Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 266-279 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Кълняемост на семена от чушки (*Capsicum annuum* L.) и домати (*Solanum lycopersicum* L.) и отглеждане на млади растения върху субстрат от отпадъци от мина "Кишница" и ТЕЦ "Косово В"

Милица Станкович-Попич[1], Радмила Трайкович[1], Снежана Анджелкович[2]*

[1]*Научен факултет, Косовска Митровица, Република Сърбия*
[2]*Институт по фуражни култури, Крушевац, Република Сърбия*

Germination of seeds of vegetable cultures of peppers (*Capsicum annuum* L.) and tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) and growing of young plants on the mine dumps substrate from Kišnica Mine and Kosovo B thermal power plant

Milica Stanković-Popić[1], Radmila Trajković[1], Snežana Andjelković[2]*

[1]*Faculty of Sciences, Kosovska Mitrovica, Republic of Serbia*
[2]*Institute for forage crops, Kruševac, Republic of Serbia*
**E-mail: snezana.andjelkovic@ikbks.com*

Received: 16.04.2018 *Accepted:* 25.10.2018 *Published:* 08.11.2018

РЕЗЮМЕ

Изследвана е кълняемостта на семена от чушки (*Capsicum annuum* L.) и домати, както и (Lycopersicom lycopersicum L.) растежът на младите растения върху субстрати от рудника на мина "Кишница", в който преобладават тежки метали, и отпадъци от ТЕЦ "Косово", където преобладават сяра и азотни съединения. Покълването е извършено на различни дълбочини на субстрата (20 cm и 40 cm). Получените резултати показват, че процентът на кълняемост на семената и растежът на младите растения варират и зависят от растителните видове, семена, места на използвания субстрат, дълбочината на субстрата и концентрацията на замърсителите в субстрата. Висока кълняемост е установена в пробите, които

SUMMARY

The study of the germination of pepper seeds (*Capsicum annuum* L.) and tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) and the growth of young plants was done on the substrates of the Kišnica Mine pit, which is dominated by heavy metals, and mine dumps of Kosovo Thermal Power Plant, where various sulfur and nitrogen compounds are dominant. Germinating was carried out at different depths of the substrate (20 cm and 40 cm). Obtained results show that the percentage of seed germination and the growth of young plants are varied and depend on the plant species, seeds, sites of the used substrate, the depth of the substrate and the concentration of pollutants in the substrate. High seed germination was found in the samples that were

поникват върху субстрата от ТЕЦ "Косово В" на дълбочина 40 cm (128% при доматите, в сравнение с контролата). Въпреки това в семената, поникнали върху субстрат от мина "Кишница" след 7 дни, това е 75%, в сравнение с контролата, но 5 дни след поникването се наблюдава пълно спиране на растежа и увяхване на растенията.

Ключови думи: кълняемост на семена, зеленчукови растения, субстрат от отпадъци от мина, замърсители, тежки метали, серен диоксид, азотни оксиди

germinating on the substrate from the Thermal Power Plant Kosovo B at a depth of 40 cm (128% in tomatoes compared to control). However, in the seed that germinated on the substrate of the Kišnica Mine after 7 days, it was 75% in comparison to control, but 5 days after germination a complete inhibition of growth has occurred and plants wilted.

Key words: germination of seeds, vegetable plants, mine dump substrate, pollutants, heavy metals, sulfur dioxide, nitrogen oxides

УВОД

Околната среда на Косово и Метохия е обременена със замърсяващи вещества, произхождащи от няколко източника - трафик, индустрия, урбанизация и използване на химични вещества в селското стопанство. Най-опасните замърсители са съсредоточени в сметища в индустриалните зони на централно Косово. Замърсяващите вещества произхождат от мини "Кишица" и ТЕЦ "Косово В" гр. Обилич. Отпадъците от мина "Кишница" представляват сериозен екологичен проблем и постоянна заплаха за опазването на околната среда. Приблизителният състав на почвата от сметището е SO_2 - 30%, Al_2O_3-6.5%, Fe-15%, S-16%, MgO-3%, CaO-1,5%, As-0,6%, Pb-0,6%, Ag, Cu, Ca, Br, Ni и други елементи в ниски проценти. Почвата от сметището на ТЕЦ "Косово В" в Обилич съдържа емисии на всички частици (прах, SO_2, NO_x, CO_2, H_2S) при различни концентрации. Екологичните заплахи от замърсителите се отразяват в замърсяването на водата, въздуха и почвата с отпадъчни води и отпадъци от преработката на руда (Sastre et al., 2004; Shoeran and Shoeran, 2006).

Различни видове растат в района на тези индустриални зони, както некултивирани, така и култивирани растения, които хората използват по един или друг начин за храна. Тези

INTRODUCTION

The environment of Kosovo and Metohija is burdened with polluting substances originating from several sources - traffic, industry, urbanization and the use of chemical substances in agriculture. The most dangerous pollutants are concentrated in the dummies of the industrial zones of central Kosovo. Polluting substances originate from the Kišnica Mines and Thermal Power Plant Kosovo B Obilić. The mine dump of Kišnica Mine represents a serious ecological problem and a constant threat to the preservation of the environment. The approximate composition of the dump soil is SO_2 -30% , Al_2O_3-6.5%, Fe-15%, S-16%, MgO-3%, CaO-1,5%, As-0,6%, Pb-0,6%, Ag, Cu, Ca, Br, Ni and other elements in low traces. Dump soil of the TPP Kosovo B Oblić contains emissions of all particles (dust, SO_2, NO_x, CO_2, H_2S) at different concentrations. Environmental threats of these pollutants are reflected in the pollution of water, air and soil by waste water and waste from the processing of the ore (Sastre et al., 2004; Shoeran and Shoeran, 2006).

Different species grow in the habitats of these industrial zones, both non-cultivated and cultivated plants that people use in one way or another for food. These valuable plants are nowadays ценни растения в днешно време намаляват поради нарастващия процент на замърсителите в околната среда.

Токсичните вещества оказват вредно въздействие върху растенията, които се проявяват на различни нива на биологична организация и много рано в морфогенезата, започвайки от покълването на семената (Trajković et al, 2006). Токсичните вещества обикновено намаляват процента на кълняемост на семената и влияят върху растежа на растенията (Rani and Srivastava, 1990). Инхибиторният ефект на замърсяващата материя се проявява в процеса на кълняемост на семената, както и във вегетационния период на растеж и развитие на растенията (Shafiq et al., 2008; Kumar et al., 2010). Токсичните вещества причиняват основно понижение на фотосинтетичния апарат (Kastori et al, 1998) и инхибират клетъчния растеж, тъй като засягат метаболизма и преноса на ауксин (Woolhouse, 1983).

Съвременното развитие на промишлеността, технологиите, трафика, селското стопанство и други постижения на цивилизацията води до нарушаване на условията на околната среда, които оказват сериозни последици за растенията, животните и хората. Тъй като растенията играят основна роля във функционирането на биосферата (циркулацията на вещества, енергийния поток, фотосинтезата и т.н.), вредните въздействия се проявяват не само в растенията, но и във всички хетеротрофни организми, както и върху промените в екосистемата (климат, почва, вода, въздух) и на световно равнище - върху цялата биосфера.

Като се има предвид, че токсичните вещества оказват неблагоприятно въздействие върху околната среда и жизнените системи, дори в ембриогенезата, решихме да проведем тест за кълняемост на семена и растежа на зеленчукови култури от чушки и домати (най-многобройните и най-култивирани

reduced due to the increasing percentage of pollutants present in the environment.

Toxic substances cause harmful effects in plants that manifests at different levels of biological organization and very early in morphogenesis starting from the seed germination (Trajković et al, 2006).

Toxic substances generally reduce the percentage of seed germination and plant growth (Rani and Srivastava, 1990).

The inhibitory effect of contaminating matter is manifested in the process of seed germination as well as in the vegetation period of plant growth and development (Shafiq et al., 2008; Kumar et al., 2010). Toxic substances primarily cause the reduction of the photosynthetic apparatus (Kastori et al, 1998) and inhibit cell growth because they affect the metabolism and transport of auxin (Woolhouse, 1983).

Modern development of industry, technology, traffic, agriculture and other achievements of civilization result in disruption of environmental conditions that cause serious consequences for plants, animals and humans.

Since plants play a fundamental role in the functioning of the biosphere (the circulation of matter, the energy flow, photosynthesis, etc.), the harmful effects are manifested not only in plants but also in all heterotrophic organisms, as well as on changes in the ecosystem (climate, soil, water, air) and on global level - on the whole biosphere.

Considering that the toxic substances adversely affect the environment and living systems, even in the embryogenesis, we decided to conduct seed germination testing and the growth of vegetable crops of peppers and tomatoes (the most abundant and most cultivated vegetables in this region) on the зеленчуци в този район) върху субстрат от отпадъци от мина "Кишица" и ТЕЦ "Косово В" в Обилич.

substrates of the mine dumps of the Kišnca mine and TPP Kosovo B Obilić

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За постигането на тази цел са използвани семена от зеленчукови култури от чушки и домати и проби от субстрати от минните сметища от мина "Кишица" и ТЕЦ "Косово В" в Обилич от различни дълбочини (20 cm и 40 cm). Почвата от град Липлян, разположена на разстояние 12-15 километра в триъгълник от други места, се използва като контрол.

Сто семена, с предварително измерена маса са засети в посочените почвени проби и контролна почва, в съдове при контролирани условия. Използвана е вода от кладенец за напояване.

След като са изминали 72 часа от залагането на експеримента, са преброени семеначетата на доматите. Преброяването на семеначетата на чушките е извършено след 14 дни. Броят на покълналите семена е отчетен, след което е пресметнат процентът спрямо контролата. В по-нататъшния ход на експеримента са проследени етапите на растеж и развитие на растенията, където е измерена височината на стъблото и дължината на листата според времето: 7, 4, 21 и 28 дни след посяването.

MATERIAL AND METHODS

In order to achieve this goal, seeds of vegetable crops of peppers and tomatoes and samples of substrates of the mines dumps from the Kišnica mine and TPP Kosovo B Obilić from different depths (20 cm and 40 cm) were used. The soil from the town of Lipljan, distance 12-15 km in triangle from other locations, was used as control.

One hundred seeds, after their mass was previously measured, were sown on the mentioned soil samples and control soil in the vessels under controlled conditions. Well water was used for watering.

After 72 hours of experiment was set up, the counting of seedlings of tomatoes was done. The counting of pepper seedlings was done after 14 days. The number of germinated seed was recorded, and then the percentage was calculated in relation to the control. In the further course of the experiment, the stages of plant growth and development were monitored, where the height of the stem and the length of leaves in the function of the time were measured: 7, 4, 21 and 28 days after seeding.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите, получени по време на проучването показват, че процентът на кълняемост на семената и растежът на изпитваните растения варира както според вида на растения, така и от концентрацията на замърсители в почвата от избраните места.

Най-голям брой семеначета са установени при доматите, 72 часа след посяването върху субстрат от ТЕЦ "Косово В" в Облич (проба от 40 cm дълбочина), което е 128% в сравнение с контрола, докато най-малкият брой на

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained during the survey show that the percentage of germination of seeds and the growth of the tested plants varied depending on both the plant species and the concentration of pollutants in the soil from the selected sites.

The largest number of seedlings were found in tomatoes after 72 hours after sowing on the substrate of the TPP Kosovo B Obilić (the sample from 40 cm depth), which is 128% compared to the control, while the smallest number of покълнали семена от този растителен вид е установен при субстрат, взет от 40 cm дълбочина от отпадъци на мина "Кишница, което е 73.46% в сравнение с контрола (Таблица 1).

germinated seeds of this plant species were found on the substrate taken from 40 cm from the mine dump of the Kišnica mine, which was 73.46% compared to the control (Table 1).

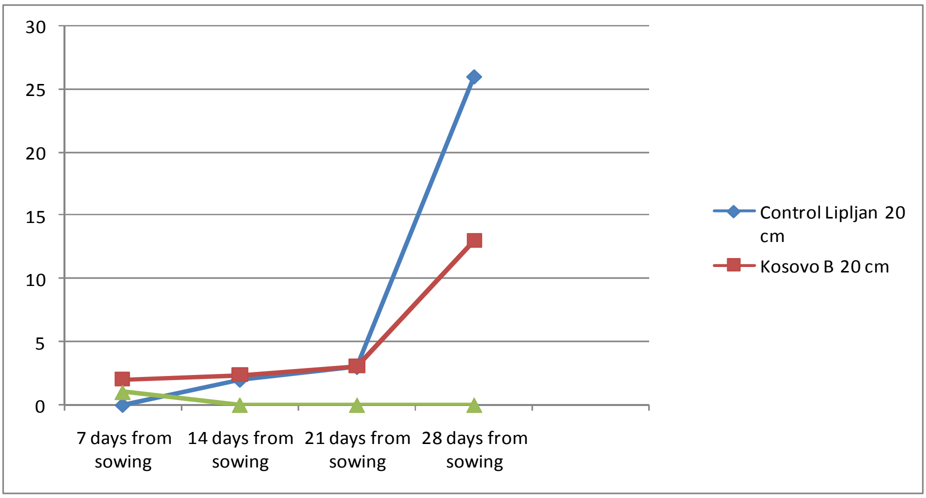
Таблица 1. Кълняемост на семена от чушки (*Capsicum annuum* L) и домати (*Solanum lycopersicum* L.) с изчислен процент на кълняемост в проби върху субстрати от почва от отпадъци от мина „Кишница“ и ТЕЦ „Обилич“ от дълбочина 20 cm и 40 cm

Table 1. Germination of seed of pepper (*Capsicum annuum* L) and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) with calculated percentage of germinatibility in samples on substrates of mine dump soil of Kišnica mine and TPP Obilić from 20 cm and 40 cm of depth

Проби от дълбочина 20 cm и 40 cm от минни отпадъци Mine dump substrate sample 20 cm and 40 cm depth	Чушки / Pepper (*Capisicum annuum* L)		Домати / Tomato (*Solanum lycopersicum* L.)	
	Брой покълнали семена/Number of germinated seed	% покълнали семена спрямо контролата/% germinated seed compared to control	Брой покълнали семена/Number of germinated seed	% покълнали семена спрямо контролата / % germinated seed compared to control
Контрола от Липлян Control Lipljan 20cm	33	100%	59	100%
Отпадъци от Облич Obilić mine dump 20cm	35	106%	58	98%
Мина „Кишница“ Kišnica mine dump 20cm	24	72%	45	76%
Контрола от Липлян Control Lipljan 40cm	27	100%	49	100%
Отпадъци от Облич Obilić mine dump 40cm	29	107%	63	128%
Мина „Кишница“ Kišnica mine dump 40cm	20	74.07%	36	73.46%

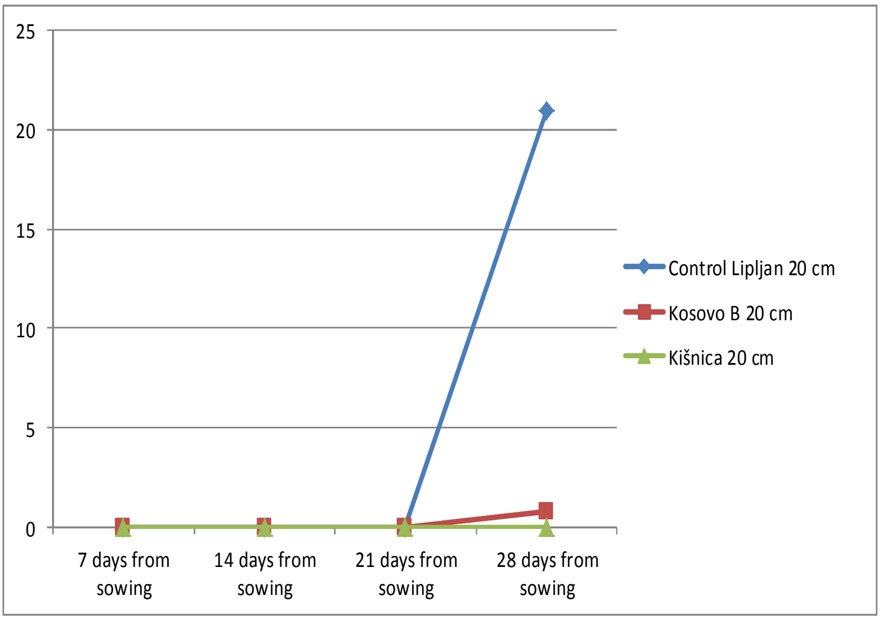
Покълването на чушките става само 14 дни след засяването (залагането на експеримента). Най-голям брой покълнали семена от чушки е регистриран в субстрат, взет от ТЕЦ "Косово В" в Облич, от дълбочина 40 cm и е 107% в сравнение с контрола. Във вариант от 20 cm от това място, е отчетена кълняемост от 106% в сравнение с контролната проба (Таблица 1). В изследванията си Trajković et al. (2011) установяват спиране на покълването на семена от чушки и домати, третирани с вода от река Ветерница, поради наличието на отпадъчни води и други замърсители.

The germination of pepper was performed only after 14 days of sowing (setting up of the experiment). The largest number of germinated pepper seeds was recorded in the substrate taken from the TPP Kosovo B Obilić, from the depth of 40 cm, and was 107% compared to the control. In the variant from 20 cm from this site, 106% was recorded compared to the control sample (Table 1). In their research, Trajković et al (2011) found the inhibition of germination of tomato and pepper seeds treated with the water of the river Veternica due to the presence of waste water and other various pollutants.



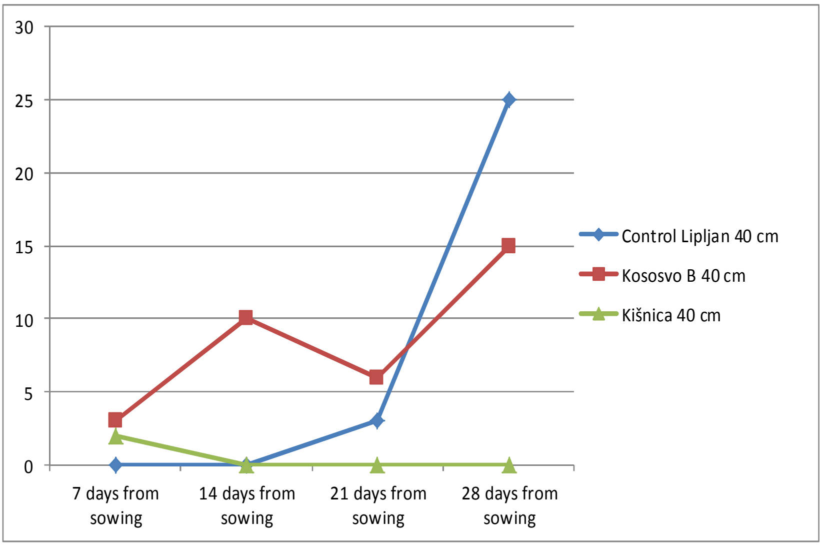
Фиг. 1. Височина на стъбла по време на растежа на млади растения от чушки (*Capsicum annuum* L) върху субстрати от отпадъци от Кишница и ТЕЦ „Облич" от 20 cm дълбочина

Fig. 1. Hight of stem during the growths of young plants of pepper (*Capsicum annuum* L) on substrates of mine dumps of Kišnica and TPP Obilić from 20 cm of depth

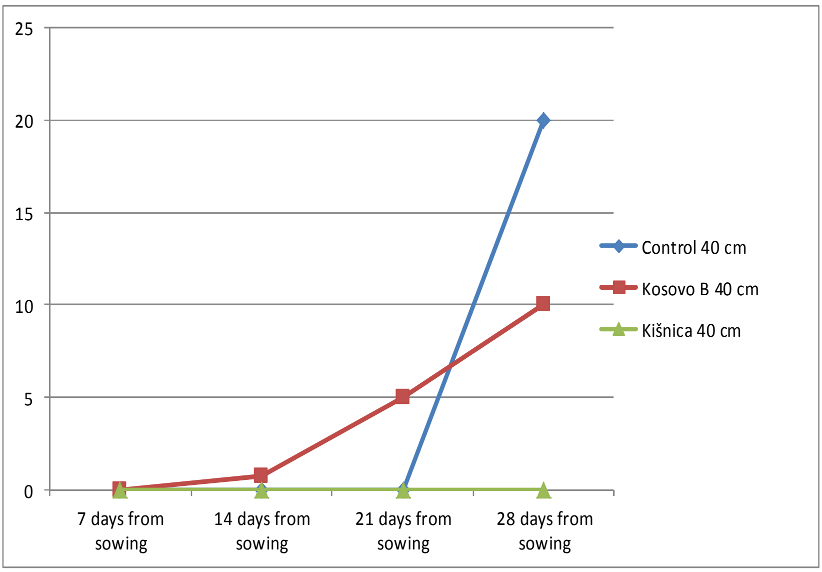


Фиг. 2. Дължина на листа по време на растежа на млади растения от чушки (*Capsicum annuum* L) върху субстрати от отпадъци от Кишница и ТЕЦ „Облич" от 20 cm дълбочина

Fig. 2. Length of leaves during the growths of young plants of pepper (*Capsicum annuum* L) on substrates of mine dumps of Kišnica and TPP Obilić from 20 cm of depth



Фиг. 3. Височина на стъбло по време на растеж на млади растения от чушки (*Capsicum annuum* L) върху субстрати от отпадъци от Кишница и ТЕЦ „Облич“ от 40 cm дълбочина
Fig. 3. Hight of stem during the growths of young plants of pepper (*Capsicum annuum* L) on substrates of mine dumps of Kišnica and TPP Obilić from 40 cm of depth



Фиг. 4. Дължина на листа по време на растеж на млади растения от чушки (*Capsicum annuum* L) върху субстрати от отпадъци от Кишница и ТЕЦ „Облич“ от 40 cm дълбочина
Fig. 4. Length of leaves during the growths of young plants of pepper (*Capsicum annuum* L) on substrates of mine dumps of Kišnica and TPP Obilić from 40 cm of depth

Различията по време на покълването на семена са свързани с ниската концентрация на замърсители в почвата от района на Липлян, който служи за контрола в сравнение със субстрати от отпадъците от мина "Кишница" и ТЕЦ "Косово В" в Обилич. Те също са свързани със състава на обвивката на семената, през която слабо преминават тежки метали, които в този случай се появяват като активатори на ензимите, участващи в покълването на семената, поради което кълняемостта е по-висока. Увеличаването на концентрациите на токсични вещества води до намаляване на процента на кълняемост, както и височината на разсада, докато ниските концентрации действат стимулиращо в процеса на покълване на семената и процентът на кълняемост се увеличава (Trajković et al., 2006)

Повишената или понижена кълняемост в изследваните растителни видове също така вероятно е генетично обусловена и може да зависи от концентрацията на определени токсини в субстрата, съдържанието на органични вещества, фосфат и стойността на pH на почвата (Ilić et al ., 2003).

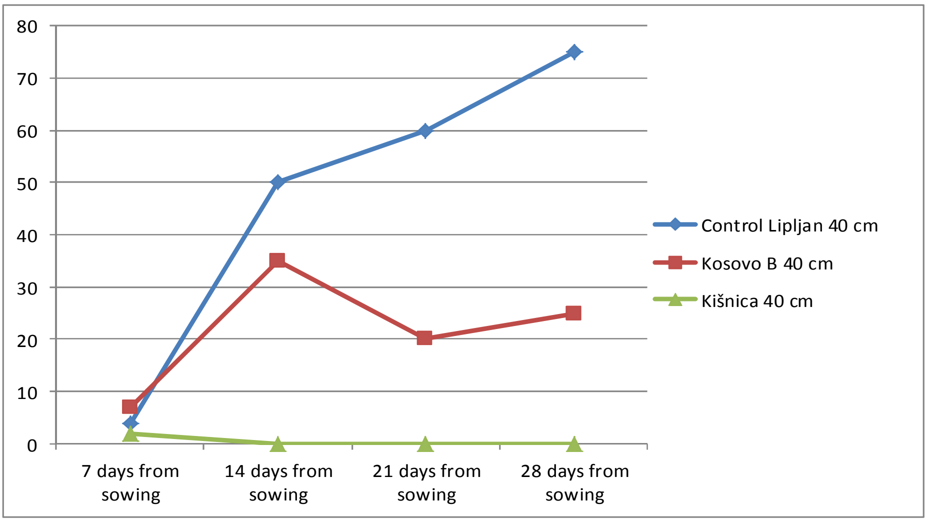
Замърсяващите вещества засягат не само кълняемостта, но и растежа на растенията, особено през първите дни след покълването. Получените резултати за първоначалния растеж на изследваните растения показват разлики в дължината на листата и височината на стъблата (Фугура 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8).

These differences during germination of seeds were related to the low concentration of pollutants in the soil from the Lipljan site that served as control compared to the substrates of the mine dump Kišnica and TPP Kosovo B Obilić.

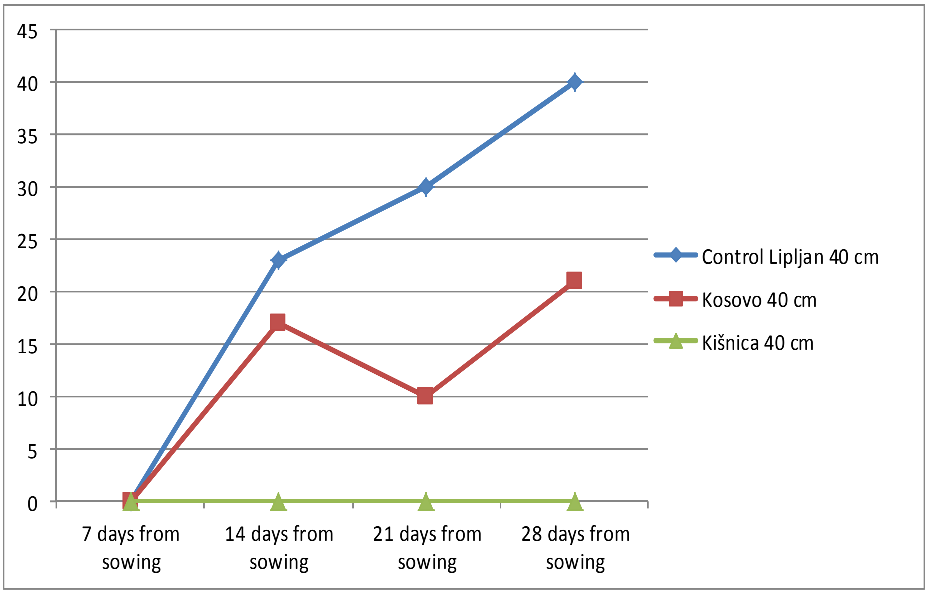
They were also related to the composition of seed coat which poorly passes heavy metals which in this case occurred as activators of the enzymes involved in seed germination, so the germination was higher. Increasing concentrations of toxic substances cause a decrease in the percentage of germination, as well as the height of the seedlings, while low concentrations act stimulatingly to the germination process of the seed, and the percentage of germination increases (Trajković et al., 2006)

Also, the increased or decreased germination in the investigated plant species was probably also genetically conditioned, and it could depend on the concentration of certain toxins in the substrate, the content of organic matter, phosphate and the pH value of the soil (Ilić et al., 2003).

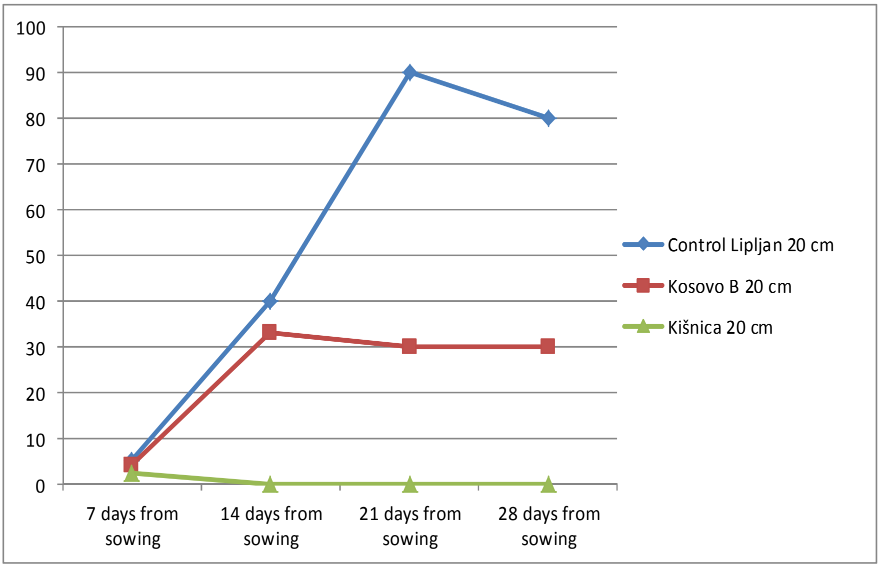
Polluting substances affect not only germination, but also the growth of plants, especially during the first days after germination. The results obtained for the initial growth of the examined plants showed differences in the length of the leaves and the height of the stems (Figure 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8).



Фиг. 5. Височина на стъбло по време на растеж на млади растения от домати (*Capsicum annuum* L) върху субстрати от отпадъци от Кишница и ТЕЦ „Облич“ от 40 cm дълбочина
Fig. 5. Height of stem during the growths of young plants of tomato (*Solanum lycopersicum* L) on substrates of mine dumps of Kišnica and TPP Obilić from 40 cm of depth

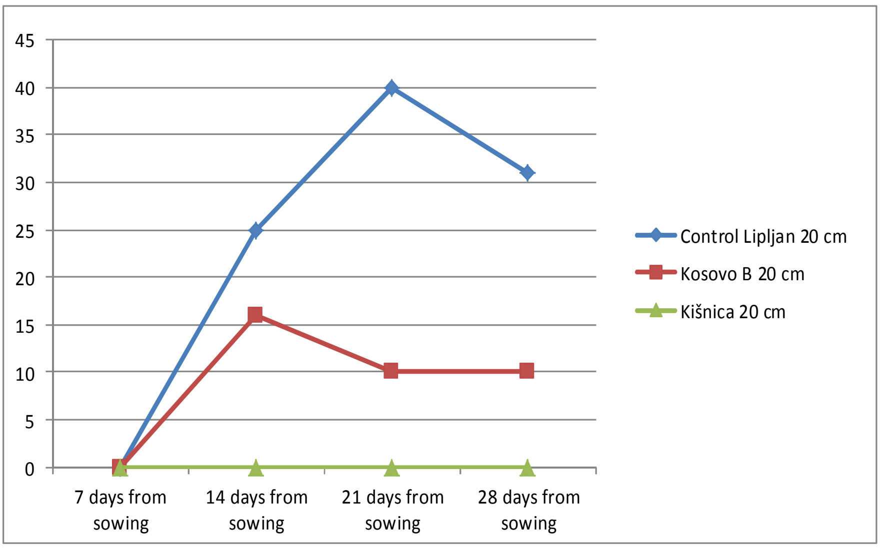


Фиг. 6. Дължина на листа по време на растеж на млади растения от домати (*Solanum lycopersicum* L) върху субстрати от отпадъци от Кишница и ТЕЦ „Облич“ от 40 cm дълбочина
Fig. 6. Length of leaves during the growths of young plants of tomato (*Solanum lycopersicum* L) on substrates of mine dumps of Kišnica and TPP Obilić from 40 cm of depth



Фиг. 7. Височина на стъбло по време на растеж на млади растения от домати (*Solanum lycopersicum* L) върху субстрати от отпадъци от Кишница и ТЕЦ „Облич“ от 20 cm дълбочина

Fig. 7. Hight of stem during the growths of young plants of tomato (*Solanum lycopersicum* L) on substrates of mine dumps of Kišnica and TPP Obilić from 20 cm of depth



Фиг. 8. Дължина на листа по време на растеж на млади растения от домати (*Solanum lycopersicum* L) върху субстрати от отпадъци от Кишница и ТЕЦ „Облич“ от 20 cm дълбочина

Fig. 8. Lenght of leaves during the growths of young plants of tomato (*Solanum lycopersicum* L) on substrates of mine dumps of Kišnica and TPP Obilić from 20 cm of depth

Ускореният растеж на младите растения на чушки и домати върху субстрата от отпадъци от ТЕЦ "Косово В" Обилич се наблюдава до 21[-ви] ден след покълването и след това има забавяне на растежа в сравнение с контролата, както и някои морфологични промени в листата (като появата на некроза и жълти петна) (Фугура 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8).

Според Rajković et al. (2012 г.), първият видим симптом на неблагоприятното въздействие на тежките метали е забавянето на растежа на растенията и появата на хлороза и некроза. Всички морфологични промени се появяват много по-късно във връзка с биохимичните и физиологичните промени и очевидни вредни въздействия върху растенията не могат да бъдат поправени с никакво третиране (Trajković et al., 2008).

И двата изследвани растителни вида върху субстрат от отпадъци от мина "Кишница", 10 дни след покълването, престават да растат, придобиват синкав цвят и изсъхват. Според данните от литературата, Cd и Pb потискат приемането на основни елементи и техния пренос до надземните органи, причинява хлороза и некроза на листата, както и неравномерен растеж и развитие на младите органи (Alloway, 1995; Kabata-Pendias et al., 2004; 2011).

Accelerated growth of young pepper and tomato plants on the substrate of the mine dump of TPP Kosovo B Obilić was observed for up to 21 days after germination, and afterwards there was growth inhibition compared to control, as well as some morphological changes in the leaves (such as the occurrence of necrosis and yellow spots) (Figure 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8).

According to Rajković et al. (2012), the first visible symptom of the adverse effect of heavy metals is the reduction of plant growth and the occurrence of chlorosis and necrosis. All morphological changes occured much later in relation to biochemical and physiological changes and these apparent harmful effects on plants could not be corrected by any treatment (Trajković et al., 2008).

Both of the investigated plant species on the substrate from the mine dump of Kišnica mine, after 10 days of germination, stopped growing, got bluish color and wilted. According to the literature data, Cd and Pb inhibit the adoption of essential elements and their transport to the above-ground organs causing chlorosis and necrosis of leaves, as well as the irregular growth and development of young organs (Alloway, 1995; Kabata-Pendias et al., 2004; 2011).

ИЗВОДИ

Развитието на индустрията, антропогенните източници на тежки метали са станали значителни замърсители и навлизането им в почвата трябва да бъде предотвратено или поне контролирано, за да може крайният потребител, в системата почва-растения-хора, да получава биологично безопасна храна. Атмосферата е важна среда за преноса на метали от различни източници, често на стотици километри от тяхното изпускане.

Въз основа на резултатите, получени по време на изследването за

CONCLUSIONS

The development the industry, anthropogenic sources of heavy metals have become significant pollutants and their encroachment into soil has to be prevented or at least controlled, in order that the end-user in the soil-plant-human system be able to receive biologically safe food. The atmosphere is an important medium for the transport of metals from various sources, often hundreds of kilometers from the emission.

Based on the results obtained during the research on the influence of влиянието на различни замърсители от субстрата от отпадъци от мина "Кишница" и ТЕЦ "Косово В" в Облич, върху кълняемостта и растежа на зеленчуковите култури (чушки и домати), може да бъде направен извода, че токсичните вещества, предимно тежки метали, имат инхибиторен или стимулиращ ефект.

Замърсяващите вещества (прах, SO_2, NO_x, CO_2, H_2S) стимулират растежа, дължината на листата и височината на стъблата на зеленчуковите култури в субстрата от ТЕЦ "Косово В" в Облич. Височината на стъблата на чушките в почвата от отпадъци от ТЕЦ "Косово В" (дълбочина 20 cm) след 21 дни е 133%, докато при чушки от същия район (дълбочина 40 cm) е 200% в сравнение с контрола.

При контролните растения се наблюдава ускорен растеж след 28 дни. Стимулиращото въздействие на замърсителите (прах, SO_2, NO_x, CO_2, H_2S) върху растежа на зеленчуковите култури се нарушава на 28 ден след залагането на експеримента, при всички растения, посяти в почвата от отпадъци от ТЕЦ "Косово В". Ниски концентрации на замърсители стимулират, докато по-високите концентрации действат инхибиторно. Инхибирането или стимулирането на кълняемостта на семената в присъствието на тежки метали в почвата представлява инхибиране или активиране на ензимната система, отговорна за метаболитните процеси по време на покълването на семената. Повишената активност на ензимната система, отговорна за процеси при покълването, е адаптиране в условията на околната среда по отношение на контрола, което е защитен механизъм.

Почвата е жизненоважен екологичен и селскостопански ресурс и трябва да бъде предпазена от по-нататъшното деградиране. С нарастването на населението на Земята, хранителните нужди се увеличават. Все пак, нараст-

various pollutants from the substrate of the mine dump of Kišnica mine and the Kosovo Thermal Power Plant B Obilić, on the germination and growth of vegetable crops (peppers and tomatoes), it can be concludes that toxic substances, primarily heavy metals, have inhibitory or stimulating effect.

Polluting substances (dust, SO_2, NO_x, CO_2, H_2S) stimulate growth, leaf length and stem height of vegetable crops in the substrate of the TPP Kosovo B Obilić. The height of the stems of pepper in the soil from mine dump of TPP Kosovo B (20 cm in depth) after 21 days was 133 %, while in pepper from the same site (40cm in depth) was 200% compared to the control.

In control plants, accelerated growth occurred after 28 days. The stimulative impact of pollutants (dust, SO_2, NO_x, CO_2, H_2S) in vegetable crops growth is disturbed after 28 days after the experiment set up in all plants seeded in the soil from mine dump of TPP Kosovo B. Low concentrations of pollutants act stimulatingly while higher concentrations act inhibitory.

Inhibition or stimulation of seed germination in the presence of heavy metals in the soil represents the inhibition or activation of the enzymatic system responsible for the metabolic processes during seed germination.

The increased activity of the enzymatic system responsible for germination processes is adaptation in the environmental conditions in relation to control, which is a defense mechanism.

Soil is a vital ecological and agricultural resource and should be protected protect from the further degradation. By accelerating the increase in human populations on Earth, food demands are rising. However, increasing ващите антропогенни емисии на тежки метали могат да намалят добива и качеството на продукта.

Тези индустриални обекти изхвърлят отпадъци, които се трупат в близост до язовир на Грачаничко езеро и реките Грачанка и Ситница, което създава още по-голям риск от разпространение на токсични вещества от отпадъците.

Резултатите, получени по време на експеримента, ще допринесат за по-добро изясняване на потенциалното наличие и токсичност на замърсителите от двете сметища и могат да бъдат използвани за биологично наблюдение, за да се постигне ранно откриване при замърсяване.

anthropogenic emissions of heavy metals can reduce the product’s yield and quality.

These industrial establishments release dump soil and depose it next to the dam of Gračanačko Lake and the Gračanka and Sitnica rivers, which poses an even greater risk of spreading toxic substances from the mine dump.

The results obtained during the experiment will contribute to a better clarification of the potential presence and toxicity of pollutants from both mine dumps and can be used for biological monitoring to achieve early detection of pollution.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Alloway, J. B.,** 1995. Heavy metals in soils. Second Edition. Blackie Academic & Professional, London.
2. **Ilić, Z, R. Filipović-Trajković, M:Jablanović and M. Biberdzić,** 2003. The effects of total mass of seed on distribution of lead in different tissues of bean plant (Phaseolus vulgaris L.) experimentally treated by lead. *Plant breeding and seed production,* 9 (1-4), 87-90.
3. **Kabata-Pendias, A**., 2011. Trace Elements in Soils and Plants, Fourth Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton. https://trove.nla.gov.au/version/197035649
4. **Kabata-Pendis, A.,** 2004. Soil-plant transfer of trace elements-an environmental issue. *Geoderma,* 122, 143-149.
5. **Kastori, R., M. Plesničar, Z. Sakač, D. Panković and I. Arsenijević-Maksimović**, 1998. Effect of excess lead on sunflower growth and photosynthesis *Journal of Plant Nutrition*, vol. 21, 75-85
6. **Kumar, N., R.K. Singh, S.K. Mishra, A.K. Singh and U.C Pachouri,** 2010. Isolation and screening of soil *Actinomycetes*as source of antibiotics active against bacteria. *International Journal of Microbiology Research*, 2 (2), 12-16.
7. **Rajković, M., M. Stojanović, Đ. Glamočlija, D. Tošković, V. Miletić, V. Stefanović and Č. Lačnjevac,** 2012. Wheat samples and heavy metals. *Journal of Engineering & Processing Management,* 4 (1), 85-126. DOI: 10.7251/JEPM1204085R
8. **Rani, R. and M.M Srivastava**, 1990. Ecophysiological response of *Pisum sativum* and *Citrus maxima* to distillety effluents. *Int. J. Ecol. and Environ. Sci.,* 16(2-3), 125-132
9. **Sastre, J., E. Hernández, R., Rodríguez, X. Alcobé, M. Vidal and G. Rauret**, 2004. Use of sorption and extraction tests to predict the dynamics of the interaction of trace elements in agricultural soils contaminated by a mine tailing accident. *Science of the Total Environment,* 329, 261-281.
10. **Shafiq, M., M.Z. Iqbal and M. Athar,** 2008. Effect of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Leucaena leucocephala*. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management,* 12 (2), 61-66.

11. **Sheoran, A.S. and V. Sheoran,** 2006. Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: A critical review. *Minerals Engineering,* 19 (2), 105–116.
12. **Trajković, R, S. Anñelković., R Ivanović.and B. Andjelković, 2011**. The effect of water from the river Veternica on the germination of some vegetable crops seed. INMATEH AGRICULTURAL ENGINEERING, International simposium, National institute of research-development for machines and installations designed to agriculture and food industry - INMA Bucharest, Romania, 28. - 28. Oct, pp. 51-56.
13. **Trajković, R., S. Anđelković and S. Tošić,**.2008. Morphological changes of some ornamental plants during their growth and development in conditions of experimental intoxication with Pb-acetate. Ecoloica, Especial issue number 15, International conference on «Environment today», Beograd, 21-23. April, pp. 113-118.
14. **Trajković, R., M. Krsmanović and Lj. Šunić,** 2006. Seed germination and growth of pepper plants in the presence of waste water of the river Toplice, Ecolst '06, Ecological truth, Soko Banja, pp. 291-293 (Sr).
15. **Woolhouse, H.W.,** 1983.Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals. In Encyclopedia of Plant Physiology, (OL Lange, PS Nobel, CB Osmond, H Ziegler, eds,) Physiological Plant Ecology III. Springer Verlag, Heidelberg, pp. 245-300.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 280-288 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на сроковете на сеитба и засаждане върху продължителността на периода на вегетация на броколи при производство в района на Кюстендил

Десислава Тодорова

Институт по земеделие, 2500 Кюстендил, България

Influence of sowing and planting dates on duration of broccoli vegetation period in Kyustendil region

Desislava Todorova

Institute of Agriculture, 2500 Kyustendil, Bulgaria

E-mail: desi_todorovaiz@abv.bg

Received: 04.07.2018 *Accepted:* 26.09.2018 *Published:* 08.11.2018

РЕЗЮМЕ

Изпитани са четири хибрида броколи при лятно полско производство със следните варианти на сеитба и засаждане: вариант C_1 - сеитба на 01.06. и засаждане на 01.07., вариант C_2 - сеитба на 01.06. и засаждане на 15.07., вариант C_3 - сеитба на 15.06. и засаждане на 15.07., вариант C_4 - сеитба на 15.06. и засаждане на 01.08. и вариант C_5 - сеитба на 30.06. и засаждане на 01.08. При отглеждане с период на засаждане преди 15 юли вегетационния период е с най-кратка продължителност до 100 дни в сравнение с вариантите с по-късна дата на засаждане 1 август. Вегетационният период е с най-кратка продължителност от 86 дни при 30 дневни растения, отгледани при сеитба в периода 1 юни - 1 юли. Най-ранен добив е получен от вариант C_1.

Ключови думи: броколи, период на вегетация, срокове на сеитба, срокове на засаждане

SUMMARY

Four broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck) hybrids were investigated in field production with four variants of sowing and planting dates: C_1 - sowing on 1st June and planting on 1st July; C_2 - sowing on 1st June and planting on 15th July; C_3 - sowing on 15th June and planting on 15th July; C_4 - sowing on 15th June and planting on 1st August and C_5 - sowing on 30 June and planting on 1st August. For the cultivation with a planting period until 15th July the vegetation period has a shorter duration of up to 100 days compared to production variants with a later date of planting 1st August. The vegetation period has the shortest duration of 86 days for 30 day seedlings produced during the period 1st June - 1st July. The earliest harvest was obtained in variant C_1.

Key words: broccoli, vegetation period, sowing date, planting date

УВОД

Практически интерес за производителите на броколи представлява комплекса от стопански признаци, в който от значение е продължителността на периода на вегетацията, която определя срока на постъпление на продукцията и при по-кратка продължителност на вегетацията се очаква по-ранна възвращаемост на вложените средства за производство.

Продължителността на периода на вегетация се експресира основно в зависимост от технологични фактори на производство, като от тях с първостепенно значение могат да бъдат сроковете на разсадопроизводство. В България досега не са провеждани проучвания при броколи свързани с оценка на влиянието на сроковете на сеитба и засаждане върху продължителността на вегетацията. Такива изследвания обаче са важни в стопански аспект, което обуславя необходимостта от тяхното провеждане в нашата страна.

Целта на това изследването беше да се определи ефекта от сроковете на сеитба и засаждане върху дължината на вегетационния период при късно полско производство на броколи в района на Кюстендил.

INTRODUCTION

A practical interest for broccoli producers is the complex of economic indicators, in which the durability of the vegetation period determining the time of production and the shorter duration of vegetation is expected to be lower than the return of inputs.

The length of the vegetation period is mainly expressed in accordance with the technological factors of production, out of which the terms of the transplants production can be of prime importance. In Bulgaria, studies on broccoli have not yet been conducted to assess the impact of sowing and planting time on the vegetation period durability. Such studies, however, are economically important, which determines the necessity of their implementation in our country.

The purpose of the present study was to define the effect of sowing and planting dates on the durability of the vegetation period of late field broccoli production in the Kyustendil region.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експерименталната работа беше изведена през периода 2008-2011 г. в условия на късно полско производство на опитните площи на Институт по земеделие - гр. Кюстендил. Изследвани бяха пет срока на сеитба и засаждане: вариант C_1 - сеитба на 01.06. и засаждане на 01.07., вариант C_2 - сеитба на 01.06. и засаждане на 15.07., вариант C_3 - сеитба на 15.06. и засаждане на 15.07., вариант C_4 - сеитба на 15.06. и засаждане на 01.08. и вариант C_5 - сеитба на 30.06. и засаждане на 01.08. Изпитвани бяха четири сорта броколи: Fiesta F1 (Bejo Zaden – Холандия), Marathon F1 (Sakata - Япония), Coronado F1 (Bejo Zaden – Холандия) и Parthenon F1 (Sakata – Япония).

MATERIAL AND METHODS

The experimental work was carried out during the period 2008-2011 under the conditions of late field production of the experimental areas plantations of the Institute of Agriculture - Kyustendil. Five sowing and planting periods were studied: variant C_1 - sowing on 01.06. and planting on 01.07., variant C_2 - sowing on 01.06. and planting 15.07., variant C_3 - sowing on 15.06. and planting 15.07., variant C_4 - sowing on 15.06. and planting on 01.08. and variant C_5 - sowing on 30.06. and planting on 01.08. Four broccoli varieties were tested: Fiesta F1 (Bejo Zaden - The Netherlands), Marathon F1 (Sakata - Japan), Coronado F1 (Bejo Zaden - The Netherlands) and Parthenon F1 (Sakata - Japan).

Експериментът беше заложен по блоков метод за всеки един от вариантите на опита, в 4 повторения (20 растения/повторение) с големина на опитната площ 8 m^2/повторение. Растенията са отглеждани на браздова повърхност със засаждане по схема 80/50cm. Засаждането се извърши на опитно поле, без предшественик, на площ поддържана като угар. Растенията се отглеждаха на агрофон $N_{20}P_{15}K_{12}$ постиган чрез торене с минерални торове след агрохимичен анализ за запасеност на почвата. Защитата на растенията от всички варианти срещу болести и неприятели се провеждаше с разрешени за употреба продукти за растителна защита. През периода на вегетация се извършваше гравитачно напояване с поливна норма 30 - 40 m^3/da и норма на напояване за периода на вегетация 400 - 450 m^3/da.

Растенията от петте варианта на опита от всеки един от изпитваните сортове броколи бяха изследвани по признака вегетационен период – периода от засаждане до реколтиране на централни цветни глави (дни).

Получените данни бяха обработени математически чрез трифакторен и двуфакторен дисперсионен анализ (Lakin, 1990) и множествен дисперсионен анализ (Duncan, 1955), като е ползван стандартен софтуер.

The experiment was conducted in 4 replications (20 plants/repeat) with a test area of 8 m^2/replication for each of the experimental variants. The plants are grown on a furrowed surface by planting in 80/50 cm scheme. Planting was carried out on an experimental field, without a precursor, on a fallow area. The plants were grown on agrophony $N_{20}P_{15}K_{12}$ achieved by fertilizing with mineral fertilizers after agrochemical soil stock analysis. Plant protection of all variants against diseases and pests was carried out with authorized plant protection products. During the growing season, gravity irrigation with irrigation rate of 30 - 40 m^3/da and irrigation rate for the vegetation period 400 - 450 m^3/da was done.

Plants of the five variants of the experiment from each of the tested broccoli varieties were examined for the vegetative period - the period from planting to harvesting of central flower heads (days).

The obtained data were mathematically processed by three-way and two-way analysis of variance (Lakin, 1990) and multiple dispersion analysis (Duncan, 1955), using standard software.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В проведеното проучване се регистрира значителна изменчивост на стойностите на изследвания признак по варианти през четирите години на проучването, които са в граници от 82-83 дни през 2009 г. и 2010 г. съответно за варианти C_1 и C_2 до 116 дни през 2010 г. за вариант C_5 (Фигура 1). Най-голяма е изменчивостта за вариант C_2, при който вегетационният период от 98,5 дни за първата година от проучването намалява до 83 дни през 2010 г. Почти всеки един от петте варианта на опита демонстрира кратка продължителност на вегетацията през различни години. В този смисъл най-добра реализация, за вариант C_1 е отчетена през 2009 г., за вариант C_2 през

RESULTS AND DISCUSSION

In the study, a significant variability of the investigated trait was recorded for variants over the four years of the survey, ranging from 82-83 days in 2009 and 2010 respectively for variants C_1 and C_2 to 116 days in 2010 for variant C_5 (Figure 1). The highest variation for variant C_2 is that the 98.5 days of vegetation period for the first year of the study decreased to 83 days in 2010. Nearly each of the five variants of experience demonstrated a short duration of vegetation in different years. In this sense, the best realization for option C_1 is reported in 2009 for variant C_2 in the following year, while the appropriate production conditions for следващата година, а за вариант C_3 подходящи са условията на производство през последната година от изследването. Най-кратка вегетация за варианти C_4 и C_5 е регистрирана през 2008 г.

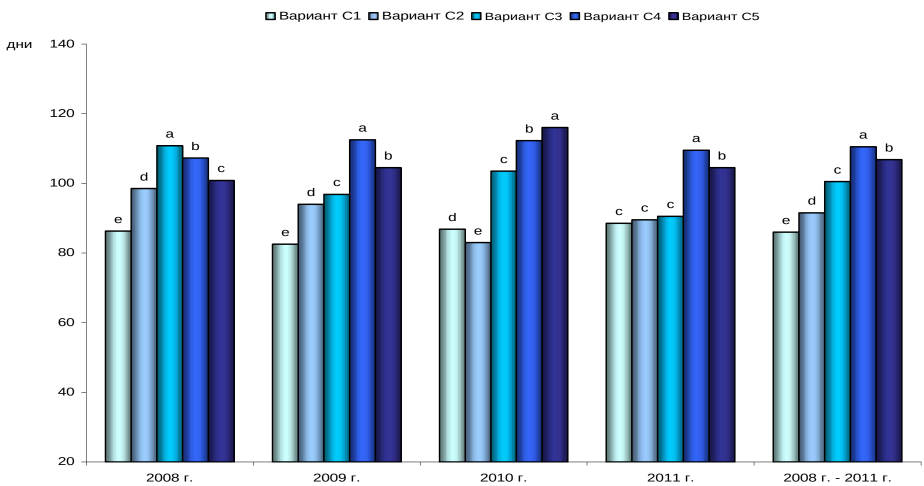
Средно за периода на проучване стойностите по варианти за изследвания признак са в граници от 86 дни до 110,5 дни (Фигура 1). При три от вариантите C_1, C_2 и C_3 със срок на засаждане до 15.07. периода на вегетация е с най-кратка продължителността до 100 дни. Вегетационният период се удължава при отглеждане при вариантите с по-късен срок на засаждане. В стопански аспект по-кратката продължителност на периода на вегетация е желан признак от производителите.

Признакът е с най-ниска стойност при производство на 30 дневен разсад в периода 01.06. - 01.07. При този вариант е отчетено и най-слабо вариране между годините на изпитване.

variant C_3 are the ones of the final year of the survey. The shortest vegetation for variants C_4 and C_5 was registered in 2008.

On average, for the period of the study, the values for the variants for the tested feature were between 86 days and 110.5 days (Figure 1). In three of the variants, C_1, C_2 and C_3 with a planting period of 15.07., the vegetation period has the shortest duration of up to 100 days. The vegetation period is extended for cultivation with later planting dates. From an economic point of view, the shorter duration of the vegetation period is a desirable feature for the producers.

The examined trait has the lowest value production of 30 day seedlings during the period 01.06. - 01.07. This variation also recorded the lowest variation between years of testing.



a, b…Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

Фиг. 1. Влияние на сроковете на сеитба и засаждане върху вегетационния период
Fig. 1. Influence of sowing and planting dates on vegetation period

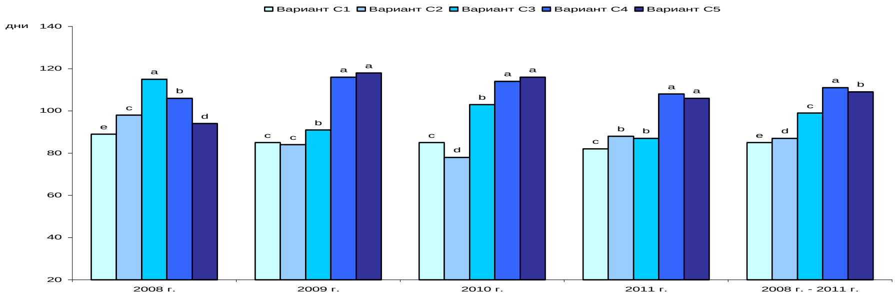
Проявите на изследвания признак при всички сортове се лимитират от варианти C_1 и C_4, където периода на вегетацията съответно е с най-кратка и

The manifestations of the studied trait for all varieties are limited by variants C_1 and C_4, where the vegetation periods are the shortest and the longest, най-голяма продължителност. Варирането между сортовете е най-слабо при отглеждане с разсад от първа дата на сеитба 01.06. и засаждане на 01.07., като при този вариант всички изпитвани генотипи са и с най-кратка вегетация – за сорт Fiesta F1 85 дни, Marathon F1 88 дни, Coronado F1 87 дни и Parthenon F1 84 дни (Фигура 2). При останалите срокове на сеитба и засаждане, при всички сортове се наблюдава увеличаване на продължителността на периода на вегетация в сравнение с първия вариант на опита и достигат 111 дни при Fiesta F1, 109 дни за Marathon F1, 114 дни за Coronado F1 и 108 дни при Parthenon F1. Диференцираността между сортовете във всеки един от вариантите е относително слабо проявена, като разликите във вегетационния период са от 3 до 7 дни.

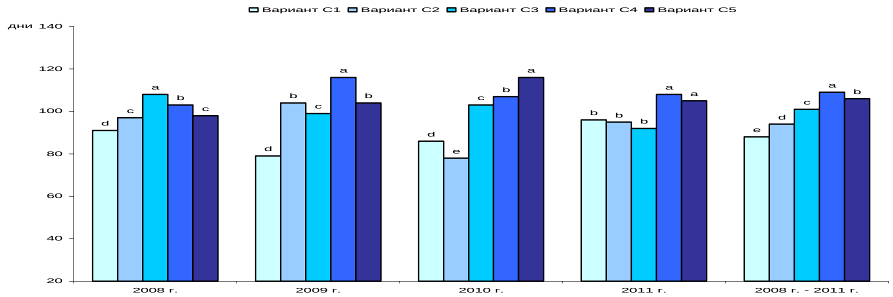
Анализът на вариансите за продължителността на вегетацията показва, че най-силно влияние от 75,61 % върху дисперсията на признака оказват различията между вариантите на опита, а останалите фактори на изменчивост имат незначителен ефект до 10 % (Таблица 1). Резултатите от дисперсионните анализи за всеки един от изпитваните сортове показват, че детерминиращ ефект върху експресията на изследвания признак при всички генотипи оказват доказаните различия между сроковете на разсадопроизводство, като силата на влияние е от 70,65% до 85,21 % (Таблица 2).

respectively. The variation between cultivars is the lowest in seedlings from the first date of sowing 01.06. and planting on 01.07, with all the genotypes tested being the shortest for the Fiesta F1 85 days, Marathon F1 88 days, Coronado F1 87 days, and Parthenon F1 84 days (Figure 2). For the remaining sowing and planting periods, all cultivars show an increase in the length of the vegetation period compared to the first variant and reach 111 days for Fiesta F1, 109 days for Marathon F1, 114 days for Coronado F1 and 108 days for Parthenon F1. The differentiation between the varieties in each of the variants is relatively weak, with the differences in the vegetation period of 3 to 7 days.

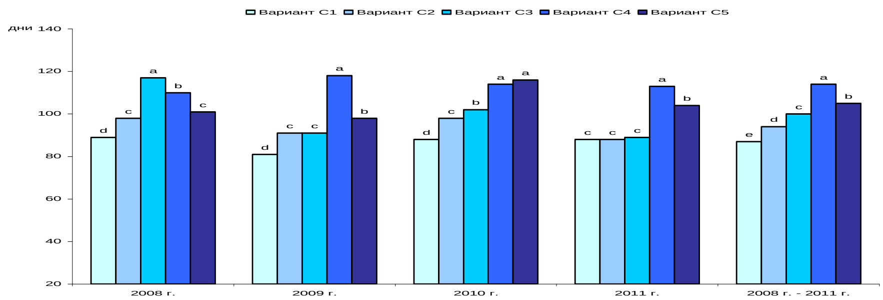
The analysis of variances of vegetation durability showed that the strongest effect of 75.61% on the dispersion of the trait showed the differences between the variants of the experiment, while the other variability factors had an insignificant effect up to 10% (Table 1). The results of the dispersion analyzes for each of the tested varieties show that the proven differences between the terms of the growing have a determinant effect over the expression of the studied trait in all genotypes , with the influence ranging from 70.65% to 85.21% (Table 2).



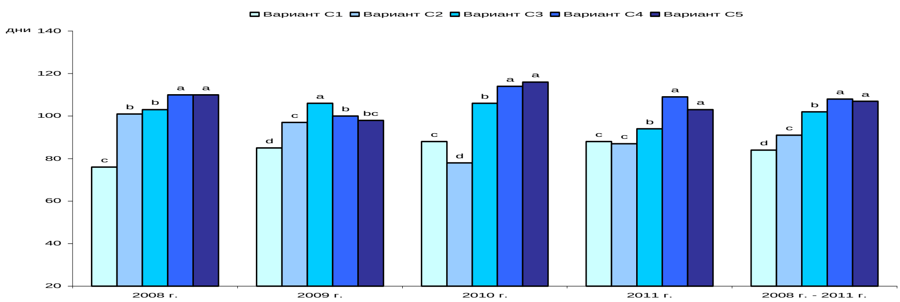
Fiesta F1



Marathon F1



Coronado F1



Parthenon F1

a, b…Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

Фиг. 2. Сортова реакция по признак продължителност на вегетационния период
Fig. 2. Varietal response for durability of the vegetation period

Таблица 1. Трифакторен дисперсионен анализ на продължителност на вегетационния период и влияние на факторите на вариране
Table 1. Three-way analysis of variance of durability of vegetation period and influence of variability factors

Компоненти Components	Фактори на вариране / Factors of variation						
	Вариант Variant	Сорт Variety	Година Year	A x B	A x C	B x C	A x B x C
Варианс / Variance	1655,98***	57,82**	198,02***	33,71***	205,48***	71,22**	42,99***
Сила на влияние Influence (%)	75,61	1,32	2,26	3,08	9,38	1,63	3,93

A – Вариант, B – Сорт, C – Година
A – Variant , B – Variety , C – Year
,* - доказаност при $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$;
,* - significant at $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$

Таблица 2. Двуфакторен дисперсионен анализ по сортове броколи за признака продължителност на вегетационния период и влияние на факторите на вариране
Table 2. Two-way analysis of variance of broccoli varieties for duration of vegetation period and influence of variation factors

Фактори на вариране Sources of variation	*Fiesta F1*		*Marathon F1*		*Coronado F1*		*Parthenon F1*	
	Варианс Variance	Сила на влияние Influence (%)	Варианс Variance	Сила на влияние Influence (%)	Варианс Variance	Сила на влияние Influence (%)	Варианс Variance	Сила на влияние Influence (%)
Вариант / Variant	787,45***	81,88	418,70***	70,65	517,25***	85,21	613,93***	85,08
Година / Year	145,80**	3,79	2,45ns	-	192,20***	7,92	96,80***	3,35
Вариант x Година Variant x Year	107,05**	11,13	150,45***	25,39	33,95**	5,59	75,18***	10,42

,* - доказаност при $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$; ns – недоказано
,* -significant at $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$; ns – not significant

Получените резултати от проучване на влиянието на сроковете на разсадопроизводство върху изследвния признак показва, че при отглеждане с 30 дневен разсад получен в периода 01.06. - 01.07. вегетационният период е с най-кратка продължителност (86 дни). Би могло да се предположи, че по-кратката вегетация при условията на този срок на разсадопроизводство може би се дължи на дължината на деня, която достига своя максимум именно в периода от 15 до 30 юни.

Резултатите от това проучване за влияние на сроковете на сеитба и засаждане върху продължителността на периода на вегетация съответстват в преобладаващата си част на резултати получени при провеждане на други подобни изследвания. Singhal et al. (2009) и Saikia et al. (2010) също установяват, че при по ранни дати на сеитба продължителността на вегетационния период е по-кратка. В противоречие на това обаче са резултатите получени от Hossain et al. (2011), според които периодът на вегетация се редуцира, но при отглеждане с по-късни дати на сеитба.

При този тип изследвания, наличието на разнопосочни резултати, вероятно се дължи на различията в климатичните зони и агроклиматичните условия в районите на проучване, както и на генетичните особености на изпитваните сортове и техните специфични прояви към условията на производство. В агробиологичен аспект това би трябвало да означава, че резултатите получени за конкретен район на провеждане на изследванията са в значителна степен валидни за местните условия. В тази връзка резултатите за ефекта на сроковете на сеитба и засаждане получени в това изследване, ще бъдат приложими за условията на района в който е проведено проучването. Имайки предвид, че тези резултати обаче в значителна степен са подобни и на получените от други изследователи, в други райони на проучване, то би могло да се счита, че те вероятно биха могли да бъдат реализирани при отглеждане и в други условия на нашата страна.

The results obtained from a study of the influence of planting times on the test indicate that when cultivated with 30 day seedlings obtained in the period 01.06. - 01.07., the vegetation period has the shortest duration (86 days). It could be assumed that a shorter vegetation period under this planting period may be due to the length of the day that reaches its maximum in the period from June 15 to June 30.

The results of this study on the impact of sowing and planting time on the duration of the vegetation period correspond to the predominant part of the results obtained from other similar surveys. Singhal et al. (2009) and Saikia et al. (2010) also found that for earlier sowing dates, the durability of the vegetation period is shorter. However, contrary to this, the results obtained by Hossain et al. (2011), according to which the vegetation period is reduced, but when cultivated with later sowing dates.

In this type of research, the presence of divergent results is probably due to differences in climatic zones and agro-climatic conditions in the study areas, as well as to the genetic characteristics of the tested varieties and their specific manifestations in the production conditions. From an agro biological point of view, this should mean that the results obtained for a particular area of research are largely valid for local conditions. In this regard, the results of the sowing and planting effect obtained in this study will be applicable to the conditions of the area where the study was conducted. Considering, however, that these results are similar to those obtained from other researchers in other areas of research, it could be suggested that they may be realized under cultivation and other conditions in our country.

ИЗВОДИ

1. При отглеждане със срок на засаждане до 15.07. периодът на вегетация е с по-кратка продължителност до 100 дни в сравнение с варианти на производство с по-късна дата на засаждане 02.08.

2. Вегетационният период е с най-кратка продължителност от 86 дни при производство с 30 дневен разсад получен в периода 01.06. - 01.07.

3. Най-силно влияние върху дисперсията на признака 75,61 % оказват различията между вариантите на опита, а останалите фактори на изменчивост имат незначителен ефект до 10 %.

4. Детерминиращ ефект върху експресията на изследвания признак по сортове оказват доказаните различия между сроковете на разсадопроизводство, като силата на влияние е от 70,65 % до 85,21 %.

CONCLUSIONS

1. The cultivation with a planting period until 15.07. vegetation period has a shorter durability of up to 100 days compared to production options with a later date of planting 01.08.

2. The vegetation period has the shortest duration of 86 days for 30 day seedlings produced during the period 01.06. - 01.07.

3. Most significant impact on the dispersion of the trait - 75.61% have the differences between the variants of the experiment , while the other variability factors have a negligible effect of up to 10%.

4. The proven differences between the terms of the seedling production for every variety have a determinant effect on the expression of the studied feature, with the influence force ranging from 70.65% to 85.21%.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Lakin, G.**, 1990. Biometrics. High school, Moscow, pp. 365 (Ru).
2. **Duncan, D. B.,** 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11, 1-42.
3. **Hossain M.F., N. Ara, M. R. Uddin, S. Dey and M.R. Islam**, 2011. Effect of time of sowing and plant spacing on broccoli production. *Tropical Agricultural Research and Extension*, 14 (4), 90-92.
4. **Saikia, B. R., D. B Phookan and S. Brahma**, 2010. Effect of time of planting and planting densities on growth, yield and economic production of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cv. Pusa Broccoli KTS-1. *Journal of Hill Agriculture*, 1 (2), 135-139.
5. **Singhal, B.K.P., B.K. Srivastava, M.P. Singh and P.K. Singh**, 2009. Effect of date of planting and spacing on the performance of broccoli. *Indian Journal of Horticulture*, 66(1), 137-140.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 289-298 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на абиотични стрес фактори при проява на гъбни патогени по салатата (*Lactuca sativa* L.) var. *romana* и var. *capitata* в Софийското поле

Желю Аврамов[1]*, Паола Димитрова[1], Боряна Тасева[1], Милена Радева[2], Милена Йорданова[1], Нидал Шабан[1]

[1]Лесотехнически университет, бул. „Климент Охридски“ № 10, София
[2]Фирма Агроконсулт – ЕТ - Ради Радев

Influence of abiotic stress factors in the occurrence of fungal pathogens on lettuce (*Lactuca sativa* L.) var. *romana* and var. *capitata* in Sofia valley

Zhelyu Avramov[1]*, Paola Dimitrova[1], Boryana Taseva[1], Milena Yordanova[1], Milena Radeva[2], Nidal Shaban[1]

[1]University of Forestry, 10, Kliment Ohridski Blvd., Sofia
[2]Agrokonsult - RADI RADEV ET
**Email: zhavramov@ltu.bg*

Received: 14.05.2018 *Accepted:* 29.10.2018 *Published:* 08.11.2018

РЕЗЮМЕ

Салатата (*Lactuca sativa* L.) е една от най-старите зеленчукови култури. Поради ценните й хранителни, диетични и лечебни свойства тя е била отглеждана още през средните векове. Салатата като зеленчукова култура се среща в почти всички страни. Най-големи площи заема в Европа, Северна Америка и в Нова Зеландия. Салатата се напада от голям брой фитопатогени, причинители на икономически значими болести, а степента им на проява и нападение се влияе в голяма степен от климатичните условия на отглеждане на салатата. Целта на настоящето проучване беше да се открият болести по салатата, индуцирани от абиотични стрес фактори. Изследванията бяха проведени върху

SUMMARY

The lettuce (*Lactuca sativa* L.) is one of the oldest vegetable crops. Due to its valuable nutritional, dietetic and healing properties, it was grown in the Middle Ages. Salad as a vegetable culture is found in almost all countries. The largest areas occupy in Europe, North America and New Zealand and attacked by a large number of phytopathogens causing economically significant diseases and their degree of manifestation and assault are greatly influenced by climatic growing conditions.

The aim of the current study was to detect diseases in lettuce induced by abiotic stress factors. Studies were conducted on 19 lettuce varieties in the Educational experimental field of the University of

19 сорта салати, засадени при три различни условия с по три повторения на УОП – Враждебна (три типа култивационни съоръжения – две неотопляеми оранжерии и нисък тунел покрити с полимерно фолю, без третирания). Обследванията бяха проведени през есента и двукратно в началото и в края на пролетта на 2016 и финансирани по Проект 17/2016 на ЛТУ. Всички растения със симптоми на заболяването са изследвани в лабораторията, а загубите се отчитаха статистически. Растителните проби със съмнение за вирусна инфекция бяха подложени на серологичен анализ, а гъбните патогени бяха изолирани върху хранителни среди и беше извършена морфологична (микроскопска) идентификация. Резултатите от проучванията показват, че вирусна инфекция не е установена. Установени и идентифицирани бяха гъбните патогени *Verticilium*, *Botritis* и *Septoria* spp., причинители на болести по растенията. Най-голямо нападение и проява установихме от сиво гниене при три сорта Fuzila, Funfix и Sumetie, а пропадането достигна до 90 % и в трите повторения. Изясняване на влиянието на стрес факторите ще подобри качеството и количеството на отглежданата продукция от различни сортове салата отглеждани в конкретния климатичен район.

Ключови думи: стрес фактори, болести по салатата, Проект 17/2016 ЛТУ, Софийско поле

Forestry, located in the region of Sofia field. The plants were planted at three different conditions with three repetitions without treatments (three types of greenhouses – two unheated greenhouses and low tunnel covered with a polymer foil). The observations were conducted in the fall of 2015 and twice at the beginning and at the end of spring 2016 and funded under Project 17/2016 of the Forestry University. All plants with symptoms of the disease were examined in the laboratory and the losses were reported statistically. Samples of plants with suspected viral infection were subjected to a serological analysis and fungal pathogens were isolated on nutrient media and a morphology (microscopic) identification was carried. Up to date, the results of the studies indicate that the viral infection has not been established yet. The fungal pathogens as *Verticilium*, *Botritis* and *Septoria* spp., causaing plant diseases were established and identified. The largest attack and manifestation of gray mould was found in three varieties Fuzila, Funfix and Sumetie and the degree of looses reached more than 90%. Explaining the impact of stress factors will improve the quality and quantity of crops grown from different varieties in the particular climate area.

Key words: stress factors, lettece diseases, Project 17/2016 FU, Sofia valley

УВОД

У нас се отглеждат две разновидности – главеста салата и маруля. Широката употреба на салатата се дължи на вкусовите, диетичните и хранителните ú качества. Съдържа азотни вещества във форма на необходимите за човешкия организъм белтъчини. Особено ценна е като източник на минерални соли, главно фосфор, калий, желязо, витамините С, А и В1. По съдържание на целулоза

INTRODUCTION

Two varieties are grown in our country – the head lettuce and lettuce. The wide use of lettuce is due to its taste, dietary and nutritional qualities. It contains nitrogenous substances in the form of the proteins necessary for the human organism. Especially valuable as a source of mineral salts, mainly phosphorus, potassium, iron, vitamins C, A and B1.

With the content of cellulose, lettuce is марулята превъзхожда главестата салата. Подхранването с азотен тор (оборски тор) трябва да бъде съчетано с внасянето на фосфорни и калиеви торове през есента с дълбоката оран на почвата. Излишъкът от азот допринася за повишаването на нитратите в листата (http://recepty.bg/gradina_b8-122-Salata).

В България площите за производство на салатата се увеличиха както на открито така и в култивационни съоръжения. Според Kartalov et al. (1989) площите на територията на България са 5000 da. През 2014 г. салатите бяха отглеждани на 4270 da, с обща продукция от 3817 t в това число от откритите площи 3460 da, а от оранжерии 14205 da с добив 1658 t (agrostat.bg, 2015). Прави впечатление през 2015 г. площите са концентрирани в оранжерии с полимерни покрития на площ около 109 ha с общо производство 5439 t като дяла на оранжерийното е 70% и добив от 15339 kg/ha или 120000 растения от ha (FAO, 2015). За 2017 има ръст в оранжерийното производство с над 52% и реколта от 2958 t в сравнение с 1928 t през 2016 (MAFSF, 2018).

Салатата се напада от голям брой фитопатогени, причинители на икономически значими болести, като сиво гниене (Ellis and Waller, 1974), черно гниене (Pieczarka and Lorbeer, 1974) и септориоза (Bertus, 1972), а степента им на проява и нападение се влияе в голяма степен от климатичните условия на отглеждане.

Изясняване влиянието на тези условия води до подобряване на качеството на отглеждане и повишаване количеството и качеството на получената продукция от различни сортове салата отглеждани в конкретния климатичен район. Анализът на данни служи за изготвяне на препоръки за усъвършенстване на прилаганата до момента технология и ще се отрази върху повишаване на доходите на производителите.

Основна цел на извършените

superior to the lemon lettuce. Feeding with nitrogen fertilizer (manure) should be combined with the introduction of phosphorus and potassium fertilizers in autumn with the deep plowing of the soil. The surplus of nitrogen contributes to the increase in nitrate in the leaves (http://recepty.bg/gradina_b8-122-Salata).

In Bulgaria, the areas for lettuce production increased both in the open and in the cultivation facilities. According to Kartalov and others. (1989) the territory of Bulgaria is 5000 da. In 2014, the lettuces were grown on 427 ha, with a total production of 3817 t, including open areas 3460 da and 14205 da greenhouses with a yield of 1658 t (agrostat.bg, 2015). It is striking in 2015 that the areas are concentrated in greenhouses with polymer mulch coatings on an area about 109 ha with a total production of 5439 t, with the share of the greenhouse production being 70%. And a yield of 15339 kg/ha or 120000 plants of ha (FAO, 2015). In 2017, greenhouse production grew by over 52% and has been harvested 2958 tonnes lettuce compared to 1928 tonnes in 2016 (MAFSF, 2018).

The lettuce is attacked by a lot of phytopathogens responsible for economically significant diseases such as gray rot (Ellis and Waller, 1974), black rot (Pieczarka and Lorbeer, 1974) and septoriosis (Bertus, 1972) and their degree of appearance and attack to a large extent depends by the climatic conditions of cultivation.

Clarifying the impact of these conditions leads to improving the quality of farming and increasing the quantity and quality of the resulting production of different varieties of lettuce grown in the particular climate area. Data analysis serves to make recommendations for improving the technology used so far and will have an effect on raising producers' incomes.

The main purpose of the research

изследвания е установяване и идентифициране на болести по салатата (*Lactuca sativa* L.) var. romana и var. capitata, както и причини за възникването им, свързани с влиянието на абиотични стрес фактори. Данните от настоящото проучване ще помогнат за намаляване на риска за обема и качеството на получената продукция.

was to identify and identify lettuce diseases (*Lactuca sativa* L.) var. Romana and var. Capitaia, as well as their causes, related to the influence of abiotic stress factors. The data from this study will help reduce the risk for the volume and quality of the output.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За постигане на тази цел бяха отгледани и засадени 19 сорта салата. Бяха засадени над 1290 броя растения в три различни условия, с по четири повторения и без третирания. Обследванията бяха проведени през есента на 2015 г. и двукратно в началото и в края на пролетта на 2016 г. Всички растения показали симптоми на болести бяха изследвани в лабораторни условия.

В настоящото проучване използвахме биологичните методи за идентификация на гъбни болести по салатата, основаващи се на идентифициране чрез използване на изкуствени хранителни среди, морфологична идентификация на гъбни патогени и серологични методи с много по-голяма чувствителност и бързина ELISA варианти като индиректен сандвич с поликлонални (German-Retana et al., 2008) или моноклонални антитела (Candresse et al., 2007). Пробите от растения със съмнение за вирусна инфекция бяха подложени на серологичен анализ за Lettuce mosaic virus (DAS-ELISA)(Clark and Adams, 1977). Използвахме универсален буфер за екстракция (pH 7,3) и поликлонални антитела на фирма Sediag, Франция за серологичен анализ. Гъбните патогени бяха изолирани върху хранителни среди (КДА и ВА) и беше извършена морфологична (микроскопска) идентификация. Всички изолати от общо 32 броя растения се извърши повторна посявка. Окончателната идентификация за гъбните патогени беше извършена на 10 и 14 ден.

MATERIAL AND METHODS

To achieve this goal, 19 varieties of lettuce were planted. Over 1290 plants were planted in three different conditions, with four replicates and no treatments. The investigations were carried out in the autumn of 2015 and twice in the beginning and end of spring of 2016. All plants showing symptoms of disease were examined in laboratory.

Et the present study, were used the biological methods for the identification of mushroom diseases in lettuce based on identification using artificial feeding media, morphological and serological methods with much greater sensitivity and speed ELISA variants such as indirect sandwich with polyclonal (Retana et al., 2008) or monoclonal antibodies (Candresse et al., 2007).

Plant samples suspected of having a viral infection were subjected to a serological assay for the Lettuce mosaic virus (DAS-ELISA) (Clark and Adams, 1977). A universal extraction buffer (pH 7.3) and polyclonal antibodies from Sediag, France for serological analyses were used.

The fungal pathogens were isolated on nutrient media (PDA and WA) and morphological (microscopic) identification was performed. All isolates, a total of 32 plants were reisolated. The final identification for fungal pathogens on days 10 and 14 was performed.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Имуноензимен метод (DAS – ELISA)

Резултатите от проведените изуноензимни тестове и от измерването на оптическата плътност (OD), съгласно изискванията на фирмата производител в последния етап на ELISA теста за LMV са отразени в Таблица 1.

RESULTS AND DISCUSSION

Immunoassay Method (DAS – ELISA)

The results of the serological tests and optical density measurements (OD), as required by the manufacturer in the final stage of the LMV ELISA test, are shown in the Table 1.

Таблица 1. Резултати от ELISA тест за LMV
Table 1. Results of ELISA test for LMV

	Data OD/ 60min	Обявяване на положителен резултат
Blank (вода)	0.009	Sample with OD > 0.119 = Positive (+), OD = 0.088 to 0.119 = +/-. *Negative*: OD < [K(-)] : [2xOD K(+)] – 20% *Positive*: OD > 2x[ODK(-)] + 20%; *Negative/Positive (+/-)*: [K(-)] > OD < [K(+)].
Positive control (K+)	0.119	
Negative control (K-)	0.055	
Substrat (субстрат)	0.048	

№	Region	Variety	Origin		ELISA Test for LMV Value	ELISA Test for LMV OD	Results + / -
1	UOP Vrajdebna	Maritima	ET Radev		0,048/0,055	0,0515	-
2	UOP Vrajdebna	Kriska	ET Radev		0,050/0,065	0,0575	-
3	UOP Vrajdebna	Malice	ET Radev		0,046/0,047	0,0465	-
4	UOP Vrajdebna	Malice	ET Radev		0,049/0,056	0,0525	-
5	UOP Vrajdebna	Satine	ET Radev		0,049/0,049	0,049	-
6	UOP Vrajdebna	Fanela	ET Radev		0,055/0,055	0,045	-
7	UOP Vrajdebna	Frisday	ET Radev		0,036/0,054	0,0505	-
8	UOP Vrajdebna	Frisday	ET Radev		0,051/0,051	0,051	-
9	UOP Vrajdebna	Jazzie	ET Radev		0,042/0,041	0,0415	-
10	UOP Vrajdebna	Donertie	ET Radev		0,058/0,050	0,054	-
11	UOP Vrajdebna	Aquarel	ET Radev		0,059/0,044	0,0515	-

Обсъждане на резултатите от ELISA тест

От извършените две обследвания и от направените изследвания чрез ELISA на общо 11 броя растения вирусна инфекция от *Lettuce mosaic virus* не е установена.

Всичките 11 растения бяха събрани при провеждане на третото обследване към края на месец май. Наблюдаваните визуални симптоми наподобяваха тези на вирусна инфекция, но такава не се доказа. Част от растенията след постъпване в лабораторията бяха допълнително анализи-

Discuss the results of an ELISA test

From the two investigations carried out and from the ELISA tests of a total of 11 plants, a viral infection of the *Lettuce mosaic virus* was not established.

All 11 plants were harvested during the third survey at the end of May.

Observed visual symptoms resembled those of a viral infection, but this has not been proven. Some of the plants were further analyzed after the introduction to the laboratory, and another symptom of рани и беше доказано друго естество на проявилите се симптоми – в основата и корените на две растения бяха установени нагризвания и ходове на насекоми, а трето растение, което оставихме при естествени условия след две седмици показа признаци на генетични промени при сорт Satine, наподобяващи фасциация.

Неоткриването на вирусна инфекция в изследваните растения потвърждава селекционната резистентност на растенията към Lettuce mosaic virus – икономически най-опасния при производството на салата.

Биологичен метод

От анализираните 89 броя растения от първото, второ, трето и четвърто обследване бяха изолирани гъбните патогени: *Verticilium* spp., *Botritis* spp., *Septoria* spp. и *Alternaria* spp., причинители на болести по салатата.

При извършване на обследванията през месец декември бяха открити растения с наетнявания и загни-ли участъци от листната петура. Всич-ки листа бяха заложени във влажна камера. След едноседмичен инкуба-ционен период бяха микроскопирани и идентифицирани гъбни патогени от род *Alternaria* и род *Verticilium*. За окончателна идентификация на получените изолоти използвахме метода на микроскопиране. Избирахме изолатите, развили се върху КДА, защото патогените се развиваха много бързо върху нея, отколкото върху ВА.

Доказана беше инфекцията на следните причинители на болести по растенията: *Verticilium* spp. е установен в 5 броя растения от сортове Fuzila, Aquarel, Funfix; от *Botritis* spp. в 46 броя растения от следните сортове: Funride, Funtasia, Malice, Fuzila, Satine, Fanela, Sumetie, Jazzie, Aquarel, Funfix, Ostralie; *Septoria* spp. в 19 броя растения от сортове: Funride, Funtasia, Fuzila, Satine, Fanela, Jazzie, Aquarel; и *Alternaria* spp. в общо 22 броя растения от сортове: Funride, Funtasia, Fuzila, Sumetie, Aquarel, Ostralie (Таблица 2).

the symptoms was proven – at the root and roots of two plants, insect pests and motions were found, and the third plant we left under natural conditions after two weeks showed signs of Genetic changes in the Satine variety resembling fascia.

The non-detection of viral infection in the test plants confirms the selective resistance of plants to the Lettuce mosaic virus – the most dangerous on lettuce production.

Biological method

Of the 89 plants analyzed in the first, second, third and fourth tests, the fungal pathogens were isolated: *Verticilium* spp., *Botritis* spp., *Septoria* spp. and *Alternaria* spp., causative agents of lettuce diseases.

When performing the surveys in December, plants with spots and rotting areas of the leaves were found. All leaves were laid in a damp chamber. After one week incubation period, fungal pathogens of the genus *Alternaria* and genus *Verticillium* were microscopically identified. For the final identification of the resulting isolates we used the microscopy method. We chose the isolates that developed on the PDA because the pathogens developed very quickly on it rather than on the WA.

The infection of the following plant diseases has been proven: *Verticilium* spp. is found in 5 plants of Fuzila, Aquarel, Funfix; of *Botritis* spp. in 46 plants of the following varieties: Funride, Funtasia, Malice, Fuzila, Satine, Fanela, Sumetie, Jazzie, Aquarel, Funfix, Ostralie; of *Septoria spp.* in 19 plants of varieties: Funride, Funtasia, Fuzila, Satine, Fanela, Jazzie, Aquarel; and *Alternaria* spp. in a total of 22 plants of varieties: Funride, Funtasia, Fuzila, Sumetie, Aquarel, Ostralie (Table 2).

Таблица 2. Разпределение на установената гъбна инфекция по сортове
Table 2. Identification of fungi infection by variety

No	Variety	Planting plant	Lossed plants	Установени патогени Брой растения				Total number of plants with infections
				Verticilium spp.	*Botritis* spp.	*Septoria* spp.	*Alternaria* spp.	
1.	***Maritima***	72	37					
2.	***Funride***	72	23		3	4	2	9
3.	***Kriska***	72	28					
4.	***Florine***	72	22					
5.	***Funtasia***	72	66		2	1	1	4
6.	***Noisette***	72	50					
7.	***Malice***	72	34		4			4
8.	***Fuzila***	72	72	2	8	9	6	25
9.	***Satine***	72	14		3	1		4
10.	***Fanela***	72	42		4	1		5
11.	***Sumetie***	72	35		5		3	8
12.	***Frisday***	72	38					
13.	***Donertie***	72	10					
14.	***Jazzie***	72	35		5	2		7
15.	***Aquarel***	72	49	1	1	1	3+	6
16.	***Isi 45194***	72	6				2+	2
17.	***Funfix***	72	61	2	8			10
18.	***Ostralie***	36	13		3		5	8
19.	***Hettie***	36	9					
Total plants number		**1296**	**644**	5	46	19	22	**92**

При обследванията за установяване на гъбни патогени беше извършено и отчетено биометрично измерване на пропадналите растения. Резултатите показаха, че някои сортове са напълно изгубени или пропаднали в оранжерийни условия (Таблица 3).

In the investigations for the detection of fungal pathogens, a biometric measurement of the fallen plants was carried out and reported. The results showed that some varieties were completely lost or collapsed in greenhouse conditions (Table 3).

Таблица 3. Брой здрави растения по сортове, отченети при обследванията
Table 3. Numbers of healthy plant by variety, detected after observations

No	Variety	Planting plants 04.12.2016	1st observation 08.02.2016	2nd observation 11.03.2016	3rd observation 08.04.2016
1.	*Maritima*	72	71	38	35
2.	*Funride*	72	70	49	49
3.	*Kriska*	72	68	44	44
4.	*Florine*	72	63	50	50
5.	*Funtasia*	72	57	18	6
6.	*Noisette*	72	64	36	22
7.	*Malice*	72	66	41	38
8.	*Fuzila*	72	64	3	0
9.	*Satine*	72	62	58	58
10.	*Fanela*	72	54	31	30
11.	*Sumetie*	72	72	38	37
12.	*Frisday*	72	65	34	34
13.	*Donertie*	72	70	63	62
14.	*Jazzie*	72	67	49	37
15.	*Aquarel*	72	67	29	23
16.	*Isi 45194*	72	68	66	66
17.	*Funfix*	72	57	15	11
18.	*Ostralie*	36	31	23	23
19.	*Hettie*	36	36	27	27
Total number of healthy plants		1296	1172	712	652

Обсъждане на резултатите от биологичните методи за идентификация на гъбни патогени

Въз основа на получените резултатите констатираме, че най-често срещаните гъбни патогени по салатата в района на Софийското поле са от родовете *Alternaria*, *Botrytis*, *Verticillium* и *Septoria*, с различни предпочитания от сортовете към местата на отглеждане, както е според литературните източници (Atanasov, 1957). Получените резултати демонстрират влиянието на ниски температури при пропадане на растенията, подхранвани с оборски тор през есента на 2015 г. като важен стрес фактор.

Discussing the results of biological methods for the identification of fungal pathogens

Based on the results obtained, we find that the most common fungal pathogens on the lettuce in the area of the Sofia valley are from the genera *Alternaria*, *Botrytis*, *Verticillium* and *Septoria*, with different preferences from the varieties to the breeding sites according to literary sources (Atanasov, 1957). The results obtained demonstrate the influence of low temperatures in the fall of manure-fed plants in the autumn of 2015 as an important stress factor.

Настоящето проучване не откри причинителя на маната по салатата – *Bremia lactucae* Regel., с което се потвърждава устойчивостта на сортовете срещу този икономически значим патоген по салатата.

Агрометеорологични резултати

След получунете резултати от биометричното отчитане на пропадналите растения обработихме данните от получените минимални температурни стойности от Софийското поле. (www.stringmeteo.com). От отчетения период или общо 60 дни в 29 дни мин температури са били под 0°C, при 27 дни са били до 10°C и само в 4 дни стойностите са надминали 10°C.

The present study did not find the downy mildew – *Bremia lactucae* Regel. This is confirmed the resistance of the varieties against this economically significant pathogen.

Agrometeorological results

After the submitting of results of the biometric reading of the fallen plants, we processed data from the obtained minimum temperature values from the Sofia field. (www.stringmeteo.com). From the reported period or a total of 60 days in 29 days, temperatures were below 0° C, 27 days were up to 10° C and in just 4 days the values were exceeded 10° C.

ИЗВОДИ

Вирусна инфекция от Lettuce mosaic virus не е установена. Неоткриването на вирусна инфекция в изследваните растения потвърждава селекционната резистентност на растенията към Lettuce mosaic virus – икономически най-опасния при производството на салата.

Установената през вегетационния период инфекция не се отличава от добре познатите и характерни причинители на болести по салатата. Най-често срещаните гъбни патогени по салатата в района на Софийското поле са от родовете *Alternaria, Botrytis, Verticillium* и *Septoria*, с различни предпочитания от сортовете. Най-чувствителни сортове към гъбни инфекции и пропадане след ниски температури и торене с оборски тор са Fuzila, Funride и Funfix и Sumetie.

Като се съпоставят резултатите на установена инфекция и отчетеното пропадане, се предполага, че стрес фактори, като температура, вода, светлина и съдържание на нитрати в почвата влияят върху появата на патогени.

CONCLUSIONS

Viral infection of Lettuce mosaic virus has not been established. The non-detection of a viral infection in the test plants confirms the selective resistance of the plants to the Lettuce mosaic virus – the most dangerous on lettuce production.

The infection found during the growing season is not different from the well-known and characteristic causative agents of lettuce diseases. The most common fungal pathogens on the lettuce in the Sofia valley are from the genera *Alternaria*, *Botrytis*, *Verticillium* and *Septoria*, with different varieties. The most sensitive varieties of fungus infections and low temperature fertilization and manure fertilization are Fuzila, Funride and Funfix and Sumetie.

By comparing the results of an established infection and the reported failure, it is believed that stress factors such as temperature, water, light and nitrate content in the soil affect the appearance of pathogens.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работата е част от проект № 17 от 2016 г., финансиран от НИС при ЛТУ на тема: „Отговор на биологичния стрес фактори при различни салати (*Lactuca sativa* L.) var. *capitata* и var. *romana* в Софийското поле“ и е подпомогната за представяне от проект BG05M2OP001-2.009-0034 „Подкрепа за развитието на научния капацитет в Лесотехнически университет“.

ACKNOWLEDGEMENTS

The work is part of project № 17 from 2016, funded by NIS at the University of Forestry on "Biological stress factors in different salads (*Lactuca sativa* L.) var. *capitata* and var. *romana* in the field of Sofia" and assisted for presentation by project BG05M2OP001-2.009-0034 "Support for the development of scientific capacity in the University of Forestry".

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Atanasov, D.**, 1957. Collection of Salad Diseases collected by D. Atanasov in the period 1900-1939. *(New Zealand, Infor., No. 14*).
2. Agrostat.bg MAFSF, 2015. (https://www.agrostat.bg/ISASPublic/Crops).
3. MAFSF, 2018. (http://www.mzh.government.bg/bg/statistika-i-analizi/izsledvane-rastenievadstvo/danni).
4. **Bertus, A. L.**, 1972. The eradication of seedborne Septoria lactucae from lettuce with aerated steam. *Journal of Horticultural Science*, 47, 259-261.
5. **Candresse, T., H. Lot, S. German-Retana, R. Krause-Sakate, J. Thomas, S. Souche, T. Delaunay, M. Lanneau and O. Le Gall**, 2007. An analysis of the serological variability of the Lettuce mosaic virus using monoclonal antibodies and surface plasmon resonance technology. *Journal of General Virology*, 88, 2605-2610.
6. **Clark, M. F. and A. N. Adams**, 1977. Characteristic of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34, 475-483.
7. **Ellis, M. B. and J. M. Waller**, 1974. Sclerotinia fuckeliana (conidial state: Botritis cinerea). Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No 431. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.
8. **German-Retana, S., J. Walter and O. Le Gall**, 2008. Lettuce mosaic virus: from pathogen diversity to host interactors. *Molecular Plant Pathology*, 9 (2), 127-136.
9. “Recepry.com” http://recepty.bg/gradina_b8-122-Salata
10. "FAO Statistics Database" http://www.fao.org/news/archive/news-by-date/2015/en/
11. “STRINGMETEO.COM” http://www.stringmeteo.com/synop/temp_month.php
12. **Kartalov, P., S. Spasov and E. Elenkov**, 1989. Greenhouse Vegetable Production Manuel. Zemizdat, Sofia (Bg).
13. **Pieczarka, D. J. and J. W. Lorbeer**, 1974. Control of bottom rot of lettuce by ridging and fungicide application. *Plant Diseases*, 58, 837-840.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 299-311 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на абиотични фактори върху развитието на почвени патогени при отглеждане на салатата (*Lactuca sativa* L.) var. *romana* и var. *capitata* под полиетиленово фолио

Желю Аврамов*, Петя Барисова, Боряна Иванова, Светослав Анев, Милан Ризаков, Милена Йорданова, Нидал Шабан

Лесотехнически университет, бул. „Климент Охридски“ № 10, София, България

Effect of abiotic stress factors on the presence of pathogens in lettuce (*Lactuca sativa* L.) var. *romana* and var. *capitata* planted in polyethylene mulch

Zhelyu Avramov*, Petya Barisova, Boryana Ivanova, Svetoslav Anev, Milan Rizakov, Milena Yordanova, Nidal Shaban

University of Forestry, 10, Kliment Ohridski Blvd., Sofia, Bulgaria
**Email: zhavramov@ltu.bg*

Received: 14.05.2018 *Accepted:* 29.10.2018 *Published:* 08.11.2018

РЕЗЮМЕ

Целта на проучването беше да се установят абиотичните фактори, които влияят върху проявата на болести по салатата (*Lactuca sativa* L.) var. *romana* и var. *capitata,* отглеждани под полиетиленово фолио в Софийското поле. Въз основа на поставената цел заложихме опитни парцелки в две повторения салати с фолио и две парцелки без фолио. За да съпоставим резултатите предварително беше извършено пробовземане от почвата за запасеност с азот, фосфор и калий. Проведохме обследвания през месец февруари 2017 и анализирахме присъствието на почвени патогени в опитните парцели. Открити бяха почвенообитаващи гъби от родовете *Alternaria, Fusarium, Rhizoctonia, Botritis, Aspergillus, Penicillium* и *Mucor*. При второто обследване преди встъпване в активна вегетация също

SUMMARY

The aim of the study was to identify the abiotic factors that influence the onset of diseases in a salad (*Lactuca sativa* L.) var. *romana* and var. *capitata*, grown under polyethylene film in Sofia field. Based on the objective, we set plots experienced in duplicate salads with foil, and two plots without foil. In order to obtain comparable results we carried out soil sampling in advance to check the availability of nitrogen, phosphorus and potassium.

The first inspection was conducted in February 2017 with an analysis of the presence of soil pathogens in the experimental plots. So far we have identified soil fungi of the genus *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Botritis, Aspergillus*, *Penicillium* and *Mucor*. The second inspection will be conducted извършихме пробовземане на растения със симптоми на болести. Съпоставихме микробиологичните показатели преди и след завършване на вегетацията. Резултатите показаха по-добро развитие на растенията, отглеждани под полиетиленовото фолио, без проява на почени патогени, застрашаващи пропадането им. След получените резултати препоръчваме на производителите използване и внедряване на полиетиленовото фолио срещу пропадане и загуби на салати под въздействието на ниски температури и от почвенообитаващи патогени.

Ключови думи: Стрес, абиотични фактори, почвени патогени по салата, мулч, Проект 17/2016 ЛТУ.

before the active growing season, with a sampling of plants with disease symptoms and comparison of the microbiological parameters after the end of the salad growing season. Currently the results show a significantly better development of plants grown under the plastic film without the occurrence of pathogens threatening collapse of salad plants. After the final results, we sincerely hope to recommend to salad producers to implement the use of foil against the collapse of lettuce under the influence of low temperatures and pathogens.

Key words: Stress, abiotic factors, soil pathogens on lettuce, mulch, Project 17/2016 FU.

УВОД

В България салатата се отглежда на открито като зимна и пролетна култура, а през последните години найчесто в култивационни съоръжения. Заболяванията са значителен ограничаващ фактор за производство на салата. Естеството и честотата по тези заболявания зависи от местните условия. Известни са близо 75 заболявания по салатата (имат различни причини и етиология). Те са резултат от взаимодействието между растението (маруля), патогена (бактериални, гъбни, вирусни, фитоплазмени и др.) и условията на околната среда. Абиотичните условия, причиняват заболявания по салатата във времето. Тя изисква постоянна влажност на почвата през целия период на растеж. Вариации в напояването, особено по време на етапа на образуване на главата, може да се отрази на производителността и качеството на салатата. Резистентността или чувствителността на някой сортове салата и вирулентността на патоген са основните фактори за развитието на заболяване при салатата. Различните сортове се различават значително по своята реакция към патогените (Van Bruggen et al., 2004). Много причинители на болести по растенията се предават чрез почвата.

INTRODUCTION

In Bulgaria the salad is cultivated outdoors as a winter and spring crop, and over the recent years it is most often grown in cultivation facilities. Diseases are a significant limiting factor in salad production. The nature and frequency of these diseases depends on local conditions. About 75 diseases are known for the salad (having different causes and etiology). They are the result of interaction between the plant (lettuce), the pathogen (bacterial, fungal, viral, phytoplasmic, etc.) and environmental conditions. Abiotic conditions cause salad diseases over time. Salad requires constant soil humidity throughout the growth period. Variations in irrigation, especially during the head formation phase, may affect the productivity and quality of the salad. The resistance or sensitivity of some salad varieties and pathogen virulence are the main factors for the development of salad disease. Salad varieties differ significantly in their response to pathogens (Van Bruggen et al., 2004). Many plant pathogens are transmitted through the soil. There they overwinter or pass a certain stage of their development.

Another group of pathogens develops

Там те презимуват или преминават определен етап от развитието си. Друга група патогени се развиват изцяло в почвата, където паразитират по корените на растенията или засетите семена. Икономически важни болести са маната (*Bremia lactucae* Regel), брашнеста мана (*Erysiphe cichoracearum* DC.); кафяви листни петна (*Septoria lactuca* Pass.); сиво гниене (*Botrytis cinerea* Persoon) склеротийно увяхване (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary и *Sclerotinia minor* Jagger), мозайка *(Letuce mosaic virus), Бактериозата по салатата (Xanthomonas campestris pv. vitians* Br. Dowson) и др. (Atanasov, 1957; Van Bruggen et al., 2004; Candresse et al., 2007). Важни са и почвено обитаващите патогени като *Verticillium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora* spp., *Thielaviopsis* spp., *Fusarium* spp. и *Botrytis* spp. (Neshev and Atanassov, 2006; Subbarao and Koike, 2007; Miles, 2011).

През последните години в зеленчукопроизводство се прилагат и така наречените мулчирания или покриване на почвата около растенията с различни материали, регулиращи водните и въздушните режими в повърхностния слой на почвата. Почвеното покритие подобрява микробиологичната активност на ризосферните микроорганизми, ускорява и оптимизира темпа на постъпване на хранителните елементи в лесно усвоима форма и от там подобряване на количествените и качествените показатели на получената зеленчукова продукция. Технологията намалява или възпрепятства появата на плевели (Hochmuth, 2001). В много изследвания са установени разликите между различните видове полиетилен, използван за мулчиране на почвената повърхност (Olsen and Gounder, 2001; Johnson and Fennimore, 2005). Доказани са предимствата на полиетиленовият мулч в сравнение с немулчираната повърхност. При всички опити са отчетени по-високи добиви и по-добро качество на продукцията в сравнение с немулчираните варианти (Suh et al., 1991; Gross and Karla, 2002; Yordanova, 2008).

Влияние на абиотичните фактори

entirely in the soil where they parasite on the roots of the plants or the sown seeds. Economically important diseases are downy mildew (*Bremia lactucae* Regel), powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum* DC); brown leaf spots (*Septoria lactuca* Pass.); *Botrytis cinerea* Persoon, white mold (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary and *Sclerotinia minor* Jagger), Letuce mosaic virus, Bacterial Leafspot of Lettuce (*Xanthomonas campestris* pv. *vitians* (Brown) Dowson) and others (Atanasov, 1957, Van Bruggen et al., 2004; Candresse et al., 2007). Important pathogens are soil-borne such as *Verticillium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora* spp., *Thielaviopsis* spp., *Fusarium* spp. and *Botrytis* spp. (Neshev and Atanassov, 2006; Subbarao and Koike, 2007; Miles, 2011).

In recent years, so-called mulching or covering of the soil around plants with different materials regulating the water and air regimes in the surface layer of the soil are applied in vegetable production. The soil coating improves the microbiological activity of rhizospheric microorganisms, accelerates and optimizes the rate of intake of nutrients in easily absorbable form and hence improves the quantitative and qualitative indicators of the resulting vegetable produce. This technology reduces or prevents the occurrence of weeds (Hochmuth, 2001). In many studies, differences were found between the different types of polyethylene used for soil mulching (Olsen and Gounder, 2001; Johnson and Fennimore, 2005). The advantages of the polyethylene mulch compared to the non-mulched surface have been proven. In all experiments, higher yields and better produce quality were reported compared to non-mulched variants (Suh et al., 1991, Gross and Karla, 2002; Yordanova, 2008).

The influence of abiotic factors on

върху развитието на почвени патогени при отглеждане на зимните сортове салатата под полиетиленово фолио не са достатъчно проучени в Софийското поле. Това ни дава основание да се проведе настоящето научно изследване с цел, да се получат научно обосновани изводи и препоръки за приложение на този вид мулчиране в практиката.

Целта на извършените изследвания беше да се установи влияние на абиотичните фактори (температура) върху развитието на почвени патогени при отглеждане на салатата (*Lactuca sativa* L.) var. *romana* и var. *capitata* под и без полиетиленово фолио. Данните от настоящото проучване ще помогнат за намаляване на риска за количеството и качеството на получената продукция.

the development of soil pathogens in the cultivation of winter varieties of salad under polyethylene foil has not been studied sufficiently in the field of Sofia. This gives us ground to carry out the present scientific study in order to obtain scientifically sound conclusions and recommendations for the application of this type of mulching in practice.

The aim of the research was to determine the influence of abiotic factors (temperature) on the development of soil pathogens in salad farming (*Lactuca sativa* L.) var. *romana* and var. *capitata* under and without polyethylene foil. The data from this study will help reduce the risk of on quantity and quality of output.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът заложихме в УОП Враждебна - ЛТУ в периода от ноември 2016 до април 2017 г.

Лабораторните анализи бяха проведени в микробиологичната и фитопатологичната лаборатория в ЛТУ и в Централната лаборатория по карантина на растенията, БАБХ в София.

Материали: Подготовката на почвата в оранжерията е стандарта, включваща оран на 10-15 cm, фрезоване след предшественика и подравняването. Почвената повърхност беше оформена на ниски лехи без тирове и без прилагане на хербициди. През 2015 в оранжерията е било извършено торене с добре угнил оборски тор. За равномерно влагозапасяване и бързото и дружно поникване беше извършено напояване по бразди с около 25 m^3 вода на декар. Парцелките бяха покрити с полимерния мулч от вид Shanghai HiTec Plastic, LLP-PLA/Starch blends с дебелина 12μ. Изборът ни се обосновава с популярността на синтетичните покрития с ниска цена, лекота на приложение и дълготрайност.

Растителни проби: Разсадът

MATERIAL AND METHODS

We set the experiment in the academic experimental field with the University of Forestry in Vrazhdebna in the period from November 2016 to April 2017. The laboratory analyses were carried out in the microbiological and phytopathological laboratory with the University of Forestry and the Central Laboratory of Plant Quarantine with the Bulgarian Food Safety Agency (BFSA) in Sofia.

Materials: Soil preparation in the greenhouse was the standard one, including plowing of 10-15 cm depth, milling after the predecessor and alignment. The soil surface was formed in low-lying beds without ridges and without application of herbicides. In 2015, the greenhouse was fertilized with well-rotten manure. For uniform moisture retention and fast and collective germination, the irrigation was made in furrows with about 25 m3 of water per decare. The plots were covered with the polymeric mulch of the Shanghai HiTec Plastic type, LLP-PLA / Starch blends with a thickness of 12 μ. Our choice was based on the popularity of synthetic coatings of low price, ease of application and durability.

Plant samples: The seedlings

беше произведен, пикиран и във фаза 3-4 лист и предоставен от Милан Резаков от гр. Петрич. Растенията от салати бяха засадени в края на месец ноември 2016 година на 4 редови ленти шахматно с фолио в 2 повторения, а останалата част от растенията без него. През първия месец подсаждихме. В УОП Враждебна - ЛТУ бяха засадени 590 броя салати от 3 сорта Акварел, Острали и червена тип „Дъбов лист". Пробите бяха взети след преглед при прояви на заболяване и беше извършван лабораторен анализ.

Методи: За измерването на температурата беше използван методът на контролирания режим на метеорологичните фактори. Данните бяха ежедневно обобщавани от три агрометеорологични станции в Софийското поле - Орландовци, Бояна и Казичане (http://www.stringmeteo.com). Микробиологичeният анализ беше извършен преди засаждане и след прибиране на реколтата, за да проследим евентуална промяна на почвените микроорганизми. Анализът беше направен чрез Индиректен метод. Почвените проби за микроорганизми бяха изследвани върху хранителни среди МПА за бацили и среда на Чапек-Докс – за плесенни гъби. Изчисление на почвената микрофлора в хранителна среда МПА за бацили и неспорообразуваши бактерии (Nustorova, 2012). За идентификация на почвени патогени използвахме биологичен метод и изолиране върху воден агар (ВА) и картофен агар (КА). За да пречистим откритите изолати и да проследим и открием предпочитанията на патогените към изкуствената среда, извършвахме повторна изолация на 7-ия ден върху петри с двата вида хранителна среда и последващо микроскопиране. Процесът се повтаряше при всеки новооткрит и изолиран патоген. Почвените проби за агрохимични анализи бяха взети двукратно при засаждане и при приключване на вегетацията. Анализите са извършвани на

were produced, replanted in a 3-4 leaf phase and provided by Milan Rezakov from the town of Petrich. The salad plants were planted at the end of November 2016 on 4 staggered rows covered with foil in 2 repetitions and the rest of the plants without foil. In the first month we had to complement the plants. In the academic experimental field of Vrazhdebna we planted 590 salads of 3 varieties – Aquarel, Ostralie and Red Oakleaf. The samples were taken after examination for manifested disease and then laboratory analyses were performed.

Methods: For the temperature measurement we used the method of the controlled mode of meteorological factors. The data were summed up on a daily basis by three agrometeorological stations in the Sofia Field - Orlandovtsi, Boyana and Kazichane (http://www.stringmeteo.com). Microbiological analysis was performed before planting and after harvesting to trace any change in soil microorganisms.

The analysis was done by Indirect method. Soil samples for microorganisms were tested on MPA media for bacilli and Chapek-Dox medium for mold fungi. Calculation of soil microflora in nutrient medium MPA for bacilli and non-sporing bacteria (Nustorova, 2012).

For identification of soil pathogens we used a biological method and isolation on water agar (WA) and potato agar (PA). In order to purify the discovered isolates and to trace and discover pathogen preferences to the artificial environment, we performed re-isolation on the 7th day on petri dishes with both types of nutrient media and subsequent microscopy. The process was repeated with every newly discovered and isolated pathogen. Soil samples for agrochemical analyses were taken twice during planting and at the end of vegetation.

The analyses were carried out on a medium sample, on air dry soil, for средна проба, при въздушно суха почва, за определяне на pH на почвата – потенциометрично във воден извлек и в разтвор от $CaCl_2$, по ISO10390; съдържание на общ N% – по метода на Келдал; Усвоим P_2O_5 mg/100g BBM, по ацетатно-лактатния метод, модификация на П. Иванов и K_20 mg/100g BBM.

determination of soil pH – potentiometrically in water extract and in solution of $CaCl_2$, according to ISO10390; total N% content by the Kjeldahl method; Absorbable P_2O_5 mg/100g BBM, by the acetate-lactate method, modification of P. Ivanov and K_20 mg/100g BBM.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Аагрометеорологични измервания. Обработихме данни с температурни стойности за всеки ден от периода през месеците януари, февруари и март 2017 година. Представените данни за трите месеци или общо 90 дни се покриват като период с вегетационния цикъл на салатата. Отчетени бяха минималните температури, които са и най-рисковите за оранжерийното производство на салата. Отчетените ниски стойности (под -10°C; до 0°C) са общо 52 дни. Тези стресови температулни стойности доведоха до загиване и пропадане на растения, което наложи подсаждане. Измерените стоиности са осреднена дневна, максимална и минимална - t° C (Таблица 1).

RESULTS AND DISCUSSION

Agrometeorological measurements. We processed temperature data for each day of January, February and March 2017. The data presented for the three months or a total of 90 days overlap as a period with the lettuce vegetation cycle. We had minimum temperatures, which pose the highest risk for greenhouse farming of lettuce. Low temperature values (below -10°C to 0°C) were measured in a total of 52 days. These stressful temperature values led to dying and falling of plants, as a result of which we had to complement the plants. The measured values were daily average, maximum and minimum t° C (Table 1).

Таблица 1. Температурни дневни стойности за януари, февруари и март 2017
Table 1. Daily temperature values for January, February and March 2017 (min)

	T°C	January	February	March	Total number of days
T° C min	↘ -10°C	15	1	0	16
T° C min	↘ 0°C	15	16	5	36
T° C min	+10°C ↗	1	11	26	38
Total days		31	28	31	90

Резултати от микробиологичен почвен анализ. При микробиологичния анализ, който беше направен в 2 повторения върху 2 твърди хранителни среди МПА и Чапек-Докс бяха идентифицирани четири вида бацили и неспорообразуващи бактерии от взетите почвени проби. Резултатите са представени в Таблица 2.

Results of microbiological soil analysis. In the microbiological analysis, which was done in 2 repetitions on 2 solid nutrient media, MPA and Chapek-Dox, we identified 4 species of bacilli and non-sporing bacteria in the taken soil samples. The results are presented in Table 2.

Таблица 2. Брой на Bacillus в двете повторения
Table 2. Number of Bacillus in the two replicates

	Bacillus mycoides	*Bacillus megaterium*	*Bacillus cereus*	*Bacillus idosus*	*Bacillus subtilis*	Non-sprouting bacteria
Try 1st - C1 1во повтор.	*8	#24	#12	*3	0	#19
Try 2nd - C2 2ро повтор.	*7	*20	#10	*1	0	#13

- броя в едно отделение на петрито разделено на 8 равни триъгълника, # - the number in one part of petri dishes divided into 8 equal triangles; * - брой в цялото петри, * - number in petri dishes.

Качествен и количествен състав на почвената микрофлора в хранителна среда МПА: Резултат от изчисленията по формулите за общ брой колонии в 1 грам абсолютно суха почва обобщени в Таблица 3.

Qualitative and quantitative composition of soil microflora in MPA nutrient medium: Result of the calculations by the formulas for total number of colonies in 1 gram of absolutely dry soil summarized in Table 3.

Таблица 3. Резултати за микрофлората на почвата върху МПА
Table 3. Results for microflora of soil on MPA

Name Numbers	*Bacillus mycoides*	*Bacillus megaterium*	*Bacillus cereus*	*Bacillus idosus*	*Bacillus subtilis*	Non-sprouting bacteria
Colonies in 1 g/dry soil	150,000	2,120,000	1,760,000	40,000	0	2,560,000

Качествен и количествен състав на почвената микрофлора в хранителна среда Чапек-Докс и резултат от изчислението са представени в Таблица 4.

The qualitative and quantitative composition of the soil microflora in the Chapek-Dox nutrient medium and the result of the calculation are presented in Table 4.

Таблица 4. Количество плесенни гъби и общ брой колонии
Table 4. Amount of mold fungus and total number of colonies

Плесенни гъби Mould	Черни Black	Бели White	Сиви Gray	Общ брой колонии в 1g/почва Total No of colonies in 1g/soil
1во повторение – C1 1st Try - C1	*4	*5	*5	**250 000**
2ро повторение – C2 2nd Try - C2	*5	*2	*4	

(* - брой в петри; *- number in petri diches)

В Таблица 5 са представени резултатите на преброените и изчислени бактерии, усвояващи минерален азот.

Table 5 presents the results of the counted and calculated bacteria absorbing mineral nitrogen.

Таблица 5. Брой на колониите на бактерии, усвояващи азот
Table 5. Number of nitrogen fix bacteria colonies

Nitrogen fix bacteria	1^{во} повторение 1st Try C1	2^{ро} повторение 2nd Try C2	Общ брой колонии за Total No of colonies for C1 и/and C2
Бактерии, усвояващи мин. азот	#23	#27	4 000 000

- брой в едно отделение на петрито разделено на 8 равни триъгълника; # - the number in one part of petri dishes divided into 8 equal triangles;

След анализа на почвените проби беше констатирано, че съдържанието на микроорганизми в почвата от представения опит е в оптимални граници. Резултатите от двете повторения са близки и потвърждават, че полиетиленовото фолио не влияе върху тези микроорганизни и не ги редуцира. Друго важно заключение е, че резултатите показват добро развитието и присъствие на микроорганизмите под полиетиленово фолио, което не е повлияно от продължителните ниско температури.

Резултати от растителните проби: След извършване на 20 лабораторни анализи на 12 броя растителните проби, които бяха взети през месец февруари при обследване на салатите след дълъг период на ниски температури през месец декември и януари идентифицирахме под микроскоп гъбни патогени от род *Alternaria*, род *Penicillium,* род *Fusarium* и род *Rizopus*. Открихме 2 загинали растения под поетиленовото фолио. Пробите бяха анализирани в лабораторията по фитопатология - ЛТУ и след влажна камера и изолация върху 2 хранителни среди КДА и ВА. През месец април преди масовото прибиране на салатите извършихме пробовземане от всички растения със симптоми на заболяване или мицелни образования. Взети бяха 7 броя проби и извършихме 14 броя лабораторни анализа. Открихме в 6 броя растения бял налеп. След извършване на морфологична лабораторна експертиза установихме, че това е конидиално спороношение на гъбата *Bremia lactucae*.

After the analysis of the soil samples it was found that the soil microorganisms content of the presented experience is optimal. The results of the two repetitions are similar and confirm that the polyethylene film does not affect these microorganisms and does not reduce them. Another important conclusion is that the results show good development and presence of microorganisms under polyethylene foil, which is not affected by long-term low temperatures.

Results of plant samples: After 20 laboratory analyses of 12 plant samples taken in February upon the examination of the salads after the long period of low temperatures in December and January, we identified under microscope the fungal pathogens of the genera *Alternaria*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Rizopus*. We found 2 dead plants below the polyethylene film. The samples were analyzed in the phytopathology laboratory in the University of Forestry and after moist chamber and isolation on 2 nutrient media - PDA and water agar. In April, before mass harvesting, we took samples from all plants with symptoms of disease or mycelial formations. We took 7 samples and performed 14 laboratory analyses. We found white bloom in 6 plants. After performing a morphological laboratory examination, we found that this was a conidial sporulation of the *Bremia lactucae* fungus (Table 6).

Резултатите от биометричните изследвания показват нисък процент на пропадане на растения, отглеждани под фолио. Процесът не е идентичен с този през изминалите две години (Dudaklieva, 2016), когато същите сортове са дали по-висок процент на пропадане (Таблица 6).

The results of the biometric examinations show a low percentage of fallen mulched plants. The process is not identical with that from the past two years (Dudaklieva, 2016), when these varieties had a higher percentage of falling (Table 6).

Таблица 6. Резултати от изпитваните сортовете през 2016 и 2017 г.
Table 6. Results of the varieties tested during 2016 and 2017

	Година 2016		Година 2017			
Сорт	Брой/р-я Units/plants	Загуби Loss	Брой/мулч Units/Mulch	Загуби Loss	Брой/без Units/Without	Загуби Losses
Акварел *Aquarel*	72/23	60%	64/1	2%	150/149	0,3%
Острали *Ostralie*	72/58	20%	64/1	2%	140/140	0%
Червен дъбов лист *Satine*	72/62	14%			174/165	6%

Въз основа на получените резултатите констатираме, че идентифицираните гъбни патогени по салатата в района на Софийското поле са от родовете *Alternaria*, *Penicillium, Fusarium, Rizopus* и *Bremia* с предпочитания от сортовете към местата на отглеждане, както е според литературните източници (http://www.segabg.com/). Предполагаме, че ниския процент на пропаднали растения общо 2 от 150 отгледани под полиетиленово фолио е резултат на ниските температури, отколкото на идентифицираните патогени. Като потвърждение и пример за стрес и влияние на ниски температури е големият брой на пропадане на растенията, подхранвани с оборски тор през есента на 2015г. Отчетените загуби при някой сортове достигат до 95% (Dudaklieva, 2016.). Откритият причинител на маната по салатата – *Bremia lactucae* Regel, по шест растетия, късно през вегетационна фаза на културата не беше нанесъл поражения по листната петура на растенията. Резултатът потвърждава устойчивостта на сортовете срещу този икономически значим патоген (http://www.bejo.com/magazine/bejo-lettuce-varieties-resistant).

Почвени проби от местата на загиналите растения под полиетиленовото фолио и без фолио. При извършване

On the basis of the results obtained, we find that the identified fungal pathogens of the salad in the Sofia field are from the genera *Alternaria, Penicillium, Fusarium, Rizopus* and *Bremia* with the preferences of the varieties to the breeding sites, as reported in the literary sources (http: // www.segabg.com). We assume that the low percentage of fallen plants - 2 out of 150 plants grown under polyethylene foil - is a result of low temperatures rather than the identified pathogens. As a confirmation and example of stress and influence of low temperatures is the large number of fallen plants fed with manure in the autumn of 2015. The reported losses with some varieties reach up to 95% (Dudaklieva, 2016). The downy mildew pathogen - *Bremia lactucae* Regel discovered on six plants late in the vegetation phase did not cause any damage to the leaves of the plants. The result confirms the resistance of the varieties against this economically significant pathogen (http://www.bejo.com/magazine/bejo-lettuce-varieties-resistant).

Soil samples from the sites of the dead plants under the polyethylene foil and without foil. During the examinations на обследванията през месец февруари за биометрично изследване и обход на парцелките бяха взети почвени проби около 2 загинали растения и 2 почвени проби на почвата около растенията. След около 14 дни инкубационен период бяха изолирани, микроскопирани и идентифицирани почвени патогени от род *Penicillium*, род *Rhizoctonia*, род *Botrytis*, род *Aspergillus,* род *Fusarium*.

От лабораторните анализи на растителните проби и присъствие на почвените патогени в местата на отглеждане, констатираме, че те не реагират агресивно към гостоприемника, отглеждан под полиетиленовото фолио. На фона на тези резултати бише констатирано засилено развитие на плевелната асоциация на салатата. Тази поява на плели, вероятно е породена от използването на прозрачно полиетиленово фолио, от непровеждането на химическа борба или е резултат на положителните температурни стойности през месец март.

Агрохимическият анализ: Влажност и pH на почвата. Измерената влажност преди засаждане на почвата беше 62%, а стойности на pH на почвата, измерена с H_2O е 7,42, а в $CaCl_2$ е 6,97. Резултатите след тестирането на 2 броя почвени проби за агрохимически показатели са представени на Таблица 7.

in February for biometric analysis and plot monitoring, we took samples of the soil of the 2 dead plants and 2 samples of the soil around the plants. After about 14 days of incubation period, we isolated, checked under microscope and identified soil pathogens of the *Penicillium* genus, *Rhizoctonia* genus, *Botrytis* genus, *Aspergillus* genus, *Fusarium* genus.

From the laboratory analyses of the plant samples and the presence of the soil pathogens in the farming sites, we find that they do not react aggressively to the host under the polythene foil. Against this backdrop, an increased development of the weed salad association was found. This appearance of weeds was probably due to the use of transparent polyethylene foil, the lack of chemical protection agents or the result of positive temperature values in March.

Agrochemical analysis: Soil moisture and pH. The measured moisture before planting the soil was 62% and the soil pH values measured with H_2O were 7.42 and in $CaCl_2$ were 6.97. The results after testing of 2 soil samples for agrochemical indicators are presented in Table 7.

Таблица 7. Стойности от агрохимичния анализ (N, P, K)
Table 7. Datas for agrochemical analysis (N, P, K)

Почва mg/100g	N	P_2O_5	K
Парцелки с мулч Plots with mulch	0,175	31,75	7,4
Цяла оранжерия All other parts	0,171	23,75	6,9

Получените резултати доказват, че запасеността на почвата при опита с полиетиленовото фолио и извън него е в оптимални граници и тези стойности не могат да влияят негативно върху развитието на салатата. Съдържанието на фосфора е в горни граници, което способства за доброто вкореняване на

The results obtained show that soil concentrations in the experiment with the polyethylene foil and outside it are optimal and these values can not negatively affect the development of the salad. The phosphorus content is in the upper range, which contributes to the good rooting of the salads as described in салатите, както е описано в литературни данни (Cekleev, 1984). Тази запасеност от друга страна е способствала за преодоляване на неблагоприятните и продължителни въздействия на отрицателните температури в Софийското поле. Стойностите не могат и коствено да са фактор, кореспондиращ с нивото на проява на почвени патогени, нападащи както слаби, така и растения с бърз и бурен растеж.

ИЗВОДИ

Установената през вегетационния период инфекция не се отличава от добре познатите и характерни причинители на болести по салатата. Най-често срещаните гъбни почвени патогени по салатата в района на Софийското поле са от родовете *Alternaria*, *Penicillium, Fusarium, Rizopus, Rhizoctonia, Botrytis, Aspergillus.* Инфекцията от причинителя на маната по салатата – *Bremia lactucae* Regel е без последици за продукцията и потвърждава устойчивостта на сортовете срещу този икономически значим патоген. Необходимо е за бъдещи научни разработки и опити за влиянието на прозрачното полиетиленовото фолио да се включи и подходяща схема за борба с плевелните асоциации. Запасеността на почвата с необходимите макро елементи NPK на опита с полиетиленовото фолио и извън него отговарят на биологичните изисквания на хранителния режим на културата. Установените микроорганизми в почвата от представения опит са в оптимални граници и доказват, че полиетиленовото фолио не е фактор за тяхната редукция при продължителна отрицателна температура.

Като се съпоставят резултатите на установена инфекция и отчетеното пропадане, се предполага, че полиетиленовото фолио има и предпазно действие срещу стрес фактори, като температура и проява на почвени патогени.

Получените резултати дават основание това проучване да продължи и през следващите години и може да се препоръча на земеделските производители употребата на полиетиленовото

the literature (Cekleev, 1984). This concentration, on the other hand, has helped to overcome the unfavourable and prolonged effects of the negative temperatures in the Sofia field. The measured values cannot be considered even indirectly a factor in the level of manifestation of soil pathogens attacking both weak plants and plants with rapid and fervent growth.

CONCLUSIONS

The infection found during the vegetation period is not different from the well-known and typical salad pathogens. The most common fungal soil pathogens on the salad in the Sofia field are from the genera *Alternaria, Penicillium, Fusarium, Rizopus, Rhizoctonia, Botrytis, Aspergillus*. The infection caused by *Bremia lactucae* Regel – the pathogen causing downy mildew on salad – does not affect the produce and confirms the resistance of the varieties against this economically significant pathogen. In future scientific research and experiments on the influence of polyethylene foil it is necessary to include also a suitable weed control scheme. The soil concentration of the necessary macro elements NPK in the experiment with polyethylene foil and without it meets the biological requirements of the crop nutrition regimen. Soil microorganisms found in the present experiment are optimal and prove that polyethylene film is not a factor for their reduction in long periods of negative temperature.

Comparing the results of the detected infection and the fallen plants, we assume that the polyethylene film has also a protective effect against stress factors such as temperature and occurrence of soil pathogens.

The obtained results give grounds for this study to continue in the following years as well, and may recommend to farmers to use the polyethylene film.

фолио. Разликата от около 5% в загубите е добра икономическа причина за това приложение.

The difference of about 5% in losses is a good economic reason for this application.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работата е част от проект № 17 от 2016 г., финансиран от НИС при ЛТУ на тема: „Отговор на биологичния стрес фактори при различни салати (*Lactuca sativa* L.) var. *capitata* и var. *romana* в Софийското поле“ и е подпомогната за представяне от проект BG05M2OP001-2.009-0034 „Подкрепа за развитието на научния капацитет в Лесотехнически университет“.

ACKNOWLEDGEMENTS

The work is part of project № 17 from 2016, funded by NIS at the University of Forestry on "Biological stress factors in different salads (*Lactuca sativa* L.) var. *capitata* and var. *romana* in the field of Sofia" and assisted for presentation by project BG05M2OP001-2.009-0034 "Support for the development of scientific capacity in the University of Forestry".

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Atanasov D.,** 1957. Collection of Salad Diseases, collected by D. Atanasov in the period 1900-1939. (New Zealand. Infor. Servise No 14).
2. **Candresse, T., H. Lot, S. German-Retana, R. Krause-Sakate, J. Thomas, S. Souche, T. Delaunay, M. Lanneau and O. Le Gall,** 2007. Analysis of the serological variability of Lettuce mosaic virus using monoclonal antibodies and surface plasmon resonance technology. *Journal of General Virology*, Vol. 88. pp. 2605-2610.
3. **Cekleev, G.,** 1984.Technology for production of vegeTablees in greenhouses with plastic mulch type „Polymerstroi“, Plovdiv, 48 (Bg).
4. **Dudaklieva, E.**, 2016. Diplom papper: „Appearance of fungi pathogens on the salad (Lactuca sativa L.) var. *romana* и var. *capitata* in the Sofia field associated with abiotic factors, UF - Sofia (Bg).
5. **Gross, R. and B. Kalra**, 2002. Biodegradable polymers for the environment. *Science*, *97*: 803-807.
6. **Hochmuth, R.C.**, 2001. Field evaluation of watermelon produced on paper mulch coated with polymerized vegeTablee oil. North Florida Research and Education Center. Suwanee Valley, FL. http://nfrec-sv.ifas.ufl.edu/reports_mulch.htm
7. http://www.bejo.com/magazine/bejo-lettuce-varieties-resistant
8. http://www.stringmeteo.com/synop/temp_month.php
9. ISO10390 https://www.iso.org/standard/40879.html
10. **Johnson, M.S. and S.A. Fennimore**, 2005. Weed and crop response to colored plastic mulches in strawberry production. *HortScience*, 40:1371-1375.
11. **Miles, C.**, 2011. "Winter Lettuce". Washington State University. Retrieved 26 March 2011.
12. **Neshev, G. and N. Atanasov**, 2006. Vegetables in cultivation facilities. Zemizdat, Sofia (Bg).
13. **Nustorova, M.**, 2012. E-book: Microbiological control in the environment, 180 p. www.ltu.bg; http://193.23.52.11/ (Bg).
14. **Olsen, J.K. and R.K. Gounder**, 2001. Alternatives to polyethylene mulch film: a field assessment of transported materials in capsicum (*Capsicum annuum* L.). *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41: 93-103.
15. **Subbarao, K. V. and S. T. Koike**, 2007. "Lettuce Diseases: Ecology and Control". In Pimentel, David. Encyclopedia of Pest Management, Vol. 2, CRC Press. 313. ISBN 1-4200-5361-2.

16. **Suh, J. K., Y.B. Kim, Y. S. Lee and K.Y. Han**, 1991. A study of the improvement of the mulching cultivation method for onion (AIlium cepa L). Influence of mulch materials and times on growth, and yield. *Res. Rep. of the Rural Development Administration* (Korea), 33(2), 31-36.
17. **Van Bruggen, A.H.C., C. Davis, A. Sanchez, Yuma H. Scherm**, 2004. Compendium of Lettuce Diseases – Department of Plant Pathology, University of California, Agricultural Center University of Arizona, Department of Georgia.
18. **Yordanova, M.**, 2008. Biological studies of the effects of using mulch in broccoli - *Brassica oleraceae* var. *italica* Plenck. PhD thesis, UF, Bulgaria (Bg).