Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (1), 58-67 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на технологиите при отглеждане на пролетен фуражен грах (*Pisum sativum* L.) върху добива на фураж и суров протеин

Тодор Кертиков*, Даниела Кертикова

Институт по фуражни култури, 5800 Плевен, България

Influence of Technology on the Cultivation of Spring Forage Pea (*Pisum sativum* L.) on the Yield of Forage and Crude Protein

Todor Kertikov*, Daniela Kertikova

Institute of forage crops, 5800 Pleven, Bulgaria
**E-mail: t.kertikov@abv.bg*

Original scientific paper

Received: 16.04.2019 *Accepted:* 25.04.2019 *Published:* 17.06.2019

РЕЗЮМЕ

Полският експеримент е изведен през периода 2011-2013 г. с пролетен фуражен грах (*Pisum sativum* L.) сорт „Керпо“. Целта е да се установи влиянието на технологиите при отглеждане на пролетен фуражен грах върху добива на фураж и суров протеин. Варианти на отглеждане: 1 контрола – по стандартна технология включваща торене и третиране с хербициди и инсектициди; 2 – без използване на препарати от неорганичен произход (биологичен); 3 – третиране само с био инсектицид („Екофил Р”) от органичен произход. Установено е, че приложените различни технологии оказват съществено влияние върху изменението на някои количествени показатели на продуктивността. Добивите на суха фуражна маса при биологичния начин на отглеждане на граха и при третиране с „Екофил Р” са от 15,33% до 20,15% и на суров протеин от 14,13% до 16,06%

SUMMARY

The field experiment was conducted in the period 2011-2013 with spring forage pea (*Pisum sativum* L.) cv. "Kerpo". The aim is to establish the Influence of technology on the cultivation of spring forage pea on the yield of forage and crude protein. Variants of cultivation: 1 control – by standard technology including fertilization and treatment with herbicides and insecticides; 2 – without the use of preparations of inorganic origin (biological); 3 – treatment only with bio insecticide ("Ecofil P") of organic origin. It was found that the applied different technologies have a significant impact on the change of some quantitative indicators of productivity.

The yields of dry forage mass in the biological way of cultivation of pea and treatment with "Ecofil P" are from 15.33% to 20.15% and crude protein from 14.13% to 16.06% lower compared to the по-ниски в сравнение с конвенционалния начин. Използваните технологии не оказват съществена промяна върху показателите за качеството на фуража.

Ключови думи: пролетен грах, технологии, био инсектицид, добиви, фураж, суров протеин

УВОД

Фуражният грах е един от ценните източници на растителен протеин и заедно с другите бобови култури има важно значение за решаване на белтъчния проблем в страната (Kertikov, 2010). Граховите растения способстват за поддържане на почвеното плодородие, което е много съществено в условията на рязко съкращаване внасянето на минерални торове (Ryabtseva, 2009). Грахът е отличен предшественик за повечето полски и технически култури (Honeycutt, 1998; Yau and Bounejmateb, 2003; Gramatikov and Koteva, 2006). В редица проучвания се изтъкват незаменимата роля на пролетния фуражен грах, като ценен източник при хранене на преживните животни (Mustafa and Seguin, 2004; Jacobs and Ward, 2008).

Водещ проблем е осигуряването на чиста от химически замърсявания храна, основа за здравния статус на населението, обитаващо всички страни и континенти (Nickel, 1982; Skubisz, 2002; Kuleva and Kuznetsov, 2004). В тази връзка ограниченото използване на препарати от неорганичен произход, както и третирането с биопрепарати при производството на протеинови фуражни култури, разширява възможността за развитие на екологичното земеделие в страната и не носи риск от замърсяване на добитата продукция. На този етап са установени влиянието на различни технологии при отглеждане на пролетен фуражен грах сорт Керпо върху фенологията, биометрията, степента на полягане, добивът на зърно и биохимична характеристика (Kertikov and Kertikova, 2017; Kertikov et al., 2018).

conventional technology. The technologies used did not make a significant change on the quality of the forage.

Key words: spring pea, technology, bio insecticide, yield, forage, crude protein

INTRODUCTION

Field pea is one of the valuable sources of vegetable protein along with other legumes is important to solve protein problem in the country (Kertikov, 2010). Pea plants contribute to maintaining soil fertility, which is very significant in terms of sharply reducing the importation of mineral fertilizers (Ryabtseva, 2009).

It is an excellent precursor for most Polish and industrial crops (Honeycutt, 1998; Yau and Bounejmateb, 2003; Gramatikov and Koteva, 2006). A number of studies highlight the irreplaceable role of spring fodder pea as a valuable source in feeding ruminants (Mustafa and Seguin, 2004; Jacobs and Ward, 2008).

Leading issue is the provision of free of chemical contamination of food, based on the health status of the population inhabiting all countries and continents (Nickel, 1982; Skubisz, 2002; Kuleva and Kuznetsov, 2004). In this connection the limited use of preparations of inorganic origin and treatment with biologics in the production of protein fodder crops, expanding the opportunity for the development of organic farming in the country and carries the risk of contamination of harvested produce.

At this stage, the influence of different technologies on the cultivation of the spring field pea cv. "Kerpo" on phenology, biometrics, the degree of lodging, grain yield and biochemical characteristics have been identified (Kertikov and Kertikova, 2017; Kertikov et al., 2018).

Целта на проучването е да се установи влиянието на технологиите, приложени при отглеждане на пролетен фуражен грах (*Pisum sativum* L.) върху добива на фураж и суров протеин.

The aim of the study is to investigate the impact of the technologies applied in the cultivation of spring forage pea (*Pisum sativum* L.) on the production of forage and crude protein.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експериментът е проведен през периода 2011-2013 г. във Второ опитно поле на Института по фуражните култури, със сорт грах Керпо. Сортът се отличава с висок добив на зърно и ранозрялост (Kertikova and Kertikov, 2013). Изследването е проведено върху почвен подтип слабо-излужен чернозем, при неполивни условия. Използван е метода на дробните парцели в четирикратна повторяемост на вариантите, при реколтната парцела 10 m^2. Варианти на полския опит са: вариант 1 контрола – по конвенционална технология (Kertikov et al., 2003), включваща торене и третиране с хербициди и инсектициди; вариант 2 – без използване на препарати от неорганичен произход; вариант 3 – третиране само с биоинсектицид („Екофил Р”) от органичен произход. Третирането с биопрепарата „Екофил Р” е извършвано във фенофаза пълен цъфтеж в доза 3,5 l/da.

Прибирането на посевите е извършено с малогабаритна парцелна косачка – BCS във фенофаза пълни долни бобове на граха. Установени са добивите свежа и суха фуражна маса (kg.da^{-1}) от посевите на пролетен грах и на наличната плевелна растителност/биомаса. По стандартните методи са извършени химически анализи на фуражната биомаса от пролетния грах и от плевелите. Отчетено е съдържанието на сухо вещество, суров протеин, сурови влакнини, калций и фосфор. Отразени са получените добиви суров протеин (kg.da^{-1}) от фуражната биомаса на граха, от плевелната растителност и от единица площ (da). Изчислени са отклоненията (%, +/-) от контролния вариант. Статистическата обработка на експерименталните данни е извършена с програмния продукт STATGRAPHYCS plus for Windows Version 2.1.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted during the period 2011-2013 in the second experimental field in Institute of Forage Crops with pea cv. Kerpo. The variety has a high grain yield and earliness (Kertikova and Kertikov, 2013). The study was conducted on the soil subtype slightly leached chernozem, without irrigation. It used the split plot method with four repetitions of the variants and a size of 10 m^2 of harvest plot. Variants of the field experience: Variant 1 control – a conventional technology (Kertikov et al. 2003), including fertilization and treatment with herbicides and insecticides; Variant 2 – without the use of preparations of inorganic origin (biological); Variant 3 – treatment only with bio insecticide ("Ecofil P") of organic origin. Treatment with bio preparation "Ecofil P" is performed in phenophase full flowering at a dose of 3.5 l/da.

Harvesting crops is done with a small-scale mowing machine – BCS in phenophase full bottom pods of pea. The yields of fresh and dry matter (kg.da^{-1}) of spring pea and available weed biomass were established.

By standard methods, chemical analysis of forage biomass from spring pea and weeds was performed. The content of dry matter, crude protein, crude fiber, calcium and phosphorus was reported. The yields of crude protein (kg.da^{-1}) of the forage biomass of pea, weed biomass, and unit area (da) are reflected. The deviations (%, +/-) of the control variant were calculated. All experimental date were statistically processed using the software STATGRAPHYCS plus for Windows Version 2.1.

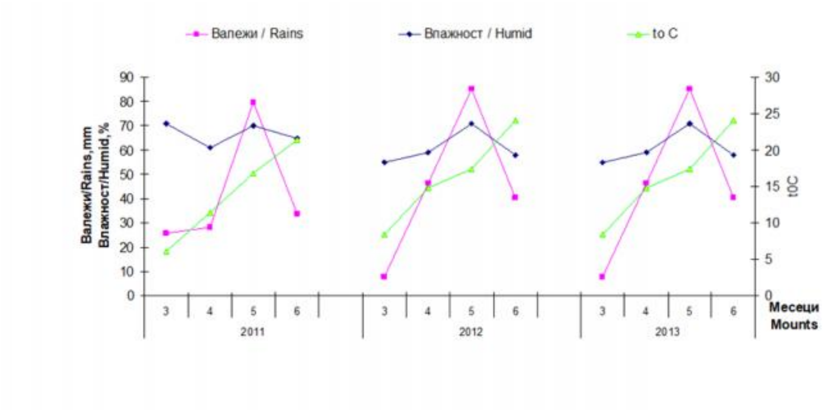
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

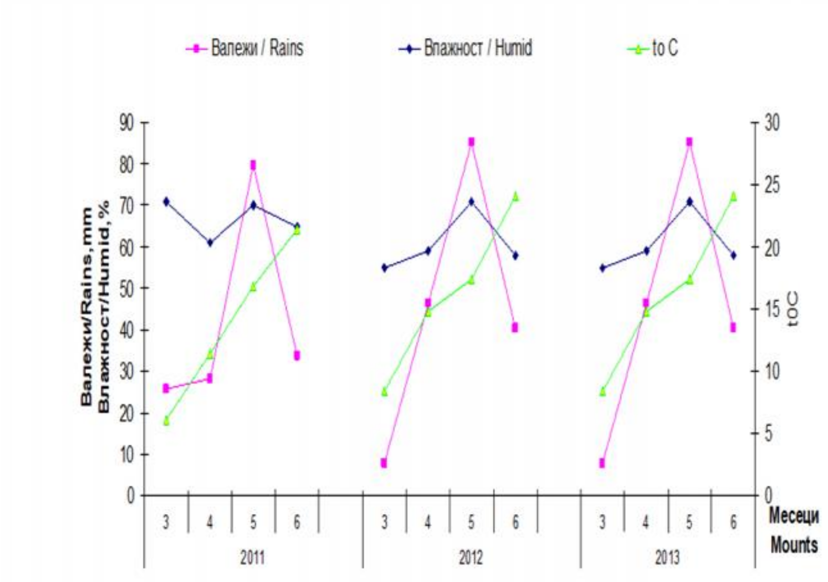
Агро-метеорологичните данни (Фигура 1) за периода на развитие на пролетния фуражен грах показват, че през първата година, реална възможност за залагане на полският опит съществува едва в края на месец март. Наличните температури през третата десетдневка са равни на 9,8°C, при сравнително слабо влагозапасяване на почвата. Пълно поникване и при трите варианта е регистрирано в началото на втората десетдневка на месец април.

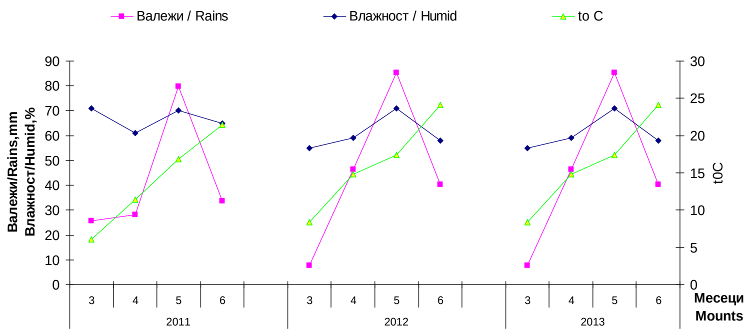
RESULTS AND DISCUSSION

The agro-meteorological data (Figure 1) for the development of spring forage pea indicate that in the first year there was no real possibility of betting on the field experiment until the end of March. Available temperatures in the third ten days are equal to 9.8°C, with relatively low soil moisture.

Full germination in all three variants was recorded at the beginning of the second 10 days of April.







Фиг. 1. Климатограма за периода на вегетация , 2011-2013 г.
Fig. 1. Klimatogram for the vegetation period, 2011-2013

Пролетният вегетационен период се характеризира с чести преваляния и оптимални температури за развитие на културата. През втората година се наблюдават характерните за месец март преходни сезонни промени в агро-метеорологичната обстановка. Към края на първото десетдневие температурата на въздуха е с отрицателни измерения (-1,2ºС). Валежите през месеца са крайно недостатъчни (7,6 mm/m^2), но благодарение на обилните снеговалежи през зимния период, почвата беше добре влагозапасена. Сеитбата на граха е осъществена при първа възможност. През пролетния вегетационен период, условията бяха благоприятни за протичане на вегетационните процеси. Характерно за месец март на 2013 г. е, че добро почвено овлажняване съчетано с благоприятна въздушна температура и възможност за сеитба се създаде едва в началото на третата десетдневка на месец март, когато е извършено и залагането на полския експеримент. Развитието на пролетния фуражен грах през месец април се осъществи при температури около и над климатичните норми за месеца. През следващите месеци създалите се агрометеорологични условия бяха нормални за доброто развитие на културата.

The spring vegetation period is characterized by frequent rainfall and optimal temperatures for culture development. In the second year, the seasonal changes in the agro-meteorological environment are typical for March. At the end of the first ten days, the air temperature is negative (-1.2°C).

Precipitation during the month is extremely low (7.6 mm/m^2), but due to the heavy snowfall during the winter, the soil was well humid. Pea sowing was done as soon as possible. During the spring growing season, conditions were favourable for the conduct of vegetation processes.

Characteristic for March 2013 is that good soil humidification coupled with favourable air temperature and sowing capacity was created only at the beginning of the third ten days of March when the field experiment was made.

The development of spring forage pea in April conducted at temperatures around and above the climatic norms for the month.

In the next months agro-meteorological conditions were normal for the good development of culture.

От получените резултати за средните добиви свежа маса от пролетния грах е установено, че при стандартната технология на отглеждане той достига до 1826,68 kg.da^{-1} (Таблица 1). Същият е по – висок с 10,55% от този получен при посева отглеждан без използване на препарати от неорганичен произход и с 16,95% спрямо полученият при третиране на посева с био инсектицид („Екофил Р”) от органичен произход. Разликите в отчетените проценти сухо вещество в свежата маса на граха в зависимост от технологията на отглеждане са в много тесен диапазон – от 19,20% до 20,31%, т.е. в границите на допустимата грешка.

From the results obtained for the average fresh mass yields of pea it was found that in standard technology it reached 1826.68 kg.da^{-1} (Table 1). The same is higher by 10.55% of that obtained in crops grown without the use of preparations of inorganic origin and by 16.95% compared to that obtained from treatment with bio insecticide ("Ecofil P").

The differences in the reported percentage of dry matter in the fresh mass of pea, depending on the cultivation technology, are in a very narrow range – from 19.20% to 20.31%, i.e. within the margin of error.

Таблица 1. Добиви свежа и суха фуражна маса от пролетен грах, средно за периода 2011-2013г., kg.da^{-1}

Table 1. Yields of fresh and dry forage mass from spring pea, average for the period 2011-2013, kg.da^{-1}

Варианти Treatments	Показатели / Indicators						
	Свежа фуражна маса Fresh forage mass			Суха фуражна маса Dry forage mass			
	Грах Pea	Плевели Weeds	Всичко Total	Грах Pea	Плевели Weeds	Всичко Total	Отклонение Deviation %,+/-
Вариант 1контрола Variant 1 – control	1826.68 [a]	-	1826.68 [a]	371.63 [a]	-	371.63 [a]	-
Вариант / Variant 2	1128.38 [c]	505.75 [a]	1634.13 [b]	223.81 [c]	90.85 [a]	314.66 [b]	- 15.33
Вариант / Variant 3	1196.77 [b]	320.25 [b]	1517.02 [c]	235.36 [b]	61.38 [b]	296.74 [c]	- 20.15
LSD $_{99,5\%}$ (kg.da^{-1})	9.872	12.020	14.591	5.202	1.452	6.849	

При посевите от втори и трети варианти в крайните добиви свежа маса е измерено и по-високо количество плевелна растителност. При посева третиран с био инсектицида, теглото на свежата плевелна биомаса достига до 320,75 kg.da^{-1}, докато при посева отглеждан без използване на препарати от неорганичен произход теглото на плевелите нараства до 505,75 kg.da^{-1}. Добивът абсолютно суха фуражна маса е най-висок също при конвенционалния начин на отглеждане на граха (371,63 kg.da^{-1}), докато при останалите два технологични подхода, добивите (фуражна маса от грах + плевелна маса) са от 15,33% до

In crops of the second and third variants in the final yields a fresh mass is measured and a higher quantity of weed biomass. In the crop treated with the bio insecticide, the weight of fresh weed vegetation reaches 320.75 kg.da^{-1}, while in crops grown without the use of preparations of inorganic origin the weight of weeds grows to 505.75 kg.da^{-1}.

The yield of absolutely dry matter is also highest in the conventional way of pea growing (371.63 kg.da^{-1}), while in the other two technological approaches, the yields (pea mass + weed mass) are 15.33% to 20.15% lower.

20,15% по-ниски. Оказва се, че стандартната технология на отглеждане на пролетен фуражен грах е по-ефективна по отношение на производство на фураж, в сравнение с отглеждането му по биологичен метод или чрез третиране с био инсектицид „Екофил Р”.

Предназначението на произведената фуражна маса е тя да бъде изхранвана при селскостопанските животни. В тази връзка качеството на полученият фураж е от особено значение. Химическият анализ на фуражната биомаса от грах показва, че съдържанието на суров протеин между отделните варианти е в много близки граници – от 17,78% до 18,06% (Таблица 2). В случая, приложените три различни технологии на отглеждане на културата, не оказват съществено влияние върху процентното съдържание на суров протеин в биомасата от пролетен грах. При плевелната растителност, съдържанието на суров протеин е с над 3,0% по-ниско в сравнение с това при фуража от грах. И тук приложените различни технологични методи на отглеждане на посевите, не оказват влияние върху съдържанието на суров протеин. При отделните варианти (посеви) на граха, процента на сурови влакнини (14,08-14,87%), калций (1,451-1,789%) и фосфор (0,340-0,395%) в биомасата са също с близки стойности. Подобна е тенденцията и при резултатите отчетени за плевелната растителност. Изключение прави съдържанието на сурови влакнини. Същите не се различават по съдържание в зависимост от различните технологични фактори на отглеждане, но са средно с над 5,0% по-вече от съдържанието в биомасата на фуражния грах.

It appears that standard spring pea cultivation technology is more effective in forage production compared to its biological methods or treatment with bio-insecticide "Ecofil P".

The purpose of the produced forage mass is to feed it from farm animals. In this regard, the quality of the forage obtained is of particular importance. The chemical analysis of pea forage biomass shows that the crude protein content between the different variants is very close – from 17.78% to 18.06% (Table 2).

In this case, the three different crop cultivation techniques applied did not significantly affect the percentage of crude protein in spring pea biomass. In weeds, the crude protein content is more than 3.0% lower than in pea forage.

Here too, the different crop cultivation methods applied do not affect the content of crude protein.

The percentage of crude fiber (14.08-14.87%), calcium (1.451-1.789%) and phosphorus (0.340-0.395%) in biomass are also close to the individual variants (crops) of pea.

Similar is the trend in the results of weed biomass. An exception is the crude fiber content. They do not differ in content depending on the different technological factors of cultivation, but are on average more than 5.0% above the biomass content of pea.

Таблица 2. Химически анализ на фуражна биомаса от пролетен грах в % от сухото вещество (средно за 2011-2013 г.)
Table 2. Chemical analysis of forage biomass from spring pea in % of the dry substance (average for 2011-2013)

Варианти Treatments	Сухо вещество Dry substance	Суров протеин Crude protein	Сурови влакнини Crude fiber	Калций Calcium	Фосфор Phosphorus
Биомаса от фуражен грах / Biomass from forage pea					
Вариант 1 – контрола Variant 1 – control	91.17	18.06	14.71	1.789	0.395
Вариант 2 / Variant 2	91.48	17.78	14.08	1.458	0.340
Вариант 3 / Variant 3	91.51	17.98	14.87	1.451	0.340
Биомаса от плевели / Biomass from weeds					
Вариант 1 – контрола Variant 1 – control	-	-	-	-	-
Вариант / Variant 2	92.78	14.53	19.39	1.147	0.374
Вариант / Variant 3	92.50	14.30	19.58	1.882	0.393

Получените от граха добиви суров протеин са сравнително по-високи при отглеждане по стандартната технология (67,16 $kg.da^{-1}$), докато при останалите два технологични метода добивите са от 39,79 $kg.da^{-1}$ до 42,29 $kg.da^{-1}$(Таблица 3).

The crude protein yields of pea are comparatively higher in standard technology (67.16 $kg.da^{-1}$), while in the other two process technologies the yields are from 39.79 $kg.da^{-1}$ to 42.29 $kg.da^{-1}$ (Table 3).

Таблица 3. Добив на суров протеин, средно за периода 2011-2013 г., $kg.da^{-1}$
Table 3. Crude protein yield, average for the period 2011-2013, $kg.da^{-1}$

Варианти / Treatments	Суров протеин / Crude protein			
	Грах / Pea	Плевели / Weeds	Всичко / Total	Отклонение / Deviation %,+/-
Вариант 1 – контрола Variant 1 – control	67.12 ^{a}	-	67.12 ^{a}	-
Вариант / Variant 2	39.79 ^{b}	13.20 ^{a}	52.99 ^{b}	- 14.13
Вариант / Variant 3	42.29 ^{b}	8.77 ^{b}	51.06 ^{c}	- 16.06
$LSD_{99,5\%}$ ($kg.da^{-1}$)	2.849	1.458	1.899	

Суровият протеин получени от плевелната растителност при посевите от втори и трети вариант е от 8,77 $kg.da^{-1}$ до 13,20 $kg.da^{-1}$. Като общ добив, при конвенционалния начин на отглеждане на граха, суровия протеин е от 26,66% до 31,45% по-висок в сравнение с биологичния начин и при третиране с „Екофил Р”. Видно е, че използването на различни технологии при отглеждане за фураж на пролетния грах, водят до съществени промени на някои количествени и качествени показатели на продуктивността.

The crude protein obtained from the weed biomass in the crops of the second and third variants is from 8.77 $kg.da^{-1}$ to 13.20 $kg.da^{-1}$. As a total yield, in the conventional way of pea growing, the crude protein is from 26.66% to 31.45% higher than in the biological way and in the treatment with "Ecofil P". It is clear that the use of different technologies in forage crops for spring pea leads to substantial changes in some quantitative and qualitative performance indicators.

ИЗВОДИ

Приложените различни технологии на отглеждане при пролетния фуражен грах оказват съществено влияние върху изменението на някои количествени показатели на продуктивността. Добивите на суха фуражна маса при биологичния начин на отглеждане на граха и при третиране с „Екофил Р” са от 15,33% до 20,15% и на суров протеин от 14,13% до 16,06% по-ниски в сравнение с конвенционалния начин.

Използваните технологии не оказват съществена промяна върху показателите за качеството на фуража.

CONCLUSIONS

The different cultivation technologies applied to spring forage pea have a significant impact on the change in some quantitative indicators of productivity. The yields of dry forage mass in the biological way of cultivation of pea and treatment with "Ecofil P" are from 15.33% to 20.15% and crude protein from 14.13% to 16.06% lower compared to the conventional technology.

The technologies used did not make a significant change on the quality of the forage.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Gramatikov, B. and V. Koteva,** 2006. Action Humatniya Micro Fertilizer "Humustim" on the Productivity of Some Field Crops, *Filed Crops Studies*, 3 (3), 413-419 (Bg).

2. **Honeycutt, W.,** 1998. Crop Rotation Impacts on Potato Protein, *Plant Foods Hum. Nutr*., 52(4), 279-281.

3. **Jacobs, J. and G. Ward**, 2008. Dry Matter Yields and Nutritive Value of Silage from Cereal and Pea Combinations. In: Proceedings of the 14th Australian Agronomy Conference. September 2008, Australian Society of Agronomy, Edited by M.J. Unkovich. www.agronomy.org.au

4. **Kertikov, T., I. Popov, D. Naneva, Ts. Dimitrova, M. Stoikova and N. Georgieva,** 2003. Technology for the Production of Spring Forage Pea. *Agriculture plus*, Sofia, 1, 2-16 (Bg).

5. **Kertikov, T.**, 2010. Study on Agronomic Aspects of Feed Pea and Vetch. Habilitation work, Pleven, Bulgaria.

6. **Kertikova, D. and T. Kertikov,** 2013. Comparative Characteristics of Spring Forage Pea Varieties. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans,* 16 (2), 492-504.

7. **Kertikov, T. and D. Kertikova**, 2017. Study on Grain Yield of Spring Field Pea Variety “Kerpo” Depending on the Technology of Cultivation. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 20 (5), 98-106.

8. **Kertikov, T., A. Atanasov, A. Ilieva and D. Kertikova,** 2018. Biochemical Characteristics of Spring Forage Pea (*Pisum sativum* L.) cv. "Kerpo" Depending on the Technology of Cultivation. In: Proceedings of University of Ruse, 57 (1), 38-43 (Bg).

9. **Kuleva, O. N. and V. Kuznetsov,** 2004. Recent Achievements and Prospects for Studying the Mechanism of Action of Phytohormones and their Participation in the Signal Systems of the Whole Plant. *Vestnik RFFI*, 2, 12-36 (Ru).

10. **Mustafa, A. and P. Seguin,** 2004. Chemical Composition and In Vitro Digestibility of Whole-Crop Pea and Pea–Cereal Mixture Silages Grown in South-western Quebec. *J. Agronomy & Crop Science,* 190, 416-421.

11. **Nickel, G.**, 1982. Plant Growth Regulators Agricultural Uses. *Springer - Verlag*, Berlin, Heidelberg New York.

12. **Ryabtseva, Y.**, 2009. Some Theoretical and Experimental Data on Specific Organs of Fixation of Nitrogen-Root Tubers Formed as a Result of Symbiosis of Pea Seed (*Pisum sativum* L.) and Tuberous Bacteria (*Rhizobium*). *Agraren vestnik*, Ural, 6 (60), 41-44 (Ru).
13. **Sarker, A., R. Neupane, F. Sakr, A. Ashkar, Lutfir and W. Erskine**, 2002. More Grain from Less Rain. ICARDA's Strategy to Improve Lentil for Resource-Poor Farmers in Dry Areas. ICARDA, Caravan, 17.
14. **Skubisz, G.**, 2002. Method for the Determination of the Mechanical Properties of Pea Stems. *Int. Agro physics*, 16, 73-77.
15. **Yau, K. and M. Bounejmateb**, 2003. Barley Legumes Rotations for Semi-Arid Areas of Lebanon. *European Journal of Agronomy*, 19 (4), 599-610.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (1), 68-79 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Селекционна ефективност на индивидуален отбор в диворастящи популации панонски фий (*Vicia pannonica* Grantz)

Валентин Косев[1], Галина Найденова[2], Наталия Георгиева[1]*

[1]Институт по фуражни култури, 5800 Плевен, България
[2]Експериментална станция по соя, 5200 Павликени, България

Breeding Efficiency of Individual Selection in Wild Growing Populations of Hungarian Vetch (*Vicia pannonica* Grantz)

Valentin Kosev[1], Galina Naydenova[2], Natalia Georgieva[1]*

[1]Institute of Forage Crops, 5800 Pleven, Bulgaria
[2]Experimental Station on Soybean, 5200 Pavlikeni, Bulgaria
**E-mail: imnatalia@abv.bg*

Original scientific paper

Received: 27.03.2019 *Accepted:* 15.05.2019 *Published:* 17.06.2019

РЕЗЮМЕ

Проучени са три български популации фий (№2, №12 и №13) от подвидове *striata* (*Vicia pannonica ssp. striata*) и *pannonica* (*Vicia pannonica ssp. pannonica*) по основни количествени признаци. Чрез анализ на варианса са установени доказани различия между изследваните линии и популации фий по отношение на добив зелена и суха маса. Линия 13/16 (от популация №13) е с най-висок добив на зелена маса (1.18 kg/m^2) и превъзхожда статистически доказано контролата Pisareska Panonska (0.80 kg/m^2). По добив суха маса са установени незначителни различия между линиите и популациите фий. Според коефициентите на рангова и линейна корелация, при формирането на суха маса съществено значение има признака маса на 1000 семена,

SUMMARY

Three Bulgarian vetch populations (№2, №12 and №13) of subspecies *striata* (*Vicia pannonica subsp. striata*) and *pannonica* (*Vicia pannonica* subsp. pannonica) were studied regarding main quantitative traits. Through analysis of variance, significant differences were found between the tested lines and populations regarding green and dry mass yields. Line 13/16 (from population №13) had the highest green mass yield (1.18 kg/m^2) and statistically significant exceeded the control Pisareska Panonska (0.80 kg/m^2). In terms of dry mass yield, insignificant differences between the vetch lines and populations were established. According to the rank and linear correlation coefficients, in the dry mass formation, an essential meaning had the trait of 1000 seeds mass, in both

както при подвид *striata* (r_S=0.80; r=0.63), така и при подвид *pannonica* (r_S=0.67; r=0.71). При линиите от подвид *pannonica* повишаване на добив суха маса може да се постигне чрез увеличаване на семенната продуктивност (r=0.54) и жътвения индекс (r=0.45), а при подвид *striata* – чрез увеличаване броя на разклоненията (r=0.53).

Ключови думи: фий, селекция, продуктивност, корелации

subspecies *striata* (r_S=0.80; r=0.63) and subspecies *pannonica* (r_S=0.67; r=0.71). In the lines of subspecies *pannonica*, an increase of dry mass yield can be achieved by increasing the seed productivity (r = 0.54) and harvest index (r = 0.45), and in subspecies *striata* – by increasing the number of branches (r=0.53).

Key words: vetch, breeding, productivity, correlations

УВОД

Представителите на род *Vicia* са едни от най-често срещаните едногодишни фуражни култури. Фийовете обикновено се използват в биологичното хранене на животните (Yolcu et al., 2012). Панонският фий (*Vicia pannonica* Crantz.) е един от най-обещаващите едногодишни видове фий (Tahtacioglu et al., 1996; Nizam et al., 2011). Той е адаптиран към екологичната среда на големи райони в света (Nizam et al., 2011; Sayar et al., 2013). Отличава се с бърз темп на развитие през пролетта, формира сравнително висок добив свежа биомаса и осигурява висококачествено сено (Yolcu et al., 2012). Подходящ е за отглеждане в самостоятелни посеви и в смески с житни компоненти (Mikic et al., 2011; Debelyj et al., 2015). В агроекосистемите може да се използва като покровна култура, за зелено торене и за повишаване на почвеното плодородие (Kostov and Pavlov, 2001).

Съвременните селекционни програми са насочени към създаване на сортове, характеризиращи се с адаптивност по отношение на основните елементи на продуктивността, добива и качеството на растителната продукция. Съществува реална възможност за селекциониране на генотипове с висок продуктивен потенциал и сравнително добра толерантност към неблагоприятните фактори на средата, тъй като тези признаци се контролират от различни генетични системи (Anohina and Mazuka, 2006).

Успехът в селекцията зависи в

INTRODUCTION

Representatives of genus *Vicia* are one of the most commonly encountered annual forage crops. Vetches are usually used in organic animal feeding (Yolcu et al., 2012). Hungarian vetch (*Vicia pannonica* Crantz.) is one of the most promising annual vetch species (Tahtacioglu et al., 1996; Nizam et al., 2011). It is adapted to the environment of large areas of the world (Nizam et al., 2011; Sayar et al., 2013). It distinguishes with a rapid growth rate in the spring, forms a relatively high yield of fresh biomass and provides high-quality hay (Yolcu et al., 2012). Hungarian vetch is suitable for growing in pure stands and in mixtures with cereal components (Mikic et al., 2011; Debelyj et al., 2015). In agroecosystems, it can be used as a cover crop, for green manures, and for increasing soil fertility (Kostov and Pavlov, 2001).

Modern breeding programs are directed to the development of cultivars characterized by adaptability regarding the main elements of productivity, yield and quality of plant production. There is a realistic possibility of selecting genotypes with high productive potential and relatively good tolerance to the unfavorable environmental factors as these traits are controlled by different genetic systems (Anohina and Mazuka, 2006).

Breeding success depends largely

голяма степен от богатството и разнообразието на изходния материал, който трябва да притежава ценни и полезни в селекционно отношение признаци. Необходимо е да се знае естеството на зависимостта на тези признаци, за да се засили ефектът на желаните и да се намали проявата на неподходящи признаци. Установяването на корелационни зависимости позволява да се направи прогноза на очакваните резултати от използването на определени изходни форми и помага при подбора на подходящи родителски компоненти (Vitko, 2014; Maksimenya, 2016).

Целта на настоящото проучване е да се определи степента на вътрепопулационна изменчивост в диворастящи български популации фий по основни признаци, определящи продуктивността на културата.

on the richness and diversity of the starting material, which has to possess valuable and useful in terms of breeding characteristics. It is necessary to know the nature of the dependence of these traits in order to increase the effect of the desired ones and reduce the performance of inappropriate traits. The establishment of correlation dependencies allows to predict the expected results of the use of certain starting forms and helps in the selection of suitable parental components (Vitko, 2014; Maksimenya, 2016).

The aim of the present study was to determine the degree of intra-population variability in wild growing Bulgarian populations of vetch regarding main traits determining crop productivity.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено през периода 2011-2013 г. в Експериментална станция по соята (Павликени). Обект на проучване през 2011-2012 г. са три български популации фий. Популация №2 е от подвид *striata* (*Vicia pannonica* subsp. striata), а популации №12 и №13 – от подвид *pannonica* (*Vicia pannonica* subsp. pannonica). Селекционният материал, включващ 21 генотипа, е отбран по продуктивност и качество на тревния фураж в двугодишно сравнително изпитване, последвано от двугодишно контролно изпитване с 9 генотипа. По 100 растения от всяка популация са наблюдавани в селекционен питомник с индивидуално разположение на растенията на площ от 1 m^2. На база визуална оценка на растежа и развитието са маркирани по 20 растения от популация, които са подложени на биометричен анализ по следните седем показателя: маса на растение при узряване на семената (g), височина на растение при реколтиране (cm), разклонения на стъбло (брой), бобове на растение (брой), височина на първи

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in the Experimental station soya (Pavlikeni) during the period 2011-2013. Three Bulgarian populations of vetch were subjects of study during the period 2011-2012. Population №2 belongs to subspecies *striata* (*Vicia pannonica* subsp. striata), and populations №12 and №13 – to subspecies *pannonica* (*Vicia pannonica* subsp. pannonica). The breeding material, including 21 genotypes, was selected on yield and quality of the forage in a 2-year comparative experiment, followed by a 2-year controlled experiment with 9 genotypes. 100 plants of each population were observed in a breeding nursery with an individual layout of plants of 1 m^2 area. On the basis of a visual assessment of the growth and development, 20 plants of a population were marked, and they were subjected to biometric analysis on the following seven traits: plant mass at seed maturity (g), plant height at harvesting (cm), stem branches (number), pods per plant (number), height of 1st pod (cm), seed productivity per plant (g) and 1000 боб (cm), продуктивност семена на растение (g) и маса на 1000 семена (g). Определени са средните стойности по наблюдаваните признаци, техните грешки и варианс. По популации и показатели е осъществен рангов анализ.

Генотиповете с най-висока комплексна рангова оценка (13 на брой – 4 броя от популация №2, 4 броя от популация №13, и 5 броя от популация №12) са включени като линии в предварително изпитване, проведено през периода 2012-2013 г. В изпитването са включени както изходните популации, така и сорт Pisareska Panonska, който е използван като стандарт. Методът на залагане е блоков, броя на повторенията – 4. Сеитбата е редова, с посевна норма 200 семена/m^2, при междуредово разстояние 12.5 cm и площ на реколтната парцела от 1 m^2. Отчетени са добив на свежа и суха биомаса при настъпване на пасищна зрялост (поява на първи цветове). Чрез коефициента на рангова корелация на Спирмън (r_S) е оценена зависимостта между продуктивността на суха фуражна маса от линиите в предварителното изпитване и стойностите на показателите, по които са отбрани елитните генотипове. Стойността на коефициента се изчислява по формулата, където: d – разлика в ранговите номера по X и Y; n – обем на извадката:

seeds mass (g).

The mean values of the observed traits, their errors and variance were determined.

Genotypes with the highest complex ranked assessment (13 – 4 of population 2, 4 of population 13, and 5 of population 12) were included as lines in a preliminary test conducted during the 2012-2013 period. Both the starting populations and cultivar Pisareska Panonska, which was used as a standard, were included in the testing. It was used block design method, with four replications. The sowing was in rows, with a sowing rate of 200 seeds/m^2, with 12.5 cm space between the rows and an area of the harvesting plot of 1 m^2. Fresh and dry biomass yields were reported at the occurrence of pasture maturity (appearance of first flowers).

Through Spearman's rank correlation coefficient (r_S) was estimated the dependence between the dry forage mass yield of the lines in the preliminary test and the values of the traits according to which the elite genotypes were selected. The coefficient value was calculated by the formula where: d – difference in the rank numbers of X and Y; n – volume of the sample:

$$r_s = 1 - \frac{6\sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

Извършен е йерархичен клъстерен анализ по метода на Ward (1963) – за групиране на генотиповете на базата на сходство като мярка за различията (генетичното разстояние) между тях. Евклидовото разстояние (като мярка за дивергенция) е изчислено след предварително стандартизиране на данните.

A hierarchical cluster analysis was performed according to the method of Ward(1963) – for grouping genotypes based on similarity as a measure of differences (the genetic distance) among them. The Euclidean distance (as a measure for divergence) was calculated after previously data standardization.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Анализът на варианса на добива на зелена и суха маса, представен в Таблици 1 и 2, показва наличие на достоверни различия между генотиповете на трите популации при високо ниво на значимост. Признаците маса на растение (433.5) и брой бобове на растение (379.4) са с по-добри прояви при генотиповете от популация №2 в сравнение с популации №13 и №12 (Таблица 3).

RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of variance of the green and dry mass yields presented in Tables 1 and 2 showed the presence of significant differences between the genotypes of the three populations at a high level of significance. The traits of plant mass (433.5) and pods number per plant (379.4) had better manifestations in genotypes of population №2 compared to populations №13 and №12 (Table 3).

Таблица 1. Анализ на варианса по отношение на добив зелена маса
Table 1. Analysis of variance regarding green mass yield

Source of variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between groups	2.972492	16	0.185781	4.529455	0.000158	1.982764
Within groups	1.27150	31	0.041016			
Total	4.243992	47				

Таблица 2.Анализ на варианса по отношение на добив суха маса
Table 2. Analysis of variance regarding dry mass yield

Source of variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between groups	0.168292	16	0.010518	3.807689	0.000699	1.982764
Within groups	0.085633	31	0.002762			
Total	0.253925	47				

Таблица 3. Средно (X) и стандартно отклонение (SD) на стойностите на някои количествени признаци при 60 избрани елитни генотипи
Table 3. The mean (X) and standard deviation (SD) of the values for some quantitative traits in 60 selected elite genotypes

Признаци/Traits	Популация Population №2		Популация Population №12		Популация Population №13	
	X	SD	X	SD	X	SD
Маса на растение/plant mass	433.5	169.7	186.5	40.6	217.2	28.8
Разклонения/branches	47.4	13.6	48.2	9.3	48.6	11.3
Височина на растение/plant height	96.8	11.0	88.0	11.5	104.9	7.5
Височина на първи боб/1st pod height	28.0	5.9	35.9	11.3	47.2	14.4
Брой бобове/pods number	379.4	139.9	371.7	130.9	204.4	85.1

Според получените резултати за броя разклонения на растение, проучваните популации практически не се различават помежду си. Признакът варира в много тесни граници (от 47.4 (№2) до 48.6 (№13)). Генотиповете от популация №13 се отличават с по-дълги стъбла (104.9) и залагат по-високо първи боб (47.2). Средно за

According to the results obtained for the number of branches per plant, the studied populations practically did not differ from one another. The trait varied within very narrow limits (from 47.4 (No.2) to 48.6 (No.13)). Genotypes of population №13 were distinguished by longer stems (104.9) and a higher situated 1st pod (47.2). On average, for the experimental експерименталния период най-ниски стойности по отношение на проучваните признаци се наблюдават при генотиповете от популация №12. Изключение се установява само при брой бобове на растение със стойност близка до тази на №2.

Данните за величината на стандартното отклонение показват, че при почти всички показатели високите стойности са свързани с по-голямо разсейване на признака. Относителна вътрепопулационна стабилност и хомогенност демонстрират признаците брой разклонения, височина на растение и височина на залагане на първи боб.

Според получените резултати от комплексния рангов анализ (Таблица 4) на отбрани от изходните популации елити, линиите с произход от популация №2 се характеризират с по-голяма маса на растението и маса на 1000 семена, формират растения с дълги стъбла и броят на бобовете им е над средния за изследването.

period, the lowest values regarding the studied traits were observed in the genotypes of population №12. An exception was established only for the number of pods per plant with a value close to that of №2.

The data for the magnitude of the standard deviation showed that in almost all indicators the high values were associated with a greater scatter of the trait. Traits of number of branches, plant height, and 1st pod height demonstrated relatively intra-population stability and homogeneity.

According to the results obtained by the complex ranked analysis (Table 4) of the selected elites of the starting populations, the lines from population №2 were characterized by a higher plant mass and 1000 seeds mass. They also formed longer stems and the pods number was above the average for the study.

Таблица 4. Елити с най-висока комплексна рангова оценка
Table 4. Elites with the highest complex ranked assessment

Елити Elites	Маса на растение Plant mass	Разклонения Branches	Височина на растение Plant height	Височина на първи боб 1st pod height	брой бобове Pods number	Продуктивност Productivity	Маса 1000 семена 1000 seeds mass
2/17	455	39	97	33	622	49	41.5
2/38	670	32	103	35	565	51	35
2/63	399	68	81	23	400	28	36.5
2/84	570	52	112	32	510	36	48.5
12/27	200	37	90	32	330	30	28
12/37	190	39	94	23	473	34	22.5
12/54	250	52	105	31	569	51	31.5
12/56	225	57	75	31	504	38.8	26
12/77	200	48	95	32	492	43	25
13/16	230	43	105	46	302	39	26.5
13/69	250	53	110	47	244	17.3	21
13/85	250	63	100	48	247	32	24
13/89	220	59	87	33	294	33	30

От тази популация интерес представляват линиите 2/38 и 2/84. Растенията от популация №13 се

Of this population, lines 2/38 and 2/84 were of interest. The plants of population №13 were distinguished by higher values отличават с по-високи стойности по отношение на височина на залагане на първи боб, височина на растение и брой разклонения. От популация №12 селекционно подобрителната работа може да продължи с линия 12/54. В благоприятно съчетание при тази линия са признаците брой разклонения, височина на растение, брой бобове и продуктивност.

Средните стойности на добива на зелена маса на линиите от популация №12 са по-високи спрямо контролния сорт Pisareska Panonska (0.80 kg/m^2), но това предимство е статистически незначимо (Таблица 5). Нито една от линиите от популация №2 не превишават контролата, като найнископродуктивна е линия 2/38 (0.31 kg/m^2). От популация №13, линия 13/16 заема първа позиция (1.18 kg/m^2) и превъзхожда статистически значимо контролата. По добив на суха маса не се установяват съществени различия между линиите и популациите, въпреки че някои линии като 13/16, 12/54, LP2 и 12/27 формират по-голямо количество суха маса.

in terms of 1st pod height, plant height and number of branches. From population №12, the breeding-improvement work could continue with line 12/54. Traits of number of branches, plant height, pods number and productivity were in a favourable combination in this line.

The average values of green mass yields of the lines of population №12 were higher compared to the control cultivar Pisareska Panonska (0.80 kg/m^2), but this advantage was statistically insignificant (Table 5). None of the lines of population №2 exceeded the control, and line 2/38 was the lowest productive one (0.31 kg/m^2). From population №13, line 13/16 occupied the first position (1.18 kg/m^2) and statistically significant exceeded the control. Between the lines and populations, there were no significant differences in terms of dry mass yields, although some lines such as 13/16, 12/54, LP2 and 12/27 formed a larger amount of dry mass.

Таблица 5. Добив на линиите, произхождащи от отбраните елити (kg/m^2)
Table 5. Yield of the lines originating in the selected elites (kg/m^2)

	Green mass/Зелена маса	Dry mass/Суха маса
1 ST Pisareska Panonska	0.80bc	0.25bc
2/17	0.54 ab	0.16 abc
2/38	0.31 a	0.09 a
2/63	0.56 ab	0.15 ab
2/84	0.57 ab	0.15 ab
LP2	1.01 cd	0.28 bc
12/27	1.09 cd	0.28 bc
12/37	1.03 cd	0.24 bc
12/54	1.11 cd	0.29 bc
12/56	0.99 cd	0.22 abc
12/77	0.81 bc	0.21 abc
LP12	1.05 cd	0.26 bc
13/16	1.18 d	0.31 c
13/69	0.60 ab	0.17 abc
13/85	1.00 cd	0.25 bc
13/89	0.98 cd	0.24 bc
LP13	0.93 cd	0.25 bc

Means followed by the same letter(s) did not differ significantly at 5 % level

Зависимостите между добива на суха маса при линиите фий в пасищна зрялост и изследваните признаци са представени в Таблица 6. Според коефициента на рангова корелация, при формирането на сухата маса съществено значение има признака маса на 1000 семена, както при подвид ssp. *striata* (r_S=0.80), така и при подвид ssp. *pannonica* (r_S=0.67). При линиите от подвид striata с положително, макар и по-слабо въздействие, са брой бобове на растение (r_S=0.40) и жътвен индекс (r_S=0.20). При подвид *pannonica*, за разлика от *striata*, повечето от признаците корелират положително с добива суха маса (с изключение на брой разклонения, r_S=-0.23).

The dependencies between dry mass yields in vetch lines at pasture maturity and the studied traits were presented in Table 6. According to the rank correlation coefficient, in the dry mass formation, an essential meaning had the mass of 1000 seeds, in both subspecies *striata* (r_S=0.80) and subspecies *pannonica* (r_S=0.67).

In lines of subspecies *striata* with positive, albeit weaker impact, were pods number per plant (r_S=0.40) and harvest index (r_S=0.20). In subspecies *pannonica*, unlike *striata*, most of the traits correlated positively with the dry mass yield (except for the number of branches, r_S=-0.23).

Таблица 6. Фенотипни корелации между добив на суха маса и основните количествени признаци при проучваните линии фий в пасищна зрялост
Table 6. Phenotypic correlations between dry mass yield and main quantitative traits in the studied lines of vetch at pasture maturity

Признаци/Traits	ssp. striata		ssp. pannonica		ssp. striata	ssp. pannonica
	r_S	R^2	r_S	R^2	r	r
Маса на растение/plant mass	-0.40	0.16	0.05	0.00	-0.77	-0.03
Разклонения/branches	0.20	0.04	-0.23	0.05	0.53	-0.36
Височина на растение/plant height	0.00	0.00	0.14	0.02	-0.16	0.08
Височина на първи боб/1st pod height	-0.20	0.04	0.08	0.01	-0.40	-0.05
Брой бобове/pods number	0.40	0.16	0.04	0.00	-0.13	0.08
Продуктивност семена/seed productivity	-0.20	0.04	0.28	0.08	-0.47	0.54
Жътвен индекс/harvest index	0.20	0.04	0.28	0.08	0.24	0.45
Маса на 1000 семена/1000 seeds mass	0.80	0.64	0.67	0.44	0.63	0.71

r_S - коефициент на рангова корелация на Спирмън; R^2 - коефициент на детерминация; r - коефициент на линейна корелация
r_S - Spearman's rank correlation coefficient; R^2 - coefficient of determination; r - coefficient of linear correlation

При сравняване на данните по отношение коефициентите на линейна корелация на анализираните признаци се установява, че при формиране на добива суха маса по-голямо въздействие отново има броят бобове на растение (r=0.71; r=0.63). При линиите от подвид *pannonica* повишаване на добива на суха маса може да се постигне чрез увеличаване на семенната продуктивност (r=0.54) и жътве-

When comparing the data with respect to the linear correlation coefficients of the analyzed traits, it was found that in the dry mass yield formation, the pods number again had a greater impact (r=0.71; r=0.63).

In the lines of subspecies *pannonica*, an increase of the dry mass yield can be achieved by increasing seed productivity (r = 0.54) and harvest index (r=0.45), and ния индекс (r=0.45), а при подвид *striata* чрез увеличаване броя на разклоненията (r=0.53).

Debelyj et al. (2011) съобщават, че към настоящия момент в селекцията на зимуващите форми фий се отделя по-голямо внимание на оценката на отделните елементи на продуктивността, определящи добива, при изменящи се условия на околната среда. Според авторите височината на растенията в най-голяма степен отразява потенциалната вегетативна продуктивност, като този признак се характеризира с висок коефициент на наследяване. Същите автори са установили наличие на висока положителна корелация на височината на растението със свежата биомаса на растението, броя листенца на сложния лист и тяхната широчина. Други автори (Shtetinin, 2008; Zelenov, 2011) изразяват мнение, че при създаването на нови сортове трябва да се обърне повече внимание на зависимостите между количествените признаци на генотипно ниво и особено на връзките между групата признаци, определящи даден параметър с определена стойност на корелационните коефициенти.

Генетичното сходство и отдалеченост на линиите са установени чрез йерархичен клъстерен анализ. От средните стойности на изследваните признаци е осъществен клъстерен анализ за групиране на линиите от подвидовете *striata* и *pannonica*. Като мярка за отдалеченост е използвано евклидово разстояние. Резултатът от проведеният анализ е представен на Фигура 1 във вид на дендограма. Използването на данните от фенотипните прояви на генотиповете фий по основните количествени признаци е особено благоприятно поради обстоятелството, че в селекционния процес се води отбор на генотип по фенотип. Линиите са клъстеризирани в две основни групи.

in subspecies *striata* – by increasing the number of branches (r=0.53).

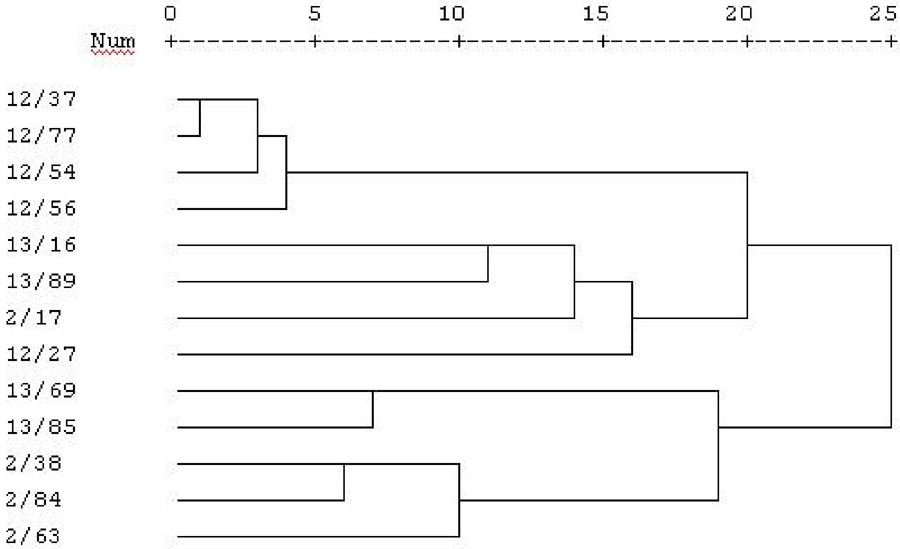
Debely et al. (2011) reported that at the present time, in the breeding of wintering vetch forms, more attention was paid to the assessment of the productivity elements determining the yield under changing environmental conditions.

According to the authors, the plant height reflected, in the greatest degree, the potential vegetative productivity as this trait is characterized by a high coefficient of inheritance. The same authors have found a high positive correlation of the plant height with the plant fresh biomass, the number of leaflets of the complex leaf and their width.

Other authors (Shtetinin, 2008; Zelenov, 2011) expressed the view that when developing new varieties, more attention should be paid to the dependencies between the quantitative signs at the genotypic level and especially for the relations between the group of traits defining a given parameter with a certain value of the correlation coefficients.

Genetic similarity and distance of the lines were established by hierarchical cluster analysis. From the mean values of the studied traits was conducted hierarchical cluster analysis for grouping the lines of subspecies striata and pannonica. As a measure for divergence was used the Euclidean distance.

The result of the analysis was presented in Figure 1 as a dendogram. The data use of phenotypic manifestations of the vetch genotypes regarding main quantitative traits is particularly favorable due to the fact that it is being conducted selection of genotype by phenotype in the breeding process.



Фиг. 1. Дендограма на отбраните линии фий
Fig. 1. Dendrogram of the selected lines of vetch

Първата група включва линии разположени в долната част на фигурата. Линиите 2/63, 2/84 и 2/38 формират първата подгрупа и проявяват сходство по маса на растение, брой бобове на растение и масата на 1000 семена. Втората подгрупа на същият клъстер се състои от линиите 13/85 и 13/69, които са генетично сходни по маса на растение, височина на първи боб, брой бобове на растение и маса на 1000 семена. Линия 13/69 е разположена на по-високо ниво от първото разделение в сравнение с 13/85, което показва, че между тези линии има и различия, дължащи се на различното фенотипно проявление на признаците продуктивност на семена, брой разклонения и височина на растение.

Втората клъстерна група също е разпределена в две основни подгрупи. Първата подгрупа се състои от линии 12/27, 2/17, 13/89 и 13/16. Относителното генетично сходство между тях се дължи на по-ниските стойности на маса растение, брой

Lines were clustered into two main groups. The first group included lines located at the bottom of the figure. Lines 2/63, 2/84 and 2/38 formed the first subgroup and exhibited similarity in terms of plant mass, pods number per plant and 1000 seeds mass. The second subgroup of the same cluster was composed of lines 13/85 and 13/69, which were genetically similar in plant mass, 1st pod height, pods number and 1000 seeds mass. Line 13/69 was located at a higher level than the first division compared to 13/85, indicating that there are differences between these lines due to the different phenotypic manifestation of seed productivity, number of branches and plant height.

The second cluster group was also divided into two main subgroups. The first subgroup consisted of lines 12/27, 2/17, 13/89 and 13/16. The relative genetic similarity between them was due to lower values of plant mass, pods number per plant, seed productivity and a medium бобове на растение, семенна продуктивност и средно ниво на признака маса на 1000 семена. Във втората подгрупа са включени линии 12/56, 12/54, 12/77 и 12/37. Тяхното разделение е на много ниско ниво, което показва много голямо сходство, дължащо се на броя на разклоненията, броя на бобовете и височината на първи боб.

level of the trait 1000 seeds mass. In the second subgroup, lines 12/56, 12/54, 12/77 and 12/37 were included.

Their division was at a very low level, which shows a very large similarity, due to the number of branches, pods number and 1st pod height.

ИЗВОДИ

Анализът на варианса показва доказани различия между изследваните линии и популации фий, принадлежащи към подвидове *striata* (*Vicia pannonica* ssp. striata) и *pannonica* (*Vicia pannonica* ssp. pannonica), по отношение на добив зелена и суха маса.

Линия 13/16 се характеризира с най-висок добив зелена маса (1.18 kg/m^2) и превъзхожда статистически доказано контролата Pisareska Panonska (0.80 kg/m^2). По добив на сухата маса се установяват незначителни различия между линиите и популациите фий.

Според коефициентите на ранговa и линейна корелация, при формирането на суха маса съществено значение има признака маса на 1000 семена, както при подвид *striata* (r_S=0.80; r=0.63), така и при подвид *pannonica* (r_S=0.67; r=0.71). При линиите от подвид *pannonica* повишаване на добив суха маса може да се постигне чрез увеличаване на семенната продуктивност (r=0.54) и жътвения индекс (r=0.45), а при подвид *striata* – чрез увеличаване броя на разклоненията (r=0.53).

CONCLUSIONS

The analysis of variance showed significant differences between the studied vetch lines and populations belonging to subspecies *striata* (*Vicia pannonica ssp. striata*) и *pannonica* (*Vicia pannonica* ssp. *pannonica*) in terms of green and dry mass yields.

Line 13/16 was characterized by the highest green mass yield (1.18 kg/m^2) and statistically significant exceeded the control Pisareska Panonska (0.80 kg/m^2). Regarding dry mass yield, insignificant differences between the vetch lines and populations were established.

According to the rank and linear correlation coefficients, in the dry mass formation, an essential meaning had the trait of 1000 seeds mass, in both subspecies *striata* (r_S=0.80; r=0.63) and subspecies *pannonica* (r_S=0.67; r=0.71). In the lines of subspecies *pannonica*, an increase of dry mass yield can be achieved by increasing the seed productivity (r = 0.54) and harvest index (r = 0.45), and in subspecies *striata* – by increasing the number of branches (r=0.53).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Anohina, V. S. and E. S. Mazuka,** 2006. Characteristic of Inter-Cultivar Bean Hybrids in Relation to the Adaptive Potential of the Starting Varieties. *Journal BGU*, 2 (2), 44-48.
2. **Debelyj, G. A., A. G. Goncharov and A. V. Mednov,** 2011. Estimation of Adaptability and Stability in Spring Vetch Genotypes on Height of Plants in Monospecies and Mixed Sowing. *Agricultural Biology*, 2, 90-92.
3. **Debelyj, G. A., L. V. Kalinina, A. V. Mednov and A. V. Goncharov**, 2015. New Generation of Varieties of Leguminous Crops Released by the Moscow Research Institute of Agriculture. *Scientific and Production Journal "Grain-Leguminous Crops and Cereals"*, 1 (13) 1-14.

4. **Kostov, K. and D. Pavlov**, 2001. Forage Production. Academic press, AU, Plovdiv (Bg).
5. **Maksimenya, E. V.**, 2016. Correlations between Economically Valuable Signs of Vegetable Pea. *Bulletin of the Belarusian Agricultural Academy*, 32-35.
6. **Mikic, A., V. Mihailovic, B. Cupina, V. Đordevic, D. Milic, G. Duc, F. L. Stoddard, I. Lejeune-Henaut, P. Marget and E. Hanocq**, 2011. Achievements in Breeding Autumn-Sown annual Legumes for Temperate Regions with Emphasis on the Continental Balkans. *Euphytica*, 180 (1), 57-67.
7. **Nizam, İ., M. G. Cubuk and E. Moralar**, 2011. Genotype × Environment Interaction and Stability Analysis of Some Hungarian vetch (*Vicia pannonica* Crantz.) genotypes. *African Journal of Agricultural Research*, 6 (28), 6119-6125.
8. **Sayar, M. S., A. E. Anlarsal and M. Basbag**, 2013.Genotype-Environment Interactions and Stability Analysis for Dry Matter Yield and Seed Yield in Hungarian Vetch (V*icia pannonica* Crantz). *Turkish Journal of Field Crops*, 18 (2), 238-246.
9. **Shtetinin, V.U.**, 2008. Selection Value of Non-Traditional Morphotypes of Peas. PhD Dissertation, Bryansk.
10. **Tahtacioglu, L., M. Avci, A. Mermer, H. Seker and C. Aygun**. 1996. Adaptation of Some Winter Vetch Varieties under Ecological Conditions of Erzurum. In: Proceedings of the 3rd Turkey Grassland and Forage Crops Congress, 17-19 June, 1996, Erzurum, Turkey, pp. 661-667.
11. **Vitko, G. I.**, 2014. Phenotypic Correlations between Structural Elements of Yield and Other Traits in Peas. *Bulletin of the Belarusian Agricultural Academy*, 82-89.
12. **Ward, J. H.**, 1963. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. *Journal of the American Statistical Association*, 58, 236-244.
13. **Yolcu, H., A. Gunes, M. K. Gullap and R. Cakmakci**, 2012. Effects of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Some Morphologic Characteristics, Yield and Quality Contents of Hungarian Vetch. *Turkish Journal of Field Crops,* 17 (2), 208-214*.*
14. **Zelenov, A. H.**, 2011. The Potential of the Heterophilic Forms of Peas and the Way of its Realization. *Agricultural Russia*, 3, 13-16.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (1), 80-95
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Стабилност и адаптивност на сортовете люцерна относно толерантността към *Apion seniculus* Kirby (Coleoptera: Curculionidae) и някои биохимични характеристики

Ивелина Николова

Институт по фуражните култури, ул. Генерал Владимир Вазов 89, 5800 Плевен, България

Stability and Adaptivity of Alfalfa Cultivars Concerning *Apion seniculus* Kirby (Coleoptera: Curculionidae) Tolerance and Some Biochemical Traits

Ivelina Nikolova

Institute of Forage Crops, 89 General Vladimir Vazov Str., 5800 Pleven, Bulgaria
E-mail: imnikolova@abv.bg

Original scientific paper

Received: 01.04.2019 *Accepted:* 16.05.2019 *Published:* 17.06.2019

РЕЗЮМЕ

През периода 2007-2009 г. е проведено полево проучване със осем сорта люцерна: Европа (Франция) и седем български: Приста 2,Приста 3, Приста 4, Обнова 10, Плевен 6, Дара и Многолистна. Адаптивността и стабилността на изследваните сортове се определят по отношение на показатели за повреда от *Apion seniculus* и някои биохимични характеристики. Установено е силно влияние на генотипа, околната среда и взаимодействието между тях върху изследваните признаци (дял на растения с увредени от *Apion seniculus* растения, степен на повредени стъбла, съдържание на суров протеин, сурови влакнини, разтворими захари и сапонини) при люцерна (*Medicago sativa* L.). Сортът Многолистна може да се отнесе възможно най-близо до

SUMMARY

During the period 2007-2009 was conducted a field trial with eighth alfalfa cultivars: Europe (France), and a seven Bulgarian: Prista 2, Prista 3, Prista 4, Obnova 10, Pleven 6, Dara and Multifoliate. The adaptability and stability of the tested cultivars were determined in relation to damage indicators from *Apion seniculus* and some biochemical traits. It was found a highly significant influence of the genotype, environment and the interaction between them on the studied traits (plants with damaged stems by *Apion seniculus*, degree of damaged stems, content of crude protein, crude fiber, soluble sugars, and saponins) in alfalfa (*Medicago sativa* L.).

The cultivar Multifoliate could be revolved as close to the excellent type (bi≈1.0),

иделния тип генотип (bi≈1.0), подходящ за отглеждане във всяка среда и за селекционни цели. Той се определя като стабилен с добра отзивчивост към променящите се условия на околната среда, характеризиращ се с висока толерантност към *A. seniculus* и високо съдържание на суров протеин и разтворими захари. Европа проявява нестабилна реакция по отношение на дела на повредени стъбла, но сортът притежава по-голяма адаптивност в неблагоприятна среда и ниска степен на повреда. Европа се класифицирана като сорт с висока стабилност и по-добра адаптивност спрямо съдържанието на суров протеин и сурови влакнини, както и съдържанието на водоразтворими захари. Приста 2 може да се определи като стабилен спрямо проучваните показатели с добра отзивчивост към околната среда.

Ключови думи: люцерна, сортове, стабилност, *Apion seniculus*, биохимични показатели

propitious for growing in any environment and for breeding purposes. It was determined as stable with good responsiveness to changing environmental conditions, providing high tolerance to *A. seniculus* and high content of crude protein and soluble sugars.

Europe had an unstable reaction in regard to damaged stem trait, but the variety showed greater adaptability in an unfavourable environment and a low rate of damage.

Europe was classified as a cultivar with high stability and better adaptability for crude protein, crude fiber and soluble sugar content.

Prista 2 could be defined as stable and with good environmental responsiveness to the studied traits.

Key words: alfalfa, cultivars, stability, *Apion seniculus*, biochemical traits

УВОД

Сериозна трудност при отглеждането на люцерна е опазването ú от насекомните неприятели. Стъбловият хоботник *Apion seniculus* е един от често срещащите се твърдокрилите насекоми в люцерновия посев (Nikolova and Georgieva, 2010; Nikolova and Lecheva, 2010). Основна вреда нанасят ларвите, които се развиват и хранят вътре в стъблото като изгризват тесен ход по дължината на стъблото. Ходовете са разположени в прикореновата част на стъблото, където то се пречупва и изсъхва. В резултат на повредата настъпва нежелано изменение в количеството и качеството на фуража. Сортът като мощно средство оказва влияние върху числеността и физиологичното състояние на неприятелите. Толерантните сортове потискат тяхното размножаване, а чувствителните го благоприятстват (Čamprag et al., 1996).

Сортовете, които е необходимо

INTRODUCTION

A serious difficulty in alfalfa grown is the protection from insect pests. Stem weevil, *Apion seniculus* is one of the commonly occurring beetle insects in the alfalfa field (Nikolova and Georgieva, 2010; Nikolova and Lecheva, 2010).

The main damage is caused by larvae which develop and feed inside the stem by gnawing a narrow tunnel along the stem length. The tunnels are located at the bottom of the stem, where it refracts and dries. As a result of the damage, there is an undesirable change in the forage quantity and quality. The variety as a powerful tool affects the density and physiological behavior of the insects. Tolerant varieties suppress their reproduction, and susceptible ones favor insect development (Čamprag et al., 1996).

Cultivars to be considered at

да се разглеждат при непоследователни и непредсказуеми климатични условия, трябва да се оценяват в разнородни локации и да се докажат чрез тестове за стабилност (Kiliç and Yağbasanlar, 2010). Идентифицирането и характеризирането на стабилни източници на резистентност към важни неприятели в зародишната плазма в различни среди е също от голямо значение.

Характеристиките за стабилен генотип са комплексни, поради взаимодействия между генотип × околната среда (Alwala, 2010; Moghaddam et al., 2013). Поради това основна цел на селекционните програми е насочена към създаване на сортове със стабилни и устойчиви добиви при различни условия на околната среда. По този начин се използват различни отговори на генотипи при промяна на условията на околната среда, за да се оцени средният добив и да се идентифицират стабилни генотипи с високи добиви и толерантни към икономически важни неприятели (Moghadam et al., 2012; Tsegaye et al., 2012). Може да се приеме, че взаимодействията между генотип × околната среда се дължи на предвидими и непредсказуеми ефекти (Allard and Bradshow, 1964). Първите ефекти се дължат на макро-околната среда, а последните се дължат на температура и микро-среда (Abo-Hegazy, 2013). В допълнение, адаптивността на сор-та е резултат от неговата стабилност при различни условия (De Souza Goncalves et al., 2003; Rasul et al., 2005; Sharma et al., 2010; Moghaddam et al., 2011).

Разработени са няколко статистически метода за анализ на стабилността. Между тези методи най-широко се използват (bi) коефициента на регресия, (S2di) отклонение от регресия, анализ на адаптивността, анализ на основния компонент (PCA), GGE biplot анализ и др. (Yan and Holland, 2010; Ukalski and Klisz., 2016; Georgieva and Kosev, 2018).

Методите често се използват за

inconsistent and unpredictable climatic conditions should be evaluated in multilocation trials and proved by stability tests (Kiliç and Yağbasanlar, 2010).

The identification and characterization of stable sources of resistance to a major insect pest in cultivare germplasm in different environments are also important.

The features of stable genotype are complex due to genotype×environment interactions (Alwala, 2010; Moghaddam et al., 2013). Therefore, the main purpose of breeding programs is aimed to create cultivars with stable and sustainable yields under various environmental conditions.

In this way, different responses of genotypes to changing environmental conditions are used to estimate the mean yield and to identify high yield and stable genotypes, which are tolerant to economically important pests (Moghadam et al., 2012; Tsegaye et al., 2012). It can be considered that the genotype×environment interactions are due to predictable and unpredictable effects (Allard and Bradshow, 1964).

The former effects are due to the macro-environment and the latter ones are attributable to temperature and micro-environment (Abo-Hegazy, 2013). In addition, the adaptability of a cultivar results from its stability under different conditions (Sharma et al., 2010; Moghaddam et al., 2011).

Several statistical methods have been developed for stability analysis. Between these methods, the most widely used are (bi) the regression coefficient, (S2di) deviation from regression, analysis of adaptability, principal component analysis (PCA), GGE biplot analysis and others (Yan and Holland, 2010; Ukalski and Klisz., 2016; Georgieva and Kosev, 2018).

Methods are often used for describописване на ефектите от взаимодействията между генотип × околната среда успоредно с идентифициране и препоръчване на стабилни генотипове в селекционните програми (Villegas-Fernández et al., 2009; Rubiales et al., 2014; Sánchez-Martín et al., 2014; Georgieva and Kosev, 2016; 2017).

Целта на това изследване е да се направи оценка на взаимодействията между генотип и околната среда на осем сорта люцерна по отношение на толерантността към *Apion seniculus* и някои биохимични характеристики и да се установи тяхната стабилност като материал за бъдещи селекционни програми.

ing the effects of genotype×environment interactions along with identifying and recommending stable genotypes in breeding programs (Villegas-Fernández et al., 2009; Rubiales et al., 2014; Sánchez-Martín et al., 2014; Georgieva and Kosev, 2016; 2017).

The object of this study was to evaluate genotype × environment interactions of eight alfalfa cultivars in regard of resistance to *Apion seniculus* and some biochemical traits and to establish their stability as a material for future breeding programs.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проучването е проведено през периода 2007-2009г. на Опитното поле на ИФК, Плевен, при естествена популационна плътност на *Apion seniculus* (Coleoptera: Curculionidae). Опитът е заложен при неполивни условия, по блоковият метод с 8 сорта: Европа (Франция), седем български: Приста 2, Приста 3, Приста 4, Обнова 10, Плевен 6, Дара и Многолистна люцерна.

Във фаза цъфтеж на първи подраст по стъблата на растенията е отчитана степента на повреда от *Apion seniculus* чрез надлъжно разрязване на стъблата и отчитане наличие на изгризан ход. Извършен е химически анализ и са определени: суров протеин – по метода на Kjeldahl, сурови влакнини – по Weende метода, сапонини – по Jurzysta (1979) и водоразтворими захари – по Ermakov et al. (1987).

Получените данни са обработени чрез двуфакторен дисперсионен анализ за всеки признак за определяне на влиянието на генотипи (G), (E) среди и взаимодействие генотип-среда (G × E). Оценката за екологична стабилност на изследваните сортове се извърши чрез прилагане на следните методи: Регресионен анализ – по Eberhart и Russell (1966), в който са изчислени регресионният коефициент (bi) и дисперсия на

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted during the 2007-2009 period in the Experimental field of IFC, Pleven, Bulgaria at a natural population density of *Apion seniculus* (Coleoptera: Curculionidae). The trial was laid out by the block method without irrigation with 8 alfalfa varieties: Europe (France), and a seven Bulgarian: Prista 2, Prista 3, Prista 4, Obnova 10, Pleven 6, Dara and Multifoliate.

In the flowering stage of the first regrowth, the plant stems are evaluated for the degree of *openness seniculus* damage by a longitudinal incision of the stems and reporting the presence of gnawed tunnels. A chemical analysis was carried out and were determined: a content of crude protein – Kjeldahl method, crude fiber – Weende method, saponins – Jurzysta (1979) and water-soluble sugars – Ermakov et al. (1987).

The obtained data were processed by two-factor analysis of variance for each trait for determination of effects of genotypes (G), (E) environments and genotype-environment interaction (G × E). The estimation of the ecological stability of the tested cultivars was done through the application of the following methods: Regression analysis – according to Eberhart and Russell (1966), in which the regression coefficient (bi) and the регресионни отклонения (Si2); по Tai (1979), (ai; λi); Theil (1950), (T); анализ на дисперсията – средна дисперсна компонента (PP) по Plaisteid и Peterson (1959); ековалентност (W2) – по Wricke (1965).

Експерименталните данни са обработени статистически с помощта на компютърния софтуер GENES 2009.7.0 за Windows XP (Cruz, 2009). Извършен е анализ на основните компоненти (PCA) и GGE биплот анализ.

variance of the deviations from regression (Si2) were calculated; Tai (1979), (ai; λi); Theil (1950), (T); analysis of variance – mean variance component (PP) according to Plaisteid and Peterson (1959); ecovalence (W2), Wricke (1965).

The experimental data were processed statistically by using the computer software GENES 2009.7.0 for Windows XP (Cruz, 2009). It was performed principal component analysis (PCA) and GGE biplot analysis.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Годините, през които е изведен опита, се характеризират със значително различаващи се в метеорологично отношение условия. С най-ниска годишна сума на валежите от 469.1 mm и средноденонощна температура на въздуха от 12.4 ^{o}C се откроява 2008. Годината се отличава с най-големи засушавания. Сухият период започва от средата на май и продължава до началото на септември, като най-продължителни са засушаванията през юли и август (количеството валежи са едва 31.5 и 17.1 mm, съответно). Най-дъждовна и влажна, контрастна на предходната година е 2009, през която общата сума на валежите е с 31% по-висока. Най-много валежи са паднали главно през юни – 95.5 mm и в сравнение с предходните годините са значително равномерно разпределени. Междинно положение заема 2007. Различията в метеорологичните условия през годините оказват съществено влияние както върху растежа и развитието на растенията, така и върху популационната плътност и вреда от *A. seniculus*.

В Таблица 1 е представен анализ на варианса на изследваните в това проучване показатели. Установени са статистически доказани разлики (p<0.001; P<0.05) за всички характеристики по отношение на средата (E), генотипите (G) и взаимодействието на генотип × среда, както и участието на различни генни системи в техния контрол.

RESULTS AND DISCUSSION

Years of the study were characterized by considerably different meteorological conditions. The lowest annual rainfall of 469.1 mm and average air temperatures of 12.4 ^{o}C was found in 2008. The year had the greatest droughts.

The dry period began in the middle of May and continued to the beginning of September, and the most prolonged droughts were in July and August (the amount of rainfall was only 31.5 and 17.1 mm, respectively). The rainiest and wet, contrasting to the previous year was 2009 when the amount of rainfall was 31% higher. June was characterized with the most rainfall (95.5 mm). They were considerably evenly distributed compared to the previous years. An intermediate position had 2007 year.

Differences in weather conditions over the years had an important impact on both plant growth and development, and on the population density and damage of *A. seniculus*.

The variance analyses of investigating traits in this study are presented in Table 1. There were statistically significant differences (p<0.001; P<0.05) for Environments (E), Genotypes (G) and genotype × environment interaction of all characters which shows the participation of different genetic systems in their control.

Таблица 1. Анализ на варианса относно стабилност на изследваните признаци при сортовете люцерна за периода 2007-2009
Table 1. Analysis of variance for stability for studied traits in alfalfa cultivars for the period 2007-2009

Средна сума на квадратите за изследваните признаци / Mean sum of squares for the traits studied							
Източник на вариация Source of Variation	df	Повредени растения Damaged plants	Степен на повредени стъбла Rang of damaged stems	Суров протеин Crude protein	Сурови влакнини Crude fiber	Разтворими захари Soluble sugars	Сапонини Saponins
Environments (E)	2	53 893 288***	12 898 238***	139 821 762***	261 410 113***	821 147***	20 882*
Genotypes (G)	7	587 297***	1 391 421***	4 133 336***	7 147 455***	0.1981 **	0.0545 *
G×E interactions	14	1 471 059***	295 538***	945 991***	2 421 898***	0.2364 **	0.0475 *
Env/Gen	16	8 023 838***	1 870 875***	18 305 463***	34 795 425***	104 712***	0.3026 ns
Env/Europe	2	880.39***	133.41***	1492.23***	6405.91***	118 444***	0.4624 ns
Env/Prista 2	2	945.97***	205.51***	1361.41***	4308.07***	90 421***	0.0484 ns
Env/Prista 3	2	391.57***	226.83***	2533.71***	2664.13***	121 819***	0.3412 ns
Env/Prista 4	2	639.48***	194.53***	1924.68***	2644.39***	121 756***	0.3364 ns
Env/Obnova 10	2	1024.33***	49.21***	1773.49***	3595.27***	86 164***	0.3612 ns
Env/Pleven 6	2	1154.41***	94.09***	2096.92***	1842.21***	97 804***	0.3892 ns
Env/Dara	2	997.33***	397.75***	1359.01***	4159.36***	11.61***	0.0192 ns
Env/Multifoliate	2	385.59***	195.37***	2102.92***	2217.0***	85 189***	0.4624 ns
Total	23						

Legend/Легенда: Environments (E) / Околна среда; Genotypes (G) / Генотипи; G×E interactions / Взаимодействие между околна среда и генотипи; Env/Europe / Околна среда / Европа; Env/Prista 2 / Околна среда / Приста 2; Env/Prista 3 / Околна среда / Приста 3; Env/Prista 4 / Околна среда / Приста 4; Env/Obnova 10 / Околна среда / Обнова 10; Env/Pleven 6 / Околна среда / Плевен 6; Env/Dara / Околна среда / Дара; Env/Multifoliate / Околна среда / Многолистна
Significant at P=0.05 (*), **P=0.01, ***P=0.001; ns – not significant / Доказаност при at P=0.05 (*), **P=0.01, ***P=0.001; ns – няма доказаност

При определяне стабилността на даден сорт, той ще се счита стабилен за всеки параметър за повреда, ако се окаже стабилен по отношение на ниска средна стойност на повреда, коефициент на регресия спрямо околната среда равен на единица (bi=1.00), и по-ниско отклонение на регресия (S2di)).

Коефициентът на регресия над 1,0 описва генотипи с по-висока чувствителност към промяна на околната среда (под средната стабилност) и по-голяма специфична адаптивност към среди с ниска степен на повреда. Коефициент на регресия под 1.0 осигурява по-голяма устойчивост към промяната в околната среда (над средната стабилност) и по този начин увеличава специфичната адаптивност към среди с висока степен на повреда (Wachira et al., 2002).

Повредени растения: Най-високата оценка за стабилност според

To determine cultivar stability, it would be considered stable for any given parameter for damage if it appeared to be stable as regards having low mean damage trait, a regression coefficient one over the environment's (bi=1.00), a lower deviation from regression (S2di).

Regression coefficient above 1.0 describes genotypes with higher sensitivity to environmental change (below average stability) and greater specificity of adapt to environments related to lower damages. A regression coefficient below 1.0 provides a measurement for greater resistance to environmental change (above average stability), and thus increases the specificity of adaptability to environments related to high damages (Wachira et al., 2002).

Damaged plants: The highest evaluation of stability according to the критериите на двата метода за анализ по отношение на този показател притежават Приста 4 и Дара, следвани от Приста 2 и Приста 3 (Таблица 2). Приста 4 и Дара се отличават със сравнително ниска степен на повредени растения и проявяват по-добра специфична адаптивност съответно към среди с ниска и висока степен на повреда (Фигура 1а). Изследваният показател отразява в определена степен предпочитанията на неприятеля към проучваните сортове в различни среди. Най-важният критерий за устойчивостта на сортовете люцерна към *Apion seniculus* е степента на повредените стъбла. Причина за това е различието в броя на стъблата на едно растение при отделните сортове.

Степен на повредени стъбла: Линейната регресия относно средната степен на повредено стъбло на един сорт и средната степен на повредено стъбло на всички сортове във всяка среда е свързано с регресионни коефициенти (bi стойности), вариращи от 0.24 до 1.68 (Таблица 2). Това голямо отклонение в коефициентите на регресия показва различни реакции на сортовете към промените в околната среда.

criteria of both analysis methods in regard to that trait have shown Prista 4 and Dara, followed by Prista 2 and Prista 3 (Table 2). Prista 4 and Dara are distinguished by a relatively low degree of damaged plants and exhibited greater specificity of adaptability to low and high damaging environments, respectively (Figure 1a).

The studied parameter reflected a certain extent the preference of the insect pest for the studied varieties in different environments. The main trait characterizing the degree of attack by the weevil was the degree of damaged stems. The reason for that was the difference in stem number for the different varieties.

Degree of damaged stems: Linear regression for the average damaged stem of a single variety on the average damaged stem of all varieties in each environment resulted in regression coefficients (bi values) ranging from 0.24 to 1.68.

That large variation in regression coefficients indicates different responses of cultivars to environmental changes.

Таблица 2. Оценка на параметрите за адаптивност и стабилност на показатели за повреда от *Apion seniculus* и на на някои биохимични характеристики при сортовете люцерна

Table 2. Estimates of the adaptability and stability parameters for *Apion seniculus* damage components and for some biochemical traits in alfalfa varieties

Сорт Cultivar	Eberhart and Russell			Tai		Theil	Plaisted and Peterson	Wricke
	bi	s2di		ai	λi	T	PP	Wi2
Повредени растения / Damage plant								
Dara/Дара	1.22	0.46	ns	1.22	1.59	7.92	30.43	21.82
Europe/Европа	0.72	353.08	***	0.72	606.34	-10.25	135.26	388.76
Multifoliate/Мн.	0.72	22.25	***	0.72	38.83	-10.19	40.55	57.23
Obnova 10/Онова	1.21	24.45	***	1.21	42.99	7.72	37.02	44.93
Pleven 6/Плевен	1.25	70.22	***	1.25	121.54	9.08	52.29	97.83
Prista 2/Приста 2	1.16	22.40	***	1.16	39.26	5.99	34.15	35.14
Prista 3/Приста 3	0.76	-0.01	ns	0.76	0.80	-8.75	31.61	26.14
Prista 4/Приста 4	0.96	12.89	***	0.96	23.47	-1.52	28.32	14.17
Повредени стъбла / Damaged stems								
Dara/Дара	1.68	8.37	***	1.560	6.596	10.04	15.3	21.82
Europe/Европа	0.24	72.52	***	0.821	28.266	-32.14	10.29	388.76
Multifoliate/Мн.	1.17	4.72	***	1.066	13.996	1.18	7.06	57.23
Obnova 10/Онова	0.58	2.51	***	0.538	2.858	-8.29	11.62	44.93
Pleven 6/Плевен	0.82	1.17	**	0.761	0.697	-4.28	6.46	97.83
Prista 2/Приста 2	1.20	5.98	***	1.116	5.330	2.09	5.90	35.14
Prista 3/Приста 3	1.26	7.44	***	1.138	20.507	2.48	8.60	26.14
Prista 4/Приста 4	1.06	28.30	***	1.000	37.979	0.00	10.92	14.17
Суров протеин / Crude protein								
Dara/Дара	0.89	-2.46	ns	0.882	0.969	-7.00	20.27	15.77
Europe/Европа	0.92	22.74	**	0.912	42.132	-5.17	2.50	34.28
Multifoliate/Мн.	1.04	158.17	***	1.033	270.467	1.97	60.88	162.90
Obnova 10/Онова	0.96	114.83	***	0.954	207.304	-2.69	50.68	119.90
Pleven 6/Плевен	1.08	1.22	ns	1.094	5.248	5.57	19.26	12.07
Prista 2/Приста 2	0.89	-0.84	ns	0.881	4.650	-7.02	20.91	17.39
Prista 3/Приста 3	1.19	-2.75	ns	1.204	2.108	12.04	29.58	42.74
Prista 4/Приста 4	1.04	20.15	*	1.039	42.476	2.32	23.02	25.63
Сурови влакнини / Crude fiber								
Dara/Дара	1.12	15.58	***	1.125	28.708	10.09	54.52	50.68
Europe/Европа	1.37	185.43	***	1.369	319.449	29.85	178.14	483.57
Multifoliate/Мн.	0.81	39.79	***	0.812	70.078	-15.18	73.66	117.75
Obnova 10/Онова	1.04	52.57	***	1.037	92.238	3.00	5.63	56.72
Pleven 6/Плевен	0.75	0.64	ns	0.750	3.204	-20.19	79.37	138.00
Prista 2/Приста 2	1.14	30.46	***	1.142	54.480	11.47	61.65	75.58
Prista 3/Приста 3	0.87	127.87	***	0.869	221.379	-10.55	87.53	166.10
Prista 4/Приста 4	0.90	16.83	***	0.895	30.904	-8.49	52.05	42.00
Разтворими захари / Soluble sugars								
Dara/Дара	1.04	0.20	***	1,050	0,356	0,223	-0,230	0.22
Europe/Европа	1.05	0.29	***	1,054	0,515	0,243	-0,202	0.31
Multifoliate/Мн.	0.91	0.20	***	0,896	0,298	-0,467	-0,223	0.27
Obnova 10/Онова	0.90	0.02	ns	0,913	0,043	-0,389	-0,272	0.10
Pleven 6/Плевен	0.98	0.01	ns	0,975	0,026	-0,113	-0,288	0.02
Prista 2/Приста 2	0.93	0.04	*	0,934	0,088	-0,297	-0,271	0.09
Prista 3/Приста 3	1.10	0.01	ns	1,090	0,024	0,401	-0,275	0.09
Prista 4/Приста 4	1.09	0.00	ns	1,089	0,023	0,400	-0,275	0.07
Сапонини / Saponins								
Dara/Дара	0.02	-2.50	ns	-0.454	-0.153	-0.547	-0.296	20.72
Europe/Европа	0.12	-2.50	ns	1.631	-0.028	0.237	-0.320	16.69
Multifoliate/Мн.	0.12	-2.50	ns	1.631	-0.028	0.237	-0.320	16.74
Obnova 10/Онова	7.39	-2.46	ns	1.338	-0.008	0.127	-0.324	883.94
Pleven 6/Плевен	0.10	-2.50	ns	1.421	-0.012	0.159	-0.323	17.41
Prista 2/Приста 2	0.04	-2.50	ns	-0.094	-0.089	-0.412	-0.309	19.97
Prista 3/Приста 3	0.10	-2.50	ns	12.712	-0.004	0.102	-0.324	17.49
Prista 4/Приста 4	0.10	-2.50	ns	1.256	-0.003	0.096	-0.324	17

Доказаност при ниво на вероятност 0.01(**), 0.001(***); ns – няма доказаност
Significant at 0.01(**). 0.001(***) probability levels. ns – not significant

Стойностите на параметрите за стабилност относно степента на повредени от хоботника стъбла определят като най-ценният сорт Многолистна съгласно регресионния анализ на Eberhart и Russell (bi=1.17), Tai (ai=1.066) и Theil (T=1,18). Приста 4 (bi=1.06) също е оценена като ценен и стабилен сорт по този признак съгласно посочените по-горе регресионни анализи. Многолистна е най-слабо предпочитан от *Apion seniculus* (ниска степен на повредени стъбла) (Фигура 1b). Сортът проявява висока толерантност към повредите от хоботника и проявява по-добра адаптивност във всяка среда. Европа е с нестабилен тип реакция, което предполага предполага неговата висока чувствителност към променящите се условия на околната среда, но сортът притежава по-добра адаптивност в неблагоприятна среда и нисък процент на повредени стъбла.

Приста 4 се проявява като стабилен сорт с отзивчива реакция към околната среда (bi =0.06). При Плевен 6 регресионния коефициент доближава 1 (bi=0.82), но сортът се отличават с висок процент на повредени събла и слаба адаптивност в неблагоприятна среда. Затова не се препоръчва за целите на селекцията.

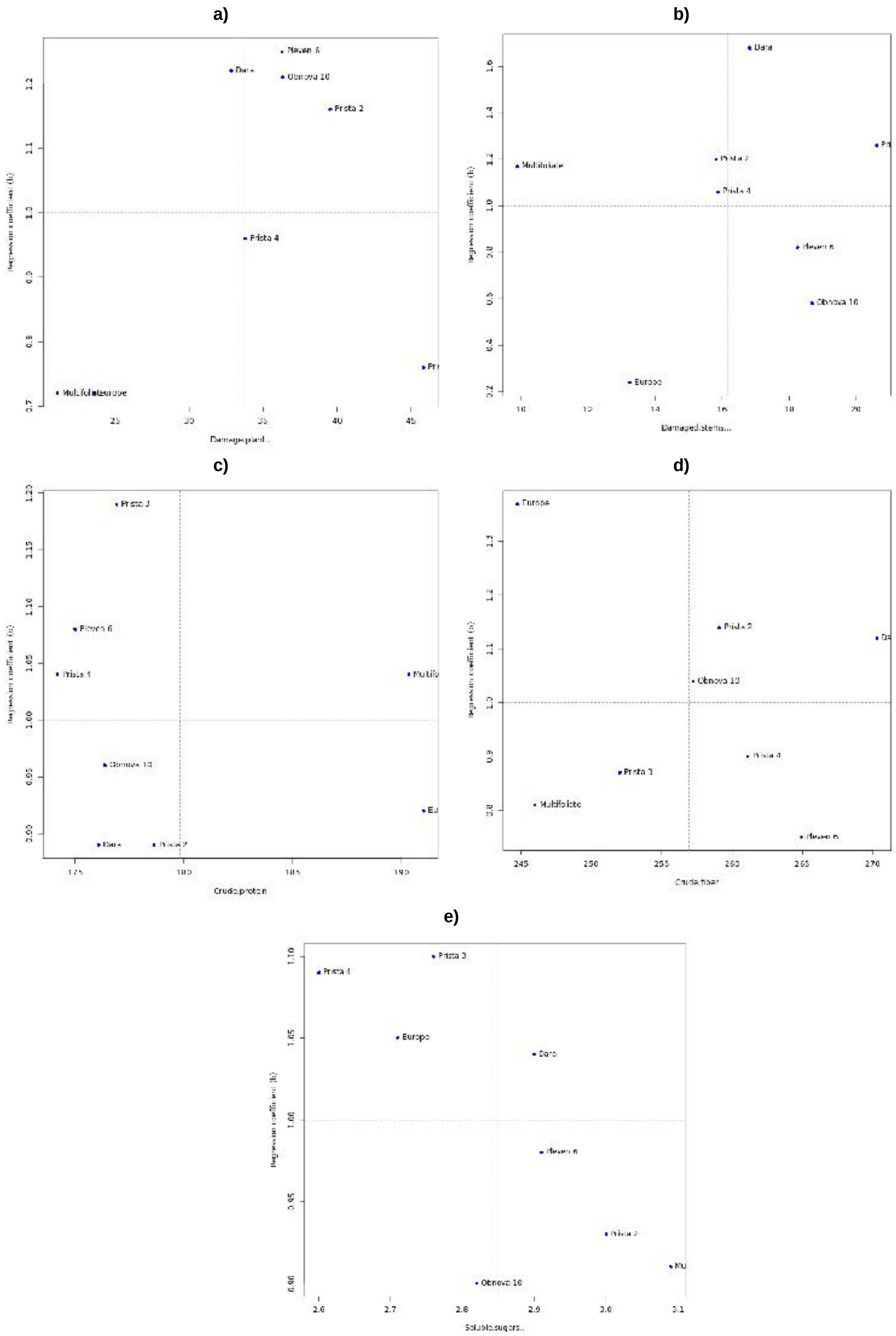
Суров протеин: Прилагането на методологиите, разработени от Eberhart, Russell and Tai, показва, че почти всички генотипове проявяват висока стабилност (bi≈1), с изключение на Приста 3 (bi=1.19) (Таблица 2). Сред тях Многолистна и Европа се отличават със значително по-високо от средното за опита съдържание на суров протеин, както и по-добра адаптивност във всяка / неблагоприятна среди (Фигура 1c). Това означава, че сортовете са стабилни, широко адаптирани и ценни за целите на селекцията. По този показател другите сортове приемат стойности, по-ниски от средната такава и се проявяват като чувствителни към променящите се условия на околната среда.

The values of parameters of stability of damaged stem by the weevil according to regression analysis of Eberhart and Russell (bi=1.17), Tai (ai=1.066) and Theil (T=1,18) defined as the most valuable Multifoliate cultivar. Prista 4 (bi = 1.06) was marked out as valuable and stable on this trait too on the above-mentioned regression analyzes.

Multifoliate was the least preferred of *Apion seniculus* (low rate of damaged stems) (Figure 1 b). The variety was highly tolerant to weevil damage and showed better adaptability in any environment. Europe had an unstable reaction, suggesting its high sensitivity to changing environmental conditions, but the variety showed greater adaptability in an unfavourable environment and a low rate of damaged stems.

Prista 4 manifest itself as a stable variety with good responsiveness to environmental conditions (bi=0.06). In Pleven 6 the regression coefficient approached 1, but the variety was distinguished by a high percentage of damaged stems and poor adaptability in an unfavorable environment. Therefore, that genotype was not recommended for selection purposes.

Crude protein: Applying the methodologies developed by Eberhart and Russell, and Tai demonstrated that almost all genotypes had a high stability response (bi≈1) excluding Prista 3 (bi=1.19) (Table 2). Among them, Multifoliate and Europe were distinguished by a considerably higher crude protein content than the average value, as well as better adaptability in any / unfavourable environments (Figure 1c). That implied that varieties were stable and widely adapted and valuable for the selection. Other varieties of that trait had a value lower than the average one and exhibited a sensitive reaction to changing environmental conditions.



Фиг. 1. Стабилност и адаптивност на сортове люцерна спрямо регресионния коефициент (bi) и проучваните показатели
Fig. 1. Stability and adaptability of alfalfa cultivars according to regression coefficient (bi) and studied traits

Сурови влакнини: Сортовете притежават различна реакция на стабилност спрямо съдържанието на сурови влакнини, като високото съдържание е нежелан сортов белег. Стабилни по Eberhart and Russell , Theil, Plaisted и Peterson и Wricke, с регресионен коефициент, слабо превишаващ 1 (bi варира от 1.04 до 1.14) са Обнова 10, Дара и Приста 2 (Таблица 2). Сортовете проявяват по-висока чувствителност към промяна в околната среда и по-голяма специфична адаптивност към среда, благоприятстваща високо съдържание. Влакнинните компоненти при тях значително превишават средната стойност, докато протеиновото съдържание е под средното за сортовете (Фигура 1 c и d). Многолистна и Приста 4 са с коефициентът на регресия под 1.0, което осигурява по-голяма устойчивост към промяна в околната среда (над средната стабилност) и по този начин увеличава специфичната адаптивност към ниско влакнино съдържание в средите (Фигура 1 d). Многолистна и Европа се отличават с най-ниски стойности по този показател.

Водоразтворими захари: Линейната регресия относно средното съдържание на водоразтворими захари на един сорт и на всички сортове във всяка среда е свързано с регресионни коефициенти, вариращи в минимална граници от 0.90 до 1.10 (Таблица 2), което показва много сходни реакции на сортовете към промените в околната среда. Сортовете се проявяват като стабилни, но притежават различна адаптивност. Многолистна и Приста 2 са по-отзивчиви при неблагоприятни условия на годината, като се отличават и с най-високо захарно съдържание (Фигура 1e). Плевен 6 и Дара се характеризират с по-добра адаптивност съответно във всяка и в благоприятна среда, а Европа – със средна адаптивност в благоприятна среда. Съгласно критериите за дисперсионен

Crude fiber: The varieties had a different stability reaction to the contents of crude fiber, and the high level is an undesirable varietal mark. According to the regression analysis of Eberhart and Russell, Theil, Plaisted and Peterson, and Wricke as stable cultivars with a regression coefficient slightly exceeding 1 (bi varied from 1.04 to 1.14) were defined Obnova 10, Dara and Prista 2 (Table 2).

Varieties showed higher sensitivity to environmental change and greater specificity of adaptability to environments related to high fiber content. Their fiber components considerably exceeded the average value while the protein content was below the average for the varieties (Figure 1 c and d). Multifoliate and Prista 4 had a regression coefficient below 1.0, which provided greater resistance to environmental change and thus increased the specific adaptability to environments related to low fiber content (Figure 1d). Multifoliate and Europe were characterized by the lowest values for that indicator.

Water-soluble sugars: Linear regression for the average on the average content of water-soluble sugars of a single variety on the average of all varieties in each environment resulted in regression coefficients ranging in a minimum diapason from 0.90 to 1.10 (Table 2). That indicated very similar responses of cultivars to environmental changes.

Multifoliate and Prista 2 are more responsive under unfavorable conditions of the year and are distinguished by the highest sugar content (Figure 1e). Pleven 6 and Dara are characterized by better adaptability, respectively, in any and in a favorable environment, and Europe – with medium adaptability in a favourable environment. Because of the criteria of dispersion analysis, these cultivars were анализ, тези сортове се характеризират като стабилни и тяхната взаимна комбинация може да се препоръча поради различната им реакция към променящите се условия.

Съгласно анализът на екологична стабилност по Eberhart and Russel по отношение съдържанието на сапонини, проучваните сортове се оценяват като нестабилни (Таблица 2). Тези сортове са нечувствителни към промените в околната среда и имат слаба адаптация за неблагоприятна среда.

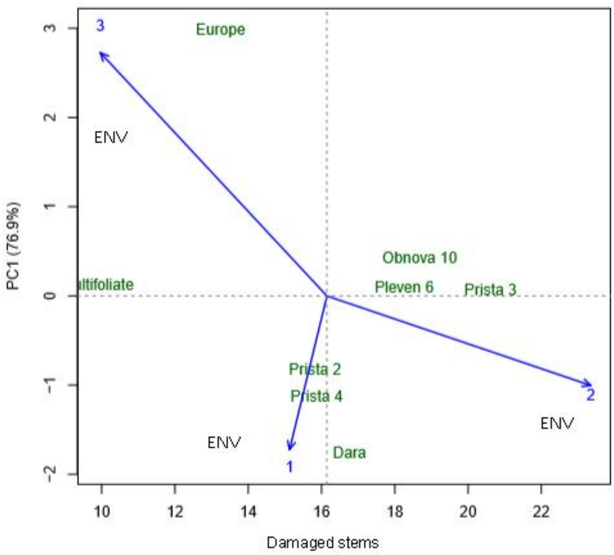
В селекцията на растенията, когато целта е да се подберат или препоръчат генотипи за отглеждане, подробното изследване на взаимодействието между генотипите и околната среда е от изключителна важност. Фигура 2 представя ефектите на околната среда върху дела на повредените от хоботника стъбла. Основните компоненти PC1 и PC2 определят съответно 76.9% и 23.1% от общата вариация, причинена от взаимодействието между сорт и околна среда. Хоризонталната ос описва степента на повредени стъбла, а вертикалната ос показва стойностите на PC1. Колкото по-висока е абсолютната стойност на PC1, толкова по-висока е стойността на взаимодействието между генотип × среда. Сортовете са най-малко стабилни в екологична среда 3 (най-високата абсолютна стойност на PC1). Най-висок дял на повредени стъбла са наблюдавани при генотипи, разположени в среда 2, а най-нисък – в среда 1.

characterized as stable and their mutual combination can be recommended due to their different responsiveness to the changing conditions.

According to the ecological stability analysis of Eberhart and Russel for saponin content, the studied varieties were assessed as unstable (Table 2). These cultivars were insensitive to environmental changes and had low adaptation for poor environments.

In plant breeding, when the purpose is to select or recommend genotypes for planting, a detailed study of the interaction between genotypes and environments is of extreme importance.

Figure 2 showed the effects of the environment on the proportion of damaged stems by the weevil. The principal components of PC1 and PC2 determined the 76.9 and 23.1% respectively of the total variation, caused by the interaction of cultivar and environment. The horizontal axis describes the damaged stems, and the vertical axis shows the values PC1. The higher the absolute value of PC1, the higher is the value of genotype × environment interaction. The cultivars were least stable in ENV 3 environment (the highest PC1 absolute value). The highest mean damage was observed in the genotypes in the environment 2, and the lowest – in the ENV 1 environment.



Фиг. 2. GGE биплот на базата на повредени стъбла (2007-2009). Годините се обозначават с ENV и номерата 1; 2; и 3 съответстват за 2007, 2008 и 2009 години
Fig. 2. The GGE biplot based on damaged stems (2007-2009). The years are designated with the ENV and number 1; 2; and 3 for 2007, 2008 and 2009

GGE биполт показва, че Многолистна е най-толерантният към повредите на хоботника сорт и има най-ниска стойност на този показател по абсцисната ос. Той проявява стабилна реакция към промените на околната среда и е ценен от селекционна гледна точка. Установено, че Европа е друг сорт, също слабо предпочитан от *A. seniculus* (с по-ниска стойност на повредени стъбла), но той проявява специфична адаптивност, т.е. добра адаптивност в среда, в която се намира. Стабилен и с ниска стойност на повредени от хоботника стъбла е сорт Приста 2. Стабилни с абсолютни стойности, близки до 0 по ординатната ос са Приста 3, Плевен 6 и Обнова 10, но сортовете са силно чувствителни на повреда и не са ценни при селкция за толерантност към този неприятел. В съответствие с тяхната толерантност, сортовете могат да бъдат подредени в следната последователност: Приста 3 < Обнова 10 < Плевен 6 < Дара < Приста 4 < Приста 2 < Европа < Многолистна.

GGE biplot revealed that Multifoliate was the most tolerant among the studied cultivars and had the lowest value of this indicator on the horizontal axis. It exhibited a stable response to environmental changes and is valuable for breeding program. It was established that Europe was another variety, low preferred by *A. seniculus* (with a lower parameter of damage stem), and it had specific adaptability, i. good adaptability in an environment where was located. Slightly sensitive with low value of the damaged by the weevil stems was variety Prista 2 too. Stable with absolute values close to 0 on the ordinate axis were Prista 3, Pleven 6 and Obnova 10, but were highly susceptible to damage and they did not valuable for breeding programs on *A. seniculus* tolerance. In accordance with their tolerance, the cultivars can be arranged in the following sequence: Prista 3 < Obnova 10 < Pleven 6 < Dara <Prista 4 < Prista 2 < Europe < Multifoliate.

ИЗВОДИ

✓ Установено е силно влияние на генотип, околна среда и взаимодействието между тях върху изследваните признаци (дял на растения с повредени от *Apion seniculus* стъбла, степен на повредени стъбла, съдържание на суров протеин, сурови влакнини, разтворими захари и сапонини) при люцерна (*Medicago sativa* L).

✓ Сортът Многолистна може да се отнесе възможно най-близо до иделния тип генотип (bi≈1.0), подходящ за отглеждане във всяка среда. Той се определя като стабилен с добра отзивчивост към променящите се условия на околната среда, характеризиращ се с висока толерантност към *A. seniculus* и високо съдържание на суров протеин и разтворими захари.

✓ Европа проявява нестабилна реакция по отношение на дела на повредени стъбла, но притежава по-голяма адаптивност в неблагоприятна среда и ниска степен на повреда. Сортът се класифицирана с висока стабилност и по-добра адаптивност спрямо съдържанието на суров протеин, сурови влакнини и водоразтворими захари.

✓ Приста 2 може да се определи като стабилен спрямо проучваните показатели с добра отзивчивост към околната среда.

CONCLUSIONS

✓ It was found a highly significant influence of the genotype, environment and the interaction between them on the studied traits (plants with damaged stems by *Apion seniculus*, degree of damaged stems, content of crude protein, crude fiber, soluble sugars, and saponins) in alfalfa (*Medicago sativa* L).

✓ The cultivar Multifoliate could be revolved as close to the excellent type (bi≈1.0), propitious for growing in any environment. It was determined as stable with good responsiveness to changing environmental conditions, providing high tolerance to *A. seniculus* and high content of crude protein and soluble sugars.

✓ Europe had an unstable reaction in regard to damaged stem trait, but the variety showed greater adaptability in an unfavorable environment and a low rate of damage. Europe was classified as a cultivar with high stability and better adaptability for crude protein, crude fiber and soluble sugars content.

✓ Prista 2 could be defined as stable and with good environmental responsiveness to the studied traits.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Alwala, S, T. Kwolek, M. McPherson, J. Pellow and D. Meyer**, 2010. A Comprehensive Comparison between Eberhart and Russel joint Regression and GGE Biplot Analyses to Identify Stable and High Yielding Maize Hybrids. *Field Crop. Res*., 119, 225-230.
2. **Abo-Hegazy, S.R.E., T. Selim and A.A.M. Ashrie**, 2013. Genotype×Environment Interaction and Stabilityanalysis for Yield and its Components in Lentil. *Jouranal of Plant Breeding*, 5, 85-90.
3. **Allard, R.W. and A.D. Bradshaw**, 1964. Implications of Genotype-Environmental Interactions in Applied Plant Breeding. *Crop Science*, 4, 503-508.
4. **Čamprag, D.T., T. Kereši and R. Sekulić**, 1996. Integralua Zaštita Soje od Štetočina, “Design Studio Stanišič”, *Bačka Palanka*, 4-143.
5. **Cruz, C.D.**, 2009. Programa Genes: Biometria. Version 7.0, University of Federal Viçosa, Viçosa, Brazil.
6. **Eberhart, S.A. and W.A. Russell**, 1966. Stability Parameters for Comparing Varieties. *Crop Science*, 6, 36-40.

7. **Ermakov, A.V., V. Arasimovich, N. Yarosh, I. Perwanski, G. Lukovnikova and M. Ikonikova**, 1987. Methods for Biochemical Studies in Plants, Moscow, 322-324 (Ru).
8. **Georgieva, N. and V. Kosev**, 2016. Evaluation of Genotypic and Genetic Variances of Quantitative Traits in Pea (Pisum sativum L.). *Emirates Journal of Agricultural Science*, 28,11, 755-763.
9. **Georgieva, N. and V. Kosev**, 2017. Estimation of the Environment as Background for Selection on Adaptivity in White Lupine Breeding. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 6 (2), 139-146.
10. **Georgieva, N. and V. Kosev**, 2018. Genotype-Environment Interaction and Stability in Forage Pea Cultivars (Pisum sativum L.). *Field Crop Studies*, XI, 1, 25-38.
11. **Jurzysta, M**., 1979. Haemolytic Micromethod for Rapid Estimation of Toxic Alfalfa Saponines. *Acta Agrobotanica*, 32, 1, 5-11.
12. **Kiliç, H. and T. Yağbasanlar**, 2010. Genotype x Environment Interaction and Phenotypic Stability Analysis for Grain Yield and several Quality Traits of Durum Wheat in the South-Eastern Anatolia Region. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj,* 38 (3), 253-258.
13. **Moghadam, A, G. Pietsch, M.R. Ardakani, A. Raza, J. Vollmann and J.K. Friedel**, 2011. Genetic Diversity and Distance Among Iranian and European Alfalfa (Medicago sativa L.) Genotypes. *Crop Breeding Journal*, 1, 13-28.
14. **Moghaddam, A., A. Raza, J. Vollmann, M.R. Ardakani, W. Wanek, G. Gollner and J.K. Friedel**, 2013. Carbon Isotope Discrimination and Water Use Efficiency Relationships of Alfalfa Genotypes under Irrigated and Rain-Fed Organic Farming. *European Journal of Agronomy*, 50, 82-89.
15. **Moghaddam, A., J. Vollmann, W. Wanek, M.R. Ardakani, A. Raza, G. Pietsch and J.K. Friedel**, 2012. Suitability of Drought Tolerance Indices for Selecting Alfalfa (Medicago sativa L.) Genotypes under Organic Farming in Austria. *Crop Breeding Journal,* 2, 79-89.
16. **Nikolova, I. and N. Georgieva**, 2010. Tolerance of Lucerne Varieties to Apion seniculus Kirby (Coleoptera: Curculionidae). In: Jubilee Scientific Conference with International Participation, 15 years Trakia University, Stara Zagora. *Agricultural science and technology*, 2 (1), 44-47.
17. **Nikolova, I. and I. Lecheva**, 2010. Study of Harmful Species from Coleoptera Order in Alfalfa Biocenosis for Forage (Medicago sativa L.). In: Jubilee Scientific Conference with International Participation “Traditions and Challenges of Agricultural Education, Science and Business, *Scientific Works*, LV (2), 23-30, AU-Plovdiv.
18. **Plaisted, R.L. and L.C. Peterson**, 1959. A Technique for Evaluating the Ability of Selection to Yield Consistently in Different Location and Seasons. *American Journal of Potato Research*, 36, 381-385.
19. **Rubiales, D., F. Flores, A.A. Emeran, M. Kharrat, M. Amri, M.M. Rojas-Molina and J.C. Sillero**, 2014. Identification and Multi-Environment Validation of Resistance Against Broomrapes (Orobanche crenata and Orobanche foetida) in Faba Bean (Vicia faba). *Field Crops Research,* 166, 58–65.
20. **Sharma, C.S., A.I. Morgounov, H.J. Braun, B. Akin, M. Keser, D. Bedoshvil, A. Bagci, C. Martius and M. Van Ginkel**, 2010. Identifying High Yielding Stable Winter Wheat Genotypes for Irrigated Environments in Central and West Asia. *Euphytica*, 171, 53-64.
21. **Sánchez-Martín, J., D. Rubiales, F. Flores, A.A. Emeran, M.J.Y. Shtaya, J.C. Sillero, M.B. Allagui and E. Prats**, 2014. Adaptation of Oat (Avena sativa) Cultivars to Autumn Sowings in Mediterranean Environments. *Field Crops Research,* 156, 111-122.

22. **Tai, G.C.C.**, 1979. Analysis of Genotype-Environment Interactions of Potato Yield. *Crop Science*, 419, 434.
23. **Theil, H.**, 1950. A Rank-Invariant Method of Linear and Polynomial Regression Analysis. *Indagationes Mathematicae*, 12, 85-91.
24. **Tsegaye, D., T. Wuletaw and B. Muluken**, 2012. Genotype×Environment Interactions and Grain Yield Stability of Haricot Bean Varieties in Northwest Ethiopia. *Scientific Research and Essays*, 7, 3487-3493.
25. **Ukalski, K. and M. Klisz,** 2016. Application of GGE Biplot Graphs in Multi-Environment Trials on Selection of Forest Trees. *Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry*, 58 (4), 228-239.
26. **Villegas-Fernбndez, A.M., J.C. Sillero, A.A. Emeran, J. Winkler, B. Raffiot, J. Tay, F. Flores and D. Rubiales**, 2009. Identification and Multienvironment Validation of Resistance to Botrytis fabae in Vicia faba. *Field Crops Research*, 114, 84-90.
27. **Wachira, F., N.G. Wilson, J. Omolo and G. Mamati**, 2002. Genotype x Environment Interactions for Tea Yields. *Euphytica*, 127, 289-296.
28. **Wricke, G**., 1965. Zur Berechnung der Ökovalenz bei Sommerweizen und Hafer. *Pflanzenzuchtung*, 52, 127-138.
29. **Yan, W. and J.B. Holland**, 2010. A Heritability-Adjusted GGE Biplot for Test Environment Evaluation. *Euphytica*. 171, 355-369.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (1), 96-107 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Изследване върху пластидни пигменти при люцерна (*Medicago sativa* L.) в зависимост от сорта, възрастта на растенията и повредата от люцернов сечко (*Plagionotus floralis* Pall.)

Евгения Жекова[1]*, Гергана Кунчева[2]

[1]*Институт по земеделие и семезнание „Образцов чифлик", 7007 Русе, България*
[2]*Институт по почвознание, агртехнологии и защита на растенията „Н. Пушкаров", 1080 София, България*

Research on Plastid Pigments of Alfalfa (*Medeicago sativa* L.) Depending on Variety, Age of Plants and Damages of Alfalfa Longhorn Beetle (*Plagionotus floralis* Pall.)

Evgeniya Zhekova[1]*, Gergana Kuncheva[2]

[1]*Institute of Agriculture and Seed Science "Obraztsov Chiflik", 7007 Rousse, Bulgaria*
[2]*Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection "N. Poushkarov", 1080 Sofia, Bulgaria,*
**E-mail: e.d.zhekova@abv.bg*

Original scientific paper

Received: 12.06.2019 *Accepted:* 24.06.2019 *Published:* 28.06.2019

РЕЗЮМЕ

Съдържанието на пластидни пигменти в листната маса е показател за реакцията на растенията към промените в околната среда и на тяхната адаптация към екологичните условия. При повреди, нанесени от насекомни неприятели, растенията развиват някои компенсаторни и адаптивни механизми, които намалят негативното влияние. В настоящата разработка е извършен анализ на зависимостта на съдържанието на пластидни пигменти и съотношенията между тях в зависимост от сорта, възрастта на растенията и повредата от ларвите на люцернов сечко. Установено е, че върху съдържанието на пигменти (хлорофил ***a,*** хлорофил ***b***, каротиноиди) в листната маса на

SUMMARY

The content of plastid pigments is an indicator of the reaction of plants to environmental changes and their adaptation to environmental conditions. In the case of damage caused by insect pests, the plants develop some compensatory and adaptive mechanisms to reduce the negative impact. In the present study, an analysis of the dependence of the content of plastid pigments and the relationship between them of the variety, the age of the plants and the damage on the root system of the alfalfa longhorn beetle larvae was performed. It has been found that the content of pigments (chlorophyll ***a***, chlorophyll ***b***, carotenoids) in the alfalfa leaf has been influenced by the age of the люцерната, оказва влияние възрастта на растенията, като общото пигментно съдържание намалява с напредване на възрастта на посевите. Сортът („Плевен 6”, „Приста 3”, „Многолистна 1”) не оказва съществено влияние нито върху съдържанието на хлорофилите и каротиноидите, нито върху съотношението между тях. Отчетено е повишено съдържание на пластидни пигменти при растения с повредена от люцернов сечко коренова система спрямо здрави, което може да се дължи на компенсаторен механизъм на люцерната при нападение от неприятели.

Ключови думи: хлорофил ***a***, хлорофил ***b***, каротиноиди, люцернов сечко, *Plagionotus floralis*, люцерна, *Medicago sativa*

plants, with the overall pigment content decreasing with the aging of the crops.

The variety („Pleven 6", „Prista 3", „Mnogolistna 1") did not have a significant effect on the content of chlorophylls and carotenoids nor on the ratio between them. An increased content of plastid pigments in plants with an alfalfa damaged root system in relation to healthy plants has been reported, which may be due to the alfalfa compensation mechanism, in the case of attack by pests.

Key words: chlorophyll ***a***, chlorophyll ***b***, carotenoids, alfalfa longhorn beetle, *Plagionotus floralis*, alfalfa, *Medicago sativa*

УВОД

Поглъщането и трансформацията на слънчевата енергия от зелените растения се осъществява чрез пигментите хлорофил ***a***, хлорофил ***b*** и каротиноиди. Основни пигменти, участващи във фотосинтезата са хлорофил ***a*** и ***b***, а каротиноидите участват както в поглъщането на светлината, така и в предпазване на хлорофила от фотоокисление.

Съдържанието на пигменти в листата на растенията се променя под действието на различни фактори – осветеност на растенията, влияние на хербициди (Marenco et al., 1994), болести (Berova et al., 2007), засушаване (Velinova et al., 2008), промени в минералното хранене, високи и ниски температури, минерална токсичност, промишлено замърсяване (Kerin et al., 1997) и др.

Освен това, съотношението между хлорофил ***a*** и хлорофил ***b*** в надземните органи широко се използва като ранен индикатор на стареенето на растенията (Congming et al., 2001). Съотношението между хлорофили и каротиноиди е чувствителен индикатор за окислително увреждане, тъй като

INTRODUCTION

The absorption and transformation of solar energy by green plants is accomplished by the chlorophyll ***a***, chlorophyll ***b*** and carotenoids pigments. The main pigments involved in photosynthesis are chlorophyll ***a*** and ***b***, and carotenoids are involved in both light absorption and chlorophyll protection from photooxidation.

The content of pigments in the leaves of plants changes under the influence of various factors – plant illumination, herbicide influence (Marenco et al., 1994), diseases (Berova et al., 2007), droughts (Velinova et al., 2008), and such as changes in mineral nutrition, high and low temperatures, mineral toxicity, industrial pollution (Kerin et al., 1997) and others.

Furthermore, the ratio between chlorophyll ***a*** and chlorophyll ***b*** in the above-ground organs is widely used as an early indicator of plant aging (Congming et al., 2001). The ratio between chlorophylls and carotenoids is a sensitive indicator of oxidative damage, as chlorophylls are sensitive to oxidative and хлорофилите са чувствителни на окислително и фото увреждане, а каротиноидите са антиоксиданти (Kerin et al., 1997; Ilieva and Vasileva, 2016).

Люцерновият сечко е един от основните неприятели по люцерната. Вредят ларвите, които се развиват в корените на нападнатите люцернови растения, като изгризват почти цялата им вътрешност от шийката до 5-10 cm надолу и изпълват ходовете със стърготини. Повредите от ларвите водят до разреждане на посевите, намаляват количеството и качеството на фуража, както и добива на семена, влошават качеството на селекционните материали (Makarov, 1968; Kemenesy and Manninger, 1968; Nikolova and Kertikova, 2008).

Целта на настоящото изследване е да се определи съдържанието на пластидни пигменти и съотношенията между тях и сорта, възрастта на растенията и повредата от ларвите на люцернов сечко.

illumination damaging, and carotenoids are antioxidants (Kerin et al., 1997; Ilieva and Vasileva, 2016).

The alfalfa longhorn beetle is one of the main pests of alfalfa. The larvae damage that develop in the roots of attacking alfalfa plants and gnawed almost all of their internal part from the root neck to 5-10 cm down and filling it with sawdust. Damages from larvae lead to rarefaction of the crops, reduce the quantity and quality of the fodder, and the yield of seeds, degrade the quality of the breeding material (Makarov, 1968; Kemenesy and Manninger, 1968; Nikolova and Kertikova, 2008).

The aim of the present study is to determine the dependence of the content of plastid pigments and ratios between them on the variety, the age of the plants and the damage of the alfalfa longhorn beetle larvae.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експерименталната работа е извършена през периода 2010-2015 г. в опитното поле на ИЗС „Образцов чифлик” - Русе. Химичните анализи са направени в лабораторията по биохимия на ИЗС „Образцов чифлик” - Русе.

MATERIAL AND METHODS

The experimental work was carried out during the period 2010-2015 in the experimental field of IASS "Obraztsov Chiflik" - Rousse. The chemical analyzes were made in the laboratory of biochemistry of IASS "Obraztsov Chiflik".

Таблица1. Схема на полските опити
Table 1. Scheme of field trials

Година/Year	Възраст на люцерната/Age of alfalfa		
	1 вариант/1 variant	2 вариант/2 variant	3 вариант/3 variant
2010	сеитба/sowing		
2011	2-годишна/2 years old	сеитба/sowing	
2012	3-годишна/3 years old	2-годишна/2 years old	сеитба/sowing
2013	4-годишна/4 years old	3-годишна/3 years old	2-годишна/2 years old
2014		4-годишна/4 years old	3-годишна/3 years old
2015			4-годишна/4 years old

За изпълнение на задачата са проведени парцелни опити с три сорта люцерна: „Плевен 6”, „Приста 3” и „Многолистна 1” на възраст от една до четири години.

За да се осигури необходимата достоверност на получените резултати

For the implementation of the task field trials with three alfalfa cultivars were carried out: „Pleven 6”, „Prista 3” and „Mnogolistna 1”aged one to four years.

In order to provide the necessary reliability for the effects of the alfalfa age за влиянието на възрастта на люцерната върху съдържанието на пластидни пигменти, отделните варианти са засявани в три последователни години: първи вариант – през 2010, втори вариант – през 2011 и трети вариант – през 2012 г. (Таблица 1). Всеки вариант включва сеитба на трите сорта – „Плевен 6", „Приста 3" и „Многолистна 1", всеки един от тях в 4 повторения (опитни парцели) при междуредие 12,5 cm. Отделните парцели и варианти на опита са разположени по перпендикулярния метод (Shannin, 1977; Dimova and Marinkov, 1999).

Всяка година през месец октомври до първата половина на ноември, от 4-те повторения (опитните парцели) на всеки сорт през периода на изследването, са изваждани растенията от 0,25 m^2 на дълбочина 15-20 cm и корените на всички растения са дисектирани при лабораторни условия за установяване на наличие или отсъствие на повреда от ларва на люцернов сечко. Листна маса от здрави и повредени растения е предоставена в лаборатория по биохимия за определяне на съдържанието на хлорофил ***a***, хлорофил ***b*** и каротиноиди.

Съдържанието на пластидни пигменти е определено в разтвор на ацетон по метода на Mac Kinney (1941) и Arnon (1949). Измерванията на екстинкцията са извършени на спектрофотометър Спекол 11.

Статистическата обработка на данните е извършена със софтуерния пакет STATISTICA 13.1 (Mitkov, 2011).

on the content of plastid pigments, the different variants are sown in three consecutive years: first variant – 2010, second variant – 2011 and third variant – 2012 (Table 1).

Each variant includes sowing of the three varieties – „Pleven 6", „Prista 3" and „Mnogolistna 1", each of them in 4 replications (experimental plots) at a spacing of 12.5 cm. The individual plots and variants of the experiment are located perpendicularly (Shannin, 1977; Dimova and Marinkov, 1999).

Every year in the autumn, from October to the first half of November, from the 4 replicates (experimental plots) of each variety during the study period, the plants of 0.25 m^2 were removed at a depth of 15-20 cm and the roots of all plants are dissected in laboratory conditions for the establishment of presence or absence of damage to larvae of alfalfa longhorn beetle. A leaf of healthy and damaged plants is provided in a biochemistry laboratory to determine the content of chlorophyll ***a***, chlorophyll ***b*** and carotenoids.

The content of plastid pigments is determined in acetone solution by the method of Mac Kinney (1941) and Arnon (1949). The extinction measurements were performed on a Speccol 11 spectrophotometer

Statistical data processing performed with the software package STATISTICA 13.1 (Mitkov, 2011).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В Таблица 2 са представени резултатите от извършените анализи за съдържанието на хлорофил ***a***, хлорофил ***b*** и каротиноиди при три сорта люцерна, от едногодишни, двугодишни, тригодишни и четиригодишни растения, както при здрави, така и при тези с повреда по кореновата система, нанесена от ларвите на люцерновия сечко.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 presents the results of the analyzes of the chlorophyll ***a***, chlorophyll ***b*** and carotenoids content in three alfalfa varieties in one, two, three and four years old plants, both in healthy and those with root system damages from larvae of alfalfa longhorn beetle.

За статистическата обработка е проведен трифакторен експеримент, като факторът A е сорт люцерна, който се изменя на три нива (a1 – „Плевен 6”, a2 – „Приста 3”, a3 – „Многолистна 1”). Факторът B – възраст на растенията се изменя на четири нива: b1 – едногодишни, b2 – двугодишни, b3 – тригодишни, b4 – четиригодишни расте-ния. Фактор C има две нива: c1 – здрави растения, c2 – с повреда от ларви на люцернов сечко по коренова-та система.

For the statistical analysis, a three - factor experiment was carried out, the factor A being alfalfa variety, which is changed to three levels (a1 – „Pleven 6”, a2 – „Prista 3”, a3 – „Mnogolistna 1”). Factor B – plants age is changed to four levels: b1 – one-year, b2 – two years, b3 – three-years, b4 – four-years-old plants. Factor C has two levels – c1 – healthy plants, c2 – with lesions of larvae on the root system.

Таблица 2. Съдържание на пластидни пигменти при здрави и повредени от ларви на люцернов сечко люцернови растения, при три сорта люцерна, през четирите години на вегетация
Table 2. Content of plastid pigments in healthy and damaged by alfalfa longhorn beetle larva in three alfalfa plants during the four years of vegetation

Сорт Variety	Възраст Age	Здрави/ Повредени Healthy/ Damaged	Хлорофил ***a***/ Chlorophyll ***a***, %	Хлорофил ***b***/ Chlorophyll ***b***, %	Каротиноиди Carotenoids, %	Хл.***a***/Хл.***b*** Chl.***a***/Chl.***b***	Хлорофил (***a***+***b***)/ Каротиноиди Chlorophyll (***a***+***b***)/ Carotenoids
a1	b1	c1	0.167	0.063	0.061	2.65	3.77
	b2		0.167	0.064	0.043	2.61	5.37
	b3		0.161	0.060	0.044	2.68	5.02
	b4		0.141	0.049	0.051	2.88	3.73
	b1	c2	0.199	0.081	0.075	2.56	4.10
	b2		0.182	0.072	0.058	2.40	5.33
	b3		0.150	0.059	0.044	2.85	4.61
	b4		0.151	0.049	0.055	3.06	3.76
a2	b1	c1	0.174	0.068	0.059	2.39	4.18
	b2		0.173	0.072	0.046	2.41	4.83
	b3		0.174	0.061	0.051	2.46	5.00
	b4		0.156	0.051	0.055	3.10	3.67
	b1	c2	0.181	0.078	0.055	2.46	3.73
	b2		0.179	0.070	0.052	2.53	4.38
	b3		0.163	0.068	0.048	2.54	4.75
	b4		0.154	0.049	0.055	3.08	3.64
a3	b1	c1	0.165	0.069	0.056	2.32	4.71
	b2		0.181	0.075	0.053	2.56	4.79
	b3		0.160	0.065	0.045	2.40	4.81
	b4		0.158	0.051	0.057	3.14	3.69
	b1	c2	0.170	0.067	0.050	2.54	4.74
	b2		0.212	0.091	0.066	2.33	4.59
	b3		0.165	0.069	0.045	2.39	5.20
	b4		0.165	0.047	0.060	3.51	3.53

От извършения дисперсионен анализ (Таблица 3, 4, 5) се вижда, че най-силно влияние върху съдържа-нието на пигменти оказва възрастта на растенията. Влиянието на сорта не се доказва чрез проведения анализ. Раз-

From the dispersion analysis carried out (Table 3, 4, 5), it can be seen that the greatest influence on the pigment content is the age of the plants. The influence of the variety is not evidenced by the analysis. Differences in the content ликата в съдържанието на хлорофил ***a*** се доказва при p=0,0986 (Таблица 4), а на хлорофил ***b*** при p=0,082 (Таблица 4).

of chlorophyll ***a*** was demonstrated at p=0.0998 (Table 4) and chlorophyll ***b*** at p=0.082 (Table 4).

Таблица 3. Дисперсионен анализ на съдържанието на хлорофил *a* (%), в зависимост от сорта, възрастта и повредата от ларвата на люцернов сечко люцернови растения

Table 3. Dispersion analysis of chlorophyll *a* content (%), depending on the variety, age and damage of alfalfa longhorn beetle larva of alfalfa plants

Effect	Еднофакторен тест за значимост за хлорофил ***a***/ Univariate test of significance for chlorophyll ***a***,%				
	Сума на квадратите SS	Степени на свобода Degr. of freedom	MS	F	Вероятност P
Сорт/Variety	0.0002	2	0.0001	0.88	0.4295
Възраст/Age	0.0029	3	0.0009	8.17	0.0013
Здрави/Повредени Healthy/ Damaged	0.0003	1	0.0003	3.02	0.0986
Error	0.0020	17	0.0001		

Таблица 4. Дисперсионен анализ на съдържанието на хлорофил *b* (%), в зависимост от сорта, възрастта и повредата от ларвата на люцернов сечко люцернови растения

Table 4. Dispersion analysis of chlorophyll *b* content (%), depending on the variety, age and damage of alfalfa longhorn beetle larva of alfalfa plants

Effect	Еднофакторен тест за значимост за хлорофил ***b***/ Univariate test of significance for chlorophyll ***b***,%				
	Сума на квадратите SS	Степени на свобода Degr. of freedom	MS	F	Вероятност P
Сорт/Variety	0.0000	2	0.00004	1.306	0.296
Възраст/Age	0.0021	3	0.00072	21.981	0.000
Здрави/Повредени Healthy/Damaged	0.0001	1	0.00011	3.425	0.081
Error	0.0005	17	0.00003		

Таблица 5. Дисперсионен анализ на съдържанието на каротиноиди (%), в зависимост от сорта, възрастта и повредата от ларвата на люцернов сечко люцернови растения

Table 5. Dispersion analysis of carotenoids content (%), depending on the variety, age and damage of alfalfa longhorn beetle larva of alfalfa plants

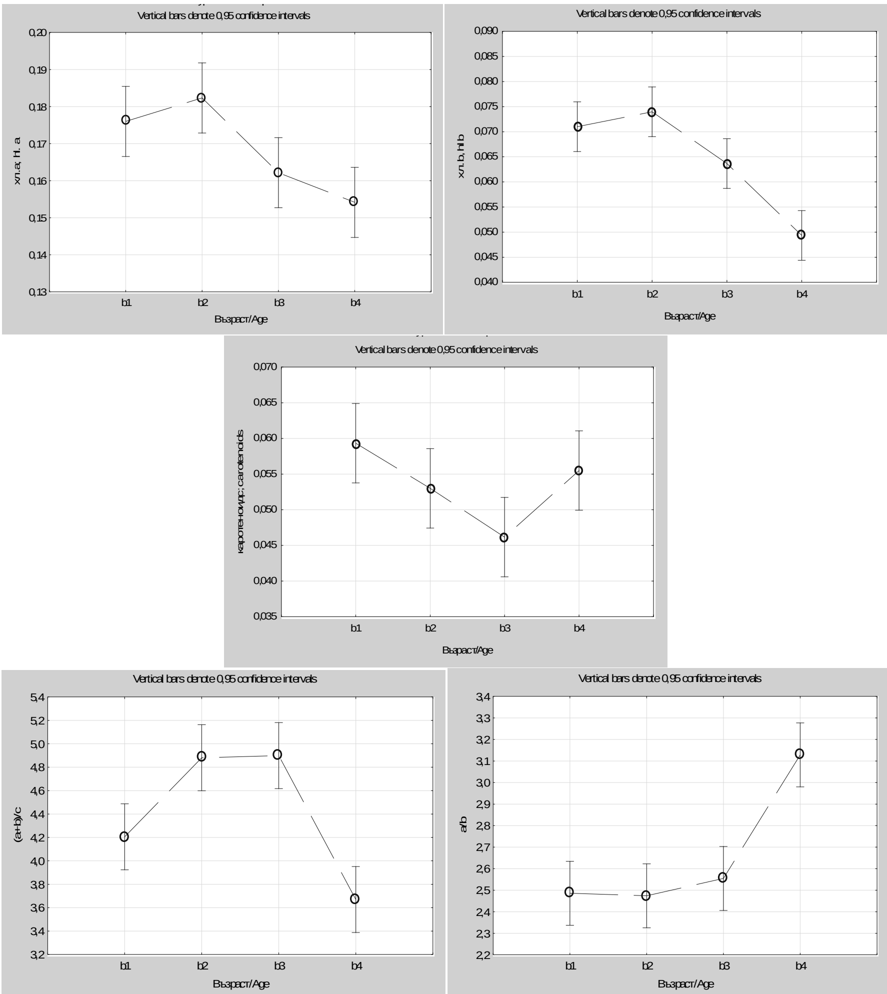
Effect	Еднофакторен тест за значимост за каротиноиди Univariate Tests of Significance for carotenoids, %				
	Сума на квадратите SS	Степени на свобода Degr. of freedom	MS	F	Вероятност P
Сорт/Variety	0.000009	2	0.000005	0.11	0.895
Възраст/Age	0.000552	3	0.000184	4.41	0.018
Здрави/Повредени Healthy/Damaged	0.000074	1	0.000074	1.76	0.201
Error	0.000709	17	0.000042		

От данните представени на Фигура 1, можем да наблюдаваме намаляване на количеството на хлорофил ***a*** и хлорофил ***b*** с увеличаване на възрастта на растенията. При съот-

From the data presented in Figure 1, we can see a decrease in the amount of chlorophyll ***a*** and chlorophyll ***b*** by increasing the age of the plants. At the chlorophyll ***a*** ratio to chlorophyll ***b***, an ношението на хлорофил ***a*** спрямо хлорофил ***b,*** се отчита повишаване при четиригодишните растения. Съотношението между съдържанието на хлорофили и каротиноиди се повишава до третата година на изследването, докато през четвъртата спада. Дължи се на пониженото количество хлорофил и по-високото съдържание на каротиноиди, което е показател за настъпващото стареене на растенията.

increase in the four years old plants was reported.

The ratio between the content of chlorophylls and carotenoids rises to the third year of the study, while in the fourth year – drops. It is due to the reduced amount of chlorophylls and the higher content of carotenoids, which is an indicator of the aging of the plants.

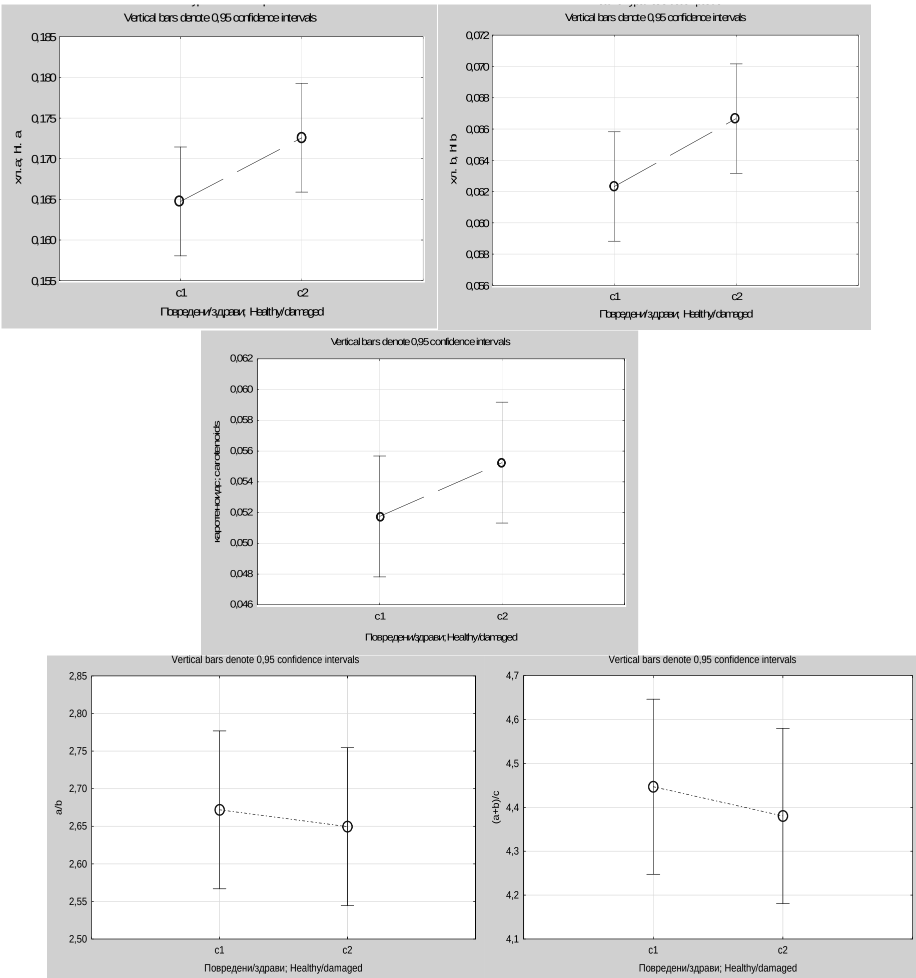


Фиг. 1. Зависимост на съдържанието на хлорофил *a* (%), хлорофил *b* (%), каротиноиди (%), отношението хлорофил *a*/хлорофил *b* и отношението (хл.*a*+хл.*b*)/каротиноиди в зависимост от възрастта на растенията (b1-b4)

Fig. 1. The content of chlorophyll *a* (%), chlorophyll *b* (%) and carotenoids (%), as well as the ratio of chlorophyll *a* / chlorophyll *b,* (chl.*a* + chl.*b*)/carotenoids in relation of the age of plants (b1-b4).

Данните на Фигура 2, показват повишаване на количествата на пигментите при повредени от ларви на люцернов сечко растения. Съотношенията между пигментите обаче са по-ниски при нападнатите, в сравнение със здравите растения.

The results presented in Figure 2 show an increase in the amount of pigments in damaged by alfalfa longhorn beetle larvae plants. However, the proportions of pigments are lower in the attacked than in healthy plants.



Фиг. 2. Съдържание на хлорофил *a* (%), хлорофил *b* (%), каротиноиди (%), отношението хлорофил *a*/хлорофил *b* и отношението (хл.*a*+хл.*b*)/каротиноиди при здрави (c_1) и повредени от ларвата на люцернов сечко (c_2) растения

Fig. 2. The content of chlorophyll *a* (%), chlorophyll *b* (%) and carotenoids(%), as well as the ratio of chlorophyll *a* /chlorophyll *b,* (chl.*a* + chl.*b*)/carotenoids in healthy (c_1) and damaged by alfalfa longhorn beetle larva (c_2) plants

От данните в Таблица 6 се вижда, че коефициентите на вариация на пигментното съдържание при повредени растения са по-високи от тези при

From the data in Table 6 it can be seen that the coefficients of variation of the pigment content in damaged plants are higher than those in healthy ones, здрави, което означава по-високо вариране на резултатите. От Таблица 6 и Фигура 2 е видно повишаване на нивата на хлорофил ***a***, хлорофил ***b*** и каротиноиди. Това вероятно се дължи на компенсаторен механизъм на растенията, насочен към ускоряване на процеса на фотосинтеза и насочване на асимилати към повредената коренова система. Такива компенсаторни механизми са описани в изследванията на различни автори (Rubia et al., 1996; Fikru et al., 1999; Anikin et al., 2017).

which means higher variance of the results. From Table 6 and Figure 2, there is observed an increase in chlorophyll ***a***, chlorophyll ***b*** and carotenoid levels. This is probably due to a plant compensation mechanism aimed at accelerating the photosynthesis process and directing assimilates to the damaged root system. Such compensatory mechanisms are described in the studies of some authors (Rubia et al., 1996; Fikru et al., 1999; Anikin et al., 2017).

Таблица 6. Описателни статистики на съдържанието на пигменти на здрави люцернови растения (c1) и растения повредени от ларви на люцернов сечко (c2)

Table 6. Descriptive statistics of the pigment content of healthy alfalfa plants (c_1) and damaged by alfalfa longhorn beetle larva plants(c_2)

Variety Сорт	Здрави/Повредени Healthy/Damaged	N	Средно Mean	Медиана Median	Минимум Minimum	Максимум/ Maximum	Стандартно отклонение SD	Коефициент на вариране CV
Хл.***a***/Chl.***a***	c1	12	0.165	0.166	0.141	0.181	0.011	6.435
Хл.***b***/Chl.***b***		12	0.062	0.063	0.049	0.075	0.008	13.531
Каротиноиди/ Carotenoids		12	0.052	0.052	0.043	0.061	0.006	11.830
Хл.***a***/Хл.***b*** Chl.***a***/ Chl.***b***		12	2.672	2.632	2.391	3.098	0.250	9.341
Хл.(***a***+ ***b***)/ Каротиноиди/ Chl.(***a***+***b***)/ Carotenoids		12	4.447	4.393	3.667	5.370	0.652	14.667
Хл.***a***/Chl.***a***	c2	12	0.173	0.168	0.150	0.212	0.019	11.031
Хл.***b***/Chl.***b***		12	0.067	0.069	0.047	0.091	0.014	20.441
Каротиноиди/ Carotenoids		12	0.055	0.055	0.044	0.075	0.009	15.987
Хл.***a***/Хл.***b*** Chl.***a***/Chl.***b***		12	2.650	2.533	2.321	3.511	0.381	14.381
Хл.(***a***+ ***b***)/ Каротиноиди/ Chl.(***a***+***b***)/ Carotenoids		12	4.380	4.650	3.533	5.200	0.573	13.075

В Таблица 7 са показани разликите в пигментното съдържание между повредени и здрави растения. От данните, представени в нея, се забелязва, че нападнатите от люцернов сечко растения, имат по-високо съдържание на хлорофил ***a*** средно с 4,67%, на хлорофил ***b*** – с 6,32%, а на каротиноиди с 7,09%, като количеството на пигментите при здрави растения е прието за 100%. Съотношенията меж-

Table 7 shows differences in pigment content between damaged and healthy plants. From the data presented in it, it is noticeable that the plants infested with alfalfa longhorn beetle larvae, had higher chlorophyll ***a*** content on average of 4.67%, chlorophyll ***b*** by 6.32% and carotenoids – 7.09 %, in comparison with the amount of pigments in healthy plants being assumed to be 100%. Pigment ratios show a slight ду пигментите показват незначителен спад от 0,98% и 0,93%.

Отделните сортове реагират по различен начин, като от данните показани в Таблица 7, можем да предположим по-силна реакция на сортовете „Плевен 6” и „Многолистна 1”, при които се наблюдава по-голямо увеличение на пластидните пигменти, в сравнение със сорт „Приста 3”. Най-силно е променено количеството на пигментите при едногодишни и двугодишни растения, докато при по-възрастните растения тези промени са в по-малки граници.

decrease of 0.98% and 0.93%.

Individual varieties responded in a different way, from the data shown in Table 7, we can assume a stronger reaction of the „Pleven 6” and „Mnogolistna 1” varieties, where there is a higher increase of plastid pigments compared to „Prista 3”.

The pigment quantity of the one year and two years old plants are higher, while in older plants, these changes are smaller.

Таблица 7. Съдържание на хлорофил *a*, хлорофил *b*, каротиноиди и съотношения между тях в люцернови растения повредени от ларви на люцернов сечко в % спрямо здрави (c2-c1)

Table 7. Content of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, carotenoids and their ratios in alfalfa plants damaged by alfalfa longhorn beetle larvae in % relative to healthy (c2-c1)

Сорт Variety	Възраст Age	Хлорофил ***a*** (c2-c1) Chlorophyll ***a*** (c2-c1),%	Хлорофил ***b*** (c2-c1) Chlorophyll ***b*** (c2-c1),%	Каротеноиди (c2-c1) Carotenoids (c2-c1), %	Хл.***a***/хл.***b*** (c2-c1) Chl.***a***/chl.***b*** (c2-c1), %	Хл.(***a***+***b***)/каротеноиди (c2-c1) Chl.(***a***+***b***)/carotenoids, %
Плевен 6 Pleven 6	b1	+19.16%	+28.57	+22.95	-7.32	-0.99
	b2	+8.98%	+12.68	+34.88	-3.28	-18.45
	b3	-6.83	-1.67	+0.00	-5.25	-5.43
	b4	+7.09	+0.00	+7.84	+7.09	-2.39
Приста 3 Prista 3	b1	+4.02	+14.71	-6.78	-9.31	+14.81
	b2	+3.47	-2.78	+13.04	+6.42	-10.09
	b3	-6.32	+11.48	-5.88	-15.97	+4.44
	b4	-1.28	-3.92	+0.00	+2.75	-1.93
Многолистна 1 Mnogolistna 1	b1	+3.03	-2.90	-10.71	6.11	13.44
	b2	+17.13	+21.33	+24.53	-3.47	-4.95
	b3	+3.13	+6.15	0.00	-2.85	+4.00
	b4	+4.43	-7.84	+5.26	+13.32	-3.64
Средно Average		+4.67	+6.32	+7.09	-0.98	-0.93

ИЗВОДИ

1. Върху съдържанието на пигменти (хлорофил ***a,*** хлорофил ***b***, каротиноиди) в листната маса на люцерна, оказва влияние възрастта на растенията. Общото пигментно съдържание намалява с увеличаване на възрастта на посевите.

2. В проведените експерименти, изпитаните сортове („Плевен 6”, „Приста 3”, „Многолистна 1”) не оказват съществено влияние нито върху съдържание-

CONCLUSIONS

1. The content of pigments (chlorophyll ***a***, chlorophyll ***b***, carotenoids) in the alfalfa foliage is affected by the age of the plants. The total pigment content decreases as the crop age increases.

2. In the experiments carried out there is no significant differences either on the content of chlorophylls and carotenoids or the ratios between them of the tested varieties („Pleven 6”, „Prista 3”,

то на хлорофили и каротиноиди, нито върху съотношението между тях.
3. Отчетено е повишено съдържание на хлорофил ***a,*** хлорофил ***b,*** каротиноиди при растения с повредена от люцернов сечко коренова система, спрямо здрави. Също така резултатите при повредените растения варират по-силно, което се дължи вероятно на степента на увреждане. Повишеното съдържание на пигменти се дължи на компенсаторен механизъм на люцерната, при нападение от неприятели.

„Mnogolistna 1").

3. An increased content of chlorophyll ***a***, chlorophyll ***b***, carotenoids was reported in plants with damaged root system by the alfalfa longhorn beetle larvae, in comparison to healthy. Also, the results for damaged plants vary more strongly probably due to different degree of damage. The increased pigment contents are a result of the alfalfa compensation mechanism, in the case of attack by pests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Anikin V., M. Nikelshparg, E. Nikelshparg and I. Konyukhov**, 2017. Photosynthetic Activity of the Dodder *Cuscuta campestris* (Convolvulaceae) in Case of Plant Inhabitation by the Gallformed Weevil *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae). *Izv. Sarat. un-ta. Nov. ser. Himiya. Biologiya. Ekologiya.* 7(1), 42-46.
2. **Arnon, D.**, 1949. Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, 24, 1-15.
3. **Berova, M., N. Stoeva, Z. Zlatev, Tz. Stoilova and P. Chavdarov**, 2007. Physiological Changes in Bean (*Phaseolus vulgaris*) Leaves, Infected by the Most Important Bean Diseases, *Journal of Central European Agriculture*, 8 (1), 57-62.
4. **Congming, L., L. Qingtao, Z. Jinhua and T. Kunang**, 2001. Characterization of Photosynthetic Pigment Composition, Photosystem II Photochemistry and Themal Energy Dissipation during Leaf Senescence of Wheat Plants Grown in Field, *Journal of Experimental Botany*, 52 (362), 1805-1810.
5. **Dimova, D. and E. Marinkov**, 2005. Experimental Work and Biometrics. Academic Publishing House of HIA, Plovdiv (Bg).
6. **Fikru, J., L. Higley, X. Ni and S. Quisenberry**, 1999. Physiological and Growth Tolerance in Wheat to Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae) Injury. *Environ. Entomol.,* 28 (5), 787-794.
7. **Ilieva, A. and V. Vasileva**, 2016. Plastid Pigments Content and Nitrogen Dry Mass Yield in Some Grass Mixtures. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 19 (1), 61-77.
8. **Kemenesy, E. and G. Manninger**, 1968. Die Luzerne anbau und pflanzenschutz, Budapest, pp. 163-164.
9. **Kerin, V., T. Tsonev, M. Moetska-Berova, A. Vassilev and Z. Zlatev**, 1997. Contemporary Methods for Analysis in Plant Physiology. Academic Publishing House of HIA, Plovdiv (Bg).
10. **Kerin, V., M. Moetska-Berova, N. Stoeva, A. Vassilev and Z. Zlatev**, 2000. Plant Physiology Manual, Academic Publishing House of AU, Plovdiv (Bg).
11. **Kertikov, T., A. Ilieva, D. Kertikova**, 2016. Biochemical Evaluation of Alfalfa Forage Mass Grown Under Conventional and Biological Conditions. In: 55th Science Conference of Ruse University., Bulgaria, pp. 133-139.
12. **Makarov, M.**, 1968. Alfalfa Longhorn Beetle. *Rastitelna zashtita*, 2, 13-18 (Bg).
13. **Marenco, R. and N. Lopes**, 1994. Leaf Chlorophyll Concentration and Nitrogen Content in Soybean Plants Treated with Herbicides. *R. Bras. Fisiol. Veg.*, 6 (1), 7-13.

14. **McKinney, G.**, 1941. Absorption of Light by Chlorophyll Solutions. *J. Biol. Chem.*, 140, 315-322.
15. **Mitkov, A.**, 2011. Experimental Theory. Dunavpress, Ruse (Bg).
16. **Nikolova, I. and D. Kertikova**, 2008. Comparative Assessment of Alfalfa Samples by Degree of Attack by Some Soil Pests. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 11 (1), 48-59.
17. **Rubia, E., K. Heong, M. Zalucki, B. Gonzales and G. Norton**, 1996. Mechanisms of Compensation of Rice Plants to Yellow Stem Borer *Scirpophaga incertulas* (Walker) Injury https://www.researchgate.net/publication/309705184
18. **Shannin, J.**, 1977. Methodology of Field Experiment. Bulgarian Academy of Sciences, Sofia (Bg).
19. **Velinova, K. and T. Naydenova**, 2008. Contents of Pigments, Total Protein and Free Proline in the Assimilating Apparatus of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) and Austrian Black Pine (*Pinus nigra* Arn.) in Different Soil Moisture. *Forest Science*, 1, 3-15.