Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 3, 2016, (114-130)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

Фенологични и помологични характеристики на нови сортове сливи от Чачак предназначени за преработка

Ивана Глишич*, Небойша Милошевич, Милан Лукич,
Олга Митрович, Бранко Попович, Милена Джорджевич

Изследователски институт по овощарство, ул. „Краля Петра I“ 9,
32000 Чачак, Република Сърбия
**E-mail: glisiciva2004@yahoo.com*

Phenological and pomological properties of new plum cultivars from Čačak intended for processing

Ivana Glišić*, Nebojša Milošević, Milan Lukić,
Olga Mitrović, Branko Popović, Milena Đorđević

Fruit Research Institute, Čačak, 9 Kralja Petra I Str., 32000 Čačak, Serbia

РЕЗЮМЕ

Сливата е най-важният и най-често отглеждан овощен вид в Сърбия. Дълго време, най-голямата част от годишния добив на сливи се преработваше в ракия. Значително по-малка част се използваше като десертен плод или друг вид преработка. През последните години се увеличава производството на сушени сливи. В сливовия асортимент в Сърбия преобладават сортове „Чачанска лепотица“, „Чачанска родна“, „Стенлей“ и стари ракиени сортове. Целта на настоящото изследване е да проучи фенологичните, помологичните и продуктивните характеристики на три нови сливови сорта („Златка“, „Милдора“, „Крина“) и един стандартен сорт („Чачанска родна“), разработени в Изследователски институт по овощарство в Чачак. „Милдора“ и „Крина“ са сортове предназначени за сушене. „Златка“ е предназначен за всички видове преработване, особено за компоти, докато „Чачанска родна“ е добре известен с комбинираните си характеристики.

SUMMARY

Plum is the most important and the most frequently grown fruit species in Serbia. For a long time, the largest part of annual yield of plums was processed into brandy. A significantly smaller part was used as a desert fruit or for other types of processing. In recent years production of dried plums has been increased. The plum assortment in Serbia is dominated by cultivars ‘Čačanska Lepotica’, ‘Čačanska Rodna’, ‘Stanley’ and autochthonous brandy cultivars.

The aim of this study was to investigate phenological, pomological and productive properties of three new (‘Zlatka’, ‘Mildora’, ‘Krina’) and one standard (‘Čačanska Rodna’) plum cultivars developed at Fruit Research Institute, Čačak.

‘Mildora’ and ‘Krina’ are cultivars intended for drying. ‘Zlatka’ is intended for all kinds of processing, especially for compote, whereas ‘Čačanska Rodna’ is a well known cultivar with combined traits.

Изследваните сортове обикновено цъфтят средно от 15-ти април („Златка“ и „Милдора“), до 24-ти април („Крина“ и „Чачанска Родна“) и зреят от 22-ри август („Златка“) до 2-ри септември („Крина“). Добивът варира от 31.62 kg дърво$^{-1}$ („Чачанска родна“) до 45.25 kg дърво$^{-1}$ („Златка“). Средното тегло на плода е между 22.11 g („Златка“) и 34.63 g („Чачанска родна“). Средното съдържание на разтворими сухи вещества, общи и инвертни захари е най-малко при „Златка“ (съответно 16.35%; 9.85±0.51%; 6.32±0.12%), докато най-високото е при „Милдора“ (съответно 22.97; 8.21; 8,21%). Съдържанието на общи киселини варира от 0.58 % („Милдора“) до 1.03% („Златка“).

Ключови думи: слива, време на зреене, добив, характеристики на плодовете

On average, the studied cultivars flowered from April 15th (‘Zlatka’ and ‘Mildora’), to April 24th (‘Krina’ and ‘Čačanska Rodna’), and matured from August 22nd (‘Zlatka’) to September 2nd (‘Krina’). The yield ranged from 31.62 kg tree^{-1} (‘Čačanska Rodna’) to 45.25 kg tree^{-1} (‘Zlatka’). The average fruit weight was between 22.11 g (‘Zlatka’) and 34.63 g (‘Čačanska Rodna’). Average soluble solids, total and invert sugars content was the smallest in Zlatka’ (16.35%; 9.85±0.51%; 6.32±0.12%, respectively) whereas it was the highest in ‘Mildora’ (22.97; 8.21; 8.21%, respectively). The content of total acids varied from 0.58 % (‘Mildora’) to 1.03% (‘Zlatka’).

Key words: plum, time of maturity, yield, fruit properties

УВОД

Средно годишната продукция на сливи в Сърбия възлиза на 507,987 тона (за периода 2010-2014), което поставя страната измежду четирите водещи производители на този плод (FAOSTAT, 2015). Смята се, че местните или ракиените сортове съставляват дял от 30% от сливовия асортимент, с допълнителен дял от около 60-65% зает от сортове с комбинирани характеристики („Чачанска родна“, „Стенлей“, „Чачанска лепотица“ и "Валйевка") (Urošević, 2015). Около 75-80% от общото количество произведени плодове се преработва в ракия, докато значително по-малки количества се използват за свежа консумация, сушене и преработка в други продукти (Nenadović-Mratinić et

INTRODUCTION

The average annual plum production in Serbia amounts to 507,987 tons (period 2010-2014), contributing to the country’s position of one of the four leading global producers of this fruit species (FAOSTAT, 2015). It is estimated that autochthonous or brandy cultivars constitute a 30% share in the plum assortment, with further around 60–65% share taken by cultivars with combined traits (‘Čačanska Rodna’, ‘Stanley’, ‘Čačanska Lepotica’ and ‘Valjevka’) (Urošević, 2015). Around 75-80% of the total quantity of the produced fruits is processed into brandy, whereas considerably lower quantities are used for fresh consumption, drying and processing into other products (Nenadović-Mratinić et al., 2007).

al., 2007). Смята се, че промените в съществуващия сливов асортимент трябва да са насочени към увеличаване дела на трапезните сортове (Milatović et al., 2011), както и на сортове, чиито плодове са предназначени за сушене (Ogašanović, 2000).

За седемдесетте години на работа със сливовата култура, Изследователският институт по овощарство, Чачак е разработил 15 сорта сливи, които преобладават в сливовия асортимент, не само на Сърбия, но и на много европейски държави. Целта на настоящата статия е да изследва най-важните характеристики на "Златка", „Милдора“ и „Крина“, като нови сливови сортове създадени в Чачак, предназначени за преработване, чрез сравнително изследване със сорт „Чачанска родна“. Сортовете "Златка" ("Жьолта бутилковидна" x "Large Sugar Prune') и „Милдора“ (Large Sugar Prune' x „Чачанска лепотица“) са разработени в рамките на програма за създаване на устойчиви или толерантни на шарка (*Plum pox virus*) сортове, а тяхна обща характеристика е устойчивостта на този вирус в полски условия (Paunović et al., 2006; Glišić et al., 2016). „Крина“ произлиза от кръстоска на 'Wangenheims Frühzwetsche' x 'Italijan Prune' и е разработен в рамките на програма за създаване на нови десертни сортове и е с комбинирани характеристики. Той е

It is believed that changes to the existing plum assortment ought to be directed towards increasing the share of table cultivars (Milatović et al., 2011), as well as cultivars whose fruits are intended for drying (Ogašanović, 2000).

During its seventy years of plum breeding, the Fruit Research Institute, Čačak has developed 15 plum cultivars, which dominate the plum assortment not only in Serbia, but in many other European countries as well. The aim of this paper is to investigate the most important characteristics of 'Zlatka', 'Mildora' and 'Krina' as the new plum cultivars created in Čačak and intended for processing, by performing a comparative study with the 'Čačanska Rodna' cultivar.

Cultivars 'Zlatka' ('Zh'olta butilkovidna' × 'Large Sugar Prune') and 'Mildora' ('Large Sugar Prune' × 'Čačanska Lepotica') were developed within the Programme aimed at creating Sharka (*Plum pox virus*) resistant or tolerant cultivars, and their common trait is resistance to this virus in field conditions (Paunović et al., 2006; Glišić et al., 2016). 'Krina' originates from the 'Wangenheims Frühzwetsche' × 'Italijan Prune' crossing combination and was developed within the Programme of creating new table and combined traits cultivars. It is a tolerant to Sharka

толерантен на вируса на шарка (Lukić et al., 2016).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено в експериментална овощна градина в база „Любич“ на Изследователски институт по овощарство, Чачак, създадена през пролетта на 2002, като е използван стандартен едногодишен посадъчен материал, присаден върху семенна подложка джанка, при разстояния на засаждане 6 x 5 m (333 дървета на хектар). Засаждането е извършено по рандомизирана блокова система, като всеки генотип е представен с 15 дървета в три повторения. Приложената система на формиране е отворена ваза, насаждението е поддържано чрез стандартни мероприятия. Защитата против насекоми и причинители на гъбични заболявания е извършена съгласно стандартния план и конкретните нужди.

За изследването са избрани три от най-новите сливови сорта, признати в периода между 2004 и 2008 ("Златка", „Милдора“ и „Крина“), заедно с един по-стар стандартен сорт („Чачанска родна“). Проучването е проведено през 2012 и 2013 и включва изследване на фенологичните и помологични характеристики и добива. Фенологичното изследване е фокусирано върху фенофазите на цъфтеж и зреене. Фенофазата на цъфтеж е изследвана според методоло-

virus (Lukić et al., 2016).

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in the experimental plum orchard at the Ljubić facility of the Fruit Research Institute, Čačak, originally set up in spring 2002, using standard one-year-old planting material grafted on myrobalan seedling, at the 6 × 5 m planting distance (333 trees per ha). The planting was performed using the randomised block system, with each genotype being represented with 15 trees in three replications. The cultivation system applied was the open vase crown and the plantation was maintained using standard measures of care. Protection against insects and causal agents of fungal diseases was implemented in accordance with the standard plan and the concrete needs.

Three of the more recent plum cultivars recognised in the period between 2004 and 2008 (‘Zlatka’, ‘Mildora’ and ‘Krina’) were chosen as the study material, together with one of the older standard cultivar (‘Čačanska Rodna’). The research was conducted during 2012 and 2013, including a study of the phenological and pomological characteristics and yield. The phenological study focused on the flowering phenophase and fruit maturity phenophase. The flowering phenophase was

гията препоръчана от International Pollination Group (Wertheim, 1996). Записани са датите на начало на цъфтеж (10% отворени цветове на дърво), дати на пълен цъфтеж (80% разпукнати цветове на дърво) и край на цъфтежа (над 90% от венчелистчетата са паднали). В изследването е определен срокът на зреене на разглежданите генотипове. Що се отнася до помологичните характеристики, изследването се съсредоточава както върху физическите характеристики (тегло и размери на плода, тегло на костилка и процент на плодово месо) така и химическите характеристики (съдържание на разтворими сухи вещества, съдържание на общи и инвертни захари, съдържание на захароза, съдържание на общи киселини и стойност на pH на плодовия сок). Теглото на плода (g) и теглото на костилката (g) са определени, чрез измерване на 25 случайно избрани плодове и техните костилки, в три повторения, с технически везни (Adventurer Pro AV812M, Ohaus Corporation, Switzerland). Размерите на плода– височина (mm), широчина (mm) и дебелина (mm) са определени като са измерени 25 плода в три повторения, използван е шублер (Inox 1/20 mm, с точност от ± 0.01 mm). Изчислен е делът на плодовото месо (%). Съдържанието на разтворими сухи вещества (%) е установено като е използван ръчен реф-

examined in accordance with the methodology recommended by the International Pollination Group (Wertheim, 1996). Records were made of dates of flowering onset (10% of open flowers on a tree), dates of full bloom (80% of open flowers on a tree) and end of flowering (over 90% of petals fell). The date of full maturity was chosen as the ripening time of fruit of plum genotypes under consideration. Concerning the pomological characteristics, the study focused on both the physical traits (fruit weight and dimensions, stone weight and flesh percentage) and the chemical features (soluble solids content, content of total and invert sugars, sucrose content, total acids content and the pH value of the fruit juice).

The fruit weight (g) and stone weight (g) were determined by measuring 25 randomly picked fruits and their stones, using three replications on the technical scales (Adventurer Pro AV812M, Ohaus Corporation, Switzerland).

The fruit dimensions – height (mm), width (mm) and thickness (mm) were determined by measuring 25 fruits in three replications, using calliper (Inox 1/20 mm, with ± 0.01 mm precision). The fruit flesh ratio (%) was determined by calculation. The content of soluble solids (%) was established using a manual refractometer (Carl Zeiss, Jena,

рактометър (Carl Zeiss, Jena, Germany) при стайна температура (20°C). Съдържанието на общи киселини (%) изразено в ябълчена киселина е определено с неутрализация на плодовия сок с 0.1 N NaOH, като индикатор до pH 8.1 е използван фенолфталеин. Съдържанието на общи захари (%) и инвертни захари (%) е определено обемно според Луф-Шоорл, а от него е изчислено съдържанието на захароза (%). Действителната киселинност (pH) е определена чрез pH-meter Cyber Scan 510 (Nijkerk, Netherlands). Добивът е изследван чрез наблюдаване на добив от дърво (kg от дърво) като е използвана електронна скала ACS System Electronic Scale (Zhejiang, China). Получените резултати са обработени статистически по модела на Фишер за вариационен анализ (ANOVA) за двуфакторен експеримент и F тест с $P \leq 0.05$ и $P \leq 0.01$. В ситуации, в които F теста показва значими резултати, изследването на различията със средноаритметични величини и техния ефект на взаимодействие е извършено с тест за най-малка значима разлика (LSD тест) при ниво на значимост от $P \leq 0.05$. Статията представя средните стойности на изследваните параметри през периода на изследване.

Germany) at the room temperature (20°C). The total acids content (%) expressed in malic acid was determined by neutralisation of the fruit juice with 0.1 N NaOH, using phenolphthalein as indicator until pH 8.1.

The content of total sugars (%) and invert sugars (%) was determined volumetrically, in accordance with Luff-Schoorl, whereas calculation was used to determine the sucrose content (%). The actual acidity (pH) was determined using the pH-meter Cyber Scan 510 (Nijkerk, Netherlands). The yield was studied by monitoring the yield per tree (kg per tree) using ACS System Electronic Scale (Zhejiang, China).

The obtained results were statistically processed using the Fisher Variance Analysis (ANOVA) model of bi-factorial experiment and F test for $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$. In the situations when the F test showed significant results, testing of differences in arithmetic means and their interaction effect was performed using the Least Significance Difference Test (LSD Test) for the significance level of $P \leq 0.05$. The paper presents the average values of the tested parameters during the study period.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Изследваните сливови генотипи не разкриват значими различия по отношение на началото и развитието на фенофаза на цъфтежа (Таблица 1). Средно настъпването на фенофазата на цъфтеж е на 15ти април при сортове „Милдора“ и "Златка" и на 16ти април при сортове „Крина“ и „Чачанска родна“. Пълният цъфтеж при всички изследвани генотипи настъпва средно за три дни, с продължителност на фенофаза цъфтеж, девет дни.

Плодовете на изследваните генотипи зреят между 22ри август ("Златка") и 2ри септември („Крина“). Докато сорт "Златка" се отличава с по-ранен срок на зреене на плода, „Милдора“ и „Крина“ имат по-късен срок на зреене, в сравнение с „Чачанска родна“ (Таблица 1).

RESULTS AND DISCUSSION

The studied plum genotypes did not reveal significant differences concerning the onset and progress of the flowering phenophase (Table 1). The average onset of the flowering phenophase occurred on 15th April in the ‘Mildora’ and ‘Zlatka’ cultivars, i.e. 16th April in the ‘Krina’ and ‘Čačanska Rodna’ cultivars. The full bloom in all the studied genotypes occurred on average in three days, with the flowering phenophase lasting for nine days.

The fruits of the studied plum genotypes ripened between 22nd of August (‘Zlatka’) and 2nd of September (‘Krina’). While the ‘Zlatka’ cultivar featured an earlier fruit ripening time, the ‘Mildora’ and ‘Krina’ had a later ripening time compared to ‘Čačanska Rodna’ (Table 1).

Таблица 1 Фенофаза на цъфтеж и зреене при изследваните сливови сортове
Table 1. Phenophase of flowering and ripening of studied plum cultivars

	Цъфтеж/Flowering			Период на зреене
	Начало/Onset	Пълен/Full	Край/End	Ripening time
‘Zlatka’	15th of April	18th of April	23rd of April	22nd of August
‘Mildora’	15th of April	18th of April	23rd of April	26th of August
‘Krina’	16th of April	19th of April	24th of April	2nd of September
‘Čačanska Rodna’	16th of April	19th of April	24th of April	25th of August

Въз основа на представените данни в Таблица 2, очевидно е, че най-голямото средно тегло и размери са отчетени при стандартния сорт „Чачанска родна“ (тегло на плода – 34.63±1.15 g; дължина на плода– 46.02 mm; широчина

Based on the data presented in Table 2, it is evident that the largest average fruit weight and dimensions were recorded by the standard cultivar ‘Čačanska Rodna’ (fruit weight – 34.63±1.15 g; fruit length – 46.02 mm; width – 37.0±0.63 mm and thickness –

37.0±0.63 mm и дебелина – 33.75±0.38 mm), докато най-ниските стойности на тези параметри са установени при сорт "Златка" (тегло на плода – 22.11±0.39 g; дължина на плода – 37.30±0.16 mm; широчина – 28.65±0.16 mm и дебелина – 28.95±0.12 mm). Откритите различия в сравнение със стандартния сорт са статистически значими при всички изследвани генотипи.

33.75±0.38 mm), while the lowest values of these parameters were found in the 'Zlatka' cultivar (fruit weight – 22.11±0.39 g; fruit length–37.30±0.16 mm; width – 28.65±0.16 mm and thickness – 28.95±0.12 mm). The detected divergences compared to the standard cultivar were statistically significant in all of the studied genotypes.

Таблица 2. Физически характеристики на плодове на изследваните сливови сортове
Table 2. Physical properties of fruit of studied plum cultivars

	Плод/Fruit				Тегло на костилка Stone weight (g)	Процент месеста част Flesh percentage (%)
	Тегло Weight (g)	Дължина Length (mm)	Широчина Width (mm)	Дебелина Thickness (mm)		
'Zlatka'	22.11±0.39 d	37.30±0.16 d	28.65±0.16 d	28.95±0.12 d	1.50±0.01 a	93.23±0.08 c
'Mildora'	24.10±0.36 c	35.67±0.24 c	33.35±0.16 b	30.42±0.14 b	0.99±0.00 c	95.91±0.01 a
'Krina'	27.64±0.32 b	41.25±0.22 b	32.25±0.19 c	29.77±0.11 c	1.35±0.33 b	95.12±0.15 b
'Čačanska Rodna'	34.63±1.15 a	46.02±0.63 a	35.76±0.34 a	33.75±0.38 a	1.32±0.04 b	96.17±0.05 a

Различните малки букви прибавени към колоните показват значими разлики при $P \leq 0.05$ след приложен *LSD* тест.
The different lower-case letters assigned to columns show significant differences for $P \leq 0.05$ after applying *LSD* test.

Най-голямото средно тегло на костилка е установено при плодовете на сорт "Златка" (1.50±0.01 g), в сравнение със сорт „Милдора", който има най-малкото тегло на костилката (0.99±0.00 g). По отношение на този параметър, не са установени статистически значими разлики само между „Крина" и стандартния сорт. Най-голям дял на месестата част е установен при стандартния сорт (96.17±0.05 %) и сорт „Милдора" (95.91±0.01%), докато значително по-дял е отчетен при сортове „Крина" (95.12±0.15%) и "Златка" (93.23±0.08%).

The highest average stone weight was found in fruits of the 'Zlatka' cultivar (1.50±0.01 g), as opposed to the 'Mildora' cultivar, which had the lowest stone weight (0.99±0.00 g). Concerning this parameter, statistically significant differences were not established only between 'Krina' and standard cultivar. The highest fruit flesh ratio was established in the standard cultivar (96.17±0.05 %) and 'Mildora' cultivar (95.91±0.01%), whereas a significantly lower fruit flesh ratio was recorded in the 'Krina' (95.12±0.15%) and 'Zlatka' (93.23±0.08%) cultivars.

Стойностите на индивидуалните химически параметри на изследваните сливови генотипи са показани в Таблица 3. Значими различия са установени при сравняване на съдържанието на разтворими сухи вещества в плодовете на изследваните сливови генотипи. Най-високо съдържание на разтворими сухи вещества е установено при сорт „Милдора“ (22.97±0.30%), като единствен сорт, с по-ниска стойност на този параметър, спрямо стандарта е сорт "Златка", с най-ниско съдържание на разтворими сухи вещества (16.35±0.22%). Най-високото съдържание на общи захари и инвертни захари в плодовете е установено при сорт "Милдора" (13.55±0.13; 8.21±0.41), докато най-ниската стойност на този параметър е установена при сорт "Златка" (9.85±0.51%; 6.32±0.12%). Разликите, които са установени по отношение на стандартния сорт са значими само при сорт "Златка". Въпреки че съдържанието на захароза в плодовете на изследваните сливови сортове варира между 4.74±0.17 („Милдора“) и 3.71±0.43 ("Златка"), разликите не са статистически значими. По-високото съдържание на общи киселини е характерно за плодовете на сортове "Златка" (1.03±0.01) и „Чачанска родна“ (1.02±0.03), а по-ниско е при плодовете на сортове „Милдора“ (0.58±0.02) и „Крина“ (0.66±0.02).

The values of individual chemical parameters in the examined plum genotypes are shown in Table 3. Significant differences were established comparing the examined plum genotypes in the content of soluble solids in their fruits.

The highest soluble solids content was found in the ‘Mildora’ cultivar (22.97±0.30%), whereas the ‘Zlatka’ cultivar had the lowest soluble solids content (16.35±0.22%), as the only cultivar with a lower value of this parameter than the standard cultivar. The highest content of the total sugars and invert sugars in the fruit was found in the ‘Mildora’ cultivar (13.55±0.13; 8.21±0.41), while the lowest value of this parameter was established in the ‘Zlatka’ cultivar (9.85±0.51%; 6.32±0.12%). The divergences that have been established in relation to the standard cultivar in this respect were significant only for the ‘Zlatka’ cultivar. Although the sucrose content in the fruits of the studied plum cultivars ranged between 4.74±0.17 (‘Mildora’) and 3.71±0.43 (‘Zlatka’), the differences were not statistically significant. A higher level of total acids content was typical for the fruits of the ‘Zlatka’ (1.03±0.01) and ‘Čačanska Rodna’ (1.02±0.03) cultivars, while it was lower in the fruits of the ‘Mildora’ (0.58±0.02) and ‘Krina’ (0.66±0.02) cultivars. The highest pH value of the fruit

Най-високото ниво на pH на плодовия сок е установено при сортове „Милдора“ (3.91±0.02) и „Крина“ (3.81±0.03), докато най-ниската стойност на този параметър е установена при сорт "Златка" (2.86±0.01).

juice was established in the ‘Mildora’ (3.91±0.02) and ‘Krina’ (3.81±0.03) cultivars, while the lowest value of this parameter was found in the ‘Zlatka’ cultivar (2.86±0.01).

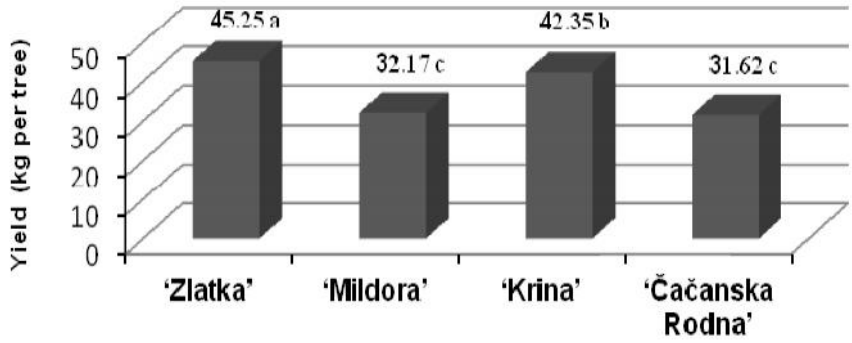
Таблица 3. Химически характеристики на плодове на изследваните сливови сортове
Table 3. Chemical properties of fruit of studied plum cultivars

	рсв/SSC*	Общи захари Total sugars (%)	Инвертни захари Invert sugars (%)	Захароза Sucrose (%)	Общи киселини Total acids (%)	pH
‘Zlatka’	16.35±0.22 d	9.85±0.51 c	6.32±0.12 c	3.71±0.43 a	1.03±0.01 a	2.86±0.01 c
‘Mildora’	22.97±0.30 a	13.55±0.13 a	8.21±0.41 a	4.74±0.17 a	0.58±0.02 b	3.91±0.02 a
‘Krina’	22.10±0.28 b	11.05±0.56 b	7.13±0.14 bc	4.31±0.30 a	0.66±0.02 b	3.81±0.03 a
‘Čačanska Rodna’	17.62±0.25 c	12.35±0.37 ab	7.77±0.28 ab	3.95±0.11 a	1.02±0.03 a	3.46±0.04 b

РСВ* Съдържание на разтворими сухи вещества
Различните малки букви прибавени към колоните показват значими разлики при $P \leq 0.05$ след приложен *LSD* тест.
SSC* Soluble solids content
The different lower-case letters assigned to columns show significant differences for $P \leq 0.05$ after applying *LSD* test.

В периода на изследване, сорт "Златка се откроява като генотип с най-висок добив, средно 45.25±0.16 kg от дърво, следван от сорт "Крина" със среден добив от 42.35±0.60 kg от дърво, докато значително по-нисък добив е установен като характерен за сорт „Милдора“ (32.17±0.17 kg от дърво) и стандартния сорт „Чачанска родна“ (31.62±1.72 kg от дърво) (Фугура 1).

During the trial period, the ‘Zlatka’ cultivar stood out as the genotype with the highest yield, with an average yield of 45.25±0.16 kg per tree, followed by the ‘Krina’ cultivar with an average yield of 42.35±0.60 kg per tree, while considerably lower yield was established as typical for the ‘Mildora’ cultivar (32.17±0.17 kg per tree) and the standard ‘Čačanska Rodna’ cultivar (31.62±1.72 kg per tree) (Figure 1).



Фиг. 1 Добив от дърво от изследвани сортове сини сливи
Fig. 1. Yield per tree of studied plum cultivars

Различните малки букви прибавени към колоните показват значими разлики при $P \leq 0.05$ след приложен *LSD* тест.
The different lower-case letters show significant differences for $P \leq 0.05$ after applying *LSD* test

Началото и развитието на фенофаза на цъфтежа при разглежданите сливови сортове съответства на многогодишните стойности, посочени за агроекологичните условия на Чачак и околния район (Milošević, 2002; Ogašanović et al., 2005; Glišić et al., 2013). Резултатите свързани с времето на узряване на изследваните сливови генотипи също са в съответствие с резултатите публикувани по-рано от Milenković et al. (2006) и Glišić et al. (2016). Времето на узряване и продължителността на периода за развитие на плода са генотипно специфични характеристики (García-Mariño et al., 2008) от групата на количествените наследствени характеристики (Dirlewanger et al., 2004), което означава, че те до известна степен зависят от условията на отглеждане и силата на добивния потенциал (Nenadović-Mratinić et al., 2007). Имайки предвид значението на периода

The onset and progress of the flowering phenophase in the plum cultivars under consideration was in accordance with the many-year means quoted for the agro-ecological conditions of Čačak and the neighbouring region (Milošević, 2002; Ogašanović et al., 2005; Glišić et al., 2013). The results related to the ripening time of the studied plum genotypes were also in accordance with the results previously published by Milenković et al. (2006) and Glišić et al. (2016). The ripening time and the length of the fruit development period are a genotype-specific characteristic (García-Mariño et al., 2008) and belong to the group of the quantitative hereditary features (Dirlewanger et al., 2004), which means that they are to a certain extend dependent on the cultivation conditions and intensity of yield potential (Nenadović-Mratinić et al., 2007). Knowing the importance of the ripening period

на зреене и широко разпространената практика на предпочитане на ранни и късно зреещи генотипи (Neumüller, 2011; Paunović et al., 2011), няма съмнение че сортове „Милдора“ и „Крина“ имат потенциал както за отглеждане, така и за включване в бъдещи селекционни програми.

Изследваните генотипи сливи могат да бъдат категоризирани в групата на сортове със средно едри плодове (Mišić, 1996). Получените стойности са в съответствие с предишни резултати публикувани от Ogašanović et al. (1996), Ogašanović et al. (2005) и Glišić et al. (2011). Добре известен е фактът, че освен от генетичната основа, теглото на плода е пряко повлияно от изобилието на добива (Dragoyski et al., 2009), което също е потвърдено от нашето проучване. Сортове със склонност към алтернативен добив (Milenković et al., 2006), като "Крина и стандартния „Чачанска родна“ отчитат значително по-високо тегло на плода, в сравнение със "Златка" и „Милдора“, които в същото време отчитат най-ниски добиви.

Смята се, че високото качество на плода и неговия добър вкус са свързани със съдържанието на разтворими сухи вещества, които в европейските сливи варират между 12% и 32%, което показва положително съотношение с времето

and considering the widespread practice of favouring the early and late ripening genotypes (Neumüller, 2011; Paunović et al., 2011), there can be no doubt that cultivars ‘Mildora’ and ‘Krina’ have a potential both for growing and future plum breeding programmes.

The studied plum genotypes can be categorised within the group of middle-sized fruit cultivars (Mišić, 1996). The obtained values are in line with the previously published results Ogašanović et al. (1996), Ogašanović et al. (2005) and Glišić et al. (2011).

It is well known that apart from the genetic base, the fruit weight is also directly affected by the abundance of yield (Dragoyski et al., 2009), which has also been confirmed by our study. As cultivars with inclination to alternative yield (Milenković et al., 2006), both ‘Krina’ and standard cultivar ‘Čačanska Rodna’ recorded a significantly higher fruit weight compared to ‘Zlatka’ and ‘Mildora’ cultivars, while at the same time recording the lowest yields.

It is believed that the high fruit quality and its good flavour are related to the soluble solids contents present in the fruit, which in European plums ranges between 12% and 32%, demonstrating a positive correlation with the ripening time

на узряване (Neumüller, 2010). Резултатите от нашето изследване потвърждават наличието на подобно съотношение. Всички изследвани сортове сливи отчита по-високо съдържание на разтворими сухи вещества от 12%, което се счита за гранична стойност за приемане на един сорт от потребителите (Crisosto et al., 2004). Общоизвестно е, че по-късно зреещите сортове трябва да имат съдържание на разтворими сухи вещества поголямо от 17% (Neumüller, 2010). Очевидно е, че сорт "Златка" не отговаря на този критерий – обаче, благодарение на привлекателния златистожълт цвят на кожицата, има интерес към него като десертен сорт, както и за преработка в компоти и сладка, което подчертава облика на всички сливови плодове. За да се окачествят за целите на сушене, сортовете сливи трябва да притежават съдържание на разтворими сухи вещества повече от 18% (Ognjanov et al., 2007). „Милдора“ и „Крина“ са сортове, които се открояват като обещаващи по този конкретен аспект за потенциална употреба. Освен, че имат високо съдържание на разтворими сухи вещества, техните плодове не се пукат по време на сушене, поради което няма изтичане на плодов сок, а костилката е отделяща се. Стойностите на отделните параметри на химическия състав на плода са в съответствие с

(Neumüller, 2010). The results of our research have confirmed the presence of this correlation.

All of the examined plum cultivars recorded a higher soluble solids content of 12.0%, which is considered as the border value for acceptance of a cultivar by the consumers (Crisosto et al., 2004). It is generally known that later-ripening cultivars ought to have soluble solids content in excess of 17% (Neumüller, 2010).

It is apparent that the ‘Zlatka’ cultivar does not comply with this criterion – however, owing to its attractive golden yellow colour of skin, it is interesting as a dessert cultivar, as well as for processing into a compote and sweet, which highlight the appearance of the whole plum fruit. In order to qualify for drying purposes, plum cultivars ought to possess the soluble solids contents exceeding 18% (Ognjanov et al., 2007).

‘Mildora’ and ‘Krina’ are the cultivars which stand out as promising from this particular aspect of potential use. In addition to having high soluble solids content, their fruits do not break during drying and there is no leakage of fruit juice, while the stone is free.

The values of individual parameters of the fruit chemical composition were in line with the

резултатите посочени от Mišić (1996) за сливови сортове от европейски произход, както и с резултатите посочени от Ogašanović et. al., (1996), Milenković et al., (2006) и Mitrović et al. (2006) за сортове сливи разработени в Чачак.

results stated by Mišić (1996) for plum cultivars of European origin, as well as with results quoted by Ogašanović et. al., (1996), Milenković et al., (2006) and Mitrović et al. (2006) for plum cultivars developed in Čačak.

ИЗВОДИ

Въз основа на резултатите от двугодишното изследване могат да се направят следните заключения:

- Изследваните сортове сливи не показват значими различия по отношение на началото и развитието на фенофаза на цъфтежа, или сравнени помежду си или спрямо стандартния сорт „Чачанска родна“;
- Плодовете на сорт "Златка" имат по-ранен срок на зреене, докато плодовете на сортове „Милдора“ и „Крина“ отчитат по-късен срок на зреене, в сравнение със сорт „Чачанска родна“;
- Стандартният сорт „Чачанска родна“ показва най-високи стойности за тегло на плода и определени размери на плода;
- Най-високото съдържание на разтворими сухи вещества, общи и инвертни захари и захароза в плодовете са отчетени при сорт „Милдора“;
- Най-високото съдържание на общи киселини и най-ниска стойност на pH на плодовия сок са установени при сорт "Златка";

CONCLUSIONS

The following conclusions can be made based on the results of the two-year research:

- The studied plum cultivars did not reveal considerable differences concerning the onset and progress of flowering phenophase, either compared to each other or compared to the standard ‘Čačanska Rodna’ cultivar;
- Fruits of the ‘Zlatka’ cultivar had an earlier ripening time, whereas fruits of the ‘Mildora’ and ‘Krina’ cultivars recorded a later ripening time compared to the ‘Čačanska Rodna’ cultivar;
- The standard cultivar ‘Čačanska Rodna’ demonstrated the highest values of fruit weight and certain fruit dimensions;
- The highest content of soluble solids, total and invert sugars and sucrose in fruit were recorded in the ‘Mildora’ cultivar;
- The highest content of total acids and the lowest pH value of fruit juice was found in the ‘Zlatka’ cultivar;

- Най-висок добив е постигнат при сорт "Златка".

По отношение на късния срок на зреене на плодовете, както и устойчивост към вируса на шарка, високия добив и благоприятен химически състав на плода, се очаква, че изследваните сортове сливи предназначени за преработка, ще увеличават дела си в бъдещото производство на сливи. Освен това, от тях се очаква да осигурят изходен материал за бъдещи селекционни програми.

- The highest yield was produced by the 'Zlatka' cultivar.

Considering the late ripening time of its fruits, as well as the tolerance to the Sharka virus, high yield and favourable chemical composition of the fruit, it is expected that the studied plum cultivars intended for processing, will have a growing share in the future production of plums. In addition to this, they are expected to provide initial material for future breeding programmes of plum.

БЛАГОДАРНОСТИ

Този труд е подкрепен от субсидия на Министерството на образованието, науката и технологичното развитие на Република Сърбия, Проект № 31064.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work is supported by the grant of Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Project No 31064.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Crisosto C.H., Garner D., Crisosto G.M., Bowerman E.** Increasing 'Blackamber' plum (*Prunus salicina* Lindley) consumer acceptance. *Postharvest Biology and Technology*, 2004, No 34, pp. 237-244.
2. **Dirlewanger E., Graziano E., Joobeur T., Garriga-Caldere F., Cosson P., Howad W., Arús P.** Comparative mapping and marker-assisted selection in *Rosaceae* fruit crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, No 101, pp. 9891-9896.
3. **Dragoyski K., Dinkova H., Stefanova B., Mihailova P**. Evaluation of plum cultivars suitable for sustainable fruit production in the mountain regions of Bulgaria. *Journal of Pomology*, 2009, 43, No 165/166, pp. 37-43.
4. **FAOSTAT** FAO Statistics Division. http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor, 2015.
5. **Glišić I., Karaklajić-Stajić Ž., Paunović S.A., Lukić M.** Plum cultivars Zlatka and Pozna Plava (*Prunus domestica* L.) bred at the Fruit Research Institute in Čačak. *Horticultural Science*, 2016, 43, No 1, pp. 10-16.
6. **García-Mariño N., de la Torre F., Matilla A.J.** Organic acids and soluble sugars in edible and nonedible parts of damson plum (*Prunus domestica* L. subsp. *insititia* cv. Syriaca) fruits during development and ripening. *Food Science and Technology International*, 2008, No 14, pp. 187-193.

7. **Glišić I.P., Glišić I.S., Mitrović M., Milošević T.** Biološko-pomološke i proizvodne osobine sorte 'Timočanka'. *Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik*, 2013, 19, No 5, pp. 29-38.
8. **Glišić I.S., Karaklajić-Stajić Ž., Mitrović O.** Fenološko-pomološke osobine i organoleptička ocena ploda novih sorti šljive 'Zlatka' i 'Pozna plava' u agroekološkim uslovima Čačka. *Voćarstvo*, 2011, 45, No 173/174, pp. 15-22.
9. **Lukić M., Glišić I. S., Karaklajić-Stajić Ž., Milošević N., Radičević S., Pešaković M., Đorđević M.** Novi rezultati oplemenjivanja voćaka u Institutu za voćarstvo, Čačak. *Zbornik radova XXI savetovanja o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem*, 2016, pp. 223-231.
10. **Milatović D., Đurović D., Zec G.** Evaluation of dessert plum cultivars in the region of Belgrade. *Programme and Abstract book of II Symposium of plum of Serbia with international participation, Čačak, Serbia*, 2011, pp. 30-31.
11. **Milenković S., Ružić Đ., Cerović R., Ogašanović D., Tešović Ž., Mitrović M., Paunović S., Plazinić R., Marić S., Lukić M., Radičević S., Leposavić A., Milinković V., Weber C.** Cultivars created at the Fruit Research Institute in Čačak and new cultivars of raspberry and blackberry for market of fresh and processed fruit, SRBIJA Institute for Agricultural Research, Belgrade: 2006, pp. 1-182.
12. **Milošević T.** Šljiva – tehnologija gajenja. *Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, Čačak*, 2002, pp. 1-167.
13. **Mišić P.** Šljiva, Partenon i Institut za istraživanja u poljoprivredi SRBIJA, Beograd, 1996, pp. 1-329.
14. **Mitrović O., Gavrilović-Damnjanović J., Popović B., Kandić M.** Karakteristike čačanskih sorti šljive pogodnih za sušenje. *Voćarstvo*, 2006, 40, No 155, pp. 255-261.
15. **Nenadović-Mratinić E., Milatović D., Đurović D.** Biološke osobine sorti šljive kombinovanih svojstava. *Voćarstvo*, 2007, 41, 157/158: 31-35.
16. **Neumüller M.** Breeding for *Plum pox virus* resistant rootstocks and plum cultivars in Germany. *Programme and Abstract Book II Symposium on plum of Serbia with International Participation, Čačak, Srbija*, 2011, pp. 18–19.
17. **Neumüller M.** Fundamental and applied aspects of plum (*Prunus domestica* L.) breeding. In: Flachowsky H., Hanke V.M. (Eds), 'Methods in temperate fruit breeding'. *Fruit, vegetable and cereal science and biotechnology, Global Science Books, Kagawa, Japan*, 2010, 5, No 1, pp. 139-154.
18. **Ogašanović D.** Selekcija šljive na visok sadržaj rastvorljivih suvih materija. *Voćarstvo*, 2000, 34, No 129/130, pp. 55-61.
19. **Ogašanović D., Ranković M., Nikolić M., Mitrović M., Stamenković S., Tešović Ž., Stanisavljević M., Papić V., Garić R., Plazinić R.** Nove sorte voćaka stvorene u Čačku. *Institut za istraživanja u poljoprivredi SRBIJA, Beograd*, 1996, pp. 202.
20. **Ogašanović D., Ranković M., Paunović S., Mitrović O., Stamenković S.** Mildora – nova sorta šljive za sušenje. *Voćarstvo*, 2005, 39, No 153, pp. 49-55.

21. **Ognjanov V., Ogašanović D., Milatović D., Paunović G., Milinković V., Radičević S.** Perspektivne sorte i podloge koštičavih vrsta voćaka. *Zbornik radova sa savetovanja o perspektivnim sortama i podlogama voćaka, Čačak, Srbija,* 2007, pp. 15-33.
22. **Paunović S., Jevremović D., Ranković M.** Reakcija nove sorte Mildora na različite sojeve virusa šarke. *Voćarstvo*, 2006, 40, No 155, pp. 209-217.

23. **Paunović S., Cerović R., Glišić I.S., Đorđević M., Milošević N.** New plum cultivars and promising hybrids developed at Fruit Research Institute Čačak. *Programme and Abstract Book II Symposium on plum of Serbia with International Participation, Čačak, Srbija*, 2011, pp. 24-25.
24. **Urošević I.** (2015): Uticaj sojeva selekcionisanog kvasca i hraniva u fermentaciji na hemijski sastav na i senzorne karakteristike voćnih rakija. *Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu*, 2015, pp. 1-225.
25. **Wertheim S.J.** Methods for cross pollination and flowering assessment and their interpretation. *Acta Horticulturae*, 1996, No 423, pp. 237-241.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 3, 2016, (131-146)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

Сортове „Округлица“ и „Валйевка“ подходящи за производство на сливова ракия**

Бранко Попович[1]*, Нинослав Никичевич[2], Веле Тешевич[3], Олга Митрович[1], Миодраг Кандич[1], Небойша Милошевич[1], Ивана С. Глишич[1]

[1] Изследователски институт по овощарство, Чачак, Република Сърбия
[2]Аграрен факултет, Nemanjina 6, 11080 Zemun, Белград, Сърбия
[3]Химически факултет, Studentski trg 12-16, 11000 Белград, Сърбия
**Email: popovicb@ftn.kg.ac.rs*

Okruglica and Valjevka as cultivars appealing for plum brandy production**

Branko Popović[1*], Ninoslav Nikićević[2], Vele Tešević[3], Olga Mitrović[1], Miodrag Kandić[1], Nebojša Milošević[1], Ivana S. Glišić[1]

[1]Fruit Research Institute, Kralja Petra I 9, 32000 Čačak, Serbia
[2]Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, 11080 Zemun, Serbia
[3]Faculty of Chemistry, Studentski trg 12-16, 11000 Belgrade, Serbia

**Оригинална научна статия, изследванията са субсидирани от Министерство на образованието и науката на Република Сърбия (Проект TR 31093).
**Original scientific paper; the studies were subsidized by Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia (Project TR 31093).

РЕЗЮМЕ

Статията представя резултатите от газ-хроматографски анализ на основни летливи компоненти в сливови ракии произведени по традиционни методи, от плодове на сортовете "Округлица" и "Валйевка": метанол, 8 висши алкохола, 3 мастни киселини, 10 естера и 2 алдехида. Сензорната оценка на произведените сливови ракии е извършена по метода на Буксбаум.

Въз основа на получените резултати може да се направи заключение, че сливовите ракии произведени от двата сорта удовлетворяват изисква-

SUMMARY

The paper presents the results of the gas-chromatography analysis of the major volatile components of plum brandies produced using traditional methods from fruits of Okruglica and Valjevka cultivars: methanol, 8 higher alcohols, 3 fatty acids, 10 esters and 2 aldehydes. The sensory appraisal of the produced plum brandies was conducted using the Buxbaum method.

Based on the obtained results it can be concluded that while the plum brandies produced from both cultivars satisfy the requirements of the EU regulations

ниятa на регламентите на ЕС (свързани със съдържанието на метанол и съдържанието на общи летливи съставки), те също така се различават по съдържание на определени тествани компоненти, като по този начин отразяват различни сензорни качества, допринасящи за тяхната привлекателност при производството на ракии с отличителни сортови и типични за региона характеристики.

Ключови думи: сливи, сортове, сливова ракия, летливи компоненти, сензорни характеристики

(related to the methanol content and content of total volatile components), they also differ in the content of certain tested components, thereby featuring different sensory qualities which contribute to their appeal for production of brandies with distinctive cultivar and region-typical characteristics.

Key words: plum, cultivars, plum brandies, volatile components, sensory characteristics

УВОД

Освен сортовете, които широко присъстват в сливовите градини в Сърбия ("Пожегача", "Црвена ранка", "Стенлей", "Чачанска родна", "Чачанска лепотица") и съставляват стандартна суровина за производство на ракия, има редица сортове с ограничено местно производство и по-малък дял в цялостния асортимент, които също се използват за производство на сливова ракия. Един от тях е местният сорт "Округлица" (известен още като Драгачица, Ранка, Ранков, Метлаш), който се отглежда традиционно в района около Чачак и се използва само за преработване в ракия. Той е толерантен към вируса на шарка и плодовете му са дребни (около 16 g). Костилката не се отделя от плодовото месо. Преработва се във висококачествена ракия (Mišić, 1996; Nikićević and Tešević, 2010). "Валйевка" е сливов сорт създаден в Изследователски институт

INTRODUCTION

In addition to cultivars that are widely present in plum orchards throughout Serbia (Požegača, Crvena ranka, Stanley, Čačanska rodna, Čačanska lepotica) and constitute the standard raw material for brandy production, there is also a number of cultivars with a limited local production and a smaller share in the overall assortment being used for the production of plum brandy as well. One of these cultivars is the indigenous Okruglica cultivar (also known as Dragačica, Ranka, Rancov, Metlaš), which is traditionally grown only in the area around Čačak and is solely used for processing into brandy. It is tolerant to the plum sharka virus and produces small fruits (around 16 g). With the mesocarp firmly attached to the stone, it is processed into high-quality brandy (Mišić, 1996; Nikićević and Tešević, 2010). Valjevka is a plum cultivar created at the Fruit Research Institute in Čačak (by

по овощарство в Чачак (при кръстосване на сортове "Аген 707" и "Стенлей"), който в малкото райони, в които е отглеждан – основно в Чачак и Валйево – се използва най-вече за сушене и преработка в ракия. Сортът е толерантен към вируса на шарка. Със средно едри плодове (около 30 g) и мезокарп, който се отделя лесно от костилката, той се преработва във висококачествена ракия (Mišić, 1996; Nikićević and Tešević, 2010).

Въпреки, че производителите на ракия в района на Чачак имат определен опит в преработването на двата сорта сливи, не е извършена точна характеристика на получените едносортови ракии. Така целта на настоящата статия е да изследва съдържанието на повече значими летливи компоненти и сензорното качество на ракиите получени от сортове "Округлица" и "Валйевка", чрез традиционни методи, които включват преработване на цели плодове с костилките, спонтанна алкохолна ферментация и двойна дестилация в традиционен меден съд (аламбик).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Плодовете на разглежданите сортове сливи са от овощни градини по склоновете на планина Йелица, близо до Чачак. Плодовете са прибрани във фаза на пълна зрялост, т.е. на 31-ви юли ("Округлица") и 25-ти

crossing Agen 707 and Stanley cultivars), which in the few areas where it is grown – almost exclusively in the Čačak and Valjevo regions – is mostly used for drying and processing into brandy. The cultivar is tolerant to the sharka virus. With a medium large fruit (around 30 g) and mesocarp which is easily detached from the stone, it is processed into high-quality brandy (Mišić, 1996; Nikićević and Tešević, 2010).

Although brandy producers in the region of Čačak possess certain experiences in the processing of these two plum cultivars, no precise characterisation of the obtained monovarietal brandies has been conducted. Therefore the purpose of this paper was examine the content of the more significant volatile components and the sensory quality of the brandies obtained from the Okruglica and Valjevka cultivars using traditional methods which imply processing whole fruits with stones, spontaneous alcoholic fermentation and double distillation in traditional copper pot still (alembic).

MATERIAL AND METHODS

Fruits of the plum cultivars under consideration were taken from commercial orchards on the slopes of the Jelica mountain near Čačak. The fruits were harvested at full ripeness, i.e. on 31st July (Okruglica) and 25th August

август ("Валйевка"), с типичните за сорта характеристики. "Округлица" има маса на плода от 16.2 g, със съотношение между костилка-плод възлизащо на 8.22% и със съдържание на сухи разтворими вещества от 19.2%; "Валйевка" има маса на плода 29.8 g, съотношението костилка-плод е 4.66%, а съдържанието на сухо разтворимо вещество възлиза на 20.9%. Полиетиленови съдове са пълнени с 180 kg цели плодове от сливи (в 2 повторения за всеки сорт). Спонтанната алкохолна ферментация на сливите се извършва в затворени съдове, като се използва епифитна микрофлора, при температура от 25±3 ºC. Алкохолната ферментация продължава 10 дни (при сорт "Округлица", крайното съдържание на сухо разтворимо вещество в плодовата каша е 9.0%) и 25 дни (при сорт "Валйевка", крайното съдържание на сухо разтворимо вещество в плодовата каша е 11.7%). Дестилацията на ферментиралата каша е извършена в традиционен съд – аламбик (вместимост 100 l) веднага след ферментацията, произвежда се сурова ракия с етанолово съдържание между 22 и 25 vol%. Повторната дестилация на суровата ракия от двата сорта е извършена като е използван същия дестилационен апарат с разделяне на фракции: 1% – първак, средна фракция (с 55-56 vol% етанол) и патоки. Само

(Valjevka), featuring typical cultivar-specific characteristics. Okruglica had a fruit mass of 16.2 g, with stone-fruit ratio amounting to 8.22% and with dry solubles content of 19.2%; Valjevka had the fruit mass of 29.8 g, the stone-fruit ratio of 4.66% and the content of dry soluble matter amounting to 20.9%.

Polyethylene vessels were filled with 180kg of whole plum fruits (in 2 replications for each cultivar). Spontaneous alcoholic fermentation of the plums was conducted in closed vessels, using epiphytic microflora, at the temperature of 25±3 ºC.

The alcoholic fermentation lasted for 10 days (in Okruglica cultivar, the final content of the dry soluble matter in the fruit mashes was 9.0%), i.e. 25 days (in Valjevka cultivar, the final content of the dry soluble matter in the fruit mashes was 11.7%). Distillation of the fermented mashes, was performed in traditional alembic (capacity 100 l) immediately after fermentation, produced raw soft brandies, with ethanol content in the range between 22 and 25 vol%.

Redistillation of raw soft brandies from both cultivars was performed using the same distillation apparatus and with separation of the fractions: 1% of the head, middle fraction (with 55-56 vol% of ethanol) and tail. Only the middle

средната фракция се из-ползва за по-нататъшен анализ.

Газовохроматографските методи за количествено определяне на леките летливи компоненти (метанол, 1-пропанол, 1-бутанол, 2-метил-1-пропанол, 2-метил-1-бутанол, 3-метил-1-бутанол, етил ацетат, изоамил ацетат, етил бутаноат, етил хексаноат, етил октаноат, ацеталдехид и бензалдехид) и тежките летливи компоненти (2-фенилетанол, 1-хексанол, капронова киселина, каприлова киселина, каприновa киселина, етил деканоат, етил додеканоат, етил тетрадеканоат, диетил сукцинат и етил лактат) в проби на сливови ракии са описани в предишна наша статия (Popović et al., 2009). Сензорният анализ на пробите от сливова ракия е извършен по модела на Буксбаум за положително класиране (Popović et al., 2009).

fraction was used for further analysis.

Gas chromatography methods for quantitative determination of light volatile components (methanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol, ethyl acetate, isoamyl acetate, ethyl butanoate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate, acetaldehide and benzaldehide) and heavy volatile components (2-phenylethanol, 1-hexanol, hexanoic acid, octanoic acid, decanoic acid, ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, ethyl tetradecanoate, diethyl succinate and ethyl lactate) in samples of plum brandies were described in our previous paper (Popović et al., 2009). The sensory analysis of plum brandy samples was conducted by the Buxbaum model of positive ranking (Popović et al., 2009).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Таблица 1 показва резултатите от газ-хроматографския анализ на сливовите ракии, получени от сортовете "Округлица" и "Валйевка". Като се има предвид, че дестилацията на ферментиралата плодова каша се извършва веднага след пълната ферментация, двата вида ракии съответстват на законодателството на ЕС, в което се посочва, че метаноловото съдържание в ракията не трябва да превишава 12000 mg/l a.a. Неза-

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the results of gas-chromatographic analysis of the plum brandies obtained from the Okruglica and Valjevka cultivars. Considering that the distillation of the fermented fruit mashes were performed immediately upon completed fermentation, both brandies comply with the EU legislation stipulating that the methanol content in brandies must not exceed 12000 mg/l a.a.

висимо от факта, че различни автори (Paunović, 1991) получават противоречиви резултати по отношение на въздействието оказано от продължителността на алкохолната ферментация върху съдържанието на метанол в ракията, може да се предположи, че по-продължителната алкохолна ферментация на сливи сорт "Валйевка", в сравнение с плодовете на сорт "Округлица", води до по-високо съдържание на този неблагоприятен компонент в ракията. Следователно, не може да се направи заключение дали по-високото съдържание на метанол в ракията е специфична сортова характеристика на "Валйевка", в сравнение с "Округлица". Това предположение по-нататък е подкрепено от откритието, че ракията произведена от "Округлица" по традиционния начин, чрез използване на плодова каша, която не е дестилирана веднага след ферментацията, но понякога и няколко месеца след нейното приключване, се характеризира с прекомерно съдържание на метанол от 12000 mg/l a.a. (Stojanovska, 1982), с потенциално неблагоприятно въздействие върху ракията. Съдържанието на общи летливи компоненти (с изключение на метанол) при двата вида изследвана ракия (5644 mg/l a.a – "Округлица", 5829 mg/l a.a. – "Валйевка") съответства на изискванията на ЕС (min 2000 mg/l a.a.).

Regardless of the fact that various authors (Paunović, 1991) obtained contradictory results regarding the impact made by length of duration of alcoholic fermentation on the methanol content in the brandy, it may be assumed that the longer alcoholic fermentation of the Valjevka cultivar plum fruits compared to fruits of the Okruglica cultivar resulted in the higher content of this adverse component in the brandy.

Therefore, it cannot be inferred whether a higher methanol content in the brandy can be treated as a cultivar-specific trait of the Valjevka cultivar, compared to Okruglica.

This assumption is further supported by the findings that brandies produced from Okruglica in a traditional way, using fruit mashes which were not distilled immediately upon fermentation, but sometimes several months following its completion, were sometimes characterised by the methanol content in excess of 12000 mg/l a.a. (Stojanovska, 1982), with a potential adverse safety effect upon the brandy.

The content of total volatile components (excluding methanol) in both of the examined brandies (5644 mg/l a.a – Okruglica, 5829 mg/l a.a. – Valjevka) complies with the EU requirements (min 2000 mg/l a.a.).

Таблица 1. Газ-хроматографски анализ на най-важните летливи компоненти на сливова ракия получена от сливови сортове „Округлица“ и „Валйевка“ (mg/l a.a.)

Table 1. Gas chromatographic analysis of the most important volatile components of plum brandies obtained from Okruglica and Valjevka plum cultivars (mg/l a.a.)

Летлив компонент Volatile component	Округлица Okruglica	Валйевка Valjevka
Метанол/Methanol	5100	7433
1-пропанол/1-propanol	834	1592
1-бутанол/1-butanol	24	25
2-бутанол/2-butanol	15	98
2-метил-1-пропанол/2-methyl-1-propanol	935	310
2-метил-1-бутанол/2-methyl-1-butanol	630	211
3-метил-1-бутанол /3-methyl-1-butanol	2455	825
1-хексанол/1-hexanol	22	31
2-фенилетанол/2-phenylethanol	59	22
Висши алкохоли (общо)/Higher alcohols (Total)	4974	3114
Етил ацетат/Ethyl acetate	157	1256
Етил бутират/Ethyl butyrate	1	1
Етил хексаноат/Ethyl hexanoate	1	3
Етил октаноат/Ethyl octanoate	4	11
Етил деканоат/Ethyl decanoate	5	12
Етил додеканоат/Ethyl dodecanoate	4	3
Етил тетрадеканоат/Ethyl tetradecanoate	2	1
Етил лактат/Ethyl lactate	299	1082
Изоамил ацетат/Isoamyl acetate	2	2
Диетил сукцинат/Diethyl succinate	7	3
Естери (Общо)/Esters (Total)	482	2374
Естери (Общо – Етил ацетат – етил лактат) Esters (Total – Ethyl acetate – Ethyl lactate)	26	36
Капронова киселина/Hexanoic acid	8	12
Каприлова киселина/Octanoic acid	24	36
Капринова киселина/Decanoic acid	26	60
Киселини (Общо)/Acids (Total)	58	108
Ацеталдехид/Acetaldehyde	94	204
Бензалдехид/Benzaldehyde	36	29
Летливи компоненти (Общо – метанол) Volatile components (Total – Methanol)	5644	5829

Интересно е да се наблюдава, че характеристиките на плодовете на разглежданите сортове сливи имат значимо въздействие върху алкохолната ферментация, при условията на традиционна спонтанна такава

It is interesting to observe that the characteristics of fruits belonging to the plum cultivars under consideration make a significant impact on alcoholic fermentation in the conditions of the traditional spontaneous

на цели плодове. При достигане на етап на пълна зрялост, плодовете на сорт "Округлица" са подчертано сочни и поради своята тънка кожица лесно освобождават сока, което позволява бързо стартиране на алкохолната ферментация, бързо образуване на елипсоидни дрожди преобладаващи в плодовата каша, както и бързо приключване на ферментацията (цялостната продължителност на ферментацията е 10 дни). От друга страна, плодовете на сорт "Валйевка", отглеждан в района на Чачак, обичайно са много сухи при достигане на пълна зрялост, липсва сок и са със сравнително дебела и жилава кожица, която затруднява излизането на сок от плодовете и забавя началото на алкохолната ферментация, както и образуване на преобладаващи елипсоидни дрожди, което води до ферментация продължававаща 25 дни, която се контролира от продължителна и по-интензивна дейност на микроорганизми (апикулатни дрожди, оцетнокисели бактерии и млечнокисели бактерии) с възможно неблагоприятно въздействие, върху качеството на ракията. Именно тези характеристики на плодовете на сорт "Валйевка", които причиняват увеличаване на компонентите в ракията, могат да бъдат показател за наличие на нежелани микроорганизми в местната микрофлора при ферментация на цели плодове.

fermentation of whole fruits.

Upon reaching the full ripeness stage, fruits of the Okruglica cultivar are markedly juicy and owing to their thin skin, easily release the juice, enabling a fast onset of alcoholic fermentation, rapid establishment of ellipsoid yeasts dominance in the fruit mash, as well as fast completion of fermentation (the overall duration of fermentation being 10 days).

On the other hand, fruits of the Valjevka cultivar grown in the Čačak region are typically quite dry upon reaching full ripeness, lacking juiciness and with a relatively thick and tough skin, preventing the release of the juice from the fruits and slowing down the onset of alcoholic fermentation, as well as the establishment of the ellipsoid yeasts dominance, ultimately resulting in the fermentation (which lasted 25 days) being dominated by prolonged and more intense activity of microorganisms (apiculate yeasts, acetic acid bacteria and lactic acid bacteria) with a potential adverse impact on the brandy quality. It was due to these characteristics of the fruits of the Valjevka cultivar that caused an increase in the components of the brandy that may be an indicator of the presence of undesired microorganisms in the indigenous microflora at

рофлора при спонтанна ферментация. С други думи, ракията произведена от сорт "Валйевка" съдържа повече 1-пропанол (с 91%), 2-бутанол (с 533%), етилацетат (с 700%), етил лактат (с 262%), каприновa киселина (с 131%) и ацеталдехид (с 117%), в сравнение с ракията произведена от сорт "Округлица". Освен това и предвид факта, че дестилацията на ферментирали плодове се извършва веднага след завършване на ферментацията, съдържанията на тези компоненти в ракия произведена от сорт "Валйевка" остава на значително по-ниско ниво от онези, които Scholten и Kacprowski (1995) посочват като гранични нива, за възникване на неблагоприятни сензорни характеристики, т.е. поява на нечист и необичаен аромат в ракията. С други думи, наличието на определени предварително заявени компоненти в концентрациите наблюдавани в ракия от сорт "Валйевка", оказва благоприятно въздействие върху мириса и аромата на ракия: докато 1-пропанол придава на дестилата цветен аромат; етилацетатът допринася за плодовия тонус на аромата, а етил лактатът придава хубав и приятен аромат на висококачествените плодови ракии.

Като се има предвид факта, че традиционната спонтанна ферментация на сорт "Округлица" протича в най-топлия пери-

spontaneous fermentation. In other words, the brandy made from the Valjevka cultivar contained more 1-propanola (by 91%), 2-butanol (by 553%), ethyl acetate (by 700%), ethyl lactate (by 262%), decanoic acid (by 131%) and acetaldehyde (by 117%), compared to the brandy made from the Okruglica cultivar. Apart from this and considering the fact that the distillation of the fermented fruit mash was performed immediately upon completion of fermentation, the contents of these components in the brandy made from the Valjevka cultivar remain at a considerably lower level than the ones which Scholten and Kacprowski (1995) state as boundary levels for occurrence of adverse sensory characteristics, i.e. occurrence of impure and untypical brandy odour. In other words, presence of certain previously stated components in concentrations observed in the brandy from the Valjevka cultivar, make a favourable impact on the brandy odour and aroma: while 1-propanol gives the distillate the flowery odour, ethyl acetate contributes to the odour’s fruity tonus and ethyl lactate gives it the nice and enjoyable odour of high-quality fruit brandies.

Considering the fact that the traditional spontaneous fermentation of the Okruglica cultivar takes place in the warmest

од от годината (първата половина на август), бурната ферментация при малко по-високи температури (около 28 ºС) може да доведе до повишени нива на изоамил алкохоли (Moreno et al., 1988). Следователно се установи, че ракията произведена от сорт "Округлица" съдържа 3085 mg/l a.a изоамил алкохоли (сума от 2-метил-1-бутанол и 3-метил-1-бутанол), което е с 198% повече в сравнение с ракията получена от сорт "Валйевка". Тази висока концентрация на изоамил алкохоли може да има неблагоприятно въздействие върху сензорното качество на ракията, под формата на тежка фракция. Scholten и Kacprowski (1995) установяват този недостатък в ракия, която съдържа концентрации на изоамил алкохоли в интервала между 3000 и 5620 mg/l a.a. По-високото съдържание на общи по-висши алкохоли, 2-фенилетанол и диетил сукцинат в ракията от сорт "Округлица", в сравнение с ракия от сорт "Валйевка" може също да се дължи на малко по-високата температура на плодовата каша при алкохолната ферментация, тъй като според Moreno et al. (1988) тези компоненти са под силно изразеното въздействие на температурата на ферментиращата каша. Въпреки това, въздействието оказано от тези фактори върху качеството на ракия може да варира. Докато от една

part of the year (first half of August), the turbulent fermentation at somewhat higher temperatures (around 28 ºC) may result in increased amounts of isomyl alcohols (Moreno et al., 1988). Consequently, the brandy made from the Okruglica cultivar was found to contain 3085 mg/l a.a. of isomyl alcohols (sum of 2-methyl-1-butanol and 3-methyl-1-butanol), which is by 198% more compared to the brandy obtained from the Valjevka cultivar. This high a concentration of isomyl alcohols may have an adverse effect on the sensory quality of the brandy, in the form of a heavy tail over-tone.

Scholten and Kacprowski (1995) established this type of shortcoming in brandies containing concentrations of isomyl alcohols in the range between 3000 and 5620 mg/l a.a. A higher content of total higher alcohols, 2-feniletanola and diethyl-succinate in the brandy from the Okruglica cultivar, compared to the Valjevka-cultivar brandy can also be attributed to a somewhat higher temperature of the fruit mash at alcoholic fermentation, since according to Moreno et al. (1988) these components are under a pronounced impact of the fermenting fruit mash temperature.

However, the impact made by these factors on the brandy quality may vary. While on the one side 2-phenylethanol possesses a

страна 2-фенилетанол притежава приятен розов аромат, а диетил сукцинатът придава свеж и плодов приятен мирис, общото съдържание на висши алкохоли в излишък от 4000 mg/l a.a. може да прикрие чистотата на аромата на дестилата. Това се случва поради техния настойчив аромат, какъвто е случаят с ракията от сливов сорт "Округлица", който съдържа 4974 mg/l a.a. общо висши алкохоли.

И при двата вида ракия са установени подобни стойности на изоамил ацетат, който притежава специфичен бананов аромат. Според съдържанието на мастни киселини и техния етил естер, може да бъде отбелязано, че ракия от сортове "Округлица" и "Валйевка" са повече сходни на ракии получени от сортове, които според Popović et al. (2009) се характеризират с плодов сливов ракиен аромат ("Пожегача" и "Чачанска родна"), след което идват ракии направени от сортове с отчетлив цветист характер ("Чачанска лепотица" и "Чачанска найболя").

Съдържанието на бензалдехид е малко по-високо в ракията от сливов сорт "Округлица", в сравнение с ракията получена от сорт "Валйевка", въпреки значително по-краткото време за ферментация, в сравнение с плодова каша от "Валйевка". Това може да е белег за по-високо съдържание на цианогенни гликозиди в

pleasant rose odour and diethyl succinate gives a fresh and fruity enjoyable smell, a total content of high alcohols in excess of 4000 mg/l a.a. may conceal the fineness of the distillate aroma.

This occurs due to their assertive aroma, and is the case with the brandy from the Okruglica plum cultivar, which contains 4974 mg/l a.a. of the total higher alcohols.

Both brandies were found to contain the same values of isoamyl acetate, possessing a specific banana smell. According to the content of fatty acids and their ethyl esters, it can be observed that brandies made from the Okruglica and Valjevka cultivars are more similar to the brandies obtained from cultivars which, according to Popović et al. (2009) are characterised by a fruity plum brandy aroma (Požegača and Čačanska rodna), then brandies made from cultivars with a pronounced flowery character (Čačanska lepotica and Čačanska najbolja).

The content of benzaldehyde was slightly higher in the brandy from the Okruglica plum cultivar compared to the brandy obtained from the Valjevka cultivar, despite the considerably shorter fermentation time compared to that of the Valjevka fruit mash. This may be an indication of a higher content of cyanogenic glycosides in the fruits of the

плодове от сорт "Округлица", заради нейните костилки, които имат по-пореста черупка. И на двата сливови сорта ракията се дистилира веднага след завършване на ферментацията, затова има съдържание на бензалдехид по-ниско от 100 mg/l a.a., което според по-старото законодателство на Сърбия представлява гранична концентрация, над която ароматът на ракия се повлиява от мирис на костилка.

Съотношенията на някои висши алкохоли (Таблица 2) могат да се използват за по-детайлно характеризиране на едносортови сливови ракии, при определяне на конкретни условия по време на технологичния процес на производството. Това е особено вярно за съотношенията включващи изоамил алкохоли като един от компонентите, т.е. 2-метил-1пропанол от една страна и 1-пропанол от друга страна, както вече бе отбелязано. Според Satora и Tuszynski (2008), съотношението изоамил алкохол/1-пропанол по-ниско от или близо до 1 е показател за подчертана спонтанна ферментация, каквато възниква в случая на "Валйевка". Същите автори твърдят, че когато това съотношение е по-високо от 1, то става показател за ферментация извършена от монокултура на дрожди. В случая на "Округлица", това съотношение превишава 1, поради факта, че въпреки спонтанната ферментация, Okruglica cultivar, i.e. its fruit stones, which also have a more porous shell. Both cultivars' brandies were distilled immediately upon the completion of fermentation, therefore having the benzaldehyde content lower than 100 mg/l a.a., which according to older Serbian legislation represented a borderline concentration above which the odour of a brandy becomes dominated by the smell of the stone.

Ratios of certain higher alcohols (Table 2) can be used in more detailed characterisation of certain monovarietal plum brandies, i.e. in defining certain conditions during the technological process of their production. This is especially true of the ratios involving isoamyl alcohols as one of the components, i.e. 2-methyl-1-propanol on one side and 1-propanol on the other side, as previously noted.

According to Satora and Tuszynski (2008), the ratio isoamyl alcohols/1-propanol lower than or close to 1 is an indicator of a markedly spontaneous fermentation, which was established in the case of Valjevka. The same authors state that when this ratio is higher than 1, it becomes an indicator of a fermentation conducted using a yeast monoculture. In the case of Okruglica, this ratio exceeds 1, due to the fact that despite the spontaneous fermentation, the

ция, специфичните характеристики на плода подпомагат бързо установяване на доминиране на дрождите *Saccharomyces cerevisiae* в плодовата маса. Подобно заключение може да бъде изказано, по отношение на съотношението 2-метил-1-пропанол/1-пропанол. В допълнение на това, сензорната характеристика на ракията може да използва съотношението между 2-фенилетанол (характеризиран със специфичен розов аромат) и 1-хексанол (характеризиран от свеж и приятен аромат от зелената част на растенията). Стойностите на това съотношение показват големи различия (2.68 за "Округлица", в сравнение с 0.71 за "Валйевка"), водещи до различни характеристики на специфични сортови аромати за двата вида сливови ракии.

specific characteristics of the fruit enabled a rapid establishment of the domination of the *Saccharomyces cerevisiae* yeast in the fruit mash. A similar conclusion can be drawn regarding the ratio 2-methyl-1-propanol/1-propanol. In addition to this, the sensory characterisation of the brandy can make use of the ratio between 2-phenylethanol (characterised by specific rose odour) and 1-hexanol (characterised by fresh and pleasant odour of green part of plants).

The values of this ratio show large differences (2.68 for Okruglica, compared to 0.71 for Valjevka), resulting in the different characteristics of the cultivar-specific aromas of the two plum brandies.

Таблица 2. Съотношение между висши алкохоли при сливова ракия получена от сливови сортове „Округлица“ и „Валйевка“
Table 2. Ratios of higher alcohols in plum brandies obtained from Okruglica and Valjevka plum cultivars

Съотношение/Ratio	Округлица/Okruglica	Валйвка/Valjevka
3-methyl-1-butanol/2-methyl-1-butanol	3,90	3,91
Isoamyl alcohols/2-methyl-1-propanol	3,30	3,34
Isoamyl alcohols/1-propanol	3,69	0,65
2-methyl-1-propanol/1-propanol	1,12	0,19
2-phenylethanol/1-hexanol	2,68	0,71

От Таблица 3 е очевидно, че ракията получена от сорт "Валйевка" получава по-висока сензорна оценка, отколкото ракията получена от сорт "Округлица", като стойностите на оценките отговарят на наши по-

It is evident from Table 3 that the brandy obtained from the Valjevka cultivar received a higher sensory grade than the brandy made from the Okruglica cultivar, while the values of the grades correspond to our earlier research

ранни изследвания (Popović et al., 2012, 2015). Трябва да се отбележи, че ракия произведена от сорт "Округлица" произвежда висококачествени дистилати, чрез смесване с ракии произведени от други местни сръбски сортове сливи. Тези дистилати притежават високи сензорни оценки – над 18.01 (Popović et al., 2015) – дори преди отлежаване в дъбови бъчви. Това отговаря на висококачествени ракии, които са наградени със златни медали при официално оценяване на сензорното качество на ракии. Нашата непубликувана информация, въз основа на практически опити показва, че след продължителен период на отлежаване в дъбови бъчви и двете едносортови ракии– "Округлица" и "Валйевка"– могат да придобият ниво на най-висококачествена ракия.

(Popović et al., 2012, 2015). It ought to be noted that brandy made from the Okruglica cultivar produces highest-quality distillates, through blending with brandies produced from other indigenous Serbian plum cultivars.

These distillates are awarded high sensory grades – above 18.01 (Popović et al., 2015) – even before maturing in oak barrels. This corresponds to the high-quality brandies which are awarded gold medals at official assessments of sensory quality of brandies. Our unpublished information based on practical experiences indicate that after a prolonged period of maturation in oak barrels, both monovarietal brandies – Okruglica and Valjevka– can attain the level of the highest-quality brandies.

Таблица 3. Сензорни анализи на сливова ракия (съдържание на етанол 45 vol%) получена от сливови сортове „Округлица“ и „Валйевка“
Table 3. Sensory analyses of plum brandies (ethanol content 45 vol%) produced from Okruglica and Valjevka plum cultivars

Характеристики/Characteristics	Округлица/Okruglica	Валйевка/Valjevka
Цвят/Colour (max 2 pts)	2,00	2,00
Чистота/Clearness (max 1 pts)	1,00	1,00
Аромат/Odour (max 7 pts)	5,95	6,15
Вкус/Taste (max 10 pts)	8,50	8,48
Общо/Total (max 20 pts)	17,45	17,63

ИЗВОДИ

Въз основа на получените резултати, може да се направи заключение, че ако плодовете на традиционни сортове сливи "Округлица" и "Валйевка" са под-

CONCLUSIONS

Based on the obtained results, it can be inferred that if fruits of traditional plum cultivars Okruglica and Valjevka are subjected to traditional method of

ложени на традиционен метод за преработка, който включва спонтанна алкохолна ферментация на цели плодове и двойна дестилация е възможно да се получат висококачествени ракии. Разликите в техния химически състав и сензорни характеристики при този метод на преработка, се обуславят изключително от характеристиките на плодовете на двата сорта и най-вероятно от произлизащите разлики в състава на местната микрофлора, която причинява алкохолната ферментация. Като се има предвид качеството и специфичните сензорни характеристики на получените дестилати, двата сорта сливи, които в момента заемат малък дял в сливовия асортимент на Сърбия, трябва да бъдат разпространени в подходящи райони, като сортове предназначени за производство на висококачествена ракия.

processing implying spontaneous alcoholic fermentation of whole plum fruits and double distillation, it is possible to obtain high quality brandies.

Differences in their chemical composition and sensory characteristics were in this method of processing conditioned exclusively by the characteristics of the fruits of the two cultivars, and most probably by the ensuing differences in the composition of the indigenous microflora causing the alcoholic fermentation. Considering the quality and the specific sensory characteristics of the obtained distillates, these two plums cultivars which at the moment occupy a minor proportion in the Serbian plum assortment, ought to be spread to suitable regions, as cultivars intended for production of high-quality brandies.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Mišić P. D.** Šljiva. Partenon, 1996, IZIUP Srbija, Beograd.
2. **Moreno J., Medina M., Garcia M. D.** Optimisation of the fermentation conditions of musts from Pedro Ximenez grapes grown in Southern Spain. Production of higher alcohols and esters. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 1988, 9, 2: 16-20.
3. **Nikićević N., Tešević V.** Proizvodnja voćnih rakija vrhunskog kvaliteta. *Poljoprivredni fakultet*, 2010, Beograd.
4. **Paunović R.** Uticaj izazivača i uslova izvođenja alkoholne fermentacije voćnog kljuka na sastav voćnih rakija. *Arhiv za poljoprivredne nauke*, 1991, 52, 186: 171-176.
5. **Popović B., Gavrilović-Damnjanović J., Mitrović O., Ogašanović D. Nikićević N., Tešević V.** Major volatile components and sensory characteristics of plum brandies produced from plum cultivars developed in Čačak. *Acta Horticulturae*, 2009, 825: 575-581.
6. **Popović B., Nikićević N., Tešević V., Mitrović O., Kandić M., Miletić N.** Kvalitet šljivovica od sorata šljive kombinovanih svojstava. *Voćarstvo*, 2012, 46, 177-178: 23-31.

7. **Popović B., Nikićević N., Tešević V., Urošević I., Mitrović O., Kandić M.** Senzorne karakteristike šljivovih prepečenica dobijenih mešanjem destilata šljive sorte Crvena ranka i drugih sorata. *Voćarstvo*, 2015, 49, 191-192: 99-105.
8. **Satora P., Tuszynski T.** Chemical characteristics of Śliwowica Łącka and other plum brandies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2008, 88: 167-174.
9. **Scholten G. and Kacprowski M.** Häufige Qualitätsmängel in Obstbränden leicht vermeidbar. *Kleinbrennerei*, 1995, 6: 130-133.
10. **Stojanovska D.** Odnos komponenata u destilatima fermentisane džibre šljive. *Jugoslovensko voćarstvo*, 1982, 16, 59-60: 103-111.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 3, 2016, (147-156)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

Вирусът на листни петна по малината – често срещан патоген при малината в Сърбия

Дарко Йевремович*, Александър Лепосавич, Светлана А. Паунович

Изследователски институт по овощарство, ул. „Краля Петра I“ 9, 32000 Чачак, Република Сърбия
**E-mail: darko.jevremovic@institut-cacak.org*

Raspberry leaf blotch virus – a common raspberry pathogen in Serbia

Darko Jevremović*, Aleksandar Leposavić, Svetlana A. Paunović

Fruit Research Institute, 9 Kralja Petra I Str., 32000 Čačak, Republic of Serbia

РЕЗЮМЕ

Листни петна по малината (RLBV) е новооткрит вирус, който заразява малините. Болестта на листните петна по малината е известна от десетилетия, но до скоро единствената подозирана причина за болестта по листата на малината беше малиновият акар (*Phyllocoptes gracillis*). Жълти петна и повяхване на малиновите листа се откриват често от фермерите в много малинови полета в Сърбия. Счита се, че тези симптоми са причинени от *P. gracillis*, който е описан като най-важния дребен вредител в малиновите насаждения.

За да се изследва присъствието и разпределянето на RLBV в Сърбия е извършено проучване с голям мащаб в периода 2012-2015. Насажденията в основните малинови райони са изследвани за наличие на симптоми на жълти листни петна, закържавяване и изпъстреност, които показват вероятно присъствие на RLBV. Шестдесет листни проби са събрани от 20 изследвани местоположения и са съхранени за лабораторен анализ. Всички проби са изпитани за наличие на RLBV чрез

SUMMARY

Raspberry leaf blotch virus (RLBV) is a newly discovered virus infecting raspberries. Raspberry leaf blotch disease was known for a decades, but until recently the only suspected cause of the disease was raspberry leaf and bud mite (*Phyllocoptes gracilis*). Yellow blotching and twisting of raspberry leaves have been commonly found by farmers in many raspberry fields in Serbia. These symptoms have been ascribed to be caused by *P. gracilis* that was described as the most important secondary pest in raspberry plantations.

From 2012−2015, a large-scale survey was conducted in order to investigate the presence and distribution of RLBV in Serbia. Plantations in major raspberry growing regions were surveyed for the presence of symptoms of yellow blotch, patches and mottling indicating the possible presence of RLBV.

Sixty leaf samples were collected from 20 surveyed locations and stored for laboratory analysis. All samples were tested on the RLBV presence by RT-PCR

RT-PCR (Полимеразна верижна реакция с обратна транскрипция - б.п), като са из-ползвани специфични праймери увели-чаващи фрагмента 567 bp от RNA3. RT-PCR анализът разкрива голямо раз-пространение (76%) на RLBV в анали-зираните проби. RLBV е потвърден при малини сорт „Виламет“, "Мийкър“ и „Туламийн“.

Голямото разпространение на RLBV показва нуждата да бъде въве-ден контрол върху растителния материал, за RLBV и предполагаемия преносител – малиновия акар, в селскостопанските насаждения.

Ключови думи: малини, RLBV, *Phyllocoptes gracilis*, RT-PCR

using RLBV-specific primers amplifying the 567 bp fragment from RNA3. RT-PCR analysis revealed the high incidence (75%) of RLBV in analyzed samples. RLBV was confirmed in raspberries 'Willamette', 'Meeker' and 'Tulameen'.

The high incidence of RLBV indicates the need to initiate the control of the planting material for RLBV and suspected vector raspberry leaf and bud mite in commercial plantations.

Key words: raspberry, RLBV, *Phyllocoptes gracilis*, RT-PCR

УВОД

Вид *Rubus* е гостоприемник на повече от 30 вируса и вирусо-подобни агенти (Martin et al., 2013). Симптомите причинени от вирусите могат да бъдат лесно объркани с други предизвикани от други патогени или насекоми. Жълтото напетняване по мали-новите листа обичайно се откри-ват в насаждения и се описва като нашествие от малинов акар (*Phyllocoptes gracilis,* Nalepa) (Gratwick, 1992). Акарите се хра-нят с малинови листа, като пре-дизвикват светлозелени и жълти петна, повяхване и изкривяване на листните краища. Напоследък McGavin et al. (2012) посочват за наличие на нов РНК вирус с отрицателна верига при червени малинови растения, които показ-ват симптоми на листни петна. Вирусът е кръстен *листни петна по малината* (RLBV). Открит е във Великобритания, Сърбия, Финландия, България,

INTRODUCTION

Rubus species are the hosts of more than 30 viruses and virus like agents (Martin et al., 2013). The symptoms caused by viruses can be easily confused by the ones induced by other pathogens or insects. Yellow patches and blotches on raspberry leaves were commonly found in plantations and they were described as the infestation by the raspberry leaf and bud mite (*Phyllocoptes gracilis* Nalepa) (Gratwick, 1992). The mites feed on the raspberry leaves causing pale green and yellow patches and blotches, twisting and distortion of the leaf margins. Recently, McGavin et al. (2012) reported the presence of a new negative-strand RNA virus in red raspberry plants showing leaf blotch symptoms, The virus was named *Raspberry leaf blotch virus* (RLBV) and it was identified in Great Britain, Serbia, Finland, Bulgaria, Poland and Montenegro

Полша и Черна гора (McGavin et al., 2012; Bi et al., 2012; Pleško et al., 2014; Cieślińska & Tartanus, 2014; Zindović et al., 2015).

Червената малина е един от най-важните икономически плодове в земеделието на Сърбия. Вирусните болести по малината не са изследвани усилено в Сърбия през последното десетилетие, с изключение на няколко кратки доклада (Jevremović & Paunović, 2012). Симптомите на листни петна обикновено се откриват в малинови насаждения от производители в Сърбия през последните две десетилетия. Счита се, че акарите са причинители на тези симптоми.

Основна цел на настоящето изследване е да се анализират симптоматичните растения за наличие на RLBV, но също са изследвани и растения без симптоми. В настоящата статия представяме резултати от мащабно изследване на RLBV в Сърбия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

RLBV се изследва в 20 местоположения в Сърбия за периода 2012-2015. Малиновите насаждения са визуално изследвани за наличие на симптоми на листни петна. Общо 60 листни проби са взети от малини "Вилламет", "Мийкър“ и „Туламийн“ отглеждани в полеви условия. Повечето от пробите са с жълти петна, но значителна част от пробите са без симптоми (Таблица 1).

(McGavin et al., 2012; Bi et al., 2012; Pleško et al., 2014; Cieślińska & Tartanus, 2014; Zindović et al., 2015).

Red raspberry is economically one of the most important fruits in Serbian agriculture. Viral diseases of raspberries have not been intensively studied in Serbia the last decade, except for a few short reports (Jevremović & Paunović, 2012). Leaf blotch symptoms have been commonly found by the growers in many raspberry plantations in Serbia over the past two decades. It was considered that the mites are the causative agents of these symptoms.

The main aim of this study was to analyze symptomatic plants for the RLBV presence, but symptomless plants were also analyzed. In this paper we present the results of the large-scale survey for RLBV in Serbia.

MATERIAL AND METHODS

RLBV was surveyed at 20 locations in Serbia from 2012−2015. Raspberry plantations were visually inspected on the presence of leaf blotch symptoms. In total, 60 leaf samples of raspberries ’Willamette’, ’Meeker’ and ’Tulameen’ grown in the field were collected. Most of the samples were with yellow leaf blotches, but significant portion of samples were symptomless (Table 1).

Таблица 1. Установяване на *Листни петна по малината* (RLBV) чрез RT-PCR
Table 1. Detection of *Raspberry leaf blotch virus* (RLBV) using RT-PCR

Брой Number	Сорт Cultivar	Местоположение Locality	Наличие на симптоми за листни петна The presence of leaf blotch symptoms	RT-PCR
1	Tulameen	Ариле/Arilje	да/yes	positive
2	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
3	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
4	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
5	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
6	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
7	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
8	Meeker	Ариле/Arilje	да/yes	positive
9	Tulameen	Ариле/Arilje	да/yes	positive
10	Willamette	Ариле/Arilje	не/no	negative
11	Meeker	Ариле/Arilje	да/yes	positive
12	Meeker	Ариле/Arilje	да/yes	positive
13	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
14	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
15	Willamette	Ариле/Arilje	да/yes	positive
16	Meeker	Б. Бања/B. Bašta	да/yes	positive
17	Willamette	Б. Бања/B. Bašta	да/yes	positive
18	Willamette	Б. Бања/B. Bašta	да/yes	positive
19	Willamette	Б. Бања/B. Bašta	не/no	negative
20	Meeker	Чачак/Čačak	да/yes	positive
21	Willamette	Иваница/Ivanjica	не/no	negative
22	Willamette	Иваница/Ivanjica	да/yes	positive
23	Willamette	Иваница/Ivanjica	не/no	negative
24	Willamette	Иваница/Ivanjica	да/yes	positive
25	Willamette	Иваница/Ivanjica	да/yes	positive
26	Willamette	Иваница/Ivanjica	да/yes	positive
27	Willamette	Иваница/Ivanjica	не/no	negative
28	Meeker	Иваница/Ivanjica	не/no	negative
29	Meeker	Иваница/Ivanjica	не/no	negative
30	Willamette	Иваница/Ivanjica	да/yes	positive
31	Willamette	Иваница/Ivanjica	да/yes	positive
32	Meeker	Иваница/Ivanjica	да/yes	positive
33	Meeker	Иваница/Ivanjica	не/no	negative
34	Willamette	Иваница/Ivanjica	да/yes	positive
35	Meeker	Йольанийка Банйа Jošanička Banja	да/yes	positive
36	Meeker	Косйериж/Kosjerić	да/yes	positive
37	Willamette	Котраджа/Kotraža	да/yes	positive
38	Meeker	Kriva Reka	да/yes	positive
39	Willamette	Kriva Reka	да/yes	positive
40	Willamette	Латвица/Latvica	да/yes	positive
41	Willamette	Любовия/Ljubovija	да/yes	positive
42	Willamette	Любовия/Ljubovija	не/no	negative
43	Willamette	Lučani	да/yes	positive

44	Willamette	Прибой/Priboj	да/yes	positive
45	Willamette	Приеполе/Prijepolje	да/yes	positive
46	Willamette	Приеполе/Prijepolje	не/no	negative
47	Willamette	Приеполе/Prijepolje	да/yes	positive
48	Willamette	Призрен/Prizren	да/yes	positive
19	Willamette	Призрен/Prizren	да/yes	positive
50	Willamette	Призрен/Prizren	не/no	negative
51	Willamette	Радайево/Radaljevo	да/yes	positive
52	Willamette	Рудно/Rudno	да/yes	positive
53	Meeker	Рудно/Rudno	не/no	negative
54	Willamette	Стапари/Stapari	да/yes	positive
55	Willamette	Уджице/Užice	да/yes	positive
56	Willamette	Уджице/Užice	не/no	negative
57	Willamette	Уджице/Užice	не/no	negative
58	Willamette	Уджице/Užice	да/yes	positive
59	Meeker	Власина/Vlasina	да/yes	positive
60	Willamette	Zlodol	не/no	negative

Обща нуклеинова киселина е извлечена от свежи листа по протокол описан от Li et al. (2008). Общо 100 mg растителен материал е смлян в 1 ml от 2% CTAB буфер, инкубиран при 65°C за 15 минути и центруфугиран при 10.400 rpm за 5 min. Супернатантът е прехвърлен в нова епруветка и завихрен с еднакво количество хлороформ/изоамил алкохол. (24:1). Смеската е центруфугирана при 12,800 rpm за 10 min. Полученият супернатант е прехвърлен в нова епруветка с 350 ml изопропанол, и центруфугиран при 12,800 rpm за 10 min. Гранулата е промита с 70% етанол чрез центруфугиране при 12,800 rpm за 5 мин, изсушена при стайна температура и разтворена в 100 ml TE буфер.

Реакциите на обратна транскрипция и полимеразна

Total nucleic acids were extracted from fresh leaves with the protocol described by Li et al. (2008). A total of 100 mg of the plant material was grinded in 1 ml of 2% CTAB buffer, incubated at 65°C for 15 minutes and centrifuged at 10,400 rpm for 5 min. Supernatant was transferred to a new tube and vortexed with the equal volume of chloroform/isoamyl alcohol (24:1). The mixture was centrifuged at 12,800 rpm for 10 min. Obtained supernatant was transferred to a new tube with 350 ml of isopropanol, and centrifuged at 12,800 rpm for 10 min. The pellet was washed with 70% ethanol by centrifugation at 12,800 rpm for 5 min, dried at room temperature and dissolved in 100 ml of TE buffer.

Reverse transcription and polymerase chain reactions (RT-

верига (RT-PCR) са извършени чрез RLBV-специфична двойка праймери увеличаващи фрагмента 567 bp от RNA3 (McGavin et al., 2012). PCR продуктите са анализирани чрез електрофореза в 1.5% агарозен гел, оцветени с етидиев бромид и визуализирани под UV-осветление. Наличието на фрагмент с неочакван размер се счита като положителна реакция.

PCR) were done using RLBV-specific primer pair amplifying 567 bp fragment from RNA3 (McGavin et al., 2012). PCR products were analyzed by electrophoresis in 1.5% agarose gel, stained by ethidium-bromide and visualized under UV-light. The presence of the fragment of the expected size was considered as a positive reaction.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

По време на визуалната инспекция са наблюдавани големи различия измежду малиновите насаждения по отношение на наличието на симптоми за листни петна. В много малко насаждения липсват растения със симптоми на листни петна. В други, делът на симптоматичните растения варира значително до 100%. Забелязани са различни видове симптоми: жълти и светло зелени петна, сериозно пожълтяване по листата, изсъхване и изкривяване на краищата на листата (Фигура 1). Забелязани са симптоми на листни петна по малината в малинови насаждения в Сърбия за продължителен период. В повечето случаи, тези симптоми се приписват на вредата причинена от малиновия акар. Често присъствието на тези симптоми се приписва на вирусни инфекции, но без лабораторно потвърждение (Dobrivojević & Petanović, 1985). Milenković & Marčić (2012) посочват, че *P.*

RESULTS AND DISCUSSION

During visual inspection, great differences among raspberry plantations regarding the presence of leaf blotch symptoms were observed. In a very few plantations, there were no plants with leaf blotch symptoms. In others, the share of symptomatic plants varied greatly, up to 100%.

Different types of symptoms were evidenced: yellow and light green patches, blotches, severe leaf yellowing, twisting and distortion of leaf margins (Figure 1).

Raspberry leaf blotch symptoms were noticed in raspberry plantations in Serbia for a long time. In most cases, these symptoms were attributed to the damage caused by raspberry leaf and bud mite. Often, the presence of these symptoms were also attributed to viral infections, but without laboratory confirmation (Dobrivojević & Petanović, 1985). Milenković & Marčić (2012)

gracilis е широко разпространен в малиновите насаждения, най-вече в Западна Сърбия. Акарите могат да причинят значителна вреда на растенията, особено ако не се извършат контролни мерки.

reported that *P. gracilis* is widespread in raspberry plantations, especially in western Serbia. Mites can cause a significant damage to the plants, particularly if control measures are not carried out.

Фиг. 1. Симптоми на *Листни петна по малината* при малинов сорт „Виламет“
Fig. 1. *Raspberry leaf blotch virus* symptoms on 'Willamette' raspberry

Общо 60 проби от малинови листа са събрани и анализирани за RNA3 на RLBV чрез метода RT-PCR. Резултатите от RT-PCR са представени в Таблица 1. RLBV е потвърдена при 75% (45/60) от пробите.

A total of 60 samples of raspberry leaves were collected and analyzed for RNA3 of RLBV by RT-PCR method. RT-PCR results are presented in Table 1. RLBV was confirmed in 75% (45/60) of the samples. All RLBV

Всички позитивни проби за RLBV показват симптоми на листни петна. При растенията без симптоми (15 проби) не е открит RLBV. Явната асоциация на симптомите на листни петна и присъствието на вирус е очевидна, което потвърждава, че основната причина за симптомите е RLBV. Големият обхват и широко разпространение на RLBV предполага, че тя присъства в малиновите насаждения в Сърбия от дълго време. В някои изследвания, RLBV се открива и при акарите, като те биха могли да бъдат преносители на вируса, но хипотезата изисква допълнително изследване (McGavin et al., 2012, Cieślińska & Tartanus, 2014, Dong et al., 2016).

Вирусът на листни петна по малината е потвърден и при трите изследвани малинови сорта: „Виламет“, "Мийкър“ и „Туламийн“. Малиновият сорт "Виламет" е водещ в производството с дял от приблизително 90%, следван от "Мийкър" (5%), и всички други сортове с около 5% (Petrović & Leposavić, 2016). Предварителните наблюдения в тази сфера показват, че плодовете на заразени растения с RLBV са по-малки по размер от здравите растения. Изследването на въздействието на заразата с RLBV върху характеристиките на плодовете и добива е в ход.

positive samples were showing leaf blotch symptoms. In symptomless plants (15 samples) RLBV was not detected. The clear association of the leaf blotch symptoms and virus presence was evidenced, confirming that the primary cause of the symptoms was RLBV. The high incidence and wide distribution of RLBV suggests that it is present in the Serbian raspberry plantations for a long time.

In some studies, RLBV was also detected in mites and they may be vectors of the virus, but this hypothesis requires further study (McGavin et al., 2012, Cieślińska & Tartanus, 2014, Dong et al., 2016).

Raspberry leaf blotch virus was confirmed in all three raspberry varieties tested: ’Willamette’, ’Meeker’ and ’Tulameen’. Raspberry ‘Willamette’ is leading cultivar in the production with the share of approximately 90%, followed by ‘Meeker’ (5%), and all other cultivars with about 5% (Petrović & Leposavić, 2016). The preliminary observations in the field showed that the fruits from the RLBV-infected plants are smaller in size than from the healthy plants. The research of the impact of the RLBV infection on fruit characteristics and yield is underway.

ИЗВОДИ

Големият обхват на RLBV и широкото разпространение предполагат, че тя е често срещан патоген при малините в Сърбия. Широкото присъствие на RLBV показва нуждата да се осъществи контрол върху растителния материал за RLBV, както и предполагаемия преносител малиновия акар в селскостопанските насаждения.

CONCLUSIONS

The high RLBV incidence and wide distribution suggests that it is a common raspberry pathogen in Serbia. RLBV wide presence indicates the need to initiate the control of the planting material for RLBV, as well as suspected vector raspberry leaf and bud mite in commercial plantations.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работата е финансирана от Министерството на образованието, науката и технологичното развитие на Република Сърбия в рамките на проект TR 1661046 и Министерство на земеделието и екологията на Република Сърбия.

ACKNOWLEDGEMENTS

The work was funded by the Ministry for Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia within the project TR 1661046 and the Ministry of Agriculture and Environmental Protection of the Republic of Serbia.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Bi Y., Artola K., Kurokura T., Hytцnen T., Valkonen J. P. T.** First report of *Raspberry leaf blotch virus* in raspberries in Finland. *Plant Disease*, 2012, 96, No. 8, pp.1231.
2. **Cieślińska M., Tartanus M.** Molecular diversity of *Raspberry leaf blotch virus* – a new pathogen of *Rubus* sp. plants in Poland. *Book of Abstracts of the 11th Conference of the European Foundation for Plant Pathology 8-13 September 2014, Krakow, Poland,* 2014, pp. 162.
3. **Dobrivojević K., Petanović R**. Eriophyid raspberry leaf mite, *Phyllocoptes gracilis* (Nal.) (*Eriophyoidea, Acarina*), an insufficiently known pest in Yugoslavia. *Zaštita Bilja*, 1985, 36, No. 3, pp. 247-254.
4. **Dong L., Lemmetty A., Latvala S., Samuilova O., Valkonen, J. P. T.** Occurrence and genetic diversity of *Raspberry leaf blotch virus* (RLBV) infecting cultivated and wild *Rubus* species in Finland. *Annals of Applied Biology,* 2016, 168, No. 1, pp. 122-132.
5. **Gratwick M.** Raspberry leaf and bud mite. In M. Gratwick (Ed.), *Crop Pests in the UK*, Springer Netherlands, 1992, pp. 350-353.
6. **Jevremović D., Paunović S.** Small fruit virus diseases. *Biljni lekar*, 2012, 40, No. 2-3, pp. 92-101. (in Serbian)

7. **Li R., Mock R., Huang Q., Abad J., Hartung J., Kinard G.** A reliable and inexpensive method of nucleic acid extraction for the PCR-based detection of diverse plant pathogens. *Journal of Virological Methods*, 2008, 154, No.1, pp. 48-55.
8. **Martin R. R., MacFarlane S., Sabanadzovic S., Quito D., Poudel B., Tzanetakis I. E.** Viruses and virus diseases of *Rubus*. *Plant Disease*, 2013, 97, No. 2, pp.168-182.
9. **McGavin W. J., Mitchell C., Cock P. J., Wright K. M., MacFarlane S. A.** Raspberry leaf blotch virus, a putative new member of the genus *Emaravirus*, encodes a novel genomic RNA. *Journal of General Virology*, 2012, 93, No. 2, pp. 430-437.
10. **Milenković S., Marčić D.** Raspberry leaf and bud mite (*Phyllocoptes gracilis*) in Serbia: the pest status and control options. *Acta Horticulturae*, 2012, 946, pp. 253-256.
11. **Petrović S., Leposavić A.** *Raspberry – new technologies of growing, protection and processing, Updated and revised edition*. Scientific Pomological Society of Serbia, Čačak, 2016, pp. 1-235. (in Serbian).
12. **Pleško I., Marn M., Lazarova S., Peneva V., Širca S., Urek G.** First detection of *Raspberry leaf blotch virus* in red raspberry in Bulgaria. *Journal of Plant Pathology*, 2014, 96, No. 2, pp. 437.
13. **Zindović J., Viršček Marn M., Mavrič Pleško I.** First report of *Raspberry leaf blotch virus* in red raspberry in Montenegro. *Journal of Plant Pathology*, 2015, 97, No. 2, pp. 398.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 3, 2016, (157-172)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

Проучване на различни методи за обновяване на ябълкови градини с припокриващи се корони

Nie Peixian[1], Wang Laiping[1], Димитър Сотиров[2]*, Song Laiqing[3], Zhao Lingling[3], Wang Jinzheng[1]

[1]Институт по помология, Шандонг, 271000 Тайян, Н.Р. Китай
[2]Институт по земеделие, 2500 Кюстендил, България
[3]Институт по овощарство, 265500, Янтай, Н.Р. Китай

**E-mail: dksotirov@yahoo.com*

Studies on different methods for transformation of airtight apple orchards

Nie Peixian[1], Wang Laiping[1], Dimitar Sotirov[2*], Song Laiqing[3], Zhao Lingling[3], Wang Jinzheng[1]

[1]Shandong Institute of Pomology, 271000 Tai'an, P.R.China
[2]Institute of Agriculture, 2500 Kyustendil, Bulgaria
[3] Fruit Institute of Yantai Agriculture Academy, 265500, Yantai, P.R.China

РЕЗЮМЕ

От 2011 г. е започнато проучване на различни методи за обновяване на ябълкови градини със силно сгъстени (припокриващи се) корони в района на Zhaoyuan и Rongcheng, Китай и е установен техния ефект върху структурата на овощната градина, използването на слънчевата енергия и качеството на плодовете. Използвани са три контрастни метода: премахване на дърветата през един ред (Метод I), премахване на дървета в реда през едно (Метод II), премахване на всяко четвърто дърво в реда (Метод III). Резултатите показват, че Метод I е най-добрият начин за обновяване на овощната градина. При презредовото прореждане, индексът на листната площ е намален значително - с 52.1%, но използването

SUMMARY

Since 2011 the renovation of airtight apple orchards had been done in Zhaoyuan and Rongcheng City to explore different transformation methods for airtight apple orchards and their effects on orchard structure, solar energy utilization and fruit quality.

Three methods were adopted for contrast: interlaced thinning (Method I), septum strain thinning (Method II), every four trees cutting one in the line (Method III).

Results showed that interlaced thinning was the best way for orchard renovation.

For interlaced thinning, the leaf area index was reduced significantly by 52.1%, but the solar energy utilization and the

на слънчева енергия и пропускливостта на светлината в короната се увеличава съответно с 38.3% и 84.1%, а също така и стойностите на хлорофила (измерени със SPAD-502 хлорофил метър) се увеличават.

От 2011 до 2013 г., средното тегло, индексът на оцветяването, индексът за гладкост, твърдостта и съдържанието на разтворимите сухи вещества в плодовете се увеличават съответно: при Метод I с 15,3%, 10,3%, 10,8%, 3,1% и 13,3%, при Метод II с 13.7%, 7,7%, 8,5%, 2,9% и 10,5% и при Метод III с 4,9%, 1,4%, 5,7%, 3,2% и 5,1%, в сравнение с контролата.

Ключови думи: ябълка, прореждане, индекс на листната площ, фотосинтеза, качество на плода

intracoronal light transmittance were increased by 38.3% and 84.1%, respectively and the values of chlorophyll (measured by SPAD-502 chlorophyll meter) increased as well.

From 2011 to 2013, the average weight, color index, smoothness index, firmness and soluble solid content of the fruit were increased respectively on Method I by 15.3%, 10.3%, 10.8%, 3.1% and 13.3%; on Method II by 13.7%, 7.7%, 8.5%, 2.9% and 10.5%, on Method III by 4.9%, 1.4%, 5.7%, 3.2% and 5.1%, compared with the control.

Key words: apple, thinning, leaf area index, photosynthesis, fruit quality

УВОД

От началото на 1980^{те} години, гъстото засаждане на ябълкови градини е било популяризирано с цел по-ранно плододаване и високи добиви (Liu and Wei, 1987; Wei et al., 2003; Wei et al., 2004). Когато дърветата израстнат твърде много, короните им се припокриват и градините стават прекалено сгъстени. Светлинните условия се влошават, плододаването се изнася към периферията на короните на дърветата, болестите и неприятелите стават проблем, добива и качеството на плодовете се намалява, загнилите плодове се увеличават (Kikuchi et al., 1994; Yang et al., 1998; Nie et al., 2011). Всички тези проблеми са пречка за устойчиво развитие на производството на ябълки, така че преобразуването на сгъстените ябълкови градини е станало

INTRODUCTION

Since the early of 1980^{s}, close planting of apple orchards had been popularized for early-fruiting and high yield (Liu and Wei, 1987; Wei et al., 2003; Wei et al., 2004). As the trees grew up, the canopy overlaped each other, and then the apple orchards became airtighted. Therefore, the light conditions within the orchards was deteriorated, fruiting position of the canopy movied outward, diseases and pests problems got worsening, fruit yield and quality was decreasing the rotten fruit was increasing (Kikuchi et al., 1994; Yang et al., 1998; Nie et al., 2011). All of these problems had restricted the sustainable development of apple production, so the transformation of airtighted apple orchards had become very important for sustainable apple production.

много важно за устойчивото производство на ябълки. Поради тази причина са реновирани някои гъсти ябълкови градини в района на Zhaoyuan и Rongcheng и са направени съответните систематични изследвания на различни методи за обновяване и техния ефект върху структурата на градините, използването на слънчевата енергия и качеството на плодовете.

Целта беше да се избере най-добрият метод за оптимизиране структурата на овощната градина, подобряване на добива и качеството на ябълковата продукция.

According to this situation, we transformed some airtighted apple orchards in Zhaoyuan and Rongcheng apple production areas, and have done systematic and relevant researches on different transform methods for airtighted apple orchards and their effects on orchard structure, solar energy, utilization and fruit quality.

The goal was to select the best method for optimizing the structure of the orchard, improving yield and quality of apple production.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През 2011г. е направена трансформацията на силно сгъстени ябълкови градини в района на Zhaoyuan City и Rongcheng City. Обект на изследване са ябълкови дървета от сорт Fuji на възраста 17 до 20 години, върху подложка Malus hupehensis Rhed, и сорта Гала като опрашител. В Zhaoyuan City са приложени три метода на трансформация: премахване на дърветата през един ред (Метод I), премахване на дърветата в реда през едно (Метод II), на всеки четири дървета премахване на едно (Метод III). В Rongcheng City е приложен Метод I. След реновирането структурата на овощната градина, използването на слънчевата енергия и качеството на ябълките са измерени през

MATERIAL AND METHODS

Since 2011 the transformation of airtight apple orchards had been done in Zhaoyuan City and Rongcheng City. The studies were carried out with apple trees of Fuji cultivar on age 17 to 20 years on the rootstock Malus hupehensis Rhed, and Gala cultivar as pollinator. In Zhaoyuan City, three methods of transformation were adopted: interlaced thinning (Method I), septum strain thinning (Method II), every four trees cutting one in the line (Method III).

In Rongcheng City, interlaced thinning was adopted. After transformation, the orchard structure, solar energy utilization and apple quality were measured in 201, 2012 and 2013.

2011-2013 г.

В различните овощни градини са използвани анализатори CI-110 (производство на компанията CID, Америка) за измерване на обема на короните, разстоянията между дървета и между редовете и за улавяне на изображенията. Съответен софтуер и метод на Zhang Jixiang (за изтриване на най-външния пръстен на чувствителния филм на камерата) бяха използвани за да се анализират индексът на листната площ, ъгъла на наклона, коефициента на директно падащата светлина и коефициента на екстинкция на сгъстените и реновирани ябълкови градини. Трябва да се отбележи, че индексът на листната площ, измерен с анализатора, не е само сумата от листната площ падаща се на единица земна повърхност, а от всички видими обекти над обектива на камерата на анализатора и включва индексът на листата, клоните и хартиените торбички (в които са поставени ябълките).

Фотосинтезиращ системен анализатор CIRA S-II (производство на PP- Системи, Великобритания) е използван за измерване на фотосинтезата. Към 10:00 ч. сутринта през месец септември, нетната фотосинтеза, транспирацията и междуклетъчната концентрация на CO_2 на зрели листа от периферните клони, на 1,5 m над повърхността на почвата, са измерени с фотосинте-

In different orchards, CI-110 canopy analyzers (made by CID Company of America) were used to measure the canopy, spacing between trees and spacing between lines of every tree and capture images.

Relevant software and Zhang Jixiang's method (to delete the outermost ring of sensitive film of the fisheye camera) were adopted to analyze the leaf area index, mean tilt angle, direct light projection coefficient and extinction coefficient of airtight orchards and renovated orchards.

It should be noted that the leaf area index, which was measured by canopy analyzer here, is not the traditional sum of leaf area per unit of land but all the visible objects above the fisheye camera lens of canopy analyzers including the covering index of leaves, branches and paper bags.

CIRA S-II made by PP-Systems of UK was used to measure photosynthesis rate.

At 10:00 in the mornings of September, the net photosynthesis rate, transpiration rate and intercellular CO_2 concentration of the mature leaves of peripheral branches which were 1.5 m above the ground were measured by photosynthetic system analyzers.

зиращи системни анализатори. Междувременно са изчислени ефективността на карбоксилирането и на използването на водата. Ефективност на декарбоксилиране = нетното количество фотосинтеза / междуклетъчната концентрация на CO_2, ефективността на използване на водата = нетната фотосинтеза / транспирацията. Петнадесет листа, взети от всички посоки, са измерени и са изчислени средните стойности.

Meanwhile, carboxylation efficiency and water use efficiency were calculated. Carboxylation efficiency = net photosynthesis rate / intercellular CO_2 concentration, water use efficiency = net photosynthesis rate / transpiration rate. Fifteen leaves of each place were measured and average values were calculated.

Анализатор на хлорофила -502 (производство на Konica Minolta, Япония) е използван за измерване стойностите на хлорофила (SPAD стойности) на зрели листа от къси или средно дълги, безплодни периферни клони на 1,5 m от почвената повърхност. Двадесет и пет листа, взети от различни посоки, са измерени три пъти и средните стойности са SPAD стойностите на листата.

Chlorophyll analyzer -502 (made by Konica Minolta of Japan) was used to measure the SPAD values of the mature leaves of short or average peripheral fruitless branches which were 1.5 m above the ground.

Twenty five leaves of each place were measured three times and the average values were the values of the SPAD values of leaves.

Колориметри CR-400 (японско производство), са използвани за измерване на цвета на плодовата кора и са записани L, а и б стойности. В същото време, софтуер е използван за да се анализира цвета на плодовата кожица.

CR-400 tristimulus colorimeters made by Japan were used to measure the peel color and put down the L, a and b values. Meanwhile, softwares were used to analyze the peel color.

За измерване количеството на плодовете от всяко дърво са използвани електронни платформени везни; дигитални калибратори са използвани за измерване на дължината и напречния диаметър на плодове; твърдостта на плодовете е измерена

Electronic platform scales were used to weigh out the fruits of single trees, digital calipers were used to measure the longitudinal and transverse diameter of fruits; fruit flesh firmness was measured after peeling the fruits, digital saccharimeters were used to

след обелването им; за измерване на разтворимо твърдо съдържание са използвани дигитални захаромери. Индексът на оцветяване на плодовата кожица = Σ(броят на всички плодове × типична стойност) / (сумата от всички плодове × най-високата стойност) x 100%. Критериите, по степени на оцветяване са: 0 клас, 0~5% оцветяване; 1 клас, 5~25% оцветяване; 2 клас, 25~50% оцветяването; 3 клас, 50~75% оцветяване; 4 клас, 75~100% оцветяване. Индексът за гладкост на плодовете = Σ (броят на всички плодове × типична стойност) / (сумата от всички плодове × най-високата стойност) x 100%. Критериите, по степени на гладкост: 0 клас, 0~10% гладкост; 1 клас, 10~30% гладкост; 2 клас, 30~60% гладкост; 3 клас, 60~85% гладкост; 4 клас, 85~100% гладкост. Общите разтворими захари са определени чрез хидролиза със солна киселина - редукция на мед (по метода на Бертранд), а титруемите киселини чрез киселинно-алкална неутрализация (титриметрично).

measure soluble solid content.

Peel coloring index = ∑ the number of each kind of fruits × typical value / the sum of all fruits × the highest value × 100%.

The criteria of grades of coloring: 0 grade 0~5% peel coloring, 1 grade 5~25% peel coloring, 2 grade 25~50% peel coloring, 3 grade 50~75% peel coloring, 4 grade 75~100% peel coloring. Smoothness index = ∑the number of each kind of fruits × typical value / the sum of all fruits × the highest value ×100%.

The criteria of grades of smoothness: 0 grade 0~10% peel smoothness, 1 grade 10~30% peel smoothness, 2 grade 30~60% peel smoothness, 3 grade 60~85% peel smoothness, 4 grade 85~100% peel smoothness. The total soluble sugar determination was done by hydrochloric acid conversion - copper reduction - direct titrimetric method (by Bertrand's method) and titratable acids by acid-base neutralization titration.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Индексът на листната площ (LAI) е жизненоважен индекс за структурата на короната на дърветата. При силно сгъстените и реновираните градини той е значително различен. При Метод I той е очевидно с по-ниски

RESULTS AND DISCUSSION

Leaf area index (LAI) is one vital index for canopy structure. The leaf area index of airtight orchards and renovated orchards were significantly different. In Method I, it is evident with lower values than the control (C) and the

стойности от контролата (С) и от другите два метода (Таблица 1). Най-малък е индексът при Метод I, последван от Метод II, III и контролата. При Метод I, силното намаление на листната площ в редовете води и до намаляване на индекса и на целите реновирани градини.

other two methods (Table 1). The LAI of Method I is the smallest, which is followed by Method II, Method III and the control C. By Method I, the dramatic decrease of leaf area index of lines results in the decrease of leaf area index of the whole renovated orchards.

Таблица 1. Влияние на различните методи върху индекса на листната площ и средния ъгъл на наклона на листата
Table 1. Effects of different methods to leaf area index (LAI) and mean leaf angle (MLA)

Методи Methods	Индекс на листната площ LAI	Ъгъл на наклона на листата MLA	Пропускане на светлина в короната Canopy light transmittance rate %	Стойност на хлорофила SPAD value
Method I	1.19	56.12	40.39	61.2
Method II	1.37	45.29	34.26	59.8
Method III	1.55	43.27	23.75	58.6
Контрола / C	1.81	21.48	21.94	58.1

Наклонът на листата е ъгълът, сключен между оста на листата и хоризонтална повърхност. Осветяваните части на растенията имат пряка връзка с ъгъла на наклона на листата, а също и с падащата слънчева радиация. Когато ъгълът на наклона и слънчевият поток са широки, осветените зони на растения ще бъдат големи. От Таблица 1 се вижда, че ъгълът на наклона на листата при обновените градини е по-широк от този на гъстите градини (контролата) и според тази ситуация, при Метода I средният ъгъл на наклона е най-широк, последван от Метод II, Метод III и контролата (С).

Mean tilt angle is the included angle between leaf axis and horizontal surface. Light areas of plants have direct relation with mean tilt angle and also have relation with the solar elevation of incoming radiation. When the leaf tilt angle and the solar elevation are wide, the light areas of plants would be large.

From Table 1, the mean tilt angle of renovated orchards is wider than that of the airtight orchards and among these situations, by Method I (deleting one line between two lines), the mean tilt angle is the widest, which is followed by Method II, Method III and C.

При Метод I, процентът на проникващата светлина в короните е най-висок – около 84% по-висок от този при контролата, последван от Метод II и Метод III (Таблица 1).

Изследванията показват, че SPAD стойностите имат силна положителна корелация със съдържанието на хлорофил и ясно отразяват неговата концентрацията в листата. От Таблица 1 се вижда, че при Метод I, SPAD стойността на листата е очевидно по-висока от тази на контролата (C). При Метод II и Метод III, стойностите са малко по-високи от тези на C. Може да се каже, след обновяването на гъстите овощни градини, условията в тях се променят, така че SPAD стойността се повишава и в същото време и съдържанието на хлорофил в листата се увеличава.

По време на изследването на короните се установи, че различният ъгъл на зенита съответства на различен коефициент на проекцията на директната светлина. Може да се каже, че когато попада светлина с различен ъгъл на зенита, светлинната пропускливост, ще бъде различна. Ако проникването на светлина в овощните градини е добро, припокриването на клони и листа ще бъде малко. Огряването на средните и ниските части на дърветата ще бъде по-добро и използване на слънчева енергия ще бъде подобрено. От

From Table 1, by Method I, the canopy light transmittance rate is the highest, about 84% higher than that of C, which is followed by Method II, Method III and C.

Researches show that the SPAD value has strong positive correlation with chlorophyll content and clearly reflects the chlorophyll concentration of leaves.

From Table 1, by Method I, the SPAD value of leaves is obviously higher than that of C. By Method II or Method III, the SPAD value is a little higher than that of C. That is to say, after renovation of airtight orchards, the environment of orchards has changed, so the SPAD value of leaves has increased and the chlorophyll content has increased at the same time.

During the research of canopy, different zenith angle corresponds to different direct light projection coefficient.

That is to say, when light enters with different zenith angle, the light transmittance would be different.

If the light transmittance of orchards is good, the overlapping of branches or leaves would be little and then the illumination on the middle and low parts of trees would be more and the solar energy utilization would be improved.

данните в Таблица 2 се вижда, че коефициента на проекцията на директната светлина при тези три метода на обновяването е по-висока от тази на контролния вариант, до известна степен. Най-високият коефициент на проекция е 0.837, когато ъгълът на зенита е 6 градуса, а най-ниският коефициент е 0,262, когато този ъгъл е 54 градуса. Последователността от високо към ниско ново е следната: Метод I > Метод II > Метод III > C (контролата).

From Table 2, the direct light projection coefficient of these three methods of renovation was higher than that of control (C) to some degree.

The highest projection coefficient is 0.837 when the zenith angle is 6 degrees and the lowest projection coefficient is 0.262 when the zenith angle is 54 degrees. The sequence from high to low: Method I > Method II > Method III > C.

Таблица 2. Влияние на различните методи върху коефициента на проекцията на директната светлина
Table 2. Effects of different methods to direct light projection coefficient

Методи Methods	Ъгъл на зенита Zenith angle					Средно Average
	6	18	30	42	54	
Method I	0.837	0.723	0.637	0.513	0.493	0.641
Method II	0.657	0.631	0.616	0.567	0.547	0.604
Method III	0.463	0.458	0.434	0.421	0.398	0.435
Контрола / C	0.218	0.248	0.287	0.287	0.262	0.260

Екстинкциониият коефициент на светлината (K) е важен показател, за да се опише разпределянето на светлината. Този коефициент на листата в короните отразява листната площ, вертикалното разпределение на листните ъгли и адиабатно разсейване на светлината. Под влияние на различната пространствена ориентация на листата и посоката на постъпващата слънчева радиация, различните участъци от листа ще имат различен отслабващ ефект върху пряката слънчева радиа-

Light extinction coefficient (K) is one important parameter to describe group light distribution.

The light extinction coefficient of levels of canopy reflects the leaves area, vertical distribution of leaf angles and adiabatic lapse of light.

Under different leaf spatial orientation and different direction of incoming solar radiation, group leaf areas would have different weakening effects on direct solar radiation. If K is small, it is

ция. Ако K е малък, това е от полза за светлинната пропускливост и нетната асимилация е висока. Екстинкционният коефициент при тези три метода е по-нисък от този на контролния вариант (Таблица 3). Най-високият коефициент е 0.962, когато зенитният ъгъл е 54 градуса (при контролата), а най-ниският е 0.203, когато ъгълът на зенита е 6 градуса (Метод I). Приложените методи се подреждат в следния низходящ ред: C > Метод III > Метод II > Метод I.

beneficial for light transmittance and net assimilation rate is high.

From Table 3, the extinction coefficient of these three methods is lower than that of C. The highest extinction coefficient is 0.962 when zenith angle is 54 degrees in C and the lowest one is 0.203 when the zenith angle is 6 degrees in Method I. The sequence is from high to low: C > Method III > Method II > Method I.

Таблица 3. Влияние на различните методи върху екстинкциония коефициент на светлината
Table 3. Effects of different methods to light extinction coefficient

Методи Methods	Ъгъл на зенита Zenith angle					Средно Average
	6	18	30	42	54	
Method I	0.203	0.290	0.413	0.590	0.863	0.472
Method II	0.397	0.467	0.561	0.694	0.899	0.604
Method III	0.535	0.578	0.634	0.703	0.912	0.672
Контрола / C	0.835	0.850	0.873	0.905	0.962	0.885

Фотосинтезата, междуклетъчната концентрация на CO2, карбоксилирането, транспирацията и ефективността на използване на водата имат преки или косвени връзки със състоянието и продуктивността на ябълковите дървета.

Нетната фотосинтеза при всичките три метода на ренови-ране е по-висок от този на контролата (Таблица 4). Според изследванията, колкото по-голяма е плътността на градината, толкова по-нисък е коефициента на фотосинтезата. Най-

The photosynthetic rate, intercellular CO_2 concentration, carboxylation, transpiration rate and water use efficiency of apple trees would have direct or indirect relations with state and productivity of trees.

The net photosynthetic rate after all three methods of renovation is higher than that of C (Table 4). According to research, the greater the density is, the lower the photosynthetic rate is. The highest rate is 15.65μmol·$m^{-2}s^{-1}$ in Method I, which indicates

високият ръст е 15.65μmol $m^{-2}s^{-1}$ при Метод I, което показва, че методът може да подобри проветряването и огряването и по този начин да увеличи фотосинтезата.

that Method I could improve airing and lighting and then increase the photosynthetic rate.

Таблица 4. Влияние на различните методи върху индексите на фотосинтезата

Table 4. Effects of different methods to photosynthesis indexes

Методи Methods	Фотосинтеза Photosynthetic rate	Междуклетъчна концентрация на CO_2 Intercellular CO_2 concentration	Карбоксилиране Carboxylation	Транпирация Transpiration rate	Ефективност на използване на водата Water use efficiency
	$\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$	$\mu mol.mol^{-1}$	$mol.mol^{-1}$	$mmol.m^{-2}.s^{-1}$	$\mu mol.mol^{-1}$
Method I	15.65	200.32	0.078	2.48	6.31
Method II	15.33	212.58	0.072	2.51	6.11
Method III	14.24	218.36	0.065	2.37	6.01
Контрола/C	13.35	221.45	0.060	2.40	5.56

От данните в Таблица 4 се вижда, че когато плътността на овощните градини се увеличава и междуклетъчната концентрация на CO_2 се увеличава. Концентрация на CO_2 в листата и при трите метода на обновяване е по-ниска от тази на контролата. Най-високата концентрация на CO_2 е 221.45μmol mol^{-1} при контролния вариант (C), а най-ниската е 200.32μmol mol^{-1} при Метод I.

Карбоксилирането отразява нивата на междуклетъчната асимилация на CO_2. То е по-високо и при трите проучвани метода, в сравнение с контролния вариант (Таблица 4). С увеличаване на плътността на градината карбоксилирането намалява и то е в положителна корелация с нетната фотосинтеза. Най-ниското ново на карбоксилиране е 0.060 mol•mol^{-1} при

From Table 4, as the density of orchards increases, intercellular CO_2 concentration would increase.

The intercellular CO_2 concentration after all these three methods of renovation is lower than that of C. The highest intercellular CO_2 concentration is 221.45μmol·mol^{-1} in C, and lowest intercellular CO2 concentration is 200.32μmol·mol^{-1} in Method I.

Carboxylation reflects the levels of intercellular CO_2 assimilation. The carboxylation after all these three methods of renovation is higher than that of C (Table 4). As the density increases, the carboxylation decreases and the carboxylation has positive correlation with net photosynthetic rate. The lowest carboxylation is 0.060 mol·mol^{-1} in C and the highest carboxylation is

вариант С, а най-високото е 0.078 mol•mol^{-1} при Метод I.

Не съществуват определени различия между трите методи и контролата по отношение на транспирацията (Таблица 4). Ефективността на използване на водата съответства на количеството на фотосинтезата и карбоксилирането. При трите метода тя е по-висока от тази на контролата и когато плътността намалява, ефективността на използването на водата се повишава. Най-ниската ефективност на използване на водата е 5.56 μmol• mol^{-1} при С, а най-високата е 6.31μmol• mol^{-1} при Метод I.

Външният вид и масата на плодовете, индексите на оцветяване и гладкост след обновяването са по-добри от тези на контролата С. От изследванията в района на Zhaoyuan City тези параметри от високо към ниско ниво са: Метод I > Метод II > Метод III > С. От изследванията в района на Rongcheng City те са: Метод I > С (Таблица 5). Всички резултати показват, че реновирането на сгъстените градини води до намаляване на плътността, подобрявяне на светлинния режим и в крайна сметка до подобряване на всички параметри относно качеството на ябълките.

0.078 mol·mol^{-1} in Method I.

There are no definite differences between three methods and C in terms of transpiration rate which is irregular (Table 4). Water use efficiency corresponds to photosynthetic rate and carboxylation. The water use efficiency after all these three methods of renovation is higher than that of C and as the density decreases, the water use efficiency increases. The lowest water use efficiency is 5.56 μmol·mol^{-1} in C and the highest water use efficiency is 6.31μmol·mol^{-1} in Method I.

From Table 5, the appearance quality, single fruit weight, coloring index and smoothness index after renovation are better than those of C. From the research in Zhaoyuan City, those parameters of apple from high to low were: Method I > Method II > Method III > C. From the research in Rongcheng City those parameters of apple from high to low were: Method I > C. All the results indicate that the renovation of airtight orchards has reduced the density, improved light illumination and then improved all the parameters of apple quality.

Таблица 5. Влияние на различните методи върху качеството на ябълковите плодове
Table 5. Effects of different methods to apple fruit quality

Място Place	Методи Methods	Година Year	Средна маса на плода Average fruit weight, g	Външен вид, индекс Appearance index	Индекс на оцветяването Coloring index, %	Индекс за гладкост Smoothness index,%	Твърдост Firmness, kg/cm^2	Разтворими соли Soluble solid, %	Захари / киселини Sugar-acid ratio
Zhaoyuan City	Method I	2011	206.3	0.87	93.7	98.4	10.1	14.46	20.16
		2012	210.4	0.88	94.2	97.9	9.8	14.70	22.34
		2013	222.8	0.90	94.0	98.0	7.4	13.45	23.48
	Method II	2011	200.1	0.88	91.8	97.2	10.2	14.21	19.96
		2012	209.8	0.88	93.6	96.3	9.8	14.20	20.14
		2013	221.1	0.83	90.0	95.0	7.3	13.14	22.14
	Method III	2011	192.9	0.88	88.5	96.2	10.2	13.24	19.53
		2012	197.6	0.87	90.1	96.1	8.8	13.50	19.42
		2013	192.0	0.92	81.0	89.0	7.1	12.79	22.06
	Контрола / C	2011	181.6	0.88	85.6	92.3	10.5	12.24	19.10
		2012	190.5	0.88	89.4	92.2	9.3	12.80	19.12
		2013	183.0	0.89	81.0	82.0	6.9	12.59	20.15
Rongcheng City	Method I	2011	201.4	0.87	93.5	95.4	8.4	13.30	20.15
		2012	205.6	0.88	95.4	94.8	8.6	14.20	21.15
		2013	196.5	0.87	89.6	90.6	9.2	15.82	19.89
	Контрола / C	2011	195.8	0.88	90.2	92.3	8.0	12.70	19.42
		2012	192.7	0.88	89.9	90.6	8.2	12.80	19.68
		2013	183.6	0.87	90.0	96.0	9.5	15.22	19.14

От 2011 до 2013 г., в сравнение с контролата, чрез премахване на дърветата през един ред (Метод I), средната маса на плодовете, оцветяването, гладкостта, твърдостта и разтворимото сухо вещество, са се увеличили съответно с 15.3%, 10.3%, 10.8%, 3.1% и 13.3%. При премахване на дървета в реда през едно (Метод II) тези показатели са се увеличили съответно с 13.7%, 7.7%, 8.5%, 2.9% и

From 2011 to 2013, compared with C, by deleting one line between two lines, single fruit weight, coloring index, smoothness index, firmness and soluble solid content have increased by 15.3%, 10.3%, 10.8%, 3.1%, and 13.3%, respectively. Compared with C, by deleting one tree between two trees, the same parameters have increased by 13.7%, 7.7%, 8.5%, 2.9%, and 10.5%, respectively. By

10,5%. При премахване на всяко четвърто дърво в реда (Метод III), същите показатели са се увеличили съответно с 4.9%, 1.4%, 5.7% и 5.1%, по отношение на контролата.

Индексът на листната площ (LAI) от анализатора на обема на короните и от взети листни проби от насаждението имат очевидно линейна зависимост. Ако данните от анализатора не се коригират, би имало голямо разминаване с истинската стойност. Ето защо, методът на Zhangjixiang (Zhang et al., 2010) е приложен в този експеримент. Данните са изчислени чрез изтриване на най-външния пръстен (средният ъгъл на зенита е 68 градуса) на окото на обектива. След това грешките между тези данни и данните от взетите извадки са намалели и са се доближили до истинската стойност и отразяват същинския индекс на листната площ на овощната градина.

Слънчевата светлина е основен фактор за качеството на плодовете, който засяга не само оцветяването, но също така и придвижването и натрупването на въглехидратите (Ellis and Grindle, 1981; Zhang et al., 1999; Sun et al., 2000). При реновирането на сгъстените овощни градини, премахването на дърветата през ред подобрява огряването и намалява индекса на листа площ (Таблица 1), по-ниските и вътрешните части на

deleting every four trees in the line, they have increased by 4.9%, 1.4%, 5.7%, and 5.1%, compared to the control.

LAI by canopy analyzer and LAI by block sampling have obvious linear correlation.

If data by canopy analyzer are not adjusted, there would be a great distance from true value.

Therefore, Zhangjixiang's method (Zhang et al., 2010) was adopted in this experiment.

Data were calculated by deleting the outermost ring (the average zenith angle is 68 degrees) of fisheye lens and then error between these data and data by block sampling decreased, which were closer to the true value and reflected the true leaf area index of orchards.

Light illumination is one primary factor for fruit quality, which affects not only the coloring but also the transportation and accumulation of carbohydrate (Ellis and Grindle, 1981; Zhang et al., 1999; Sun et al., 2000).

In the renovation of airtight orchards, interlaced thinning has improved the light illumination, reduced the leaf area index (Table 1) to make low and interior parts of canopy get more illumination,

короната получават повече светлина, увеличава се съдържанието на хлорофила (Таблица 1) и параметрите на фотосинтеза (Таблица 4), повишават се индексите за качеството на плодовете (Таблица 5), броят на стоковите плодове се увеличава.

Премахването на дърветата през един ред и премахване в реда през едно водят до отстраняване на един и същ брой дървета, но в действителност първият начин е по-добър от втория. Вероятната причината е ъгълът под който пада слънчевата светлина върху листата, което изисква по-нататъшни изследвания.

increased the chlorophyll content (Table 1) and parameters of photosynthesis (Table 4), the number of commodity fruits is increased.

Interlaced thinning and septum strain thinning delete the same number of trees in orchards, but actually the former one does better than the latter one.

Probably the reason has relation to solar incident angle, which requires further research.

ИЗВОДИ

При трите метода за реновиране на гъсти ябълкови градини с препокриващи се корони индексите на фотосинтезата са по-добри от тези на контролата. Метод III има най-малка разлика с контролния вариант. Не е коректно да се прави извод, че фотосинтезата би могла да се подобри, ако не се премахнат достатъчно дървета. Само когато се отстранят достатъчен брой дървета е възможно фотосинтезата да се подобри значително.

По отношение на индекса на листната площ, фотосинтезата, стойностите на хлорофила (SPAD стойностите) и качеството на ябълковите плодове, Метод I е най-добрият метод, последван от Метод II и Метод III.

CONCLUSIONS

After all these three methods for renovation of airtighted apple orchards the indexes of photosynthesis are better than that of the control (C). Among these three methods, Method III has the least difference with C. It is safely concluded that the photosynthesis might improve a little if we do not delete enough trees. Only when we delete enough trees does the photosynthesis greatly improve.

In terms of index of the leaf area, photosynthesis, chlorophyll values (SPAD values) and the quality of apple fruits, Method I is the best method, followed by Method II and Method III.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Ellis S W, Grindle M.** Effect of osmotic stress on yield and polyolcontent of dicarboximide sensitive and resistant strains of Neurospora crassa. *Mycological Research,* 1981, 95: 457-464.
2. **Kikuchi T, Shiozaki Y, Asada T, et al.**, Light and fruit distribution within a canopy of Fuji app le trees trained to a traditional open center system in Japan. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 1994, 62:761-768.
3. **Liu CS, Pu YY.** 1987. Studies on the relationship between app le fruit quality of'Delicious'strains and meteorological conditions. *Acta Horticulturae Sinica*, 14 (2): 73-80.
4. **Nie P.X, Xue XM, Wang J.Z, et al.** Study on thinning effect in high- density apple orchards. Shandong Agric.ultural Sciences, 2011, 5:37-39.
5. **Sun J.S, Ma B.K, Zhang W.C.** The study on the characters of needed light in the coloration of "Fuji" apple skin. *Acta Horticulturae Sinica*, 2000, 27(3): 213-215.
6. **Wei Q.P, Zhang J.X, Mao Z.Q, et al.** Optimum meteorological factors and climate divisions of app le for good quality. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(5): 713-716.
7. **Wei Q.P, Lu R.Q, Zhang X.C, et al.** Relationships between distribution of relative light intensity and yield and quality in different tree canopy shapes for 'Fuji' apple. *Acta Horticulturae Sinica*, 2004, 31 (3): 291-296.
8. **Yang Z.W, Zhou Y.W, Fu Y, et al.** Relationship between microclimatic character of different crown types and fruit quality of Fuji apple. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1998, 9 (5): 533-537.
9. **Zhang X.C, Zhang W.H, NIU Z.M.** Leading in open center shape lead to apple quality cultivation. *Shanxi Fruits*, 1999, 77(3): 6-8.
10. **Zhang J.X, Wei Q.P, Zhang J., et al.** Leaf area indes estimated with plant canopy analyzer in apple orchards and analysis of its reliability. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(2):185-192.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 3, 2016, (173-183)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

Влияние на органичното торене върху фитонематодите при биологично производство на ягоди

Елена Цолова[1] и Лиляна Колева[2*]

[1]Институт по земеделие-Кюстендил, ул. „Софийско шосе“, 2500 Кюстендил, България
[2]Лесотехнически университет, София, бул. „Климент Охридски“ 10, 1756 София, България
**E-mail: liljanamarkova@abv.bg*

Effects of organic fertilization on the community structure of plant-parasitic nematodes in strawberry plantations under organic farming conditions

Elena Tsolova[1] and Lilyana Koleva[2*]

[1]Institute of Agriculture-Kyustendil, Sofjisko shose Str., 2500 Kyustendil, Bulgaria
[2]University of Forestry, Sofia, 10 Kliment Ohridski Blvd., 1756 Sofia, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

Биологичното производство на ягоди Fragaria × ananassa (Duch.) Decne. & Naudin се увеличава в световен мащаб, но въпреки това познанията относно влиянието на културални практики върху полезната и вредна фауна са недостатъчни. При ягодите вредят редица видове фитонематодите, които са тясно свързани с растения гостоприемници. Те често се срещат в съвместни популации със свободно живеещите почвени нематоди. Целта на настоящата работа е да се проучи влиянието на органичното торене върху растително-паразитните нематоди при биологично производство на ягоди.

Наблюдението върху нематодната фауна беше осъществено през вегетационния период на площ 10 ha, биологично отглеждани ягоди в района на Стара планина, село Средогрив

SUMMARY

Organic production of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* (Duch.) Decne. & Naudin) is increasing world-wide, but knowledge about the influence of cultural practices especially organic fertilization and amendments on the beneficial and harmful fauna is empirical rather than field-based. Some species of plant-parasitic nematodes, which are closely related to the host plants, damage strawberry plants. They can occur in populations with joint free-living soil nematodes. The aim of this work was to study the organic fertilization effects on plant-parasitic nematodes in organic strawberry production systems.

The investigation of the nematode populations was carried out in the region of Balkan Mountain Range, village Sredogriv (43.549 N, 22.786 E) during the vegetation period on an area of 10 ha,

(43.549 N, 22.786 E)), сорт"Зенга-Зенгана". Идентифицирани бяха следните родове фитонемотоди *Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Hoplolaimus*, *Helicotylenchus*. Установените показатели относно структурата на нематодните съобщества могат да се използват като биоиндикатори за здравното състояние на насаждението.

Органичното торене потиска вредната дейност на фитонематодите и представлява инструмент за устойчиво управление на нематодите, от което следва да бъде включено в стратегиите за управление на вредителите при биологично производство на ягоди. Въпреки това, е необходимо по-добро проучване на механизмите на влияние върху съществуващите почвени условия. Например, новите изследвания трябва да бъдат насочени към оптимизиране на минерализацията в почвата и задълбочено анализиране на взаимодействията между почвените организми.

Ключови думи: ягоди, биологично земеделие, контрол на фитонематоди

with cultivar 'Senga Sengana'. The following genera of plant-parasitic nematodes were dominated: Pratylenchus, Tylenchorhynchus, Hoplolaimus, Helicotylenchus. The established indicators of the nematode communities can be used as bioindicators for changes in soil and health status of the plantation.

Organic fertilization suppresses harmful activity of the plant-parasitic nematodes and a tool for sustainable management of nematodes, which should be included in strategies for pest management in organic production of strawberries. Although, it is better study the mechanisms of influence on the existing soil conditions.

New researches for example should be directed towards optimizing the mineralization in soil and thorough analysis of interactions between soil organisms.

Key words: strawberry, organic farming, plant-parasitic nematodes management

УВОД

Биологичното отглеждане на ягоди *Fragaria* × *ananassa* (Duch.) Decne. & Naudin е ново и перспективно направление в производство на тази култура в България. Успешното производство се базира основно на избор на подходящи площи и сортове, използване на здрав посадъчен материал, прилагане на биологични и други екологосъобразни методи за контрол с болестите и неприятелите. Освен това е необходимо добро управление на хранителните вещества в почвата.

Органичното торене подоб-

INTRODUCTION

In Bulgaria, the organic cultivation of strawberries *Fragaria* × *ananassa* (Duch.) Decne. & Naudin is a new and promising direction in the production of this crop. The successful production is based mainly on the selection of appropriate areas and cultuvars, the use of healthy seedlings, application of organic and other environmentally friendly methods to control diseases and pests. In this context, it is also necessary to create the better management of soil nutrients.

The organic fertilization

рява хранителния режим и създава условия за повишена биологична активност в почвата. Изследванията относно влиянието на органичното торове върху почвената фауна са многобройни и включват различни групи животни (Burmeister et al., 2015). Използваните органични торове не са предназначени за контрол с вредителите, но имат косвено въздействие върху техните популации.

При ягодите вредят редица видове фитонематодите, които обитават почвата. Те често се срещат неравномерно и обикновено имат широк кръг от гостоприемници (Sikora & Schuster 2000).

Внасянето на органична материя като мярка за контрол на фитонематодите е обект на голям брой проучвания (Akhtar & Malik, 2000; D'Addabbo, 1995; Litterick et al., 2004; Oka, 2010). Редуциране на нематодните съобщества може да се наблюдава при разграждане на органичната материя в почвата (Noling, 2001). Органичното торене може да доведе до намаляване числеността на фитонематодите (Jaffee et al., 1994; McSorley & Gallaher, 1995a), но в някой случай може да се наблюдава увеличаване (Kimpinski et al., 2003; Belair and Tremblay, 1995). Предвид литературните сведения може да се заключи, че докато при употреба на органични торове не винаги се наблюдава потискащ ефект върху

improves availability of nutrients and creates conditions to increase the biological activity in the soil. The studies on the effect of organic fertilizers on soil fauna are numerous and include various groups of animals (Burmeister et al., 2015). The application of organic fertilizers is not intended to pest control, but has an indirect effect on their populations.

Strawberries are attacked by number of species plant-parasitic nematodes that inhabit the soil. The nematodes are often spread irregularly over a large area and usually have a broad host range (Sikora & Schuster 2000).

The introduction of organic matter as a measure to control of plant-parasitic nematodes is the subject of numerous studies (D'Addabbo, 1995; Akhtar & Malik, 2000; Litterick et al., 2004; Oka, 2010). Reduction of nematode populations can be observed in the decomposition of organic matter in the soil (Noling, 2001). The organic fertilizers can decrease the number of plant-parasitic nematodes (Jaffee et al., 1994; McSorley & Gallaher, 1995a), but in some cases it can lead to increasing numbers of nemathodes (Belair and Tremblay, 1995; Kimpinski et al., 2003). According to the literature findings, it can be concluded that while the use of organic fertilizers not always observed suppressive effect on the

дава потискащ ефект върху фитонематодите (Thoden et al., 2011), то измененията в биохимичния състав на почвата водят до промени в структурата на нематодните съобщества (Chauvin et al., 2015). Във тази връзка определянето на видовия състав на нематодите е от съществено значение за устойчиво биологично производство на ягоди, от което произтича и целта на настоящата работа: да се проучи влиянието на органичното торене върху видовият състав на растително-паразитните нематодни съобщества в почвата.

nematode populations (Thoden et al., 2011), the variations in the biochemical composition of the soil always lead to changes in the structure of nematode communities (Chauvin et al., 2015).

In this regard the determination of the species composition of nematodes is essential for sustainable organic production of strawberries. Hence, the objective of this work is to study the influence of organic fertilization on species composition of plant-parasitic nematode communities in the soil.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Наблюдението върху нематодната фауна беше осъществено през вегетационния период (2012-2014 г.), в района на Стара планина, село Средогрив (43.549 N, 22.786 E). Ягодовото насаждение е създадено през 2012 г. на площ 10 ha, с основен сорт – Зенга Зенгана. Преди засаждане на растенията не бе извършено предпосадъчно минерално торене. Всички използвани продукти за растителна защита и торове за подхранване са разрешени за биопроизводство.

Използвани са следните торове Hemofol N 4, Hemosym NK и Hemosym BIO N5. Торовете бяха внасяни по утвърдена схема. Насаждението е сертифицирано за биологично производство на ягоди от Балкан Биосерт-Пловдив (Balkan Biocert

MATERIAL AND METHODS

The monitoring of the nematode fauna was carried out during the vegetation period (2012-2014), in the region of Balkan Mountain Range, village Sredogriv (43.549 N, 22.786 E). The strawberry plantation was established in 2012 on an area of 10 ha, with major cultivar ‘Senga Sengana’. Before planting, the plants were not fertilized pre-sowing with mineral fertilizer. All the plant protection products and fertilizers to nourish were authorized for use in the organic farming.

These fertilizers were used Hemofol N 4, Hemosym NK and Hemosym BIO N5. The fertilizers were imported under an approved scheme. The plantation is certified for organic farming by Balkan Biocert Plovdiv (Balkan Biocert

BG02).

Времето за вземане на растителни и почвени проби бе съобразено с препоръчаното от Knuth et al. (2003). Почвените проби се вземаха на случаен принцип от редовете и междуредията с почвена сонда. Дълбочината на вземане на пробите бе от 0-15 cm. Растителните проби (корени и листа) се вземаха на случаен принцип. Поставяха се в найлонови пликове, плътно затворени и се съхраняваха в хладилник при 4-5°C до извършване на лабораторните анализи. След смесване на пробите, с помощта на мерителен цилиндър бяха съставени средни проби от 100 cm^3. Получените количествени и качествени данни, се отнасят към този обем. За извличането на подвижните стадии на фитонематодите беше използван метода на Cobb и модифициран фуниевидния метод на Baermann (Townshend, 1963). В допълнение пробите бяха изследвани за наличие на цисти на цистообразуващи нематоди чрез флотационни методи. За да се обхване точно броя на изолираните индивиди, течността с нематодите бе напълнена до 100 ml с вода. Получената суспензия бе прехвърляна (5 пъти по 1 ml) в Bogorov Modified Counting Chamber. Под стереомикроскоп първоначално се изброяваха всички нематоди и при повторно преброяване при наличие се отделяха растителните паразит-

BG02).

The period of sampling of plant and soil samples was recommended by Knuth et al. (2003). The soil samples were taken randomly from rows and row spacing with soil probe. The depth of sampling was from 0-15 cm.

Plant samples (roots and leaves) were taken randomly. The samples were placed into plastic bags, sealed and stored in a refrigerator at 4-5 °C to perform laboratory analysis. After mixing the samples, the average samples of 100 cm^3 were determined by means of a measuring cylinder.

The resulting quantitative and qualitative data was related to this volume. For the extraction of the mobile stages of plant-parasitic nematodes, the method of Cobb and the Baermann pan method were used (Townshend, 1963).

In addition, the samples were examined for the presence of cyst nematodes by flotation methods. The liquid nematode culture was filled to 100 ml with water to include the number of extracted individuals. The suspension was transferred (5 times per 1 ml) into Bogorov Modified Counting Chamber.

Initially, all nematodes were counted under stereomicroscope and the plant parasitic nematodes were separated at recount. The

ни нематоди. Средният брой живи нематоди в пробата (100 cm^3) в изходната суспензията от 100 ml бе определен по Peters (2013). За определяне на таксономичната принадлежност на фитонематодите бяха използвани определителите на Andrassy (1998), Ruess (2003), Castillo & Vovlas (2007) и други. Поради сложността на процеса на идентификация нематоди бяха определени до род.

average number of live nematodes in the sample (100 cm^3) in the starting suspension of 100 ml was determined by Peters (2013). The taxonomic identity of plant-parasitic nematodes was determined by using the identification books by Andrassy (1998), Ruess, (2003), Castillo and Vovlas (2007) and others. Due to the complexity of the process of identification, the extracted nematodes were determined up to genus level.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При нематологичен почвен анализ преди засаждане на ягодите бе установено наличие на мигриращи ендопаразитни нематоди от сем. Pratylenchidae, като във всички проби тези нематоди бяха под прага на икономическа вредност. Установени бяха и ектопаразитни нематоди от род *Paratylenchus* в много малка плътност и не биха представлявали заплаха за насаждението. Не бяха установени нематоди-вирусопреносители от семействата Longidoridae и Trichodoridae, както и инвазионни ларви на галовите нематоди от род *Meloidogyne*.

При обработка на почвените и растителните проби бяха екстрахирани общо 1114 инд./100 cm^3 немато-ди, от които 460 инд./100 cm^3 фитонематоди. Най-голям брой фитонемотоди нематоди бяха установени през 2013, следвани от 2012

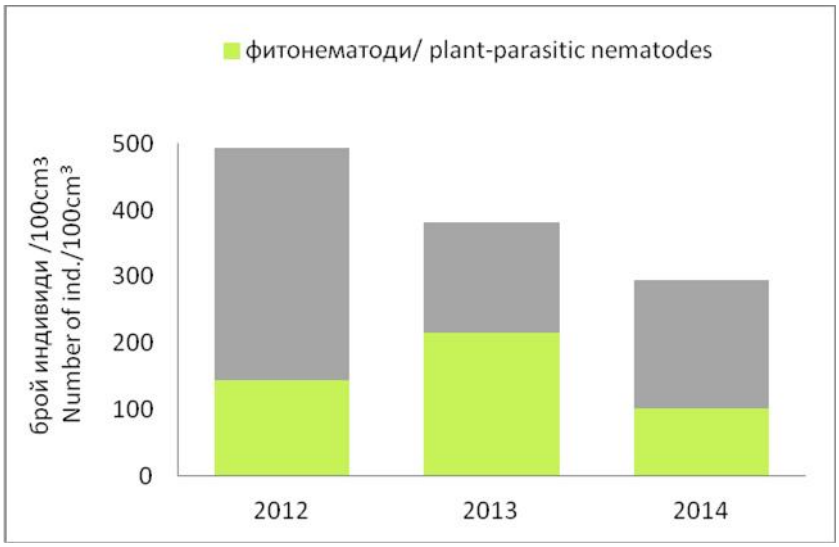
RESULTS AND DISCUSSION

The nematological analysis of soil samples before planting of strawberries shows pretense of migratory endoparasitic nematodes of the family Pratylenchidae, and in all samples these nematodes were below the economic threshold. Ectoparasitic nematodes of the genus Pratylenchus were also present, but in very low density and would not pose a threat to the plantation. The virus-vector nematodes of families Longidoridae and Trichodoridae were not found, and invasive larvae (2^{nd} juvenile stage) of plant-parasitic root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne*.

During processing of the soil and plant samples, a total number of 1114 ind./100 cm^3 nematodes were extracted, 460 ind./100 cm^3 of them were plant-parasitic nematodes. The largest number of plant-parasitic nematodes was established in 2013, followed by

съответно 144 инд./100 cm^3 и 215 инд./100 cm^3. Най-ниска бе числеността на нематодите през 2014 г. 101 инд./100 cm^3 (Фигура 1).

2012 resp. 144 ind./100 cm^3 and 215 ind./100 cm3. The lowest was the number of nematodes in 2014 (101 ind./100 cm^3) (Figure 1).



Фиг. 1. Численост на нематодите през периода на изследването
Fig. 1. Density of nematodes in the sturdy period

В почвените проби бяха идентифицирани следните родове фитонемотоди *Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus, Hoplolaimus*, *Helicotylenchus*. В растителните проби фитонематоди не бяха открити, с изключение на пробите от 2014, където бяха установени 2 броя нематоди от род *Paratylenchus*, които са със слабо изразена патогенност при растенията. Листни фитонематоди не бяха открити.

Установените таксони се подреждат систематично по следния начин:

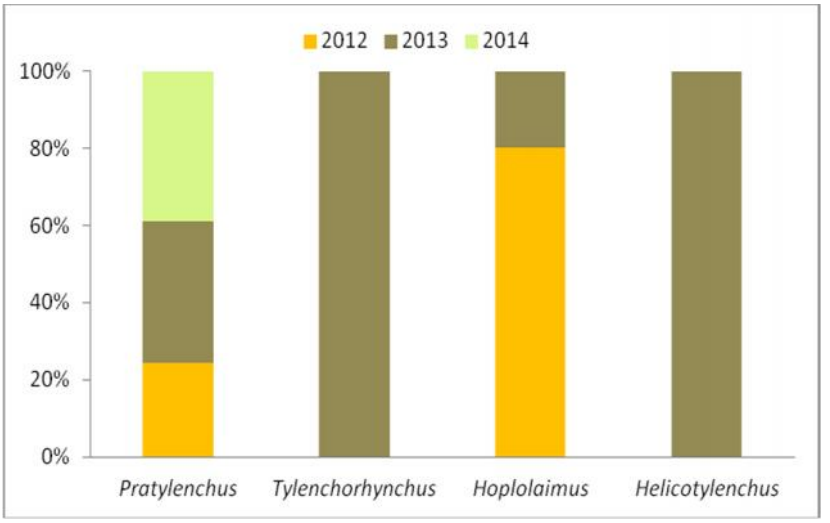
The following genera of plant-parasitic nematodes *Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus, Hoplolaimus*, *Helicotylenchus* were identified in soil samples. The plant-parasitic nematodes in the plant samples were not found, apart from 2014. In these samples 2 nematodes of *Paratylenchus* sp. were established, which have a slight pathogenic effect. Leaf nematodes were not found.

The identified taxa are arranged systematically as follows:

Kingdom: Animalia
Subkingdom: Eumetazoa
Phylum: Nematoda
Class: Secernentea
Order: Tylenchida
Suborder Hoplolaimina
Superfamily Hoplolaimoidea
Family: Pratylenchidae
Genus: *Pratylenchus* Thorne 1949
Pratylenchus sp.
Family: Hoplolaimidae
Genus: *Hoplolaimus* Daday 1905
Hoplolaimus sp.
Genus: *Helicotylenchus* Steiner 1945
Helicotylenchus sp.
Superfamily: Dolichodoroidea
Family: Telotylenchidae
Genus: *Tylenchorhynchus* Cobb 1930
Tylenchorhynchus sp.
Suborder: Criconematina
Superfamily: Criconematoidea
Family: Paratylenchidae
Genus: *Paratylenchus* Micoletzky 1922
Paratylenchus sp.

На Фигура 2 е представено съотношението между установените родовете на растително-паразитни нематоди. Видовете *Paratylenchus* spp. присъстваха през трите години на изследването, докато *Tylenchorhynchus* spp. и *Helicotylenchus* spp. само през 2013 г.

The Figure 2 shows the relationship between the established genera of plant-parasitic nematodes. The species *Pratylenchus* spp. were present over the three years of the study, while *Tylenchorhynchus* spp. and *Helicotylenchus* spp. only in 2013.



Фиг. 2. Относителен дял (%) на установените родове фитонематоди
Fig. 2. Relative proportion (%) of identified genera of plant-parasitic nematodes

Получените резултати в това проучване описват фитонематодните съобщества в продължение на три години в ягодово насаждение при условията на органично торене. Те се отнасят до промените в числеността и структурата, случвали се по време на периода на изследванията. От нашия анализ е видно, че при прилагане на органичните почвени торове числеността на фитонематодите се променя, като значимо повишаване на тяхната численост не бе наблюдавано. Повишаване бе отчетено през 2013 и спад през 2014 г. В нашите изследвания бяха установени представители предимно от род *Pratylenchus,* чиято плътност бе под прага на вредност. За подобни резултати съобщават и други автори McSorley, (2011). Thoden (2011) обобщава ефекта от органичното торене при видовете *Meloidogyn*e spp. *Globodera* spp., *Heterodera* spp., *Xiphinema* spp., *Pratylenchus* spp. Според анализираните литературни източници органичните торове и промените, които настъпват в почвата трябва да бъдат внимателно преценени относно полезното им въздействие и механизмите, които предоставят за управление на фитонематодите.

От получените резултати е видно, че органичното торене влияе върху числеността и структурата на фитонематодите.

The obtained results in this study describe the nematode communities during three years in the strawberry crop under of organic fertilization. It is about changing the density and structure that occurred during the study period. A key result from our analysis shows that the application of organic fertilizers changes the number of plant-parasitic nematodes and a significant increase in their number was not observed. Increase was recorded in 2013, and a decrease in 2014 In our researches we found that most abundant species were of the genus *Pratylenchus*, whose density was below the economic threshold.

Other authors reported for similar results (McSorley, 2011). Thoden (2011) summarizes the effects of organic fertilization on species *Meloidogyne* spp. *Globodera* spp., *Heterodera* spp., *Xiphinema* spp., *Pratylenchus* spp.

According to the literature data, the organic fertilizers and all changes that occur in soil must be carefully evaluated regarding to their beneficial impact and control mechanisms of plant-parasitic nematodes.

From the results obtained during this investigation, it can be concluded that organic fertilization influences the density and

То може да бъде включено в стратегиите за управление на вредителите при биологично производство на ягоди. Новите изследвания трябва да бъдат насочени към оптимизиране на минерализацията в почвата и задълбочено анализиране на взаимодействията между почвените организми.

structure of plat-parasitic nematodes. It can be incorporated into the management process for pest control in organic production of strawberries. Future work should be directed towards to optimize the soil mineralization and to analyze the interactions between soil organisms and plant.

ИЗВОДИ

- Числеността на фитонематодите бе различна през периода на изследване. Най-висока численост бе отчетена 2013 г., следвана от 2012 г. и най-ниска бе числеността през 2014 г.
- Видовият състав се характеризира със сравнително малко таксони до 5 рода, принадлежащи към 4 семейства. Най-често срещани са видовете от род *Paratylenchus*.
- Резултатите предоставят на производителите актуална информация за полезни практи-и за контрол с вредителите при биологичното производство на ягоди.

CONCLUSIONS

- The density of plant-parasitic nematodes was different during the study. The highest density was recorded in 2013, followed by 2012 and the lowest density was in 2014.
- The species composition is characterized by relatively few taxa to 5 genera belonging to four families. Most common are species of the genus *Paratylenchus*.
- The results provided the farmers current information on best practices to control pests in organic production of strawberries.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Akhtar M., Malik A**. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. Bioresource Technology, 2000, 74(1), pp. 35-47.
2. **Andrassy I.** Nematodes in the sixth continent. *J Nematode Morphol Syst.*, 1998, 1, pp. 107-186.
3. **Belair G., Tremblay N.** The influence of chitin-urea amendments applied to an organic soil on a Meloidogyne hapla population and on the growth of greenhouse tomato. *Phytoprotection*, 1995, 76, pp.75-80.
4. **Burmeister J., Walter R., Fritz M.** Düngung mit Biogasgärresten – Auswirkungen auf Bodentiere. In: Biogas Forum Bayern Nr. I - 27/2015, Hrsg. ALB Bayerne.V., 2015.
http://www.biogasforumbayern.de/publikationen/Auswirkung_der_Dungung_mit_Biogasgarresten_auf_die_Bodentiere.pdf.

5. **Castillo P., Vovlas N.** Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. *Nematology Monographs and Perspectives*. Brill, 2007, 6, p. 529.
6. **Chauvin C., Dorel M., Villenave C., Roger-Estrade J., Thuries L., and Risède J. M.** Biochemical characteristics of cover crop litter affect the soil food web, organic matter decomposition, and regulation of plant-parasitic nematodes in a banana field soil. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96, pp. 131-140.
7. **D'Addabbo T.** The nematicidal effect of organic amendments: a review of the literature, 1982-1994. *Nematología mediterránea*, 1995, 23 (2), pp. 299-305.
8. **Jaffee B. A., Ferris H., Stapleton J. J., Norton M. V. K., Muldoon A. E.** Parasitism of nematodes by the fungus Hirsutella rhossiliensis as affected by certain organic amendments. *Journal of Nematology*, 1994, 26, pp. 152-161.
9. **Kimpinski J., Gallant C. F., Henry R., Macleod J. A., Sanderson J. B., Stur A. V.** Effect of compost and manure soil amendments on nematodes and yields of potato and barley: a 7-year study. *Journal of Nematology*, 2003 35, pp. 289-293.
10. **Knuth P., Lauenstein G., Ipach U., Braasch H., Müller J.** Untersuchungsmethoden für pflanzenparasitäre Nematodenarten, die in Deutschland von Rechtsvorschriftenbetroffen sind. Braunschweig: *Eigenverlag, Ber. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch*., 2003, 121, pp. 1-49
11. **Litterick A. M., Harrier L., Wallace P., Watson C. A., Wood M.** The role of uncomposted materials, composts, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production—*A review. Critical Reviews in Plant Sciences*, 2004, 23(6), pp. 453-479.
12. **McSorley R.** Overview of organic amendments for management of plant-parasitic nematodes, with case studies from Florida. *Journal of Nematology*, 2011, 43(2), pp. 69-81.
13. **McSorley R., Gallaher R. N.** Cultural practices improve crop tolerance to nematodes. *Nematropica*, 1995, 25(1), pp. 53-60.
14. **Noling J. W.** Nematodes and Their Management. Entomology and Nematology. Department ENY-625. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2001. *http://edis.ifas.ufl.edu/body_cv112*
15. **Oka Y.** Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments – *A review. Applied Soil Ecology*, 2010, 44, pp. 101-115.
16. **Peters A., Stepper F., Iwahn K., Kölzer U**. Qualitätssicherung von entomopathogenen Nematoden. *DGaaE-Nachrichten*, 2003, 17, p. 16.
17. **Ruess L.** Nematode soil faunal analysis of decomposition pathways in different ecosystems. *Nematology*, 2003, 5, pp. 179-181.
18. **Sikora R. A., Schuster R. P**. Handbuch der phytonematologie. Shaker. Verlag, Aachen, 2000.
19. **Thoden T. C., Korthals G. W., Termorshuizen A. J.** Organic amendments and their influences on plant-parasitic and free-living nematodes: a promising method for nematode management. *Nematology*, 2011, 13(2), pp. 133-153.
20. **Townshend J. L. A.** Modification and Evaluation of the Apparatus for the Oostenbrink Direct Cottonwool Filter Extraction Method. *Nematologica*, 1963, 9(1), pp. 106-110.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 19, 3, 2016, (184-196)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

Изследване влиянието на предварителната обработка на къпини върху съдържанието на полифеноли, антоциани и антиоксидантен капацитет в сокове получени от тях

Красимира Петрова[1*], Петя Иванова[1], Кирил Михалев[2], Диян Георгиев[3]

[1]Институт за изследване и развитие на храните, 4000 Пловдив, България
[2]Университет по хранителни технологии, 4020 Пловдив, България
[3]Институт по планинско животновъдство и земеделие, 5600 Троян, България
**E-mail: krasi_petrova80@abv.bg*

Study the influence of pre-treatment of blackberries on the content of polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity in the juices obtained from them

Krasimira Petrova[1*], Petya Ivanova[1], Kiril Mihalev[2], Diyan Georgiev[3]

[1]Food Research and Development Institute, 4000 Plovdiv, Bulgaria
[2]University of food technologies, 4020 Plovdiv, Bulgaria
[3]Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 5600 Troyan, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

Целта на това проучване е да се изследва влиянието на предварителната обработка на суровината върху съдържанието на общи полифеноли, общи мономерни антоциани и антиоксидантна активност на сокове от три сорта къпини – „Дирксен", "Блек Сатин" и „Хул Торнлес". Използвани са два технологични подхода – класически и с обработка чрез финно смилане при получаване на монокомпонентни сокове.

Суровините са отгледани и подбрани от специалисти от Институт по планинско животновъдство и земеделие-Троян.

Установи се, че с приложеният технологичен подход включващ етапа на фино смилане се увеличават стойностите на показателите спрямо

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effect of pre-treatment of the raw material on the content of total polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity of juices of three varieties blackberries – "Dirksen", "Black Satin" and "Hull Thornless". Two technological approaches were used – classic and processing through fine grinding in obtaining mono-component juices.

Raw materials were grown and selected by experts from the Research institute of mountain stockbreeding and agriculture-Troyan.

It was found that the applied technological approach with stage of fine grinding increases the values of tested parameters compared to raw material,

изходната суровина, докато при сокове-те получени по класическия метод се наблюдава обратната тенденция. След статистическа обработка на данните за всички разработени варианти на сокове методът на получаване оказва влияние върху съдържанието на изследваните показатели ($p<0.05$).

С най-високо съдържание на общи полифеноли и антоциани е разработеният сок от сорт „Дирксен" съответно 643.40 mgGAE/100g и 98.90 mg CGE/100g, а определеният антиоксидант капацитет чрез DPPH и FRAP тестове е с най- високи стойности при монокомпонентният сок от сорт „Блек Сатин", съответно 3515 μmolTE/100g и 3178.30 μmolTE/100g.

Ключови думи: антиоксидантна активност, сок, къпина, общи полифеноли, антоциани

while the juices produced by the classic method show the reverse trend.

After statistical analysis for all developed variants of juices the method of obtaining has influence of the studied parameters ($p<0.05$).

With the highest content of total polyphenols and anthocyanins is the developed juice from variety "Dirksen" 643.40 mgGAE/100g and 98.90 mg CGE/100g respectively, the determined antioxidant capacity by DPPH and FRAP assays have the highest values in the monocomponent juice from variety "Black Satin", 3515 μmolTE/100g and 3178.30 μmolTE/100g respectively.

Key words: antioxidant activity, juice, blackberry, total polyphenols, anthocyanins

УВОД

Потребителите все повече търсят продукти с високо качество и състав близък до пресните плодове. Характеристики като свежест, високо съдържание на витамини, биоактивни вещества и добри хранителни качества са причина през последните години, пазарът на плодови сокове да се увеличи (Patras et al., 2009).

Къпините (*Rubus fruticosus* sp.) представляват интерес поради високото съдържание на полифеноли и антоциани, които допринасят за техния антиоксидантен капацитет (Wang & Lin, 2000).

Повечето свежи къпини се използват като суровина за замразени, сушени, и консервирани продукти, или са преработени в конфитюри, желета, и сокове за

INTRODUCTION

Consumers are increasingly looking for products with high quality and composition similar to fresh fruit. Characteristics such as freshness, high vitamin content, bioactive compounds and good nutritional quality are cause to increase the market of fruit juices in the recent years (Patras et al., 2009).

Blackberries (*Rubus fruticosus* sp.) are of particular interest in this regard, due to the high anthocyanin and phenolic contents that contribute to its noted antioxidant capacity (Wang & Lin, 2000).

Most fresh blackberries are used as raw material for frozen, dried, and canned products, or processed into jams, jellies, and juices for longer storage to satisfy

по-дълго съхранение, за да се задоволят изискванията на потребителите и различни пазари (Rickman et al., 2007).

Технологията за преработка значително се отразява върху качеството на получените продукти. Някои изследвания са докладвали, че обработката може да доведе до значителни загуби на водоразтворими фенолни съединения (Skrede et al., 2000; Rossi et al., 2003; Lee et al., 2002), особено антоциани, което се отразява неблагоприятно на цвета и хранителните им качества.

Всеки технологичен етап от производството на сок (измиване, смилане, пресоване, термична обработка и други) може да доведе до промени в количествата на биоактивните съставки на получения сок (Thomas et al., 2015).

Целта на настоящото проучване е да се установи влиянието на предварителната обработка на къпини върху съдържанието на общи полифеноли, общи мономерни антоциани и антиоксидантен капацитет в получените от тях монокомпонентни сокове.

various markets and consumer demands (Rickman et al., 2007)

The processing technology significantly affects the quality of the products. Some studies have reported that treatment may result in a significant loss of water-soluble phenolic compounds (Skrede et al., 2000; Rossi et al., 2003; Lee et al., 2002), particularly anthocyanins, which adversely affects the color and their nutritional qualities.

Each process step in the manufacture of juice (washing, milling, pressing, heat treatment, etc.) can lead to changes in the amounts of bioactive ingredients in the obtained juice (Thomas et al., 2015).

The purpose of this study was to determine the influence of pre-treatment of blackberries on the content of total polyphenol, total monomeric anthocyanins and antioxidant capacity in monocomponent juices.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Суровини

За получаването на всеки от разработените монокомпонентни сокове са използвани по 300 g плодове от три сорта къпини: „Дирксен”,“Блек Сатин” и

MATERIAL AND METHODS

Raw materials

For the preparation of each of the developed mono-component juices were used 300 g raw material of three blackberry varieties: "Dirksen," "Black Satin" and "Hull

„Хул Торнлес", получени от ИПЖЗ - гр. Троян.

Получаване на сок

Използвани са два технологични подхода за получаване на монокомпонентен сок от къпини. Първият подход е класически и включва следните технологични етапи: приемане, измиване, претегляне, получаване на сок (пресоване), пълнене и съхранение. Вторият подход включва същите технологични етапи, като преди етапа за получаване на сок се извършва фино смилане на суровината.

Финото смилане се извършва с помощта на блендер Nutribullet, който използва иновативно острие за извличане на хранителните вещества и циклон технология за раздробяване на пулпа, кожата и семената на плодовете.

За сокоизвличането и при двата технологични подхода е използвана сокоизстисквачката – "NS -750 Kuvings Silent Juicer", чието предимство е нискоскоростното извличане на сока, с което се постига запазване на хранителните вещества.

Подготовка на пробата за анализ

От всеки вариант получен сок се претеглят по 5 g и количествено се прехвърлят с подкиселен (0.1% HCl) метанол в мерителна колба от 50 mL. Съдържанието на колбата се довежда до 2/3 и след престой от 12 часа при 10°C съдържа-

Thornless", from Research institute of mountain stockbreeding and agriculture - Troyan.

Juice extraction

Two technological approaches were used for obtaining a monocomponent juice from blackberries. The first approach is a classical method and includes the following steps: receiving, cleaning, weighing, obtaining juice (pressing), filling and storage. The second approach comprises the same processing steps, such as before the step for the juice extraction is done finely grinding of the raw material.

The fine grinding is carried out by means of a blender Nutribullet, which uses an innovative blade to extract nutrients and cyclone technology for crushing the pulp, the skin and the seeds of the fruit.

For the juice extraction in both technological approaches is used the juice extractor – "NS -750 Kuvings Silent Juicer", whose priority is low-speed extraction of the juice, that achieves retention of nutrients.

Preparation of sample

Before analyses 5 g from each variant juice was diluted into 50 mL volumetric flask.The content of the flask is filled with acidified (0.1% HCl) methanol. After extraction for 12 h at 10°C the flask is filled to the mark.

нието на колбата се довежда до марката. Екстрактите се филтруват през нагънат филтър и се анализират за съдържание на общи полифеноли и общи мономерни антоциани и антиоксидантният капацитет.

Реактиви и химикали

За аналитични цели са използвани следните реактиви: DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилхидразил), TPTZ (2,4,6-три(2-пиридил)2-триазин) и Trolox [(±)-6-хидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксилна киселина] (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany); реактив на Folin-Ciocalteau (FC-реактив) (Merck, Darmstadt, Germany); галова киселина монохидрат (Fluka, Buchs, Switzerland). Всички останали реактиви и разтворители са с аналитична чистота.

Методи за анализ

Определяне на общите полифеноли

Съдържанието на общи полифеноли е определено по метода на Singleton and Rossi (1965) с някои модификации. В епруветка последователно са смесени 0.1 mL екстракт от пробата с 0.5 mL FC-реактив (разреден 1:4 с дестилирана вода) и 1.5 mL воден разтвор на натриев карбонат (7.5%, w/v), като обемът е доведен до 10 mL с дестилирана вода. Реакционната смес престоява за 2 h на тъмно при стайна температура преди да бъде измерена абсорбцията при 750 nm. Получените

The extracts was filtered through a paper filter and analyzed for content of total polyphenols and total monomeric anthocyanins and the antioxidant capacity

Chemicals

For the analytical purposes DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)2-triazine) и Trolox [(±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid](Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany); Folin-Ciocalteau's (FC) reagent (Merck, Darmstadt, Germany), Gallic acid monohydrate(Fluka, Buchs, Switzerland) was used. All the other reagents and solvents used were of analytical grade.

Methods of analysis

Determination of total polyphenols

The content of total polyphenols (TPP) was determined by the method of Singleton and Rossi (1965) with some modifications. In test tube appropriately diluted sample extract (0.1 mL) was mixed with 0.5 mL of FC-reagent (diluted with distilled water 1:4, v/v) and 1.5 mL of sodium carbonate solution (7.5%, w/v) and the volume was made up to 10 mL with distilled water; the mixture was incubated for 2 h at room temperature before the absorbance was measured at 750 nm. The results were presented as mg gallic acid

резултати са представени като еквиваленти на галовата киселина (GAE) в mg за 100 g проба.

Определяне на общите антоциани

Количеството на общите мономерни антоциани (TMA) е определено чрез pH-диференциалния метод (Giusti and Wrolstad, 2001). Екстракта от пробата е разреден паралелно с буфер с pH 1.0 (0.025 M калиев хлорид) и буфер с pH 4.5 (0.4 M натриев ацетат). След престояване за 1 h на тъмно при стайна температура са измерени абсорбциите при 520 и 700 nm. Резултатите са изчислени чрез използване на коефициент на моларна абсорбция 26900 L/(mol cm) и молекулна маса 449.2 g/mol и са изразени като еквиваленти на цианидин-3-глюкозид (CGE) в mg на 100 g проба.

Определяне на общия антиоксидантен капацитет

Общият антиоксидантен капацитет е оценен чрез определяне на радикалоулавящата способност (DPPH-тест) и металоредуциращата способност (FRAP-тест). Водоразтворим аналог на витамин E (Trolox) е използван като стандарт и резултатите са изразени като еквиваленти на Trolox (TE) в μmol за 100 g проба.

DPPH-тест процедурата е базирана на метода на Brand-Williams et al. (1995), приложен в следната модификация: 2250 μL метанолен разтвор на DPPH (6 x

equivalents (GAE) per 100 g of sample.

Determination of total monomeric anthocyanins

The amount of total monomeric anthocyanins (TMA) was determined by the pH-differential method (Giusti & Wrolstad, 2001). The sample extract was diluted in parallel with buffer pH 1.0 (0.025 M potassium chloride) and buffer pH 4.5 (0.4 M sodium acetate). After 1 h of incubation at room temperature, the absorbance was measured at 520 and 700 nm. Results were calculated using a molar extinction coefficient of 26900 L/(mol cm) and molecular weight of 449.2 g/mol and expressed as equivalents of cyanidin 3-glucoside (CGE) in mg per 100 g sample.

Determination of total antioxidant capacity

The total antioxidant capacity was determined by the free radical scavenging activity (DPPH) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. Trolox, a water-soluble vitamin E analogue, was used as a reference in both assays and the antioxidant capacity was expressed as μmol Trolox equivalents (TE) per 100 g проба.

DPPH assay was based on the method of (1995) modified as follows: 2250 μL of a DPPH methanolic solution (6×10^{-5} M) was mixed with 250 μL of sample

10^{-5} M) са смесени с 250 μL екстракт от пробата (разреден с дестилирана вода в съотношение 1:3, v/v); абсорбцията при 515 nm е измерена след 15 min престояване на реакционната смес в затворена кювета на тъмно при стайна температура.

FRAP-тест процедурата е базирана на метода на Benzie и Strain (1996), приложен с някои изменения. FRAP реактив е приготвен след смесване на 2.5 mL разтвор на TPTZ (10 mmol/L) в солна киселина (40 mmol/L), 2.5 mL воден разтвор на FeCl3 (20 mmol/L) и 25 mL ацетатен буфер (0.3 mol/ L, pH 3.6). За реакцията, 2250 μL FRAP реактив и 250 μL екстракт от пробата (разреден с дестилирана вода в съотношение 1:3, v/v) са смесени в кювета и е измерена абсорбцията при 593 nm след 4 min на тъмно при стайна температура.

Всички измервания са извършени с UV-Vis спектрофотометър Helios Omega с инсталиран софтуер VISIONlite (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, USA), използвайки кювети с оптичен път 1 cm.

Статистически анализ

Представените резултати са средноаритметични стойности от най-малко три определения, като коефициенти-те на вариация са по-малки от 5%. Статистическата обработка на данните е осъществена с програми ANOVA, Microsoft Excel.

extract (diluted with distilled water 1:3, v/v); absorbance at 515 nm was measured after 15 min of reaction in a cap-sealed cuvette kept in the dark at room temperature.

FRAP assay was performed according to Benzie and Strain (1996) with some modifications. The FRAP reagent was prepared by mixing 2.5 mL of a TPTZ solution (10 mmol/L) in hydrochloric acid (40 mmol/L), 2.5 mL of a $FeCl_3$ water solution (20 mmol/L) and 25 mL of an acetate buffer (0.3 mol/L, pH 3.6). In the assay, 2250 μL of FRAP reagent and 250 μL of sample extract (diluted with distilled water 1:3, v/v) were mixed in a cuvette and absorbance at 593 nm was measured after 4 min in the dark at room temperature.

All measurements were performed with a Helios Omega UV-vis spectrophotometer equipped with VISION*lite* software (all from Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, USA) using 1 cm path length cuvettes.

Statistical analysis

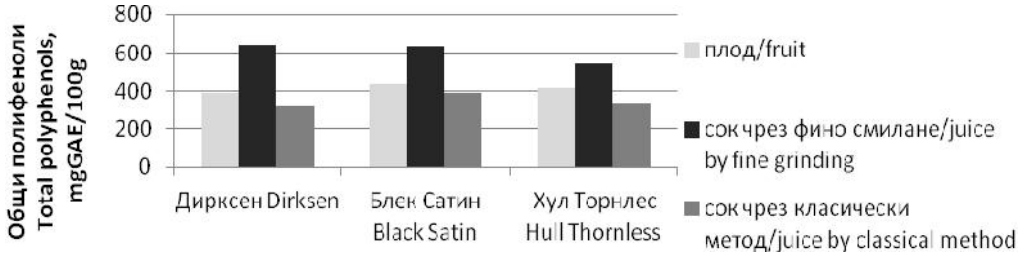
The presented results are the average of at least three determinations, the coefficients of variation were less than 5%. The statistical analysis of the data were performed using the statistical apparatus ANOVA, Microsoft Excel.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

На Фигура 1, 2, 3 и 4 са представени резултатите от направените сравнителни анализи на получените чрез двата технологични подхода монокомпонентни плодови сокове и суровина от три сорта къпини съответно за съдържание на общи полифеноли, съдържание на общи мономерни антоциани и антиоксидантен капацитет оценен по двата метода (DPPH-тест и FRAP- тест).

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1, 2, 3 and 4 presents the results of a comparative analysis of total polyphenols content, total monomeric anthocyanin and antioxidant capacity measured by two assays (DPPH and FRAP) of mono-component fruit juices obtained through two technological approaches and of raw material from three blackberry varieties.



Фиг. 1. Съдържание на общи полифеноли (ТРР) в плодове и сокове от къпини от сорт Дирксен, Блек Сатин и Хул Торнлес
Fig. 1. Total polyphenols content (TPP) of blackberry fruits and juices from variety Dirksen, Black Satin and Hull Thornless

От данните на Фигура 1 се вижда, че стойностите на общите полифеноли в минимално преработените плодови сокове от всички сортове къпини получени по метода използващ фино смилане са значително по-високи от изходните суровини. При класическия метод на получаване се наблюдава обратна тенденция. Данните са статистически различими, дължащи се на технологичните решения ($p<0.05$).

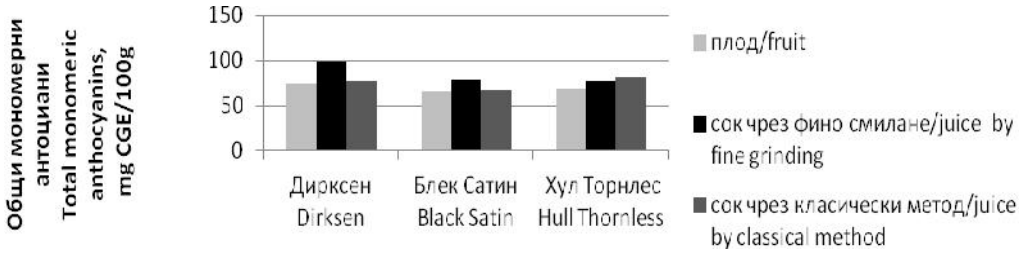
Най-високи са стойностите

From the data in Figure 1 it is seen that the values of total polyphenols in minimally processed fruit juices of all blackberry varieties prepared by the process using a fine grinding are considerably higher than the raw materials. In the classical method of obtaining seen the opposite trend. The data are statistically distinguishable due to technological solutions ($p<0.05$).

The highest values of total polyphenols has variant with fine

на общите полифеноли при сорт Дирксен, вариант с фино смилане (643.40 mgGAE/100g).

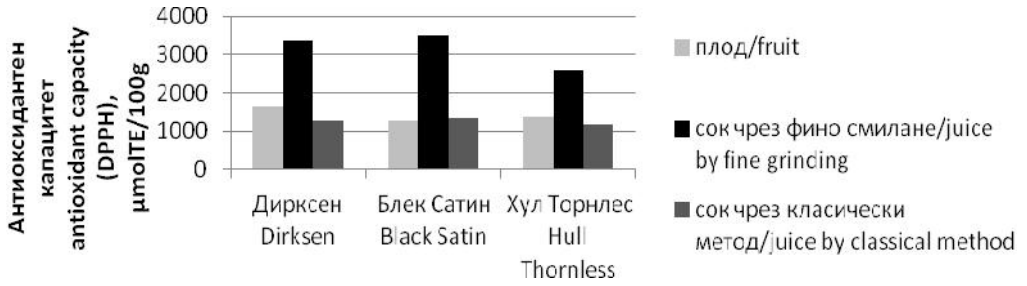
grinding from variety Dirksen (643.40 mgGAE/100g).



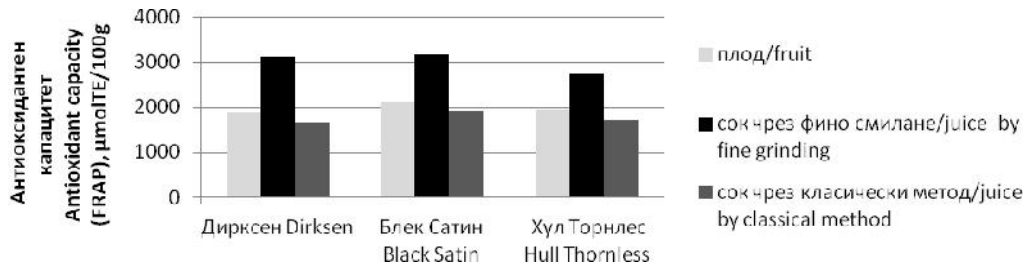
Фиг. 2. Съдържание на общи мономерни антоциани (ТМА) в плодове и сокове от къпини от сорт Дирксен, Блек Сатин и Хул Торнлес
Fig. 2. Total monomeric anthocyanins content (TMA) of blackberry fruits and juices from variety Dirksen, Black Satin and Hull Thornless

Соковете от всички сортове къпини показват увеличение на общите мономерни антоциани и за двата технологични подхода спрямо изходната суровина (Фигура 2). Стойностите им варират от 66.90 mg CGE/100g до 98.90 mg CGE/100g, като след направената статистическа обработка на данните се установи, че сортовото различие и метода на получаване не оказват влияние ($p>0.05$).

The juices from all blackberry varieties obtained by two technological approaches showed an increase in content of total monomeric anthocyanins (Figure 2). The values were in range from 66.90 mgCGE/100g to 98.90 mgCGE/100g, after statistical analysis was established that the variety and the method has no effect ($p>0.05$).



Фиг. 3. Антиоксидантен капацитет (DPPH- тест) в плодове и сокове от къпини от сорт Дирксен, Блек Сатин и Хул Торнлес
Fig. 3. Antioxidant capacity (DPPH-test) of blackberry fruits and juices from variety Dirksen, Black Satin and Hull Thornless



Фиг. 4. Антиоксидантен капацитет (FRAP- тест) на плод и сокове от къпини от сорт Дирксен, Блек Сатин и Хул Торнлес
Fig. 4. Antioxidant capacity (FRAP-test) of blackberry fruits and juices from variety Dirksen, Black Satin and Hull Thornless

Определеният антиоксидантен капацитет (DPPH-тест и FRAP-тест) на получените минимално преработени плодови сокове за всички изследвани сортове показа увеличение при подхода включващ фино смилане и намаление при класическия метод спрямо суровината (Фигура 3 и 4). Данните са статистически различими ($p<0.05$), дължащо се на технологичната обработка.

С най-високи стойности на показателя антиоксидантен капацитет оценен чрез DPPH-тест и FRAP-тест е сок от сорт Блек Сатин вариант с фино смилане (3515 μmolTE/100g и 3178.30 μmolTE/100g).

На Фигура 5 и 6 са показани радарни диаграми на получените монокомпонентни сокове от три сорта къпина, съответно за класически метод на получаване и метода включващ етапа фино смилане.

The antioxidant capacity (DPPH and FRAP assays) of received minimally processed fruit juices for all studied varieties obtained by fine grinding showed an increase and decrease in the classical method (Figure 3 and 4).

Significant effect on the antioxidant capacity has the processing technology ($p<0.05$).

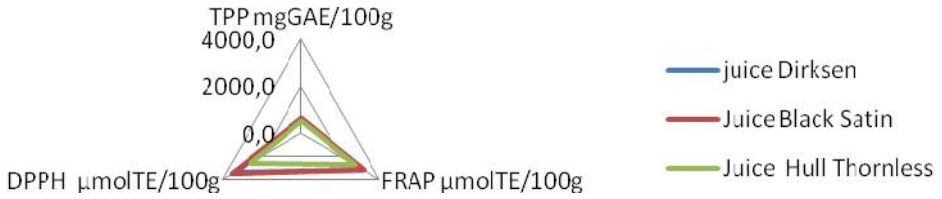
The highest values of antioxidant capacity assessed by DPPH and FRAP assays were observed in juice from variety “Black Satin” obtained by fine grinding (3515 μmolTE / 100g and 3178.30 μmolTE / 100g).

Figure 5 and 6 show radar diagrams of the received monocomponent juices from three blackberry varieties, respectively for the classical method and the method with fine grinding.

Фиг. 5. Радарна диаграма на сокове от къпина получени по класически метод от сорт Дирксен, Блек Сатин и Хул Торнлес
Fig. 5. Radar diagram of blackberry juices obtained by classical method from varieties Dirksen, Black Satin and Hull Thornless

При класическия подход антиоксидантният капацитет се дължи основно на антиоксиданти действащи като донори на електрони (FRAP-тест), както и на вероятните взаимодействия между фенолните съединения (Фигура 5).

In the classical approach, the antioxidant capacity is mainly due to the antioxidants act as electron donors (FRAP-test), and the possible interactions between phenolic compounds (Figure 5).



Фиг. 6. Радарна диаграма на сокове от къпина получени по метод включващ фино смилане от сорт Дирксен, Блек Сатин и Хул Торнлес
Fig. 6. Radar diagram of blackberry juices obtained by method with fine grinding from varieties Dirksen, Black Satin and Hull Thornless

При подхода използващ фино смилане антиоксидантният капацитет се дължи основно на антиоксиданти действащи като донори на водородни катиони, на синергични ефекти на други компоненти в системата (Фигура 6).

In the other method the antioxidant capacity is mainly due to antioxidants acting as a hydrogen donor cations and of synergistic effects of the other components in the system (Figure 6).

ИЗВОДИ

Разработени са монокомпонентни сокове от три сорта къпини – „Дирксен”, “Блек Сатин” и „Хул Торнлес”,. по два технологични подхода – класически и с обработка чрез финно смилане.

Установи се, че за всички разработени варианти на сокове методът на получаване оказва влияние върху съдържанието на общи полифеноли и антиоксидантен капацитет ($p<0.05$).

С най-високо съдържание на общи полифеноли и антоциани е разработеният сок от сорт „Дирксен” съответно 643.40 mgGAE/100g и 98.90 mg CGE/100g, а определеният антиоксидант капацитет чрез DPPH и FRAP тестове е с най-високи стойности при монокомпонентния сок от сорт „Блек Сатин”, съответно 3515 µmolTE/100g и 3178.30 µmolTE/100g.

CONCLUSIONS

There are developed monocomponent juices of three blackberry varieties – "Dirksen", "Black Satin" and "Hull Thornless", by two technological approaches – classical and by fine grinding.

It was found that for all variants of developed juices the method of processing affects the content of total polyphenols and antioxidant capacity ($p <0.05$).

The developed juice from variety "Dirksen" by fine grinding has the highest values of total polyphenols content and anthocyanins, respectively 643.40 mgGAE/100g and 98.90 mgCGE/100g, the antioxidant capacity measured by DPPH and FRAP assays has the highest values in juice from variety "Black Satin", respectively 3515 µmolTE/100g and 3178.30 µmolTE/100g.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Benzie I., Strain J.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 1996, 239, 70-76.
2. **Brand-Williams W., Cuvelier M., Berst C.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 1995, (28): 25-30.
3. **Giusti M. M., Wrolstad R. E.** Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad R. E. (Ed) *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, 2001, pp F1.2.1-F1.2.13.
4. **Lee J., Durst R.W., Wrolstad R.E.** Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *J Food Sci*, 2002, 67:1660-1667.
5. **Patras A., Brunton N.P, Da Pieve S., Butler F.** Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées, *Innovative Food Science and Emerging Technologies,* 2009, 10, 308-313.
6. **Rossi M., Giussani E., Morelli R., Scalzo R., Nani R.C., Torreggiani D.** Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice. *Food Res Int*, 2003, 36:999-1005.

7. **Singleton V., Rossi J.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1965, (50): 3828-3834.
8. **Skrede G., Wrolstad R.E., Durst R.W.** Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (Vaccinium corymbosum L.). *J Food Sci*, 2000, 65:357-364.
9. **Tomas M., Toydemir G., Boyacioglu D., Hall R., Beekwilder J., Capanoglu E.** The effects of juice processing on black mulberry antioxidants. *Food Chemistry*, 2015, 186, 277-284
10. **Wang S. Y. & Lin H. S.** Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48, 140-146.