cherry cultivars revealed a polymorphism (18 different *S*-alleles: S_1 to S_7, S_9, S_{10}, S_{12} to S_{14}, S_{16}, S_{18}, S_{19}, S_{21}, S_{22} and S_{24}) that allowed identification of 60 incompatibility groups (IGs), a group of '0' of unique *S*-genotypes and a group of self-compatible (SC) cultivars (Schuster, 2017). Vaughan et al. (2008) reported six *S*-alleles identified only in wild cherry of Western Europe, which were attributed to S_{27} to S_{32} alleles. In addition, a new S_{37} allele and the sour cherry S_{34}-allele were identified in Turkish sweet cherry landraces and genotypes selected from populations growing wild in the Black Sea area (Szikriszt et al., 2013).

Due to the application of consensus/allele-specific PCR-based methods and obtained high polymorphism, the *S*-locus has also been used as a genetic marker for genotyping and identification of domestic and foreign sweet cherry cultivars at Fruit Research Institute (FRI), Čačak, Republic of Serbia (Marić and Radičević, 2014; Radičević et al., 2015). Additionally, *S*-genotyping has become a useful tool for diversity assessment in local sweet cherry germplasm in different countries of Europe and northern and western Asia, which revealed high levels of genetic diversity among landraces (Ipek et al., 2011; Ercisli et al., 2012; Cachi and Wünsch, 2014a; Lisek et al., 2015; Schuster, 2017; Marchese et al., 2017).

However, Mariette et al. (2010) reported a reduction in genetic diversity from wild to landrace to modern sweet те и съвременните сортове череши, както и че култивирането и селекцията имат две основни въздействия върху намаляването на разнообразието. Местните сортове череши като например италианската „Кронио“ и испанските „Кристобалина“ и „Талегал Ахин“ са източник на самосъвместимост, за която също са разработени ДНК маркери (Marchese et al., 2007; Cachi and Wünsch, 2014b).

Напоследък интересът към събирането и оценката на автохтонни генотипи на череши с добри агрономични свойства в Балканския регион и молекулярна характеристика на този материал са засилени в Института в Чачак, в сътрудничество с Аграрен институт "Св. св. Кирил и Методий", Скопие и Института в Пловдив (Marić et al., 2018, 2019a, 2019b; Radicevic et al., 2019).

Целта на настоящото проучване бе да се обобщят всички известни данни за *S*-алелите при автохтонните генотипи на череши в гореспоменатите балкански страни и да се отчетат нови данни за генотипа, които не са публикувани преди това. Получените резултати ще бъдат полезни както за селекционерите, така и за производителите, за да управляват по-добре този ценен автохтонен черешов материал.

cherry cultivars, as well as that domestication and breeding had two major impacts on a decrease of diversity. Sweet cherry landraces such as the Italian ‘Kronio’ and the Spanish ‘Cristobalina’ and ‘Talegal Ahin’ are the source of self-compatibility, for which DNA markers have also been developed (Marchese et al., 2007; Cachi and Wünsch, 2014b).

Recently, the interest in collection and evaluation of autochthonous sweet cherry genotypes with good agronomic properties in the Balkan region and molecular characterization of this material have been increased at the FRI, Čačak, in collaboration with University ‘Ss. Cyril and Methodius’, Institute of Agriculture, Skopje and FGI, Plovdiv (Marić et al., 2018, 2019a, 2019b; Radicevic et al., 2019).

The aim of this study was to summarize all known data on the *S*-alleles in autochthonous sweet cherry genotypes in the aforementioned Balkan countries and to report new genotype data which have not been previously published. Obtained results will be useful to both breeders and growers to better manage this valuable autochthonous cherry material.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Растителен материал и извличане на ДНК

В настоящото проучване са използвани двадесет и пет автохтонни генотипа на череша (Таблица 1). проби от тези генотипове, съответстващи на местни разновидности или сортове с неизвестен произход са взети от овощни градини на отделни производители в Република Сърбия (региони Чачак и Белград) и Република Северна Македония (Охридска област), както и от черешова колекция на Института в Пловдив (Република България). Младите свежи листа от генотипите са събрани през пролетта, замразени са в течен азот и

MATERIAL AND METHODS

Plant material and DNA extraction

Twenty-five autochthonous sweet cherry genotypes (Table 1) were used in this study. These genotypes, corresponding to landraces or cultivars of unknown origin, were sampled in orchards of individual growers in the Republic of Serbia (the regions of Čačak and Belgrade) and the Republic of North Macedonia (the Ohrid region), as well as in the sweet cherry collection of FGI, Plovdiv (Republic of Bulgaria).

Young fresh leaves of the genotypes were collected in the spring, frozen in liquid са съхранени при –80°C. Геномната ДНК е изолирана от листата съгласно метода на Doyle and Doyle (1987). Екстрахираната ДНК е разтворена в TE буфер, третира се с RNase A (Invitrogen, Groningen, Холандия) и е държана при –20°C, докато е използвана за PCR.

PCR анализ за генотипиране на *S-RNase*

Идентифицирането на алелите *S-RNase* в автохтонни генотипи на череши се основава на метод, посочен от Sonneveld et al. (2001, 2003). PCR се извършват чрез използване на консенсусни праймерни двойки, специфични за вторите интрони на *S-RNase* (PaConsII-F / R, Sonneveld et al., 2003) и специфичните за алела праймери за S_1 до S_6 , както и за S_9 и S_{12} алели (Sonneveld et al., 2001, 2003). Температурите за нагряване за гореспоменатите *S*-алели са докладвани в проучванията на Marić and Radičević (2014) и Marić et al. (2015, 2018). Като еталонни генотипи са използвани сортове череши от известни *S*-алели.

Откриване и визуализация на ДНК фрагменти

PCR продуктите, получени с консенсусни праймери, се използват с 2% агарозен гел (70 V/cm за 4 h), докато продуктите на специфични за алела PCR с 1.5% агарозен гел (70 V/cm за 2-3 ч). Визуализацията на ДНК лентите е извършена чрез оцветяване с етидиев бромид и под ултравиолетова светлина на системата за изображения BIO-PRINT-1500/26M (Vilber Lourmat, Collégien, Франция). За оразмеряване на фрагменти от ДНК се използва 1 Kb плюс ДНК стълбичка (Invitrogen, Groningen, Холандия).

nitrogen and stored at –80°C. Genomic DNA was isolated from leaves according to the method of Doyle and Doyle (1987). Extracted DNA was dissolved in TE buffer, treated with RNase A (Invitrogen, Groningen, the Netherlands) and kept at –20°C until used for PCRs.

PCR analysis for *S-RNase* genotyping

Identification of the *S-RNase* alleles in autochthonous sweet cherry genotypes was based on the method reported by Sonneveld et al. (2001, 2003). The PCRs were performed by using the consensus primer pairs specific for the second introns of the *S-RNase* (PaConsII-F/R, Sonneveld et al., 2003) and the allele-specific primers for S_1 to S_6, as well as for S_9 and S_{12} alleles (Sonneveld et al., 2001, 2003). Annealing temperatures for aforementioned *S*-alleles were reported in the studies by Marić and Radičević (2014) and Marić et al. (2015, 2018). Sweet cherry cultivars of known *S*-alleles were used as reference genotypes.

Detection and visualization of the DNA fragments

PCR products obtained with the consensus primers were run on a 2% agarose gel (70 V/cm for 4 h), whereas products of allele-specific PCRs on a 1.5% agarose gel (70 V/cm for 2-3 h). Visualization of DNA bands was performed by ethidium bromide staining and under ultraviolet light of BIO-PRINT-1500/26M imaging system (Vilber Lourmat, Collégien, French Republic). For sizing of DNA fragments, 1 Kb plus DNA ladder (Invitrogen, Groningen, the Netherlands) was used.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Настоящото проучване представя общ преглед на идентифицирането на *S-RNase* алели в 25 автохтонни генотипа от основните райони за отглеждане на череши в Република Сърбия, Република Северна Македония и Република

RESULTS AND DISCUSSION

This study presents an overview of *S-RNase* alleles identification in 25 autochthonous genotypes from the main sweet cherry growing regions of the Republic of Serbia, Republic of North Macedonia and Republic of Bulgaria (Table

България (Таблица 1). *S*-алелната конституция на всеки генотип се определя след комбиниране на резултатите, получени при PCR амплификация с консенсусни праймери за втория интрон на *S-RNase* (PaConsII-F/R) и праймерите, специфични за алели S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_9 и S_{12}. Сред оценените генотипи са определени следните *S*-алелни конституции: S_1S_2 ('Ранна църна'), S_1S_5 ('GT-1'), S_2S_3 ('GT-7', 'GT-14', 'GT-15', 'GT-16' and 'Кукленска белица'), S_2S_4 ('OCK-1'), S_3S_4 ('GT-10' и 'GT-12'), S_3S_6 ('GT-4' и 'GT-13'), S_3S_9 ('GT-8' and 'Охридска бърза'), S_3S_{12} ('GT-5', 'GT-6', 'ODŠ-O1', 'ODŠ-O2', 'ODŠ-S1' и 'ODŠ-S2'), S_6S_9 ('GT-2' и 'GT-11'), S_4S_x ('OCK-2' и 'Ohridska Crna') и S_5S_x ('GT-9'). *S*-генотип на бъл-гарския автохтонен сорт „Кукленска белица" е публикуван в този материал за първи път.

Като се имат предвид получените резултати, автохтонните генотипи са преписани на съответните им групи по несъвместимост, публикувани по-рано от Schuster (2012, 2017). Следователно ние определихме следните девет групи по несъвместимост: I, III, IV, VI, X, XIII, XIV, XVI и XXII (Таблица 1); резултатите от настоящото проучване ще разширят тези групи, като включват автохтонни балкански генотипи. Група XXII е най-разпространената ГН, включваща почти една четвърт (24%) от оценените генотипи. Три генотипа не са преписани към предварително идентифицираните ГН, тъй като вторият алел за 'OCK-2', 'Охридска църна' и ' GT-9' не е определен. Единичната лента за тези генотипи върху агарозния гел (в позицията, съответстваща на алел S_4 за OCK-2' и 'Охридска църна', както и алел S_5 за GGT-9') може да означава или че и двата *S*-алела имат интрони със същия размер или праймерите не съответстват на последователността на втория алел (Marić et al., 2019a, 2019b). Следователно, допълнителният анализ ще се съсредоточи върху възможното идентифициране на втория *S*-алел

1). The *S*-allelic constitution of each genotype was determined after combining the results obtained upon PCR amplification with the consensus primers for the second intron of *S-RNase* (PaConsII-F/R) and the primers specific to alleles S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_9 and S_{12}. Among the assessed genotypes, the following *S*-allelic constitutions were determined: S_1S_2 ('Ranna Tcherna'), S_1S_5 ('GT-1'), S_2S_3 ('GT-7', 'GT-14', 'GT-15', 'GT-16' and 'Kuklenska Belica'), S_2S_4 ('OCK-1'), S_3S_4 ('GT-10' and 'GT-12'), S_3S_6 ('GT-4' and 'GT-13'), S_3S_9 ('GT-8' and 'Ohridska Brza'), S_3S_{12} ('GT-5', 'GT-6', 'ODŠ-O1', 'ODŠ-O2', 'ODŠ-S1' and 'ODŠ-S2'), S_6S_9 ('GT-2' and 'GT-11'), S_4S_x ('OCK-2' and 'Ohridska Crna') and S_5S_x ('GT-9'). The *S*-genotype for Bulgarian autochthonous cultivar 'Kuklenska Belica' is published in this paper for the first time.

Considering the obtained results, the autochthonous genotypes were assigned to their corresponding IGs, previously published by Schuster (2012, 2017). Therefore, we determined the following nine IGs: I, III, IV, VI, X, XIII, XIV, XVI and XXII (Table 1); the results of our study will extended these groups by including autochthonous Balkan genotypes. Group XXII was the most common IG, comprising nearly a quarter (24%) of the assessed genotypes. Three genotypes were not assigned to previously identified IGs, since the second allele for 'OCK-2', 'Ohridska Crna' and 'GT-9' was not determined. The single band for these genotypes on the agarose gel (on the position corresponding to allele S_4 for OCK-2' and 'Ohridska Crna', as well as allele S_5 for 'GT-9') could mean either that two *S*-alleles have the introns of the same size, or the primers do not match the sequence of the second allele (Marić et al., 2019a, 2019b).

Therefore, the additional analysis will focus on possible identification of the second *S*-allele of these genotypes through cloning and sequencing of the от тези генотипове чрез клониране и секвениране на ДНК фрагментите.

DNA fragments.

Таблица 1. S-генотипи и групи по несъвместимост на автохтонни сортове череши
Table 1. *S*-genotypes and incompatibility groups of autochthonous sweet cherries

Произход Origin*	Генотип Name of genotype	*S-генотип* *S*-genotype	ГН IG	Справка за S-генотип Reference for *S*-genotype
RS	‘GT-1’	S_1S_5	XIV	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-2’	S_6S_9	X	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-4’	S_3S_6	VI	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-5’	S_3S_{12}	XXII	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-6’	S_3S_{12}	XXII	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-7’	S_2S_3	IV	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-8’	S_3S_9	XVI	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-9’	S_5S_x	/	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-10’	S_3S_4	III	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-11’	S_6S_9	X	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-12’	S_3S_4	III	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-13’	S_3S_6	VI	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-14’	S_2S_3	IV	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-15’	S_2S_3	IV	Marić et al. (2019a)
RS	‘GT-16’	S_2S_3	IV	Marić et al. (2019a)
MK	‘ODŠ-O1’	S_3S_{12}	XXII	Marić et al. (2019b)
MK	‘ODŠ-O2’	S_3S_{12}	XXII	Marić et al. (2019b)
MK	‘ODŠ-S1’	S_3S_{12}	XXII	Marić et al. (2019b)
MK	‘ODŠ-S2’	S_3S_{12}	XXII	Marić et al. (2019b)
MK	‘OCK-1’	S_2S_4	XIII	Marić et al. (2019b)
MK	‘OCK-2’	S_4S_x	/	Marić et al. (2019b)
MK	‘Ohridska Brza’	S_3S_9	XVI	Marić et al. (2019b)
MK	‘Ohridska Crna’	S_4S_x	/	Marić et al. (2019b)
BG	‘Kuklenska Belica’	S_2S_3	IV	Настоящето проучване/This study
BG	‘Ranna Tcherna’	S_1S_2	I	Marić et al. (2018)

*Държава според списък с кодове ISO 3166
*Country according ISO 3166 code list.

В настоящото проучване са определени общо осем различни *S*-алела: S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_9 и S_{12} в 25 местни сръбски, македонски и български генотипи от череши. Броят на идентифицираните и честота на *S-RNase* алелите в изследваната зародишна плазма от череши е показан в Таблица 2 (с изключение на три генотипа, за които вторият алел не е определен). Следователно, най-често срещания

In this study, a total of eight different *S*-alleles: S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_9 and S_{12} in 25 local Serbian, Macedonian and Bulgarian sweet cherry genotypes were determined. The number of times identified and frequency of the *S-RNase* alleles in the assessed cherry germplasm is shown in Table 2 (excluding three genotypes for which the second allele was not determined). Therefore, the most frequent allele in this material was алел в този материал е S_3 (38.6%) и сравнително по-висока честота на срещане (>10%) е наблюдавана за алели S_2 и S_{12} (съответно 15,9% и 13,6%). Също така, Ercisli et al. (2012) откриват осем горепосочени *S*-алела в 37 хърватски генотипа на череши и съобщават подобни честоти за алели S_3 (39%) и S_{12} (19%). Географското разпространение на *S*-алелите може да показва общ произход или генетична връзка на генотипи, разпространени в по-близки райони, или възможна връзка на някои *S*-алели с адаптивни характеристики, свързани с климатичните условия в различни райони (Cachi and Wünsch, 2014a).

S_3 (38.6%) and a relatively higher frequency of occurrence (> 10%) was observed for alleles S_2 and S_{12} (15.9% and 13.6%, resp.). Also, Ercisli et al. (2012) found eight aforementioned *S*-alleles in 37 Croatian sweet cherry genotypes and reported similar frequencies for alleles S_3 (39%) and S_{12} (19%). The geographical distribution of *S*-alleles may indicate a common origin or genetic relationship of genotypes spread in closer areas or a possible association of certain *S*-alleles with adaptive traits correlated to climatic conditions in different areas (Cachi and Wünsch, 2014a).

Таблица 2. Брой идентифицирани честота на *S-RNase* алели при генплазма на автохтонни сортове череши представени в Таблица 1
Table 2. Number of times identified and frequency of the *S-RNase* alleles in the sweet cherry autochthonous germplasm presented in Table 1

S-RNase алел *S-RNase* allele*	Брой идентифицирани Number of times indentified	*Честота на S-RNase алел (%)* *S-RNase* allele frequency (%)
S_1	2	4.6
S_2	7	15.9
S_3	17	38.6
S_4	3	6.8
S_5	1	2.3
S_6	4	9.1
S_9	4	9.1
S_{12}	6	13.6
Total:	44	100.0

*Три генотипи са изключени (‘GT-9’, ‘OCK-2’ и ‘Охридска църна‘)

*Three genotypes were excluded (‘GT-9’, ‘OCK-2’ and ‘Ohridska Crna’)

S_3 е най-често срещаният алел на череша в Турция (29,6%; Ipek et al., 2011), Чехия (34,4%; Lisek et al., 2015), Италия (25%; Marchese et al., 2017), Испания (38%; Cachi and Wünsch, 2014a). Също така, Cachi and Wünsch (2014a) посочват, че сред 545 европейски сорта череши, докладвани и събрани от Schuster (2012) и 64 местни испански сорта, анализирани в тяхната работа, най-често срещаният алел е S_3 (приблизително 28%). Тъкмо обратното, алел S_{12} е много рядък при евро-

S_3 was the most frequent sweet cherry allele in Turkey (29.6%; Ipek et al., 2011), Czechia (34.4%; Lisek et al., 2015), Italy (25%; Marchese et al., 2017), Spain (38%; Cachi and Wünsch, 2014a). Also, Cachi and Wünsch (2014a) stated that among 545 European sweet cherry cultivars reported and compiled by Schuster (2012) and 64 local Spanish cultivars analyzed in their work, the most frequent allele was S_3 (approximately 28%). Contrary, S_{12} allele was very rare in the European cultivars (Cachi and пейските сортове (Cachi и Wünsch, 2014а), но е често срещан при турски и хърватски генотипи (Ipek et al., 2011; Ercisli et al., 2012). Имайки предвид нашите резултати, сравнително по-високата честота на алел S_{12} в балканските страни може да бъде свързана с тяхната дълга обща история. S_2 поява в нашето изследване (15,9%) е подобно на съобщеното в турската зародишна плазма (14,8%) от Ipek et al. (2011), докато честотата на този алел в хърватските ендемични растения е била 8% (Ercisli et al., 2012). Marchese et al. (2017) съобщават за рядкост на S_1, S_2 и S_4 алели в 186 местни череши от 12 италиански региона. Също така, Cachi and Wünsch (2014a) установяват, че алел S_2 е по-рядък в Западна Испания (1%) и не е открит в генотипи, произхождащи от източната и северната част на страната.

Алели S_6 и S_9, срещащи се с честота 9,1% в настоящото изследване, също се срещат често в хърватски (намира се в 8%; Ercisli et al., 2012) и турски (S_6 – 11,1%, S_9 – 7,5%; Ipek et al., 2011) генотипи на череша. Marchese et al. (2017) съобщава, че S_6 е един от най-често срещаните *S*-алела в италианската зародишна плазма (19%), докато S_9 е по-рядък (4%). Подобни резултати са публикувани от Cachi и Wünsch (2014a), които отчитат честота от 26% за алел S_6 при испански местни сортове и по-ниска честота за S_9 (8% в северната част и по-малко от 3% в западната и източната част на страната). Сравнително висока честота на алел S_9 (20.4%) е наблюдавана при генотипи с произход от Украйна (Lisek et al., 2015). Относно S_4 , срещащ се с честота от 6,8% в настоящото проучване, този алел е изключително рядък в италианските (1%) и хърватските (2,5%) местни сортове (Ercisli et al., 2012; Marchese et al., 2017). По-висока честота за S_4 е открита в испански (от северна част), чешки и турски генотипи (съответно 23%, 21,9% и 13,6%; Cachi and Wünsch,

Wünsch, 2014a), but is commonly found in Turkish and Croatian genotypes (Ipek et al., 2011; Ercisli et al., 2012). Considering our results, a relatively higher frequency of S_{12} allele in the Balkan countries may be associated with their long common history. S_2 occurrence in our study (15.9%) was similar to that reported in Turkish germplasm (14.8%) by Ipek et al. (2011), while the frequency of this allele in Croatian landraces was 8% (Ercisli et al., 2012).

Marchese et al. (2017) stated the rarity of S_1, S_2 and S_4 alleles in 186 local sweet cherry accessions from 12 Italian regions. Also, Cachi and Wünsch (2014a) found that S_2 allele was less frequent in the Western Spain (1%) and was not found in the genotypes originated from the eastern and northern parts of this country.

The alleles S_6 and S_9, occurring at a frequency of 9.1% in our study, were also common in Croatian (being found in 8%; Ercisli et al., 2012) and Turkish (S_6 – 11.1%, S_9 – 7.5%; Ipek et al., 2011) sweet cherry genotypes. Marchese et al. (2017) reported that S_6 was one of the most frequent *S*-allele in the Italian germplasm (19%), while S_9 was less frequent (4%). Similar results were published by Cachi and Wünsch (2014a), who reported the frequency of 26% for allele S_6 in Spanish landraces, and lower frequency for S_9 (8% in northern part, and less than 3% in the western and eastern parts of the country). A relatively high occurrence of the allele S_9 (20.4%) was observed in genotypes originated from Ukraine (Lisek et al., 2015). Regarding S_4, occurring at a frequency of 6.8% in our study, this allele was extremely rare in the Italian (1%) and Croatian (2.5%) landraces (Ercisli et al., 2012; Marchese et al., 2017).

A higher frequency for S_4 was found in Spanish (from northern part), Czech and Turkish genotypes (23%, 21.9% and 13.6%, resp.; Cachi and Wünsch, 2014a;

2014a; Lisek et al., 2015; Ipek et al., 2011), наблюдавано е също така, че алели S_1, S_3, S_4 и S_6 се срещат много често при сортове от Северна и Централна Европа, докато алели S_3,S_6 и S_{22} в Южна Европа (Cachi and Wünsch, 2014a). Появата на S_1 (4,6%) е малко по-честа в сравнение с тези, посочени в турски и хърватски генотипи (2,5%) от Ipek et al. (2011) и Ercisli et al. (2012) съответно, както и в италианската зародишна плазма (3%), посочена от Marchese et al. (2017). По-голямото разпространение на S_1 е наблюдавано в генотипи, произхождащи от Чехия (25%) и Северна Испания (12%) (Cachi and Wünsch, 2014a; Lisek et al., 2015). Настоящето изследване разкри ниска честота на алел S_5 (2,3%), която е малко по-ниска в сравнение с появата на същия алел в турски (5%) и хърватски (7%) зародишни плазми (Ipek et al., 2011; Ercisli et al., 2012). S_5 е изключително рядко срещан в италианските местни сортове (1%; Marchese et al., 2017), както и в испански генотипи, произхождащи от западната част на страната (1%), докато не бе открит и в северната и източната част (Cachi and Wünsch, 2014a). Lisek et al. (2015) съобщават за висока честота на S_5 в украинската зародишна плазма (20.4%), което значително отличава тези сортове от сортовете с произход от други региони на Европа.

Настоящото изследване и проучването на Ercisli et al. (2012) разкриват осем *S*-алела: S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_9 и S_{12}. Ipek et al. (2011) в допълнение към изброените осем откриват десет различни алела, S_7 и S_{10}. Също така, осем алела са докладвани от Lisek et al. (2015), но S_{13} е установен вместо S_{12}. Алел S_{12} също не е открит в испанската зародишна плазма, а Cachi and Wünsch (2014a) посочват десет идентифицирани алела, а именно S_{13}, S_{16} и S_{22} в допълнение към списъка на гореспоменатите алели. Най-високият полиморфизъм на S локус е наблюдаван в

Lisek et al., 2015; Ipek et al., 2011), and it was also observed that alleles S_1, S_3, S_4 and S_6 were highly frequent in cultivars from northern and central Europe, while alleles S_3, S_6 and S_{22} in southern Europe (Cachi and Wünsch, 2014a).

S_1 occurrence (4.6%) was a little bit higher compare to those reported in Turkish and Croatian genotypes (2.5%) by Ipek et al. (2011) and Ercisli et al. (2012) respectively, as well as in Italian germplasm (3%) reported by Marchese et al. (2017). The higher occurrence of S_1 was observed in genotypes originated from Czechia (25%) and northern Spain (12%) (Cachi and Wünsch, 2014a; Lisek et al., 2015). Our study revealed a low frequency of allele S_5 (2.3%), which was slightly lower in comparison with the occurrence of this allele in Turkish (5%) and Croatian (7%) germplasms (Ipek et al., 2011; Ercisli et al., 2012). S_5 was extremely rare in the Italian landraces (1%; Marchese et al., 2017), as well as in Spanish genotypes originated from the western part of the country (1%), while it was not found in the northern and eastern parts (Cachi and Wünsch, 2014a). Lisek et al. (2015) reported the high frequency of S_5 in the Ukrainian germplasm (20.4%), which greatly differentiates these cultivars from the cultivars originating in other regions of Europe.

Our research and study of Ercisli et al. (2012) revealed eight *S*-alleles: S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_9 and S_{12}. Ipek et al. (2011) found ten different alleles, S_7 and S_{10} in addition to the eight listed. Also, eight alleles were reported by Lisek et al. (2015), but S_{13} was detected instead of S_{12}. The allele S_{12} was not found in the Spanish germplasm either, and Cachi and Wünsch (2014a) stated ten identified alleles, namely S_{13}, S_{16} and S_{22} in addition to the list of aforementioned alleles.

The highest polymorphism of *S*-loci was observed in Italian landraces; Marchese италианските местни сортове; Marchese et al. (2017) съобщават за 17 алели, S_5', S7, S_{10}, S_{13}, S_{14}, S_{16}, S_{17}, S_{19} и S_{22} в допълнение към списъка с осемте алела. Все още няма отговор защо някои алели са често срещани в някои зародишни плазми на череши, докато други са редки; обаче, Marchese et al. (2017) разискват, че някои алели могат да бъдат свързани с характеристики на адаптиране към конкретни агроекологични условия или могат да бъдат резултат от ефекта на наблюдателя и селекционните събития (Kato and Mukai, 2004).

et al. (2017) reported 17 alleles, S_5', S_7, S_{10}, S_{13}, S_{14}, S_{16}, S_{17}, S_{19} and S_{22} in addition to the list of eight alleles.

There is no answer yet why some alleles are frequent in certain sweet cherry germplasms whilst other are rare; however, Marchese et al. (2017) speculated that some alleles may be linked with traits of adaptation to particular agro-ecological conditions or could be the result of a founder effect and selection events (Kato and Mukai, 2004).

ИЗВОДИ

Прегледът, представен в настоящото изследване, е първият основен етап на характеризиране на автохтонния материал и трябва да бъде подобрен с някои нови данни за *S*-алели на череши за района на Балканите. За да се избегне загубата на настоящия материал е от съществено значение да се събират и изследват посочените генотипи, за да се позволи тяхното запазване в колекциите от череши. В допълнение, цялата нова информация е много важна за селекционните изследвания и за подходящ избор на опрашители в овощните градини с цел ефективно производство на черешови плодове.

CONCLUSIONS

The overview presented in this study is the first fundamental stage of characterization of autochthonous material and needs to be further improved with some new *S*-alleles data on sweet cherries in the Balkan region.

To avoid the loss of this material, it is essential to collect and evaluate these genotypes to allow their conservation in sweet cherry collections.

In addition, all new information is very important for the breeding research and for appropriate choice of pollenizers in the orchard aiming to the efficient production of sweet cherry fruits.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящето изследване е проведено с подкрепата на Министерството на образованието, науката и технологичното развитие на Република Сърбия, договор No. 451-03-68/2020-14/200215 (вклчюващ проект № 31064, озаглавен „Развитие и запазване на генетичния потенциал на плодовете в умерена климатична зона“.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was conducted under the support of Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, contract No. 451-03-68/2020-14/200215 (including project No. 31064, titled ‘Development and preservation of genetic potential of temperate zone fruits’)..

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Bošković, R. and K. R. Tobutt**, 1996. Correlation of Stylar Ribonuclease Zymograms with Incompatibility Alleles in Sweet Cherry. *Euphytica*, 90, 245-250.
2. **Cachi, A. M. and A. Wünsch**, 2014a. *S*-Genotyping of Sweet Cherry Varieties from Spain and *S*-Locus Diversity in Europe. *Euphytica*, 197, 229-236.

3. **Cachi, A. M. and A. Wünsch**, 2014b. Characterization of Self-Compatibility in Sweet Cherry Cultivars by Crossing Experiments and Molecular Genetic Analysis. *Tree Genetics and Genomes*, 10, 1205-1212.
4. **Doyle, J. J. and J. L. Doyle**, 1987. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
5. **Ercisli, S., M. Radunic, J. Gadze, A. Ipek, M. Skaljac and Z. Cmelik**, 2012. *S*-RNase Based *S*-Genotyping of Croatian Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Genotypes. *Scientia Horticulturae*, 139, 21-24.
6. **Faust, M. and D. Surányi**, 1997. Origin and Dissemination of Cherry. In: Horticultural Reviews, Volume 19 (J. Janick, ed.). John Wiley & Sons, Inc., New York, USA, pp. 263-317.
7. **Fotirić-Akšić, M., T. Nikolić, G. Zec, R. Cerović, M. Nikolić, V. Rakonjac and D. Nikolić**, 2016. 'Canetova', a New Sweet Cherry Cultivar from Serbia. In: Proceedings of Third Balkan Symposium on Fruit Growing, Republic of Serbia, Acta Horticulturae, 1139, pp. 91-94.
8. **Gjamovski, V., M. Kiprijanovski and T. Arsov**, 2016. Morphological and Pomological Characteristics of Some Autochthonous Sweet Cherry Cultivars in the Republic of Macedonia. In: Proceedings of Third Balkan Symposium on Fruit Growing, Republic of Serbia, Acta Horticulturae, 1139, pp. 147-152.
9. **Ipek, A., H. Gulen, M. E. Akcay, M. Ipek, S. Ergin and A. Eris**, 2011. Determination of Self-Incompatibility Groups of Sweet Cherry Genotypes from Turkey. *Genetics and Molecular Research*, 10(1), 253-260.
10. **Kato, S. and Y. Mukai**, 2004. Allelic Diversity of *S-RNase* at the Self-Incompatibility Locus in Natural Flowering Cherry Populations (*Prunus lannesiana* var. *speciosa*). *Heredity*, 92, 249-256.
11. **Lisek, A., E. Rozpara, A. Głowacka, D. Kucharska and M. Zawadzka**, 2015. Identification of *S*-Genotypes of Sweet Cherry Cultivars from Central and Eastern Europe. *Horticultural Science (Prague)*, 42(1), 13-21.
12. **Malchev, S.**, 2016. Research of Selected Hybrids and New Cultivars in Sweet Cherry Breeding. Dissertation, Plovdiv, Bulgaria.
13. **Malchev, S. and A. Zhivondov**, 2016. Breeding Programme for Developing New Sweet Cherry Cultivars in the Fruit Growing Institute, Plovdiv, Bulgaria. *Agricultural Science and Technology*, 8(4), 289-291.
14. Marchese, A., R. I. Bošković, T. Caruso, A. Raimondo, M. Cutuli and K. R. Tobutt, 2007. A New Self-Compatibility Haplotype in the Sweet Cherry 'Kronio', S_5', Attributable to a Pollen-Part Mutation in the *SFB* gene. *Journal of Experimental Botany*, 58(15/16), 4347-4356.
15. **Marchese, A., D. Giovannini, A. Leone, R. Mafrica, M. Palasciano, C. Cantini, C. Di Vaio, F. R. De Salvador, G. Giacalone, T. Caruso and F. P. Marra**, 2017. *S*-Genotype Identification, Genetic Diversity and Structure Analysis of Italian Sweet Cherry Germplasm. *Tree Genetics and Genomes*, 13, 93.
16. **Marić, S. and S. Radičević** , 2014. Application of PCR Method in Determination of *S*-Genotype in Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) at Fruit Research Institute – Čačak. *Journal of Pomology*, 48(185/186), 29-37 (Sr).
17. **Marić, S., S. Radičević, R. Cerović and D. Vranić** , 2015. Determination of *S*-Allelic Constitution in Some Sweet Cherry Cultivars (*Prunus avium* L.). *Journal of Pomology*, 49(189/190), 43-48 (Sr).
18. **Marić, S., S. Radičević, S. Sirbu, A. Zhivondov, R. Cerović and N. Milošević**, 2018. *S*-genotyping of Some Sweet Cherry Cultivars Released Within Breeding

Programmes in the Balkan Region. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences*, 72(2), 103-108.
19. **Marić, S., S. Radičević, N. Milošević, M. Fotirić Akšić, R. Cerović, I. Glišić and M. Đorđević**, 2019a. *S-RNase* Allele Identification and Incompatibility Group Assignment in Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Autochthonous Genotypes. *Journal of Pomology*, 53(205/206), 45-52.
20. Marić, S., S. Radičević, M. Popovska, V. Gjamovski and N. Milošević, 2019b. Identification of *S*-alleles in Some Indigenous Sweet Cherry Genotypes Grown in Ohrid Region. In: Book of Proceedings of X International Scientific Agriculture Symposium "Agrosym 2019", Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina, pp. 493-499.
21. Mariette, S., M. Tavaud, U. Arunyawat, G. Capdeville, M. Millan and F. Salin, 2010. Population Structure and Genetic Bottleneck in Sweet Cherry Estimated with SSRs and the Gametophytic Self-Incompatibility Locus. *BMC Genetics*, 11, 77.
22. **Quero-García, J., A. Iezzoni, G. López-Ortega, C. Peace, M. Fouché, E. Dirlewanger and M. Schuster**, 2019. Advances and Challenges in Cherry Breeding. Burleigh Dodds, Cambridge.
23. **Radičević, S., S. Marić and R. Cerović**, 2015. *S*-Allele Constitution and Flowering Time Synchronization – Preconditions for Effective Fertilization in Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Orchards. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(6), 10997-11006.
24. **Radičević, S., S. Marić, R. Cerović, N. Milošević and S. M. Paunović**, 2019. *In situ* Characterization of Some Sweet and Sour Cherry Autochthonous Genotypes in West Serbia Region. In: Proceedings of III International Symposium on Horticultural Crop Wild Relatives, Republic of Bulgaria, Acta Horticulturae, 1259, pp. 81-90.
25. **Schuster, M.**, 2012. Incompatible (*S*-) Genotypes of Sweet Cherry Cultivars (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*, 148, 59-73.
26. **Schuster, M.**, 2017. Self-Incompatibility (*S*) Genotypes of Cultivated Sweet Cherries – An Overview 2017. In: OpenAgrar-Repositorium.
27. **Sonneveld, T., T. P. Robbins, R. Bošković and K. R. Tobutt**, 2001. Cloning of Six Cherry Self-Incompatibility Alleles and Development of Allele-Specific PCR Detection. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 1046-1055.
28. **Sonneveld, T., K. R. Tobutt and T. P. Robbins**, 2003. Allele-Specific PCR Detection of Sweet Cherry Self-Incompatibiliy (*S*) Alleles S_1 to S_{16} Using Consensus and Allele-Specific Primers. *Theoretical and Applied Genetics*, 107, 1059-1070.
29. **Szikriszt, B., A. Doğan, S. Ercisli, M.E. Akcay, A. Hegedűs and J. Halász**, 2013. Molecular Typing of the Self-Incompatibility Locus of Turkish Sweet Cherry Genotypes Reflects Phylogenetic Relationships Among Cherries and Other *Prunus* Species. *Theoretical and Applied Genetics*, 9,155-165.
30. **Vaughan, S. P., R. I. Bošković, A. Gisbert-Climent, K. Russell and K. R. Tobutt**, 2008. Characterisation of Novel *S*-alleles from Cherry (*Prunus avium* L.). *Tree Genetics and Genomes*, 4, 531-541.
31. **Webster, A. D.**, 1996. The Taxonomic Classification of Sweet and Sour Cherries and a Brief History of Their Cultivation. In: Cherries: Crop Physiology, Production and Uses (A. D. Webster and N. E. Looney, eds.). CAB Int., Wallingford, UK, pp. 3-24.
32. **Yamane, H., K. Ikeda, K. Ushijama, H. Sassa and R. Tao**, 2003. A Pollen-Expressed Gene for a Novel Protein with an F-Box Motif that is Very Tightly Linked to a Gene for *S*-RNase in Two Species of Cherry, *Prunus cerasus* and *P. avium. Plant* and *Cell Physiology*, 44(7), 764-769.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (2), 182-196 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на приложението на ‘Stopit’ върху продуктивността и помологичните характеристики на ябълки (*Malus* × *domestica* Borkh.)

Борис Рилак[1]*, Иван Глишич[2], Милан Лукич[1], Мариана Пешакович[1], Светлана М. Паунович[1], Мира Милинкович[1], Татяна Марянович[1]

[1]*Изследователски институт по овощарство, Чачак, Република Сърбия*
[2]*Крагуевацки университет, Агрономически факултет Чачак, Република Сърбия*

Impact of ‘Stopit’ Application on Productivity and Pomological Apple Properties (*Malus* × *domestica* Borkh.)

Boris Rilak[1]*, Ivan Glišić[2], Milan Lukić[1], Marijana Pešaković[1], Svetlana M. Paunović[1], Mira Milinković[1], Tatjana Marjanović[1]

[1]*Fruit Research Institute, Čačak, Republic of Serbia*
[2]*University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Republic of Serbia*
**E-mail: brilak@institut-cacak.org*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Настоящата статия представя двугодишни резултати (2018-2019) от влиянието на листен тор „Stopit“ върху продуктивността и овощните характеристики на пет интродуцирани сорта ябълки (‘Gloster 69’, ‘Golden Reinders’, ‘Granny Smith’, ‘Morrens Jonagored’, and ‘Red Chief’). Третиранията са извършени четири пъти по време на вегетацията, от началото на юни до средата на август на всеки 21 ден. В периода на прибиране на реколтата са определени морфометричните характеристики, твърдост и съдържание на RSM в плодовете, както и добив от единица площ. По време на експеримента са открити значителни различия между изследваните сортове. Най-високо средно тегло, размер на плодовете и съдържание на RSM са установени при сорт ‘Morrens Jonagored’, докато най-висок добив от единица площ е установен при сорт

SUMMARY

This paper presents the two-year results of research into the foliar fertilizer ‘Stopit’ on productivity and pomological properties of five introduced apple cultivars (‘Gloster 69’, ‘Golden Reinders’, ‘Granny Smith’, ‘Morrens Jonagored’ and ‘Red Chief’). Treatments were performed four times during vegetation, from the beginning of June until the mid of August, each 21 day. In harvest period of the investigated cultivars, morphometric properties, firmness and RSM content of fruit, as well as yield per unit area were determined. During the experiment, significant discrepancies between the investigated cultivars were found.

The highest average weight, fruit dimension and the SSC were found in the cultivar ‘Morrens Jonagored’, whereas the highest yield per unit area was found in the cultivar ‘Red Chief’. Regarding the years of

'Red Chief". През първата година на проучване са регистрирани значително по-високи средни стойности на теглото на плода и добив на единица площ, както и съдържанието на RSM. Прилагането на „Stopit", който съдържа калций (Ca) под формата на калциев хлорид ($CaCl_2$) (в неговия химичен състав), показа значително влияние върху твърдостта на плодовете при всички изследвани сортове. Най-високи стойности на твърдостта на плодовете са регистрирани при сорта „Грени Смит" и за двете години на изследване. Листният тор „Stopit" се препоръчва за ябълкови градини поради стимулиращото му въздействие върху продуктивността и помологичните характеристики на ябълките.

Ключови думи: ябълка, сорт, Stopit, качество на плодовете

study, by analyzing the results obtained, significantly higher average values of fruit weight and yield per unit area were recorded in the first year of study compared to the second experimental year, and as for the content of RSM, Identical trend was recorded. Application of 'Stopit', which contains calcium in the form of calcium chloride (in its chemical composition), has shown a significant impact on the firmness of fruit in all investigated cultivars. The highest values of the fruit firmness were recorded in the cultivar 'Granny Smith' in both years of study. Foliar fertilizer 'Stopit' can be recommended in apple orchards due to its stimulative impact on productive and pomological apple properties.

Key words: apple, cultivar, Stopit, fruit quality

УВОД

Ябълката по обем на производство е най-важният овощен вид в света в умерената климатична зона, който заема четвърто място веднага след цитрусовите плодове, гроздето и бананите, като общото производство е 86.142.197 t. В Република Сърбия, ябълката е най-важният семков овощен вид, който се отглежда на площ от 25.917 ha, с общо производство 460.404 t (Faostat, 2018). В структурата на плодопроизводството в Сърбия, ябълката е на второ място, точно след синята слива.

Ябълковите плодове могат да се консумират пресни веднага след прибиране на реколтата или след съхранение (Folta and Gardiner, 2009). Доброто предлагане на пазара на разнообразие от ябълкови плодове изисква от производителите да предлагат такива с високо качество (O'Rourke, 2003). Sams et al. (2008) посочват, че много от физиологичните и патологичните нарушения в ябълковите плодове са свързани със съдържанието на калций (Ca^{2+}) в плодовото месо. Концентрацията на калций в растителната тъкан има изключително ценна роля за поддържане на

INTRODUCTION

By the volume of production, apple is the world's most important temperate fruit species taking fourth place right after citrus fruits, grapes and bananas, with the total production of 86.142.197 t. In the Republic of Serbia, apple is the most important pome fruit species which is grown under area of 25.917 ha, with the total production of 460.404 t (Faostat, 2018). In the structure of fruit production in our country, apple is second, right behind plum.

Apple fruits can be consumed fresh immediately after harvest or after storage (Folta and Gardiner, 2009).

Good market supply with most diverse apple fruits demands a manufacturer's offer of high external and internal quality (O'Rourke, 2003). Sams et al. (2008) state that many physiological and pathological disturbances of apple fruits are related to the content of calcium (Ca^{2+}) in the fruit tissue.

Concentration of calcium in plant tissue has an extremely valuable role in maintain-качеството на плодовете след прибиране на реколтата.

Многобройни автори (Pervaiz et al., 2002; Hossain et al., 2005; Abdi et al., 2006; Misra and Gupta, 2006; Naeem et al., 2009) подчертават, че прилагането на препарати на основа на калций имат положително въздействие за укрепване на клетъчната мембрана и забавя стареенето. Той поддържа твърдостта на плодовете и намалява появата на вътрешно гниене в тях (Raese and Drake, 2002; Dierend and Rieken, 2007). При липса на калций всички процеси на стареене в плодовете протичат много по-бързо и имат по-малък период на съхранение На пазара има множество препарати, съдържащи калций, които могат да се използват преди и след прибиране на реколтата, забавяйки стареенето на плодовете без вредно въздействие върху потребителите (Lester and Grusak, 1999). Ефективността на приложението на калций се обуславя от периода на прилагане, така че ранното приложение през вегетационния период е далеч по-ефективно, отколкото по-късното, особено по отношение на намаляването на Джонатановите петна (bitter pit) (Fellahi et al., 2010). Zavalloni et al. (2001) установяват, че листното приложение на препарат, съдържащ калций в гъсти ябълкови насаждения, води до по-бавно придвижване на калция от листата към плодовете.

Целта на изследването е да се определи влиянието на приложения листен тор „Stopit“ ($CaCl_2$) върху продуктивността и помологичните характеристики при пет интродуцирани ябълкови сорта.

ing the quality of fruits after harvest.

Numerous authors (Pervaiz et al., 2002; Hossain et al., 2005; Abdi et al., 2006; Misra and Gupta, 2006; Naeem et al., 2009) emphasize that application of the calcium based composition have positive effects on cell membrane stabilization and age delay. It also maintains firmness and decreases occurrence of the so called ‘bitter pit’ internal rot in fruits (Raese and Drake, 2002; Dierend and Rieken, 2007). In the lack of calcium, all aging processes in fruits flow much faster and they have lower storage capacity.

There are numerous preparations on the market containing calcium that can be used before and after harvest, delaying fruit senescence with no harmful effect on the consumers (Lester and Grusak, 1999).

Efficiency of calcium application is conditioned by the application time in a way that early application during vegetative period is far more efficient than later, especially in terms of the reduction of bitter pit (Fellahi et al., 2010).

Zavalloni et al. (2001) found that foliar application of a composition containing calcium in thick apple plantations leads to a slower leaf-to-fruit mobility of calcium.

The aim of the research was to determine the impact of foliar fertilizer ‘Stopit’ ($CaCl_2$) application on productive and pomological apple properties in five introduced apple cultivars.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експерименталното проучване е проведено в периода от 2018 до 2019 г. в производствено-експерименталната ябълкова градина на Изследователски институт по овощарство в Чачак (43° 89’40 "и 20° 43’42" IGD). Насаждението е създадено през 2006 г. на надморска

MATERIAL AND METHODS

Experimental study was conducted in the period from 2018 to 2019 in the production-experimental apple orchard of the Fruit Research Institute in Čačak (43° 89’ 40” and 20° 43’ 42” IGD). The orchard was set up in 2006 at an altitude of 233 m. Breeding form was palmeta. During the височина 233 m. Дърветата са оформени като палмета. По време на проучването, за поддържане на насаждението са приложени стандартни агротехнически мерки.

Проучването включва пет сорта ябълки: ’Gloster 69’, ’Golden Reinders’, ’Granny Smith’, ’Morrens Jonagored’ и ’Red Chief присадени върху плодложка М9. Разстоянието е 4 m × 1, 25 m (2000 дървета ha^{-1}), с изключение на сорт „Red Chief“, който е засаден на разстояние 4 x 1 м (2.500 дървета ha^{-1}).

Проучването включва прилагането на листен тор „Stopit“ на базата на калциев хлорид, с висока концентрация на калций (160 g/l калций). Съответният листен тор може да се използва от началото на цъфтеж до края на зреенето на плодовете, т.е. фазата на оцветяване до прибиране на реколтата, в количество 5-10 L ha^{-1}.

По време на експеримента, третиранията са приложени върху 20 дървета в четири повторения (общо 80 третирани дървета). „Stopit“ е използван в количество от 7.5 l ha^{-1} (150 ml на 10 l вода). През 2018 г. първото третиране е проведено на 7 юни, второто на 2 юли, третото на 20 юли и четвъртото на 15 август, докато през 2019 г., третиранията са проведени на 14 юни, 5 юли, 26 юли и 16 август. За листното третиране на ябълковите дървета е използвана моторна пръскачка SR 420 (STIHL International GmbH Waiblingen, Германия) с разход 1.000 L ha^{-1}.

Анализирани са параметрите на добив от единица площ (t ha^{-1}), морфометричните свойства на плодовете, както и твърдостта и съдържанието на разтворими твърди вещества. Добивът на изследваните сортове се измерва в периода на прибиране на реколтата. През първата година на проучването, при сортове „Gloster 69" и „Morrens Jonagored", измерването е извършено на 10 септември, за сорт "Red Chief" на 11 септември, „Golden Reinders“, „Gloster 69" на 26 септември и сорт

study, standard agro-technical and plantation maintenance measures were applied.

The study included five apple cultivars: ’Gloster 69’, ’Golden Reinders’, ’Granny Smith’, ’Morrens Jonagored’ and ’Red Chief’ grafted on the rootstock M9. The spacing was 4 m × 1, 25 m (2000 trees ha^{-1}), apart from the cultivar ’Red Chief’ which was planted at a distance of 4 x 1 m (2.500 trees ha^{-1})

The study included the application of foliar fertilizer ‘Stopit’ based on calcium chloride, with high concentration of calcium (160 g/l calcium). The respective foliar fertilizer could be used from the beginning of flowering until the end of fruit maturation, i.e. the phase of pigmentation until harvest, in the amount of 5-10 L ha^{-1}.

During the experiment, treatments were applied on 20 trees in four replications (a total of 80 trees per treatment). ‘Stopit’ was used in the amount of 7.5 l ha^{-1} (150 ml on 10 l of water). In 2018, the first treatment was conducted on June 7th, the second on July 2nd second, third on July 20th and the fourth, on August 15th while in 2019, the treatments were conducted on June 14th, July 5th, July 26th and August 16th. For the foliar treatment of apple, a motor sprayer SR 420 (STIHL International GmbH Waiblingen, Germany) with a consumption of 1.000 *L ha*$^{-1}$ was used.

Yield parameters per unit area (t ha^{-1}), morphometric properties of fruit, as well as the firmness and soluble solids content were analysed. Yield of the studied cultivars was measured during the harvest. In the first year of study, in cultivars ‘Gloster 69’ and ‘Morrens Jonagored’, measuring was done on 10th of September, in the cultivar ‘Red Chief’ on 11th of September, in Golden Reinders on 26th of September, and in the cultivar Granny Smith, on 9th of October. In the

Granny Smith, на 9 октомври. На втората година от проучването, прибирането и измерването на добива от единица площ за „Gloster 69“ и „Red Chief" е проведено на 16 септември, за „Morrens Jonagored“ на 23 септември, за "Granny Smith" на 25 септември и за „Golden Reinders“, измерването е извършено на 27 септември.

Морфометричните свойства на плодовете са определени с проба от 80 плода (четири повторения по 20 плода). Теглото на плодовете е измерено с помощта на техническа везна (Adventurer Pro AV812M, Швейцария), докато дължината и ширината на плодовете (mm) се определи чрез дигитален шублер (Carl Roth, Германия). Твърдостта на плодовете е определена с дигитален пенетрометър (модел FHT-803, Италия) и получените стойности са дадени в Pa, както и от пенетрометъра Bertuzzi FT-327 (Facchini, Alfonsine, Италия) със стойности, изразени в cm^{-2}. Съдържанието на разтворими твърди вещества в ябълковите плодове е определено с помощта на бинокулярен рефрактометър (Carl Zeiss, Jena) при стайна температура (20°C) и стойностите са дадени в ° Brix.

Резултатите са представени като средна ± стандартна грешка на средната стойност (SE). Разликите между средните стойности са сравнени чрез LSD тест при двуфакторен дисперсионен анализ (ANOVA), използвайки статистически компютърен пакет MSTAT-C (Michigan State University, East Lansing, MI, USA). Разликите със стойности $p \leq 0,05$ се считат за незначителни.

second year of study, harvesting and measuring of yield per unit area in ‘Gloster 69’ and ‘Red Chief’ was carried out on 16th of September, in ‘Morrens Jonagored’ on 23rd of September, in ‘Granny Smith’ on 25th of September and in ‘Golden Reinders’, measuring was performed on 27th of September.

Morphometric properties of fruit were determined on a sample of 80 fruits (four replications of 20 fruits). Fruit weight was determined using a technical scale (Adventurer Pro AV812M, Switzerland), while the fruit length and width (mm) were determined by digital calliper (Carl Roth, Germany).

Fruit firmness was determined by digital penetrometer (Model FHT-803, Italy) and the obtained values were given in Pa, as well as by the penetrometer Bertuzzi FT-327 (Facchini, Alfonsine, Italy) with values expressed in cm^{-2}. Soluble solids content in the fruit of apple was determined using a binocular refractometer (Carl Zeiss, Jena) at room temperature (20 ° C) and the values were given in ° Brix.

The results are presented as mean ± standard error of mean (SE). Differences between mean values were compared by LSD test in two-way analysis of variance (ANOVA) using MSTAT-C statistical computer package (Michigan State University, East Lansing, MI, USA). Differences with p values of ≤ 0.05 were considered insignificant.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от двугодишното проучване, свързани с морфометричните характеристики и разтворимите твърди вещества в ябълковите плодове в зависимост от прилагането на листен тор „Stopit“, са показани в Таблица 1.

Чрез дисперсионен анализ е установено, че сортът и взаимодей-

RESULTS AND DISCUSSION

The two-year study results related to fruit morphometric properties and soluble solids in fruit of apple depending on the application of foliar fertilizer ’Stopit’ are shown in Table 1.

By analysis of variance, it has been found that cultivar and mutual interaction ствието му с променлив фактор има статистически значимо влияние върху всички характеристики на плода, докато въздействието на годината е статистически значимо по отношение на височината на плодовете и съдържанието на разтворими вещества.

of variability factor had statistically significant impact on all of the abovementioned characteristics of fruit, while the impact of year was statistically significant in respect of fruit height and soluble solids content.

Таблица 1. Влияние на „Stopit“ върху морфометричните свойства и съдържание на разтворими твърди вещества в изследваните сортове ябълки

Table 1. Impact of 'Stopit' application on morphometric properties and the content of soluble solids of investigated apple cultivars

Обработка Treatment		**Тегло на плода Fruit weight** (g)	**Всочина на плод Fruit height** (mm)	**Широчина на плод Fruit width** (mm)	**Съдържание на разтв. твърди вещ. Soluble solids content (°Brix)**
Сорт (A) Cultivar (A)					
'Gloster 69'		213.41±8.17 b	71.68±1.49 a	79.27±0.08 b	11.56±0.91 c
'Golden Reinders'		152.34±2.98 e	63.52±0.72 c	70.21±0.72 d	14.92±0.51 a
'Granny Smith'		178.16±4.74 d	65.42±0.95 b	77.31±0.77 c	12.13±0.21 b
'Morrens Jonagored'		231.00±8.18 a	71.41±0.82 a	81.57±1.06 a	14.52±0.25 a
'Red Chief'		199.40±2.87 c	71.48±0.61 a	76.74±0.42 c	11.12±0.71 d
Година (B) Year (B)					
2018		195.61±6,43 a	69.67±0.95 a	77.46±0.90 a	11.58±0.49 a
2019		194.11±7.95 a	67.71±0.99 b	76.98±0.98 a	14.13±0.32 b
Сорт x Година (A x B) Cultivar × Year (A ò B)					
'Gloster 69'	2018	231.78±4.07 b	75.18±0.89 a	81.61±0.34 ab	9.18±0.21 g
'Golden Reinders'	2018	148.84±0.89 f	63.43±0.28 e	70.57±0.32 f	13.58±0.19 d
'Granny Smith'	2018	188.85±3.43 d	67.74±0.63 d	78.92±0.53 cd	11.64±0.19 f
'Morrens Jonagored'	2018	210.19±4.09 c	69.97±0.28 cd	79.53±0.91 bc	14.23±0.28 c
'Red Chief'	2018	198.40±2.81 cd	72.02±0.99 bc	76.70±0.75 de	9.28±0.24 g
'Gloster 69'	2019	195.03±8.34 d	68.17±1.17 d	76.94±1.32 cde	13.95±0.18 cd
'Golden Reinders'	2019	155.84±5.70 f	63.61±1.52 e	71.86±1.43 f	16.25±0.87 a
'Granny Smith'	2019	167.48±4.14 e	63.09±0.47 e	75.71±0.86 e	12.62±0.80 e
'Morrens Jonagored'	2019	251.81±2.58 a	72.85±1.28 ab	83.62±1.27 a	14.86±0.38 b
'Red Chief'	2019	200.39±5.46 cd	70.95±0.74 bc	76.79±0.50 de	12.95±0.14 e
ANOVA					
A		*	*	*	*
B		ns	*	ns	*
A ò B		*	*	*	*

Стойностите във всяка колона последвани от същата малка буква нямат статичстически значима разлика при p≤0.05 изчислени с LSD тест; ns – без значими разлики

Values within each column followed by the same small letter are not significantly different at p≤0.05 by LSD test; ns - non-significant differences.

Средните стойности на теглото на изследваните ябълкови плодове варират от 148.84 до 251.81 g. Анализираните сортове се различават един от друг. Най-голямото тегло на плодовете е отчетено при сорта „Morrens Jonagored“ (231.00 g), докато най-

Average values of fruit weight of the investigated apple fruits ranged from 148.84 to 251.81 g. Analysed cultivars distinguished one from the other. The highest fruit weight was recorded in the cultivar 'Morrens Jonagored' (231.00 g), while the lowest fruit weight was recorded малкото тегло е отчетено при „Golden Reinders“ (152.34 g). Между годините не е установена значителна разлика, въпреки че през първата година на изследването е отчетена малко по-висока стойност на плодовото тегло в сравнение с втората година. Чрез анализиране на стойностите на средното тегло на плода при взаимодействие на сорта спрямо годината, най-висока стойност е отчетена при сорт „Morrens Jonagored“ през втората година (251.81 g), а най-ниска за сорт „Golden Reinders“ през първата година с приложение на „Stopit“ (148.84 g).

Средните стойности на височината на изследваните ябълкови плодове варират от 63.09 до 75.18 mm, докато средните стойности на ширината на плода варира от 70.57 до 83.62 mm. Най-високите стойности на височината на плодовете са отчетени при „Gloster 69“,„Red Chief" и „Morrens Jonagored’ (съответно 71.68; 71.48 и 71.41 mm) и са с отчетлива разлика от сортове "Granny Smith"’ и „Golden Reinders’ (съответно 65.42 и 63.52 mm). По отношение на широчината на плода, сорт „Morrens Jonagored’“ се откроява (81.57 mm), докато най-ниската стойност е установена при „Gold Ginders“ (70.21 mm). През 2018 г. са отчетени по-високи стойности във височината на плодовете (69.67 mm) в сравнение с 2019 г. (67.71 mm), докато съществени разлики в широчината на плодовете не са открити в годините на проучване (2018 г. - 77.46 mm и 2019 г. - 76.98 mm). Ефектът от взаимодействието сорт/година, като променлив фактор показа най-голямата широчина на плодовете при сорт „Gloster 69“ (75.18 mm) през 2018 г. и най-малка при сорт "Granny Smith" (63.09 mm) през 2019 г. От друга страна, ефектът на взаимодействието сорт/година върху широчината на плодовете е най-голям през втората година на проучване при сорт „Morrens Jonagored’ (83.62 mm), а най-малък при „Gold Ginders “през първата

in ’Golden Reinders’ (152.34 g).

Between years, no significant difference was found although somewhat higher value of fruit weight was recorded in the first year of study compared to the second year. By analyzing values of average fruit weight in interaction effect cultivar/year, the highest value was recorded in the cultivar ’Morrens Jonagored’ in the second year (251.81 g), and the lowest in the cultivar ’Golden Reinders’ in the first year of ‘Stopit’ application (148.84 g).

Average height values of the investigated apple fruit ranged from 63.09 to 75.18 mm. while average width values of fruit ranged from 70.57 to 83.62 mm. The highest values of fruit height were determined in ‘Gloster 69, ‘Red Chief’ and ‘Morrens Jonagored’ (71.68; 71.48 and 71.41 mm, respectively) and were significantly distinguished from the cultivars ‘Granny Smith’ and ‘Golden Reinders’ (65.42 and 63.52 mm, respectively).

With regard to the fruit width, the cultivar ‘Morrens Jonagored’ stood out (81.57 mm) whereas the lowest value was found in ‘Golden Reinders’ (70.21 mm). In 2018, higher values of the fruit height were recorded (69.67 mm), compared to 2019 (67.71 mm), while no significant differences in the fruit width were found between years of study (2018 - 77.46 mm and 2019 - 76.98 mm).

Interaction effect cultivar/year of variability factor exhibited the highest fruit width in the cultivar ’Gloster 69’ (75.18 mm) in 2018 and the lowest in the cultivar ‘Granny Smith’ (63.09 mm) in 2019. On the other hand, interaction effect cultivar/year in fruit width was greatest in the second year of study in the cultivar ‘Morrens Jonagored’ (83.62 mm), and lowest in ‘Golden Reinders’ in the first year of study (70.57 mm).

година (70.57 mm). Морфометричните свойства на ябълковите плодове са генетично обусловени, въпреки че тяхното изменение до голяма степен може да бъде обусловено от факторите на околната среда (Krgović, 1990). Полученото тегло на плода от изследваните сортове е в съответствие с данните на Mišić (1994), който посочва, че теглото на плодовете на местни ябълкови сортове варира от 70 до 500 g, 98% от които са годни за консумация. В допълнение, Mišić (2004) посочва, че плодовете на „Golden Deliciuos" принадлежат към групата на средно едрите до едри (120-200 g), докато плодовете на „Gloster" принадлежат към групата на едрите до много едрите (18 -250 g) , чрез прилагане на листен тор „Stopit" при сорт „Morrens Jonagored' (82.42 mm), и най-малки при същото третиране на сорт „Golden Reinders' (70.47 mm). Подобно е установено от Gvozdenović (1998), който изтъква, че плодовете на привлекателните ябълкови сортове трябва да бъдат с размери от 65 до 75 mm, което съответно е потвърдено в нашите проучвания.

Що се отнася до използването на листен тор на основата на калциев хлорид, Asgharzade et al. (2012) посочват, че по-голямо тегло на ябълковите плодове се получава чрез използване на калциев хлорид по време на вегетация. Също така, Ashour (2000) установява, че пръскане с 0.5% калциев хлорид влияе върху увеличаване на теглото на плодовете, докато Amiri et al. (2008) подчертават, че листното приложение на някои торове може да бъде по-ефективно по отношение на морфометричните свойства на плодовете спрямо стандартния метод на торене. Резултатите, получени в настоящото проучване, са в съответствие с тези на горепосочените автори.

Съдържанието на разтворими твърди вещества представлява една от основните характеристики, определящи качеството на плодовете и интереса от страна на потребителите. Съдържание-

Morphometric properties of apple fruit are genetically conditioned although their variation to a considerable extent can be conditioned by environmental factors (Krgović, 1990).

Obtained fruit weight of the investigated cultivars in the experiment complies with the quotes by Mišić (1994) pointing out that the fruit weight of domesticated apple cultivars ranges from 70 to 500 g, 98 % of which is edible. In addition, Mišić (2004) states that the fruits of 'Golden Deliciuos' belong to the group of medium-large to large (120-200 g), whereas fruits of 'Gloster' belong to the group of large to very large (180-250 g). through application of foliar fertilizer 'Stopit' in the cultivar 'Morrens Jonagored' (82.42 mm), and the smallest in the same treatment in the cultivar 'Golden Reinders' (70.47 mm). Similar was found by Gvozdenović (1998), who pointed out that fruits of attractive apple cultivars should be (characterised by dimensions) from 65 to 75 mm, which has been confirmed in our studies accordingly.

Regarding the use of foliar fertilizer based on calcium chloride, Asgharzade et al. (2012) state that the higher weight of apple fruit is obtained by using calcium chloride during vegetation.

Also, Ashour (2000) found that spraying with 0.5% calcium chloride affects the increase of fruit weight while Amiri et al. (2008) emphasize that foliar application of some fertilizers can be more efficient in terms of morphpmetric properties of fruit in relation to the standard fertilization method. Results obtained in this investigation are in line with those of the abovementioned authors.

Soluble solids content represents one of the key parameters determining quality and thereby, consumer acceptability (of fruits). Soluble solids content is increased by fruit maturity and то на разтворими твърди вещества се повишава с узряване на плодовете и е основен показател за качество и зрялост. В плодопроизводството над 11.0% за даден ябълков сорт се считат като праг за приемане от потребителя и ако стойностите са по-високи от 13.5%, одобрението е по-голямо.

Средните стойности на съдържанието на разтворими твърди вещества в изследваните ябълкови сортове в експеримента варират в широк диапазон, от 9.18° до 16.25° Brix. Наблюдавани по сортове, най-високи стойности са отчетени при „Golden Reinders" и „Morrens Jonagored" (съответно 14.92°Brix и 14.52 °Brix), а най-ниските стойности при „Red Chief" (11.12°Brix). През 2019 г. (14.13°Brix) са отчетени значително по-високи стойности на съдържанието на разтворими твърди вещества в сравнение с 2018 г. (11.58°Brix). При ефекта на взаимодействие на наблюдаваните променливи фактори (култура/година), най-високата средна стойност на разтворими твърди вещества е регистрирана при „Golden Reinders" през 2019 г. (16.25°Brix), а доста по-ниски стойности при „Gloster 69" и „Red Chief" през 2018 г. (9.18°Brix) и съответно 9.28°Brix). Netravati et al. (2018) посочват, че се увеличава съдържанието на разтворими твърди вещества в ябълковите плодове при прилагане на препарати на основата на калций. Освен това, процентът се покачва в периода на съхранението.

Твърдостта на мезокарпа представлява важен показател за зрялост на плодовете и влияе върху качеството им. Този показател е свързан с едно от важните физични свойства, определящи продължителността на съхранение на плодовете и тяхното навременно разпространение на пазара. Резултатите от изследването върху влиянието на листен тор „Stopit" върху устойчивостта на плодовете на изследваните ябълкови сортове са представени на Фигура 1 и 2.

is a basic indicator of quality and ripeness. In fruit production, above 11,0% is considered consumer-aceptable threshold for an apple cultivar and if the values of the mentioned fruit quality indicator are higher than 13,5%, acceptability is better.

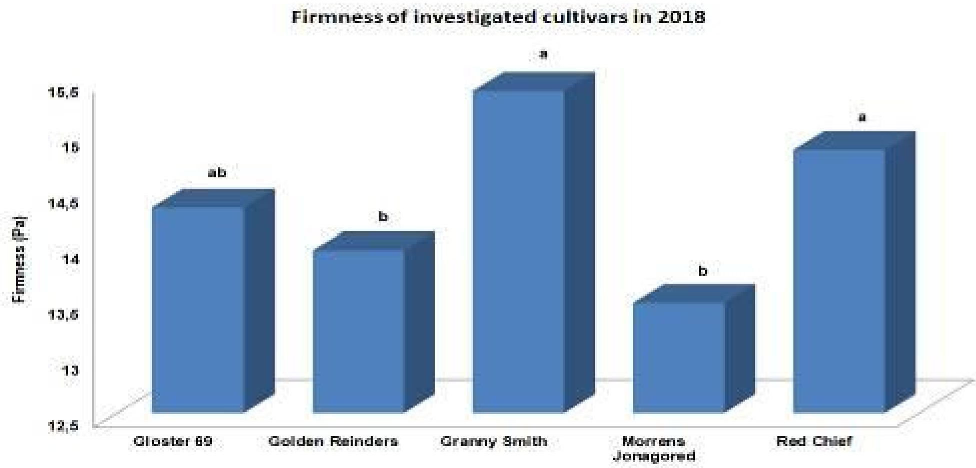
Average values of the soluble solids content of the investigated apple cultivars in the experiment varied in a wide range, from 9.18° to 16.25°Brix. Observed by cultivars, the highest values were recorded in 'Golden Reinders' and 'Morrens Jonagored' (14.92°Brix and 14.52°Brix, respectively), and the lowest values in 'Red Chief' (11.12°Brix).

In 2019 (14.13°Brix) significantly higher values of the content of soluble solids compared to 2018 (11.58°Brix) were recorded. In interaction effect of variability factors observed (cultivar/year), the highest average value of the soluble solids was recorded in 'Golden Reinders' in 2019 (16.25°Brix), and far lower values in 'Gloster 69' and 'Red Chief' in 2018 (9.18°Brix i 9.28°Brix, respectively).

Netravati et al. (2018) state that there comes to an increase in the soluble solids content in fruits of apple applying treatments with calcium based compositions. Apart from that, the percentage increases during the storage.

In addition to the impact on quality, mesocarp firmness represents an important indicator of the fruit maturity.

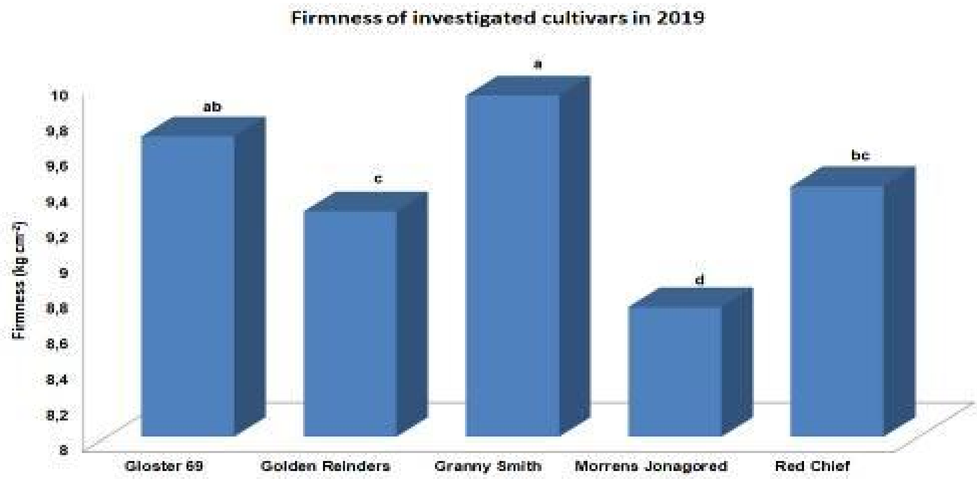
Fruit firmness is one of the important physical properties determining fruit storage life and their timely distribution to the market. Study results on the impact of foliar fertilizer 'Stopit' application on the fruit firmness of the investigated apple cultivars are given in Figure 1 and 2.



Фиг. 1. Твърдост на плодовете на изследваните сортове през 2018 г.
Fig. 1. Firmness of investigated cultivars in 2018

Използването на „Stopit“, със съдържание на калций, под формата на калциев хлорид показа значителен ефект върху твърдостта на плодовете във всички изследвани сортове. Най-голяма твърдост на плодовете през първата година е отчетена при сортове "Granny Smith" и „Red Chief" (съответно 15.39 Pa и 14.86 Pa). Малко по-ниска твърдост на плодовете е отчетена при „Gloster 69’ (14.34 Pa), докато най-ниската стойност е отчетена при сортове „Golden Reinders“ (13.96 Pa) и „Morrens Jonagored’ (13.49 Pa).

Application of ‘Stopit’ containing calcium in the form of calcium chloride exhibited a significant effect on the fruit firmness in all of the investigated cultivars. The greatest fruit firmness of fruit in the first year was recorded in cultivars ‘Granny Smith’ and ‘Red Chief’ (15.39 Pa and 14.86 Pa, respectively). Somewhat lower fruit firmness was recorded in ‘Gloster 69’ (14.34 Pa), whereas the lowest value was recorded in cultivars ‘Golden Reinders’ (13.96 Pa) and ‘Morrens Jonagored’ (13.49 Pa).



Фиг. 2. Твърдост на плодовете на изследваните сортове през 2019 г.
Fig. 2. Firmness of investigated cultivars in 2019

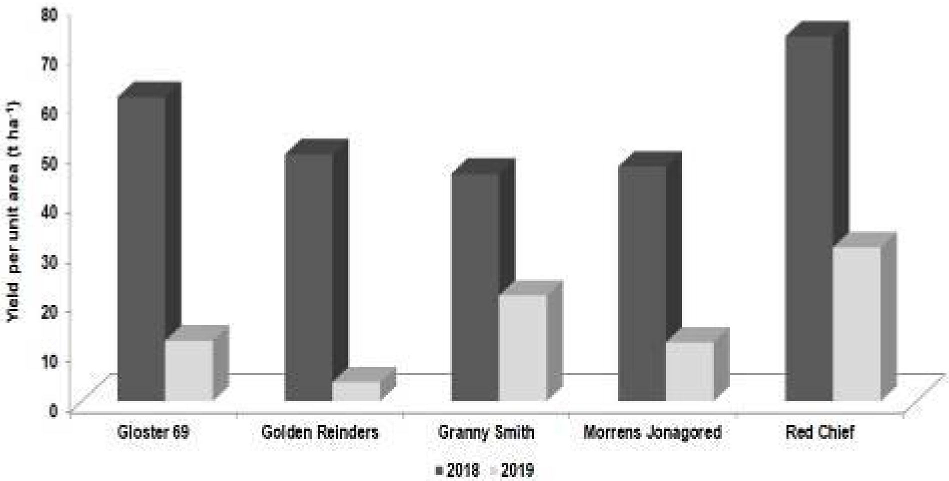
През втората година на проучване, както и през първата, прилаганият препарат статистически значително повлия на твърдостта на плодовете. Най-голяма твърдост на плодовете е регистрирана при „Granny Smith' (9.92 kg cm^{-2}), следван от сорт „Gloster 69" (9.69 kg cm^{-2}), докато малко по-ниски стой-ности са отчетени при сортове „Red Chief" и „Golden Reinders" (9.41 kg cm^{-2} и 9.27 kg cm^{-2}, съответно). Най-ниска стойност на твърдост на плодовете е установена в „Morrens Jonagored' (8,73 kg cm^{-2}). Резултатите от проучването, отразени в статията, са в съответствие с данните на Asgharzade et al. (2012), които подчертават, че третирането с калциев хлорид преди прибиране на реколтата значително влияе върху уве-личаване на твърдостта на мезокарпа. Подобни резултати постигат Shirzadeh et al. (2011), както и Casero et al. (2004) и Benavides et al. (2002), които посочват положителна връзка между твърдостта на плода и съдържанието на калций. Според Siddiqui и Bangerth (1995), положителното въздействие от прилагането на калциев хлорид, върху твърдостта на плодовете е свързано със съдържанието на калциев хлорид във

In the second year of study, as in the first, applied composition statistically significantly affected the firmness of fruit. The highest firmness of fruit was recorded in 'Granny Smith' (9.92 kg cm^{-2}), followed by the cultivar 'Gloster 69' (9.69 kg cm^{-2}), while somewhat lower values were recorded in cultivars 'Red Chief' and 'Golden Reinders' (9.41 kg cm^{-2} and 9.27 kg cm^{-2}, respectively).

The lowest value of fruit firmness was found in 'Morrens Jonagored' (8.73 kg cm^{-2}). Study results obrained in the work are in line with the quotes of Asgharzade et al. (2012) who emphasize that calcium chloride treatments before harvest significantly affect the increase of mesocarp firmness.

Similar results were reached by Shirzadeh et al. (2011) as well and Casero et al. (2004) and Benavides et al. (2002) have pointed to a positive correlation between fruit firmness and calcium content in fruit. According Siddiqui and Bangerth (1995), positive effects of calcium chloride application on the firmness of fruit are connected with calcium chloride content in fractions of covalently bonded pectins, фракции на ковалентно свързан пектин, докато Saure (2005) подчертават, че калцият влияе на стабилизацията на клетъчната мембрана, като по този начин инхибира физиологичните смущения, причинени от липсата му.

while Saure (2005) emphasize that calcium affects cell membrane stabilization thus inhibiting physiological disturbances attributed to its lack.



Фиг. 3. Влияние на приложение на „Stopit“ върху добив от единица площ на изследваните ябълки
Fig. 3. Impact of ‘Stopit’ application on yield per unit area of investigated apple cultivars

Плододаването и следователно добивът на плодове от единица площ оказва най-голямо биологично и икономическо въздействие. Добивът се обуславя от редица фактори, които могат да бъдат от биологичен и екологичен произход. По отношение на годината на изследване, чрез анализ на получените резултати, през първата година на проучване са отчетени значително по-високи стойности за добив от единица площ в сравнение с втората. Трябва да се отбележи обаче, че значително по-ниските добиви от изследваните сортове получени през втората година на изследването са в резултат на късна пролетна слана през последните дни на март и значително увреждане на цветните пъпки във фаза на цъфтеж. Анализирайки получените резултати, най-висок добив от единица площ и

Bearing and therefore, yielding of fruits per unit area has the greatest biological and economic impact. Yield is conditioned by a number of factors that can be of biological and ecological origin.

Regarding the year of study, by analyzing the obtained results, significantly higher values of yield per unit area have been recorded in the first year of study compared to the second year of study.

However, it should be noted that significantly lower yields in the investigated cultivars are reached in the second year of study as a result of late spring frost during the last days of March and a substantial damage of flower buds in blooming phase. By analyzing the obtained results, the highest yield per unit area in both years of study was recorded през двете години на проучване е отчетен при сорт „Red Chief" (2018 г. - 73.5 t ha^{-1}; 2019 г. - 31.062 t ha^{-1}). Сорт "Gloster 69" също постига висок добив през първата година на проучване (61.25 t ha^{-1}), последван от „Golden Reinders", „Morrens Jonagored" и „Granny Smith" (съответно 49.7; 47.25 и 45.85 t ha^{-1}). През втората година от наблюдението на експеримента, освен „Red Chief", високи добиви са отчетени и при "Granny Smith" (21.35 t ha^{-1}), следван от „Gloster 69" (12.205 t ha^{-1}) и„ Morrens Jonagored" (11.9 t ha^{-1})), докато най-нисък добив е отчетен при „Golden Reinders" (3.85 t ha^{-1}). Прилагането на листни торове на калциева основа според Jafarpour и Poursakhi (2011) оказва положително влияние върху увеличаването на добива на плодовете, т.е. установена е положителна зависимост между броя на приложенията и добива. Най-добрите резултати от прилагането на калциев хлорид са получени чрез комбинация от листно приложение и стандартен метод на торене (Amiri et al., 2008).

in the cultivar 'Red Chief' (2018 – 73.5 t ha^{-1}; 2019 – 31.062 t ha^{-1}).

The cultivar 'Gloster 69' also achieved a high yield in the first year of study (61.25 t ha^{-1}), followed by 'Golden Reinders', 'Morrens Jonagored' and 'Granny Smith' (49.7; 47.25 and 45.85 t ha^{-1}, respectively). In the second year of monitoring the experiment, apart from 'Red Chief', high yields were also found in 'Granny Smith' (21.35 t ha^{-1}), followed by 'Gloster 69' (12.205 t ha^{-1}) and 'Morrens Jonagored' (11.9 t ha^{-1}), while the lowest yield was recorded in 'Golden Reinders' (3.85 t ha^{-1}). Application of calcium based foliar fertilizer according to Jafarpour and Poursakhi (2011) have positive effect on the increase of fruit yield, i.e. a positive correlation has been found between number of application and yield. Best results of the calcium chloride application were obtained by combination of foliar application and standard method of fertilization (Amiri et al., 2008).

ИЗВОДИ

Един от начините за подобряване качеството на ябълковите плодове е третирането с листен тор „Stopit", съдържащ калций под формата на калциев хлорид. Листното приложение на съответния тор при различни ябълкови сортове повлиява положително на най-важните показатели за качество на плодовете по време на двугодишното изследване. Производителите на ябълки признават положителното въздействие от приложението на „Stopit" върху помологичните свойства на ябълките, което респективно подобрява технологията на отглеждане с цел по-добро съхранение на плодовете.

CONCLUSIONS

One of the ways to improve apple fruit quality is treatment with foliar fertilizer 'Stopit' containing calcium in the form of calcium chloride. Foliar application of the respective fertilizer in different apple cultivars positively affected the most important fruit quality indicators of investigated apple cultivars during the two-year research. The acknowledged positive effect of 'Stopit' application on pomological properties of apple producers has enabled giving milestones in respect of improving apple cultivation with the aim of better apple fruits storage.

БЛАГОДАРНОСТИ

Изследването е част от договор No. 451-03-68/2020-14/200215 и е финансирано от Министерството на

ACKNOWLEDGEMENTS

This study is the part of the agreement No. 451-03-68/2020-14/200215 and financed by the Ministry of Education, образованието, науката и технологичното развитие на Република Сърбия. Изказваме искрената си благодарност за подкрепата.

Science and Technological Development of the Republic of Serbia. We hereby express our sincere gratitude for the support.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Abdi, G. H., M. Khosh-Khm and S. Eshghi**, 2006. Effects of Natural Zeolite on Growth and Flowering of Strawberry. *International Journal Agricultural Research,* 1(4), 384−389.

2. **Amiri, M. E., E. Fallahi and A. Golchin**, 2008. Influence of Foliar and Ground Fertilization on Yield, Fruit Quality, and Soil, Leaf, and Fruit Mineral Nutrients in Apple. *Journal Plant Nutrition,* 31(3), 515−525.

3. **Asgharzade, A., G. Ali Valizade and M. Babaeian**, 2012. Effect of Calcium Chloride ($CaCl_2$) on Some Quality Characteristic of Apple Fruits in Shirvan Region. *African Journal of Microbiology Research,* 6(9), 2000−2003.

4. **Ashour, N. N.**, 2000. Effect of Environmental Factors, Calcium and Potassium Fertilization on Yield and Quality of Apple. Ph.D. thesis, Faculty of Agriculture Mansoura University Egypt, 4, 59−76.

5. **Benavides, A., I. Recasens, T. Casero, Y. Soria and J. Puy**, 2002. Multivariate Analysis of Quality and Mineral Parameters on Golden Smoothee Apples Treated before Harvest with Calcium and Stored in Controlled Atmosphere. *Food Science Technology International,* 8, 139−145.

6. **Casero, T., A. Benavides, J. Puy and I. Recasens**, 2004. Relationships between Leaf and Fruit Nutrients and Fruit Quality Attributes in Golden Smotthee Apples Using Multivariate Regression Techniques. *Journal Plant Nutrition,* 27, 313−324.

7. **Dierend, W. and S. Rieken**, 2007. Postharvest Treatment of Apples with Ca Chloride. *Erwerbs–Obstbau* 49, 51–56.

8. Faostat, 2018. http//www.fao.org/faostat/en/#data/QC. Available 09th March, 2020.

9. **Fellahi, E., B. Fellahi, G. H. Nielsen, D. Nielsen and F. J. Peryea**, 2010. Effects of Mineral Nutrition on Fruit Quality and Nutritional Disorders in Apples. *Acta Horticulturae*, 868, 49−60.

10. **Folta, K. M. and S. E. Gardiner**, 2009. Plant Genetics and Genomics. Genetics and Genomics of Rosaceae. *Springer Science Business Media*, 6, 162.

11. **Gvozdenović, D. ,**1998. The Apple. Faculty of Agriculture, Novi Sad (Sr).

12. **Hossain, A. K. M., H. Koyama and T. Hara**, 2005. Sugar Compositions and Molecular Mass Distributions of Hemi Cellulosic Polysaccharides in Wheat Plants under Aluminum Stress at Higher Level of Calcium Supply. *Asian Journal Plant Science,* 4(1), 11-16.

13. **Jafarpour, M. and K. Poursakhi**, 2011. Study of Concurrent Effect of Using Nutrients through Soil and Foliar Application on Yield and Quality of the “Red Delicious” Apple. *International Conference on Life Science and Technology,* 3, 87−96.

14. **Krgović, Lj.**, 1990. Important Pomological and Technological Characteristics of Fruit Varieties of Apples Cultivated in Polimlje. Yugoslav Fruit Growing, (Sr). 94, 29-33.

15. **Krpina, ,I., J. Vrbanek, A. Asić, M. Ljubičić, F. Ivković and T. Čosić**, 2004. Fruit Production. Nakladni zavod Globus. Zagreb (Hr).

16. **Lester, G. E. and M. A. Grusak**, 2004. Postharvest Application of Calcium and Magnesium to Honeydew and Netted Muskmelons: Effects on Tissue Ion Concentrations, Quality and Senescence. *Journal American Society Horticultural*

Science, 124, 545−552.
17. **Mišić, P.**, 1994. The Apple. Nolit. Beograd (Sr). 446-448.
18. **Mišić, P. D.**, 2004. The Apple. Nolit. Beograd (Sr).
19. **Misra, N. and A. Gupta**, 2006. Interactive Effects of Sodium and Calcium on Proline Metabolism in Salt Tolerant Green Gram Cultivar. *American Journal Plant Physiology,* 1(1), 1−12.
20. **Naeem, M., M. Masroor, A. Khan and J. B. Morris**, 2009. Agro Botanical Attributes Nitrogen Fixation, Enzyme Activities and Nutraceuticals of Hyacinth Bean *(Lablab purpureus* L.): A Bio-Functional Medicinal Legume. *American Journal Plant Physiology,* 4(2), 58−69.
21. Netravati, G.J. Suresh and S.L. Jagadeesh, 2018. Calcium Chloride and Wax Influences the Post Harvest Behaviour of Custard Apple Fruits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2), 79−84.
22. **O'Rourke, D.**, 2003. Major Trends in U.S. and World Apple Markets. *Compact Fruit Tree,* 36 (3), 74−78.
23. **Pervaiz, Z., M. Afzal, S. Xi, Y. Xiaoe and L. Ancheng**, 2002. Physiological Parameters of Salt Tolerance in Wheat. *Asian Journal Plant Science,* 4, 478−481.
24. **Raese, J. T. and S. R. Drake**, 2002. Ca Spray Materials and Fruit Ca Concentrations Influence Apple Quality. *Journal American Pomological Society,* 56, 136−143.
25. **Sams, E. C., W. R. Trentham and E. W. Conway**, 2008. Histological Effects of Calcium Chloride in Stored Apples. *Journal American Society Horticultural Science,* 133(4), 487−491.
26. **Saure, M.C.**, 2005. Calcium Translocation to Fleshy Fruit: Its Mechanism and Endogenous Control. *Science Horticulture,* 105, 65−89.
27. **Siddiqui, S. and F. Bangerth**, 1995. Effect of Pre-harvest Application of Calcium on Flesh Firmness and Cell-wall Composition of Apples. Influence of Fruit Size. *Journal Horticultural Science,* 70, 263−269.
28. **Shirzadeh, E., V. Rabiei and Y. Sharafi**, 2011. Effect of Calcium Chloride ($CaCl_2$) on Postharvest Quality of Apple Fruits. *African Journal of Agricultural Research,* 6(22), 5139−5143.
29. **Zavalloni, C., B. Marangoni, D. Scudellari and M. Tagliavini**, 2001. Dynamics of Uptake of Calcium, Potassium and Magnesium into Apple Fruit in High Density Planting. *Acta Horticulturae,* 564, 113−122.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (2), 197-207 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на нарушения поливен режим върху прираста на присадени резници в лозово вкоренилище

Емил Цветанов, Нели Проданова-Маринова*

Институт по лозарство и винарство, 5800 Плевен, България

The Influence of the Disturbed Irrigation Regime on the Growth of Grafted Cuttings in the Vine Nursery

Emil Tsvetanov, Neli Prodanova-Marinova*

Institute of Viticulture and Enology, 5800 Pleven, Bulgaria
**E-mail: neli_npm@abv.bg*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

За проучване ролята на нарушения поливен режим при производството на лозов посадъчен материал през периода 2011-2015 г. е изведен полски опит със следните варианти: V1 – 50% от изчислената поливна норма (ИПН); V2 – 75% от ИПН; V3 – 100% от ИПН, V4 – 125% от ИПН и V5 – Контрола (60 cm дълбочина на активния почвен профил). Обект на изследването са резници от сорт Мискет кайлъшки, присадени на подложка Берландиери Х Рипария СО4. Вкореняването им е извършено по възприетата от ИЛВ - Плевен технология (без мулчиране на лехите с полиетиленово фолио). Проследена е динамиката на растеж на присадените резници във вкоренилището.

Получените резултати показват, че поливни норми под 100% от ИПН на база развитието на кореновата система, доказано намаляват прираста на присадените резници; увеличението на поливните норми над приетите условно за оптимални 100% от ИПН, съответно

SUMMARY

A field trial was carried out to study the role of the disturbed irrigation regime in the production of vine propagation material in the period 2011-2015, with the following options: V1 - 50% of the calculated irrigation rate (CIR); V2 - 75% of CIR; V3 - 100% of CIR, V4 - 125% of CIR and V5 - Control (60 cm depth of the active soil profile). Cuttings of Muscat Kailashki variety grafted on Berlandieri X Riparia SO4 rootstock were subjected to the study. Their rooting was done according to the technology adopted by IVE - Pleven (without mulching the beds with polyethylene foil). The growth dynamics of the grafted cuttings in the nursery was monitored

The obtained results showed that the irrigation rates below 100% of CIR, based on the root system development, had reduced the annual growth of the grafted cuttings; an increase in irrigation rates above the conventionally accepted optimum of 100% of CIR, respectively by

със 125% от ИПН и Контролния вариант, не оказват влияние върху растежа на леторастите.

Ключови думи: поливен режим, присадени резници, лозово вкоренилище, леторасли, прираст

УВОД

Екологичните фактори са от изключително значение за интензивността на растежа на лозовия летораст. Нарастването на дължина е резултат от непрекъснатото образуване на нови възли и междувъзлия във вегетационния връх и от интеркаларния растеж. Почвената и въздушната влага повишават физиологичната влажност на тъканите, което способства за увеличаване интензивността на споменатите процеси (Bulgarian Ampelography, 1990). Установено е, че водният режим е от съществено значение за протичането на фотосинтетичните процеси - при повишение на температурата на въздуха над оптималната за лозата през летните месеци и влажност 60-70 % от ППВ интензивността на фотосинтезата намалява (Slavcheva, 1986). Това неминуемо рефлектира върху силата и динамиката на деленето на клетките и нарастването на тъканите. Повишаването на почвената влажност посредством поливките води до увеличение на наситеността на клетките с вода. От оводнеността на клетъчния сок зависи оводнеността на протоплазмата и това до голяма степен определя интензивността на процесите на синтеза, в това число и на растежа (Popov et al., 1972; Magriso et al. 1979, Magriso, 1981). При резниците във лозовото вкоренилище той започва още преди развитието на корените и напояването влияе благоприятно върху неговата интензивност (Baltagi and Valeanu, 1961). Водният стрес през вегеацията предизвиква отслабване на растежа и намаляване дължината на леторастите (Poni et al., 1993; Gu et al., 2004).

Влиянието на поливния режим в

125% of CIR and the Control variant, had not affected the shoots' growth.

Key words: irrigation regime, grafted cuttings, vine nursery, shoots, annual growth

INTRODUCTION

The ecological factors have been of great significance for the growth rate of the vine shoots. The increase in length was the result of the continuous formation of new nodes and internodes in the vegetation apex and the intercalary growth. The soil and air moisture enhanced the physiological humidity of the tissues, facilitating the intensity of these processes (Bulgarian Ampelography, 1990).

The water regime has been found to be essential for the occurrence of the photosynthetic processes - with a rise of the temperature above the optimum for the vine during the summer months and humidity of 60-70% of the limit field soil water capacity (LFSWC), the photosynthesis intensity decreased (Slavcheva, 1986). That inevitably reflected on the strength and dynamics of cell division and tissue growth.

The better soil moisture provided through irrigation led to an increase in the saturation of cells with water. Protoplasm water content depended on the water content of the cell juice and that largely determined the intensity of the processes of synthesis, including growth (Popov et al., 1972; Magriso et al. 1979, Magriso, 1981). For the cuttings in the vine nursery, it began even before root development and irrigation had a beneficial effect on its intensity (Baltagi and Valeanu, 1961).

Water stress during vegetation caused poor growth and reduction of the shoot length (Poni et al., 1993; Gu et al., 2004).

The effect of the irrigation regime in the nursery on these processes had not лозовото вкоренилище върху тези процеси до момента не е достатъчно проучено. Изследванията, проведени от някои учени показват, че понижаването на влажността на почвата по време на вкореняването на присадените резници под 80% от ППВ води до забавяне на растежа на надземните части (Mishurenko and Krasnyuk, 1987). При намаляването й до 70-75 % седмичният прираст на леторастите намалява и в края на вегетацията те са значително по-къси от тези, на резниците, вкоренявани при 85-90 % (Grigorov et al., 2013; Kurapina, 2013).Съществуват данни, че при поддържане на почвената влажност в рамките на 85-90 % от ППВ чрез капково напояване, 92 % от резниците развиват леторасли, а добивът стандартни лози от тях е 75 % Kurapina and Gusev, 2009).

Целта на настоящото проучване е да се установи влиянието на различни нарушени поливни режими върху прираста на присадените резници в условията на лозовото вкоренилище.

been yet well studied. Investigations carried out by some researchers had shown that the reduction of the soil moisture during cuttings' rooting below 80% of LFSWC led to a slowdown in the growth of the aboveground parts (Mishurenko and Krasnyuk, 1987).

When it was reduced to 70-75%, the weekly growth of the shoots dropped down and at the end of the growing season they were significantly shorter compared to the cuttings rooted at 85-90% (Grigorov et al., 2013; Kurapina, 2013). Data were published that while maintaining the soil moisture within 85-90% of LFSWC by drip irrigation, 92% of the cuttings developed shoots and the yield of standard vines was 75% (Kurapina and Gusev, 2009).

The objective of this study was to find out the influence of different disturbed irrigation regimes on the growth of the grafted cuttings in the vine nursery.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът е изведен през периода 2011-2015 г. на територията на Експерименталната база на Института по лозарство и винарство - Плевен, при почвен тип излужен чернозем. Проучени са 5 варианта на поливна норма:

V1 – напояване с 50% от изчислената поливна норма (ИПН);

V2 – напояване с 75% от изчислената поливна норма;

V3 – напояване с 100% от изчислената поливна норма;

V4 - напояване с 125% от изчислената поливна норма.

V5 - напояване с постоянна дълбочина на активния почвен слой 60 cm (контрола).

Всеки вариант съдържа 400 присадени резници от Мискет кайлъшки/ Берландиери х Рипария СО4, разпределени в 8 повторения по 50 броя резници в повторение и отглеждани по

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out in 2011-2015 at the Experimental Base of the Institute of Viticulture and Enology (IVE) - Pleven as the soil type was leached chernozem. Five variants of irrigation rate were studied:

V1 – irrigation to 50% of the calculated irrigation rate (CIR);

V2 – irrigation to 75% of the calculated irrigation rate;

V3 – irrigation to 100% of the calculated irrigation rate);

V4 - irrigation to 125% of the calculated irrigation rate.

V5 – irrigation at constant depth of the active soil profile 60 cm (control).

Each variant included 400 grafted cuttings of Muscat Kailashki/Berlandieri x Riparia SO4, distributed into 8 replicates of 50 cuttings each and grown in accordance with the adopted technology технологията, възприета от ИЛВ (Dimitrova et al., 2007).

Присадените резници са снабдявани с вода чрез система за капково напояване с по едно поливно крило на леха, разположено между двата реда резници. Използвани са поливни крила с вградени през 15 cm капкообразуватели с дебит 1.0 L h^{-1}. Обемът на подаваната поливна вода е контролиран с водомер, монтиран в началото на системата. В условия на атмосферно засушаване – високи температури и ниска въздушна влажност, са извършвани освежителни поливки чрез микродъждуване над растенията при поливни норми от 3-6 mm. За целта са използвани микродъждовални апарати с дебит 156 L h^{-1}, при 0.2 MPa налягане и радиус 5.0 m.

Опитът е изведен при следните водно-физични свойства на почвата (Таблица 1):

by IVE (Dimitrova et al., 2007).

The grafted cuttings were watered by drip irrigation system with one lateral per ridge, located between the two rows of cuttings. The laterals had built-in drop-formation units every 15 cm with flow rate of 1.0 L h^{-1}. The volume of the supplied irrigation water was controlled by means of water-meter installed at the beginning of the system. In the conditions of dry spell weather – high temperatures and low humidity, invigorating waterings were done my means of micro-sprinkling above the plants with watering rates of 1 mm. Micro-sprinklers were used for this purpose with flow rate of 156 L h^{-1} at pressure 0.2 MPa and 5.0 m radius of operation.

The experiment was carried out on soil with the following water-physical properties (Table 1):

Таблица 1. Водно-физични свойства на почвата
Table 1. Water-physical properties of soil

Почвен профил / Soil profile (cm)	10	20	30	40	50	60
α - относително тегло на почвата/ α – soil specific weight g/cm^3	10,25	10,45	10,48	10,40	10,33	10,33
ППВ (% от абс. сухото тегло на почвата) LFSWC (% of the absolute soil dry weight)	24,31	25,52	24,24	24,50	23,55	23,85

За определяне на влагата в почвата през 7 дни за целия период на поливане са вземани почвени проби на дълбочина през 10 cm, в диапазона от 0 до 60cm. Пробите са обработвани по класическия тегловно-термостатен метод.

След всяко вземане на почвена проба е реализирана поливка за възстановяване на почвената влага до ППВ. Размера на поливките е изчисляван по формулата:

$m=10.H.\alpha.(d\tau^{ППВ}-d\tau^{вл.})$

където:

m - големина на поливната норма в m^3/da;

α - относително тегло на почвата в g/cm^3

H - дълбочина на активния почвен

For the determination of the soil moisture, soil samples were taken each 7th day during the whole period of irrigation at depth of 10 cm intervals, in the range from 0 to 60 cm. The samples were processed in the conventional weight-thermostatic method.

After each soil sampling watering was performed to restore soil moisture to LFSWC. The amount of the watering was calculated using the following formula:

$m=10.H.\alpha.(d\tau^{LFSWC}-d\tau^{moisture})$

where:

m – the irrigation rate in m^3/da;

α – soil specific weight in g/cm^3

H – depth of the active soil layer,

слой, която се изчислява по емпиричната формула, получена от данните за нарастване дълбочината на корените във функция от времето (за периода от набождане на присадените резници във вкоренилището до изваждане на получените лози в края на вегетационния период);

$H = (0,001t^2 + 0,053t + 0,034)\sin45° + a$

Където: H – дълбочина на активния почвен обем (cm); t – време от изнасяне на присадените резници във вкоренилището (бр. дни); a – дълбочина на засаждане на резниците в почвата (cm). В конкретния случай a = 15cm; sin45° - ъгъл, под който растат корените в почвата.

$d\tau^{ППВ}$ - пределна полска влагоемност в % от абсолютно сухото тегло на почвата.

$d\tau^{вл.}$- влажност на почвата в % от абсолютно сухото тегло на почвата към момента на вземане на почвената проба;

Динамиката на растеж на присадените резници е измерван на интервал от 15-25 дни.

Достоверността на разликите, между стойностите на показателя при отделните варианти, е преценявана чрез еднофакторен дисперсионен анализ ANOVA, (Dimova and Marinkov, 1999).

calculated by the empirical formula derived from data on the increased depth of the roots as a function of time (the period from transplanting the grafted cuttings in the nursery to removing the obtained vines at the end of the vegetation season);

$H = (0.001t^2 + 0.053t + 0.034)\sin45° + a$

Where: H – depth of the active soil volume (cm); t – time from transplanting the grafted cuttings in the nursery (number of days); a – planting depth of the cuttings in soil (cm). In this case a = 15 cm; sin45° - angle at which the roots were growing the soil.

$d\tau^{LFSWC}$ – limit field soil water capacity in % of the absolute soil dry weight;

$d\tau^{moisture}$ – soil moisture in % of the absolute soil dry weight at the time of taking the soil sample.

The dynamics of the grafted cuttings growth was recorded at an interval of 15-25 days.

The confidence of the differences between the values of this indicator for the separate variants was assessed by means of one-factor analysis of variance ANOVA (Dimova and Marinkov, 1999).

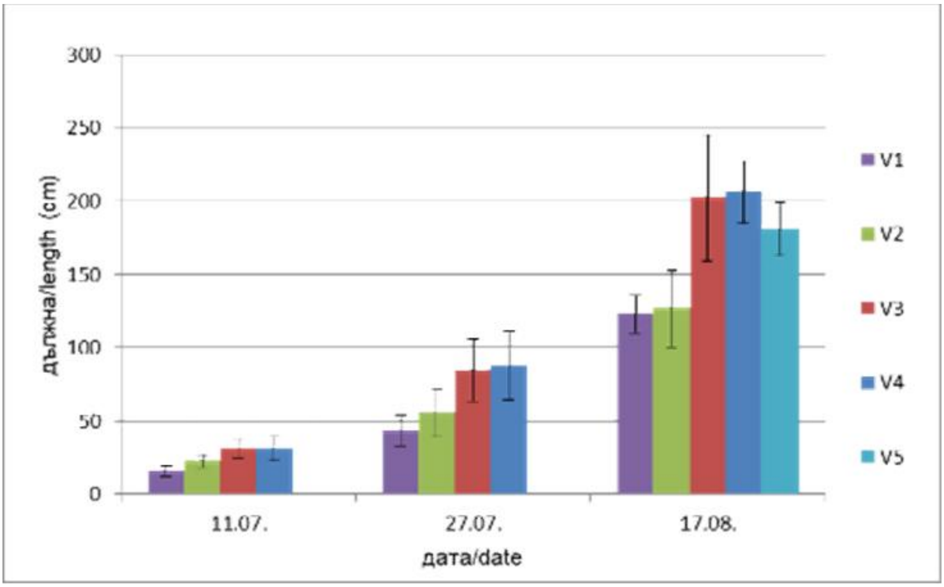
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

От илюстрираните на Фигура 1 данни за динамиката на растежа на леторастите през 2011 година се вижда постепенното изоставане на вариантите с регулиран воден дефицит (V1 и V2). При последното измерване е направен статистически анализ на данните (Таблица 2), от където може да се види, че лозичките от вариантите с регулиран воден дефицит са с доказано по-слаб растеж за разлика от тези от другите три варианта (V3, V4 и V5). Вариантите V3 и V4 не се различават съществено от V5.

RESULTS AND DISCUSSION

From the data presented in Figure 1 on the dynamics of shoot growth in 2011 it could be seen the gradual delay of the variants with regulated water deficit (V1 and V2).

During the last measurement, a statistical analysis of the data was made (Table 2), revealing that the vines from the variants with regulated water deficit had shown a weaker growth unlike those of the other three variants (V3, V4 and V5). The variants V3 and V4 did not differ significantly from V5.



Фиг. 1. Динамика на растеж на леторослите през 2011 година
Fig. 1. Shoot growth dynamics in 2011

Таблица 2. Достоверност на разликите в растежа на леторастите през 2011 година (cm)
Table 2. Confidence of the difference in the shoot growth in 2011(cm)

Варианти Variants	Средна стойност Mean rate	V5	V1	V2	V3
		Разлика Difference	Разлика Difference	Разлика Difference	Разлика Difference
V5	185.17	x			
V1	123.33	-61.83^{---}	x		
V2	127.00	-58.16^{---}	3.66$^{n.s}$	x	
V3	184.17	-1.00$^{n.s}$	60.83^{+++}	57.16^{+++}	x
V4	202.67	17.50$^{n.s}$	79.33^{+++}	75.66^{+++}	18.50$^{n.s}$

5% - (+) (-); 1% - (++) (--); 0.1% - (+++) (---); <5% - (n.s).

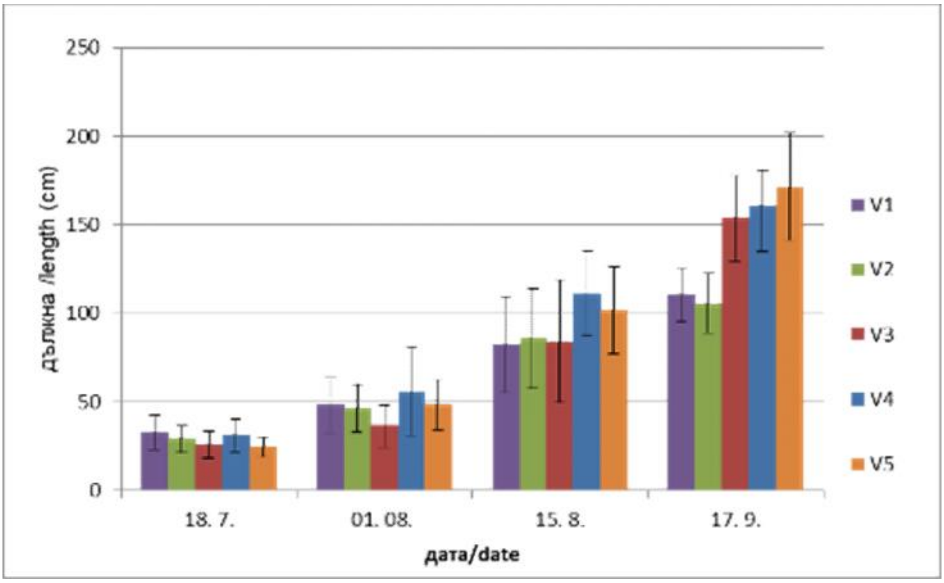
От данните за динамиката на нарастване на леторослите през 2012 година се вижда дружно стартиране на растежа във всички варианти на опита. Постепенно обаче вариантите V4 и V5 изпреварват другите три, като при последното отчитане към тях се присъединява и вариантът V3. Вариантите V2 и V1 видимо имат по слаб растеж от другите три варианта на опита (Фигура 2). При последното измерване е направен статистически анализ на данните (Таблица 3), от където може да се види, че вариантите V1 и V2 са с доказано по-слаб растеж от другите варианти в опита, като в същото време разли-

The data on the dynamics of shoot growth in 2012 showed simultaneous start of the growth in all variants. Gradually, however, the variants V4 and V5 exceeded the other three, as variant V3 was equal to them during the last measuring. The variants V2 and V1 appeared to have weaker growth than the other three variants (Figure 2).

During the last measurement, a statistical analysis of the data was made (Table 3), from which it could be seen that the variants V1 and V2 have shown a weaker growth than the other variants, while at the same time the difference between ката между тях не е доказана. Няма доказана разлика и между вариантите V3, V4 и V5. Това показва, че увеличението на поливната норма над 100% от ИПН (V3) не оказва влияние върху прираста на присадените резници.

them was not significant.

That indicated that an increase in the irrigation rate above 100% of the CIR (V3) had no effect on the grafted cuttings growth.



Фиг. 2. Динамика на растеж на леторaслите през 2012 година
Fig. 2. Shoot growth dynamics in 2012

Таблица 3. Достоверност на разликите в растежа на леторастите през 2012 година (cm)
Table 3. Confidence of the difference in the shoot growth in 2012 (cm)

Варианти Variants	Средна стойност Mean rate	V5	V1	V2	V3
		Разлика Difference	Разлика Difference	Разлика Difference	Разлика Difference
V5	161.17	x			
V1	91.33	-69.83^{---}	x		
V2	100.67	-60.50^{---}	9.33$^{n.s}$	x	
V3	163.83	2.66$^{n.s}$	72.50^{+++}	63.16^{+++}	x
V4	159.67	-1.50$^{n.s}$	68.33^{+++}	59.00^{+++}	-4.16$^{n.s}$

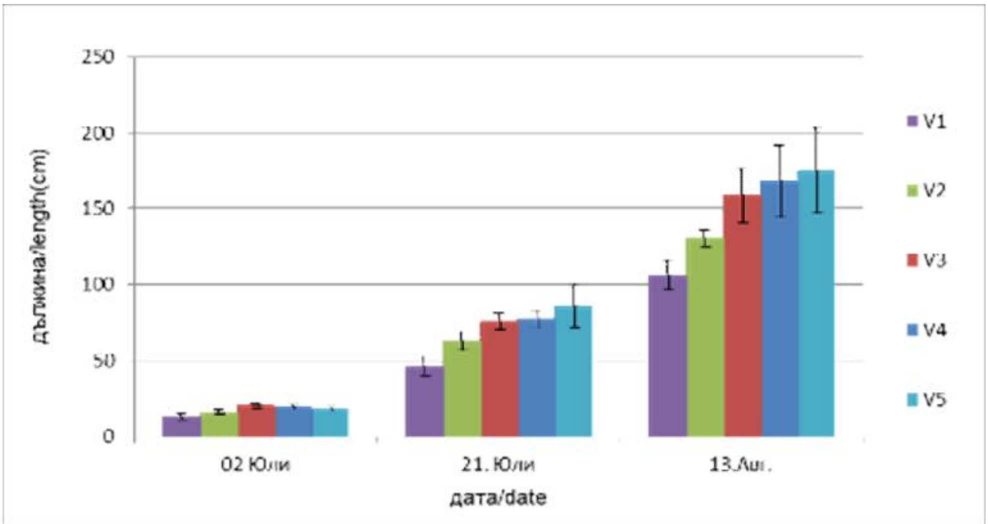
5% - (+) (-); 1% - (++) (--); 0.1% - (+++) (---); <5% - (n.s).

От данните за динамиката на нарастване на леторaслите през 2014 г. (Фигура 3) може да се види, че от самото начало на отчитането вариантите V1 и V2 са с по-слаб растеж, докато другите три – V3, V4 и V5 – са съизмерими един спрямо друг. Направеният дисперсионен анализ на данните

The data on the dynamics of the shoot growth in 2014 (Figure 3.) demonstrated that from the very beginning of counting the trial the variants V1 and V2 had slower growth, while the other three - V3, V4 and V5 - were equal with each other. The analysis of variance (Table 4) from the last counting proved

(Таблица 4) от последното отчитане доказва, че вариант V1 има по-слаб растеж от другите варианти на опита. Вариант V2 индуцира по-силен растеж от V1, но по-слаб от растежа на вариантите V3 и V4 и V5. Няма разлика между вариантите V3, V4, и V5. Тези резултати показват, че редуцирането на изчислените спрямо развитието на кореновата система поливни норми (варианти V1 и V2) доказано намалява растежа на присадените резници. Съизмеримостта на другите три варианта (V3, V4 и V5) показва, че завишаването на поливната норма над изчислената V3 не се отразява върху растежа на леторослите.

that variant V1 had weaker growth compared to the rest of them. Variant V2 induced stronger growth than V1 but weaker than V3, V4 and V5. There was no difference between the variants V3, V4, and V5. The results showed that the reduction of the irrigation rates calculated according to the root system development (variants V1 and V2) had been proven to reduce the growth of the grafted cuttings. The correlation of the other three variants (V3, V4 and V5) demonstrated that the increase in the irrigation rate above the calculated V3 did not affect the shoot growth.



Фиг. 3. Динамика на растеж на леторослите през 2014 година
Fig. 3. Shoot growth dynamics in 2014

Таблица 4. Достоверност на разликите в растежа на леторастите през 2014 година (cm)
Table 4. Confidence of the difference in the shoot growth in 2014 (cm)

Варианти Variants	Средна стойност Mean rate	V5	V1	V2	V3
		Разлика Difference	Разлика Difference	Разлика Difference	Разлика Difference
V5	175.67	x			
V4	168.33	-7.33 n.s	x		
V3	159.00	-16.66 n.s	-9.33 n.s	x	
V2	130.83	-44.83---	-37.50--	-28.16-	x
V1	106.67	-69.00---	-61.66---	-52.33---	-24.16-

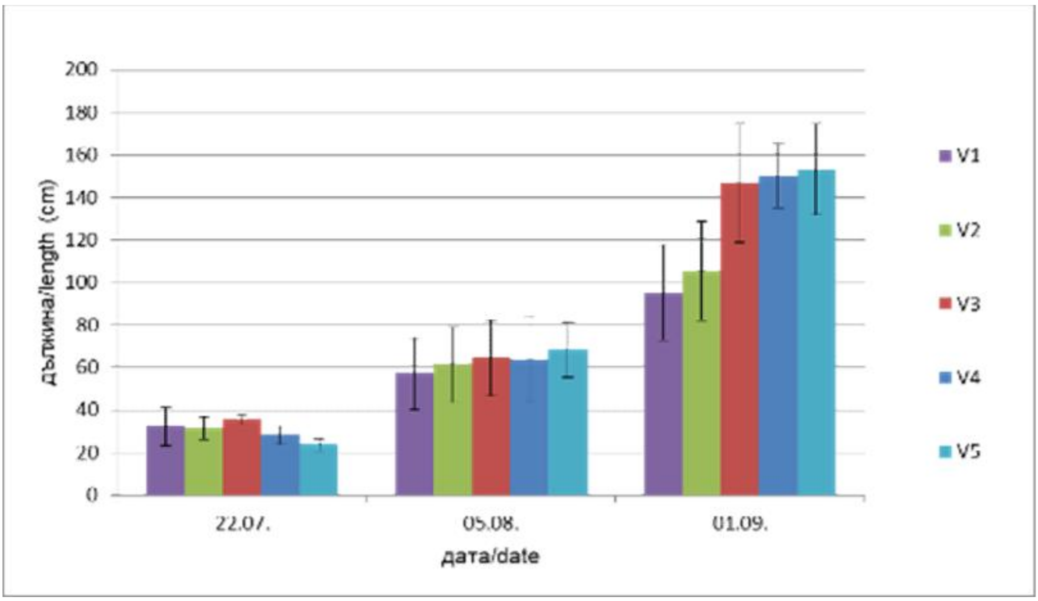
5% - (+) (-); 1% - (++) (--); 0.1% - (+++) (---); <5% - (n.s).

От данните за динамиката на растежа на леторастите през 2015 година може да се види, че при първите отчитания вариантите нямат доказана разлика по между си, въпреки това при първото отчитане се забелязва дори леко изоставане в растежа на V5 и V4, като при второто отчитане тези варианти наваксват изоставането и се изравняват с другите варианти на опита. При направения дисперсионен анализ на данните от последното отчитане може да се направят някои констатации. Вариантите V1 и V2 имат доказано по-слаб растеж от другите варианти на опита. Разликата между вариантите V3, V4 и V5 е недоказана. Тези резултати показват, че редуцирането на изчислената, спрямо развитието на кореновата система, поливна норма (варианти V1 и V2) доказано намалява растежа на присадените резници. Съизмеримостта на другите три варианта (V3, V4 и V5) показва, че увеличението на поливната норма над изчислената не се отразява върху прираста на леторастите - Фигура 4, Таблица 5.

The data on the shoot growth dynamics in 2015 revealed that there was no proven difference between the variants during the first measuring, however, there was a slight delay in the growth of V5 and V4 but during the second measuring these variants caught up the delay with the other trial variants.

Some findings were made based on the analysis of variance from the last reporting. Variants V1 and V2 had proven weaker growth compared to the rest of the trial variants. The difference between V3, V4 and V5 variants was non significant.

These results showed that the reduction of the irrigation rates calculated according to the root system development (variants V1 and V2) had been proven to reduce the growth of the grafted cuttings. The commensurability of the other three variants (V3, V4 and V5) revealed that the increase in the irrigation rate above the calculated one did not affect the shoot growth – Figure 4, Table 5.



Фиг. 4. Динамика на растеж на леторастите през 2015 година
Fig. 4. Shoot growth dynamics in 2015

Таблица 5. Достоверност на разликите в растежа на леторастите през 2015 година (cm)
Table 5. Confidence of the difference in the shoot growth in 2015 (cm)

Варианти Variants	Средна стойност Mean rate	V5	V1	V2	V3
		Разлика Difference	Разлика Difference	Разлика Difference	Разлика Difference
V5	153,17	x			
V4m	150,33	-2,833 n.s	x		
V3m	146,83	-6,333 n.s	-3,500 n.s	x	
V2m	105,67	-47,500--	-44,667--	-41,167--	x
V1m	95,17	-58,000---	-55,167--	-51,667---	-10,500 n.s

5% - (+) (-); 1% - (++) (--); 0.1% - (+++) (---); <5% - (n.s)

От данните за растежа на леторослите през четирите години на опита може да се заключи, че вариантите с намалени поливни норми (V1 и V2) показват по-слаб растеж от другите три варианта на опита (V3, V4 и V5). В същото време вариантите V1 и V2 през 2011, 2012 и 2015 години нямат доказана разлика помежду си, а през 2014 година вариантът V1 е с доказано по-слаб растеж от варианта V2. Що се отнася до вариантите V3, V4 и V5, разликите между тях и през четирите години на опита са недоказани.

From the data on the shoot growth over the four years of the trial, it might be concluded that the variants with reduced irrigation rates (V1 and V2) showed weaker growth compared to the other three trial variants (V3, V4 and V5). At the same time, V1 and V2 variants in 2011, 2012 and 2015 did not have a proven difference between each other, and in 2014, variant V1 showed a weaker growth than V2. As for variants V3, V4 and V5, the differences between them for the four years of the trial were non significant.

ИЗВОДИ

Растежът на леторослите при изследваните нарушени поливни режими е в пряка зависимост от размера на поливните норми. Може да се обобщи, че поливни норми под 100% от изчислената на база развитието на кореновата система, доказано намаляват прираста на присадените резници.

Съществени различия в растежа на леторослите при напояване с 50% от изчислената поливна норма и тези при 75% не са установени.

Увеличението на поливните норми над приетите условно за оптимални, не оказват влияние върху растежа на леторослите.

CONCLUSIONS

The shoot growth of the studied disturbed irrigation regimes was in direct correlation with the irrigation rates. It could be concluded that the irrigation rates below 100% of the estimations based on the root system development were proven to reduce the annual growth of the grafted cuttings.

Significant differences in the shoot growth under irrigation at 50% of the calculated irrigation rate and at 75% were not found.

The increase in the irrigation rates above the conditionally accepted optimum had not affected the shoot growth.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Baltagi, B. and L. Valeanu**, 1961. Influences of Fattening and Irrigation on Root Growth in Cuttings in Cattle School. *Lucrarile stiintifice. Institutul de cercetari horti-viticole,* 1959-60*,* 637-649 (Ro).

2. **Bulgarian Ampelography**, 1990. General Ampelography. Publication of BAS, AA, IVE - Pleven, Sofia, vol. I, 296 (Bg).

3. **Dimitrova, V., V. Peykov, E. Tsvetanov, H. Encheva and M. Chelebiev**, 2007. Technology Optimization for Grafted Rooted Vines Production. In: Proceedings of Research Conference with International Participation "Sustainable Development of Viticulture and Enology", Based on Knowledge", Pleven, 29-30 August 2007, pp. 99-106.

4. **Dimova, D. and E. Marinkov**, 1999. Experimental Work and Biometrics. Academic publishing house of Higher Agricultural Institute, Plovdiv, 263 (Bg).

5. **Grigorov, S. M., M. V. Ratanov and M. A. Ratanova**, 2013. Mode of Drip Irrigation of the Grapes Nursery-garden Seeding in the Conditions of the Volga-Don Interriver. In: Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex, 2 (30), 177-181 (Ru).

6. **Gu, S., G. Du, D. Zoldoske, A. Hakim, R. Cochran, K. Fugelsang and G. Jorgensen**, 2004. Effects of Irrigation Amount on Water Relations, Vegetative Growth, Yield and Fruit Composition of Sauvignon Blanc Grapevines under Partial Rootzone Drying and Conventional Irrigation in the San Joaquin Valley of California, USA. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(1), 26-33.

7. **Kurapina, N.**, 2013. Optimization of Irrigation and Fertilizing Regime for Vine Growing. *Agricultural sciences. Fundamental research*, 1, 120-25 (Ru).

8. **Kurapina, N. and D. Gusev**, 2009. Vine Propagation Material Growing with Drip Irrigation. In: Proceedings International scientific-practical conference "Scientific and applied aspects of the development of viticulture and winemaking at the present stage." Novocherkassk, VNIIViV Y. N. Potapenko, pp. 236-240 (Ru).

9. **Magriso, Y.**, 1981. The biological Basis of the Water Regime and Grapevine Irrigation. Plovdiv, "Hristo G. Danov", 139 (Bg).

10. **Magriso, Y., Sl. Yonev, T. Cholakov, M. Nikov, B. Danailov, E. Raykov, A. Georgiev, V. Dimchev and D. Babrikov**, 1979. Commercial Technologies in Viticulture, Sofia, Zemizdat. 321 (Bg).

11. **Mishurenko, A. and M. Krasnyuk**, 1987. Grapevine nursery. Moscow, Agropromizdat, 268 (Ru).

12. **Poni, S., A. N. Lakso, J. R. Turner and R. E. Melious**, 1993. The effects of Pre- and Post-veraison Water Stress on Growth and Physiology of Potted Pinot Noir Grapevines at Varying Crop Levels. *Vitis*, 32(4), 207-214.

13. **Popov, T., M. Nikov, Y. Magriso and N. Pavlov**, 1972. Vine Agrotechnics, Plovdiv, Hristo G. Danov Publishing House, 259 (Bg).

14. **Slavcheva, T.**, 1986. Grapevine Photosynthesis and the Environmental Factors. II. The Effect of Temperature and Water Regime. In: Proceedings "The second symposium on the physiology of the vine. Burgas 19-24.09.1983, pp. 206-212 (Ru).

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (2), 208-219 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Първи резултати от изследване влиянието на различни комбинации от операции със зелените части на лозите върху количеството на добива при биологично и конвенционално отглеждане на лозата

Йорданка Белберова, Емил Цветанов*

Институт по лозарство и винарство, ул. „Кала тепе“ №1, 5800 Плевен, България

First Results from the Investigation on the Influence of the Different Combinations of Treatments on the Vine Green Parts on the Yield Quantity of the Organic and Conventional Vine-growing

Yordanka Belberova, Emil Tsvetanov*

Institute of Viticulture and Enology, 1 Kala Tepe Str., 5800 Pleven, Bulgaria
**E-mail: estzvetanov@gmail.com*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Чрез двуфакторен дисперсионен анализ е установена степента на влияние на различни комбинации от операции със зелените части на лозите върху количеството на добива при биологично и конвенционално отглеждане на лозата през една влажна/средно гореща и една суха/гореща година. Вариантите на опита са както следва. Фактор (А) технология на отглеждане: а1 - конвенционално отглеждане; а2 – биологично отглеждане. Фактор (В) операции със зелените части на лозите: V_1 – контрола – без летни резитби (b1); V_2 – нормиране (прореждане) на гроздовете – премахнати са 1/3 (30 – 35%) от гроздовете общо за варианта (b2); V_3 – нормиране на гроздовете + просветляване в зоната на гроздовете (b3); V_4 – нормиране на гроздовете + кършене (юли месец) + просветляване в зоната на гроздовете (b4). Установено е, че степента на влияние на зелените ре-

SUMMARY

Two-factor analysis of variance revealed the degree of influence of the different combinations of treatments on the green parts of the vine on the yield quantity for biological and conventional cultivation of the vine during one wet/medium hot and one dry/hot year. The trial variants were as follows.

Factor (A) cultivation technology: a1 - conventional cultivation; a2 - organic. Factor (B) treatments of the vine green parts: V_1 - control - no summer pruning (b1); V_2 - normalization (thinning) of clusters - 1/3 (30 - 35%) of the clusters total for the variant (b2) have been removed; V_3 – thinning of the clusters + clearing in the cluster area (b3); V_4 - thinning of the clusters + shoot topping (July) + clearing in the cluster area (b4).

It was found that the level of impact of the green pruning treatments on the yield зитбени операции върху количеството на добива се е повлияла основно от климатичната характеристика на конкретната година, независимо от технологията на отглеждане. При влагообезпечена и средно гореща година влиянието на зелените резитби не се доказва статистически, а определящо е влиянието на технологията на отглеждане. При суха и гореща година е установено доказано влияние на зелените резитби върху изследваните показатели. Изключение прави само показателят маса на сто зърна, при който доказано е влиянието само от комбинацията между двата фактора. При този показател се наблюдава и високо ниво на влияние на случайни фактори, които и през двете години на опита са над 40%.

Ключови думи: лоза, лозарство, технология, биологично, конвенционално, добив

quantity was mainly influenced by the climatic characteristics of the particular year, regardless of the cultivation technology. In a wet and average hot year, the impact of the green pruning was not statistically proven, but the influence of the cultivation technology was of utmost importance. In a dry and hot year, a proven influence of the green pruning was found on the studied indicators.

The only exception was the indicator of the mass per hundred berries, where only the effect of the combination of the two factors was proven. This indicator also showed a high level of influence of random factors, which in the two years of trial was over 40%.

Key words: vine, vine-growing, technology, organic, conventional, yield.

УВОД

Стабилните темпове на развитие на конвенционалното и биологичното производство на грозде и вино в перспектива поставят въпросите за ефективни и иновативни технологични решения, осигуряващи търсените от производителите гаранции за висока доходност (Dimitrova et al., 2013). Производственият риск в лозарството произтича основно от въздействието на климатичните условия на годината, рефлектиращи върху нестабилността на получаваните добиви и качеството на реколтата от грозде. Усъвършенстването на някои технологични звена в процеса на производство на грозде по методите на конвенционалното и биологичното земеделие създава условия за ограничаване на риска и подобряване качествените параметри на предлаганата продукция.

В световен мащаб операциите със зелените части на лозите (зелените резитби) отдавна са се наложили като задължителни в лозарската практика, намираща приложение както при кон-

INTRODUCTION

The steady pace of development of conventional and organic grape and wine production has raised the prospective issues of efficient and innovative technological solutions, ensuring the vine-growers with guarantees of high profitability (Dimitrova et al., 2013).

The production risk in viticulture has been mainly due to the impact of the weather conditions of the year, reflecting on the instability of the yields obtained and the grapes quality.

The improvement of some technological practices in the process of grapes growing according to the methods of conventional and organic farming might create conditions for limiting the risk and improving the quality parameters of the supplied produce.

Globally, the vine green treatments (green pruning) have long been obligatory in vine-growing practices that apply to both conventional and organic viticulture (Sivčev et al., 2010; Ciobanu et al., 2012;

венционалното, така и при биологичното лозарство (Sivčev et al., 2010; Ciobanu et al., 2012; Gentile et al., 2016; Provost et Pedneault, 2016). Резитбите на зелено се провеждат през вегетацията и обхващат редица агротехнически мероприятия, като филизене, кършене, колтучене, прореждане на гроздовете, листата и др. Въпреки че в литературата се срещат противоречиви становища за приложението на операциите със зелените части на лозата, извършени правилно и своевременно, те оказват положително влияние върху растежната сила на лозите, добива и качеството на гроздето (Nikov and Rangelov, 1991). Различните комбинации от сезонни практики водят до много по-балансирано проникване на слънчевата светлина в зоната на грозда. Въздушният поток през короната и микроклиматът на лозата се подобряват. Увеличава се общият ароматен профил на вината (Volschenk and Hunter, 2001; Hunter et al., 2004). Чрез кършенето се ограничава изразходването на хранителни вещества за ненужен растеж. То способства за подобряване на светлинния и водния режим на лозите, повишава ефективността на растителната защита, улеснява провеждането на агротехническите мероприятия в насажденията (Pavlov et al., 2005; Volschenk and Hunter, 2001; Hunter et al., 2004). Значение за качеството на гроздето има броят на гроздовете на едно растение. Когато лозите са претоварени, узряването закъснява и се получава грозде с дребни зърна и водниста консистенция (Somkuwar et al., 2014). С намаляване броя на гроздовете добивът от лоза се намалява, но се ускорява узряването, а теглото на грозда и на зърното се увеличават (Pallioti and Cartechini,, 2001; Susaj et al., 2013). Повишава се съдържанието на разтворими твърди вещества в гроздето, а получените вина са с повишена концентрация на антоциани, общи феноли, флавоноиди и по-ниска титруема

Gentile et al., 2016; Provost et Pedneault, 2016).

The green treatments are carried out during the growing season and cover a number of agricultural activities such as suckering, shoot topping, pinching off, cluster and leaves thinning, etc.

Although controversial opinions could be found in the literature about the green treatments on vine, performed properly and in a timely manner, these practices have a positive effect on the vine growth, the yield and the quality of the grapes (Nikov and Rangelov, 1991). The various combinations of seasonal treatments result in much more balanced sunlight penetration into the cluster zone.

The air flow through the crown and the microclimate of the vine are improved. The overall aromatic profile of the wines is enhanced (Volschenk and Hunter, 2001; Hunter et al., 2004). Shoot topping reduces the nutrients used for unnecessary growth.

It facilitates the light and water regime of the vines, increases the efficiency of plant protection, makes easy the implementation of agro-technical measures in the vineyards (Pavlov et al., 2005; Volschenk and Hunter, 2001; Hunter et al., 2004). The number of clusters per vine is of importance for the grapes quality. When the vines are overloaded, the ripening is delayed and grapes with small berries and watery consistency are obtained (Somkuwar et al., 2014). As the number of clusters is reduced, the yield per vine decreases also, but the ripening process is accelerated, and the cluster and berry weight is higher (Pallioti and Cartechini; 2001Susaj et al., 2013). The grapes soluble solids content is increased and the resulting wines have a better ratio of anthocyanins, total phenols, flavonoids and lower titratable acidity (Gao and киселинност (Gao and Cahoon, 1999; Gil et al., 2013). Извършените манипулации в короните на лозите (нормиране на гроздовете и кършене на леторастите) оказват влияние върху растежните и продуктивните им възможности. Изменят се основните агробиологични показатели: добив (количество и качество), едногодишен прираст, листна повърхност и др. Чрез нормиране на гроздовете и операции със зелените части на растението може да се постигне регулиране на добива и неговото качество.

Целта на изследването е чрез двуфакторен дисперсионен анализ да се установи степента на влияние на различни комбинации от операции със зелените части на лозите върху количеството на добива при биологично и конвенционално отглеждане на лозата.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът е проведен през 2017 и 2019 години. Лозовите насаждения са от сорт Мискет кайлъшки, намиращи се на територията на Експерименталната база на Институт по лозарство и винарство - Плевен. Гъстотата на засаждането е 3,20x1,20 m, лозите са формирани средностъблено с височина на стъблото 1m. Подложката е Берландиери x Рипария Селекция Опенхайм 4 (СО4), резитбата е на чепове. Натоварването е по 18 очи на всяка лоза. След изброяване на съцветията лозите са разпределени в четири варианта с приблизително еднакъв среден брой съцветия и при двата начина на отглеждане. Всеки вариант има 4 повторения по 3 лози в повторение, или общо 12 лози във вариант. Всички варианти са филизени еднократно по кордоните. Извършено е и двукратно филизене в основата и по стъблата на лозите.

Варианти на опита:

Фактор „А“:

а1 - Конвенционално отглеждане;

а2 - Биологично отглеждане.

Фактор „В“:

Cahoon, 1999; Gil et al., 2013).

The treatments in the vine crowns (cluster thinning and lateral shoots topping) have an impact on their growth and fertility.

The basic agrobiological indicators are changed: yield (quantity and quality), annual growth, leaf area, etc. By cluster thinning and green treatments it could be achieved regulation of the yield and its quality.

The study objective was by two-factor analysis of variance to be determined the degree of influence of the different combinations of treatments on the green parts of the vine on the yield quantity for organic and conventional cultivation of the vine.

MATERIAL AND METHODS

The trial was carried out in the years 2017 and 2019. The vineyards were planted with Muscat Kaylashki variety, located within the Experimental Base of the Institute of Viticulture and Enology - Pleven. The planting density was 3.20x1.20 m, the vines were grown on medium-high training system with a stem height of 1m. The rootstock was Berlandieri x Riparia Selection Openheim 4 (SO4), the pruning was done in spurs. The loading was 18 eyes per vine. After counting the inflorescences, the vines were distributed into four variants with approximately the same average number of inflorescences in both modes of cultivation.

Each variant had 4 replicates of 3 vines per repetition, or a total of 12 vines per variant. One suckering was carried out in all variants on the cordons. Twice suckering at the base and on the vine stems was also performed.

Trial variants:

Factor “A”:

a1 – Conventional cultivation;

a2 – Organic cultivation.

Factor “B”:

V_1 – контрола – без летни резитби (b1);

V_2 – нормиране (прореждане) на гроздовете –.премахнати са 1/3 (30 – 35%) от гроздовете общо за варианта (b2);

V_3 – нормиране на гроздовете + просветляване в зоната на гроздовете (b3);

V_4 – нормиране на гроздовете + кършене (юли месец) + просветляване в зоната на гроздовете (b4);

Показатели на изследването:

- среден добив от една лоза, (kg);
- средна маса на един грозд, (g);
- средна маса на 100 зърна, (g);
- среден брой гроздове от една лоза;

Климатичната характеристиката на опитните години е определена по методите на математическата статистика (Sirakov, 1981). Данните за температурите и валежите са отчетени от автоматична метеорологична станция iMetos, разположена в района на Експериментална база на ИЛВ - Плевен, където се намират и насажденията. В Таблица 1 е представена климатична характеристика на опитните години.

V_1 – control – no summer pruning (b1);

V_2 – normalization (thinning) of clusters - 1/3 (30 - 35%) of the clusters total for the variant (b2) have been removed;

V_3 – thinning of the clusters + clearing in the cluster area (b3);

V_4 – thinning of the clusters + shoot topping (July) + clearing in the cluster area (b4);

Indicators of the study:

- average yield per vine, (kg);
- average mass per cluster, (g);
- average mass per 100 berries, (g);
- average number of clusters per vine;

The climatic characteristics of the study years were determined by the methods of mathematical statistics (Sirakov, 1981). Temperature and precipitation data were recorded by iMetos automatic meteorological station located in the area of the Experimental Base of IVE - Pleven, where the vineyards were located. Table 1 presents the climatic characteristics of the study years.

Таблица 1 Климатична характеристика на опитните години.
Table 1. Climatic characteristics of the years of the trial

Years / Години		2017	2019
N $_{(V–IX)}$	P %	6 – Много влажна / Very wet, (622.4 mm)	50 – Средна / Average, (332 mm)
T° $_{(V–IX)}$		33 – Средно гореща / Average hot, (19.8 ºC)	20 – Много гореща / Very hot, (20.47 ºC)

P – обезпеченост (probability), N – валежи (precipitations), T° - средноденонощна температура на въздуха (average air temperature)

Количеството на валежите през 2017 година е 622,4 mm и са равномерно разпределени през целия период. Обезпечеността е 6%, което определя годината, като много влажна. Среднодневната температура на въздуха е била 19,8 ºC с обезпеченост 33% определяща годината, като средно гореща.

Разпределението на валежите през 2019 година е неравномерно, като основната част от тях са паднали през май, юни и юли, а през август, септември и октомври, почти не е имало пре-

The precipitation in 2017 was 622.4 mm, evenly distributed throughout the period. The probability was 6%, determining the year as very wet. The average air temperature was 19.8ºC with probability of 33% defining the year as medium hot.

The precipitation distribution in 2019 was uneven, with the most rainfall in May, June and July, while in August, September and October there were almost no rainfall. The total amount of валявания. Общата сума на валежите за периода септември, октомври и ноември е 77,4 mm, като 47,2 mm от тях са паднали на 1 август. Това характеризира година по-скоро, като суха от гледна точка на формиране количеството и качеството на добива. При това положение можем да кажем, че опитът е изведен през една много влажна/средно гореща и една суха/много гореща година.

Статистическата обработка на получените резултати е извършена чрез двуфакторен дисперсионен анализ (ANOVA) (Dimova and Marinkov, 1999). Силата на влияние на факторите и нейната достоверност са изчислени по метода на Плохински (Lakin, 1990).

precipitation for September, October and November was 77.4 mm, as 47.2 mm were on the 1st of August.

That specified the year rather as dry in terms of the yield quantity and quality. Therefore it could be said that the trial was carried out during one very wet/medium hot and one dry/very hot year.

The obtained results were statistically processed by two-factor analysis of variance (ANOVA) (Dimova and Marinkov, 1999). The power of influence of the factors and its significance were calculated by the method of Plohinski (Lakin, 1990).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В Таблици 2 и 3 са представени по години и технология на отглеждане данните за влиянието на зелените резитби върху показателите за количество на добива.

RESULTS AND DISCUSSION

Tables 2 and 3 show the data on the impact of green pruning on the yield quantity indicators per years and cultivation technology.

Таблица 2. Показатели за количеството на добива при биологично отглеждане за 2017 г.
Table 2. Yield quantity indicators for organic cultivation in 2017

Показател / Indicators	Биологично / Organic				Конвенционално / Conventional			
	Варианти / Variants							
	V1	V2	V3	V4	V1	V2	V3	V4
Среден добив от една лоза Average yield per vine, (kg)	4.413	4.206	3.558	3.123	1.455	1.053	0.999	1.173
Среден брой гроздове от една лоза Average number of clusters per vine	16.50	14.42	12.75	12.25	9.15	6.90	7.67	9.25
Средна маса на един грозд Average mass per cluster, (g)	268.06	303.99	286.12	259.27	148.22	151.64	130.3	118.05
Средна маса на 100 зърна Average mass per 100 berries, (g)	271.03	296.60	264.21	270.86	270.28	274.66	240.06	271.84

Таблица 3. Показатели за количеството на добива при биологично отглеждане за 2019 г.
Table 3. Yield quantity indicators for organic cultivation in 2019

Показател / Indicators	Биологично / Organic				Конвенционално / Conventional			
	Варианти / Variants							
	V1	V2	V3	V4	V1	V2	V3	V4
Среден добив от една лоза Average yield per vine, (kg)	2.997	3.682	3.842	3.187	4.245	3.571	3.933	3.453
Среден брой гроздове от една лоза Average number of clusters per vine	26.08	27.58	22.75	22.67	25.00	20.25	19.42	17.25
Средна маса на един грозд Average mass per cluster, (g)	115.03	129.75	169.58	141.63	171.43	180.33	205.46	196.02
Средна маса на 100 зърна Average mass per 100 berries, (g)	246.31	255.23	250.53	282.69	259.53	257.49	248.54	246.92

• Добив от една лоза

Направените дисперсионни анализи за влиянието на факторите технология на отглеждане, зелени резитби и тяхното взаимодействие върху показателя добив от една лоза са представени в Таблица 4.

• Yield per vine

The analysis of variance for the influence of the factors cultivation technology, green pruning and their interaction with the indicator yield per vine are presented in Table 4.

Таблица 4. Дисперсионен анализ на влиянието на факторите: технология на отглеждане (A) и зелени резитби (B) върху добива от една лоза
Table 4. Analysis of variance of the factors' influence: cultivation technology (A) and green pruning (B) on the yield per vine

2017		2019	
Източник на вариране Variation source	Сила на влияние Power of influence (%)	Източник на вариране Variation source	Сила на влияние Power of influence (%)
Технология / Technology (A) *** (0.1%)	75.62 *** (0.1%)	Технология / Technology (A) n.s. (< 5%)	-
Зелени резитби / Green pruning (B) n.s. (<5%)	-	Зелени резитби / Green pruning (B) n.s. (<5%)	-
Взаимодействие / Interaction n.s. (< 5%)	-	Взаимодействие / Interaction n.s. (< 5%)	-
Грешки / Errors	12.97	Грешки / Errors	59.31

Анализът на резултатите показва, че през влажната и средно гореща 2017 година технологията на отглеждане е повлияла върху показателя в 75,6% от случаите, докато влиянието на зелените резитби не е доказано. При сухата и гореща 2019 година влиянието на нито един от факторите не е доказано. Тук прави впечатление високият процент на грешката 59,31%, това показва че през тази година лимитиращо е било влиянието на други случайни не обхванати в изследването фактори.

• Средна маса на един грозд

Дисперсионни анализи за влиянието на факторите технология на отглеждане, зелени резитби и тяхното взаимодействие върху показателя средна маса на един грозд са представени в Таблица 5.

The analysis of the results revealed that during the wet and medium-hot year 2017, the cultivation technology affected the indicator in 75.6% of the cases, while the impact of green pruning was not proven.

In the dry and hot 2019, the impact of none of the factors was proven. It should be noted here the high error rate of 59.31%, indicating that the impact of other random factors not included in the study was limiting that year.

• Average mass per cluster

The analysis of variance for the influence of the factors cultivation technology, green pruning and their interaction with the indicator average mass per cluster are presented in Table 5.

Таблица 5. Дисперсионен анализ на влиянието на факторите: технология на отглеждане (А) и зелени резитби (В) върху средната маса на един грозд
Table 5. Analysis of variance of the factors' influence: cultivation technology (A) and green pruning (B) on the average mass per cluster

2017		2019	
Източник на вариране Variation source	Сила на влияние Power of influence (%)	Източник на вариране Variation source	Сила на влияние Power of influence (%)
Технология / Technology (A) *** (0.1%)	79.11 *** (0.1%)	Технология / Technology (A) *** (0.1%)	40.34 *** (0.1%)
Зелени резитби / Green pruning (B) n.s. (<5%)	-	Зелени резитби / Green pruning (B) * (5%)	18.04 n.s. (< 5%)
Взаимодействие / Interaction n.s. (< 5%)	-	Взаимодействие / Interaction n.s. (< 5%)	-
Грешки / Errors	17.06	Грешки / Errors	36.78

При този показател отново се наблюдава силно влияние на технологията на отглеждане и недоказано влияние на зелените резитби през 2017 година. През 2019 година имаме доказано влияние и на двата изследвани фактора, като влиянието на технологията на отглеждане е 40,37%, а зелените резитби са оказали влияние върху показателя в 18,04% от случаите. Най-вероятно влиянието на зелените резитби се дължи основно на климатичните особености на 2019 година, характеризиращи се със силната неравномерност на разпределението на валежите, които са паднали основно в началото на вегетацията. Предизвиканият от тях засилен растеж на леторастите през втората половина от вегетацията, през която почти не е имало валежи, се е явил като конкурент на формирането на добива. В допълнителна подкрепа на тази конкуренция се явява и горещият характер на годината. При тези обстоятелства зелените резитби най-вероятно са намалили тази конкуренция в полза на изследвания показател.

- Маса на сто зърна

Данните от проведените дисперсионни анализи за определяне влиянието на факторите технология на отглеждане, зелени резитби и тяхното взаимодействие върху показателя маса на 100 зърна са представени в Таблица 6.

That indicator again showed a strong influence of the cultivation technology and unproven influence of the green pruning in 2017. In 2019, the impact of both studied factors was proven, with the impact of the cultivation technology being 40.37% and the green pruning had an impact on the indicator in 18.04% of the cases.

Most likely, the impact of the green pruning was mainly due to the weather specifics of 2019, characterized by the strong uneven precipitation distribution, with the most rainfall predominantly at the beginning of the growing season.

The increased shoot growth during the second half of the vegetation season, during which there was almost no rainfall, appeared to be a competitor for the yield formation. The hot nature of the year further supported that competition.

Under these circumstances, the green pruning most likely reduced this competition in favour of the studied indicator.

- Mass per hundred berries

The analysis of variance for the influence of the factors cultivation technology, green pruning and their interaction with the indicator mass per 100 berries are presented in Table 6.

Таблица 6. Дисперсионен анализ на влиянието на факторите: технология на отглеждане (A) и зелени резитби (B) върху масата на 100 зърна.
Table 6. Analysis of variance of the factors' influence: cultivation technology (A) and green pruning (B) on the average mass per 100 berries

2017		2019	
Източник на вариране Variation source	Сила на влияние Power of influence (%)	Източник на вариране Variation source	Сила на влияние Power of influence (%)
Технология / Technology (A) n.s. (< 5%)	-	Технология / Technology (A) n.s. (< 5%)	-
Зелени резитби / Green pruning (B) * (5%)	31.62 ** (1%)	Зелени резитби / Green pruning (B) n.s. (< 5%)	-
Взаимодействие / Interaction n.s. (< 5%)	-	Взаимодействие / Interaction ** (1%)	32.15 ** (1%)
Грешки / Errors	46.59	Грешки / Errors	41.44

При показателя маса на 100 зърна през 2017 година, за разлика от другите изследвани показатели, е доказано влиянието само на зелените резитби (31,62%). Най-вероятно причината е, че зелените резитбени операции са насочили по-голям процент от водата към гроздовете за сметка на намаления брой летораст и. През сухата и гореща 2019 година е доказано само влиянието при взаимодействието на двата изследвани фактора. Самостоятелното влияние на факторите не се доказва статистически. При анализите на резултатите от този показател прави впечатление високия процент на влияние на странични необхванати от изследването фактори, което и през двете опитни години, независимо от техния климатичен контраст, е над 40%.

- Среден брой гроздове от една лоза

Направените дисперсионни анализи за влиянието на факторите технология на отглеждане, зелени резитби и тяхното взаимодействие върху показателя среден брой гроздове от една лоза са представени в Таблица 7.

For the indicator mass per 100 berries in 2017, contrary to the other indicators, it was proven the influence only of the green pruning (31.62%). The most probable reason was that the green treatments had directed a greater water flow to the clusters at the expense of the reduced number of shoots. During the dry and hot year 2019, only the influence in the interaction of the two studied factors was proven.

The independent impact of the factors was not statistically proven. In the analysis of the results for this indicator, the high ratio of influence of side factors not covered by the study was impressive, which in both years of the trial, despite their climatic differences, was over 40%.

- Average number of clusters per vine

The data from the analysis of variance for the influence of the factors cultivation technology, green pruning and their interaction with the indicator average number of clusters per vine are presented in Table 7.

Таблица 7. Дисперсионен анализ на влиянието на факторите технология на отглеждане (А) и зелени резитби (В) върху средния брой гроздове от една лоза

Table 7. Analysis of variance of the factors' influence: cultivation technology (A) and green pruning (B) on the average number of clusters per vine

2017		2019	
Източник на вариране Variation source	Сила на влияние Power of influence (%)	Източник на вариране Variation source	Сила на влияние Power of influence (%)
Технология / Technology (A) *** (0.1%)	55.2 *** (0.1%)	Технология / Technology (A) *** (0.1%)	27.55 *** (0.1%)
Зелени резитби / Green pruning (B) n.s. (< 5%)	-	Зелени резитби / Green pruning (B) ** (1%)	29.41 ** (1%)
Взаимодействие / Interaction n.s. (< 5%)	-	Взаимодействие / Interaction n.s. (< 5%)	-
Грешки / Errors	21.55	Грешки / Errors	27.01

И при този показател през влажната и средно гореща 2017 година лимитиращо е било влиянието на фактора технология на отглеждане със сила на влияние 55,2%. Влиянието на зелените резитби не се доказва статистически. Резултатите от анализа на данните от 2019 година показват доказано влияние и на двата изследвани фактора съответно 27,55% за фактор (А) и 29,41% за фактор (В). Влиянието на зелените резитби през тази година се обяснява с намаления брой гроздове на една лоза и намалената дължина на леторастите, следствие от кършенето, което е оказало положително влияние върху изследвания показател.

For this indicator too, in the wet and medium-hot 2017, the influence of the factor cultivation technology with a power of influence 55.2% was limiting. The impact of green pruning was not statistically proven. The results of the analysis for 2019 showed a proven impact of both studied factors, 27.55% for factor (A) and 29.41% for factor (B), respectively.

The green pruning impact that year was explained by the reduced number of clusters per vine and the reduced shoot length as a result of shoot topping that had a positive effect on the studied indicator.

ИЗВОДИ

От изложените резултати може да се направи заключението, че степента на влияние на зелените резитбени операции, върху количеството на добива се е повлияла основно от климатичната особеност на конкретната година, независимо от технологията на отглеждане. При влагообезпечена и средно гореща година влиянието на зелените резитби не се доказва статистически и определящо е влиянието на технологията на отглеждане. При сухи и горещи години доказано е влиянието на зелените резитби върху изследваните показатели. Изключение прави само показателят маса на сто

CONCLUSIONS

On the basis of the presented results it could be concluded that the level of impact of the green pruning treatments on the yield quantity was mainly influenced by the climatic characteristics of the particular year, regardless of the cultivation technology. In a wet and average hot year, the impact of the green pruning was not statistically proven, and the cultivation technology was determining. In dry and hot years, a proven influence of the green pruning was found on the studied indicators.

The only exception was the indicator of the mass per hundred berries, where only зърна, при който доказано е влиянието само от комбинацията между двата фактора. При този показател обаче се наблюдава и високо ниво на влияние на случайни фактори, които и през двете години на опита са над 40%.

the effect of the combination of the two factors was proven. For this indicator it was also observed a high level of influence of random factors, which in the two years of the trial was over 40%.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Ciobanu, F., N. Pop, M. Iliescu, A. Babes, C. Bunea, A. Ardelean, M. Lung and A. Tripon**, 2012. Special Green Works Influence on Yield Quantity and Quality at Grape Varieties for Flavoured and Semi-flavored Wines from S.C.D.V.V. Blaj, *Bulletin UASVM Horticulture*, 69(1), 110-115.
2. **Dimitrova, D., V. Peykov, T., V. Dimitrov and V. Dimitrova**, 2013. Organic Production of Grapes and Wines in Bulgaria – Condition and Problems. In: Interagency thematic scientific collection 50 “Viticulture and winemaking”, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Scientific and Production Center, Institute of viticulture and enology V. E. Taïrova, pp. 58-63.
3. **Dimova, D. and E. Marinkov**, 1999, Experimental Works and Biometry. Academic publishing house of HAI, Plovdiv, 263.
4. **Gao, Y. and G. Cahoon**, 1999, Cluster Thinning Effects on Fruit Weight, Juice Quality, and Fruit Skin Characteristics in “Reliance” grapes, Research Circular – Ohio Agricultural Research and Development Center, № 299, pp. 87-93.
5. **Gentile, F., G. L. La Torre, A. G. Potortì, M. Saitta, M. Alfa and G. Dugo,** 2016. Organic Wine Safety: UPLC-FLD Determination of Ochratoxin A in Southern Italy Wines from Organic Farming and Winemaking. *Food Control London*, 59, 20-26.
6. **Gil, M., , M. Esteruelas, , E. González, , N. Kontoudakis, , J. Jiménez, , F. Fort, , J. Canals, M., , I. Hermosin - Gutiérrez, , F. Zamora**, 2013. Effect of Two Different Treatments for Reducing Grape Yield in Vitis Vinifera cv. Syrah on Wine Composition and Quality : Berry Thinning Versus Cluster Thinning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(20), 4968-4978.
7. **Hunter, J.J., C. G. Volschenk, J. Marais and G. W. Fouché**, 2004. Composition of Sauvignon Blanc Grapes as Affected by Pre-véraison Canopy Manipulation and Ripeness Level. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 25(1), 13-18.
8. **Lakin, G.**, 1990, Biometrics. Higher School, Moscow, 350.
9. **Nikov, M. and B. Rangelov**, 1991. Viticulture. Zemizdat.
10. **Pallioti, A. and A. Cartechini**, 2001. Photosynthetic Light Response Curves in Relation to Illumination of Adaxial and Abaxial Surface of Sun and Shade Leaves of *Vitis vinifera* L., *Vitis*, 40(4), 175-177.
11. **Pavlov, A., V. Peykov and T. Yoncheva**, 2005. Study of the Influence of Green Pruning on the Quantitative and Qualitative Determination of the Vine Yield. Report 2001-2005, IVE - Pleven.
12. **Provost, K. and C. Pedneault**, 2016. Fungus Resistant Grape Varieties as a Suitable Alternative for Organic Wine Production: Benefits, Limits, and Challenges. Scientia Horticulturae, ELSEVIER, 21.
13. **Sirakov, D.**, 1981. Statistical methods in meteorology. University publishing house of St. Kliment Ohridski University, Sofia, p. 269.
14. **Sivčev, B. V., I. L. Sivčev and Z. Vasić**, 2010. Natural Process and Use of Natural Matters in Organic Viticulture. *Journal of Agricultural Sciences*, 55(2), 195-215.
15. **Somkuwar, R. G., Smarth, R. R., Prerna Itroutwar and Supriya Navale**,

2014. Effect of Cluster Thinning on Bunch Yield, Berry Quality and Biochemical Changes in Local Clone of Table Grape cv. Jumbo Seedless (Nana Purple). *Indian Journal of Horticulture*, 71(2), 184-189.

16. **Susaj, E., L. Susaj, F. Voci, F. Brahimi, B. Hodaj, H. Paçe, Y. Subashi and B. Ferraj**, 2013. Effect of Cluster Thinning on Productivity Indicators and Wine Quality of the Indigenous Red Wine Grape Vine Cultivar "Kallmet" in Mjeda, Shkodër in North - Western Part of Albania. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(¾), 1009-1014.

17. **Volschenk, C. G. and J. J. Hunter**, 2001. Effect of Seasonal Canopy Management on the Performance of Chenin blanc 199 Richter Grapevines. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 22(1), 36-40.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (2), 220-228 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Узряване на прираста на присадени резници в лозово вкоренилище под влияние на биостимулатора Озирил
Първо съобщение

Николай Илиев*, Иван Пачев

Институт по лозарство и винарство, ул. „Кала тепе“ №1, 5800 Плевен, България

Maturation of the Grafted Cuttings Growth in a Vine Nursery under the Impact of Osiryl Biostimulator
First Announcement

Nikolay Iliev*, Ivan Pachev

Institute of Viticulture and Enology, 1 Kala Tepe Str., 5800 Pleven, Bulgaria
**E-mail: nikolayilievpl@gmail.com*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

В статията са отразени резултати за влиянието на биостимулатора Озирил върху узряването на едногодишния прираст на присадени резници в лозово вкоренилище. Опитът е проведен през 2018 и 2019 г. със сорт Кайлъшки рубин, присаден върху подложката Берландиери х Рипария СО4. Ефектът от третирането е оценен по показателите, отразяващи степента на узряване на главния леторасъл и зрелия прираст на вкоренените лози. Статистически доказани са разликите само от втората година, но тъй като и през двете години третираният вариант показва по-добри резултати от контролния, налице е обща тенденция за положително влияние на продукта.

Ключови думи: Озирил, биостимулатори, лозово вкоренилище, присадени резници, главен леторасъл, узряване, зрял прираст

SUMMARY

The paper has presented the results of Osiryl biostimulator impact on the maturation of the grafted cuttings growth in a vine nursery. The trial was conducted in 2018 and 2019 with Kailashki Rubin wine variety grafted to Berlandieri x Riparia SO4 rootstock. The effect of the treatment was evaluated by the indicators revealing the maturation rate of the main shoot and the mature annual growth of the rooted vines. Although only the results from the second year were statistically proven, it was observed an overall trend for the product positive impact in favour of the treated variant for both years.

Key words: Osiryl, biostimulators, vine nursery, grafted cuttings, main shoot, maturation, mature growth

УВОД

Природата на България предлага многообразие от екологични фактори, съчетани в уникални почвено-климатични комплекси, които предоставят на лозата широко поле за разкриване на нейния биологичен, сортов и технологичен потенциал. Освен природния комплекс от фактори, решаващо влияние върху растенията оказва и агрохимичния. Доказано е, че състоянието на лозата може да се подобри чрез торене. Макроелементите азот, фосфор и калий имат специфично влияние върху нейната физиология и то не бива да бъде пренебрегвано. Голямо значение имат мезо- и микроелементите, защото тяхното наличие оказва „терапевтичен" ефект върху развитието на растението (Hristov, 2007).

При прехода от конвенционално към биологично земеделие много проучвания са насочени върху усъвършенстването на различни технологии, подобряващи почвеното плодородие, но щадящи околната среда и растенията. Затова отказът от използването на синтетични съединения провокира търсенето на природни субстанции и високоефективни препарати, чието действие е насочено към получаване на по-високи добиви с добро качество (Zhunic, 1996). С тази цел в комплекса от агротехнически мероприятия са включени така наречените растежни регулатори, които в случая с вегетативното размножаване на лозата се използват по три начина. Единият от тях е чрез обработка на присадените резници с ауксиноподобни съединения преди засаждането им във вкоренилище (Radchevskiy et al., 2010). Друг ефективен подход е чрез извънкореново (листно) стимулиране на растежа им с комплексни органо-минерални препарати, съдържащи и микроелементи (Nikolskiy and Pankin, 2018). Положителен ефект върху едногодишния прираст и добива на стандартен посадъчен материал може

INTRODUCTION

The nature of Bulgaria offered a variety of ecological factors, combined in unique soil-climatic complexes that provided the vine with a wide field for revealing its biological, varietal and technological potential. Apart from the natural complex of factors, the agrochemical one also had a decisive influence on the plants. It had been proven that the vine status might be improved by fertilizing. The macronutrients nitrogen, phosphorus and potassium had a specific effect on its physiology and it should not be neglected. The meso- and microelements were of great importance because their presence had a "therapeutic" effect on the plant development (Hristov, 2007).

In the transition from conventional to organic farming, many studies were focused on various advanced technologies that improved soil fertility but were environmentally and plant-friendly.

Therefore, the rejection to use synthetic compounds had provoked the search of natural substances and highly efficient preparations, the action of which was aimed at obtaining higher yields of good quality (Zhunic, 1996). For this purpose, the complex of agro-technical measures included the so-called growth regulators, which in the case of vine vegetative propagation were used in three ways.

One of them was by treating the grafted cuttings with auxin-like compounds before planting them in the nursery (Radchevskiy et al., 2010). Another effective approach was by foliar stimulation of their growth with complex organic-mineral preparations containing micro nutrients (Nikolskiy and Pankin, 2018).

A positive effect on the annual growth and yield of standard propagation material could be achieved by the introduction да бъде постигнат и чрез внасянето посредством фертигация (с поливните води) на стимулиращи продукти, получени от водорасли и съдържащи основните макроелементи (Pachev and Prodanova-Marinova, 2016).

Узряването на едногодишния прираст пряко корелира с натрупването на пластични вещества в дървесината на лозата, което от своя страна зависи от процеса на хранене по време на вегетацията. Оптимално протичащите физиологични процеси в растението са гаранция за доброто й запасяване, особено при угнетяващото въздействие на различни неблагоприятни фактори. Добре запасената лоза в плододаващо лозе притежава голяма растежна сила, добра вегетация и висока родовитост през всеки нов сезон, устойчива е на температурни екстремуми и засушаване, на различни болести и неприятели. Същото се отнася и за облагородената и качествено вкоренена лоза, която получава мощен старт при засаждането й на постоянно място.

Актуалността на проучванията в лозово вкоренилище се състои в това, че трябва да се намери отговор на въпроса, как при дадени почвено-климатични условия и технологии за производство на лозов посадъчен материал, различните сортове реагират на разнообразието от биологично активни вещества и създадените на тяхна база стимулиращи продукти, с които се повишава процента на вкоренените лози и тяхното качество. Проучванията у нас не могат да се считат за достатъчни, тъй като не е известен отговорът на редица новоселекционирани, перспективни и с ценни стопански качества сортове, фаворит сред които е Кайлъшки рубин.

Целта на изследването е да се установи ефекта от третирането с биостимулатора Озирил върху узряването на леторастите и зрелия прираст на вкоренените лози.

through fertigation (with the irrigation water) of stimulant products derived from algae and containing the main macronutrients (Pachev and Prodanova-Marinova, 2016).

The maturation of the annual growth directly correlated with the accumulation of plastic substances in the vine wood, which in turn depended on the nutrition during the vegetation. The optimal physiological processes in the plant were a guarantee for its good storage, especially with the depressing effect of various adverse factors.

A well provided vine in a fruit-bearing vineyard had great growth strength, good vegetation and high fertility in each new season. It was resistant to extreme temperatures and drought, to various diseases and pests. The same referred to the cultivated and well-rooted vine, which got a powerful start when planted in a permanent place.

The relevance of research in vine nurseries was that an answer should be found to the question of how, at certain soil and weather conditions and technologies for vine propagation material production, the different varieties responded to the diversity of biologically active substances and the stimulating products created on their base that increased the ratio of rooted vines and their quality. The studies in our country could not be considered enough, as the response of a number of newly selected, promising and with valuable economic qualities varieties was not known, the favorite among which was Kailashki Rubin.

The objective of the study was to determine the impact from the treatment with Osiryl biostimulator on the shoots maturation and the mature annual growth of the grafted cuttings.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът е изведен с винения сорт Кайлъшки рубин (Ivanov et al., 2011), присаден върху подложката Берландиери х Рипария, селекция Опенхайм 4 (Roychev, 2012).

Технологията на отглеждане на присадените резници е с открита горна част (до парафина) в двуредови лехи (Dimitrova et al., 2007; Todorov, 2005). Напояването е капково и чрез микродъждуване (Tsvetanov, 2019).

Схемата на опита се състои от 2 варианта: V1 – Контрола (без третира-не) и V2 – Третиране с Озирил, всеки от които включва 4 повторения по 50 броя резници.

Вкоренилищата се разполагат в Експерименталната база на ИЛВ-Плевен, където почвеният тип е тежко песъчливо-глинест излужен чернозем, образуван върху глинясал льос (Krastanov and Dilkova, 1963).

Биостимулаторът Озирил благо-приятства растежа и регенерацията на корените, оптимизирайки абсорбцията на вода и минерални вещества от почвата. Одобрен е за използване в органичното производство на всички култури. Третирането се извършва при дъждовни условия, напояване или чрез пръскане (www.groupe-frayssinet.fr). За целта на опита то е съобразено с раз-витието на хранещите корени на резни-ците по време на тяхното вкореняване, а начинът на внасяне – с технологията за отглеждане в ИЛВ-Плевен (чрез по-ливните води). Извършено е четири-кратно, с доза 1000 ml/da.

Въздействието на биостимулатора е оценено по следните показатели:

- Степен на узряване на главния леторасъл (cm);
- Дължина на зрелия прираст (cm);
- Маса на зрелия прираст (g).

Узряването на главните летораc-ли е проследено по време на вкореня-ването през 3 интервала от време (7-14 дни). Зрелият прираст е отчетен след окачествяване на посадъчния мате-

MATERIAL AND METHODS

The trial was carried out with the wine Kaylashki Rubin variety (Ivanov et al., 2011), grafted to Berlandieri x Riparia rootstock, selection Openhaim 4 (Roychev, 2012).

The grafted cuttings growing technology was with open top part (to the wax) in two-row beds (Dimitrova et al., 2007; Todorov, 2005). Micro-sprinkling and drip irrigation was applied (Tsvetanov, 2019).

The trial pattern consisted of 2 variants: V1 - Control (no treatment) and V2 - Osiryl treatment, each with 4 repetitions of 50 cuttings.

The nurseries were situated at the Experimental Base of IVE-Pleven where the soil type was heavy sandy-clay leached chernozem formed on clay loess (Krastanov and Dilkova, 1963).

Osiryl biostimulator favoured the root growth and regeneration, optimizing the water and soil minerals absorption. It was approved for use in the organic growing of all crops. The treatment was performed in rainy conditions, during the irrigation or by spraying (www.groupe-frayssinet.fr). For the aim of the trial, it was done in accordance with the development of the nourishing roots of the cuttings during their rooting, and the method of introduction – with the technology of cultivation in IVE-Pleven (through the irrigation water). It was performed four times at a dose of application 1000 ml/da.

The biostimulator impact was evaluated by the following indicators:

- Main shoot maturation rate (cm);
- Length of the mature growth (cm);
- Mass of the mature growth (g).

The maturation of the main shoots was monitored during rooting at 3 intervals of 7-14 days. The mature growth was recorded after the propagation material was graded. The measurements риал. Измерванията са направени върху 3 лози от всяко повторение.

Резултатите са обработени чрез дисперсионен анализ на данните (ANOVA) от еднофакторен полски опит, заложен по метода на дългите парцели (Dimova and Marinkov, 1999).

were taken on 3 vines of each replicate.

The results were processed by analysis of variance (ANOVA) from a one-factor field trial based on the long plots method (Dimova and Marinkov, 1999).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Вкореняването на присадените резници през 2018 г. е извършено от 19 май до 1 ноември (166 дни), а през 2019 г. – от 23 май до 29 октомври (159 дни). Процесът на узряване на главните леторасли през първата година е проследен в интервала от 21 септември до 19 октомври, а през втората – между 16 септември и 10 октомври.

Двугодишните данни на Фигура 1 най-напред показват тенденция, при която узряването започва по-рано при третираните с Озирил резници. На второ място се вижда, че процесът като цяло протича с по-голяма интензивност, също в тяхна полза. Това различие между годините отчетливо се забелязва през 2019 г., когато регистрираната разлика е по-голяма и при всяко следващо отчитане чувствително нараства. Незначително изключение прави само последното през 2018 г., когато разликата спрямо междинното е по-малка, но все пак се запазва в полза на третирания вариант.

Първото отчитане през 2018 г. показва разлика от 5,7 cm спрямо контролния вариант, а през 2019 г. – 7,8 cm. Изразена като съотношение същата през първата година се равнява на 14,3 % по-дълга зряла част, а през втората – на 50,1 %.

При второто отчитане разликата между вариантите бележи ясно изразен пик, което е доказателство, че към този момент узряването протича най-интензивно. През 2018 г. същата възлиза на 7,7 cm (17,3 %), а през втората – на 15,4 cm (60,9 %).

Финалното отчитане свидетелства за това, че процесът навлиза във

RESULTS AND DISCUSSION

The rooting of the grafted cuttings in 2018 was done from May 19 to November 1 (166 days), while in 2019 – from May 23 to October 29 (159 days). The maturation process of the main shoots in the first year was observed in the interval from September 21 to October 19, and in the second one – between September 16 and October 10.

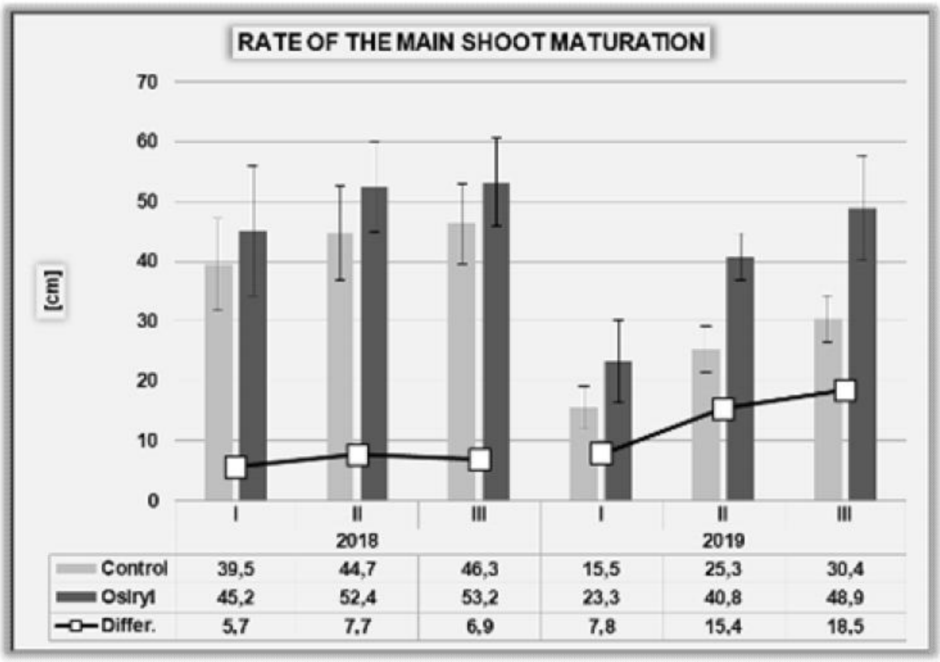
The biennial data in Figure 1 showed firstly a trend where the maturation began earlier in the Osiryl-treated cuttings. Secondly, it could be seen that the process as a whole was more intense, also in favour of the treated variant. That difference between the years was clearly visible in 2019, when the recorded difference was higher and went up significantly with each subsequent recording. An insignificant exception was only the last accounting in 2018, when the difference compared to the intermediate was smaller, but still remained in favour of the treated variant.

The first recording in 2018 showed a difference of 5.7 cm compared to the control variant while in 2019 – 7.8 cm. Expressed as a ratio, that difference in the first year was equal to 14.3% longer mature part, and in the second year – to 50.1%.

During the second recording, the difference between the variants marked a clear peak, which was proof that at that time the maturation was the most intense. In 2018, it was 7.7 cm (17.3%), and in the second year – 15.4 cm (60.9%).

The final recording revealed that the process was in a slow-down phase фаза на затихване, при което зрялата част на главния леторасъл през 2018 г. е по-дълга с 6,9 cm (15 %), а през 2019 г. – съответно с 18,5 cm (60,8 %).

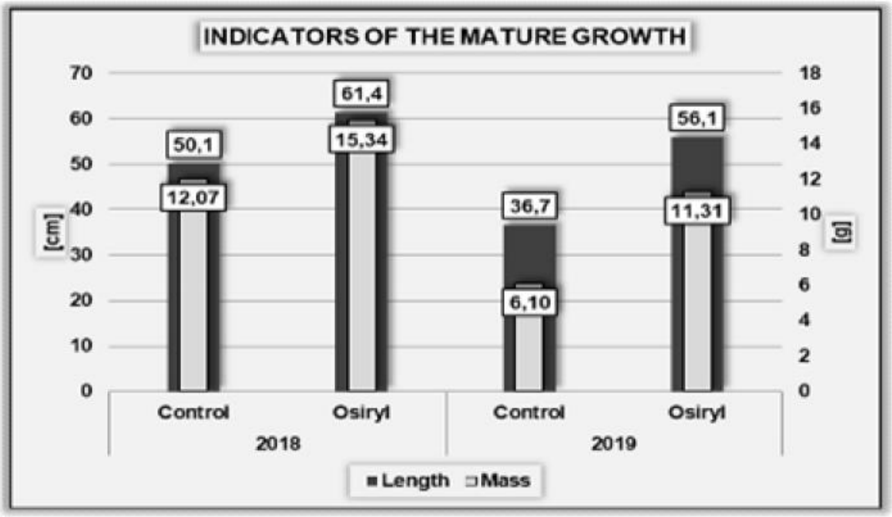
where the mature part of the main shoot in 2018 was longer by 6.9 cm (15%), and in 2019 – respectively by 18.5 cm (60.8%).



Фиг. 1. Степен на узряване на главния леторасъл
Fig. 1. Rate of the main shoot maturation

Биометричните измервания напълно потвърждават наблюдаваната тенденция за по-висока степен на узряване на прираста при третираните с биостимулатора Озирил вкоренени лози (V2) и през двете години на опита (Фигура 2). През 2018 г. зрялата част на брутния прираст показва разлики, изразени като дължина и маса, възлизащи на 11,3 cm и 3,27 g, а през 2019 г. – на 19,4 cm и 5,21 g. Същите, изразени в процентно съотношение през първата година се равняват на 22,5 % по-дълга и 27,2 % по-тежка зряла част на прираста, а през втората – съответно на 52,7 и 85,4 %.

The biometric measurements fully confirmed the observed tendency for a higher rate of the growth maturation in the rooted vines treated with Osiryl biostimulator (V2) during both years of the trial (Figure 2). In 2018, the mature part of the overall growth demonstrated differences, expressed in length and mass, amounting to 11.3 cm and 3.27 g, and in 2019 – to 19.4 cm and 5.21 g. The same, expressed as a percentage in the first year were equal to 22.5% longer and 27.2% heavier mature part of the growth, and in the second year – respectively to 52.7 and 85.4%.



Фиг. 2. Показатели на зрелия прираст
Fig. 2. Indicators of the mature growth

Независимо от това, че и през двете години на изследването отчетените разлики са в полза на третирания с Озирил вариант, дисперсионните анализи (Таблица 1) показват, че през 2018 г. резултатите не са статистически доказани (n.s). През 2019 г. по-високата степен на узряване на главния леторасъл във V2 е доказана при последното отчитане с разлика от 18,5 cm и ниво на достоверност 5% (+). Дължината на зрелия прираст и неговата маса също са доказани в негова полза с разлики от 19,4 cm и 5,21 g при нива на достоверност съответно от 1% (++) и 5% (+).

Regardless the fact that in both years of the study the recorded differences were in favour of the Osiryl-treated variant, the analysis of variance (Table 1) showed that in 2018 the results were not statistically proven (n.s). In 2019, the higher rate of the main shoot maturation in V2 was proved in the last accounting with a difference of 18.5 cm and a confidence level of 5% (+). The length of the mature growth and its mass were also proven in the favour of the treated variant with differences of 19.4 cm and 5.21 g at confidence levels of 1% (++) and 5% (+), respectively.

Таблица 1. Дисперсионни анализи на изследваните показатели
Table 1. Analysis of variance of the studied indicators

Вариант Variant		Дължина на зрялата част на главния леторасъл [cm] Length of the mature part of the main shoot			Дължина на зрелия прираст [cm] Length of the mature growth			Маса на зрелия прираст [g] Mass of the mature growth		
		Средно Mean	Разлика Difference	Доказано Proven	Средно Mean	Разлика Difference	Доказано Proven	Средно Mean	Разлика Difference	Доказано Proven
2018										
V1	Контрола/Control	46.3	x	x	50.1	x	x	12.07	x	x
V2	Озирил/Osiryl	53.2	6.9	n.s	61.4	11.3	n.s	15.34	3.27	n.s
2019										
V1	Контрола/Control	30.4	x	x	36.7	x	x	6.10	x	x
V2	Озирил/Osiryl	**48.9**	**18.5**	**+**	**56.1**	**19.4**	**++**	**11.31**	**5.21**	**+**
Разликата е доказана при ниво на достоверност / The difference was significant at confidence level: 5% (+/-); 1% (++/--); 0.1% (+++/---) and < 5% (n.s) – не е доказана / not significant.										

ИЗВОДИ

Получените двугодишни резултати показват следната тенденция:

И през двете години на опита главните леторасли на третираните с Озирил резници (V2) показват по-висока стенен на узряване от тези на контролните (V1). През 2018 г. Активната фаза на процеса затихва с разлика в дължината от 6,9 cm (15 %), а през 2019 г. – с такава от 18,5 cm (60,8 %).

Зрялата част на общия прираст на вкоренените лози е в пълна зависимост от интензивността на узряване на главния леторасъл и потвърждава положителното въздействие на биостимулатора. През първата година разликите в полза на V2, изразени в дължина и маса са 11,3 cm (22,5 %) и 3,27 g (27,2 %), а през втората – съответно в 19,4 cm (52,7 %) и 5,21 g (85,4 %).

На лице е статистическа доказаност на разликите в полза на третирания вариант през 2019 г. по всички показатели. Степента на узряване на главния леторасъл в динамика е доказана с ниво на достоверност от 5% (+), а дължината на зрелия прираст и неговата маса от биометричните измервания – съответно с 1% (++) и 5% (+).

CONCLUSIONS

The obtained two-year results showed the following trend:

In both years of the trial, the main shoots of the Osiryl treated cuttings (V2) revealed a higher rate of maturation than those of the control cuttings (V1). In 2018, the active phase of the process subsided with a difference in length of 6.9 cm (15%), and in 2019 – 18.5 cm (60.8%).

The mature part of the rooted vines total growth was completely dependent on the intensity of the main shoot maturation and confirmed the positive effect of the biostimulator. In the first year, the differences in favour of V2, expressed in length and mass, were 11.3 cm (22.5%) and 3.27 g (27.2%), and in the second year, 19.4 cm (52.7%) and 5.21 g (85.4%), respectively.

There was statistical significance of the differences in favour of the treated variant in 2019 for all indicators. The rate of the main shoot maturation in dynamics was proved with a confidence level of 5% (+), and the length of the mature growth and its mass from the biometric measurements – by 1% (++) and 5% (+), respectively.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Dimitrova, V., V. Peykov, E. Tsvetanov, H. Encheva and M. Chelebiev**, 2007. Optimization of the Technology for the Production of Grafted Rooted Vines. In: Proceedings of a Scientific Conference with International Participation “Sustainable Development of Viticulture and Enology Based on Knowledge”, Pleven, 29-30 August 2007, pp. 99-106.
2. **Dimova, D. and E. Marinkov**, 1999. Experimental Work and Biometrics. Academic publ. house of HIA, Plovdiv, 263
3. **Zhunich, Dr.**, 1996. Influence of Vitastamine Biostimulator on the Yield and Quality of Cabernet Sauvignon Grapes. *Lozarstvo i Vinarstvo*, No. 5, 18-21.
4. **Ivanov, M. Zdr. Nakov, Il. Simeonov and A. Iliev**, 2011. Kaylashki Rubin – new red wine variety. *Selskostapanska Nauka*, 44(4), 60-65.
5. **Krastanov, S. and R. Dilkova**, 1963. Soils in the Experimental Field of the Institute of Viticulture and Enology in Pleven. Institute of Soil Science “N. Pushkarov”, Sofia, 60.
6. **Nikolskiy, M. and M. Pankin**, 2018. The Influence of Bioeffective Preparations on the Induction of Growth-Correcting Effects in Wine Grapes and the Yield and Quality of Grafted Seedlings. *Fruit Growing and Viticulture of the South of Russia*, 54 (06), 22-32.

7. **Pachev, Iv. and N. Prodanova-Marinova**, 2016. Effect of RootMost in the Grapevine Propagation Material Production, *Journal of Mountain Agriculture in the Balkans*, No.19 (2), 192-205.
8. **Radchevskiy, P., V. Cherkunov and L. Troshin**, 2010. Innovations in the Viticulture of Russia. 24. The Use of the Biologically Active Substance RADIX in the Cultivation of Grape Propagation Material. *Scientific Journal KubGAU*, 60 (06), 1-21.
9. **Roychev, V.**, 2012. Ampelography. Academic publ. house of AU-Plovdiv, pp. 119-120.
10. **Todorov, I.**, 2005. Vine Propagation Material Production. Dionysus, Sofia, 304.
11. **Hristov, Hr.**, 2007. Fertilization of the Vine and Opportunities to Control its Demand of Fertilizers. Lozarstvo i Vinarstvo, No. 1, 25-28.
12. **Tsvetanov, E.**, 2019. Irrigation Process Control in Vine Nursery. Monograph, PRV - Refresh Vision, p. 133.
13. https://www.groupe-frayssinet.fr/en/wpcproduct/osiryl-agri/

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (2), 229-239
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Разработване на иновативни продукти при преработка на захарно цвекло и облепиха

Теодора Михова[1]*, Станимир Енчев[2], Татяна Божанска[1]

[1]Институт по планинско животновъдство и земеделие, 5600 Троян, България
[2]Земеделски институт, 9700 Шумен, България

Development of Innovative Products from the Processing of Sugar Beet and Sea Buckthorn

Teodora Mihova[1]*, Stanimir Enchev[2], Tatyana Bozhanska[1]

[1]Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 5600 Troyan, Bulgaria
[2]Agricultural Institute, 9700 Shumen, Bulgaria
*E-mail: teodora.mihova@gmail.com

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Разработени са два иновативни асортимента от пестил (сушен на слънце мармалад) и са изследвани качествените показатели за суровини и продукти, получени от тях по традиционна рецепта. Първият асортимент е направен от захарно цвекло сорт Diex (2x), създаден в Земеделски институт - Шумен. Вторият асортимент е захарно цвекло сорт Diex (2x) и облепиха, отглеждана в Институт по планинско животновъдство и земеделие - Троян. Анализиран е биохимичният състав, установени са промените в суровините и разработените от тях продукти.

Сорт захарно цвекло Diex (2x) има високо съдържание на сухо вещество, обща захар, инвертна захар и захароза. Общите полифеноли, органични киселини, аскорбинова киселина и танини, доминират в плодовете на облепихата.

Сравнителният анализ на разработения асортимент от сушен мармалад показва, че иновативният продукт

SUMMARY

Two innovative assortments of pestil (sun dried marmalade) have been developed and the qualitative indicators of raw materials and products obtained from them according to a traditional recipe have been studied. The first assortment is made from sugar beet variety Diex (2x) created by the Agricultural Institute - Shumen. The second range is the sugar beet variety Diex (2x) and Siberian sea buckthorn breeded in the Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture - Troyan. Biochemical compound and the changes of the developed products and the raw materials were analyzed.

Sugar beet variety Diex (2x) has high levels of dry matter content, total sugars, inverted sugar and sucrose. Total polyphenols, organic acids, ascorbic acid and tannins dominant in the fruits of Siberian sea buckthorn.

Comparative analysis of the developed assortment of sun dried marmalade shows that the innovative от захарно цвекло и облепиха има по-високи стойности на общи полифеноли, както и по-висока обща сензорна оценка сравнен с пестила от захарно цвекло.

Ключови думи: пестил, иновативни продукти, облепиха, захарно цвекло, биохимичен състав

product from sugar beet and Siberian sea buckthorn has higher values of total polyphenols, as well as higher overall sensory evaluation compared to sugar beet pestil.

Key words: pestil, fruit leather, sun dried marmalade, innovative products, sea buckthorn, sugar beet, biochemical compounds

УВОД

Облепихата (*Hippophae rhamnoides.* L.) е студоустойчив бодлив храст или малко дърво от семейство *Eleagnaceae*. Известена е още като морски зърнастец, ракитник, сибирски ананас. Облепихата се среща върху песъкливи почви в близост до реките, дюните и бреговата ивица в Европа, Япония, Хималаите, Алтай, Тибет (Li and Schroeder, 1996; Li and Wang, 1998). Женските растения от облепиха се отрупват с жълти, оранжеви или червено оцветени плодове, със сферична форма, диаметър 3-8 mm, тегло 0,2-1,0 g (Li and Schroeder, 1996).

Плодовете от облепиха се използват за лечебни и хранителни цели в Русия, Европа и Азия в продължение на много векове. Като овощна култура, се отглежда в Германия, Франция, Финландия, Индия и Китай (най-големият производител на облепиха). За много от веществата в облепихата се знае, че имат благоприятно въздействие върху здравето на човека (Li and Schroeder, 1996). В литературата се посочва, че плодовете и семената са с високо съдържание на естествени антиоксиданти, включително аскорбинова киселина, токофероли, каротеноиди, флавоноиди, както и полезни за здравето мастни киселини (Rosch et al., 2003; Mondeshka, 2005). Действието им е благоприятно при колити, гастрити, язви, както и при липидната обмяна в черния дроб. Антиоксидантните свойства предпазват организма от сърдечносъдови заболявания, хипертония, атеросклероза и понижават нивата на

INTRODUCTION

Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*. L.) is a hardy thorny bush or small tree of family *Eleagnaceae*. It is commonly known as sea buckthorn, sandthorn distributed on a sandy soil near the rivers, the dunes and the coastline in Europe, Japan, Himalayas, Altai, Tibet (Li and Schroeder, 1996; Li and Wang, 1998). The female plants produce ripe sea buckthorn berries yellow, orange, or red in colour, are spherical in shape, and range in size between 3 and 8 mm in diameter weighing from 0.2 g to 1 g (Li and Schroeder, 1996).

The sea buckthorn berries has been used for medicinal and nutritional purposes in Russia, Europe, and Asia for many centuries. As an agricultural plant is grown in Germany, France, Finland, India and China, which is the largest agricultural producer of sea buckthorn. Many of the substances that are found in the sea buckthorn are known to have beneficial effects on health (Li and Schroeder, 1996). It has been well established in the literature that berries and seeds contain high amounts of natural antioxidants including ascorbic acid, tocopherols, carotenoids, flavonoids, as well as health beneficial fatty acids (Rosch et al., 2003; Mondeshka, 2005).

It acts favourably in colitis, gastritis and ulcers, as well as on lipid exchange in the liver. Its antioxidant properties protect the body from cardiovascular disease, hypertension, atherosclerosis and lower blood cholesterol levels. In taste the fruits холестерола в кръвта. Вкусът на плодовете наподобява този на дренките (сладък, леко кисел) с аромат на ананас. Хранителните продукти от облепиха нормализират работата на стомашно-чревния тракт. Използва се за производство на масло, сок, хранителни добавки, бонбони, желета, козметика, шампоани и др. Облепихата е подходяща за приготвяне на пайове, конфитюри, лосиони, плодови сокове, влиза и в състава на детските храни. Сокът или пулпата от облепиха имат друго потенциално приложение в хранителната индустрия, като мултивитаминна питателна напитка, богата на аскорбинова киселина и каротеноиди (Mingyu, 2001; Kallio et al., 2002; Dharmananda, 2004; Mondeshka, 2005; Yang, 2009).

Трапезно, градинско, захарно, червено, хранително, златно цвекло, манголд са едини от няколкото култивирани сортове *Beta vulgaris*, отглеждани заради ядливите си кореноплоди и листа. Те са класифицирани като *B. vulgaris subsp. vulgaris* и са традиционна храна за хората и животните в много страни.

Кореноплодът на захарното цвекло съдържа 75% вода, около 20% захар и 5% целулоза. Съдържанието на захар може да варира от 12% до 21%, в зависимост от сорта и условията на средата за отглеждане. Захарта е основната стойност на захарното цвекло като „остойностена култура“. Пулпата е неразтворима във вода съставена главно от целулоза, хемицелулоза, лигнин, пектин и се ползва за храна при животни (Kikindonov and Kikindonov, 2001; Kikindonov and Kikindonov, 2004; Uchkunov, 2008; Atanasov et al. 2009; Kikindonov and Kikindonov, 2011; Enchev et al., 2017).

Пестилът, известен още като габровски шоколад, е изсушен на слънце мармалад, произведен от различни плодове и е един от методите за съхранение и консумация на плодове, поради дълготрайната и високата му

resemble the cornelian cherry - sweet, slightly acidic but with a specific flavor of pineapple. All food products in the diet normalize the functioning of the gastrointestinal tract. Products on the market from sea buckthorn range from oil, juice, and food additives to candies, jellies, cosmetics, and shampoos. Sea-buckthorn fruit is used to make pies, jams, lotions and liquors, as nutritional ingredient in baby food. The juice or pulp has other potential applications in foods or beverages. It provides a nutritious multi-vitamin beverage, rich in ascorbic acid and carotenes (Mingyu, 2001; Kallio et al., 2002; Dharmananda, 2004; Mondeshka, 2005; Yang, 2009).

The beetroot is also known as the table beet, garden beet, sugar beet, red beet, dinner beet or golden beet. It is one of several cultivated varieties of Beta vulgaris grown for their edible taproots and leaves (called beet greens); they have been classified as B. vulgaris subsp. vulgaris. They are a traditional food in many countries.

The root of sugar beet contains 75% water, about 20% sugar, and 5% pulp. The sugar content can vary between 12% and 21% sugar, depending on the cultivar and growing conditions.

Sugar is the primary value of sugar beet as a cash crop. The pulp, insoluble in water and mainly composed of cellulose, hemicellulose, lignin, and pectin, is used in animal feed (Kikindonov and Kikindonov, 2001; Kikindonov and Kikindonov, 2004; Uchkunov, 2008; Atanasov et al. 2009; Kikindonov and Kikindonov, 2011; Enchev et al., 2017).

The pestil, also known as Gabrovo chocolate, is sun dried marmalade made from different fruits, is one of the methods of storing and consuming fruits, because of its long-lasting and high energy value.

енергийна стойност. Производството на пестил е широко разпространена дългогодишна практика предимно в страните от Югоизточна Азия и Балканите. В България, този продукт е познат главно в планинските и предпланински райони (Габровско, Троян, Трявна, Севлиево, Кюстендилско) с добре развито сливо-производство (Vitanova et al., 2005; Dimkova et al., 2017; Dimkova et al., 2018).

В България продуктът се приготвя чрез варене и прецеждане на плодовете, със или без добавена захар, до получаване на гъста маса, която се разстила на тънък слой и се суши до втвърдяване (Ivanova and Mihova, 2019; http://www.gabrovonews.bg/news/141657/; https://sites.google.com/site/ovosarstvobg/sina-sliva). В Турция пестилът се прави най-често от гроздов сок, нар или кайсиево пюре, сгъстен с нишесте и разтлан на тънък слой. Традиционна храна е и в някои други източно-азиатски, близкоизточни страни (Blazek and Vavra, 2007; Sezer et al., 2016; Yildiz and Sarımeseli, 2017; Tontul and Topuz, 2018).

Целта на настоящото изследване е да разработим иновативен продукт - пестил от захарно цвекло и да сравни качеството и биохимичните показатели на пестил от захарно цвекло и облепиха.

Pestil production is widespread and has long been practiced in Southeast Asia and Balkans.

In Bulgaria it is mainly popular in mountainous and pre-mountainous areas with developed plum production - Gabrovsko, Troyan, Tryavna, Sevlievo, Kyustendil (Vitanova et al., 2005; Dimkova et al., 2017; Dimkova et al., 2018).

In Bulgaria product was prepared by boiling and straining the fruit, with or without added sugar until became a thick mass which is spread in a thin layer and dried to solidification (Ivanova and Mihova, 2019; http://www.gabrovonews.bg/news/141657/; https://sites.google.com/site/ovosarstvobg/sina-sliva). In Turkey, the pestil is most often made from grape juice, pomegranate, and apricot puree, thickened with a starch spread in a thin layer. It is a traditional popular food also in other East Asian and Middle Eastern countries (Blazek and Vavra, 2007; Sezer et al., 2016; Yildiz and Sarımeseli, 2017; Tontul and Topuz, 2018).

The aim of this study is to develop innovative products pestil from sugar beet and to compare in terms of quality and biochemical indicators of the fruit leather from sugar beet and sea buckthorn.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Суровини

Сибирската облепиха се отглежда в ИПЖЗ-Троян. Височината на храстите е до 2,50 m. Плодовете са едри, овални, узряват - края на юли до средата на август. По вкусови качества наподобяват дренките – сладки, леко кисели, но със специфичен аромат на ананас.

Новият сорт захарно цвекло Diex е едносеменен диплоиден хибрид. Семената на хибрида са с изключително високо лабораторно и полево покълване. Diex показва стабилна висока производителност при поливни и непо-

MATERIAL AND METHODS

Fruit materials

The fruits of the Siberian variety have been grown and supplied by RIMSA-Troyan. The bushes are up to 2.50m high. Fruits are large and oval, mature from the end of July to mid-August. In terms of the taste, they resemble cornelian cherry - sweet, slightly sour, but with a specific pineapple aroma.

The new sugar beet variety Diex is a monogerm diploid hybrid. The seeds of the hybrid are with extremely high laboratory and field germination. Diex shows stable high productivity in irrigation and non-irrigation conditions in the ливни условия в различните региони на страната и се отличава по отношение на технологичните качества. Новият сорт проявява висока толерантност към причинителя на болестта *Rhizomania*, устойчив е към вирус по цвеклото, *Phoma*, кореново гниене и листните петна при цвеклото. Екологичната пластичност и сравнително евтиното производство на висококачествени семена от новия сорт Diex са предпоставки за ефективното му приложение в практиката (Kikindonov and Kikindonov, 2011).

Разработените асортименти се получават по традиционната рецепта на следните технологични етапи:

Първи асортимент - пестил от захарно цвекло включва следните технологични етапи: приемане, инспекция, промиване, почистване, рязане, термична обработка при 96-98°C за 40 минути, хомогенизиране на масата, и сушене.

Вторият асортимент – пестил от захарно цвекло и облепиха се получава при следните технологични етапи: на приемане на суровина, инспекция, измиване, почистване, нарязване, термична обработка при 96-98°C за 40 минути, хомогенизиране на масата, добавка на сок от облепиха и сушене.

Получаването на сока от плодовете на облепиха за приготвянето на пестила в рецептата включва следните технологични стъпки: получаване, проверка, измиване, получаване на студено пресован сок със сокоизстисквачка (NS-750 Kuvings Silent). Предимството на технологията е в бавната екстракция на сока, която запазва хранителните вещества на продукта. Смесването на съставките при втория вариант - пестил от захарно цвекло и облепиха 3:1.

Химични показатели

Проследени са следните химични показатели:

• Сухо вещество по рефрактометър (%) - БДС EN 12143;

• Активна киселинност (pH), БДС 11688;

different regions of the country and is distinguished and uniform regarding the technological qualities. The new variety is with a very high tolerance to the agent of the *Rhizomania* disease, high degree of resistance to the beet mosaic virus, *Phoma* and root rot, and with a high resistance to Leaf spots. The ecological plasticity and the comparatively cheap production of high sowing quality seeds of the new variety Diex are preconditions for its effective application in the practice (Kikindonov and Kikindonov, 2011).

The developed assortments are obtained according to the traditional recipe at the following technological stages:

The first assortment of sugar beet pestil was obtained at the following technological steps: acceptance, inspection, washing, cleaning, cutting, heat-treated at 96-98 °C for 40 minutes, blending the mass, homogenization, drying.

The second assortment of sugar beet and sea buckthorn is obtained at the following technological steps of raw material acceptance, inspection, washing, cleaning, cutting, heat treated at 96-98 ° C for 40 minutes, blending the mass, mixing with the sea buckthorn juice, homogenization, drying.

Obtaining the juice from the fruits for use in preparation of the pestil the sugar beet and peppermint recipe was obtained at the following technological steps: receiving, inspecting, washing, obtaining the cold pressed juice with the NS-750 Kuvings Silent Juicer, the advantage of which is the low rapid extraction of juice to maintain nutrients. Mixing the ingredients is in the ratio of the second variant of pestil from sugar beet and sea buckthorn: 3 to 1.

Chemical parameters

The following chemical parameters were monitored:

• Determination of dry matter % - BDS EN 12143-00;

• Determination of active acidity (pH) -

• Общи захари, (%), БДС 7169-89;
• Обща титруема киселинност, (%), БДС 6996;
• Съдържание на аскорбинова киселина (mg/%), БДС 11812 91;
• Пектин (%) – BDS 16491-86
• Дъбилни вещества (%) – по метода на Levental-Nibbaur (Bukharina et al., 2015);
• Общи полифеноли по метода на Singleton and Rossi

Получените данни се обработват статистически чрез дисперсионен анализ (Lidanski, 1998) и Програми на Microsoft Excel.

Сензорен анализ

Направена е органолептична оценка, като се използва система за класификация на разработените продукти. Предоставени са проби на дегустаторите, като всеки попълва дегустационна карта. Продуктите се оценяват по следните показатели: външен вид, вкус, мирис, текстура, цвят. Всеки индикатор има коефициент на общата сензорна оценка съответно:
•Външен вид - 0,2;
•Цвят - 0,2;
•Консистенция - 0,15;
•Вкус - 0,3;
•Мирис - 0,15.

Използва се скала за степенуване от 1 до 5 (през 0,25), което съответства на качеството на извадката въз основа на този показател.

Петточковата система за класифициране, прави общата степен на сетивно оценяване на качеството на извадката въз основа на получения общ резултат:
- 4.50 ÷ 5.00 рейтинг - суровината / продуктът е много добър;
- 4.00 ÷ 4.49 рейтинг - суровината / продуктът е добър;
- рейтинг 3.50 ÷ 3.99 - суровината / продуктът се нуждае от подобрение;
- под 3,50 степен - суровината / продуктът се нуждае от значително подобрение.

BDS 11688-93;
• Total titratable acidity,% - BSS 6996-93;
• Active acidity (pH) - BDS 11688;
• Total sugars,% - BDS 7169-89;
• Ascorbic acid, mg% - BDS 11812-91;
• Pectin,% - BDS 16491-86;
• Tannin substances,% - Levental-Nibbaur method by (Bukharina et al., 2015);
• Total polyphenols by the Singleton and Rossi method

Data received are statistically treated by dispersion analysis (Lidanski, 1998) and Microsoft Excel programs.

Sensory analysis

It was made organoleptic evaluation using a grading system of the developed products. Samples were provided of the tasters, each completing a tasting card. Products are evaluated by indicators: appearance, taste, smell, texture, color. Each indicator has a coefficient of the total sensory evaluation respectively:
• Appearance - 0.2;
• Colour – 0.2;
• Consistency – 0.15;
• Taste - 0.3;
• Odor - 0.15.

Used grading scale of 1 to 5 (with a pitch of 0.25), which corresponds to the quality of the sample based on that metric.

The five-point grading system makes the total sensory evaluation grade of the quality of the sample based on the total score obtained:

- 4.50 ÷ 5.00 rating - the raw material / product is very good;
- 4.00 ÷ 4.49 rating - the raw material / product is good;
- 3.50 ÷ 3.99 rating - the raw material / product needs improvement;
- below 3.50 grade - the raw material / product needs significant improvement.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Данните от Таблица 1 представят анализ на пресни плодове - захарно цвекло и облепиха.

RESULTS AND DISCUSSION

The data from Table 1 presents the studies carried out on the fresh fruits - sugar beet and sea buckthorn.

Таблица 1. Биохимични показатели на свежо захарно цвекло сорт Diex (2x) и облепиха (*Hippophae rhamnoides.* L.)
Table 1. Biochemical indicators of the fresh material sugar beet variety Diex (2x) and the Siberian sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides.* L.)

Fruit materials	Dry weight matter, %	Dry matter refractometric, %	Total sugars, %	Inverted sugars,%	Sucrose, %	Organic acids, %	Ascorbic acid, mg/%	Tannins, %	Pectins, %	Total polyphenols, mg/%
sea buckthorn	14.21	8	4.05	2.55	2	7.36	184.48	0.112	0.44	1141.99
sugar beet	21.14	23.2	14.4	4.70	5.28	1.24	8.92	0.470	3.31	110.07

Сравнителният анализ между пресния плодов материал е с по-високи стойности на показателите сухо вещество и общи захари (над 3 пъти) при захарното цвекло, тъй като то се използва естествен източник за подслаждане. Пектинът е почти 8 пъти повече в сочните плодове на сибирската облепиха спрямо цвеклото. Като лечебно растение облепихата е богата на биоактивни съединения. Стойностите на органичните киселини и общите полифеноли в плодовете на облепихата са по-високи спрямо цвеклото, съответно 6 и 10 пъти. Съдържанието на аскорбинова киселина при пресните плодови показва повече от 20 пъти по-висока стойност в суровината от облепиха спрямо захарното цвекло сорт Diex (2x).

Резултатите дават основание за разработване, използвайки традиционната технология на нов иновативен продукт от захарно цвекло и облепиха с цел подобряване на качеството на продуктите от пестил.

В Таблица 2 са представени резултатите от физичните и биохимичните анализи на разработените асортименти от захарно цвекло и захарно цвекло с облепиха.

The comparative analysis between the fresh fruit material presents higher values indicator of dry matter content and the total sugars are more than 3 times higher at the sugar beets, as it is used as a natural source of sweetening. Pectin is almost 8 times higher than in the juicy fruits of the Siberian sea buckthorn. As a medicinal plant , the sea buckthorn is rich in bioactive compounds

The indicator organic acids are 6 times higher. The analyzed biochemical parameters of the fresh fruit materials in terms of total polyphenols content is 10 times higher in the sea buckthorn compared to the sugar beet. The determined ascorbic acid of the fresh fruit materials shows more than 20-times higher value in the sea buckthorn compared to the sugar beet variety Diex (2x).

The obtained results gave grounds to develop, a new innovative sugar beet and sea buckthorn product, using traditional technology in order to improve the quality of the pestils products.

Table 2 presents the results of the physical and biochemical analyzes of the developed assortments of sugar beet and sugar beet with sea buckthorn.

Таблица 2. Биохимични показатели на пестили от захарно цвекло сорт Diex (2x) и със сибирския облепиха (*Hippophae rhamnoides*. L.)
Table 2. Biochemical indicators of the pestils from the sugar beet variety Diex (2x) and with the Siberian sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*. L.)

Pestils	Dry weight matter, %	Total sugars, %	Inverted sugars,%	Sucrose, %	Organic acids, %	Ascorbic acid, mg/%	Tannins, %	Pectins, %	Total polyphenols, mg/%
sugar beet	82.02	44.5	44.5	0	1.53	25.4	0.289	4.64	558.93
sugar beet and sea buckthorn	86.24	37.9	37.9	0	1.91	76.5	0.506	2.22	618.23

Сухото вещество и общите захари значително увеличават стойностите си (съответно 4 и 9,5 пъти) по време на термичната обработка и сушаването при естествена слънчева светлина.

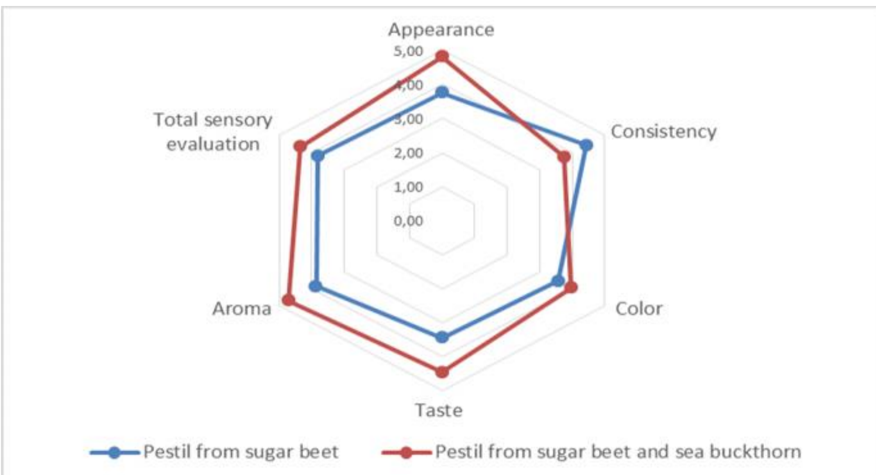
Органичните киселини в новия продукт пестил от захарно цвекло и облепиха са намалени с 3,45 пъти в сравнение с тези в плодовия пресен материал, а аскорбиновата киселина 2,4 пъти.

Количеството на общите полифеноли в разработените пестили от захарно цвекло е почти 2 пъти по-високо спрямо това в суровината, което дава основание да се направи изводът, че въвеждането на сока от облепиха в състава на разработената гама подобрява качествените и количествените характеристики на иновативния продукт.

Dry matter and total sugars significantly increase their values by 4 times and respectively 9.5 times, during the technological processes of heat treatment and the sun drying.

The organic acids in the new product pestil from sugar beet and sea buckthorn are reduced by 3.45 times that of the fruit fresh material sea buckthorn and ascorbic acid 2.4 times in the final product.

The content of total polyphenols of the developed pestils increased almost 2 times compared to the raw material, which gives reason to make a conclusion that the introduction of the juice of the sea buckthorn in the formulation of the developed range improves the qualitative and quantitative characteristics of the product.



Фиг. 1. Сензорна оценка на иноватвни продукти пестили
Fig. 1. Sensory evaluation of the innovative products pestils

Иновативните продукти - пестили са оценени сензорно от обучени дегустатори по следните показатели: външен вид, консистенция, цвят, аромат на пет-точкова система (Фигура 1).

Общото мнение на дегустаторите е, че продуктите са разработени с много добър външен вид, консистенция, характерна за пестилите, цветът е характерен за вложените суровини, които са били подложени на термични процеси. Ароматът и вкусът на пестил от захарно цвекло и облепиха е по-добър спрямо този без облепиха.

Общият резултат на сензорната оценка е по-висок при пестил, произведен от захарно цвекло и облепиха, в сравнен с пестил от захарно цвекло.

The innovative products - pestils have been sensory evaluated by trained tasters by the following indicators: appearance, consistency, colour, aroma on a five-point system (Figure 1).

The general opinion of the tasters is that products have been developed with a very good appearance, a consistency characteristic of pestils, the colour is characteristic of the input raw materials that have been undergone to a thermal processes. The aroma and taste of the pestil from sugar beet and sea buckthorn is better than the one without the sea buckthorn.

The total sensory evaluation score is higher in a pestil produced from sugar beet and sea buckthorn as compared to the pestil from sugar beet.

ИЗВОДИ

Сравнителеният анализ на разработената гама от пестили показа, че иновативният продукт от захарно цвекло - Diex (2x) и облепиха има по-висока стойност на общи полифеноли, органични и аскорбинова киселина и е с по-висока обща сензорна оценка сравнен с варианта от захарно цвекло.

Анализираните биохимични индекси на суровините по отношение на съдържанието на общи полифеноли са 10 пъти по-високи в облепихата спрямо захарното цвекло.

Резултатите от изследването дават основание за разработка на нов иновативен продукт, използвайки традиционната технология за производство на пестил, от захарно цвекло и облепиха, с цел подобряване качеството и сортимента от пестили.

CONCLUSIONS

Comparative analysis of the developed range of pestils showed that the innovative sugar beet - Diex (2x) and sea buckthorn product has higher value of total polyphenols, organic and ascorbic acids with higher overall sensory evaluation, as well as with higher overall sensory evaluation compared to the variant of sugar beet.

The analyzed biochemical indices of the raw materials with respect to the content of total polyphenols are 10 times higher in the sea buckthorn compared to the sugar beet.

The obtained results gave grounds to develop, using traditional technology of production of pestil, a new innovative variety made from Sugar beet and sea buckthorn in order to improve the quality and the varietal list of pestils products.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Atanasov, A., I. Zeliazkova, P. Atanasova, V. Dochev, R. Kolev, Ch. Vezirov and L. Nenova**, 2009. Creation of a Multidisciplinary Approach to Sustainable Development and Management of the Organic Agriculture in Bulgaria and Romania. Research people and actual tasks on multidisciplinary sciences. Lozenec, Bulgaria, 10-12 June, vol. 1, 232-237.

2. **Blazek, J. and R. Vávra**, 2007. Fruit Quality in Some Progenies of Plum Varieties with Tolerance to PPV. *Acta Hortic.*, 734, 173-182 doi: 10.17660/ActaHortic.2007.734.21

3. **Bukharina, I. L, A. M Sharifullina, P. A Kuzmin, N. V Zakharchenko and I. I. Gibadulina**, 2015. The Impact of Man-Made Environment on the Ecological and Biological Characteristics of Drooping Birch. *Biosci Biotech Res Asia*, 12(2).
4. **Dharmananda, S.**, 2004. Sea Buckthorn. Institute of Traditional Medicine, Portland, Oregon. http://www.itmonline.org/arts/seabuckthorn.htm
5. **Dimkova, S., D. Ivanova, S. Todorova and N. Marinova**, 2017. Biometrical Indicators of Fresh Fruits of Bulgarian and Introduced Plum Cultivars of Prunus domestica L. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 23 (6), 947-950
6. **Enchev, S., G. Kikindonov and K. Slanev**, 2017. Reaction of Different Sugar Beet Genotypes to Organic Fertilization. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 2017, 20 (2), 182-191
7. http://www.gabrovonews.bg/news/141657/
8. https://sites.google.com/site/ovosarstvobg/sina-sliva
9. **Ivanova, P. and T. Mihova**, 2019. Development of an Innovative Product - Pestil from Varieties of Plums (Prunus domestica L.) and Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides L.). In: III International scientific and practical conference with on-line participation "Psychological, pedagogical, medico-biological problems in someone's health" - 22-23 nov, 2019, Altayski d'rzhaven University, in Barnaul, Russia, Scientific journal "Human health, theory and methodology of physical culture and sports", 15(4), 204-211. ISSN (Online) 2414-0244.
10. **Kallio, H., B. Yang and P. Peippo**, 2002. Effects of Different Origins and Harvesting Time on Vitamin C, Tocopherols, and Tocotrienols in Sea Buckthorn (Hippophaë rhamnoides) berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6136−6142
11. **Kikindonov, G. and Tz. Kikindonov**, 2011. Diex - New Diploid Sugar Beet Variety. *Agricultural Science,* 44(4), 19-24
12. **Kikindonov, G. and Tz. Kikindonov**, 2004. Inheritance of Cercospora Leaf Spot Resistance in Hybrids of Dihaploid Sugar beet Lines, *BJAS*, 10(1), 39-42
13. **Kikindonov, G. and Tz. Kikindonov**, 2001. Heterosis Effect in Hybrid Combinations of Dihaploid Sugar Beet. *BJAS*, 7, 577-581.
14. **Li, T. and L. Wang**, 1998. Physiological Components and Health Effects of Ginseng, Echinacea and Sea Buckthorn. In: G. Mazza (Ed.), Functional foods, biochemical and processing aspects (pp. 329-356). Lancaster, PA: Technomic.
15. **Li, T. and W. Schroeder**, 1996. Sea Buckthorn (Hippophaė rhamnoides L.): A Multipurpose Plant. *HortTechnology*, 6, 370-380.
16. **Lidanski, T.**, 1998, Statistical Methods in Biology and Agriculture.
17. **Mingyu, X., S. Xiaoxuan and C. Jinhua**, 2001. The me5dicinal re5search on Sea Buckthorn. International workshop on sea buckthorn, pp. 18-21.
18. **Mondeshka, P.**, 2005. Medicine Fruit Plants. Zemizdat. 97-122
19. **Rosch, D., M. Bergmann, D. Knorr and L. Kroh**, 2003. Structure-antioxidant Efficiency Relationships of Phenolic Compounds and Their Contribution to the Antioxidant Activity of Sea Buckthorn juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4233-4239.
20. **Sezer, D. B., , K. E. Tokatli and A. Demİrdöven**, 2016. Çakal eriği ve yonuz eriği marmelatları. Gaziosmanpașa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33(1), 125-131 ref.36.
21. **Dimkova, S., D. Ivanova, B. Stefanova, N. Marinova and S. Todorova**, 2018. Chemical and Technological chaRacteristic of Plum Cultivars of *Prunus domestica* L. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24 (2) 43-47.
22. **Tontul, I. and A. Topuz**, 2018. Production of Pomegranate Fruit Leather (Pestil) Using Different Hydrocolloid Mixtures: An Optimization Study By Mixture Design.

Journal of Food Process Engineering, 41, 3.
23. **Uchkunov, I.**, 2008. Sugar Beet. Breeding, seed production and agrotechnics. Yuni Express, Shumen (Bg).
24. **Vitanova, I., D. Ivanova and S. Dimkova**, 2005. Biological Characteristic of Plum Cultivars, Created in the Experimental Station - Dryanovo. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 8 (5): 708-717.
25. **Yang, B.**, 2009. Sugars, Acids, Ethyl β-D-glucopyranose and a Methyl Inositol in Sea Buckthorn (Hippophaë rhamnoides) Berries. *Food Chemistry*, 112, 89-97.
26. **Yildiz, Z. and A. Sarımeseli**, 2017. An Experimental Study on Rheological Properties of Pestil Blends. *World Journal of Food Science and Technology*, 1(2), 56-59. doi: 10.11648/j.wjfst.20170102.14