Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (5), 235-242
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Наблюдения върху развитието и разпространението на заболяването черно гниене с причинител *Phyllosticta ampelicida* (безполов стадий от *Guignardia bidwellii*) при биологично и конвенционално земеделие в условията на 2015 и 2016 година

Емил Балашков

Институт по лозарство и винарство, 5800 Плевен, България
E-mail: emo_bl87@abv.bg

Observations on development and incidence of black rot disease with causal agent *Phyllosticta ampelicida* (asexual phase from *Guignardia bidwellii*) in organic and conventional agriculture in the conditions of the years 2015 and 2016

Emil Balashkov

Institute of Viticulture and Enology, 5800 Pleven , Bulgaria

РЕЗЮМЕ

В Изпитателната база на Институт по лозарство и винарство - Плевен са проведени двегодишни наблюдения върху развитието и разпространението на заболяването черно гниене. Сравнени са две идентични насаждения, с едни и същи сортове лози, които са непосредствено едно до друго. При едното насаждение са използвани продукти за конвенционално земеделие, а при другото – продукти за биологично земеделие. През 2015 година в насаждението с биологично направление се открояват три сорта, които показват висока чувствителност към заболяването. Това са: Врачански мискет с индекс на нападение (27,5 %), Мискет отонел с (7,16 %) и Дружба (11,5 %). А тези с най-висока устойчивост са Каберне совиньон с (2,5 %) и Мискет

SUMMARY

Two-year observations were held on the development and incidence of black rot disease in the Experimental base of IVE - Pleven.

Two identical plantations with the same varieties located in immediate vicinity were compared. Products for conventional farming were used in one of the plantations while in the other one – products for organic farming.

In 2015 in the organic plantation three varieties showed high susceptibility to the disease, namely: Muscat Vrachanski with index of attack (27.5 %), Muscat Ottonel (7.16 %) and Druzhba (11.5 %).

The highest resistance demonstrated Cabernet Sauvignon (2.5 %) and Muscat

кайлъшки с (1,66). Като проявил повисока чувствителност за 2016 година, освен трите чувствителни, може да се отнесе и сорт Наслада (биологично отглеждано насаждение), като при него индексът на нападение за 2015 е (3 %), а през 2016 стойността му е (13,3 %).

Ключови думи: биологично, черно гниене, нападение, сортове, чувствителност, насаждения, устойчивост

Kaylashki (1.66 %). For the year 2016, except the three susceptible varieties, Naslada variety (organically grown) also showed higher susceptibility as its index of attack for 2015 was (3 %), while in 2016 - (13.3 %).

Key words: organic, black rot, attack, varieties, susceptibility, plantations, resistance

УВОД

Черното гниене произхожда от Северна Америка, откъдето е пренесено в Европа. През 1885 година болестта е наблюдавана във Франция от P. Viala и L. Ravaz, които я съобщават за първи път във фитопатологичната литература в САЩ (Vanev, 1963). След това болестта е намерена в Италия, Русия, Грузия и Азербайджан, Украйна и др. Според някои автори не може да се говори за черно гниене в областите Елзас, Шампан и Бургундия, като изключение прави Саона и Лоара, където болестта е открита отново. Други области, в които не се среща заболяването, са районите Лангедок и Русийон (Besselat, 1983). Черното гниене е сериозна заплаха за лозята, особено в райони с големи водни източници (Onesti et al., 2016).

В страните, за които черното гниене е икономически важно заболяване (САЩ, Канада и др.) като причинител се посочва гъбата *Guignardia bidwellii* (Elis) Viala and Ravaz с анаморф *Phyllosticta ampelicida* (Engleman) Vander Aa. *Guignardia bidwellii.*Тя е аскомицетна гъба, която образува псевдотеций с цилиндрични до бухалковидни аскуси, които съдържат по 8 едноклетъчни хиалинни аскоспори (Vanev, 1963; Harizanov et al, 2009).

За първи път у нас заболяването е съобщено през 1904 година от П. Козарев във Видинско (Raykov and Nachev, 1968; Raykov and Nachev, 1971). През 1961 година са наблюдавани прояви на черно гниене в Плевен-

INTRODUCTION

Black rot originated from North America, from where it was transmitted to Europe. In 1885 the disease was observed in France by P. Viala and L. Ravaz, who reported it for the first time in the US phytopathological literature (Vanev, 1963). Later, the disease was found in Italy, Russia, Georgia, Azerbaijan, Ukraine and other countries. According to some authors, black rot could not be related to the regions of Alsace, Champagne and Burgundy, except for Saone and Loire, where the disease was found again. Other areas where the disease did not occur were the regions Languedoc and Roussillon (Besselat, 1983). Black rot was a serious threat to vineyards, particularly in areas with large water sources (Onesti et al., 2016).

In countries where black rot is an economically important disease (USA, Canada, etc.) the pathogen is considered to be the fungus *Guignardia bidwellii* (Elis) Viala and Ravaz with anamorphic *Phyllosticta ampelicida* (Engleman) Vander Aa. *Guignardia bidwellii.* It is an ascomycetes fungus, forming pseudocetes with cylindrical or club-shaped ascus containing 8 unicellular hyaline ascospores (Vanev, 1963; Harizanov, 2009).

For the first time the disease in Bulgaria was reported in 1904 by P. Kozarev in the region of Vidin (Raykov and Nachev, 1968; Raykov and Nachev, 1971). In 1961, limited manifestations of black rot were observed in Pleven, Ruse,

ски, Русенски, Пловдивски и Видински окръзи в ограничени размери. По това време болестта е намерена върху узрели зърна от сорт Болгар в опитното лозе НИИЛВ в град Плевен (Vanev, 1963).

У нас болестта е слабо разпространена, въпреки това в някои години, когато времето е влажно с много чести валежи, може да нанесе значителни загуби. Най-често се нападат лозята, разположени по черноморското крайбрежие и тези в ниските непроветриви места (Malenin, 2003).

Болестта наподобява симптомите на сиво гниене по листата и на мана по гроздовете, като се характеризира с неправилни петна по листата, червеникави на цвят и заобиколени от кафяв пръстен. От листата заразата се прехвърля върху гроздовете, като заразява дръжките, чепките и зърната. Те стават кафяви и се покриват с черни пустули, след което изсъхват. По зърната петната се разрастват бързо и обхващат целите зърна. По тях се образуват концентрични кръгове от сравнително едри пикнидии (Harizanov et al., 1994). Те са снабдени с кръгъл остиол, от който изтича ексудат от пикнидиоспори. През пролетта, след дъжд узрелите пикнидии освобождават спорите. Наличието на водни капчици е задължително условие за покълването им (Vanev, 1963; Vanev, 1995; Stancheva, 2006). В сухо състояние спорите запазват жизнеспособността си за повече от една година (Raykov and Nachev, 1968; Raykov and Nachev, 1971). Лозата е чувствителна на черно гниене през цялата вегетация, при много валежи през пролетта заразяването е масово, а при липса на обилни валежи заразяването става през лятото (Besselat and Tisse, 1983).

Plovdiv and Vidin districts. At the same time the disease was found on ripened berries of Bolgar variety in the experimental base of Research Institute of Viticulture and Enology - Pleven (Vanev, 1963).

In Bulgaria the disease was not widely spread however in certain years of wet weather and very frequent rainfall it might cause significant losses. It attacked most often the vineyards located along the Black Sea coast and those in lowlands, not well aired (Malenin, 2003).

The disease resembles the symptoms of grey mould on the leaves and downy mildew on the clusters characterized by irregular spots on the leaves, reddish in colour and surrounded by a brown ring. From the leaves it is transmitted to the clusters and infects the petioles, the rachis and the berries. They turn brownish and are covered by pustules as afterwards wither. On the berries the spots grow quickly and cover the whole berries. Concentric circles are formed on them of relatively large pycnidia (Harizanov, 1994). They have a circular ostiole from which an exudate of picnispores leaks out. In spring, after rain the mature pycnidia release the spores.

The presence of water droplets is an obligatory condition for their germination (Vanev, 1963; Vanev, 1995; Stancheva, 2006). When dried the spores remain viable for more than one year (Raykov and Nachev, 1968; Raykov and Nachev, 1971). Grapevine is susceptible to black rot throughout the whole vegetation period as when rainfall in the spring is heavy the infestation is massive while in the absence of abundant precipitation vines are infected in summer (Besselat and Tisse, 1983).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През 2015 и 2016 година в Изпитателната база на ИЛВ - Плевен са проведени наблюдения, върху развитието и разпространението на заболяването черно гниене. Целта на проучването е да се установи има ли разлика по отношение на това заболяване, като се сравнят конвенционално и биологично отглеждани лозя. Също така да се установят някои сортове подходящи за биологично производство спрямо черно гниене.

Варианти на опита са: Мискет кайлъшки, Наслада, Мискет врачански, Мискет отонел, Дружба, Каберне совиньон. Използвани са две насаждения с еднакви размери и непосредствено едно до друго, като за едното са използвани продукти за биологично, а при другото са използвани продукти за конвенционално земеделие. Използвано е също и едно насаждение, състоящо се от сортовете Мискет кайлъшки 1, Мискет отонел 1 и Рубин 1, което е отдалечено от първите две и е с направление за конвенционално земеделие.

Оценени са по 100 грозда от сорт по седем-балната скала:

(Бал 0 – няма нападение, бал 1 до 5 %, бал 2 от 6 до 15 %, бал 3 от 16 до 25 %, бал 4 от 26 до 50 %, бал 5 от 51 до 75 % и бал 6 от 76 до 100 % от грозда е засегнат).

Индексът на нападение е изчислен по формулата на **McKinney**.

За 2015 година при конвенционално направление са направени 6 третирания с продуктите: за I-во третиране (Драго и Систан), II-ро (Ридомил голд и Систан), III-то (Ридомил голд и Систан), IV-то (Драго и Тиовит джет), V-то (Кабрио топ и Топаз) иVI-то пръскане с (Корсейт и Топаз). За направление с биологично земеделие: са направени 7 третирания с продуктите (Тиовит джет и Фунгуран).

За 2016 при конвенционално отглеждане са използвани продуктите за I-во третиране (Ридомил голд и

MATERIAL AND METHODS

In 2015 and 2016 at the Experimental base of IVE - Pleven observations were carried out on the development and incidence of black rot disease. The objective of the investigation was to find out if there was any difference referring this disease by comparing the conventional and organic grown vines as well as some varieties to be established suitable for organic production concerning black rot.

The trial variants were: Muscat Kaylashki, Naslada, Muscat Vrachanski, Muscat Ottonel, Druzhba, Cabernet Sauvignon. Two plantations of equal size were included next to each other as products for organic agriculture were applied in one of them and products for conventional agriculture were used in the other one. The trial also comprised a plantation of the varieties Muscat Kaylashki 1, Muscat Ottonel 1 and Rubin 1, remote from the others, also used for conventional agriculture.

A hundred clusters per variety were assessed by seven-score scale:

(Score 0 – no infestation, score 1 up to 5 %, score 2 from 6 to 15 %, score 3 from 16 to 25 %, score 4 from 26 to 50 %, score 5 from 51 to 75 % and score 6 from 76 to 100 % of the cluster was infected).

The index of attack was calculated by **McKinney's** formula.

In 2015 in the conventionally grown plot 6 treatments were performed with the following products: 1st treatment (Drago and Systane), 2nd (Ridomil gold and Systane), 3rd (Ridomil gold and Systane), 4th (Drago and Thiovit jet), 5th (Cabrio top and Topaz) and 6th (Corseit and Topaz). For the organic production 7 treatments were applied with the products (Thiovit jet and Funguran).

In 2016 for the conventional production the following products were applied for the 1st treatment (Ridomil gold

Топаз), II-ро (Ридомил голд и Топаз), III-то (Ридомил голд и Топаз), IV-то (Триомакс и Тиовит джет), V-то (Триомакс и Тиовит джет) и VI-то пръскане с (Драго и Систан). За направление с биологично земеделие: са направени 7 третирания с продуктите (Тиовит джет и Фунгуран). Климатичните фактори валежи температура и относителна влажност на въздуха са отчетени посредством електронна метеорологична станция iMETOS (Pessl Instruments GmbH).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При отчитане на гроздовете за 2015 година, най-ясно се открояват три сорта от насаждението за биологично направление, които показаха висока чувствителност спрямо заболяването, това са: Врачански мискет с индекс на нападение (27,5 %), Мискет отонел с (7,16 %) и Дружба (11,5 %). А тези с най-висока устойчивост са Каберне совиньон с (2,5 %) и Мискет кайлъшки с (1,66 %) индекс на нападение. Също така отчитаните три сорта (Мискет кайлъшки 1, Мискет отонел 1 и Рубин 1), се откроиха спрямо останалите, като при тях не се наблюдаваше нападение и повреди спрямо гроздове.

През 2016 година при обследване на район в базата на Института по лозарство и винарство са открити петна от черно гниене по листа още средата на месец май. По-висока интензивност на нападение се наблюдава при сортовете Врачански мискет, Мискет отонел и Дружба отглеждани биологично. Към тях могат да се отнесат и Наслада от същото направление. При нея индексът на нападение през 2015 е бил (3 %), а през 2016 стойността му е (13,3 %). Каберне совиньон отчетено и в двете направления през изминалата 2015 година при конвенционално производство е с индекс (0 %), а при биологично е с (2,5 %). През 2016 година е съответно за конвенционално 5,8 и за биологично 17,6. В насаждението от Мискет кайлъшки 1, Мискет отонел 1 и

and Topaz), 2nd (Ridomil gold and Topaz), 3rd (Ridomil gold and Topaz), 4th (Triomax and Thiovit jet), 5th (Triomax and Thiovit jet) and 6th spraying with (Drago and Systane). For the organic production 7 treatments were applied with the products (Thiovit jet and Funguran). The weather factors: rainfall, temperature and relative humidity were recorded by the electronic weather station iMETOS 000003CA (Pessl Instruments GmbH).

RESULTS AND DISCUSSION

When accounting the clusters, three varieties from the organic grown plantation were distinguished clearly, showing high sensitivity to the disease, namely: Muscat Vrachanski with an index of attack (27.5 %), Muscat Ottonel (7.16 %) and Druzhba (11.5 %).

Those with the highest resistance were Cabernet Sauvignon (2.5 %) and Muscat Kaylashki (1.66 %). Also the three varieties (Muscat Kaylashki 1, Muscat Ottonel 1 and Rubin 1) were distinguished compared to the rest as no cluster attack and damages were observed in them.

In 2016 during the routing observation of an area in the base of the Institute of Viticulture and Enology spots of black rot on the leaves were found already in mid-May. Higher intensity of attack was observed in the organic grown plantation varieties Muscat Vrachanski, Muscat Ottonel and Druzhba. Naslada from the organic grown varieties could be referred to them. The index of attack in Naslada variety was 3 in 2015, and in 2016 – (13.3 %). For Cabernet Sauvignon the accounted values in 2015 in the conventional production had an index (0 %) and the organic – (2.5 %)

In 2016, it was respectively (5.8 %) for conventional and (17.6 %) for organic. In the plantation of Muscat Kaylashki 1, Muscat Ottonel 1 and Rubin 1 in 2016 it

Рубин 1 през 2016 година се наблюдава проява на черно гниене. Предстои проследяване и през следващите години, за да се установи има ли промяна в агресивността на патогена (Таблица 1).

was observed manifestation of black rot.

Observations shall be carried out over the next years for determining any change in the aggressiveness of the pathogen (Table 1).

Таблица 1. Индекс на нападение спрямо Черно гниене по гроздове
Table 1. Black rot index of attack per clusters

Вариант Variant	Всичко (брой) Total (No.)	Конвенционално производство Conventional growing				Биологично производство Organic growing			
		Болни (брой) Infected (No.)		Индекс на нападение Index of attack (%)		Болни (брой) Infected (No.)		Индекс на нападение Index of attack (%)	
		2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
М. кайлъшки Muscat Kaylashki	100	5	18	0,66	5,3	3	16	1,16	6,6
Наслада Naslada	100	5	4	1,16	0,6	14	7	3	13,3
Вр. Мискет Muscat Vrachanski	100	15	23	4,16	9,1	81	20	27,5	10,1
М. отонел Muscat Ottonel	100	7	11	1,16	2,6	31	19	7,16	6,1
Дружба / Druzhba	100	5	29	0,83	17,8	42	35	11,5	22,5
К. совиньон Cabernet Sauvignon	100	0	16	0	5,8	10	38	2,5	17,6
М. кайлъшки 1 Muscat Kaylashki 1	100	0	5	0	1,3	-	-	-	-
М. отонел 1 Muscat Ottonel 1	100	0	6	0	1,6	-	-	-	-
Рубин 1 / Rubin 1	100	0	4	0	0,8	-	-	-	-

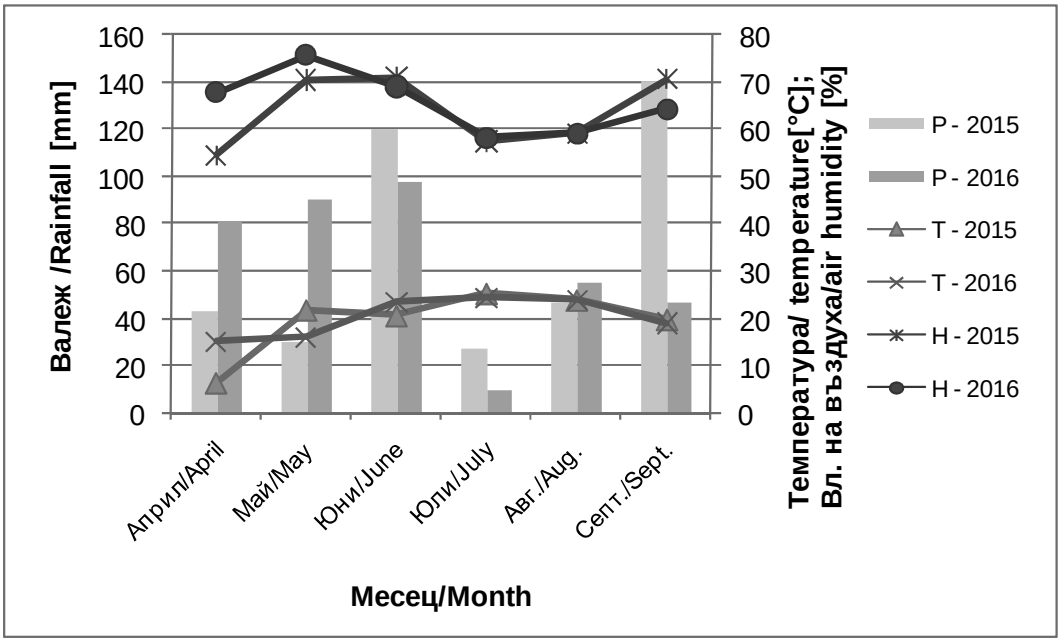
През 2015 година падналите валежи в района през месец април и май са значително по-малко в сравнение с отчетените за същия период през 2016. Видно от (Фигура 1) влажността на въздуха е правопропорционална на количеството на валежите. В сравнение с 2015 година температурата измерена през месец април за 2016 е по-висока, а температурата отчетена за месец май за 2016 е по-ниска. Като цяло по отношение на заболяването черно гниене и през двете години от извършените наблюдения има условия за проява и развитие на заболяването, но по-добри условия се наблюдават през 2016 година. Предстоят наблюдения над това заболяване и през следващите години за да се проследи растежа и развитието му при поразлични климатични условия.

In 2015 the precipitation in the region during the month of April and May were significantly less compared to the same period in 2016. As shown in (Figure 1) the humidity was proportional to the amount of rainfall.

The temperature in April of 2016 was higher compared to 2015 while the temperature in May 2016 was lower.

Generally, referring the black rot disease in both years of the investigation there were conditions for the onset and development of the disease, but better conditions were observed in 2016.

The monitoring of the disease shall continue for following its development and incidence in different weather conditions.



Фиг. 1. Метеорологични данни
Fig. 1. Meteorological data

ИЗВОДИ

1. Биологичното производство крие неколкократно по-висок риск от поява и разпространение на заболяването черно гниене, в сравнение с конвенционалното направление. Прилагането на всички методи и агротехнически мероприятия биха имали ограничаващ ефект спрямо развитието на заболяването.
2. Очаква се с всяка следваща година интензивността на нападение да се увеличава. И заболяването да се проявява в по-голяма степен, като нанася все повече загуби за производството и в двете направления.
3. Ще се увеличават и разходите за борба със заболяванията по лозата, тъй като ще се прилагат и допълнителни мерки за контрол на черното гниене.
4. Сорт Мискет кайлъшки е подходящ за биологично земеделие, спрямо заболяването черно гниене. Чувствителните сортове са подходящи за контролни сортове при изпитването на нови активни вещества.

CONCLUSIONS

1. The organic grapes production has much higher risk of emergence and spread of black rot compared to the conventional growing. The implementation of all methods and agricultural procedures might have a limiting effect on the disease development.

2. It is expected the intensity of the attack to increase each year to follow, and the disease to be manifested in a greater degree by causing more losses in both types of production.

3. The cost for the disease control will increase as additional measures for black rot control will be applied.

4. Muscat Kaylashki variety is suitable for organic farming concerning black rot disease. The susceptible varieties are suitable for control varieties in testing new active substances against black rot on vine.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Bessalat, B. and P. Tisse**, 1983. Le black-rot. *Phytoma Defense de cultures*, 347, 19-21 (Fr).
2. **Harizanov, A., B. Nakov., V. Harizanova. and M. Nakova**, 1994. Vine protection from diseases and pests. Zemizdat, Sofia (Bg).
3. **Harizanov, A., M. Todorova and V. Harizanova**, 2009. Vine diseases and pests. Videnov i sin, Sofia (Bg).
4. **Kostadinova, M.**, 2011. Black rot (Phoma uvicola) – dangerous vine disease. *Lozarstvo i Vinarstvo*, 3, 8-11. (Bg).
5. **Malenin, I.**, 2003. Vine disease. Enyovche, Sofia (Bg).
6. **Onesti, G., E. González-Domínguez and V. Rossi**, 2016. Accurate prediction of black-rot epidemics in vineyards using a weather-driven disease model. *Pest Management Science*, 72, 12.
7. **Raykov, E. and P. Nachev**, 1968. Vine diseases and pests. Zemizdat, Sofia (Bg).
8. **Raykov, E. and P. Nachev**, 1971. Vine diseases and pests. Zemizdat, Sofia (Bg).
9. **Stancheva, Y.**, 2006. Atlas of diseases on agricultural crops. Pensoft II, Sofia (Bg).
10. **Vanev, S.**, 1963. Black rot on vine and its causative agents in Bulgaria. *Rastitelna zashtita*, 8, 9-16 (Bg).
11. **Vanev, S.**, 1963. On the etiology of genuine black rot and false black rot excoriose on vine in our country. In: Proceedings of the Institute of Viticulture and Enology, Pleven, 4, 115-127 (Bg).
12. **Vanev, S.**, 1995. Parasitic fungi on the vine in the Balkan Peninsula. Genuine black rot. „Prof. Marin Drinov", Sofia (Bg).

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (5), 243-255 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на климатичните условия в района на гр. Плевен върху повредите по лозите при биологично и конвенционално производство на грозде

Валерий Пейков[1], Йорданка Белберова[1], Емил Цветанов[1]*, Емил Балашков[1], Георги Костадинов[2]

[1]Институт по лозарство и винарство, ул. „Кала тепе" №1, 5800 Плевен, България
[2]Институт по почвознание, агротехнологии и защита на растенията „Никола Пушкаров", ул. *„Шосе Банкя" № 7, 1331 София, България*
**E-mail: estzvetanov@gmail.com*

Impact of weather conditions in the region of Pleven on grapevine damage in organic and conventional grapes production

Valerii Peykov[1], Yordanka Belberova[1], Emil Tsvetanov[1]*, Emil Balashkov[1], Georgi Kostadinov[2]

[1]Institute of Viticulture and Enology, 1 "Kala tepe" Str., 5800 Pleven, Bulgaria
[2]Institute of soil science, agrotechnologies and plant protection "Nikola Pushkarov", 7 "Shose Bankya" Str., 1331 Sofia, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

През периода 2014-2016 г. в района на гр. Плевен е извършено изследване влиянието на климатичните условия през зимния период върху състоянието на главните и заместващите пъпки на лози от шест винени сорта. Установено е, че климатичната характеристика на стопанските години през периода 2014-2016 година по отношение на валежите през вегетационния период ги определя като влажна (2014 и 2015 г.) и средновлажна (2016 г.), а по отношение на средноденонощната температурата на въздуха като много хладна (2014), гореща (2015 г.) и средна (2016 г.). През зимния период на 2014 г. не са установени екстремно ниски температури на въздуха, поради което не са констатирани повреди по главните и заместващи пъпки. През

SUMMARY

During the period 2014- 2016 in the region of Pleven a study was carried out on the impact of the weather conditions during the winter period on the primary and replacement buds of six wine grapevine varieties. It has been found that the climate features during the period 2014-2016 in terms of rainfall during the growing season defined the years as moist (2014 and 2015) and medium-moist (2016) and in terms of average air temperatures as very cool (2014), hot (2015) and average (2016).

Extremely low air temperatures were not recorded during the winter period of 2014, therefore damages to the primary and replacement buds had not been found.

During the winter period of 2015 air

зимния период на 2015 г. е регистрирана температура на въздуха в диапазона от -20,0ºС до -21,9ºС (01.01.2015 г., в периода от 0,00 до 9,00 ч). През месец януари е установено и значително обледеняване на лозите с продължителност над 24 часа. При биологичното производство установените повреди са по-големи от тези при конвенционалното производство – най-големи повреди по главните и заместващите пъпки са установени при сорт Врачански мискет, съответно 93,3 и 65,7% при биологичното и 74,22 и 43,16% при конвенционалното. Най-малки са повредите при сорт Кайлъшки мискет – 46,0 и 22,0% при биологичното и 5,80 и 1,20% при конвенционалното. За 2016 г. максимално ниски температури на въздуха са установени на 20.01, вариращи в диапазона от -20,1 до -21,3ºС (с продължителност 4 часа). През месец януари 2016 г. е установен и продължителен период със средноденонощни температури около и под -15,0ºС. При биологичното производство повредите отново са по-големи от тези при конвенционалното производство – най-големи са при сорт Врачански мискет– 32,28 % при главните и 14,35% при заместващите пъпки при биологичното и 24,22 и 20,07% при конвенционалното. Най-ниски са повредите при сорт Кайлъшки мискет – съответно 8,36 и 5,09% при биологичното и 3,18 и 0,35% при конвенционалното производство.

Ключови думи: повреди по лозите, биологично, конвенционално, производство на грозде, климатични условия

temperature was registered within the range from -20.0ºC to -21.9ºC (January 1st, 2015, 0.00 a.m. to 9.00 a.m.).

In January it was also found significant icing of the vines, longer than 24 hours. In organic production the damages were greater compared to conventional production – the greatest damages to the primary and replacement buds were recorded in Muscat Vrachanski variety, respectively 93.3 and 65.7% in organic and 74.22 and 43.16 % in conventional growing.

The least damages were found in Muscat Kaylashki variety – 46.0 and 22.0% in organic and 5.80 and 1.20% in conventional. In 2016 the maximum low air temperatures were registered on January 20th, ranging from -20.1 to -21.3ºC (lasting for 4 hours). In January 2016 it was also recorded a long period with average temperatures about and below -15.0ºC. In organic growing the damages were again greater than the conventional production - the most severe was the impact on primary buds (32.28%) and replacement buds (14.35%) in organic grown Muscat Vrachanski variety and 24.22 and 20.07% in the conventional production. The least damages had Muscat Kaylashki variety – respectively 8.36 and 5.09% in organic and 3.18 and 0.35% in conventional production.

Key words: grapevine damage, organic, conventional, grapes production, weather conditions

УВОД

Ефективността на биологичното и конвенционалното производство на грозде и вино зависи от много фактори, основните от които са подходящо подбраните тероар, сортова структура, технология на отглеждане, техническа екипировка и др. Климатичните условия на микрорайона и характеристи-

INTRODUCTION

The effectiveness of the organic and conventional grape and wine production depends on many factors, the most important of which are suitably selected terroirs, varietal structure, cultivation technology, technical equipment, etc. The climatic conditions of the micro-region and the characteristics of

ките на конкретния терен оказват определящо влияние както върху жизнеността, развитието и плододаването на лозите, така и върху плътността и влиянието на икономически важните болести. В тази връзка, особено за биологичното производство е важно установяването на влиянието на микрорайонирането, както върху биологичните и стопански показатели на лозовата култура, така и на ефективността на това производство. Периодичното получаване на негативни резултати от биологичното производство на грозде и вино в някои региони на страната налага провеждането на допълнителни задълбочени изследвания за установяване и предлагане на практиката на рационални и ефективни организационни, технологични и технически решения в тази насока.

the specific terrain have a decisive impact on vine vitality, growth and fertility as well as on the density and the impact of the economically important diseases.

However, it is significant, especially for the organic production, to be defined the impact of the micro-regions both on vine biological and economic indicators and the efficiency of this production.

The repeated negative results from the organic production of grapes and wine in some regions of the country necessitates further thorough research for identifying and suggesting the practice of rational and effective organizational, technological and technical solutions in this respect.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През периода 2014-2016 г. в района на производствено-експерименталната база на Института по лозарство и винарство - гр. Плевен е извършено изследване с цел установяване влиянието на климатичните условия през зимния период през посочените години, върху състоянието на главните и заместващите пъпки и плътността и влиянието на болестите мана и оидиум на лози от сортовете Кайлъшки мискет, Наслада, Врачански мискет, Мискет отонел, Дружба и Каберне совиньон. За целите на изследването са използвани две отделни парцели с площ от по 0.6 ha (Мискет кайлъшки – 0,2 ha, Наслада – 0,2 ha, Мускат Отонел – 0,05 ha, Врачански мискет – 0,05 ha, Дружба – 0,05 ha и Каберне совиньон – 0,05 ha), в лозово насаждение създадено през 2006 г. Разстоянията на засаждане са: междуредово 3.20 m и вътрередово 1.20 m, средностъблена формировка (двураменен кордон) с височина на стъблата 1,00 m.

Почвеният тип е слабо излужен чернозем, образуван върху глинясъл льос.

MATERIAL AND METHODS

During the period 2014-2016 in the area of the production-experimental base of the Institute of Viticulture and Enology - Pleven a study was carried out on the impact of the weather conditions during the winter period of these years on the primary and replacement buds and the density and impact of powdery mildew and downy mildew on vines of the varieties Muscat Kaylashki, Naslada, Muscat Vrachanski, Muscat Ottonel, Druzhba and Cabernet Sauvignon.

For the purposes of the study, two separate plots with an area of 0.6 ha each were used (Muscat Kaylashki – 0.2 ha, Naslada – 0.2 ha, Muscat Ottonel – 0.05 ha, Muscat Vrachanski – 0.05 ha, Druzhba – 0.05 ha and Cabernet Sauvignon – 0.05 ha), in a vineyard created in 2006. The planting distances were: 3.20 m between the rows and 1.20 m in the rows, medium-stem training system (2-arm cordon) with a stem height of 1.00 m.

The soil type was slightly leached chernozem formed on clayed loess.

Проследени са следните показатели:

- средноденонощна температура на въздуха в района на Производствено-експерименталната база на ИЛВ-Плевен, отчитана на всеки час от автоматична стационарна електронна станция, модел IMETOS.

- повреди от ниски зимни температури и обледеняване, определено въз основа на степента на загиване на пъпките (главни и заместващи), на тъканите (ликова тъкан и дървесина) и органите (пръчки, рамена и кордони – едногодишната и многогодишната дървесина) на лозите. За целта се използва методика, разработена в ИЛВ-Плевен.

- повреди по листата и гроздовете от болестите мана и оидиум - % и индекс на поражение, като отчитането се извършва по утвърдена методика. Оценяването на павредите е извършено по седембална скала, а индексът на поражение е изчислен по формулата на Mc Kinney (Kostadinova, 2012).

The following indicators were monitored:

- average daily air temperature in the area of the production-experimental base of IVE-Pleven, recorded every hour by an automatic stationary electronic station, IMETOS model.

- damages from low winter temperatures and icing, determined on the basis of the degree of death of the buds (primary and replacement), the tissues (connective tissue and wood), and the organs (canes, arms and cordons – the annual and perennial wood) of the vines. A methodology developed at IVE-Pleven was used for this purpose.

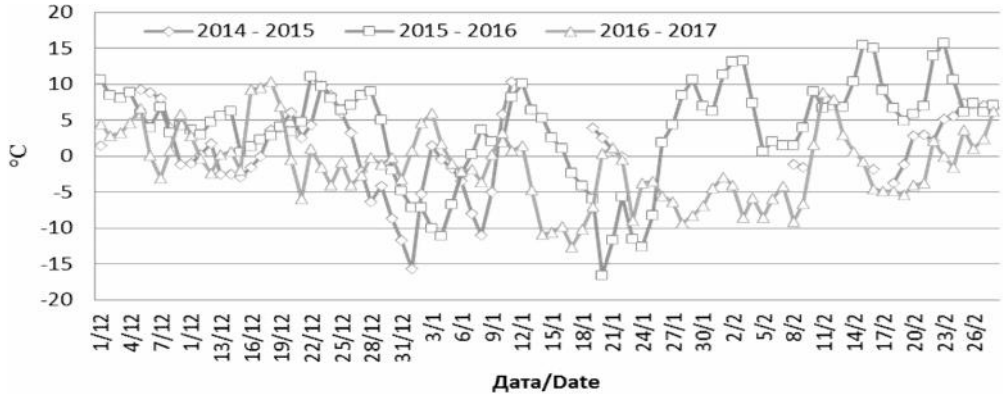
- damages to the leaves and the clusters caused by powdery mildew and downy mildew - % and damage index, as the accounting was done in accordance with an approved methodology. The damage evaluation was performed on a seven-score scale, and the damage index was calculated using Mc Kinney's formula (Kostadinova, 2012).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

През зимния период на 2013/2014 г. не са отчетени периоди с критично ниски температури на въздуха – Фигура 1, поради което не са констанирани повреди по пъпките (главни и заместващи).

RESULTS AND DISCUSSION

Extremely low air temperatures were not recorded during the winter period of 2013/2014 – Figure 1, therefore damages to the buds (primary and replacement) had not been found.

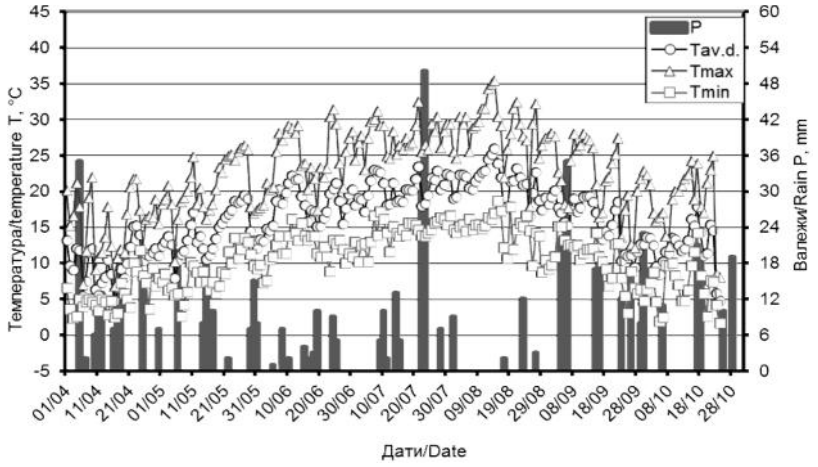


Фиг. 1. Средноденонощни температури на въздуха за периода декември-февруари, 2014-2017 години

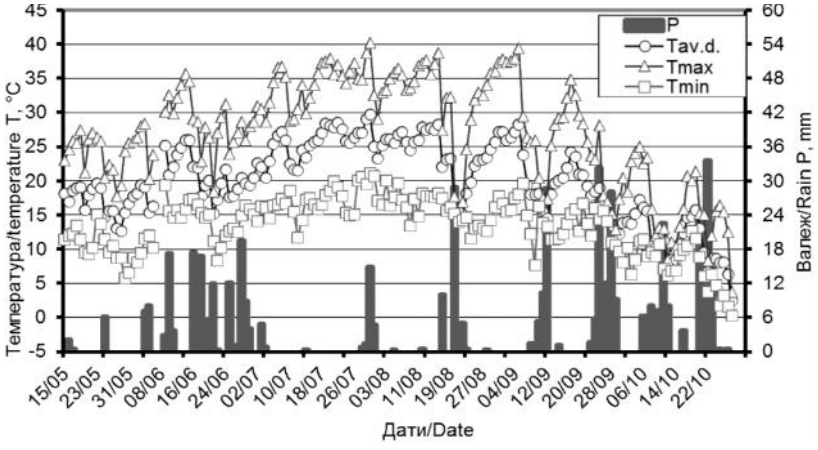
Fig. 1. Average daily air temperature for the period December-February, 2014-2017

През вегетационния период май-октомври на 2014 година сумата на валежите е 511 mm, с обезпеченост 11 %, което определя периода като влажен. Средноденонощната температура на въздуха е 17,1 ºС, с обезпеченост 97 %, характеризираща периода като много хладен, а максималната температура на въздуха е 23,9 ºС, с обезпеченост 85 %, което определя периода като хладен (Фигура 2).

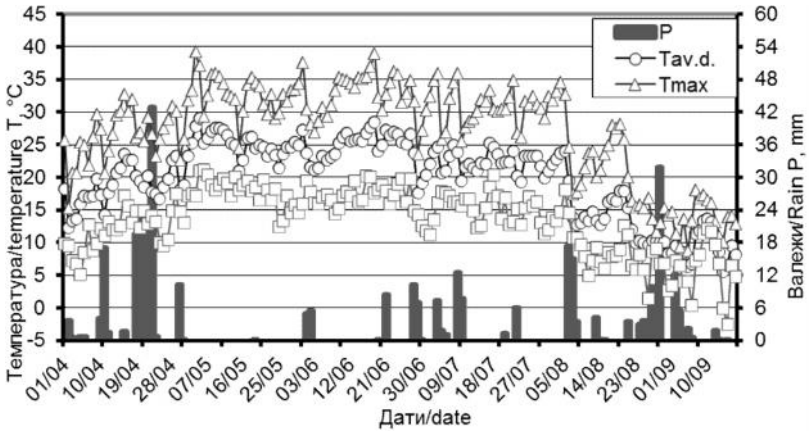
During the May-October 2014 vegetation period, the precipitation sum was 511 mm, ensuring 11% of the water supply that determined the period as wet. The average daily air temperature was 17.1°C, ensuring 97%, characterizing the period as very cool while the maximum air temperature was 23.9°C, ensuring 85%, which determined the period as cool (Figure 2).



а



б / b



в / с

Фиг. 2. Валежи и ход на среднодневната, минималната и максималната температура през вегетационния период: а - 2014 г.; б - 2015 г.; в – 2016 г.
Fig. 2. Rainfall and course of the average daily, minimum and maximum temperatures during the vegetation period: a - 2014; b - 2015; c – 2016

Характерните симптоми на наблюдаваните болести с голяма плътност са установени в периоди непосредствено след значителни валежи – за 2014 г. през месец юли са паднали валежи от 122 mm, като само в периода 14.07-23.07 в района на Производствено-експерименталната база са паднали валежи от 98 l/m² (само за 22 и 23.07 – 80 l/m²). Данните за повреди по листната маса и гроздовете от болестта мана потвърждават гореизложеното – данните, отчетени на 30.06.14 г. при двата варианта на третиране са близки, с малко по-високи стойности на индекса на поражение при повечето сортове при конвенционалното производство (с изключение на сорт Кайлъшки мискет). При отчитането на стойностите на индекса на поражение в началото на месец септември е установено, че тези стойности са значително по-високи при варианта биологично производство, като достигат до 66,0 при сорт Врачански мискет (4,0 при варианта за конвенционално производство), 44,0 при сорт Каберне совиньон (2,0 при варианта за конвенционално производство). Подобна значителна разлика в стойността на

The typical symptoms of the monitored diseases with high density were found in periods immediately after significant precipitation – in 2014, the rainfall in July reached 122 mm, as only in the period 14–23 July the rainfall in the area of the production-experimental base was 98 l/m² (only on 22 and 23 July – 80 l/m²).

The data on leaf and cluster damage by downy mildew confirmed the above statement – the data, reported on 30 June 2014 for both treatment variants were close, with somewhat higher values of the damage index for most varieties in conventional production (except Muscat Kaylashki variety).

When accounting the damage index rates at the beginning of September, it was found that these values were significantly higher in the organic production, reaching 66.0 for Muscat Vrachanski variety (4.0 for the conventional production), 44.0 for Cabernet Sauvignon variety (2.0 for the conventional production).

A similar significant difference in the rate of this index was also recorded for

този индекс е отчетена и при сорт Мискет отонел. Данните и тук не са еднопосочни – при сорт Дружба индексът на поражение по гроздовете е по-висок при конвенционалното производство – 6,0, в сравнение с 1,0 при биологичното. Индексът на поражение по гроздовете от оидиум при повечето сортове е по-висок при варианта конвенционално производство, като разликата при чувствителните сортове е значителна – Мискет врачански - индекс на поражение 82,0 при конвенционално и 21,0 при вариант биологично производство. При останалите сортове тези различия са по-малки. При сортовете Каберне совиньон и Наслада отчетените стойности на индекс на поражение са по-високи при биологичното производство (Таблица 2).

Период с критично ниски температури на въздуха през 2014/2015 г. е констатиран на 01.01.2015 – от -20,00 °C до -21,9 °C, с продължителност 9 часа – от 0.00. до 09. 00 часа. На 09.01.2015 г. за период с продължителност над 12 часа е констатирано обледеняване на лозите, основно на едногодишните пръчки. Следствие на посочените фактори, с основна тежест обледяването, са установени значителни повреди по лозите, основно по главните и заместващите пъпки. Величината на повредите е по-голяма при вариантите с биологично производство. Най-големи повреди са установени при сорт Врачански мискет – съответно 93,3% при главните и 65,7% при заместващите пъпки при биологичното и съответно 74,22% и 43,16% при опита с конвенционално производство. Висок е процентът на повредите и при сортовете Мискет отонел и Каберне совиньон – Таблица 1. Най-малки са повредите при сорт Кайлъшки мискет – 46,0% при главните и 22,0% при заместващите пъпки при варианта биологично производство и съответно 5,8% и 1,2% при варианта с конвенционално производство.

Muscat Ottonel variety.

The data here were not unidirectional either – for Druzhba variety, the damage index on the clusters was higher in the conventional production – 6.0 compared to 1.0 in the case of the organic one. The powdery mildew damage index on the clusters for most varieties was higher for the conventional production, as the difference in the susceptible varieties was significant – Muscat Vrachanski – 82.0 for the conventional and 21.0 for the organic growing. In the rest of the varieties these differences were smaller. For Cabernet Sauvignon and Naslada varieties, the reported damage index rates were higher for the organic production (Table 2).

A period of critically low air temperatures in 2014/2015 was recorded on 1st January, 2015 – from -20.00°C to -21.9°C, with duration of 9 hours – from 0.00 to 09:00 a.m. On 9th January 2015, over a period of more than 12 hours, it was found icing of the vines, mainly on the one-year-old canes. As a result of the above factors, with a major burden of icing, significant damages to the vines were found, mainly on the primary and replacement buds. The damages were greater for the organic production variants.

The biggest damages were found for Muscat Vrachanski variety – 93.3% in the primary and 65.7% in the replacement buds in the organic production and respectively 74.22% and 43.16% in the conventional growing. The damage ratio was also high for the varieties Muscat Ottonel and Cabernet Sauvignon – Table 1. The smallest were the damages to Muscat Kaylashki variety – 46.0% for the primary and 22.0% for the replacement buds for the organic production and 5.8% and 1.2% respectively for the conventional production.

Таблица 1. Повреди от ниски зимни температури по главни и заместващи пъпки по сортове при биологично и конвенционално производство – 2014-2016 г.
Table 1. Damages by low winter temperatures on primary and replacement buds per varieties in organic and conventional production – 2014-2016

Сорт Variety	2014 г.		2015 г.		2016 г.	
	Главни пъпки Primary buds, %	Заместващи пъпки Replacement buds, %	Главни пъпки Primary buds, %	Заместващи пъпки Replacement buds, %	Главни пъпки Primary buds, %	Заместващи пъпки Replacement buds, %
Биологично производство / Organic production						
Кайлъшки мискет Muscat Kaylashki	Не са установени Not found	Не са установени Not found	46,0	22,0	8,36	5,09
Наслада Naslada	Не са установени Not found	Не са установени Not found	60,0	36,0	9,93	8,22
Врачански мискет / Muscat Vrachanski	Не са установени Not found	Не са установени Not found	93,3	65,7	32,28	14,39
Мискет отонел Muscat Ottonel	Не са установени Not found	Не са установени Not found	72,3	41,9	15,96	6,03
Дружба Druzhba	Не са установени Not found	Не са установени Not found	47,4	32,3	21,99	15,96
Каберне совиньон Cabernet Sauvignon	Не са установени Not found	Не са установени Not found	65,0	46,0	24,33	22,64
Конвенционално производство / Conventional production						
Кайлъшки мискет Muscat Kaylashki	Не са установени Not found	Не са установени Not found	5,8	1,2	3,18	0,35
Наслада Naslada	Не са установени Not found	Не са установени Not found	18,6	10,3	15,3	2,48
Врачански мискет / Muscat Vrachanski	Не са установени Not found	Не са установени Not found	74,22	43,16	24,22	20,07
Мискет отонел Muscat Ottonel	Не са установени Not found	Не са установени Not found	15,22	4,35	9,15	3,17
Дружба Druzhba	Не са установени Not found	Не са установени Not found	14,2	8,3	7,91	0,79
Каберне совиньон Cabernet Sauvignon	Не са установени Not found	Не са установени Not found	64,29	23,21	12,5	6,67

Таблица 2. Влияние на климатичните условия през вегетационния период и използваните продукти върху болестите мана и оидиум по лозата през периода 2014 г. – 2016 г.
Table 2. Impact of the weather conditions during the vegetation period and the products used for downy mildew and powdery mildew on vines in the period 2014-2016

Вариант Variant / Сорт Variety	Листа /Leaves		Гроздове/ Clusters			
	Индекс на поражение от мана / Downy mildew damage index		Индекс на поражениеот мана Downy mildew damage index		Индекс на поражение от оидиум / Powdery mildew damageindex	
	Конвенционално Conventional	биологично Organic	Конвенциснално Conventional	Биологично Organic	Конвенционално Conventional	Биологично Organic
2014						
Мискет кайлъшки Muscat Kaylashki	0	5	13	0	11	0
Наслада Naslada	2	7	4	8	1	2
Дружба Druzhba	4	66	100	22	82	21
Мискет врачански Muscat Vrachansk	6	25	15	14	13	10
Мискет Отонел Muscat Ottonel	2	1	25	9	7	3
Каберне Совиньон Cabernet Sauvignon		44	15	23	10	18
2015						
Мискет кайлъшки Muscat Kaylashki	0	0,66	7	35	1,5	9,2
Наслада Naslada	2	1,16	24	60	6,5	16,5
Дружба Druzhba	0,16	1,08	97	100	53,83	77,83
Мискет врачански Muscat Vrachansk	0,25	1,16	66	96	26,66	75
Мискет отонел Muscat Ottonel	0	0,41	49	74	15,66	34,33
Каберне совиньон Cabernet Sauvignon	0	0,41	76	100	32,83	52,5
2016						
Мискет кайлъшки Muscat Kaylashki	0,3	0,33	0	0	0	0
Наслада Naslada	0,3	0,33	0	0	0	0
Дружба Druzhba	1,8	1,83	27	31	12	17,3
Мискет врачански Muscat Vrachansk	1	1	23	42	12	22,5
Мискет отонел Muscat Ottonel	0,3	0,33	10	20	5,6	10,5
Каберне совиньон Cabernet Sauvignon	1,6	3,66	13	20	5,8	11,8

През вегетационния период май-октомври на 2015 година сумата на валежите е 491 mm с обезпеченост 14 %, което определя периода като влажен. Среднодневната температура е 19,9 ºС с обезпеченост 30 % характеризираща периода като горещ, а максималната е 27,7 ºС с обезпеченост 7 %, което определя периода като много горещ (Фигура 2).

Метеорологичните условия през

During the May-October 2015 vegetation period, the precipitation sum was 491 mm ensuring 14% of the water supply that determined the period as wet. The average daily air temperature was 19.9ºC ensuring 30% characterizing the period as hot while the maximum air temperature was 27.7°C, ensuring 7%, which determined the period as very hot (Figure 2).

The meteorological conditions in

месеците юни и септември 2015 г. създадоха благоприятни условия за развитието на проследяваните гъбни болести по лозата и затрудниха извършването на част от технологичните операции, предимно механизирани. Потвърдиха се наблюденията от предходни периоди – появата на значително заразяване става в период непосредствено след значителни валежи – за 2015 г. през месец юни в района на Експерименталната база са паднали валежи от 120,6 mm (за сравнение за 2014 г. такива валежи са констатирани за месец юли – 122 mm).

Данните за повредите по листната маса и гроздовете от болестта мана при първото (23.06.15 г.) и второто отчитане (27.08.15 г.) при двата варианта на третиране са близки, с минимални стойности на индекса на поражение, основно при варианта за биологично производство (най-голям индекс на поражение при сорт Мискет врачански – 1,16, а най-малък – при сортовете Каберне совиньон и Дружба – 0,41). През 2015 г. е констатирана късна атака от мана (началото на септември), основно по листната маса на странични летораст, която не е нанесла повреди по гроздовете (Таблица 2).

Индексът на поражение по гроздовете от оидиум при всички сортове във варианта за биологично производство е по-висок от този при конвенционалното, като най-голям е при чувствителните сортове – при Мискет врачански индексът на поражение по гроздовете при варианта биологично производство е 77,83, при варианта за конвенционално – 53,83, при сорт Мискет отонел съответно 75 и 26,66, при Каберне совиньон – 52,5 и 32,83, при Дружба – 34,33 и 15,66. При останалите сортове тези различия са по-малки – при сорт Наслада отчетените стойности на индекс на поражение при биологичното производство са 16,5, а при конвенционалното – 6,5, при Кайлъшки мискет съответно 9,2 и 1,5 (Таблица 2).

Независимо от обстоятелството,

June and September 2015 created favorable conditions for the development of the monitored fungal vine diseases and made it difficult part of the technological operations to be performed, mainly the mechanized ones. The observations from previous periods were confirmed - the occurrence of significant infestation occurred in a period immediately after significant precipitation – in June 2015, the rainfall in the area of the experimental base was 120.6 mm (compared to 2014 when such precipitation was observed for the month of July – 122 mm).

The findings for the leaf and cluster damages from downy mildew from the first count (23 June 2015) and the second one (27 August 2015) were close for both treatment varieties, with the lowest damage index rates, mainly for the organic production (the highest damage index for Muscat Vrachanski variety – 1.16, and the lowest – for Cabernet Sauvignon and Druzhba varieties – 0.41). In 2015, a late downy mildew attack (early September) was found, mainly on the leaves of the lateral shoots, however it did not cause any damages to the clusters (Table 2).

The powdery mildew damage index on the clusters for all varieties in the organic production variant was higher than the conventional one, as it was the highest for the susceptible varieties – for Muscat Vrachanski the damage index on the clusters in the organic production variant was 77.83, in the conventional variant – 53.83, for Muscat Ottonel 75 and 26.66 respectively, for Cabernet Sauvignon – 52.5 and 32.83, for Druzhba – 34.33 and 15.66. For the other varieties these differences were smaller - for Naslada variety the reported rates of the damage index for the organic production were 16.5 and for the conventional one - 6.5, for Muscat Kaylashki 9.2 and 1.5, respectively (Table 2).

Regardless of the fact that in the

че при варианта биологично производство са извършени двукратно промушване и частично привързване на летораститe и еднократно механизирано кършене, създали предпоставки за по-добро проникване на препаратите до гроздовете и по-добра циркулация на въздушните маси във вътрешността на лозовите храсти, както и по-големия брой третирания (8 спрямо 6 при конвенционалното), получените резултати показват комплексното влияние на климатичните условия и ефективността на използваните продукти за растителна защита (Peykov, 2006; 2012).

Периоди с критично ниски температури на въздуха през зимния период на 2015/2016 г. (Фигура 1) са констатирани на:

- 20.01.2016 – от -20,1 °C до -21,3 °C, с продължителност 4 часа – от 07.00 до 10.00 часа

- 21.01.2016 – от -19,00°C до -19,5 °C, с продължителност 3 часа – от 04.00 до 06.00 часа.

Най-висок процент повреди по пъпките е установен отново при сорт Врачански мискет – 32,28% при главните и 14,39% при заместващите пъпки при варианта биологично производство и съответно 24,22% и 20,07% при варианта с конвенционално (Таблица 1). Най-нисък е процентът на повредите по пъпките при сорт Кайлъшки мискет – 8,36% при главните и 5,09% при заместващите при варианта биологично производство и съответно 3,18% и 0,35% при варианта с конвенционално. През вегетационния период май – октомври на 2016 година сумата на валежите е 384,2 mm с обезпеченост 33 %, което определя периода като средно влажен. Средноденонощната температура на въздуха е 19,5 ºC, с обезпеченост 50 %, характеризираща периода като среден, а максималната температура е 26,9 ºC, с обезпеченост 15 %, което определя периода като средно горещ (Фигура 2).

Метеорологичните условия в

organic variant it was performed twice passing through and partial binding of the shoots and single mechanized topping that created prerequisites for better penetration of the preparations to the clusters and better air circulation inside the vines, as well as the higher the number of treatments (8 compared to 6 for the conventional variant), the obtained results showed the complex impact of the climatic conditions and the effectiveness of the plant protection products used (Peykov, 2006; 2012).

Periods with critically low air temperature during the winter period 2015/2016 (Figure 1) were recorded on:

- 20 January 2016 – from -20.1°C to -21.3°C, with 4 hours duration – from 07.00 a.m. to 10.00 a.m.

- 21 January 2016 – from -19.00°C to -19.5°C, with 3 hours duration – from 04.00 a.m. to 06.00 a.m.

The highest rate of bud damages was found again in Muscat Vrachanski variety – 32.28% of the primary and 14.39% of the replacement buds in the organic variant and respectively 24.22% and 20.07% in the conventional variant (Table 1). The lowest rate of bud damages was recorded for Muscat Kaylashki variety – 8.36% of the primary and 5.09% of the replacement buds in the organic variant and respectively 3.18% and 0.35% in the conventional variant.

During the May-October 2016 vegetation period, the precipitation sum was 384.2 mm ensuring 33% of the water supply that determined the period as average wet. The average daily air temperature was 19.5ºC ensuring 50% characterizing the period as average while the maximum temperature was 26.9°C, ensuring 15%, which determined the period as average hot (Figure 2).

The meteorological conditions at

началото на вегетационния период на 2016 г. (Фигура 2) създадоха неблагоприятни условия за извършване на част от технологичните операции. Появата на значително заразяване с наблюдаваните болести отново е установено в период непосредствено след значителни валежи – за 2016 г. през месец май – 90,8 mm и юни - 98 mm. Повредите по листната маса и гроздовете от болестта мана при първото отчитане (4.06.16 г.) при двата варианта на третиране не са установени. При второто отчитане (3-5.07.16 г.) стойностите на индекса на поражение са малко по-високи при варианта биологично производство – 1,8 при сорт Врачавски мискет (0,66 при варианта за конвенционално производство), 1,6 при сорт Каберне совиньон (0 при варианта за конвенционално производство). Незначителна е разлика в стойността на този индекс е и при сорт Мискет отонел (Таблица 2).

Индексът на поражение по гроздовете от оидиум при повечето сортове е по-висок при варианта биологично производство, като разликата при чувствителните сортове е незначителна – Мискет отонел – индекс на поражение по гроздовете 22,5 при биологичното и 12,0 при конвенционалното производство, Мискет врачански - индекс на поражение 17,3 при биологично и 12,0 при варианта конвенционално производство. При останалите сортове тези различия са по-малки. При сортовете Каберне совиньон и Дружба отчетените стойности на индекс на поражение са съответно 11,8 и 10,5 при биологичното и 5,8 и 5,6 при конвенционалното производство. При сортовете Мискет кайлъшки и Наслада не са отчетени повреди от оидиум по гроздовете (Таблица 2).

the beginning of the vegetation period of 2016 (Figure 2) created unfavorable conditions for performing part of the technological operations. The occurrence of significant infestation with the monitored diseases was recorded again in a period immediately following significant precipitation – in 2016 the month of May 2016 – 90.8 mm and June - 98 mm. Damages on the leaves and clusters from downy mildew during the first count (4 June 16) for both treatment variants were not found. During the second count (3-5 July 2016) the damage index rates were slightly higher for the organic production variant – 1.8 for Muscat Vrachanski variety (0.66 for the conventional variant), 1.6 for Cabernet Sauvignon variety (0 for the conventional production). The difference in the rate of this index was also insignificant for Muscat Ottonel variety (Table 2).

The damage index by powdery mildew on the clusters was higher for most of the varieties in the organic production variant, as the difference in the susceptible varieties was insignificant – Muscat Ottonel – damage index on clusters 22.5 for the organic and 12.0 for the conventional production, Muscat Vrachanski – damage index 17.3 for the organic and 12.0 for the conventional variant. For the rest of the varieties these differences were smaller. For Cabernet Sauvignon and Druzhba varieties the recorded damage index rates were respectively 11.8 and 10.5 for the organic and 5.8 and 5.6 for the conventional production. For Muscat Kaylashki and Naslada varieties no damages from powdery mildew on the clusters were recorded (Table 2).

ИЗВОДИ

● Значителните повреди по лозите от болестите мана и оидиум оказват влияние на повредите основно по пъпките

CONCLUSIONS

● The significant damages to the vines from downy mildew and powdery mildew affected mainly the vine buds during the

на лозите през последващия зимен период. Това в по-голяма степен се отнася за биологичното производство.

● При биологичното производство на грозде влиянието и въздействието на климатичните фактори, върху развитието и плододаването на лозите е по-силно изразено.

● Съчетанието на променливите климатични условия в годините и ограничен набор от средства за борба с вредителите по лозата, създават сериозни трудности за биологичното производство на грозде в района на гр. Плевен.

● Потвърдиха се данните от предходни периоди за негативното влияние на обледеняването на лозите за период над 24 часа.

● Получените резултати поставят отново въпроса за правилното райониране на лозарството в страната. Това с особена сила се отнася за лозови насаждения, предназначени зо биологичното производство на грозде.

subsequent winter period. That referred mostly for the organic production.

● In the organic grapes production the influence and impact of the climatic factors on the vine development and fertility was more pronounced.

● The combination of variable weather conditions throughout the years and the limited means of vine pest control created serious difficulties for the organic production of grapes in the region of Pleven.

● Data for the negative impact of vine icing for over 24 hours from previous periods were confirmed.

● The obtained results have again raised the issue of the proper viticulture zoning in the country. That particularly applies to vineyards intended for organic production of grapes.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Kostadinova, M., T. Lyubenova, L. Katerova, V. Peikov**, 2012. Pest Management in Organic Grape Production in ILS-Pleven – Results and Problems. In: Proceedings of Jubilee Scientific Conference with International Participation in Pleven, NIMA, pp. 159-166 (Bg).
2. **Peykov, V., E. Tsvetanov and M. Chelebiev**, 2006. Environmental friendly technology for Maintenance of the soil surface in the area of the vineyards, *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 9(3), 360-371.
3. **Peykov, V., M. Kostadinova, D. Dimitrova, T. Lyubenova, L. Katerova**, 2012. Practical Advice on Organic Grape Production, NIMA, pp. 27 (Bg).

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (5), 256-262 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Теоретични криви за определяне на листната повърхност при лози от сорт Кайлъшки рубин

Йорданка Белберова*, Емил Цветанов

Институт по лозарство и винарство, ул. „Кала тепе" №1, 5800 Плевен, България
**E-mail: dani_desus@abv.bg*

Theoretical curves for determining vine leaf surface of Kaylashki rubin variety

Yordanka Belberova*, Emil Tsvetanov

Institute of Viticulture and Enology, 1 "Kala tepe" Str., 5800 Pleven, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

Изследването е проведено през 2016 г. при сорт Кайлъшки рубин с цел да се построят теоретични криви и да се намерят регресионни уравнения, с помощта на които да се определи възможно най-бързо и точно листната площ на един лист, един летораст или на една лоза.

Въз основа на зависимостта, която съществува между листната площ (S) от една страна и дължината на централния нерв (L_1), сумата на дължините на горните два (ΣL_2) или долните два (ΣL_3) странични нерва на лозовия лист, от друга страна, посредством регресионен анализ са получени теоретични криви. Уравненията, с които се описват регресионните криви за всеки от параметрите L_1, ΣL_2 и ΣL_3 са: $y_1 = 1{,}3208x^2 - 1{,}5861x + 1{,}0443$; $y_2 = 0{,}4791x^2 - 0{,}0968x + 2{,}789$; $y_3 = 0{,}8901x^2 - 0{,}3408x + 6{,}8914$, където „y" е листната площ (в cm^2), а „x" – дължината на централния нерв; сумата от дължините на горните два странични нерва; сумата от дължините на долните два странични нерва на листа, съответно (в cm).

В хода на изследването е установено, че и при трите параметъра стойностите на коефициентите на определението (R^2) са доста близки, което позволява използването им за опреде-

SUMMARY

The investigation was carried out in 2016 with Kaylashki rubin variety for plotting the theoretical curves and finding regression equations by which to determine quickly and accurately the leaf area per leaf, a shoot or a vine.

The theoretical curves were obtained by means of regression analysis based on the correlation between the leaf area (S) on the one hand and the length of the central vein (L_1), the sum of the lengths of the two upper (ΣL_2) and two lower (ΣL_3) lateral veins of vine leaf, on the other hand. The equations describing the regression curves for each of the parameters L_1, ΣL_2 and ΣL_3 were respectively: $y_1 = 1{,}3208x^2 - 1{,}5861x + 1{,}0443$; $y_2 = 0{,}4791x^2 - 0{,}0968x + 2{,}789$; $y_3 = 0{,}8901x^2 - 0{,}3408x + 6{,}8914$, where „y" was the leaf area (in cm^2), and „x" - the length of the central vein; the sum of the lengths of the two upper lateral veins; the sum of the lengths of the two lower lateral veins of the leaf, respectively (in cm).

In the course of the study it was found that the coefficient values of the definition (R^2) for the three parameters were very close, which allowed all three parameters to be used for determining the

ляне на листната повърхност с приблизително еднаква точност. Освен това отклоненията от регресията и при трите параметъра са по-малки от 6 %, което показва, че методът осигурява приемлива точност.

Ключови думи: лоза, листна повърхност, сорт Кайлъшки рубин

leaf surface with approximately the same accuracy. Moreover, the deviations from the regression in all three parameters were less than 6%, indicating that the method provided an acceptable accuracy.

Key words: *Vitis vinifera* L., leaf surface, Kaylashki rubin variety

УВОД

Кайлъшки рубин е средно до късно зреещ червен винен сорт получен по пътя на междувидовата хибридизация от кръстосването на (Памид х Хибрид VI 2/15) х (Гаме ноар х *Vitis amurensis*) в ИЛВ - Плевен, патентован през 2010 г. (Simeonov et al., 2015; Ivanov, 2016). Като сравнително нов сорт, върху него не са провеждани изследвания за определяне зависимостта между листната площ (S) и дължината на централния нерв (L_1), сумата на дължините на горните два (Σ L_2) или долните два (Σ L_3) странични нерва на лозовия лист.

Според Stoev и Dobreva (1974), всички изследвания върху листната повърхност и продуктивността на листата имат за цел търсене на възможности за повишаване на количеството и качеството на добива от грозде.

Ролята на листата като основни асимилиращи органи на лозата е от изключително значение, тъй като над 90-95% от биологичния добив се натрупва в процеса на фотосинтезата (Nikolov, 1973). Ето защо са необходими достатъчно бързи и точни методи за определяне на големината на отделен лист, листната повърхност на цели лози.

Целта е да се определят зависимостите между листната площ (S) и дължината на централния нерв (L_1), сумата на дължините на горните два (Σ L_2) или долните два (Σ L_3) странични нерва на лозовия лист от сорт Кайлъшки рубин.

INTRODUCTION

Kaylashki Rubin is medium to late ripening red wine variety obtained by interspecies hybridization by crossing of (Pamid x Hybrid VI 2/15) x (Gamey noir x Vitis amurensis) at IVE - Pleven, patented in 2010 (Simeonov, 2015; Ivanov, 2016). Being a relatively new variety it has not been studied for determining the correlation between the leaf surface (S) and the length of the principal vein (L_1), the sum of the lengths of the two top (Σ L_2) or the two underside (Σ L_3) lateral veins of the grapevine leaf.

According to Stoev and Dobreva (1974), all studies on the leaf surface and leaf productivity have been aimed at seeking opportunities to enhance the quality and quantity of grapes yield.

The role of the leaves as the main assimilating organs of vine has been of utmost importance, as over 90 – 95% of the biological yield was accumulated in the process of photosynthesis (Nikolov, 1973). Therefore fast and accurate methods were required for determining the size of the individual leaf and the leaf surface of whole vines.

The objective was to determine the correlation between the leaf surface (S) and the length of the principal vein (L_1), the sum of the lengths of the two top (Σ L_2) or the two underside (Σ L_3) lateral veins of the grapevine leaf of Kaylashki Rubin variety.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено през 2016 г. в Експерименталната база на ИЛВ - Плевен в опитно насаждение от

MATERIAL AND METHODS

The study was carried out in 2016 at the Experimental base of the Institute of Viticulture and Enology - Pleven in a trail

сорт Кайлъшки рубин. Лозите се отглеждат стъблено на двустранен кордон при схема на засаждане 2,5/1,3 m.

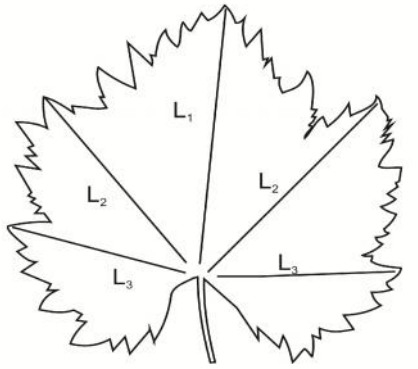
Използван е методът предложен от Slavcheva (1983), която усъвършенства този на Carbonneau (1976). Той може да спадне към недеструктивните методи за определяне на листна площ (листата не се отделят от растението) и да се използва, когато се следи за динамиката на нарастване на листната площ във времето (Kerin et al., 2000). Методът е приложен с цел да се построят теоретични криви и да се намерят регресионни уравнения, с помощта на които да се определи, възможно най-бързо и точно листната площ на един лист, респективно на една лоза при сорт Кайлъшки рубин.

За целта са подбрани 100 листа с възможно най-разнообразни размери, разположени на различни етажи по дължината на летораслите. Предварително са измерени дължините на листата по нерватурата – главен и странични (cm).

plantation of Kaylashki Rubin variety. The vines were grown on two-sided trellis at planting distance 2.5/1.3 m.

The method proposed by Slavcheva (1983), that improved the one of Carbonneau (1976) was used. It could be considered as a non-destructive method for determining leaf surface (the leaves were not separated from the plant) and utilized when the dynamics of the leaf surface growth over time was monitored (Kerin et al., 2000). It was applied for constructing theoretical curves and finding regression equations for determining, as quickly and accurately as possible the leaf surface per leaf, respectively, per vine of Kaylashki Rubin variety.

For this purpose 100 leaves were selected with the most varied sizes, from different points along the shoot length. The lengths of the leaves were pre-measured along the venation – the principal vein and the lateral ones (cm).



Фиг. 1. Схема на лист
Fig. 1. Diagram of a leaf

Както се вижда от Фигура 1, това са разстоянията между основата на опашния вряз и върха на всеки един от нервите. Листата са сканирани с помощта на скенер. Използван е компютърен софтуер, като на база брой пиксели е определена листната площ (cm^2). В същото време са определени сумите от дължините на

As seen in Figure 1, these were the distances between the basal notch and the apex of each vein. The leaves were scanned. By means of software the leaf surface (cm^2) was determined based on the number of pixels. It was also found the sum of the lengths of the two top veins (ΣL_2) and the two underside lateral veins (ΣL_3).

горните два странични нерва (ΣL_2) и долните два странични нерва (ΣL_3).

Теоретичните криви са получени посредством регресионен анализ, като е използван програмния продукт Microsoft Excel.

The theoretical curves were obtained by regression analysis using the software Microsoft Excel.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

На Фигура 2, 3 и 4 са представени получените посредством нелинейна регресия (полином от втора степен) теоретични криви за избраните параметри при сорт Кайлъшки рубин – L_1, ΣL_2 и ΣL_3, където:

L_1 – дължина на централния нерв на листа;

ΣL_2 – сумата от дължините на горните два странични нерва;

ΣL_3 – сумата от дължините на долните два странични нерва.

Уравненията, с които могат да бъдат описани регресионните криви съответно са: $y_1 = 1{,}3208x^2 – 1{,}5861x + 1{,}0443$ (L_1); $y_2 = 0{,}4791x^2 – 0{,}0968x + 2{,}789$ (ΣL_2); $y_3 = 0{,}8901x^2 – 0{,}3408x + 6{,}8914$ (ΣL_3), където „y" е листната площ (в cm^2), а „x" – дължината на централния нерв; сумата от дължините на горните два странични нерва; сумата от дължините на долните два странични нерва на листа, съответно (в cm).

RESULTS AND DISCUSSION

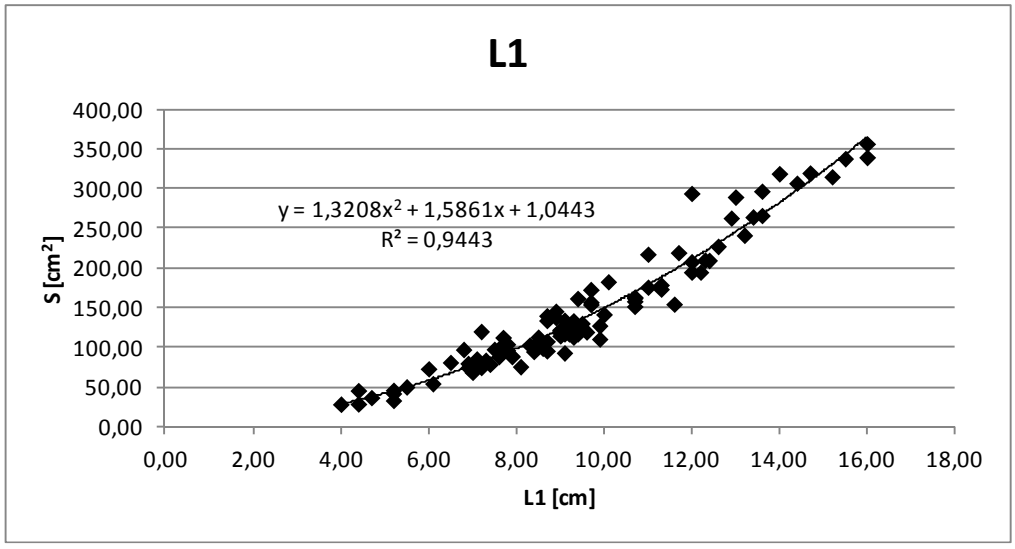
Figures 2, 3 and 4 represented the theoretical curves obtained by non-linear regression (a second order polynomial) for the selected indicators of Kaylashki Rubin variety – L_1, ΣL_2 and ΣL_3, where:

L_1 – the leaf principal vein length;

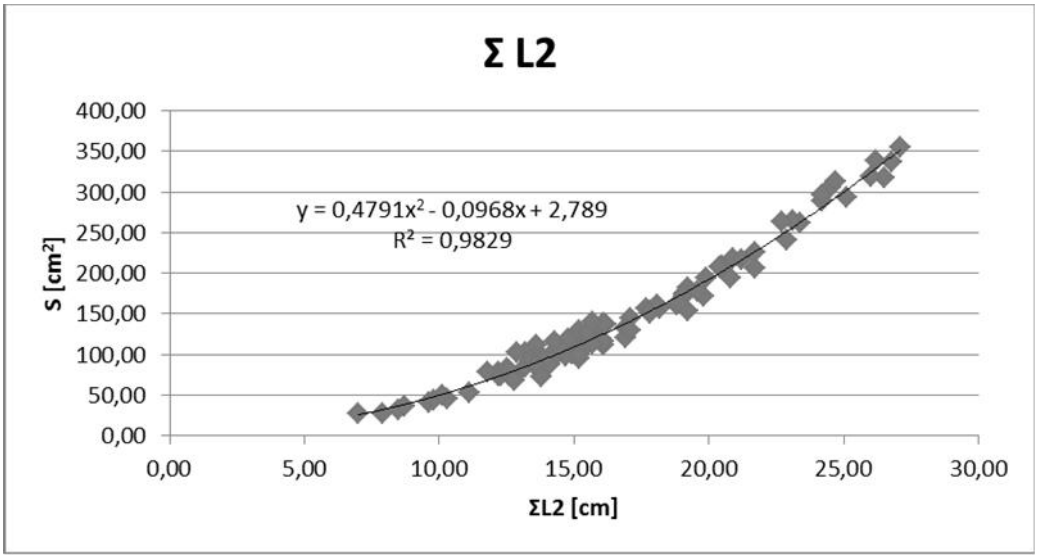
ΣL_2 – the sum of the two top lateral veins;

ΣL_3 – the sum of the two underside lateral veins;

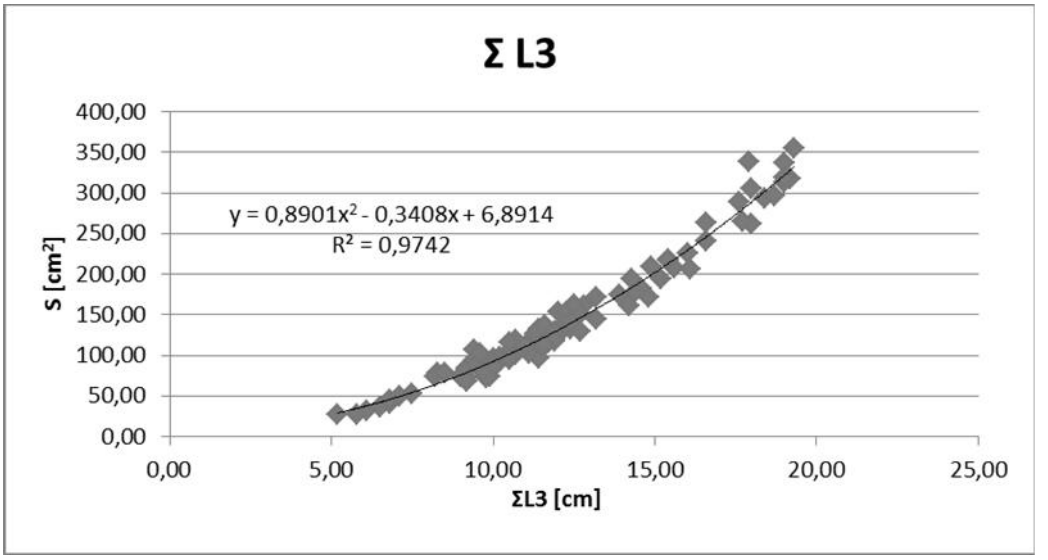
The equations describing the regression curves were respectively: $y_1 = 1.3208x^2 – 1.5861x + 1.0443$ (L_1); $y_2 = 0.4791x^2 – 0.0968x + 2.789$ (ΣL_2); $y_3 = 0.8901x^2 – 0.3408x + 6.8914$ (ΣL_3), where "y" was the leaf surface (in cm^2), "x" – the principal vein length; the sum of the two top lateral veins; the sum of the two underside lateral veins, in cm.



Фиг. 2. Теоретична крива за определяне на листна площ по L1
Fig. 2. Theoretical curve for determining leaf surface in accordance with L1



Фиг. 3. Теоретична крива за определяне на листна площ по Σ L_2
Fig. 3. Theoretical curve for determining leaf surface in accordance with Σ L_2



Фиг. 4. Теоретична крива за определяне на листна площ по Σ L_3
Fig. 4. Theoretical curve for determining leaf surface in accordance with Σ L_3

Между листната площ (S), и дължината на централния нерв (L_1), сумата на дължините на горните два (Σ L_2) или долните два (Σ L_3) странични нерва на лозовия лист, съществува нелинейна зависимост. Тъй като корелационния коефициент не може да даде

There was non-linear correlation between the leaf surface (S) and the principal vein length (L_1), the sum of the length of the two top (Σ L_2) or the two underside (Σ L_3) lateral veins of the vine leaf. Since the correlation ratio could not give an accurate picture of the existing

точна представа за съществуващите взаимоотношения между двете променливи, използвахме коефициента на определението или детерминацията (R^2) (Dimova and Marinkov, 1999). Той представлява квадратът на коефициента на корелация и дава основание да се предполага, че съществува причинна връзка между двата признака.

Стойността на коефициента на определението за параметъра L_1 е: R^2 = 0,9443, което означава, че 94,43 % от варирането на листната площ под влиянието на този параметър може да се обясни с изчислената нелинейна регресия. Отклонението от регресията (1 – R^2) е 5,57 %, което показва степента на въздействие на случайните фактори.

За параметъра Σ L_2 стойността на коефициента на определението е малко по-висока R^2 = 0,9829 или 98,29 % от варирането под влияние на дадения параметър се обяснява посредством криволинейната регресия. Отклонението от регресията е 1,71 %.

Коефициентът на детерминация за параметъра Σ L_3 е R^2 = 0,9742, следователно 97,42 % от варирането на листната площ се обяснява с регресията и 2,58 % е под влияние на случайните фактори.

Както се забелязва и при трите параметъра стойностите на коефициентите на определението са доста близки. Отклоненията от регресията и при трите параметъра са по-малки от 6 %, което показва, че методът осигурява приемлива точност.

relationship between the two variables, it was used the determination ratio (R^2) (Dimova and Marinkov, 1999). It represented the square of the correlation ratio and justified the assumption that there was a causal relation between the two signs.

The determination ratio value for the indicator L_1 was: R^2 = 0.9443, meaning that 94.43% of the variation in the leaf surface under the impact of this indicator could be explained by the calculated nonlinear regression. The deviation from the regression (1 – R^2) was 5.57 %, indicating the impact rate of the random factors.

For the indicator Σ L_2 the determination ratio value was slightly higher R^2 = 0.9829 or 98.29 % of the variation under the impact of this indicator was explained by the curvilinear regression. The deviation from the regression was 1.71 %.

The determination ratio for the indicator Σ L_3 was R^2 = 0.9742, therefore 97.42 % of the leaf surface variation was explained by the regression and 2.58 % was under the impact of random factors.

It could be observed that the determination ratio values for the three indicators were very close. The deviations from the regression for the three indicators were less than 6%, demonstrating that the method ensured reasonable accuracy.

ИЗВОДИ

1. Между листната площ (S), от една страна и дължината на централния нерв (L_1), сумата на дължините на горните два (Σ L_2) или долните два (Σ L_3) странични нерва на лозовия лист, от друга страна, съществува корелационна зависимост.

2. Отклоненията от регресията и при трите параметъра са по-малки от 6

CONCLUSIONS

1. It exists correlation between the leaf surface (S) on the one hand and the principal vein length (L_1), the sum of the lengths of the two top lateral (Σ L_2) or the two underside (Σ L_3) lateral veins of the vine leaf, on the other hand.

2. The deviations from the regression for the three indicators were

%, което показва, че методът позволява да се определи, както големината на отделни листа, така и листната повърхност на цели лози с достатъчна точност.

3. Коефициентите на определението (R^2) са много близки по стойност, което дава възможност листната повърхност да се определя с приблизително еднаква точност и чрез трите параметъра.

4. Като предимство на този метод може да се посочи, че за определяне на листната повърхност не се налага обезлистване на лозата, което се отразява вредно върху силата и продуктивните й възможности.

less than 6%, demonstrating that the method ensured the determination both of the size of the individual leaves and the leaf surface of whole vines accurately enough.

3. The determination ratios (R^2) were very close in value allowing the leaf surface to be determined with approximately equal accuracy by the three indicators.

4. The advantage of this method was that for determining the leaf surface it was not necessary defoliation of the vine, which affected adversely its strength and productive capacity.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Dimova, D. and E. Marinkov**, 1999. Experimental work and biometrics. Acad. Publ. house of HIA, Plovdiv (Bg).
2. **Ivanov, M.**, 2016. Hybridization in vine selection. Monograph, AU - Plovdiv, pp. 178 (Bg).
3. **Kerin, V., M. Berova, N. Stoeva, A. Vasilev and Z. Zlatev**, 2000. Handbook of Plant Physiology. Accad. Publ. house of HIA, Plovdiv, pp. 178 (Bg).
4. **Nikolov, G.**, 1973. Formation of photosynthetic potential of irrigated corn crop depending on different practices of the agricultural complex. *Rastenievadni nauki*, 2, 23-35 (Bg).
5. **Simeonov, I., M. Naydenov and Z. Nakov**, 2015. Newly selected table grapes and wine vine varieties and clones. IVE - Pleven, pp. 47 (Bg).
6. **Slavcheva, T.**, 1983. Theoretical curves for determining the leaf surface in some grapevine varieties (Vitis vinifera L.). *Gradinarska i Lozarska Nauka*, Sofia, XX(3), 89-91 (Bg).
7. **Stoev, K. and S. Dobreva**, 1974. The role of the leaf surface for the yield and vine quality. *Selskostopanska nauka*, No. 2, 123-127 (Bg).
8. **Carbonneau, A.**, 1976: Principes et méthodes de mesure de la surface foliaire. Essai de caractérisation des types de feuilles dans le genre *Vitis. Ann. Amél. Plantes,* 26: 327-343 (Fr).

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (5), 263-274
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Цветови параметри на сортове къпини след приложение на различни торове

Петя Иванова[1]*, Диян Георгиев[2], Теодора Михова[2], Мария Георгиева[2], Георги Попски[2]

[1]Университет по хранителни технологии, ул."В. Априлов" 154, 4000 Пловдив, България
[2] Институт по планинско животновъдство и земеделие, ул."В. Левски" 281, 5600 Троян, България
**E-mail: p.ivanova@canri.org*

Colour parameters of blackberry cultivars after application of fertilizers

Petya Ivanova[1]*, Diyan Georgiev[2], Teodora Mihova[2], Maria Georgieva[2], Georgi Popski[2]

[1]Food Research and Development Institute, 154 Vasil Aprilov Str., 4000 Plovdiv, Bulgaria
[2]Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 281 Vasil Levsky Str., 5600 Troyan, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

Проучването е проведено през 2013 г. в колекционно насаждение на Институт по планинско животновъдство и земеделие - Троян. Обект на изследването са три сорта безбодилести къпини – Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен. Проследено е влиянието на някои торове с конвенционално и биологично приложение върху цветовите параметри на свежи плодове.

Показателите са отчетени по системата CIE Lab. При измерването са взети цветовите координати L, a и b: L – яркост на цвета; +a – червен цвят; -a – зелен цвят; +b – жълт цвят; -b – син цвят.

За всички проби, жълт цветови тон е доминиращ при проби торени с Текамин брикс 0.2 %, Текамин брикс 0.3 % и контролата, докато при проба с амониева селитра цветовият показател минава към синият цветови тон.

SUMMARY

The study was conducted in 2013 in the collection plantation of the Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan. The objects of study are three cultivars of thornless blackberries - 'Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen'. The influence of some fertilizers was followed with conventional and organic application over colour parameters of fresh fruits.

The indicators were given acording to the system CIE Lab. At the measurement were taken chromaticity coordinates L, a and b: L – colour brightness; +a – red colour; -a – green colour; +b – yellow; -b – blue.

For all samples, the yellow colour tone was dominant in samples treated by 'Tekamin Brix' 0.2%, 'Tekamin Brix' 0.3% and the control, while in samples with ammonium nitrate the colour indicator got into the blue colour tone. Data are

Данните са статистически различими и начина на торене оказва влияние върху този количествен показател (p<0,05).

Ключови думи: къпини, сортове, торене, цветови параметри

statistically differentiable and the fertilization method had an influence over that quantitative indicator (p<0.05).

Key words: blackberries, cultivars, fertilizing, colour parameters

УВОД

Къпината спада към групата на ягодоплодните култури, отличаващи се с атрактивност на плодовете по вкус, аромат и богат биохимически състав (Halvorsen et al., 2002; De Souza et al., 2014; Skrovankova et al., 2015). Къпиновите плодове, включително и плодовете от редица ягодоплодни култури са привлекателни, както за консумация в прясно състояние, така и под формата на различни производи (Yoo et al., 2010; Slatnar et al., 2012). Понастоящем интересът към тях непрекъснато се увеличава и налага интродукция на нови сортове, които са с добри стопански качества и приспособими към условията на отглеждане за съответния регион (Domozetova., 2012; Stoyanova et al., 2015). Къпината е със сравнително добра пластичност на разпространение, но да реализира своя репродуктивен потенциал се нуждае от определени агротехнически мероприятия на отглеждане. Торенето е един от основните фактори с пряко въздействие върху вегетативните и репродуктивни прояви на растенията. От съществено значение е проследяване влиянието на торовете върху качествата на плодовете и респективно върху растенията.

Целта на настоящата разработка е да се проследи влиянието на торове с конвенционално и биологично приложение върху цветовите параметри на пресни плодове от три сорта без бодилести къпини Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен.

INTRODUCTION

Blackberries belong to the group of berry crops, characterized by the attractiveness of taste, aroma and rich biochemical composition of their fruits (Halvorsen et al., 2002, De Souza et al., 2014, Skrankova et al., 2015). Blackberries, including fruit from a number of berry crops, are appealing both for fresh consumption and different products (Yoo et al., 2010; Slatnar et al., 2012).

At present, the interest in them is constantly increasing and requires the introduction of new varieties that are of good economic quality and adaptable to the conditions of cultivation for the respective region (Domozetova, 2012; Stoyanova et al., 2015). Blackberries have relatively good distributional plasticity, but they need certain agro-cultivation activities to realize their reproductive potential.

Fertilization is one of the major factors with a direct impact on the vegetative and reproductive effects of plants. It is essential to observe the impact of fertilizers on the quality of the fruits and the plants respectively.

The purpose of the present study is to investigate the influence of fertilizers with conventional and biological application on the colour parameters of fresh fruit of three thornless cultivars of blackberries, such as 'Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen'.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експериментът е заложен през 2013 г. в колекционно насаждение на Институт по планинско животновъдство и земеделие - Троян. Обект на изслед-

MATERIAL AND METHODS

The experiment was set in 2013 in the Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture - Troyan. The subject of the study is three cultivars

ването са три сорта безбодилести къпини – Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен. Насаждението се поддържа със затревени междуредия и черна угар във вътрередовото пространство. Използван е Текамин брикс, тор за биологично предназначение, листен приложен двукратно в две концентрации през вегетацията. Амониева селитра, внесен еднократно в началото на вегетацията.

Опитът е заложен в следните варианти на торене:

- I - Текамин брикс (листно) - в концентрация 0.2 %;
- II - Текамин брикс (листно) - в концентрация 0.3 %;
- III - Амониева селитра в доза 0.200 kg/1 линеен метър
- IV - Контрола

Метод на изпитване

Отчетени са цветовите характеристики на пресни плодове от трите сорта къпини от вариантите в лабораторията на Институт за изследване и развитие на храните - Пловдив.

- **Определяне на цвят** по Гарднер – инструментално с лабораторен апарат "GOLORGRAD2000", на фирмата BYK-GARDNER INC. USA. Пробите къпини са смлени на лабораторен волф МРІЯ–2М с диаметър на отворите на решетката 4 mm. Пробата е деаерирана във вакуум камера при ваккум 0,85 kPa за 10 min.

Показателите са отчетени по системата CIE Lab. При измерването са взети цветовите координати L, a и b: L – яркост на цвета; +a - червен цвят; -a- зелен цвят; +b –жълт цвят – b- син цвят.

Стойността на цветния тон или доминиращата дължина на вълната е представена от съотношението a/b.

- **Статистичска обработка** на пробите е проведена от трикратни повторения, данните са представени като средни стойности и обработени с програмата ANOVA.

of thornless blackberries - 'Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen'. The planting is maintained with grassed interrow spacings and black fallow in the intra row spacing. Tekamin Brix, a foliar fertilizer with biological application was used, as it was applied twice in two concentrations during vegetation. Ammonium nitrate was introduced once at the beginning of the vegetation.

The experiment was set in the following variants of fertilization:

- I - Tekamin Brix (foliar application) - in concentration of 0.2%;
- II - Tekamin Brix (foliar application) - in concentration of 0.3%.
- III - Ammonium nitrate at a dose of 0.200 kg/l linear meter.
- IV - Control

Method of testing

The colour characteristics of fresh fruits from the three blackberry cultivars from the variants in the laboratory of Food Research and Development Institute - Plovdiv were reported.

- **The colour was determined** according to Gardner Colour Scale – using the laboratory apparatus 'GOLORGRAD2000' of BYK-GARDNER INC. USA. The blackberry samples were grounded in laboratory apparatus МРІЯ–2М with diameter of the holes of 4 mm The sample was deaerated in a vacuum chamber at vacuum of 0,85 kPa for 10 min.

The indicators were given according to the system CIE Lab. At the measurement were taken chromaticity coordinates L, a and b: L – colour brightness; + a - red colour; -a green colour; +b - yellow, -b - blue.

The value of the colour tone or the dominant wavelength is represented by the ratio a/b.

- **Statistical processing** of the samples was carried out in threefold repetitions, data are presented as average values and processed with the ANOVA program.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Данните от проведените изследвания са представени в Таблици 1, 2, 3 и 4 и Фигури 1-9.

Сортовете къпини от групата на контролните растения (Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен) по отношение на яркостта с най-висока стойност е при плодовете от сорт Дирксен. Данните са статистически различими, като сортовото разнообразие оказва влияние върху стойностите на измерения показател (p<0,05).

RESULTS AND DISCUSSION

The data from the conducted tests are presented in Tables 1, 2, 3 and 4 and Figures 1-9.

The highest value in terms of brightness is found in fruit of 'Dirksen' cultivar from the group of control blackberry plants ('Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen'). Data are statistically distinct, with cultivar diversity influencing the measured value (p<0.05).

Таблица 1. Цветови характеристики на пресни плодове (контроли) от сортовете Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен
Table 1. Colour characteristics of fresh fruit (controls) of 'Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen' cultivars

Сортове къпини / Blackberry cultivars	L	a	b	a/b
Хул Торнлес / Hull Thornless	10,36±0,32	1,65	0,16±0,03	10,31
Блек Сатин / Black Satin	3,79±0,53	9,97±0,06	1,2±0,32	8,3
Дирксен / Dirksen	12,48	9,21	4,57	2,01

Червеният и жълт цвят са с най-ниски стойности при сорт Хул Торнлес в сравнение с останалите две проби (p< 0,05). При червеният компонент на цвета за другите два сорта Блек Сатин и Дирксен, данните са статистически неразличими и сортовото различие не оказва влияние върху измерения показател (p>0,05).

За измерения жълт цветови тон с най-висока статистически различима стойност са плодовете от сорт Дирксен (p< 0,05).

Качественият показател цветен тон е с най-висока стойност при плодовете от сорт Хул Торнлес.

При проведените експерименти на сортовете къпини с третиране на 0,2% Текамин брикс се установява, че начина на торене оказва влияние върху цветовите характеристики, като яркостта се увеличава при всички сортове и е с най-висока стойността при Блек Сатин (p<0,05).

The red and yellow colours have the lowest values in 'Hull Thornless' cultivar compared to the other two samples (p <0.05). In the red colour component for the other two cultivars of 'Black Satin' and 'Dirksen', data are statistically indistinguishable and cultivar difference does not affect the measured indicator (p>0.05).

The highest statistically significant value for the measured yellow colour tone is found in fruit of 'Dirksen' cultivar (p<0.05).

The quality indicator of colour tone has the highest value in fruit of 'Hull Thornless' cultivar.

In the experiments on blackberry cultivars treated with 0.2% of Tekamin Brix, it was found that fertilization manner had an effect on colour characteristics, as the brightness of all cultivars had increased and the highest value was found in 'Black Satin' (p<0.05).

Таблица 2. Цветови характеристики на пресни плодове от сортовете Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен торени с Текамин брикс (листно) – в концентрация 0.2 %

Table 2. Colour characteristics of fresh fruit of 'Hull Thornless, 'Black Satin' and 'Dirksen' fertilized by 'Tekamin Brix" (foliar application) – at a concentration of 0.2%

Сортове къпини / Blackberry cultivars	L	a	b	a/b
Хул Торнлес / Hull Thornless	7,62±0,44	8,74±0,49	0,92±0,12	9,60
Блек Сатин / Black Satin	16,33±2,32	9,31±1,32	1,17±0,15	7,96
Дирксен / Dirksen	8,14±1,79	12,77±2,53	1,83±0,31	6,75

При показател червен цветови тон, тора Текамин брикс с тази концентрация, влияе върху плодовете от сортовете Дирксен и Хул Торнлес, като увеличава количествената му стойност в сравнение с контролите ($p<0,05$). С най-висока стойност е червения цветови тон при плодове от сорт Дирксен.

При показател жълт цветови тон препарата Текамин брикс 0,2 % действа, като увеличава количествено стойността при плодовете от сортовете Хул Торнлес и намалява при плодовете от сорт Блек Сатин и Дирксен в сравнение с контро-лите ($p<0,05$).

С най-висока качествена оценка на цвета е сорт Хул Торнлес.

При проведените експерименти на сортовете къпини с третиране на 0,3% Текамин брикс се установява, че начина на торене оказва влияние върху цветовите характеристики, като яркостта се увеличава при сорт Блек Сатин и намалява при останалите два изследвани сорта в сравнение с контролите ($p<0,05$).

According red colour tone indicator, the fertilizer 'Tekamin Brix' with this concentration affects the fruits of 'Dirksen' and 'Hull Thornless' cultivars, as it increases its quantitative value compared to the controls ($p<0.05$). The red colour tone has the highest value for fruits of 'Dirksen' cultivar.

For the indicator of yellow colour tone, 'Tekamin Brix' with a concentration of 0.2% acts by increasing the amount of the value in fruit of 'Hull Thornless' and decreasing it in fruits of 'Black Satin' and 'Dirksen' compared to the controls ($p<0.05$).

The highest quality evaluation of the colour has 'Hull Thornless' cultivar.

In the experimental experiments of the varieties of blackberries treated with 0.3% tecamine briquite it was found that the fertilization effect had an effect on the color characteristics, the brightness increased in the Black Satin variety and decreased with the other two tested varieties compared to the controls ($p<0.05$).

Таблица 3. Цветови характеристики на пресни плодове от сортовете Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен обработени с Текамин брикс (листно)-в концентрация 0.3 %

Table 3. Colour characteristics of fresh fruit of 'Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen' treated with 'Tekamin Brix' (foliar application) at a concentration of 0.3%

Сортове къпини / Blackberry cultivars	L	a	b	a/b
Хул Торнлес / Hull Thornless	10,11±0,56	2,86±0,46	0,08±0,13	35,75
Блек Сатин / Black Satin	11,13±1,08	9,93±0,83	2,67±0,73	3,71
Дирксен / Dirksen	5,19±0,30	7,3±0,40	-0,25±0,13	28,85

При измерения червен цветови тон, тора Текамин брикс с концентрация 0,3%, влияе като увеличава количествената стойност върху всички изследвани сортове плодове ($p<0,05$). С

In the measurement of red colour tone, the fertilizer 'Tekamin Brix' with a concentration of 0.3%, influences by increasing the quantitative value on all fruit cultivars studied here ($p<0.05$). The

най-висока стойност е червения цветови тон при плодове от сорт Блек Сатин.

При измерения жълт цветови тон, тора Текамин брикс 0,3 % действа, като увеличава количествено стойността при плодовете от сортовете Блек Сатин и намалява при плодовете от сорт Хул Торнлес в сравнение с контролата ($p<0,05$).

При плодовете от сорт Дирксен третирането с Текамин брикс 0,3 % влияе в най-висока степен, тъй като жълтия компонент на цвета преминава към син компонент на цвета.

С най-висока качествена оценка на цвета при прилагането на Текамин брикс 0,3 % върху изследваните сортове е сорт Хул Торнлес.

При проведения експеримент на торене с амониева селитра, цветовият показател яркост се увеличава при плодовете от сортовете Хул Торнлес и Блек Сатин и намалява при плодовете от сорт Дирксен в сравнение с контролите. Данните са статистически различими, като начина на третиране с тора и подбраната концентрация, оказва влияние при измерения показател ($p<0,05$).

red colour tone has the highest value in 'Black Satin'.

In the measurement of yellow colour tone, 'Tekamin Brix' with a concentration of 0.3% acts as it quantitatively increases the value of 'Black Satin' fruits and decreases it in 'Hull Thornless' as compared to the control ($p<0.05$).

In fruit of 'Dirksen', the treatment with 'Tekamin Brix' 0.3% is most effective as the yellow component of the colour changes to a blue colour component.

'Hull Thornless' cultivar has the highest quality evaluation of colour in the application of 'Tekamin Brix' 0.3%.

As a result of fertilizing with ammonium nitrate, the colour brightness indicator increases in fruits of 'Hull Thornless' and 'Black Satin', and decreases in 'Dirksen' cultivar compared to the controls. Data are statistically identifiable, as the fertilizer treatment and the selected concentration, have an impact on the measured parameter ($p<0.05$).

Таблица 4. Цветови характеристики на пресни плодове от сортовете Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен обработени с амониева селитра
Table 4. Colour characteristics of fresh fruit of 'Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen' treated with ammonium nitrate

Сортове къпини / Blackberry cultivars	L	a	b	a/b
Хул Торнлес / Hull Thornless	10,6±0,32	2,01±0,61	-0,93±0,11	2,16
Блек Сатин / Black Satin	6,91±2,91	7,23±1,34	-0,16±0,15	45,19
Дирксен / Dirksen	8,94±0,61	7,88±0,36	1,24±0,32	6,35

По отношение на червения компонент на цвета само при плодовете на сорт Хул Торнлес се увеличава количествената стойност, при останалите два сорта Блек сатин и Дирксен, стойността намалява в сравнение с контролите ($p<0,05$).

Жълтият цветови тон намалява след третирането на плодовете с амониева селитра при сорт Дирксен в сравнение с контролата, а при останалите два сорта Хул Торнлес и Блек

In the case of red colour component, the quantitative value is increased only in fruits of 'Hull Thornless' cultivar, as for the other two cultivars of 'Black Satin' and 'Dirksen', the value decreases compared to the controls ($p<0.05$).

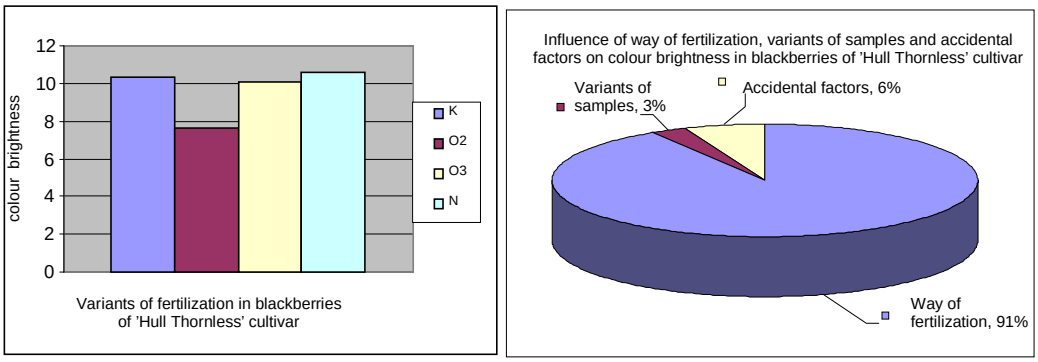
The yellow colour tone in fruit decreases after the treatment with ammonium nitrate of 'Dirksen' cultivar compared to the control, and for the other two cultivars, such as 'Hull Thornless' and

Сатин преминава към син цветови тон. Начина на третиране с приложената концентрация на препарата, оказва съществено влияние на измерените стойности при този показател (p<0,05).

Цветния тон при проведения експеримент е с най-висока стойност при плодовете от сорт Блек Сатин.

'Black Satin' it converts into blue colour tone. The manner of treatment with the applied concentration of the solution has a significant influence on the measured values for this parameter (p<0.05).

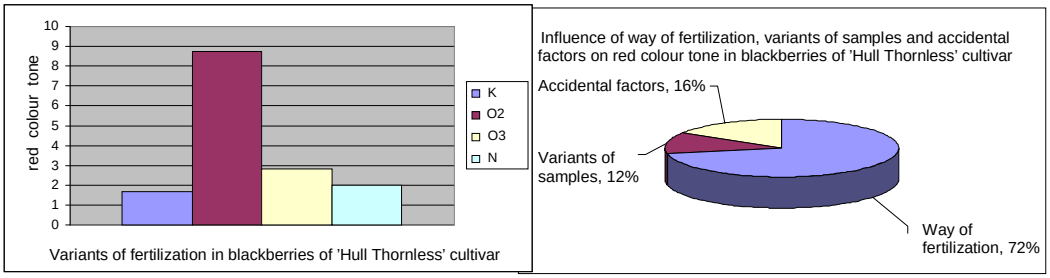
'Black Satin' fruit has the highest value of the colour tone in the experiment.



Фиг. 1. Яркост на цвета на къпини от сорт Хул Торнлес третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig.1. Colour brightness in blackberries of 'Hull Thornless' cultivar treated by fertilizers with conventional and biological application

По отношение на яркостта на цвета на изследваните варианти на плодове от сорт Хул Торнлес, с най-голям процент влияние върху измерените стойности оказва начина на третиране с торове 91%, следван от случайните фактори 6% и подбраните варианти на експеримента 3%. С най-ниска стойност на яркостта на цвета е измерена при плодове третирани с Текамин брикс 0,2%.

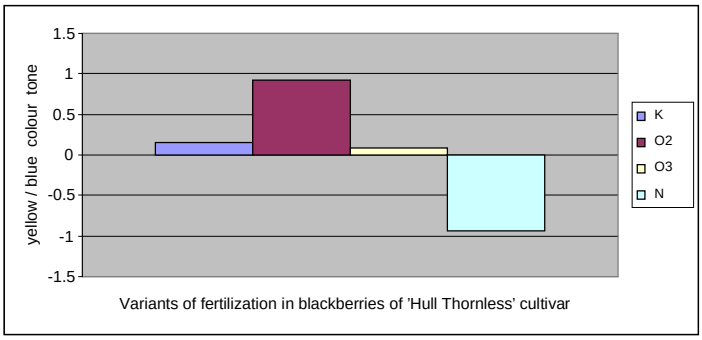
With regard to the colour brightness in the studied variants of 'Hull Thornless', the highest percentage impact on the measured values shows the way of treatment with fertilizers 91%, followed by the random factors 6% and the selected variants of the experiment 3%. The lowest colour brightness value was measured for fruit treated with 'Tekamin Brix' 0.2%.



Фиг. 2. Червен цветови тон на къпини от сорт Хул Торнлес третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig. 2 Red colour tone in 'Hull Thornless' cultivar, treated with fertilizers of conventional and biological application

Червеният цветови тон е с най-висока стойност при плодове третирани с Текамин брикс 0,2% в сравнение с контролата и останалите подбрани варианти. С най-висок процент върху измерените стойности оказва начина на торене 72%, следван от случайните фактори 16% и подбраните варианти на експеримента 12%.

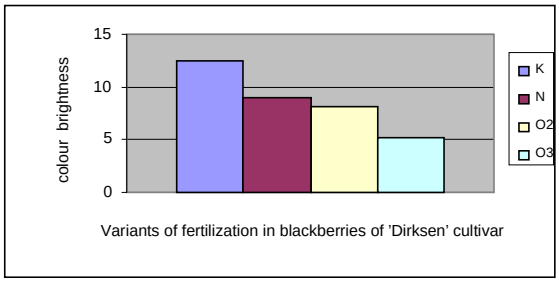
Red colour tone has the highest value for fruit treated with Tekamin Brix 0.2% compared to the control and the other selected variants. The highest percentage on the measured values shows the fertilization method 72%, followed by the random factors 16% and the selected variants of the experiment 12%.

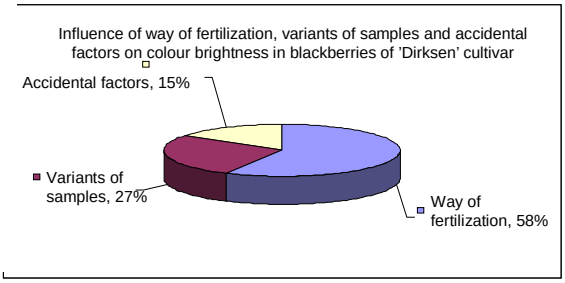


Фиг. 3. Жълт/син цветови тон на къпини от сорт Хул Торнлес третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig. 3. Yellow/blue colour tone in 'Hull Thornless' cultivar treated with fertilizers of conventional and biological application

Жълтият цветови тон е с най-висока стойност при къпини третирани с Текамин брикс 0,2% в сравнение с контролата и останалите подбрани варианти. Третирането с амониева селитра оказва съществено влияние върху измерения показател на плодовете, тъй като променят цвета си към син цветови тон.

The yellow colour tone has the highest value in blackberries treated with Tekamine brix 0.2% compared to the control and the other selected variants. Ammonium nitrate treatment has a significant impact on the measured indicator of fruit as it changes its colour to a blue colour tone.

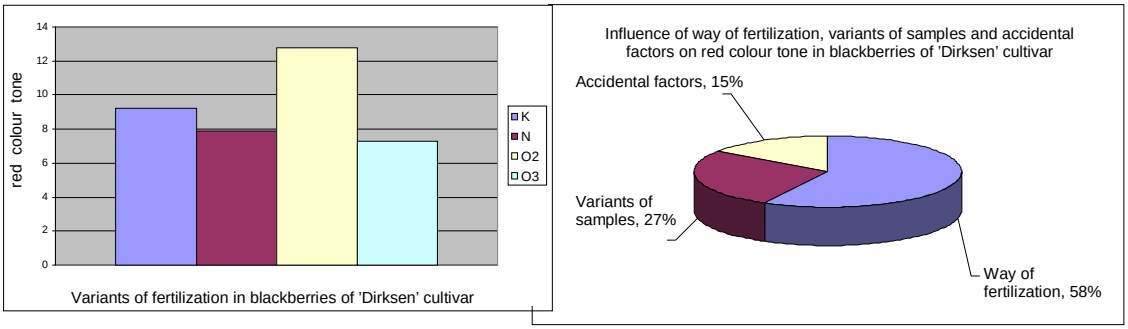




Фиг. 4. Яркост на цвета на къпини от сорт Диркссен третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig. 4. Colour brightness in 'Dirksen' cultivar treated with fertilizers with conventional and biological application

Яркостта на цвета на плодовете при сорт Дирксен намалява при всички подбрани варианти в сравнение с контролата, като най-висок процент на влияние оказва вариантите на торене 58%, следван от подбраната суровина 27% и случайните фактори.

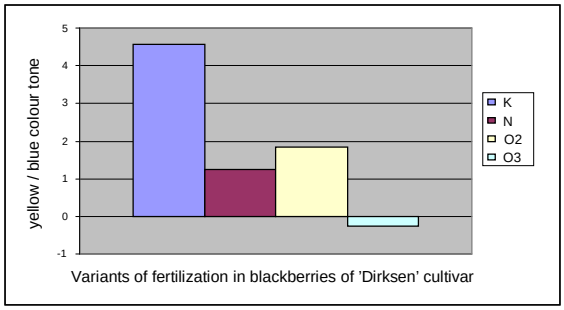
The brightness of fruit colour in 'Dirksen' decreases in all selected variants compared to the control, as the highest percentage of influence being the fertilization variants of 58%, followed by the selected raw material 27% and the random factors.



Фиг. 5. Червен цветен тон на къпини от сорт Дирксен третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig. 5. Red colour tone of 'Dirksen' cultivar treated with fertilizers of conventional and biological application

За подбраните варианти на третиране на плодовете от този сорт, само при плодове третирани с Текамин брикс 0,2% количествената стойност на червения цвят се увеличава спрямо контролата и останалите подбрани варианти. Начина на торене оказва най-висок процент на влияние върху измерените стойности при този показател, следван от подбраните варианти и случайните фактори.

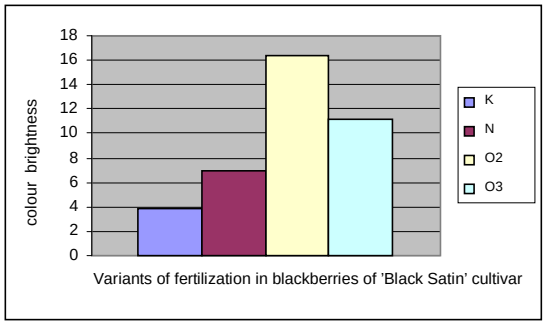
For selected variants of treatment of fruit of this cultivar, only in fruit treated with Tekamine brix 0.2%, the red colour value increases relative to the control and the other selected variants. The fertilization method has the highest percent influence on the measured values for this indicator, followed by the selected variants and the random factors.



Фиг. 6. Жълт/син цветови тон на къпини от сорт Дирксен третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig. 6. Yellow/blue colour tone of 'Dirksen' blackberry cultivar treated with fertilizers with conventional and biological application

За подбраните варианти на торене жълтият компонент на цвета намалява в сравнение с контролата, а при плодове третирани с Текамин брикс 0,3% цветовият тон преминава към синия цвят.

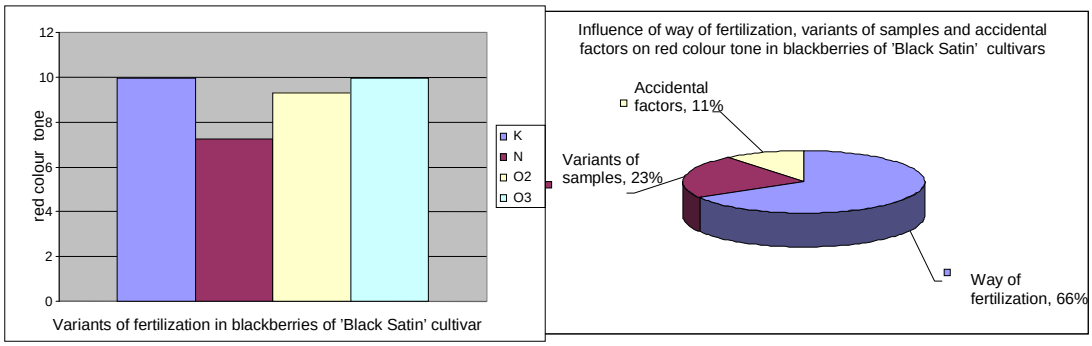
For selected fertilization variants, the yellow colour component decreases compared to the control, and for fruit treated with Tekamine Brix 0.3%, the colour tone changes to blue colour.



Фиг. 7. Яркост на цвета на къпини от сорт Блек Сатин третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig. 7. Colour brightness of 'Black Satin' cultivar treated with fertilizers with conventioal and biological application

За всички подбрани варианти на експеримента при този сорт, яркостта на цвета се увеличава в следствие на приложените концентрации и подбор на торове в сравнение с контролата. С най-висока стойност при този показател са плодовете третирани с Текамин брикс 0,2%.

For all the selected variants of the experiment for this cultivar, the colour brightness increases as a result of applied concentrations and fertilizer selection compared to the control. Fruit treated with Tekamine brix 0.2% has the highest value for this indicator.



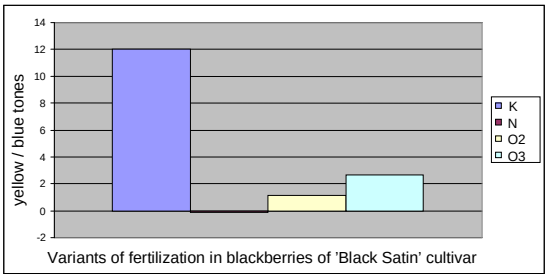
Фиг. 8. Червен цветови тон на къпини от сорт Блек Сатин третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig. 8. Red colour tone of 'Black Satin' cultivars treated with fertilizers with conventional and biological application

Стойността на червения цвят намалява при плодове третирани с

The value of the red colour decreases in fruit treated with ammonium

амониева селитра в сравнение с контролата и останалите два варианта. Влияние върху измерените стойности оказват в низходящ ред – начина на торене, следван от подбраните варианти и случайните фактори.

nitrate compared to the control and the other two variants. The manner of fertilization has an impact on the measured values, followed by the selected variants and the random factors in descending order.



Фиг. 9. Жълт/син цветови тон на къпини от сорт Блек Сатин третирани с торове с конвенционално и биологично приложение
Fig. 9. Yellow/blue tones of 'Black Satin' blackberry cultivars treated with fertilizers of conventional and biological application

Плодовете третирани с препарат Текамин брикс в концентрации 0,2% и 0,3% намаляват стойностите на жълтия цветови тон, а плодовете третирани с амониева селитра променят цвета към синия цветови тон.

Fruits treated with Tekamin Brix in concentrations of 0.2% and 0.3% reduce the values of the yellow colour tone, and the fruits treated with ammonium nitrate change the colour towards the blue colour tone.

ИЗВОДИ

Проследено е влиянието на някои торове с конвенционално и биологично приложение върху цветовите параметри на пресни плодове от три сорта без бодилести къпини – Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен.

Установи се, че плодовете от сортовете Дирксен и Хул Торнлес торени с Текамин брикс 0,2% увеличават количествената си стойност при показатели яркост на цвета, червен цветови тон и жълт цветови тон в сравнение с контролата.

За плодовете от сортовете Хул Торнлес и Блек Сатин торени с амониева селитра, жълтият компонент на цвета преминава към син цветови тон в сравнение с контролата.

С най-висока качествена оценка на цвета за всички сортове къпини са плодовете от сорт Хул Торнлес,

CONCLUSIONS

The influence of some fertilizers with conventional and biological application on the colour parameters of fresh fruit of three cultivars of thornless blackberries was observed, such as 'Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen'.

It was found that fruits of 'Dirksen' and 'Hull Thornless' that were fertilized with 0.2% Tekamin Brix increased their quantitative value in terms of colour brightness, red colour and yellow colour compared to the control.

For fruits of 'Hull Thornless' and 'Black Satin' that were fertilized with ammonium nitrate, the yellow component of the colour changes to blue colour tone compared to the control.

Fruits of 'Hull Thornless' have the highest quality grade for all cultivars of blackberries, treated with 0.2% Tekamin

третирани с Текамин брикс 0,2% и 0,3% в сравенение с контролата.

За всички изследвани цветови показатели на сортовете къпини Хул Торнлес, Блек Сатин и Дирксен начинът на торене оказва влияние върху измерените стойности.

Brix and 0.3% in comparison with the control.

The fertilization method has an impact on the measured values for all studied colour indicators in 'Hull Thornless', 'Black Satin' and 'Dirksen'.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **De Souza, V.R., P.A. Pereira, T.L. da Silva, L.C. de Oliveira Lima, R. Pio and F. Queiroz**, 2014. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chem, 156*, 362-368.
2. **Domozetova, D.**, 2012. State and perspectives of raspberry production in Bulgaria, *AgroLife Scientific Journal*, vol. 1, 97-102.
3. **Halvorsen, B.L., K. Holte, M.C. Myhrstad, I. Barikmo, E. Hvattum, S.F. Remberg, A.B. Wold, K. Haffner, H. Baugerød, L.F. Andersen et al.**, 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr.,* 132:461–471.
4. **Skrovankova, S., D. Sumczynski, J. Mlcek, T. Jurikova and J. Sochor**, 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 24673-24706; doi:10.3390/ijms161024673
5. **Slatnar, A., J. Jakopic, F. Stampar, R. Veberic and P. Jamnik**, 2012. The effect of bioactive compounds on *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity of different berry juices. *PLoS ONE,* 7(10).
6. **Stoyanova, N., V Antonova and D. Serbezova**, 2015. A study of introduced black currant varieties. *Plant Science*, LII (2), 25-28 (Bg).
7. **Yoo, Y., A.J. Saliba and P.D. Prenzler**, 2010. Should red wine be considered a functional food? *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 9: 530-551.
doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00125.x.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (5), 275-282
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Поливен режим на ябълка при капково напояване

Румяна Кирева, Евлоги Марков*, Весела Петрова-Браничева

Институт по почвознание, агротехнологии и защита на растенията „Н. Пушкаров", Шосе Банкя 7, 1331 София, България
**E-mail: evlogi2005@abv.bg*

Irrigation scheduling of apple in drip irrigation

Rumyana Kireva, Evlogi Markov*, Vesela Petrova-Branicheva

Institute of soil science, agricultural technology and plant protection "N. Pushkarov", 7 Shose Bankya Str., 1331 Sofia, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

За установяване на поливния режим на ябълки отглеждани при почвено-метеорологичните условия на Софийски район през периода 2001-2005 г. беше проведено изследване при капково напояване. Изпитани са различни режими на напояване – от пълно задоволяване на ежедневните потребности на културата от вода до напояване с редуцирани с 20% и 40% поливни норми.

Установени са поливните режими на ябълки – брой поливки, поливни норми, напоителни норми и добивите на ябълки за района на Софийското поле.

Най-високи добиви са получени при напояване със 100% поливна норма – 2087 kg/da. Намалението на напоителната норма с 20% води до незначително намаляване на добивите с 7%. Този поливен режим може да бъде приложен в условия на воден дефицит.

Ключови думи: ябълки сорт „Флорина", капково напояване, отглеждане на ябълки, продуктивно напояване

SUMMARY

Establishing irrigation scheduling of apples grown in soil and weather conditions of the Sofia region in the period 2001-2005 research with drip irrigation was conducted. Different regimes of watering to full satisfaction of daily needs of the culture of water to irrigation reduced by 20% and 40% irrigation norms were tested.

Established irrigation schedulings of apples – number irrigations, irrigations depths, irrigation rate and yields of apples of the Sofia plant.

The highest yields are obtained at 100% irrigation rate – 2087 kg/da. The reduced irrigation depths with 20% resulted in rather small drops in yields by 7%. This irrigation scheduling can be applied in conditions of water deficit.

Key words: apple, variety "Florina", drip irrigation, apple crop, productivity irrigation.

УВОД

Ябълката заема първо място у нас по площ и производство на плодове в сравнение с останалите овощни култури. Стопанската и икономическата ефективност на ябълковото производство при

INTRODUCTION

Apple ranks first in the country in area and fruit production compared to other fruit crops. Agricultural and economic efficiency of apple production in our climatic conditions largely be

нашите климатични условия, в значителна степен се определя от прилагането на рационални поливни режими и подходяща техника за напояване.

Микро напояването се явява един от най-перспективните начини за напояване на овощни култури, главно поради голямата икономия на вода и възможностите за пълна автоматизация на поливния процес.

Наред с всички предимства на капковото напояване във физиологичен и технологичен план, най-същественото от които е получаването на биологически оптимален добив с високо качество на плодовете при значителна икономия на вода в сравнение с традиционните начини на напояване (Dochev, 1983), той предлага и най-добри предпоставки за прилагане на т.нар. нарушен поливен режим, чрез намаляване размера на поливните норми (Lazarov and Mehandzhieva, 1982).

Посочените в литературата оптимални поливни и напоителни норми се движат в широки граници (Dochev, 1983) поради зависимостта на тези параметри от почвено-климатичните условия, възрастовия период, вегетативното развитие на дърветата, прилаганата технология на отглеждане (Keeler and Karmelli, 1980).

Изследванията у нас върху поливния режим на ябълка в плододаващо палметно насаждение в района на гр. Пловдив показват, че напоителните норми при капково напояване варират от 140 mm до 300,0 mm (Dochev and Gospodinova, 1987).

Doychev (1994) посочва, че интензивни ябълкови насаждения, напоявани чрез капкуване трябва да се създават от високодобивни и с качествени плодове сортове. Той препоръчва подложката ММ 106 и да се прилага поливен режим с поливна норма на 100% ЕТ, а при недостиг на вода, редуцирана до 60% ЕТ.

Прилагането на този метод на напояване при отглеждането на ябълка, която е с голямо стопанско значение, изисква детайлно установяване параметрите на поливния режим при конкртни

determined by application of rational irrigation regimes and appropriate irrigation techniques.

Microirrigation is one of the most perspective ways for irrigation of fruit crops, mainly due to big water savings and opportunities for full automation of the irrigation process.

Along with all the advantages of drip irrigation in physiological and technological plan, the most significant of which is the preparation of a biologically optimum yield of high quality of the fruits with a considerable saving of water compared to traditional methods of irrigation (Dochev, 1983), it provided best prerequisites for the implementation of the so-called broken irrigation regime by reducing the amount of irrigation norms (Lazarov and Mehandzhieva, 1982).

Referred to in the literature optimal irrigation and irrigation rates vary within a wide range (Dochev, 1983) due to the dependence of these parameters from the soil and climatic conditions, the age period, the vegetative growth of the trees, the applied technology of growing (Keeler and Karmelli, 1980).

Studies in Bulgaria on irrigation regime of apple fruit-bearing palmetto plantation near the town. Plovdiv indicate that irrigation with drip irrigation rates ranging from 140 mm to 300,0 mm (Dochev and Gospodinova, 1987).

Doychev (1994) states that intensive apple trees irrigated by dropwise manner must be created by high-yielding and high-quality fruit varieties. It recommends the rootstock MM 106 and applied irrigation regime with irrigation rate of 100% ET, and low water, reduced to 60% of ET.

Applying this method of irrigation at growing apples, which has great economic importance, requires detailed parameters, establishment of irrigation regime in particular conditions in the

условия у нас.

Целта на разработката е да се установят основните параметри на поливния режим на ябълки, отглеждани при капково напояване.

country.

The aim of the study is to establish the basic parameters of the irrigation regime of apples grown under drip irrigation.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията за установяване на поливния режим на плододаващи ябълки сорт «Флорина» върху подложка ММ 106 при капково напояване са проведени на опитно поле Челопечене, през периода 2001-2005г.

Изпитани са следните варианти:

1. Неполивен вариант;
2. Напояване с поливна норма 100% m;
3. Напояване с поливна норма 80% m;
4. Напояване с поливна норма 60% m.

Дърветата са засадени на 4,5 m междуредово разстояние и 2,5 m вътредово разстояние или 125 дръвчета на един декар.

Напояването се извърши, чрез повърхностно капкуване с капкообразуватели КП - 4,6, перфориран шлаух през 0,60 m.

Всеки ред от овощната градина, състоящ се от 30 дръвчета представлява вариант в четири повторения от по шест дръвчета в повторение, с площ на всяко повторение от 67,5 m^2 (2,5 m x 4,5 m = 11,25 m^2 площ на едно дърво).

Почвата е излужена канелена горска, леко песъчливо глинеста в орния слой, формирана върху основата на стар делувиален конус от наносни материали. Тя е слабо запасена с азот, средно с фосфор и добре с калий. Средно за слоя 0-60 cm почвата има следните водно-физични свойства: ППВ = 22,1%, влажност на завяхване – 12,3% спрямо теглото на абсолютно сухата почва, обемно тегло при ППВ – 1,47 g/cm^3. За почвения слой 0-100 cm същите показатели имат стойности: ППВ – 21,8%, влажност на завяхване – 12,3% и обемно тегло – 1,50 cm^3.

Почвата е подходяща за отглеждане на ябълки.

MATERIAL AND METHODS

The studies for the establishment of the irrigation system of fruit-bearing apple variety "Florina" on a rootstock MM 106 in drip irrigation were carried out on an experimental field Chelopechene, during the period 2001-2005.

The following options were tested:

1. Irrigated option;
2. Irrigation with irrigation rate of 100% m;
3. Irrigation with irrigation rate 80% m;
4 Impregnation with irrigation rate 60% m.

The trees were planted approximately 4,5 m spacing and 2,5 m interrow distance or 125 trees per da.

Irrigation is done by superficially dropwise manner with drippers CP - 4.6, a perforated tube through 0,60 m.

Each row of the orchard, consisting of 30 trees represents a variant in four replicates of six trees in the repeat area of each repetition of 67,5 m^2 (2,5 m x 4,5 m = 11,25 m^2 area of a tree).

The soil was leached cinnamon forest, slightly sandy loam in the plow layer, formed on a substrate of an old talus cone of alluvial material. It is poorly stocked with nitrogen, an average of phosphorous, and potassium. On average in layers 0-60 cm soil has the following water-physical properties: PPW = 22.1%, humidity reduction – 12.3% by weight of absolutely dry soil, a bulk density in PPW – 1,47 g/cm^3. For soil layer 0-100 cm same parameters have the values: PPW – 21.8%, humidity reduction – 12.3% and bulk density – 1,50 cm^3.

The soil is suitable for growing apples.

Метеорологични условия, при които са изведени опитите

Изследванията върху поливните норми, съобразени с водно-физичната характеристика на почвения тип и метеорологичните условия през отделните години, създават възможност да се установи такъв размер на поливките, при който най-пълно се задоволяват биологичните потребности на културите без да се допускат големи загуби на вода.

Weather conditions under which the experiments were conducted

Research on irrigation norms suited to water physical properties of soil type and weather conditions over the years, make it possible to establish such an amount of irrigations in which most fully to meet the biological needs of crops without allowing large water losses.

Таблица 1. Валежи през вегетационния период на ябълките
Table 1. Rainfall during apples vegetation period

Периоди / Periods	Сума на валежите / Total rainfall, (mm)				
Години / Years	2001	2002	2003	2004	2005
м. IV - IX	358	418	329	258	765
м. VII - VIII	75	158	104	73	400

През опитните години обезпечеността на сумите на валежите в 5 годишна поредица характеризират вегетационния период на развитието на културата (април-септември) като средни – 2001г., 2002г., и 2003г., една влажна – 2005г. и една – 2004г. много суха, като 2002г е суха по отношение на валежите за периода VII-VIII, когато културата е най-взискателна към почвена влага. Най-малко валежи са паднали през 2004 г. (258 mm), а най-много през 2005г. (765 mm), а през останалите три години валежите са от 329 до 418 mm за периода IV-IX (Таблица 1). Падналите валежи през вегетацията на културата са неравномерно разпределени, което е довело до реализиране на поливки и през опитни години.

Over the years of experiments the rainfall availability in a sequence of 5 years a series characterize the vegetation period of development of culture (April-September) as average – 2001, 2002 and 2003, a damp – 2005 and one – 2004 very dry, as dry 2002 in terms of rainfall for the period VII-VIII, during which culture is the most demanding on the soil moisture. At least rainfall fell in 2004 (258 mm), and most in 2005. (765 mm), while in the remaining three years rainfall of 329 to 418 mm for the period IV-IX (Table 1). Precipitation in the vegetation of culture unevenly distributed, which led to the realization of irrigation in the years of experiments.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Получените резултати от петгодишните изследвания показват, че броят на поливките и размерът на напоителните норми се обуславят от метеорологическите условия (валежи) през отделните години.

Броят на поливките по години варира от 14 до 20 броя, а размерът на напоителната норма от 190 до 360 mm.

Средно за периода на изследванията (Таблица 2) през вегетационния

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the five studies show that the number of irrigations and the amount of irrigation norms are determined by weather conditions (rainfall) over the years.

The number of irrigations per year ranged from 14 to 20, and the amount of irrigation norm of 190 to 360 mm.

On average over the study period (Table 2) during the vegetation period of

период на ябълките са подадени 17 броя поливки със средна поливна норма 19 mm и напоителна норма 323 mm, като най-голям брой поливки са реализирани през сухата година (2004), където броят на поливките достига 20, а размерът на напоителната норма 360 mm.

apples 17 irrigations were performed medium irrigation rate 19 mm and 323 mm irrigation rate, the largest number of irrigations were realized in the dry year (2004), where the number of irrigations reached 20, and the amount of irrigation of 360 mm.

Таблица 2. Поливен режим на ябълки при капково напояване
Table 2. Irrigation scheduling of apple drip irrigation

Години/Years	2001		2002		2003		2004		2005		Средно / Average 2001-2005		
Вариант Variant	Бр. полив. Num. irrigaions	Пол. норма Irrigation rate mm	Бр. полив. Num. irrigaions	Пол. норма Irrigation rate mm	Бр. полив. Num. irrigaions	Пол. норма Irrigation rate mm	Бр. полив. Num. irrigaions	Пол. норма Irrigation rate mm	Бр. полив. Num. irrigaions	Пол. норма Irrigation rate mm	Бр. полив. Num. irrigaions	Пол. норма Irrigation rate mm	Нап. нор. Irrigation rate total (mm)
Неполивен Noirrigation	0	-	0		0	-	0	-	0	-	0	-	-
100%M.	17	20	15	19	18	19	20	18	14	17	17	19	323
80%M	17	16	15	15	18	15	20	14	14	15	17	15	255
60%M	17	13	15	12	18	13	20	12	14	13	17	12	204

Поливните норми са реализирани за периода от началото на май до края на септември. Междуполивните периоди през вегетацията на културата са различни и са в зависимост от количеството и разпределението на валежите, както и от фазите на развитието на културата. Установено е, че изискванията на ябълките към влагата в почвата са по-големи в началото на цъфтеж, плодообразувне до прибирането на плодовете, поради което влагата в почвата през този период е необходимо да се поддържа 80-85 % от ППВ. В началото на вегетацията на културата, както и към края поливките се реализират през 14-15 дни, а в периода на активна вегетация, цъфтеж и плодообразуване през 5-6 дни (Таблица 2).

Irrigation norms were implemented for the period from early May to late September. Irrigation vegetation periods in culture are different and depend on the amount and distribution of rainfall, and the phases of development of culture. It was found that the requirements of apples to moisture in the soil are larger at the beginning of flowering, fruit formation to harvest the fruit, so that moisture in the soil during this period is necessary to maintain 80-85% of PPW. At the beginning of vegetation of culture, and at the end the irrigations are implemented in 14-15 days and during the active growing season, flowering and fruit formation in 5-6 days (Table 2).

Получените резултати за добива от ябълки през различните във влажностно отношение години показват влиянието на капковото напояване върху неговия размер. Най-голямо увеличение на добива е получено през 2004 г и 2002 г. (сухи), което е със 55%-60% повече, спрямо неполивния вариант (Таблица 3). Най-малко увеличение с 667 kg/da (25%) е получено през влажната 2005 г., като средно за петте изследвани години увеличението на добива е с 821 kg/da, спрямо неполивния вариант.

The results yield of apples in different humidity in respect of years demonstrate the influence of drip irrigation on its size. The greatest increase in yield was obtained in 2004 and 2002 (dry), which is a 55%-60% more than the non-irrigated variant (Table 3). At least an increase by 667 kg/ha (25%) was received in the wet in 2005, with the average for the five years studied the increase in yield is 821 kg/ha compared to non-irrigated option.

Реализираните поливни режими през отделните години също са оказали влияние върху получените добиви. Най-високи добиви са получени при вариантите, напоявани със 100% поливна норма 2087 kg/da, а най-ниски при неполивните варианти 1266 kg/da. Намалението на напоителната норма с 20 и 40% е довело до намаляване на добивите с 7% и 14%. Средно за периода, намалението на добива не е драстично и такива поливни режими могат да се използват в случай на възникнал воден дефицит (Таблица 3).

Realized irrigation regimes over the years have also affected the yields obtained. The highest yields were obtained at variants which are irrigated with 100% irrigation rate 2087 kg/ha, and the lowest in irrigated variants 1266 kg/ha. The decrease of the irrigation rate by 20 and 40% led to a decrease in yields of 7% and 14%. Average for the period reduction in yield is not drastic and irrigation regimes can be used in the case of water deficit (Table 3).

Таблица 3. Добиви от ябълки при капково напояване в района на София,Челопечене

Table 3. Yield of the apples of drip-irrigation in the region near to Sofia, Chelopechene

Година Years	2001		2002		2003		2004		2005		Средно / Average 2001-2005 г.	
Вариант Variant	Добив Yeild kg/da	Отн. добив Relative yield %	Добив Yeild kg/da	Отн. добив Relative yield %	Добив Yeild kg/da	Отн. добив Relative yield %	Добив Yeild kg/da	Отн. добив Relative yield %	Добив Yeild kg/da	Отн. добив Relative yield %	Добив Yeild kg/da	Отн. добив Relative yield %
Неполивен noirrigation	1567	100	704	100	1135	100	855	100	2070	100	1266	100
100%M	2122	135	1769	251	1945	171	1866	218	2737	132	2087	164
80% M	2053	131	1603	228	1828	161	1681	196	2592	125	1952	154
60% M	2004	128	1421	202	1712	150	1459	170	2444	118	1808	142

Изследваният поливен режим е оказал влияние върху продуктивността на поливната вода. Тя е най-висока при вариантите напоявани с по-ниската по размер поливна норма. Анализът на получените резултати показа, че от всеки кубически метър поливна вода, средно за периода на изследване, се получават от 7,6 до 9,8 kg ябълки (Таблица 4). Най-висока продуктивност на поливната вода през петте опитни години е получена при варианта с реализиране на 60% от поливната норма и възлиза на 6,6 до 13,4 kg на всеки кубически метър вода.

Резултатите получени за продуктивността на поливната вода показват, че с повишаване водообезпечеността на растенията се снижава продуктивността на водата за напояване, най-ярко изразена при вариантите, напоявани със 100% поливна норма.

The test irrigation regime had no effect on the productivity of irrigation water. It is highest in the variants irrigated with a lower size irrigation rate. The analysis of the results showed that each cubic meter irrigation water on average in the period of the study were obtained from 7.6 to 9.8 kg of apples (Table 4). The highest productivity of irrigation water in the three experimental years was obtained under the variant of realizing the 60% of the irrigation rate and amounts to 6.6 to 13.4 kg for each cubic meter of water.

The results obtained for the efficiency of irrigation water have shown that with increasing water availability to the plants lowers the productivity of irrigation water, the most pronounced in the variants irrigated with 100% irrigation rate.

Таблица 4. Продуктивност на поливната вода при ябълки
Table 4. Irrigation water productivity of apples

Вариант Variant	2001 средна година average year		2004 суха година dry year		2005 влажна година wet year		Средно за трите години Average for three years	
	Напоителна норма Irrigation rate mm	Продуктивна вода Water efficiency кg/m^3	Напоителна норма Irrigation rate mm	Продуктивна вода Water efficiency Kg/m^к	Напоителна. норма Irrigation rate mm	Продуктивна вода Water efficiency кg/m^3	Напоителна. норма Irrigation rate mm	Продуктивна вода Water efficiency кg/m
100%M	340	6,1	360	5,2	238	11,5	313	7,6
80%M	275	7,5	300	6,1	216	12,1	255	8,6
60%M	217	9,3	220	6,6	182	13,4	218	9,8

ИЗВОДИ

● За периода на активна вегетация на културата (април-юни) са реализирани 17 броя поливки със средна поливна норма – 19,0 mm и обща напоителна норма за периода – 323,0 mm.

● От изпитаните поливни режими в биологично отношение най-подходящ е поливния режим с реализиране на 100 % поливна норма, който се препоръчва при условията на добра водоосигуреност.

● Най-високи добиви са получени при вариантите, напоявани със 100% поливна норма 2087 kg/da а най-ниски при неполивните варианти 1266 kg/da. Намалението на напоителната норма с 20 и 40% е довело до намаляване на добивите със 7% и 14%. Средно за периода намалението на добива не е драстично и такива поливни режими могат да се използват в случай на възникнал воден дефицит.

● Най-голямо увеличение на добива е получено през 2004 и 2002г. (сухи), което е с 55%-60% повече, спрямо неполивния вариант. Най-малко увеличение с 667 kg/da (25%) е получено през влажната 2005 г., като средно за петте изследвани години увеличението на добива е с 821 kg/da спрямо неполивния вариант.

● Продуктивността на поливната вода при капково напояване на ябълки се увеличава при редуциране на напоителната норма. Най-високи стойности достигат при 40% намаление на поливната норма.

CONCLUSIONS

● For the period of active vegetation of culture (April-June) realized 17 the number of irrigations medium irrigation rate – 19,0 mm and total irrigation rate for the period – 323,0 mm.

● Test irrigation regimes biologically most appropriate irrigation mode realization of 100% irrigation rate, which is recommended under good water availability.

● The highest yields were obtained at variants which are irrigated with 100% irrigation rate 2087 kg/ha, and the lowest in irrigated variants 1266 kg/ha. The decrease of the irrigation rate by 20 and 40% led to a decrease in yields of 7% and 14%. Average for the period reduction in yield is not drastic and irrigation regimes can be used in the case of water deficit.

● The greatest increase in yield was obtained in 2004 and 2002 (dry), which is 55%-60% more than the non-irrigated variant. At least increase by 667 kg/ha (25%) was received in the wet in 2005, with the average for the five years studied the increase in yield is 821 kg/ha compared to non-irrigated option.

● The productivity of irrigation water in the drip irrigation of apples is increased by reducing the irrigation norm. The highest values achieved in 40% reduction in irrigation rate.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Dochev E.**, 1983. Impregnation of fruit crops. Overview (Bg).
2. **Dochev, D. and M. Gospodinova**, 1987. Studies on irrigation regime apple in drip irrigation, irrigation norms and distribution of water in the soil. *Plant Science*, XXIV (5), 86-93 (Bg).
3. **Doychev, K.**, 1994. Studies damaged irrigation regimes of fruit-bearing apple plantation under drip irrigation.In: 65 years Institute of Fruit-growing in Kyustendil (Bg).
4. **Lazarov, R. and Ann. Mehandzhieva**, 1982. In support of technical progress in aquaculture, N 4.
5. **Keller, J. and D. Karmmelli**, 1980, Transactions of the ASAE, N 5.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (5), 283-295 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Индукция на мутантен фенотип в M_1 поколение на *Paulownia tomentosa,* чрез третиране с етил метан сулфонат

Румяна Вълкова[1]*, Гергана Захманова[1], Елена Апостолова[1], Милена Костова[2], Иван Минков[3]

[1]Катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология", Пловдивски университет „Паисий Хилендарски, 4000 Пловдив, България
[2]Катедра"Генетика и селекция", Аграрен университет Пловдив, 4000 Пловдив, България
[3]Институт по Молекулярна биология и биотехнологии, 4000 Пловдив, България

**E-mail: valkova@plantgene.eu*

Ethyl methane sulfonate induced mutation phenotype in M_1 generation of *Paulownia tomentosa*

Rumyana Valkova[1]*, Gergana Zahmanova[1], Elena Apostolova[1], Milena Kostova[2], Ivan Minkov[3]

[1]Department of Plant Physiology and Molecular Biology, University of Plovdiv "Paisii Hilendarski", Plovdiv 4000, Bulgaria
[2]Department of Plant Genetics and Breeding, Agricultural University - Plovdiv, 4000 Plovdiv, Bulgaria
[3]Institute of Molecular Biology and Biotechnologies, 4000 Plovdiv, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

Пауловния е бързорастящ вид широколистни, листопадни дървета, с твърда дървесина, чиято родина е Китай. Притежава редица ценни качества, като устойчивост на гниене, висока температура на възпламеняване и дървесина устойчива към деформации. Освен това е красиво орнаментно дърво, отличен ресурс за биоетанол, както и източник на вторични метаболити. Изключителната стойност на *Paulownia tomentosa*, като стопански интересен обект, предопределя и интензивната научна работа с това растение в различни направления. Едно от тях е индуциране на мутагенез посредством третиране с мутагенни фактори.

SUMMARY

Paulownia is a deciduous, fast-growing, hardwood and multipurpose tree species that is native to China. It exhibits a number of desirable characteristics, such as rot resistance, dimensional stability and a high ignition point. It is a beautiful ornamental tree, which is also suitable for the bioethanol industry and as a source of secondary metabolites. As an economically important species over the past several decades, research on Paulownia has been conducted to develop biotechnological approaches for plant propagation and genetic improvement.

За увеличаване на генетичното разнообразие при културните растения се използва химичен и физичен мутагенез, което е довело до създаване на много нови сортове. Сред химичните мутагени етил метан сулфонатът (EMS) е от доказано най-мощните.

Настоящата работа представя прилагането на EMS с концентрация 0.6% v/v, за обработка на 100 семена от *Paulownia tomentosa (PT)*, в продължение на 12ч., след което бе проследено за фенотипни промени в полученото поколение (M_1). Идентифицирано бе растение с фенотип подобен на джуджевидно растение (DWL) – има нарушена апикална доминантност, множество странични разклонения, листа с намален размер и скъсени междувъзлия.

Третирани с гиберелинови киселини (GA_3), джуджевидните растения удължиха стъблата си, но останаха с разклонени стъбла и по-малки листа. При прилагане на ауксините Indole-3-acetic acid (IAA) и 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) джуджевидният фенотип не се промени. DWL култивирани *in vivo* и пръскани с епибрасиностероиди (EBR), не показват промяна в своя фенотип, но DWL култивирани *in vitro* на среда с EBR имат удължени междувъзлия, листа с нормален размер и останаха без разклонения. Джуджевидният фенотип може да бъде свързан с недостига на брасиностероиди, като резултат на понижена биосинтаза или засягане регулацията на други гени свързани с брасиностероидите.

Ключови думи: Ethyl methane sulphonate (EMS), *Paulownia tomentosa,* джуджевиден фенотип, гиберелини (GA_3), Indole-3-acetic acid (IAA), 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), Epibrassinosteroids (EBR)

УВОД

Родът *Paulownia* включва между 6 до 17 вида и принадлежи към семейство *Paulowniaceae.* Произхода на тези видове е от Китай, но са били натурализирани и в други части на света, като Европа и

Mutagenesis has been used to increase genetic variability in crop plants through chemical mutagens or irradiation. Mutagen such as ethyl methane sulphonate (EMS) has been widely used to induce a large number of functional variations.

A study has been conducted to enhance genetic variability in *Paulownia tomentosa* using ethyl methane sulphonate. Exposure to an EMS concentration of 0.6%, v/v for 12h was used to mutagenize 100 seeds for the first generation (M_1). It was observed one phenotypic mutation with alter growth behaviors than in wild type (WT) plants. Produced plant had dwarflike phenotype with broken apical dominance; increased number of branches; smaller leaves and short internodes.

In respond to gibberellins (GA_3) treatment they grow as tall as normal tall varieties but with multiple branched stems and small leaves. Treatment with auxins Indole-3-acetic acid (IAA) and 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) had no result on the dwarflike phenotype either. *In vitro* DWL plants grown on media supplemented with Epibrassinosteroids (EBR) had bigger leaves and unbranched stems but i*n vivo* DWL plants treated with EBR didn't change their phenotypes. Dwarf phenotypes could be the result of reduced BR biosynthesis or trough up- or down- regulation of other genes.

Key words: Ethyl methane sulphonate (EMS) *Paulownia tomentosa,* dwarf phenotype, gibberellins (GA_3), Indole-3-acetic acid (IAA), 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), Epibrassinosteroids (EBR)

INTRODUCTION

Paulownia is a genus comprised of between 6-17 species in the family *Paulowniaceae*. They are native to China and have been naturalized in other parts of the world such as Europe and USA

САЩ (Newman et al., 1998; Ipekci and Gozukirmizi, 2004). Тези бързо растящи, широколистни дървета са много адаптивни, като запазват бързият си растеж върху голямо разнообразие от почви и при широк спектър от климатични условия. Проследявана е способността на *Paulownia* да отстранява от почвата замърсявания, включително нитрати и тежки метали, което я прави подходящ дървесен вид при програми за възстановяване и залесяване на горски терени (Zhang et al., 2007). Богатото съдържание на мазнини, захари и протеини в цветовете и листата, ги определя като подходящ ресурс за фураж, освен това в листата има високо съдържание на азот, поради което те се използват и като тор. Също така са известни лечебни и антиоксиданти качества на видове от това семейство, поради високо съдържание на ценни вторични метаболити (Šmejkal et al., 2007; Si et al., 2013). *Paulownia* още е популярен ресурс за биоетанол, използван в програми за алтернативно гориво. Растящата популярност на *Paulownia* заради ценните ѝ качества я превръща в значим стопански вид с голяма икономическа стойност.

Нарастването на човешка раса изисква разработването на нови широкомащабни системи за производство и повишаване на добивите. Така се стига до създаването на нови растителни видове, различни техники за култивиране и селекция. Конвенционалните методи за кръстосване и селекция имат редица ограничения по отношение на дървесните видове. Съкращаването на времето за индукция и последвала селекция на генетични изменения ще осигури преодоляване на ограниченията при селекцията и видовото модифициране на важни стопански култури. При естествени условия генетичните вариации са продукт на мутации, от които се запазват само даващите предимства на съответните растения, например по-голям добив или устойчивост към неблагоприятни фактори. Индукция на мутации може да се осъществи по три основни подхода – облъчване; химически мутагени или сайт-насочен мутагенез, дължащи се на ДНК инсерции, генетични

(Newman et al., 1998) (Ipekci and Gozukirmizi, 2004). These deciduous trees are fast growing, and can grow just as quickly on a wide variety of soils and wide range of climatic conditions.

It has been examined the ability of *Paulownia* to take up nitrates, heavy metals and land contaminants, that make it a useful source for land reclamation and reforestation(Zhang et al., 2007). The leaves and flowers could be used as fodder because of their contents of fats, sugars and proteins. The high level of nitrogen in leaves made them also a good fertilizer.

Paulownia species are rich in antioxidants and secondary metabolites, connected with theirs medicinal properties (Šmejkal et al., 2007; Si et al., 2013).

Paulownia trees become a popular source for cellulosic ethanol as alternative fuels. A risen popularity of *Paulownia* is due to its many desirable features that determined it as a multipurpose tree with grate economical and practical value.

With the growth of human population, large-scale production systems were developed. This leads to the creation of new plant species, different techniques of cultivation and selection. Conventional selection and breeding has been successful program for genetic improvement but with some limits about woody plants. Reducing the induction time and the subsequent selection of genetic changes could be useful tool for overcoming the problems with selection and species modification of important crops. In Nature, genetic variations are result of keeping of mutations that gave advantages to the plants, for example, greater yield or resistance to adverse factors.

There are three types of mutagenesis – irradiation; treatment with chemical mutagens or site-directed mutagenesis due to DNA insertions, genetic

трансформации или активиране на подвижни елементи (Oladosu at al., 2015). Химическият мутагенез има редица предимства и е широко използван за предизвикване на голям брой функционални изменения в култури. От химическите средства, алкилиращият мутаген, етил метансулфонат (EMS) е сред най-често използваните за индукция на мутации при растения, тъй като причинява висока честота на нуклеотидни замествания (Talebi et al., 2012). Етил метансулфонатът (EMS) е мутагенно съединение, което води до случайни мутации в генетичния материал, причинени от нуклеотидни замествания в резултат на алкилиране на гуанина, при което етилгуанина не образува нормална комплементарна двойка с цитозина, а се свързва с тиамин (Greene et al., 2003). Индуцираните точкови мутации могат да бъдат причина за загуба на функции, но също и за придобиване на нови, а модифицираните фенотипове са потенциални ценни стопански видове. След третиране с EMS важно значение има правилната селекция още в M_1 поколение, при което повечето мутантни линии биват отстранени (Oladosu et al., 2015).

Ние използвахме химическият мутаген EMS за моделиране на генома и индукция на нови харакеристики при добилия широка популярност дървесен вид *Paulownia tomentosa*. В M_1 поколение на третирани семена беше идентифициран променен фенотип, чиято морфология бе сравнена с тази на изходните растения. Когато мутагенен фактор пряко засегне гени, свързани с растителните растежни регулатори, това ще доведе до видим ефект. Ние анализирахме ефекта от екзогенно добавяне на гиберилинова киселина (GA_3); нафтил-оцетна киселина (NAA); индолил-оцетна киселина (IAA) и епибрбрасиностероид-24 (EBR), за да проследим дали новопродобитият джуджевиден фенотип се дължи на количествен недостиг или липса на функция на някои от изброените растителни хормони.

transformation or activation of transposable elements (Oladosu at al., 2015). Chemical mutagenesis has several benefits, and has been widely used to induce a large number of functional variations in crops. Among chemical mutagens, the alkylating agent, ethyl methane sulfonate (EMS) is the most commonly used in plants as it causes a high frequency of nucleotide substitutions (Talebi et al., 2012).

EMS induces mispairing and base changes, because of guanine alkylation, which cannot pair with cytosine anymore and pairing with thyamine (Greene, et al., 2003).

The induced point mutations could lead to loss-of-function or gain-of-function phenotypes with important features to the agriculture. The proper mutations selection is important and after EMS treatment most mutant lines in the M1 generation are removed (Oladosu et al., 2015).

We have used the chemical mutagen EMS to modify the genome and inducing new features in the popular woody species *Paulownia tomentosa*. In the M_1 generation of treated seeds, an altered phenotype was identified whose morphology was compared to that of the parent plants. Visible effect will be produced when the mutagenic factor affects genes associated with plant growth regulators. Here we analyze the responses of produced dwarflike plants to exogenic plant growth regulators as gibberellins (GA_3); naphthyl acetic acid (NAA); indolyl acetic acid (IAA) and epibrassinosteroid (EBR), to trace whether the newly acquired phenotype is due to a quantitative shortage or lack of function of some of the listed plant hormones.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Растителен материал

Изходният растителен материал от *Paulownia tomentosa* и растения с джуджевиден фенотип бяха любезно предоставени от проф. д-р Алишер Тураев (Faculty of Biology; BIOSS Centre for Biological Signaling Studies; ZBSA Centre for Biological Systems Analysis, University of Freiburg).

Мутагенез с EMS (Kim et al., 2006)

100 семена от *Paulownia tomentosa* се накисват в 100 mM фосфатен буфер (pH 7.5) за едно денонощие при 40 °C. Излишният буфер се отстранява и се добавя свеж буфер с EMC до крайна концентрация 0.6%. Сместа се инкубират 12 часа при стайна температура и след това се промиват 20 пъти с вода.

Хранителни среди и условия за култивиране

В лабораторната работа за *in vitro* растителни култури се използва основна среда на Мурашиги и Скуг (1962) с добавена захароза (20 g/l) и гелобразуващ агент – агар (8 g/l), pH се коригира до 5,8.

За регенериране на семена при *in vitro* условия културите се поставят на тъмно в продължение на четири седмици. Продуцираните регенеранти се използват, като източник на експланти за микроклонално размножаване.

Култивирането протича във фитостат, при температура от 22^{o}C - 25^{o}C; фотопериод 16/8 часа и интензивност на светлината 30 μMm^{-2}s^{-1}.

Субкултивиране се извършваше през интервали от четири седмици. Резултати се отчитат през интервали от седем дни. Всеки експеримент се повтаря по три пъти, а минималният брой на културите на експеримент е десет.

Адаптиране на растенията към *in vivo* условия

Двумесечни растения се изваждат от хранителната среда и внимател-

MATERIAL AND METHODS

Plant material

The *in vitro* raised shoots from *Paulownia tomentosa* and dwarflike plants were kindly provided by prof. Alisher Touraev, Faculty of Biology; BIOSS Centre for Biological Signaling Studies; ZBSA Centre for Biological Systems Analysis, University of Freiburg.

EMS mutagenesis (Kim et al., 2006)

100 seeds from *Paulownia tomentosa* were soaked in 100mM phosphate buffer (pH 7.5) overnight at 40 °C. The excess buffer was decanted and fresh buffer was added with EMS to a final concentration 0.6%. Mixture was incubated 12h at room temperature and then seeds were washed 20 times with water.

Culture media and culture conditions

Basal MS (Murashige and Scoog, 1962) media was supplemented with 20 g/l sucrose and 8 g/l agar, the pH of media was adjusted to 5.8.

The cultures for seed germination were incubated at 24 °C in dark for 4 weeks. Aseptic seedlings were used as a source material for micropropagation.

Micropropagated *in vitro* plants were incubated under 16/8h photoperiod in a growing-room under light intensity 30 μMm^{-2}s^{-1} from cool-white fluorescent lamps at 22^{o}C - 25^{o}C.

The cultures were sub-cultured at four-week intervals. Observation was recorded over 7 days of inoculation and subculture. All experiments were repeated three times with at least ten cultures per treatment.

Acclimatization of plants under *in vivo* conditions

Two months old *in vitro* plants were adapted to *in vivo* conditions after

но се почистват корените от всички остатъци, след което се поставят в пластмасови контейнери запълнени със смес от почва и перлит (2:1v/v). Растенията се покриват с прозрачно фолио, което ще запази относителната влажност от 95% до 98%. Аклиматизираните растения се отглеждат при фотопериод 16/8 ч. с интензивност на светлината 30 $\mu Mm^{-2}s^{-1}$ и температура 22^oC - 25^0C.

Ефектът на растежните регулатори върху *in vitro* културата на джуджевидни растения *Paulownia.*

Ефектът се изпитва върху регенерираща среда, допълнена с различни концентрации растежни регулатори (Таблица 1).

Гиберелиновата киселина (наричана още Гиберелин или GAs) се разтваря в 96% етанол, стерилизира се през бактерициден филтър и се прибавя към основната среда (MS, 20 g/l захароза и 8 g/l агар), която предварително се стерилизира чрез автоклавиране.

Нафтил оцетна киселина (NAA) и Индолил оцетна киселина (IAA) се разтварят с 1N NaOH и се добавят към основната среда преди автоклавиране.

24-епибрасиностероид (EBR) се разтваря в 96% етанол, стерилизира се през бактерициден филтър и се прибавя към автоклавираната основна среда.

Всички култури се инкубират при фотопериод 16/8 ч. във фитостат под бяла-флурисцентна светлина с интензивност 30 $\mu Mm^{-2}s^{-1}$ и температура 22°C - 25°C.

Ефектът на растежните регулатори върху *in vivo* културата на джуджевидни растения *Paulownia.*

Адаптирани растения се напръскват с 2 ml разтвори на растежни регулатори в различни концентрации. Контролните растения се напръскват с 2 ml дестилирана вода. Третирането се повтаря след 7 дни. Експериментите продължават от 5 до 8 седмици и всеки експеримент се повтаря 3 пъти.

cleaning up gently the roots from media oddments. Plantlets were put into pots containing mixture of peat and perlite (2:1v/v), covered with transparent foil, that would keep 95% - 98% relative humidity. Acclimatized plants were incubated under 16/8h photoperiod in a growing-room under light intensity 30 $\mu Mm^{-2}s^{-1}$ from cool-white fluorescent lamps at 22^0C - 25^0C.

The effect of growth regulators to dwarflike *Paulownia* plants tested by *in vitro* culture.

The effect was tested on regenerating media supplemented with different concentrations of growth regulators (Table 1).

Gibberellic acid (also called Gibberellin and GA_3) was dissolved in 96% ethanol, sterilized trough bactericidal filter and added to the autoclaved basal media (MS, 20 g/l sucrose and 8 g/l agar).

2-(1-Naphthyl) acetic acid (NAA) and 2-(1*H*-indol-3-yl) acetic acid (IAA) were dissolved in 1N NaOH and added to the basal media before autoclaving.

24-epibrassinolide (EBR) was dissolved in 96% ethanol, sterilized trough bactericidal filter and added to the autoclaved basal media.

All cultures were incubated under 16/8 h photoperiod in plant growth room under cool-white fluorescent lamps at 22 °C to 25 °C with 65% – 70% humidity.

The effect of growth regulators to *in vivo* cultured dwarflike *Paulownia* plants.

The *in vivo* adapted plants were sprayed with 2ml solutions of plant growth regulators in different concentration. The control plants were sprayed with 2ml distillated water. Treatment was repeated after 7 days. The experiment prolongs 5 to 8 weeks and each experiment was repeated 3 times.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Осъществено бе третиране на семена от *Paulownia tomentosa* с EMS и продуцираното M_1 поколение бе изследвано за фенотипни промени. Беше идентифицирано силно разклонено растение, отличаващо се от първоначалният фенотип, което стана предмет на настоящето изследване. За провеждане на морфологичният анализ бяха използвани растения размножавани микроклонално при *in vitro* условия, което гарантира запазване на генетичната индентичност при всички образци. При микроклоналното размножаване се използваха върхни и странични пъпки, култивирани върху MS среда, съдържаща 2% захароза, без добавени растежни регулатори, които могат да повлияят на фенотипа. Двумесечни растения се адаптират към *in vivo* условия и се култивират при 24°C, фотопериод 16/8 часа и интензивност на светлината 30 $\mu Mm^{-2}s^{-1}$. При сравняване на контролните растения *Paulownia tomentosa* (PT) и джуджевидните (DWL) бяха проследени растежът на растенията регенеранти и тяхното развитие, височина, брой междувъзлия, големина и брой на листата. От направените анализи можем да обобщим, че в двете групи растения PT и DWL, размножавани и култивирани по един и същи начин първоначално имат сходна височина. Височината на стъблата при двумесечни DWL може да бъде еквивалентна и дори малко по-голяма от тази на PT, но като цяло групата на DWL е много по-вариабилна. При своето по-нататъшно развитие DWL се разклоняват развивайки всички странични пъпки, за разлика от PT, които запазват своята апикална доминанта (Фигура 1). Размерът на листата следва същата тенденция, първоначално растенията от двете групи имат сходна визия, а с напредване на възрастта DW редуцират размера на листата си, но числено многократно изпреварват PT (Фигура 1). Двете анализирани групи имат различни модели на растеж и развитие. PT увеличават постепенно и равномерно своята биомаса, образувайки всяка седмица по едно междувъзлие и две или три нови листа.

RESULTS AND DISCUSSION

Paulownia tomentosa seeds were EMS treated and produced M_1generation was screened for phenotypic changes. One of the regenerated plants developed bushy phenotype and turns the subject of present study.

The aseptic seedlings were source for micropropagation, using the segments from nodal sections and shoot tips. They were micropropagated on MS media containing 2% sucrose, without any growth regulators, that can affect the phenotype.

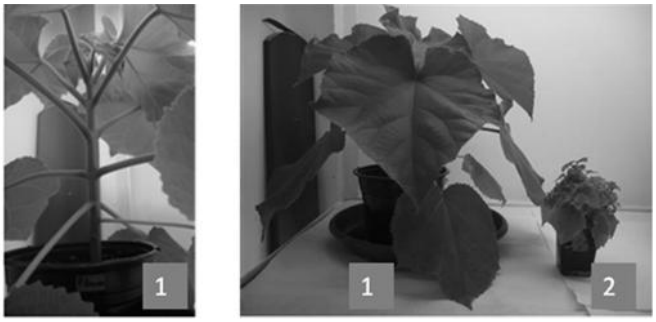
Two months old *in vitro* plants were used for *in vivo* propagation and were incubated at 24°C under 16/8 h photoperiod and light intensity 30 $\mu Mm^{-2}s^{-1}$.The growth pattern and development; height; number of nodes; number and the size of leaves were traced. These criteria were used to compared dwarflike *Paulownia* (DWL) with the control plants *Paulownia tomentosa* (PT). The compared two groups of plant propagated and cultivated at the same conditions started with the similar phenotype. The two months old DWL plant could be equal or even slightly taller than PT plant, but generally the whole DWL group is more variable in height.

In their further development DWs get branched, developing all the side buds, while PTs retained their apical dominance (Figure 1). The leaves size followed the same trend; initially plants from both groups had a similar vision. In their further development DWLs leaves were far behind the original size, but numerically get ahead of PTs (Figure 1).

Both analyzed groups were different in their growth and development patterns. PT plants have grown gradually and increased their biomass, gaining each week a new node and two or three new

DWL нарастват интензивно през първите две седмици, след което темповете се забавят и след третата седмица спират да нарастват на височина, но образуват много разклонения и нови листа.

leaves. DWL plants have grown intensively in the first two weeks, then the rate slowed, and after the third week the height stop elevate, but many branches and new leaves appeared.



Фиг. 1. Четиримесечни растения PT (1) и DWL (2)
Fig. 1. The four months old PT (1) and DWL (2) plants

Джуджевидният фенотип при растенията може да бъде следствие от генно-инженерни манипулации, но също така може да е резултат от естествени морфологични промени при аклиматизация към стресови фактори като: състав на почвата, светлина (Hutchings et al., 1994), студ (Okamoto at al., 2008) или инфекции (Scholthof et al., 1995). В повечето случаи джуджевизмът при растенията се получава, не като следствие от повреди, причинени от стресовите фактори, а в резултат на действието на растителните хормони продуцирани при стресовите условия (Zhang and Turner, 2008). Търсейки връзката между джуджевидния фенотип и променените нива на растежните регулатори в DWL растенията, беше проследен ефектът от прилагане на различни концентрации от основни групи растежни регулатори: гиберелини, ауксини и брасиностероиди. За целта бяха използвани PT и DWL растения, култивирани *in vitro* върху хранителни среди с добавени растежни регулатори в различни концентрации (Таблица 1). Едновременно с това се анализират *in vivo* адаптирани на почва растения, пръскани с разтвори на същите растежни регулатори в различни концентрации.

The Dwarflike plant phenotype could be the result of genetic manipulations, but also could be result of natural changes during acclimatization to stress factors such as soil composition, light (Hutchings et al., 1994), cold (Okamoto at al., 2008) or infection (Scholthof et al., 1995).

Dwarfing in natural condition is obtained not as a result of damage caused by stress factors, but as a result of plant growth regulators produced under stress conditions (Zhang and Turner, 2008).

Searching the connection between dwarflike phenotype and altered levels of growth regulators in analyzed DWL plants we investigated the effect of various concentrations of the major groups of plant growth regulators: gibberellins, auxins and brasinosteroids.

For this purpose were cultured *in vitro* PT and DWL plants on nutrition media supplemented with growth regulators in various concentrations (Table 1). Simultaneously *in vivo* cultured PT and DWL plants were sprayed with solutions of the same plant growth regulators in various concentrations.

Таблица 1. Състав на хранителните среди използвани за *in vitro* култури
Table1. Composition of *in vitro* culture media

Среди	Растежни регулатори / Growth regulators			
Media	GA_3 (mg/l)	IAA (mg/l)	NAA (mg/l)	EBR (μM)
MS0[a]	-	-	-	-
MSG1	0,1	-	-	-
MSG2	0,5	-	-	-
MSG3	1	-	-	-
MSG4	5	-	-	-
MSA	-	1	-	-
MSN	-	-	1	-
MSE1	-	-	-	1
MSE2	-	-	-	5

MS среда без добавени растежни регулатори -MS0[a].Основна MS среда обогатена с GA_3 - MSG1; MSG2, MSG3 и MSG4. MS среда с добавена индолил оцетна киселина – MSA. MS среда с добавена нафтил оцетна киселина - MSN.Основна MS среда обогатена EBR - MSE1 и MSE2
MS media without any regulators -MS0[a]. Basal MS media supplemented with gibberellins - MSG1; MSG2; MSG3 and MSG4. MS media supplemented with indole 3-acetic acid – MSA. MS media supplemented with 1-Naphthaleneacetic acid acetic acid – MSN. MS media supplemented with Epibrassinosteroids (EBR) - MSE1and MSE2

Скъсените стъбла и забавеният растеж при анализираните DWL насочва вниманието ни към гиберелините, като хормони, участващи в регулирането на тези процеси. Освен това изключването или обръщането на ефекта физиологични джуджета е едно от специфичните приложения на гиберелиновите киселини. В настоящата работа експериментите бяха проведени с GA_3, за която се знае, че е най-застъпена в растителното царство. Адаптирани на почва растения бяха пръскани с 2 ml разтвор на GA_3 с концентрация 10 mg/l. Третирането се повтаря през седем дни в продължение на осем седмици. За контрола бяха използвани растения, пръскани с 2 ml дестилирана вода. Третираните с GA_3 увеличиха височината си средно с 12 cm, което е 4 пъти повече в сравнение с пръсканите с вода растения. Третираните с GA_3 растения запазват храстовидния фенотип и дребния размер на листната петура, въпреки че се забелязва удължаване на листните дръжки (Фигура 2).

The gibberellins (GA_s) are class of plant hormones that affect several important plant processes, including stem elongation, seed development, and seed germination. Besides GA could stop or reverse the effect of physiological dwarfism and it is one of the specific applications of gibberellins. In this study experiments were conducted with GA_3, which is known to be the most abounded in the plant kingdom.

Acclimatized plants under *in vivo* conditions were sprayed with 2 ml solution of GA_3 (10 mg/l). The treatment was repeated every seven days for eight weeks. The control plants were sprayed with 2 ml of distilled water. Treatment with GA_3 induced elongation by an average of 12 cm that was 4 times more compared to controls.

DWLs sprayed with GA_3 kept their “bushy” (branched) phenotype and the small size of the leaf lamina, although there was a prolongation of the petiole (Figure 2).

Фиг. 2. DWL растения пръскани с дестилирана вода (1) и DWL пръскани с 10 mg/l GA_3 (2)

Fig. 2. DWLs sprayed with distilled water (1) and DWLs sprayed with 10 mg/l GA_3 (2)

Ефектът на GA_3 беше тестван още с *in vitro* култури върху хранителни среди с добавени различни концентрации от този хормон (Таблица 1). След двумесечно култивиране във фитостат, при постоянни регулирани условия, не се наблюдава изчезване на джуджевидния изглед. При най-високата използвана за експеримента концентрация (5mg/l) се отчете инхибиращ ефект на приложения растителен хормон.

Явлението „Апикална доминанта" е феномен, при който върхната стъблена меристема инхибира развитието на първичните меристеми в страничните пъпки. По време на формирането на листата и удължаването на стъблото от клетките на апикалната стъблена меристема, някои клетки от същата тъкан остават назад и участват във формирането на страничните пъпки. Ако доминантната апикална меристема се отстрани, тогава една или няколко странични върхни меристеми започват да се развиват. Механизмът на апикалната доминантност се базира на действието на ауксините (Dun et al., 2006). Отсъствието на апикална доминанта при изследваните джуджевидни растения е причина да проследим ефекта на екзогенно прилагане на ауксини.

Адаптирани към *in vivo* условия растения на 2 месеца бяха пръскани с 1 mg/l NAA и 1 mg/l IAA, което не промени джуджевидният фенотип. Пръсканите с 1 mg/l IAA растения показват признаци на стрес, свързани с пожълтяване и завиване на листата, и некротични петна.

The effect of GA_3 was tested by shoot regeneration on media supplemented with different concentration of this hormone (Table 1). After two-months cultivation, under constant regulated conditions, there is no disappearance of the dwarf phenotype. The highest experimental concentration (5mg/l) had inhibitory effect to the tested tissue cultures.

Apical dominance is phenomenon when one meristem prevents or inhibits the growth of other meristems.

During the formation of leaves and elongation of stem some cells are left behind from shoot apical meristem and constitute axillary bud.

If the dominant meristem is cut off, one or more branch tips will assume dominance.

The mechanism of apical dominance is based on the plant hormone auxin (Dun et al., 2006). The absence of apical dominance in DWL plants provoked the experiments with exogenous administration of auxins.

The two-months old *in vivo* adapted plants were sprayed with solutions of NAA (1mg/l) and IAA (1mg/l) but it didn't turn dwarf phenotype back to the original morphology. Negative effect was observed when plants were treated with 1mg/l IAA. The sprayed plants show signs of stress associated with yellowing, the leaves curling and necrotic stains.

При *in vitro* култивирани джуджевидни растения *Paulownia* (Таблица 1) NAA и IAA имат инхибиращт ефект.

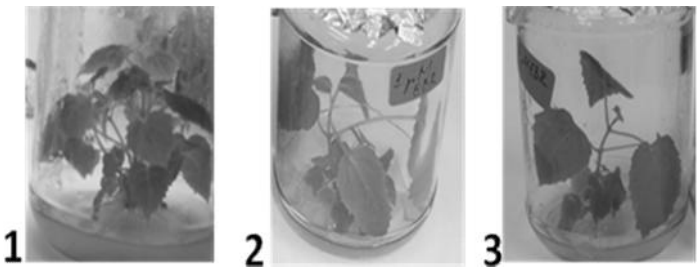
Брасиностероидите регулират експресията на множество гени, клетъчното удължаване и делене, развитието на проводящите тъкани, фотоморфогенезиса и редица стресови отговори. Мутанти, при които е засегната биосинтезата на брасиностероиди или техното действие, проявяват джуджевиден фенотип, което се свързва с блокиране на клетъчното удължаване. Когато брасиностероидите се прилагат екзогенно в наномоларни или микромоларни концентрации, те проя-вяват широк спектър от физиологични ефекти, включително стимулиране на клетъчното удължаване и делене, стимулиране диференциацията на трахеалните елементи, гравитропични изкривявания, повишаване биосин-тезата на етилен, и повишаване на стресовата устойчивост (Nakamura et al., 2003).

При нашите изследвания проследихме ефекта от 24-epibrassinolide (EBR) приложен чрез пръскане към *in vivo* DWL растения, което не доведе до промяна на фенотипа. В същото време при *in vitro* култури на хранителна среда с 1 и 5 μM EBR беше наблюдавано връщане към нормалният фенотип, което се изразява в липсата на разклонения, удължаване на стъблата и увеличаване размера на листата (Фигура 3).

The shoot regenerates were cultivated on media supplemented with NAA (1mg/l) and IAA (1mg/l). The applied concentration had inhibitory effect to the *in vitro* cultured DWL plants (Table 1).

Plant steroid hormones called brassinosteroids (BRs) control cell expansion and division, senescence, vascular development, photomorphogenesis and stress responses. BR biosynthesis or perception defective mutants display dwarf phenotypes due to reduced cell elongation. When BR were applied exogenously at nanomolar to micromolar levels, they exhibit a wide spectrum of physiological effects, including promotion of cell elongation and division, enhancement of tracheary element differentiation, enhancement of gravitropic induced bending, promotion of ethylene biosynthesis, and enhancement of stress resistance (Nakamura et al., 2003).

In this study, we were interested in the effect of a brassinosteroid hormone 24-epibrassinolide (EBR) on DWL plants applied by spraying or added into the culture media. The *in vivo* cultivated plants were sprayed with 1ml solutions of EBR (5 μM and 10 μM). No positive effects, even slightly inhibitory effect were observed. But *in vitro* cultured DWL plants overcome the brunched phenotype and the regenerants had larger leaves and elongated stems (Figure 3).



Фиг. 3. (1) Контрола DWL растение култивирано на MS0[a]. (2) DWL растение на MSE1. (3) DWL растение на MSE2

Fig. 3. (1) Control DWL plant cultured on MS0[a]. (2) DWL plant cultured on MSE1. (3) DWL plant cultured on MSE2

ИЗВОДИ

Бяха създадени растения с джуджевиден фенотип след третиране на семена от *Paulownia tomentosa* с EMS. Морфологичният анализ показа, че тези растения имат различен модел на растеж и развитие в сравнение с изходният вид. След проведените хормонални анализи можем да кажем, че DWL растенията са чувствителни към гиберелини, ауксини и брасиностероиди. Отсъствието на апикална доминантност при DWL растенията не може да се свържи с недостиг на IAA или NAA, защото третираните растения запазват храстовидният изглед. Промените, които бяха провокирани от гиберелини и ауксини не водят до връщане към изходния фенотип на *Paulownia tomentosa,* следователно джуджевидният фенотип на изследваните от нас растения не се дължи на недостиг на тези хормони. Единствено прилагането на EBR при *in vitro* DW доведе до преодоляване на джуджевидния фенотип, което може да свърже новопридобитият фенотип с нарушаване биосинтеза на брасиностероидите или засягане регулацията на гени свързани с тези хормони.

CONCLUSIONS

Dwarflike plants were produced from *Paulownia tomentosa* seeds using EMS. Morphological characteristic exhibit altered growth behavior than original plants and the conducted hormonal analysis revealed that DWL plants are sensitive to gibberellins, auxins and brassinosteroids.

The lack of apical dominance in DWL plants was not a result of IAA or NAA deficiency because the exogenic allayed hormones didn't change the bush phenotype.

The changes that were provoked by gibberellins and auxins could not returned the original phenotype, therefore dwarfing was not due to shortage of these plant growth regulators.

Only EBR applied to *in vitro* culture resulted in overcoming dwarflike look. Therefore the dwarf phenotypes could be the result of reduced BR biosynthesis or trough up- or down- regulation of genes linked to these hormones.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Atiqur, R., F. Rahman and M. Rahmatullah**, 2013. *In vitro* regeneration of *Paulownia tomentosa* Steud*.* plants through the induction of adventitious shoots in explants derived from selected mature trees, by studying the effect of different plant growth regulators. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, ISSN 1995-0748, 7(4), 259-268.
2. **Ayan, S., V. Gercek and A. Sahin,** 2002. Performation of Nursery Stage of *Paulownia* Sieb. & Zucc. Species and Origins. Review of Faculty of Forestry University of Suleyman Demirel, Seri. *A*, 2, ISSN1302-7085, 41-56.
3. **Dun, E. A., B. J. Ferguson and C. A. Beveridge**, 2006. Apical Dominance and Shoot Branching. Divergent Opinions or Divergent Mechanisms. *Plant Physiology.* 142(3), 812-819.
4. **Greene, E. A., Codomo C. A., Taylor N. E., J. G. Henikoff, B. J. Till, S. H. Reynolds, L. C. Enns, C. Burtner, J. E. Johnson, A. R. Odden, L. Comai and S. Henikoff**, 2003. Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reverse-genetic screen in Arabidopsis. *Genetics*, 164, 731-740.
5. **Hutchings, M. J. and H. de Kroon**, 1994. Foraging in Plants. The Role of Morphological Plasticity in Resource Acquisition. *Adv. Ecol. Res.,* 25, 159-238.
6. **Ipekci, Z. and N. Gozukirmizi**, 2004. Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from Paulownia elongate, *Plant Cell*, Rep 22, 16-24.

7. **Kim, Y.S., K. S. Schumaker and J. Zhu**, 2006. EMS Mutagenesis of *Arabidopsis*. *Methods in Molecular Biology*™, vol. 323, 101-103.
8. **Li, P. and J. Oda**, 2007. Flame Retardancy of *Paulownia* Wood and Its Mechanism. *Journal of Material Science*, 42(20), 8544-8550.
9. **Murashige, T. and F. Skoog**, 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15, 473-497.
10. **Nakamura, A., K. Higuchi, H. Goda, M. T. Fujiwara, S. Sawa, T. Koshiba, Y. Shimada and S. Yoshida**, 2013. Brassinolide Induces IAA5, IAA19, and DR5, a Synthetic Auxin Response Element in Arabidopsis, Implying a Cross Talk Point of Brassinosteroid and Auxin Signaling. *Plant Physiology*, 133(4), 1843-1853.
11. **Newman, SM, K. Bennett and Y. Wu**, 1998. Performance of maize, beans and ginger as intercrops in Paulownia plantations in China. *Agroforestry Syst*, 39, 23-30.
12. **Okamoto, T., S. Tsurumi, K. Shibasaki, Y. Obana, H. Takaji, Y. Oono and A. Rahman**, 2008. Genetic Dissection of Hormonal Responses in the Roots of *Arabidopsis* Grown Under Continuous Mechanical Impedance. *Plant Physiol.,* 146, 1651-1662.
13. **Oladosu, Y., Y. Mohd, Y. Rafii, N. Abdullah, G. Hussin, A. Ramli and H. Rahim**, 2015. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement. *Published online*, pp. 1-16.
14. **Scholthof, H., K. Scholthof and A. Jackson**, 1995. Identification of Tomato Bushy Stunt Virus Host-Specific Symptom Determinants by Expression of Individual Genes from a Potato Virus X Vector. *Plant Cell*, 7, 1157-1172.
15. **Si, C.-L., S.-C. Liu, H.-Y. Hu, J.-Z. Jiang, G.-J. Yu, X.-D. Ren and G.-H. Xu**, 2013. Activity Guided Screening of the Antioxidants from *Paulownia tomentosa* var. *tomentosa* Bark. *Bioresources*, 8(1), 628-637.
16. **Šmejkal, K., P. Holubova, A. Zima, J. Muselik and M. Dvorska**, 2007. Antiradical Activity if *Paulownia tomentosa* (Scrophulariaceae) Extracts. *Molecules*, 12(6), 1210-1219.
17. **Talebi, A.B., A. Talebi and B. Shahrokhifar**, 2012. Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose Determination. *American Journal of Plant Sciences*, 3, 1661-1665.
18. **Wang, Q. and J.F. Shogren**, 1992. Characteristics of the crop - *Paulownia* system in China. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 39, 145-152.
19. **Zhang, C.B., L.N. Huang, W.S. Shu, J.W. Qiu, J.T. Zhang and C.Y. Lan**, 2007. Structural and functional diversity of a culturable bacterial community during the early stages of re-vegetation near a Pb/Zn smelter in Guandong, PR China. *Ecological Engineering*, 30, 16-26.
20. **Zhang, Y. and J. Turner**, 2008. Wound-Induced Endogenous Jasmonates Stunt Plant Growth by Inhibiting Mitosis", *PLoS ONE,* 3(11): e3699.
21. **Zhu, Z.H., C.J. Chao, X.Y. Lu and Y.G. Xiong**, 1986. *Paulownia* in China: cultivation and utilization. Asian Network for Biological Science and International Development Research Centre, pp.1-65.