Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (2), 134-142
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на приложени хранителни вещества върху добива и качеството на малинови сортове, отглеждани в различни райони на Република Сърбия

Александър Лепосавич[1]*, Дарко Евремович[1], Олга Митрович[1], Бранко Попович[1], Йелена Томич[1], Таня Васич[2]

[1]Изследователски институт по овощарство, Чачак, Република Сърбия
[2]Институт по фуражни култури, Крушевац, Република Сърбия

Impact of Applied Nutrients on Yield and Quality of Raspberry Cultivars Grown at Different Localities of the Republic of Serbia

Aleksandar Leposavić[1]*, Darko Jevremović[1], Olga Mitrović[1], Branko Popović[1], Jelena Tomić[1], Tanja Vasić[2]

[1]Fruit Research Institute, Čačak, Čačak, Republic of Serbia
[2]Institute for Forage Crops, Kruševac, Čačak, Republic of Serbia
**E-mail: aleksandarleposavic@yahoo.com*

Original scientific paper

Received: 16.04.2019 *Accepted:* 30.05.2019 *Published:* 05.08.2019

РЕЗЮМЕ

Изследвано е влиянието на микробиологични препарати върху вегетативните и генеративни свойства, плодородие и качество на малиновите плодове в различни агроекологични условия на Сърбия. Опитите са проведени в: Ступчевици (Ариле), Буковица (Иваница), Власина и Миличево село (Ариле). В опита са включени сортовете "Виламет", отглеждан в насажденията под мрежа против градушка; "Виламет", отглеждан на открито; "Мийкър", отглеждан на открито; "Фертоди заматош", отглеждан на открито; и "Полка", отглеждан във висок тунел.

В тези насаждения са използвани микробиологични препарати, съдържащи микро- и макроелементи, микро-

SUMMARY

The influence of microbiological preparations on vegetative and generative properties, fertility and quality of raspberry fruit was examined in different agro-ecological conditions of Serbia. The trials were conducted in localities: Stupčevići (Arilje), Bukovica (Ivanjica), Vlasina and Milićevo Selo (Arilje). Following cultivars were included in the trials: 'Willamette', grown in the plantation under the anti-hail net; 'Willamette', grown in the open field; 'Meeker', grown in the open field; 'Fertodi Zamatos', grown in the open field; and 'Polka' grown in a high tunnel.

Microbiological preparations that contain micro- and macro elements, microorganisms and amino acids were

организми и аминокиселини. Препаратите се прилагат по два начина: почвено (поливане) и листно (над листата). Препаратите са приложени в началото на вегетацията, преди цъфтежа и преди прибиране на реколтата.

Приложените препарати имат положително влияние върху броя на младите и зрелите стъбла във всички третирани насаждения, в сравнение с нетретираните. Също така, положителен ефект от приложените хранителни вещества е регистриран и върху височината и дебелината на зрелите стъбла, както и върху добива и качеството на малиновите плодове.

Ключови думи: малини, хранителни вещества, микроорганизми, вегетативни свойства, добив

used in these plantations. Preparations were applied in two manners: through soil (watering) and foliar (over leaf). Preparations were applied at the beginning of vegetation, before flowering and before harvesting.

Applied preparations had a positive influence on the number of young and mature canes in all treated plantations, compared to untreated. Also, the positive effect of the applied nutrients was also recorded on the height and thickness of mature canes, as well as on the yield and quality of the raspberry fruit.

Key words: Raspberry, nutrients, microorganisms, vegetative properties, yield

УВОД

Производството на малини в Република Сърбия има голямо значение за икономиката на страната. Износът на замразени малини носи приход от около 250 млн. евро годишно. Регионите за малинопроизводство в Сърбия са значително разширени през последните години благодарение на благоприятните агроекологични фактори и стимулирането на производителите дори в райони с неподходящи условия (Petrović et al., 2017). Малините са много чувствителни към неблагоприятни почвени условия и технологична недисциплинираност, поради което се срещат много често проблеми в производството. Най-често срещаните са: неподходящ избор на място и подготовка на почвата, недостатъчно органично вещество в субстрата и пълно отсъствие или прекомерно прилагане на минерални торове. Всичко това води до лошо състояние на растенията, намален добив, понижено качество на плодовете, а много често се наблюдава внезапно изсъхване на стъблата и загиване на всички растения в насаждението преди края на пролетта и началото на лятото (Leposavić et al., 2015).

INTRODUCTION

Raspberry production in the Republic of Serbia has a great importance for the economy of the country. Export of frozen raspberries makes a foreign inflow of about 250 million euros per year. Raspberry production regions in Serbia have been significantly expanded in recent years due to favorable agro-ecological factors and stimulation of growers for this production even in areas with inadequate conditions (Petrović et al., 2017). Raspberries are very sensitive to inadequate soil conditions and technological indiscipline, and therefore problems in production occur very often.

The most common are: inadequate site selection and preparation of soil, insufficient organic matter in the substrate, and the complete absence or excessive application of mineral fertilizers.

All this results in poor plant condition, decreased yield, reduced fruit quality, and very often there is a sudden drying of canes and decay of all plants in the plantation before the end of spring and early summer (Leposavić et al., 2015).

Добивът и качеството на плодовете и целесъобразността на производството зависят от много фактори, като сортови характеристики, климатични фактори, технология на отглеждане и използване на органоминерални торове (Leposavić et al., 2013; Pešaković et al., 2013; Zorenc et al., 2017).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследвано е влиянието на два вида препарати върху вегетативните, генеративните и помологичните характеристики на няколко сорта малини при различни агроекологични условия на Сърбия. Във всички насаждения е инсталирана система за капково напояване, като за поддръжката са приложени обичайните агротехнически мероприятия. Опитите са организирани на четири места. Първото насаждение със сорт "Виламет" се намира в Ступчевици близо до Ариле, (43°42,681, N, 20°07.033 E, надморска височина 358 m, измерена с GPS устройство Garmin Etrex). Почвата в насажденията е с неутрална реакция, със средно съдържание на хумус, високо съдържание на азот и изключително високо (вредно) съдържание на фосфор и калий. Според американската класификация на механичния състав, почвата принадлежи към категорията глина.

Второто насаждение със същия сорт е разположено в Буковица край Иваница (43°36.574 N, 20°11.324 E, надморска височина 453 m). Почвата в насаждението е глинесто-песъчлива, с кисела до неутрална реакция, със средно съдържание на хумус, високо съдържание на азот и изключително високо (вредно) съдържание на фосфор и калий. Третото насаждение със сорт „Мийкър“ се намира край Власинското езеро (42°40.968 N, 22°21.825 E, надморска височина 1300 m). Почвата е глинесто-песъчлива, силно кисела до киселинна, със средно съдържание на хумус и азот, ниско съдържание на фосфор и високо

Yield and fruit quality and the viability of the production depend on many factors, as cultivar characteristics, climate factors, applied method of cultivation and use of organomineral fertilizers (Leposavić et al., 2013; Pešaković et al., 2013; Zorenc et al., 2017).

MATERIAL AND METHODS

The influence of two types of preparations on vegetative, generative and pomological characteristics of several raspberry cultivars in different agro-ecological conditions of Serbia was studied. A drop irrigation system has been installed in all plantations and the usual agro- and pomotechnical measures have been applied for maintenance. The trials were set up at four localities. The first plantation of cultivar ‘Willamette’ was located in Stupčevići near Arilje, (43°42,681’N, 20°07,033’E, altitude 358 m, measured by a GPS device Garmin Etrex). The soil in the plantation was of neutral reaction, with medium humus content, high nitrogen content and extremely high (harmful) content of phosphorus and potassium. According to the American classification of the mechanical composition, this soil belonged to the category clay.

The second plantation with the same cultivar was located in Bukovica near Ivanjica (43°36.574’N, 20°11.324’E, altitude 453 m). The soil in the orchard was sandy loam, acidic to neutral reaction, with medium humus content, high nitrogen and extremely high (harmful) phosphorus and potassium content.

The third plantation with the cultivar ‘Meeker’ was located at the Vlasinsko Lake (42°40.968’N, 22°21.825’E, altitude 1,300 m). The soil was sandy loam, highly acid to acid, with medium content of humus and nitrogen, low content of phosphorus, and high content of

съдържание на калий. Четвъртото насаждение със сорт "Фертоди заматош" е разположено в Миличево село близо до Пожега (43°47.476 N, 20°06.303 E, надморска височина 314 m). Почвата е глинесто-песъчлива, кисела до слабо кисела, с ниско съдържание на хумус, средно азотно съдържание и богата на фосфор и калий. Сорт "Полка" се отглежда в пето насаждение под полиетиленов тунел в Миличево село (43°47.490 N, 20°06.164 E, надморска височина 327 m). Глинесто-песъчливите почви са с оптимална киселинна реакция за малината, изключително ниско съдържание на хумус и с ниско съдържание на азот, фосфор и калий.

Във всички насаждения са използвани препарати, съдържащи микро- и макроелементи, микроорганизми и аминокиселини. Те са прилагат по два начина: почвено (поливане) и листно (над листа). Препарат EM Naturalnie Aktywny (Гренландия Технология EM., Полша), който се прилага почвено, има следното съдържание: свободни аминокиселини - 10%, общо органично вещество - 18%, общ азот (N) - 3%, общ фосфор (P_2O_5) - 1%, общ калий (K_2O) - 1% листното третиране се извършва с Isabion (Syngenta, Швейцария) едновременно с почвеното торене. Изабионът съдържа: общ азот - 10.9% (органичен 10%, амонячен0.9%), органичен въглерод - 29.4%, общо органично вещество и аминокиселини - 62.5%, свободни аминокиселини 10.3%.

Препаратите са приложени в началото на вегетацията, преди цъфтеж и преди прибиране на реколтата. Изследвано е тяхното влияние върху вегетативните и репродуктивни характеристики, добив и качество на малиновите плодове.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите, представени в Таблица 1 показват, че във всички третирани насаждения има по-голям брой млади стъбла на метър, в

potassium. The fourth plantation with cultivar ‘Fertodi Zamatos’ was located at Milićevo Selo near Požega (43°47.476’N, 20°06.303’E, altitude 314 m).

The soil was sandy loam, acid to slight acid, with low humus content, mean nitrogen content and rich in phosphorus and potassium. Cultivar ‘Polka’ was cultivated in fifth plantation under plastic tunnel in Milićevo Selo (43°47.490’N, 20°06.164’E, altitude 327 m). The sandy loam soil was of optimal acidity reaction for raspberry, extremely low in humus content and with low nitrogen, phosphorus and potassium content.

Preparations containing micro- and macro-elements, microorganisms and amino acids were used in all plantations. These preparations have been applied in two manners: through soil (watering) and foliar (over leaf). The preparation EM Naturalnie Aktywny (Greenland Technologia EM, Poland), which was applied through the soil, had the following content: free amino acids - 10%, total organic matter - 18%, total nitrogen (N) - 3%, total phosphorus (P_2O_5) - 1%, total potassium (K_2O) - 1%. Foliar treatments with Isabion (Syngenta, Switzerland) were performed at the same time with soil aplications. Isabion contained: total nitrogen content - 10.9% (organic 10%, ammonia 0.9%), organic carbon - 29.4%, total organic matter and amino acids - 62.5%, free amino acids 10.3%.

Preparations were applied at the beginning of vegetation, before flowering and before harvesting. The influence of these products on vegetative and generative properties, fertility and quality of raspberry fruit was evaluated.

RESULTS AND DISCUSSION

The results presented in Table 1 showed that in all treated plantations there were a larger number of young canes per meter in the comparison to the

сравнение с нетретираните. Най-голяма разлика в броя на младите (нови) стъбла на метър от реда, между третирани и нетретирани растения, е установена при малиновото насаждение от сорт "Виламет" в местността „Буковица“ - 55 стъбла (411 третирани и 356 нетретирани). Подобни резултати са установени при сорт "Полка", отглеждан под полиетиленов тунел, където броят на младите стъбла при третираните растения е по-голям с 60 (520 третирани и съответно 460 нетретирани). Независимо от третирането, сорт "Виламет" има значително по-голяма продукция от младите стъбла, в сравнение с "Фертоди заматош" и "Мийкър", което съответства с резултатите, получени от Leposavić et al., (2015b), представени в проучването на вегетативните характеристики и добива на няколко сорта малини, които плододават на двугодишни летораст, отглеждани в Западна Сърбия.

untreated ones. The largest difference in the number of young (new) canes per meter of row between treated and untreated plants was in the raspberry ‘Willamette’ plantation at the Bukovica locality - 55 canes (411 in treated and 356 in untreated). A similar results were obtained in raspberry ‘Polka’ grown under plastic tunnel where the number of young canes in treated plants was higher by 60 (520 treated and 460 untreated, respectively).

Regardless of the treatment, raspberry ‘Willamette’ had a significantly larger production of young canes than ‘Fertodi Zamatos’ and ‘Meeker’, which is in agreement with the results obtained by Leposavic et al., (2015b) presented in the study of vegetative characteristics and yield of several floricane raspberry cultivars grown in Western Serbia.

Таблица 1. Брой млади стъбла, брой зрели стъбла, средна височина и диаметър на зрели стъбла в малинови насаждения
Table 1. Number of young canes, number mature canes, average height and diameter of mature canes in raspberry plantations

Местоположение Locality	Сорт Cultivar	Бр. млади стъбла (на m) Number of young canes per m	Бр. зрели стъбла (на m) Number of mature canes per m	Височина на стъбло Cane height (cm)	Диаметър на стъбло на 40 cm над земната повърхност (mm) Cane diameter at 40 cm above the ground (mm)
Stupčevići третирани/treated	‘Willamette’	340	14,0	239,1	11,3
Stupčevići, нетретирани/untreated	‘Willamette’	298	11,2	223,1	10,7
Bukovica третирани/treated	‘Willamette’	411	14,12	236,3	13,1
Bukovica нетретирани/untreated	‘Willamette’	356	13,9	220,1	12,6
Vlasina третирани/treated	‘Meeker’	277	11,6	247,9	13,8
Vlasina нетретирани/untreated	‘Meeker’	233	9,9	234,4	13,8
Milićevo selo, третирани/treated	‘Fertodi Zamatos’	310	12,6	235,6	13,2
Milićevo selo, нетретирани/untreated	‘Fertodi Zamatos’	275	11,1	226,8	12,9
Milićevo selo, третирани/treated	‘Polka’	520	25,4	198,6	14,4
Milićevo selo, нетретирани/untreated	‘Polka’	460	22,2	183,0	14,1

Положителното влияние на прилаганите препарати, съдържащи макро- и микроелементи и микроорганизми, също продуцира по-голям брой плододаващи стъбла при всички третирани растения, в сравнение с нетретираните, което съответства на резултатите на Pešaković et al. (2013). В допълнение, положителното въздействие на прилаганите хранителни вещества се наблюдава във височината и дебелината на зрелите стъбла. Най-голямата разлика във височината на зрелите стъбла е регистрирана в малиновото насаждение в Буковица. Средната височина на зрелите стъбла в насаждението е 236.32 cm при третирани растения, в сравнение с 220.12 cm при нетретирани (разлика от16.20 cm). Най-малка разлика във височината на зрелите стъбла е 8.76 cm при сорт "Фертоди заматош" в местността Миличево село. Що се отнася до дебелината на зрелите стъбла, най-голямата разлика (измерена на височина от 40 cm над земята) е регистрирана при сорт "Виламет" в местността Ступчевици - 0.65 cm (съответно 11.31 cm ри третирани и 10.66 cm нетретирани растения).

Метеорологичните условия през по-голямата част от вегетационния период не са благоприятни за развитието на малиновите растения. Поради прекомерните валежи, има голям брой загниващи растения в изследваните насаждения. Прилаганите препарати имат положително влияние върху третираните растения и не се наблюдава загиване на стъблата в третираните участъци на насаждението. Значителен процент загинали стъбла е регистриран в други (нетретирани) участъци на насаждението.

При малиновите насаждения в Буковица и Власинско езеро е отчетен добив от стъбло и от единица площ. Получените резултати са представени в Таблица 2.

The positive influence of the applied preparations, that contain macro- and micro elements and microorganisms, also induced the production of a greater number of fruiting canes in all treated plants compared to untreated, which is in agreement with the results of Pešaković et al. (2013). In addition, the positive impact of the applied nutrients was observed in the height and thickness of mature canes. The largest difference in the height of mature canes was recorded in raspberry plantation in Bukovica.

The average height of mature canes in this plantation was 236.32 cm in treated plants, compared to 220.12 cm in untreated (difference 16.20 cm). The least difference in the height of mature canes was 8.76 cm in raspberry ‘Fertodi Zamatos’ in locality Milićevo Selo.

Regarding the thickness of mature canes, the largest difference (measured at a height of 40 cm above the ground) was recorded in raspberry ‘Willamette’ in locality Stupčevići - 0.65 cm (11.31 cm treated and 10.66 cm untreated plants, respectively).

Weather conditions during most of the vegetation did not favor the development of raspberry plants. Because of the excessive precipitation, there was a large number of decaying plants in examined plantations. Applied preparations had a positive effect on treated plants and no wilting of canes was observed in the treated parts of the plantation. A significant percentage of wilt canes was recorded in other (untreated) parts of the plantation

In raspberry orchards in Bukovica and Vlasina Lake, fruit yields per cane and per unit area were measured. Obtained results are presented in Table 2.

Таблица 2. Добив от стъбло и единица площ в малинови насаждения
Table 2. Yield per cane and unit of area in raspberry plantations

Местоположение и сорт Locality and cultivar	Бр. плодни стъбла (на m) / Number of fruiting canes (per m)	Общ бр. плодни стъбла (от ha-1) Total number of fruiting canes (per ha^{-1})	Добив от стъбло (g) Yield per cane (g)	Добив от единица площ (kg ha^{-1}) / Yield per unit area (kg ha^{-1})
Bukovica 'Willamette', третирани/treated	5,8	23.200	710	16.472,00
Bukovica 'Willamette', нетретирани/untreated	5,7	22.800	650	14.820,00
Vlasina 'Meeker', третирани/treated	5,5	22.000	620	13.640,00
Vlasina 'Meeker', нетретирани/untreated	5,5	22.000	590	12.980,00

Най-висок добив от стъбло и единица площ е получен от третирани растения на сорт "Виламет" в местността Буковица (710 g, 16.472 kg ha^{-1}). Нетретираните растения в същото насаждение имат по-нисък добив от 1.652 kg ha^{-1} в сравнение с третираните растения (650 g от стъбло и 14.820 kg ha^{-1}). Подобен резултат е постигнат при сорт "Мийкър" в района на Власинското езеро, където третираните растения имат по-висок добив от 660 килограма от единица площ в сравнение с нетретираните растения (съответно 13.640 kg ha^{-1} и 12.980 kg ha^{-1}).

Резултатите от маса на плода и химичните свойства на плодовете от изследваните насаждения са показани в Таблица 3.

Плодовете на всички сортове, набрани от третирани растения са по-едри и имат по-високо съдържание на разтворими сухи вещества, отколкото плодовете от нетретирани растения (Таблица 3).

Най-едри плодове са набрани от третирани растения от сорта "Полка", отглеждани под полиетиленов тунел (4.4 g), а най-дребни плодове (3.4 g) са получени от нетретирания варриант на сорт "Фертоди заматош".

The highest yield per cane and per unit area was obtained in treated 'Willamette' plants in Bukovica locality (710 g, 16.472 kg ha^{-1}). Untreated plants in the same plantation had a 1.652 kg ha^{-1} lower yield compared to the treated plants (650 g per cane and 14.820 kg ha^{-1}).

A similar result was achieved in raspberry 'Meeker' at the Vlasina Lake, where the treated plants had higher yield for 660 kilograms per unit area compared to untreated plants (13.640 kg ha^{-1} and 12,980 kg ha^{-1}, respectively).

The results of the fruit mass and chemical properties of the fruits from the examined plantations are shown in Table 3.

The fruits of all cultivars picked from treated plants were larger and had a higher content of soluble dry matter than fruits picked from untreated plants (Table 3).

The largest fruits were picked from treated plants of cultivar 'Polka' grown under plastic tunnel (4.4 g) and the smallest fruits (3.4 g) were picked from untreated 'Fertodi Zamatos' plants.

Таблица 3. Маса на плода и химически характеристики на плода
Table 3. Fruit mass and chemical properties of fruits

Местоположение и сорт Locality and cultivar	Маса на плода Fruit mass g	Разтворими сухи вещества Soluble dry matter %	pH	Общо съдържание на киселини Total acids %	Общи захари Total sugar %	Редуцирани захари Reducing sugar %	Захароза Sucrose %
Stupčevići 'Willamette', третирани/treated	4,1	9,2	3,20	1,68	5,76	4,56	1,14
Stupčevići 'Willamette', нетретирани/untreated	4,0	8,5	3,35	1,43	5,04	4,20	0,80
Bukovica 'Willamette', третирани/treated	4,5	9,5	3,26	1,73	5,64	4,14	1,42
Bukovica 'Willamette', нетретирани/untreated	4,2	9,4	3,28	1,64	5,28	4,08	1,14
Vlasina 'Meeker', третирани/treated	3,9	10,5	3,18	1,50	5,52	4,98	0,51
Vlasina 'Meeker', нетретирани/untreated	3,7	9,8	3,19	1,62	5,76	5,10	0,63
Milićevo selo, 'Fertodi Zamatos', третирани/treated	3,5	10,8	3,22	1,42	6,12	5,49	0,60
Milićevo selo, 'Fertodi Zamatos' нетретирани/untreated	3,4	10,4	3,26	1,56	5,76	4,85	0,86
Milićevo selo, 'Polka' третирани/treated	4,4	9,2	3,20	1,68	5,76	4,56	1,14
Milićevo selo, 'Polka' нетретирани/untreated	4,2	8,6	3,17	1,67	5,28	4,44	0,8

По отношение на съдържанието на разтворимо сухо вещество, най-високо съдържание (10.8%) е измерено в плодове от третирани растения на сорт "Фертоди заматош", а най-ниско съдържание (8.5%) е установено в плодове на сорт "Виламет", отглеждани в Ступчевици.

Плодовете, получени от третирани растения, имат по-висока стойност на общи захари, директно редуциращи захари и захароза, отколкото плодове от нетретирани растения. И обратно, плодове от нетретирани растения имат по-висока стойност на pH и общо киселинно съдържание, в сравнение с плодове от третирани растения.

Приложените препарати влияят и върху по-слаба проява на сиво гниене (Botrytis) в третираните площи от насажденията.

Regarding the content of soluble dry matter, the highest content (10.8%) was measured in fruits picked from treated plants of 'Fertodi Zamatos' and the lowest content (8.5%) of these substances was in the fruits of 'Willamette' grown in Stupčevići.

Fruits picked from treated plants had higher values of total sugars, directly reducing sugars and sucrose, than fruits from untreated plants. In contrast, fruits from untreated plants had higher values of the pH and total acid content compared to the fruits from treated plants.

The applied preparations also influenced on the less occurrence of Botrytis fruit rot in the treated areas of the plantation.

ИЗВОДИ

Получените резултати показват, че прилаганите препарати благоприят-

CONCLUSIONS

The obtained results indicated that the applied preparations had significant

стват значително вегетативните прояви, качеството на плодовете и добива на малината. По-голям брой млади и зрели стъбла, по-голяма височина и диаметър на 40 cm над земната повърхност са регистрирани при третираните растения. Освен това, третирането допринася за по-висок добив от стъбло и единица площ в сравнение с нетретираните растения от две насаждения (Буковица и Власинско езеро).

Значително по-добри качества на плодовете са отчетени при растенията от третираните варианти.

Прилаганите препарати оказват положително въздействие върху растенията за преодоляване състояния на физиологичен стрес и намаляване загиването на растения в периоди на прекомерни валежи. Значително влияние се оказва и върху намаляване на сивото гниене (Botrytis) при третирани растения в сравнение с нетретираните.

influence on the improvement of vegetative traits, fruit quality and raspberry yield. Higher number of young and mature canes, their higher height and diameter at 40 cm above the ground were recorded in treated plants. The treatment also contributed to higher yields per cane and unit area compared to untreated plants in two plantations (Bukovica and Vlasinsko Lake).

Also, significantly better qualitative characteristics were detected in fruits picked from treated plants.

Applied preparations had a positive effect on the plants to overcome the state of physiological stress and on the decrease of plant wilting during periods of excessive precipitation. Significant influence was also observed on the decrease of Botrytis fruit rot appearance in treated plants compared to untreated plants.

БЛАГОДАРНОСТИ

Министерството на образованието, науката и технологичното развитие на Сърбия финансира настоящето проучване чрез проекти TR-31064 и TR-31093.

ACKNOWLEDGEMENTS

The Ministry of Education, Science and Technological Development of the Serbia, funded this work through the projects TR-31064 and TR-31093.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Leposavić, A., M. Janković, D. Đurović, B. Veljković, Z. Keserović, B. Popović and O. Mitrović**, 2013. Fruit Quality of Red Raspberry Cultivars and Selections Grown in Western Serbia. *Horticultural Science*, 40 (4), 154-161.
2. **Leposavić, A., D. Jevremović and S. Stamenković**, 2015 a. The Intensity of the Fungus Leptosphaeria coniothyrium (Fuckel) Sacc. Attack in Willamette and Meeker Raspberry Plantations. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 18 (1), 137-147.
3. **Leposavić, A., D. Đurović, Z. Keserović and D. Jevremović**, 2015 b. Vegetative and Yield Potential of Cultivars and Selection of Raspberry Cultivated in Conditions of West Serbia. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(1), 153-159.
4. **Petrović, S., A. Leposavić and D. Jevremović**, 2017. Raspberry - the Management, Processing and Marketing. Scientific Pomological Society of Serbia, Čačak, pp. 1-258.
5. **Pešaković, P., Ž. Karaklajić-Stajić, S. Milenković and O. Mitrović**, 2013: Biofertilizer Affecting Yield Related Characteristics of Strawberry (Fragaria × ananassa Duch.) and Soil Micro-organisms. *Scientia Horticulturae*, 150: 238-243.
6. **Zorenc, Z., R. Veberic, D. Koron and M. Mikulic-Petkovsek**, 2017. Impact of Raspberry (Rubus idaeus L.) Primocane Tipping on Fruit Yield and Quality. *Not. Bot. Horti Agrobot Cluj-Napoca*, 45, 417-424.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (2), 143-153
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Състояние и перспективи на производството от ягодоплодни култури

Веселка Антонова

Агробиоинститут, 1164 София, България

State and Perspectives of Production of Small Fruits

Veselka Antonova

AgroBioInstitute, 1164 Sofia, Bulgaria
E-mail: veselka__antonova@abv.bg

Review paper

Received: 08.05.2019 *Accepted:* 06.06.2019 *Published:* 05.08.2019

РЕЗЮМЕ

Обект на статията са промените, настъпили в отглеждането на ягодоплодните култури в света и в България през периода 2013-2017 г. Наред с основните култури ягода и малина са включени и по-малко познатите френски грозда, бодливо грозде, черна и червена боровинка, които намират все по-голямо разпространение и приложение в здравословното и диетично хранене. Проследени са темповете на производство, заети площи и средни добиви. Производството на ягодоплодни култури в света варира от 10 384 447 t върху площи от 735 093 ha през 2013 г. до 12 006 261 t със заети площи от 809 673 ha през 2017 г. Тенденцията е към увеличаване на производството, което в най-висока степен се наблюдава при ягодата.

Ключови думи: производство, ягода, малина, къпина, френски грозда, бодливо грозде, черна боровинка, червена боровинка

SUMMARY

The objectives of the article are the current changes in the farming of strawberry cultures in the world and in Bulgaria, observed in the period between 2013 and 2017. In addition to the primary cultures, the strawberry and the raspberry, the lesser known currants, gooseberry, blueberry and cranberry are also included, all of which are increasingly spreading and find a broader range of implication for a healthy and dietetic nutrition. The production rates, areas occupied and average yields have been traced. The production of berries in the world varies between 10 384 447 tonnes in areas ranging from 735 093 ha in 2013 up to 12 006 261 tonnes in areas occupying 809 673 ha in 2017. The trend shows an increase of production mainly with strawberries.

Key words: production, strawberry, raspberry, blackberry, currants, gooseberry, blueberry, cranberry

Ягодоплодните (дребноплодни) заемат важна част от отглеждането на трайни насаждения. Към тях се отнасят ягодите, малините, къпините, френски-

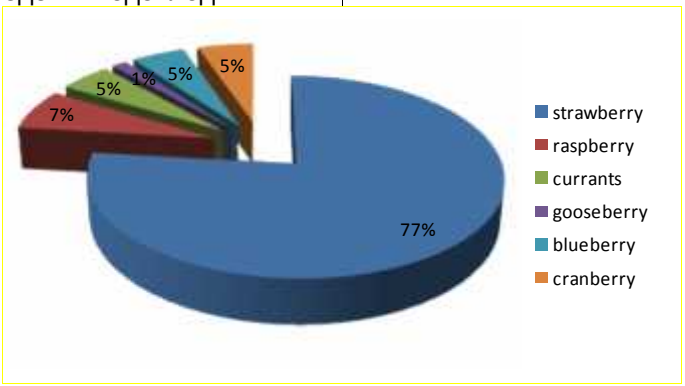
The strawberry cultures (the small berries) are a major factor when cultivating perennials. Strawberries, raspberries, blackberries, currants (black,

те грозда (черно, червено, бяло, златисто), бодливото грозде и боровинките (черна и червена). Някои от тях, като ягодата и малината са широко застъпени в промишлените насаждения. Всички ягодоплодни са изключително подходящи за отглеждане в дворните градини. Тези видове рано започват да плододават, дават високи и почти сигурни добиви още през първите години, когато останалите овощни само растат, без да плододават. Ягодата дава добиви още на първата година след засаждането, а останалите на третата и четвъртата встъпват в пълно плододаване. При това от малки площи се получава значителна продукция. Плодовете им започват да зреят в края на пролетта и началото на лятото преди плодовете на другите овощни и зеленчукови видове. Размножават се бързо. Притежават отлични вкусови качества, отличават се с високо съдържание на витамини, минерални соли, антиоксиданти, захари и др. и са подходящи както за прясна консумация, така и за преработка и замразяване.

Според данни на ФАО от ягодоплодните култури най-слабо се отглежда бодливото грозде, неговия дял е 1 % т.е. 169 369 t произведени плодове през 2017 г. (Фигура 1). Френските грозда и боровинките си поделят второто място (5 %). Водеща е ягодата, на която се падат 77 % от всички произведени ягодоплодни.

red, white and gold), gooseberries, blueberries and cranberries fall within this group. A few of them, such as the strawberry and the raspberry, are widely used in industrial plantations. All of the strawberry varieties are suitable for cultivation in courtyard gardens. These varieties begin bearing fruit early; they give high yields as early as the first year, while the remaining fruit-bearing plants are still growing and not fruiting. The strawberry produces fruits on its first year after planting, while the remainder of the varieties come into full fruitfulness on the third or fourth year. A significant production rate is noted at smaller areas. The fruit of the berries start maturing at the end of spring and the beginning of summer before the other vegetable and fruit varieties. They propagate very quickly. They are distinguished with their high amount of vitamins, minerals, antioxidants, sugars, etc; and are suitable for direct consumption, processing and freezing because they have perfect taste quality.

According to FAO, out of all the strawberry cultivars, the least cultivated is the gooseberry, whose area is 1%, or 169 369 tonnes of produced fruit in 2017 (Figure 1). The currants and berries come at second place – 5%. Leader is the strawberry that forms 77% of the entire fruit production.



Фиг. 1. Структура на ягодоплодните култури (2017 г.)
Fig. 1. Structure of small fruits in the world (2017)

Производство на ягоди. Ягодата е дребноплоден овощен вид с широк ареал на разпространение. Световното производство на ягодови плодове непрекъснато нараства - от 7 879 108 t през 2013 г. до 9 223 815 t през 2017 г. (Таблица 1, Фигура 2). Данните по континенти показват, че лидер е Азия (4 605 124 t – 2017 г.), изпреварвайки значително Европа (1 655 191 t). На трето място е Северна Америка с 1 477 652 t, от които 1449280 t ягоди са произведени в САЩ. Налице е нарастване на ягодопроизводството и в Африка, макар и не толкова значително (426 092 t/2013 г. – 589 990 t/2017 г.). През периода (2015-2017 г.) най-високи добиви са отчетени в САЩ (6 795 kg/da), Испания (5 285 kg/da), Мексико (4 754 kg/da), Мароко (4 459 kg/da) и Гърция (4 006 kg/da).

Strawberry production. The strawberry is a small fruit-bearing variety, with a wide area of distribution. The global production of strawberry fruits is continuously increasing – from 7 879 108 tonnes in 2013, to 9 223 715 tonnes in 2017. (Table 1, Figure 2). Data collected from all continents show that Asia is the leader (4 605 124 tonnes – 2017), ranking ahead of Europe (2 655 191 tonnes). In third place is North America with 1477652 t out of which 1 449 280 tonnes strawberries are cultivated just in the United States. The growth of strawberry cultivation in Africa is evident, despite it not being significant (426 092 tonnes/2013 – 589990 tonnes/2017). In the period 2015-2017, the highest yield was reported in the USA (6 795 kg/da), Spain (5 285 kg/da), Mexico (4 754 kg/da), Morocco (4 569 kg/da) and Greece (4 006 kg/da).

Таблица 1. Производство от ягодоплодни култури (2013-2017)
Table 1. Production of small fruits (2013-2017)

Култура Culture	**Производство (t) / Година Production (t) / Year**				
	2013	**2014**	**2015**	**2016**	**2017**
Strawberry	7 879 108	8 154 169	8 765 242	9 059 557	9 223 815
Raspberry	588 114	628 163	676 447	841 899	812 735
Currants	683 892	633 652	627 174	661 765	578 348
Gooseberry	170 629	175 124	167 883	178 202	169 369
Blueberry	434 520	525 648	539 216	621 717	596 813
Cranberry	628 184	638 833	638 989	737 081	625 181
Средно / Average	**10 384 447**	**10 755 589**	**11 414 951**	**12 100 221**	**12 006 261**

В Европа са съсредоточени 17.94 % от производството на ягоди. Европейският пазар е силно наситен и конкурентен. През периода 2013-2017 г. годишното производство в европейските страни се е увеличило от 1 547488 t на 1 655 191 t. Най-голям производител е Испания, през 2017 г. са отглеждани 6 819 ha ягодови насаждения с общо производство 360 416 t. На второ място се нарежда Полша, която е един от основните производители и ягодовите растения заемат 49642 ha, а общото производство достига 177 921 t (2017 г.). На трето място

Concentrated in Europe are 17.94% of all strawberry production. The European market is heavily saturated and competitive. The annual production in the European countries for the period 2013-2017 has increased from 1 547 488 tonnes to 1 655 191 tonnes. Spain is the biggest producer; in 2017, 6 819 ha of strawberry plants were cultivated with a total production of 360 416 tonnes. Poland takes the second place, having harvested 175 652 tonnes (in 2017) on a 49 642 ha area.

At third place is the Russian federation

е Руската федерация с произведени 175652 t. На четвърто е Германия, чието производство през 2017 г. е 135 283 t от 14 156 ha площи. На пето място е Великобритания с 127 623 t ягодови плодове. Въпреки, че Италия е традиционен ягодопроизводител, тя е едва на шесто място с продукция от 125 335 t и площи от 4 855 ha. Франция отглежда ягоди основно в югозападните райони на страната и през 2017 г. са произведени 59 260 t плодове. Останалите европейски страни произвеждат сравнително малки количества ягоди.

with 175 652 tonnes, followed by Germany at fourth place with production of 135 283 tonnes in 2017 on a 14 156 ha area. At fifth place is Great Britain with 127 623 tonnes strawberry fruit. Despite Italy being a traditional strawberry producer, she comes at sixth place, with a production if 125 335 tonnes on an area of 4 855 ha. France cultivates strawberries primarily at the southwest regions and in 2017, 59 260 tonnes of fruit were cultivated. The remaining European countries produce relatively small amounts of strawberries.

Фиг. 2. Производство на ягоди
Fig. 2. Production of strawberries

Делът, който заема Азия от световното ягодопроизводство е 49. 93 %. Основни производители са Китай (3 717 283 t), Турция (400 167 t), РКорея (210 304 t) и Япония (158 702 t).

16.02 % от производството на ягодови плодове е в Северна Америка, с най-голям производител САЩ (1 449 280 t), следван от Мексико (658 436 t). В САЩ ягоди основно се произвеждат в Калифорния, Флорида и Северна Каролина.

Основни производители в Африка са Египет и Мароко, с продукция съответно 407 240 t и 161 793 t. Ягодовите плодове, произведени в тези страни задоволяват нуждата от пресни плодове в страните от Западна Европа през зимния период.

Out of the entire global production of strawberries, Asia occupies 49.93%. Main producers are China (3 717 283 tonnes), Turkey (400 167 tonnes), Republic of Korea (210 304 tonnes) and Japan (158 702 tonnes).

16.02 % of the strawberry cultivation is in North America, USA being the biggest producer (1 449 280 tonnes), followed by Mexico (658 436 tonnes). In the USA, the main locations for strawberry cultivation are California, Florida and North Carolina.

The leading producers in Africa are Egypt and Morocco, with production of 407 240 tonnes and 161 793 tonnes respectively. The strawberry fruit, grown in these countries meet the demand for fresh fruit in Western Europe in winter.

В България ягодовата култура е по-слабо застъпена на фона на малината. Наблюдава се тенденция към слабо нарастване на производството и намаляване на заетите площи (Таблица 1).

In Bulgaria, the strawberry cultivar is not as popular as the raspberry. There is a trend showing a slim increase in the production and a decrease in the cultivation area (Table 1).

Таблица 2. Ягодова и малинова продукция в България
Table 2. Strawberry and raspberry production in Bulgaria

Culture / Year	2014	2015	2016	2017
Production (t)				
Strawberries	4 203	4 999	5 150	5 359
Raspberries	4 569	6 845	8 398	7 476
Harvested areas (ha)				
Strawberries	672	756	670	655
Raspberries	1 191	1 522	1 833	1 863

Производство на малини и къпини. През 2013 г. в света са произведени 584 524 t малинови плодове, отглеждани върху 92 597 ha площи със средни добиви 631 kg/da (Таблица 1, Фигура 3). Макар и с по-слаби темпове, в сравнение с ягодата, и тук се наблюдава нарастване на производството т.е. през 2017 г. са получени 812735 t плодове, площите са 118 219 ha със средни добиви – 687 kg/da.

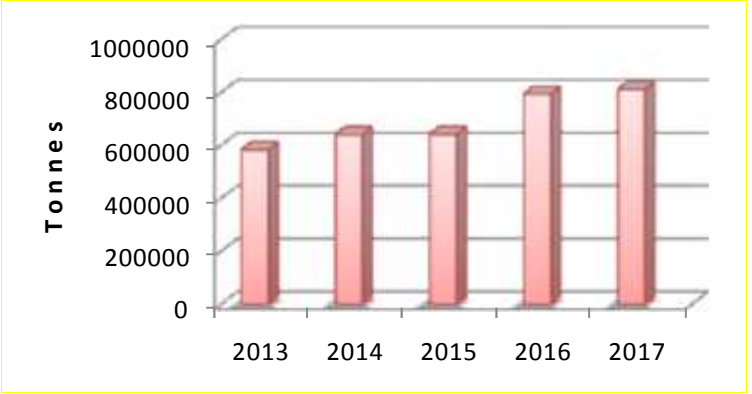
Малинопроизводството е концентрирано основно в Европа (66.4 %) и по-конкретно в Източна Европа, където през 2017 г. са произведени 295029 t малинови плодове. Основни производители са Руската федерация (146 377 t), Сърбия (109 742 t) и Полша (104 482 t). В Сърбия производството е концентрирано в западната част на страната и частично в някои южни части (Nikolić and Tanović, 2012; Keserović and Magazin, 2014). Сортовият състав не се е променял от двадесет години, доминиращ сорт е Willamette (90 %). На по-малки площи са разположени Meeker (5 %), Tulameen (3 %) и около 2 % от насажденията са заети със сортовете Polka, Heritage. Най-много площи заети с малинови насаждения се намират в Полша (29 317 ha), Сърбия (21 861 ha) и Русия (20 185 ha). Най-висок среден добив е отчетен в

Raspberry and blackberry production. The global production of raspberries in 2013 reaches up to 584524 tonnes of fruit on an area of 92 597 ha with a mean yield of 631 kg/da (Table 1, Figure 3). Even if at slower pace, compared to the strawberry, an increase in the production rate is noticeable, meaning 812 735 tonnes of fruit were harvested in 2017 at an area of 118 219 ha, with an average yields of 687 kg/da.

The raspberry cultivation is centred primarily in Europe (66.4%) and more specifically in Eastern Europe where in 2017 were cultivated 296 029 tonnes of raspberry fruit. Main producers are the Russian federation (146 377 tonnes), Serbia (109 742 tonnes) and Poland (104482 tonnes). The production in Serbia is focused in the western part of the country and partially in the southern parts (Nikolić and Tanović, 2012; Keserović and Magazin, 2014). The berry varieties have not changed in 20 years, Willamette being the dominant variety (90%). Smaller areas are occupied by Meeker (5%), Tulameen (3%) and around 2% of the plantations are occupied by Polka, Heritage. The majority of the areas with raspberry plantations are located in Poland (29 317 ha), Serbia (21 861 ha) and Russia (20185 ha). The highest average yield is in the USA – 1 283 kg/da, followed by

САЩ – 1 283 kg/da, следвани от Русия и Украйна, съответно 725 kg/da и 683 kg/da.

Russia and Ukraine, with 725 kg/da and 683 kg/da respectively.



Фиг. 3. Производство на малини
Fig. 3. Production of raspberries

В Северна Америка е съсредоточено 14.3 % от производството на малиновите плодове в света. Най-големи количества произвеждат САЩ (106 100 t) и Мексико (120 184 t).

В България малината е на първо място по отглеждане сред ягодоплодните култури. През 2014 г. засадените площи са 1 318 ha, а през 2017 г. – 1863 ha (Таблица 2). Най-големи площи с малинови насаждения се намират в Северна и Югоизточна България (1350 ha). Общото производство на малинови плодове се е увеличило от 4 569 t на 7 476 t. Произведените плодове намират приложение в направленията: ● за собствена консумация (0.4 %); ● за търговската мрежа (20.7 %); ● за преработка (69.8 %); ● в други направления (9.1 %) (Агростатистика, 2017).

През последните години производството на къпини нараства бавно, но непрекъснато. Това се дължи на все по-засилващия се стремеж на хората към консумацията на здравословни и разнообразни плодове.

От години Сърбия е лидер в производството на къпини в света. На второ място след малините къпините са най-разпространените дребноплодни в тази страна. Заемат площи повече

14.3% of the global production of raspberry fruit is located in North America. Largest quantities are produced by the USA (106 100 tonnes) and Mexico (120184 tonnes).

In Bulgaria, the raspberry ranks first in cultivation among the strawberry cultivars. In 2014 the planted areas are 1 318 ha, and in 2017 – 1 863 ha (Table 2). The largest areas with strawberry plantations are located in North and Southeast Bulgaria (1 350 ha). The total production of raspberry fruit has increased from 4 569 tonnes to 7 476 tonnes. The cultivated fruit find application in the following areas: ● consumption (0.4 %); ● commercial network (20.7%); ● processing (69.8%); ● other areas (9.1%) (Agrostatistics, 2017).

In the last few years the production of blackberries slowly but continuously increases. This is due to people's increasing aspiration towards the consumption of healthy and diverse fruits.

For years, Serbia has been a leader in the production of blackberries in the world. In second place after raspberries, the blackberries are the most common small berry in the country. They

от 4 000 ha, като производството е концентрирано основно в централните, северозападните и южните райони. Доминиращи са сортовете Čačanska Bestrna и Thorn Free, които представляват 95 % от къпиновото производство в страната (Nikolić and Milivojević, 2010). През периода на обновяване на къпиновите градини (през 2011 и 2012 г.) сортовете Loch Ness и Chester Thornless намериха широко разпространение (Keserović and Magazin, 2014). Технологията за отглеждане на къпините се прилага сравнително адекватно, а напояването е много по-често, отколкото при малините, въпреки че все още е недостатъчно (около 20% от овощните градини).

Един от големите производители на къпини са САЩ (въпреки Нова Зеландия и Чили), като по-голямата част от продукцията е предназначена за преработка (по данни на Stoller, Europe). Къпини се отглеждат в Орегон, Северна Каролина, Арканзас и Тексас. Орегон произвежда най-големи количества къпинови плодове, като през 2014 г. 2 471 ha са заети с къпинови насаждения (Mazolo, 2015). Мексико е също един от основните производители, чието производство на къпинови плодове е съсредоточено в централната част на страната. На площи от 6 500 ha – 8 000 ha се отглежда бразилския сорт Tupy, който е предпочитан от производителите, заради бързите темпове на растеж, високата родовитост и адаптивността към интензивната производствена система в субтропичните райони (Segura et al., 2012).

Производство на френски грозда. През разглеждания петгодишен период се наблюдава колебание в производството на френски грозда. През 2013 г. в света са произведени 683 892 t плодове от френски грозда от 116 817 ha (Таблица 2, Фигура 4). През 2017 г. се наблюдава известен спад в производството (578 348 t) и съвсем

occupy and area more than 4 000 ha, having the production concentrated mainly in the central, northwest and south regions. The varieties that dominate are Čačanska Bestrna and Thorn Free, representing 95% of the blackberry production in the country (Nikolić and Milivojević, 2010). In the period of blackberry garden renewal (2011 and 2012) the Lock Ness and Chester Thornless varieties found wide distribution (Keserović and Magazin, 2014). The cultivation technology for blackberries is applied relatively adequately and the irrigation is a lot more frequent compared to the raspberries, despite it still being insufficient (around 20% of all orchards).

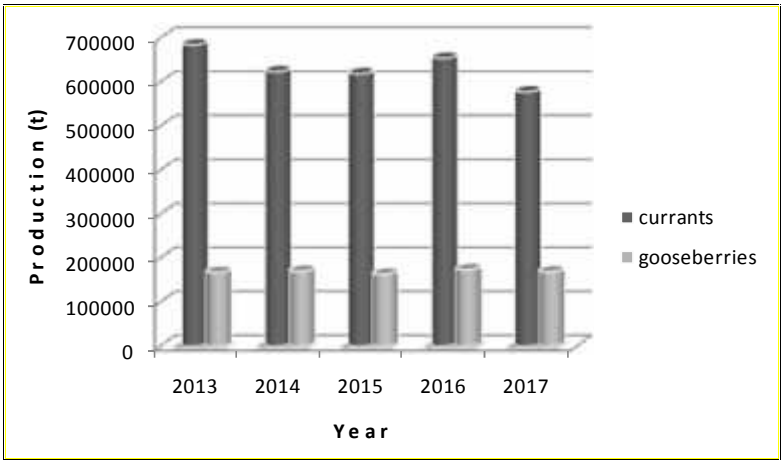
One of the major blackberry producers is the USA (in spite of New Zealand and Chile), and the bigger part of the production is meant for processing (according to data from Stoller, Europe). Blackberries are cultivated in Oregon, North Carolina, Arkansas and Texas. Oregon produces the largest quantities of blackberry fruit, just like in 2014, 2 471 ha were occupied by blackberry plantations (Mazolo, 2015). Mexico is also one of the primary producers whose blackberry cultivation is located in the central regions of the country.

Occupying areas between 6 500 ha and 8 000 ha, the Brazilian variety Tupy is cultivated and is preferred by the produces because of its fast growth rates, high fertility and adaptability to the intense production system in the subtropical regions (Segura et al., 2012).

Production of currants. During the course of the five-year period of testing, a fluctuation in the production of the currants can be observed. In 2013, 683 892 tonnes of currant fruit have been produced on a global scale, out of 116817 ha (Table 2, Figure 4). A decline in the production (578 348 tonnes) and slightly in the size of the areas (115 548 ha) is

слабо в размера на площите (115 548 ha). От общото количество произведени френски грозда, около 20-25 % се падат на червеното и бялото френско грозде и около 75-80 % на черното (касис). Основната култура от френските грозда е касиса, чието производство е концентрирано в Европа, около 98 % от световната продукция. Основни производители са Русия (351 304 t) и Полша (128 808 t). По-малки количества произвеждат Украйна (27 140 t), Великобритания (13 899 t) и Германия (12 470 t). С най-големи площи са Руската федерация (395 045 ha), Полша (166 110 ha) и Украйна (24 500 ha). При средните добиви също се наблюдава намаляване: 606 kg/da през 2013 г. на 500 kg/da (2017).

observed in 2017. Out of the entire quantity of produced currants, roughly 20-25% are red and white currants while 75-80% are black currants. The main cultivar of the currants is the black currant whose production is concentrated in Europe, around 98% of the entire world production. Leading producers are Russia (351 304 tonnes) and Poland (128 808 tonnes). Smaller quantities are produced by Ukraine (27 140 tonnes), Great Britain (13 899 tonnes) and Germany (12 470 tonnes). Largest areas for cultivation have the Russian federation (395 045 ha), Poland (166 110 ha) and Ukraine (24 500 ha). A decline in the average yields is noted: 606 kg/da in 2013 to 500 kg/da in 2017.



Фиг. 4. Производство на френски грозда и бодливо грозде
Fig. 4. Production of currants and gooseberry

В „Агростатистически справочник" към МЗХГ няма информация за производството в България на френски грозда, бодливо немско грозде и боровинки. Предполага се, че производството на тези култури е твърде ограничено, което означава, че на този етап нямат сериозно икономическо значение.

Производство на бодливо грозде. През 2013 г. в света са произведени 168 304 t плодове от бодливо грозде върху 29 573 ha площи

In the Agrostatistical handbook from the ministry of agriculture and food, there is no available information on the production of currants and berries in Bulgaria. It is assumed that the production of these cultivars is too limited; meaning that at this stage, no real economic significance exists.

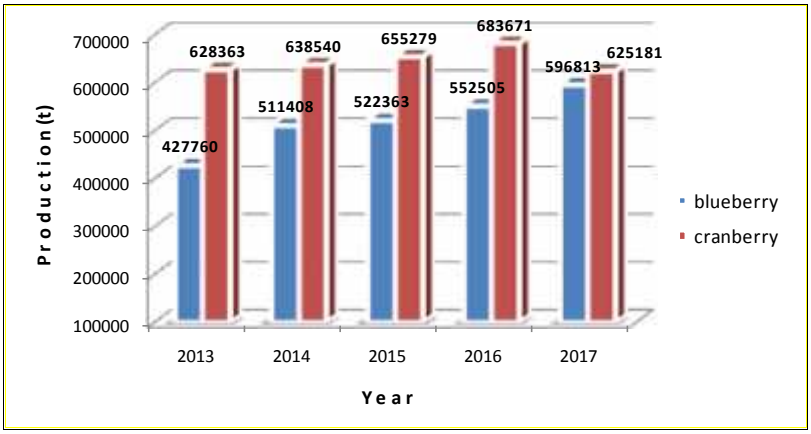
Production of gooseberry. 168304 tonnes of gooseberry fruit were produced in 2013 on area of 29 573 ha (Faostat). No significant changes in the

(Faostat). През 2017 г. не се наблюдават значителни промени в производството и заетите площи, т.е. те са много сходни с тези от 2013 г., съответно 169 369 t и 29 436 ha. Основни производители на бодливо грозде са Германия (86 480 t, 2017 г.) и Руската федерация (58 551 t), както и с най-големи площи, съответно 12 295 ha и 12 089 ha. По-малки количества бодливо грозде отглеждат Полша (9 457 t), Украйна (7 820 t), Великобритания (2 538 t), Чехия (2 231 t). Високи средни добиви се получават в Швейцария (1 728 kg/da), Украйна (1 318 kg/da) и Великобритания (825 kg/da).

Производство на боровинки. В света през 2013 г. са произведени 434 520 t черни боровинки, които през 2017 се увеличават на 596 813 t (Таблица 1, Фигура 5). В Европа през първата година на разглеждания период производството е 58 876 t, през 2017 г. се наблюдава нарастване почти два пъти – 100 304 t. Основни производители са Полша (14 721 t) и Германия (10 710 t). С около осем пъти повече е производството в Северна Америка (448 002 t), което е концентрирано в САЩ (236 621 t) и Канада (160 246 t). Тази култура на големи площи се отглежда в Канада (54 535 ha) и САЩ (37 555 ha). С високи средни добиви се отличават Холандия (1 021 kg/da), САЩ (716 kg/da) и Германия (394 kg/da).

production and occupied area were observed in 2017, meaning they are extremely similar to those in 2013 – 169 369 tonnes and 29 436 ha. Leading producers of gooseberry are Germany (86 480 tonnes, 2017) and the Russian federation (58 551 tonnes); they also occupy the largest areas – 12 295 ha and 12 089 ha respectfully. Smaller quantities of gooseberry is grown by Poland (9 457 tonnes), Ukraine (7 820 tonnes), Great Britain (2 538 tonnes), Check Republic (2 231 tonnes). High mean yields are received in Switzerland (1 728 kg/da), Ukraine (1 318 kg/da) and Great Britain (825 kg/da).

Production of blueberries. In 2013 in the world 434 520 tonnes of blueberries were produced, which in 2017 increased to 596 813 tonnes (Table 1, Figure 5). During the first year of the trial in Europe the production is 58 876 tonnes, in 2017 the increase is almost double – 100 304 tonnes. Main producers are Poland (14 721 tonnes) and Germany (10 710 tonnes). The production of North America, which is concentrated in the USA (448 002 tonnes) and Canada (160 246 tonnes) is almost eight times larger. At larger areas, this crop is cultivated in Canada (54 535 ha) and the USA (37 555 ha). Distinguished with high average yield are the Netherlands (1 021 kg/da), the USA (716 kg/da) and Germany (394 kg/da).



Фиг. 5. Производство на черни и червени боровинки
Fig. 5. Production of blueberries and cranberries

В България през 2017 г. по данни на FAO са произведени 99 t плодове от черна боровинка, отглеждани върху 13 ha със среден добив 763 kg/da, но в отдел „Агростатистика" на МЗХГ няма налична информация.

През 2013 г. са получени 628 184 t червени боровинки от 40 260 ha (Faostat). През 2017 г. се наблюдава незначително намаляване на производството (625 181 t), а заетите площи са 41 085 ha. Основно се отглежда в САЩ (379 745 t), Канада (125 568 t) и Чили (103 169 t). Средните добиви през последните пет години се движат в границите 1521-1772 kg/da. САЩ достигат най-висок добив през 2016 г. в размер на 2 600 kg/da, а Канада през 2014 г. с 2 543 kg/da.

Според Faostat в България през 2017 г. са произведени 85 t червени боровинки върху площи от 68 ha със среден добив 125 kg/da.

Based on FAO data, In 2017 in Bulgaria are produced 99 tonnes of blueberry fruit, cultivated on 13 ha with an average yield of 763 kg/da, however in Agrostatistics by the ministry of agriculture and food no available information exists.

In 2013, 628 184 t of cranberries were produced on 40 260 ha (Faostat). In 2017 there is an insignificant decrease in production (625 181 tonnes), and the occupied area is 41 085 ha. They are mainly produced in the USA (379 745 tonnes), Canada (125 568 tonnes) and Chile (103 169 tonnes). The average yields in the last five years fall within 1521-1772 kg/da. Highest yields come from the USA in 2016 – 2 600 kg/da, and Canada in 2014 with 2 543 kg/da.

According to Faostat in 2017 in Bulgaria are produced 85 tonnes of cranberries on areas of 68 ha with an average yield of 125 kg/da.

ИЗВОДИ

Производството на ягодоплодни култури продължава да расте. В световен мащаб с най-бързи темпове на развитие е ягодата. Само при нея се наблюдава непрекъснато нарастване на производството през периода 2013-2017 г.

Малиновата култура добива все

CONCLUSIONS

The production of strawberry cultivars continues to grow. On a global scale, the strawberry has the fastest development rates. A continuous increase in production within the period of 2013-2017 is observed only with the strawberry.

The raspberry cultivar is gaining

по-голямо разпространение и икономическо значение, както в света, така и в България.

При френските грозда и бодливото (немско, цариградско) грозде се наблюдава лек спад в производството.

В България от ягодоплодните култури основно се отглежда малината. При производството на ягоди се наблюдава поддържане на почти едно ниво през последните няколко години.

bigger distribution and economic significance all over the world and in Bulgaria.

A slight decline in the production of currants and gooseberries is observed.

From the strawberry varieties, in Bulgaria raspberries are mostly grown. In the last few years, a steady trend in strawberry production is observed.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. „Production of fruit – harvest ’2013 - 2017” MZHG, Department „Agrostatistics” (Bg).
2. **Keserović, Z. and N. Magazin**, 2014. Fruit Growing in Serbia - State and Prospects. Conference "Utilisation of the Census of Agriculture 2012 data in analysing status of agriculture and agricultural policy making in the Republic of Serbia„ 28 - 30 May 2014 (Sr).
3. **Mazolo, G.**, 2015. California State Polytechnic University, Pomona. Agricultural sciences.
4. **Nikolić, M., B. Tanović**, 2012. Rubus and Ribes Industry in Serbia as a Production Model for Developing Countries. *Acta. Hort*. 946: 405-412 (Sr).
5. **Segura, S., A. Rebollar-Alviter, J. Boyzo-Marin, M. Hernandez-Bello and J. Lopez-Medina**, 2012. Genetic Resources of Blackberry Wild Species in Michoacan, Mexico. *Acta Hort.* (ISHS) 946: 107-111.
6. **Nikolić, M. and J. Milivojević**, 2010. Small Fruits - Cultivation Technology. Scientific fruit association of Serbia, Čačak (Sr).
7. http:/fao.org/faostat
8. https: //stollereurope.com

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (2), 154-161
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на системите за поддържане на почвата върху съдържанието на хранителни елементи в листата при сливовия сорт Катинка

Георги Попски*, Боряна Стефанова

Институт по планинско животновъдство и земеделие, ул. „Васил Левски" 281, 5600 Троян, България

Impact of the Soil Maintenance Systems on the Nutrient Content in the Leaves of 'Katinka' Plum Cultivar

Georgi Popski*, Boryana Stefanova

Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 281 Vasil Levski Str. 5600 Troyan, Bulgaria
**E-mail: g.popski@abv.bg*

Original scientific paper

Received: 03.05.2019 *Accepted:* 30.05.2019 *Published:* 05.08.2019

РЕЗЮМЕ

Изследването е проведено в ИПЖЗ - Троян през периода 2014-2017 г. Сливово насаждение от сорт Катинка се отглежда при неполивни условия, върху типични за района псевдоподзолисти, светло сиви горски почви, характеризиращи се с кисела реакция, ниско съдържание на хумус, слабо запасени с хранителни вещества.

Проучено е влиянието на различни варианти на поддържане на почвената повърхност (угар, естествен тревостой, изкуствен тревостой), върху съдържанието на хранителни елементи (N, P, Ca), в листата на сливовите дървета.

Съдържанието на азот в листата през изследвания период и при трите варианта на поддържане на почвата е по-ниско от утвърдените средни нива.

Установено е, че съдържанието на фосфор и калций в листата при затревените варианти е по-високо, в

SUMMARY

The study was conducted in RIMSA-Troyan during the period 2014-2017. The plum tree plantation with 'Katinka' cultivar is grown under non-irrigated conditions on typical for that region pseudopodzolic light-gray forest soils, characterized by acid reaction, low humus content and substances that are poorly stocked with nutrients.

The impact of different soil surface maintenance variants was studied (fallow, natural grassland, artificial grassland) on nutrient content (N, P, Ca) in the leaves of plum trees.

The nitrogen content in the leaves during the survey period in all the three variants of soil maintenance was lower than the established average levels.

It was found that phosphorus and calcium content in leaves of grass covered variants was higher than the

сравнение с варианта угар. Отчетени са високи нива на тези елементи, в затревените варианти през периода на проучване. При варианта естествен тревостой през 2016 г са отчетени извънредно високи стойности на P2O5 – 0.46%; CaO – 4.33%.

Ключови думи: съдържание на хранителни елементи в листата, поддържане на почвата, слива

fallow variant. High levels of these elements were reported in the grass covered variants during the survey period. Extremely high values of P2O5 (0.46%) and CaO (4.33%) were recorded in the variant with natural grassland in 2016.

Key words: nutrient content in the leaves, soil maintenance, plum

УВОД

Сливовата култура в планинските райони се отглежда основно върху слабо продуктивни почви, бедни на хранителни вещества, при поддържане в угар или зачимяване на цялата площ. Научни изследвания показват, че след продължително поддържане на почвата в черна угар, рязко се влошават агро физичните й свойства (Merwin, 2004).

Методът на листната диагностика, използван заедно с данни от анализ на почвата, дава достоверна представа за закономерностите в храненето на растенията и предоставя възможност за регулирането му (Krishkov et al., 2005).

Химичният състав на листата на овощните дървета се променя под влиянието на сезонни колебания в климата, прилаганата агротехника, сорт, подложка, местонахождение, възраст на дърветата и др. фактори (Martin-Prevel et al., 1987; Pacholak, 1990; Failla et al., 1990).

Анализ на листа, 120 дни след пълен цъфтеж, може да бъде много точен метод за хранителна диагностика при слива (Singh-Sidhuand Kaundal, 2005).

От направените изследвания у нас, върху химичния състав на сливови листа, повечето автори препоръчват листните проби да се вземат след затихване на растежа, фенофаза която настъпва при различни климатични условия през юли-август (Vitanova, 1979).

Целта на настоящото проучване е да се установи влиянието на различни системи на поддържане на

INTRODUCTION

Plum crops in mountain areas are grown mainly on poorly productive, nutrient-poor soils, maintained on fallow terrains or areas thoroughly covered by grass. Scientific studies show that after a long-term maintenance of soil in fallow, its agro-physical properties deteriorate sharply (Merwin, 2004).

The leaf diagnostics method, used along with soil analysis data, gives a fair idea of the patterns of plant nutrition and provides an opportunity for its regulation (Krishkov et al., 2005).

The chemical composition of leaves of fruit trees changes under the impact of seasonal variations in climate, the applied agro-technology, cultivar, rootstock, location, age of the trees and other factors (Martin-Prevel et al., 1987; Pacholak, 1990; Failla et al., 1990).

Leaf analysis, 120 days after full flowering stage, can be a very accurate method of nutritional diagnostics for plums (Singh-Sidhuand Kaundal, 2005).

Most of the authors suggest that the leaf samples should be taken after the growth rate is slows down, a phenophase that occurs under different climatic conditions in July-August (Vitanova, 1979).

The purpose of this study is to determine the effect of different systems of soil maintenance in the plum plantation

почвата в сливово насаждение, върху съдържанието на азот, фосфор и калций в листата на дървета от сорт Катинка.

on the content of nitrogen, phosphorus and calcium in the leaves of 'Katinka' trees.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът е проведен през 2014-2017 г. в ИПЖЗ-Троян в сливово насаждение от сорт Катинка, създадено през 2010 г., на площ от 8 da, върху псевдоподзолиста почва слабо запасена с хранителни вещества (Таблица 1). Изложението на склона е северозападно, с наклон 4-5°. Дърветата са засадени в посадъчни ями заредени с 30 kg оборски тор и 400 g суперфосфат при схема 5x3 m.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out in 2014-2017 at RIMSA-Troyan in a plum plantation of 'Katinka' cultivar, established in 2010 in an area of 8 da, on a pseudo-podzolic soil, poorly stocked with nutrients (Table 1). The exposure is northwestern exposure with a slope of 4-5°. The trees were planted in planting pits stocked with 30 kg of manure and 400 g of superphosphate in 5x3 m scheme.

Таблица 1. Химичен състав на почвата в опитния участък за 2015 г.
Table 1.Chemical soil composition in the experimental site in 2015

Дълбочина Soil depth	pH		∑ N	P2O5	K2O	Ca	Хумус
cm	H2O	KCl	NH4+NO3 mg/kg	mg/100g	mg/100g	Cmol/kg	%
0-20	5.1	4.7	15.0	5.2	25.3	10.6	2.32
0-40	5.1	4.1	8.6	1.1	14.9	17.0	1.17

Установено е съдържанието на азот, фосфор и калций в листата при следните варианти:

1. Черна угар – поддържане на междуредията в угар, чрез дикскуване;

2. Естествен тревостой – зачимяване на междуредията с естествени многогодишни треви;

3. Изкуствен тревостой – зачимяване на междуредията с тревна смеска от бобови и житни треви в съотношение (1:1), с видовете: звездан и червена власатка, при посевна норма 5 kg/da;

Листните проби за анализ са вземани ежегодно през август и са обработени в химическа лаборатория на ИПЖЗ-Троян, по методи както следва:

- азот (%) – по Келдал
- фосфор (%) – колориметрично при редуктор хидразин сулфат
- калций (%) – комплексометрично

The nitrogen, phosphorus and calcium content of the leaves was determined in the following variants:

1. Fallow - the interrows are maintained as a fallow by disking;

2. Natural grassland - the interrows are covered by turfgrass of natural perennial grasses;

3. Artificial grassland - interrows are covered by turfgrass of grass mixture from legume and grasses in ratio (1:1) with bird's-foot-trefoil and red fescue at a seeding rate of 5 kg/da;

The leaf samples for analysis were taken annually in August and were processed in the chemical laboratory of RIMSA-Troyan according the methods as follows:

- nitrogen (%) - according to Kjeldahl
- phosphorus (%) - colorimetrically with hydrazine sulfate reducer
- calcium (%) - complexometric

Резултатите от химичните анализи се сравняват със стандартни стойности, така че се получава рейтинг на хранителния статус на овощната градина. Таблица 2 дава стандартни стойности за съдържание на химичните елементи в листа от сливи Agriculture.vic.gov.au, (2017):

The results of the chemical analyzes were compared with standard values, so that the nutrition status of the orchard was obtained. Table 2 gives standard values for the content of chemical elements in the plum leaves Agriculture.vic.gov.au, (2017):

Таблица 2. Степен на запасеност с основните хранителни елементи в листа при слива
Table 2. Level of nutrient storage in plum leaves

Element	Deficient Недостиг	Low Ниско	Normal Нормално	High Високо	Excess Излишък
N%	<1.7	1.7-2.3	2.4-3.0	3.1-4.0	4.0+
P%	<0.09	0.09-0.13	0.14-0.25	0.26-0.40	0.40+
K%	<1.0	1.0-1.5	1.6-3.0	3.1-4.0	4.0+
Ca%	<1.0	1.0-1.4	1.5-3.0	3.1-4.0	4.0+

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

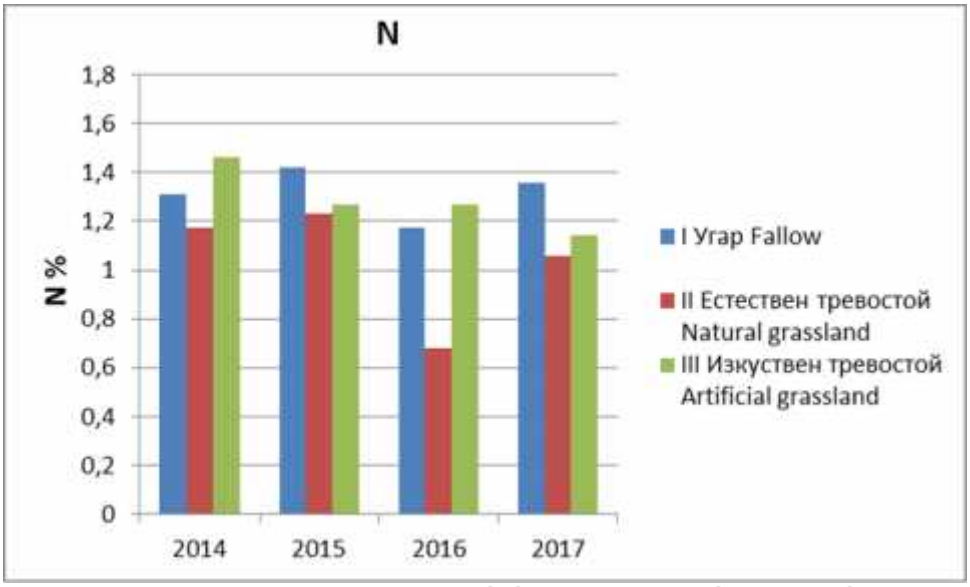
При залагане на опита 2014 г. с по-висока азотна концентрация (1,46%) са листните проби на дърветата от вариант 3 – изкуствен тревостой, следван от вариант 1 – угар, а с най-ниска концентрация на азот (1,17%) е 2-ри вариант (естествен тревостой). Тенденцията за най-ниска концентрация на азот в листата при 2-ри вариант (естествен тревостой) се запазва и през останалите три години, особено през 2016, когато е отчетена най-ниската стойност от 0,68% азот, наполовина по-малко, в сравнение с другите два варианта (Фигура 1).

По-висока азотна концентрация през изследвания период е отчетена при листните проби от дърветата на първи вариант (угар). В сравнение с варианта естествен тревостой разликата е около 0,3 %.

RESULTS AND DISCUSSION

At the setting of the experiment in 2014, the foliar samples of the third variant had higher nitrogen concentration (1.46 %) in the artificial grassland, followed by variant 1 - fallow, whereas the lowest nitrogen concentration (1.17 %) was found in the 2nd variant (natural grassland). The tendency for the lowest nitrogen concentration in the leaves in the 2nd variant (natural grassland) remained for the other three years, especially in 2016, when the lowest value of 0.68% nitrogen, half less, compared to the other two variants (Figure 1).

Higher nitrogen concentration during the study period was observed in leaf samples from trees of the first variant (fallow). Compared to the natural grassland variant, the difference is about 0.3%.



Фиг. 1. Съдържание на азот в листата (%), по варианти (2014-2017)
Fig. 1. Nitrogen content in leaves in different variants (2014-2017)

Близките стойности на концентрацията на азот в листата, между вариантите през изследваните години, показва че системата на поддържане на почвата не оказва съществено влияние при усвояването на азота.

Анализът на съдържанието на азот в листата на дърветата показва необходимост от внасяне на допълнително количество азот.

Нормата за азота е 2.4-3.0%, а за недостиг се смята под 1,7% (Таблица 2) Съдържанието на азот в листата на сорт Катинка през годините на изследването, в различните варианти на поддържане на почвата е наполовина по-малко от нормалните нива и под критичния праг (1.7%). Това от своя страна показва, че предпосадъчното органично и минерално торене при създаване на насаждението, не осигурява нужните запаси, да обезпечи растенията с необходимите количества азот, за оптимално развитие.

По отношение съдържанието на фосфор, няма съществена разлика между отделните варианти при

The close values of the nitrogen concentration in the leaves, among the variants during the years studied, indicate that the soil maintenance system has no significant effect on nitrogen uptake.

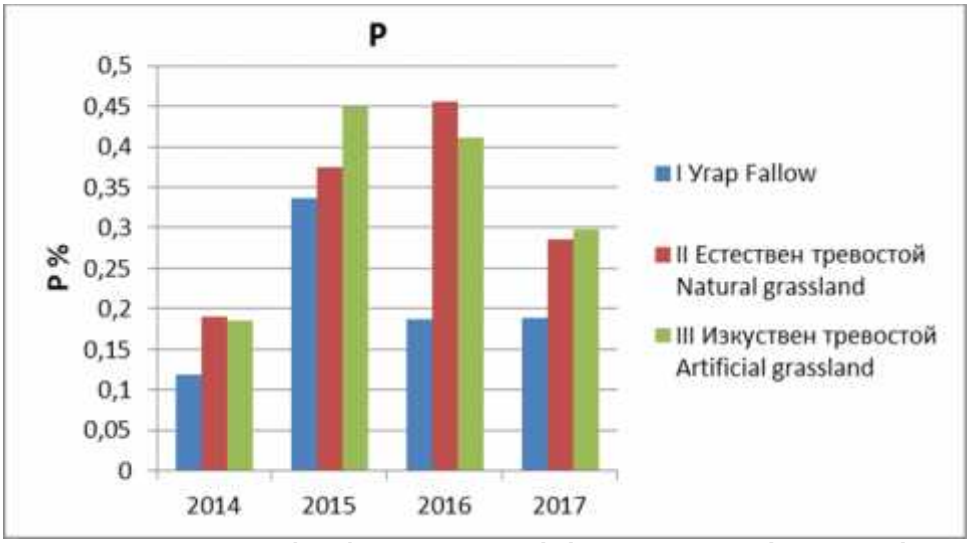
The analysis of nitrogen content in the leaves of the trees shows the need for introducing additional nitrogen.

The rate of nitrogen is 2.4-3.0% and the deficiency is considered to be less than 1.7% (Table 2). The nitrogen content in leaves of 'Katinka' cultivar during the years of the study, for the different variants of soil maintenance is half less than normal levels and below the critical threshold (1.7%). This, in turn, shows that pre-planting organic and mineral fertilization when establishing the plantation does not provide the necessary supplies, to provide the plants with the necessary amounts of nitrogen, for optimal development.

Regarding the phosphorus content, there is no significant difference between the different experimental variants in

залагане на опита 2014 г., като при затревяването (естествен и изкуствен тревостой) концентрацията на фосфор е с малко по-високи стойности (0,19%). Всички са в оптималните граници на обезпеченост по Таблица 2. През останалите години на изследвания период, съдържанието на фосфор в листата на затревените варианти е в пъти по-високо. Най-висока концентрация е отчетена при варианта естествен тревостой 2016 г. - 0,45% (Фигура 2). През 2015, 2016 и 2017 г., в затревените варианти е отчетено високо съдържание и излишък на фосфор в листните проби, следователно системата на поддържане на почвата оказва съществено влияние при усвояването на фосфора.

2014, as the phosphorus concentration had slightly higher values (0.19%) in grass covering (natural and artificial grassland). All variants are within the optimum limits of stockpile of nutrients in Table. 2. During the other years of the study period, the phosphorus content in leaves of grass covered variants was several times higher. The highest concentration (0.45%) was reported for the natural grassland variant in 2016 (Figure 2). In 2015, 2016 and 2017, the grass covered variants reported a high content and excess of phosphorus in the leaf samples, therefore the soil maintenance system had a significant impact on the absorption of phosphorus.



Фиг. 2. Съдържание на фосфор в листата (%), по варианти (2014-2017)
Fig. 2. Phosphorus in leaves, in different variants (2014-2017)

Анализът на съдържанието на фосфор в листата и при трите варианта за изследвания период показва, че те са достатъчно обезпечени, което не налага допълнително внасяне на фосфорни торове.

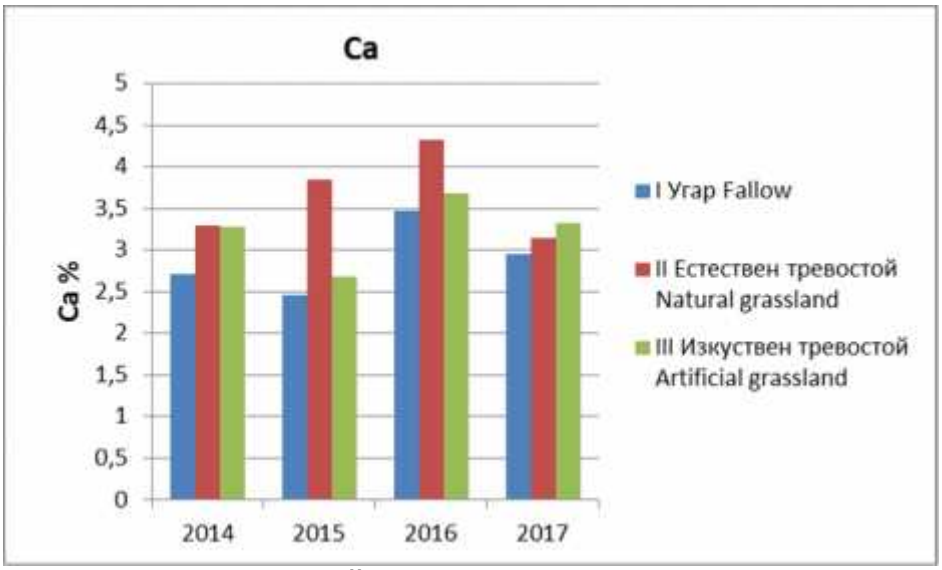
Съдържанието на калций в листата е в оптималната норма и при трите варианта за проучваните години.

Най-висока концентрация е отчетена през 2016 г. - 4.33% (Фигура 3).

An analysis of the phosphorus content in leaves in all three variants for the study period shows that they are sufficiently stockpiled, which does not require additional fertilizer application.

The calcium content in leaves was at the optimum rate in all three variants for the years studied.

The highest concentration (4.33%) was reported in 2016 (Figure 3).



Фиг. 3. Съдържание на калций в листата (%), по варианти (2014-2017)
Fig. 3. Calcium in leaves in different variants (2014-2017)

Наблюдават се разлики в съдържанието му, дължащи се на системата на поддържане на почвата. При затревените варианти се индуцира по-високо съдържание на калций в листата, в сравнение с варианта угар, като степента на запасеност е от висока до излишък.

There are differences in its content due to the soil maintenance system. The grass covered variants induce higher calcium content in leaves than the fallow variant, as the stockpile degree is because of excess storage.

ИЗВОДИ

През изследвания период, системата на поддържане на почвата не оказва влияние на азотната концентрация в листата на сорт Катинка. И в трите варианта се наблюдава недостиг на азот.

Поддържането на почвената повърхност в естествен и изкуствен тревостой има положителен ефект за усвояването на фосфор и калций, като нивата на концентрация в листата са високи и са над оптималните стойности.

Листната диагностика на това проучване показва, че при всички варианти на поддържане на почвата се налагат по-високи норми на азотно торене, докато при поддържане на почвата в чим (естествен и изкуствен тревостой), не е необходимо допълнително внасяне на фосфорни и калциеви торове.

CONCLUSIONS

During the study period, the soil maintenance system did not influence the nitrogen concentration in the leaves of 'Katinka' cultivar. In all three variants there is a nitrogen deficiency.

Maintaining the soil surface in natural and artificial grassland has a positive effect on the absorption of phosphorus and calcium, as the concentration levels in the leaves are high and above optimal values.

The foliar diagnostics of this study show that higher rates of nitrogen fertilization are required in all variants of soil maintenance, whereas when the soil is covered with turf (natural and artificial grassland), no additional application of phosphorous and calcium fertilizers is required.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Failla, O., A. Scienza, E. Mescalchin, C. Agnolin, G. Stringari and P. Fox**, 1990. Apple and Grapevine Leaf Analysis in Advisory Work in Trento District (Northern Italy). *Acta Hortic.,* 274, 129-140.
2. **Krishkov, E., V. Tasseva and D. Domozetov**, 2005. Leaf Nutrient Content of Apple Trees Grown under Two Management Systems. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 8, (4) 535-547.
3. **Merwin, I. A.**, 2004. Groundcover Management Effects on Orchard Production, Nutrition, Soil, and Water Quality. New York Fruit Quarterly 12, 25-29.
4. **Martin-Prével, P., J. Gagnard and P. Gautier**, 1987. Plant Analysis As a Guide to the Nutrient Requirements of Temperate and Tropical Crops. Lavoisier Publishing Inc Parsi, pp. 1-173.
5. **Pacholak, E.**, 1990. The Influence of Fertilization on the Leaf and Soil Content of Nutrient Elements, Growth and Yield of Cortland Apple Trees. *Acta Hortic.,* 274, 375-376.
6. **Singh-Sidhu, L. and G. S. Kaundal**, 2005. Effect of Planting Density on Fruit Yield, Foliar Nutrient Content and Root Distribution of Plum (Prunus salicinaindl.) cv. 'Satluj Purple'*. Acta Hortic.,* 696, 299-302.
7. **Vitanova, I.**, 1979. Relationship between the Level of Mineral Nutrition, the Chemical Composition and Some Biological Effects of the Plum. Dissertation, Plovdiv, Bulgaria.
8.http://agriculture.vic.gov.au/agriculture/horticulture/fruit-and-nuts/orchard-management/orchard-nutrition-2-soil-and-leaf-analysis Page last updated: 8 May 2017.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (2), 162-176 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Болестта шарка (*Plum pox virus*) в Сърбия – предишни изследвания и бъдещи перспективи за контрол

Дарко Йевремович*, Светлана А. Паунович

Изследователски институт по овощарство, Краля Петра I №9, Чачак, Република Сърбия

Sharka (*Plum pox virus*) in Serbia – Previous Research and Future Prospects for Its Control

Darko Jevremović*, Svetlana A. Paunović

Fruit Research Institute, Kralja Petra I 9, Čačak, Republic of Serbia
**E-mail: djevremovic@institut-cacak.org*

Review paper

Received: 13.05.2019 *Accepted:* 28.06.2019 *Published:* 05.08.2019

РЕЗЮМЕ

Plum pox virus (PPV, род *Potyvirus*) е причинител на болестта шарка, която се счита за най-пагубното вирусно заболяване при костилковите видове. От своето откритие през 1932 г. в България болестта се разпространява прогресивно в цяла Европа и други континенти, с изключение на Австралия. PPV причинява значителни загуби в добива и понижава качеството на плодовете при чувствителни сортове сливи, праскови и кайсии. Шарката е установена в Сърбия през 1935 г. и досега е потвърдено наличието на три основни щама (PPV-M, -D и -Rec). Преди петнадесет години в Изследователски институт по овощарство, Чачак, започна широко-мащабно проучване за наличието, разпространението, генетичното разнообразие и епидемиологията на щамовете на *Plum pox virus*.

В настоящото изследване са обобщени резултатите от наши полски и лабораторни изследвания, предста-

SUMMARY

Plum pox virus (PPV, genus *Potyvirus*) is the causal agent of Sharka disease that is considered the most detrimental viral disease of stone fruits. Since its discovery in 1932 in Bulgaria, the disease has spread progressively to entire Europe and other continents, except Australia. PPV causes significant yield losses and reduces fruit quality in sensitive plum, peach and apricot cultivars.

Sharka was reported in Serbia in 1935, and so far the presence of three major strains (PPV-M, -D and -Rec) was confirmed. Fifteen years ago, a large-scale study on the presence, distribution, genetic diversity and epidemiology of *Plum pox virus* strains has begun at the Fruit Research Institute, Čačak.

In this review, we summarized the results of our field and laboratory research and presented the future prospects for

вени са бъдещи перспективи за контрол върху болестта в Сърбия, където шарката е ендемична, за приемливо поддържане търговско производство на плодове.

Ключови думи: *Plum pox virus,* щамове, контрол на болестта

disease control in the country where Sharka is endemic to maintain feasible commercial fruit production.

Key words: *Plum pox virus*, strains, disease control

Синята слива се счита за един от най-традиционните сръбски плодове. Според данни на FAO (FAOSTAT), средното годишно производство на сини сливи в Сърбия за периода 2012-2017 г. е 404.109 t (FAOSTAT, 2017). Благоприятните климатични и почвени условия, икономическият интерес и традицията на отглеждане и преработка, правят синята слива водещ овощен вид в Сърбия. Производството на други костилкови плодове е значително скромно. За същия период средното годишно производство на кайсии и праскови е съответно 22.529 t и 84.694 t.

Plum pox virus (PPV) е често срещан патоген при костилковите видове в Сърбия. PPV е причинител на болестта шарка, която е най-пагубното вирусно заболяване при сини сливи, кайсии, праскови и нектарини. Няма официални данни за броя на заразените дървета с PPV в световен мащаб, но според оценката от 90-те години повече от 100 милиона костилкови плодни дървета са заразени в Европа (Roy and Smith, 1994). Появата на шарка има сериозни аграрни,, икономически и политически последствия. Намаляването на качеството и добива на плодовете, преждевременното опадане на плодовете са често срещаните проблеми в отглеждането на чувствителни сортове слива, кайсия и праскова. Според оценките, световните разходи (преки и непреки), свързани с PPV, възлизат на повече от 10 милиарда евро за период от три десетилетия (Cambra et al., 2006).

PPV за първи път е описан при синята слива (*Prunus domestica* L.) в България през 1932 г., а три години по-късно и в Сърбия (Atanasov, 1932;

Plums are considered one of Serbia's most traditional fruits. According to FAO's Food and agriculture database (FAOSTAT), the average annual production of plum fruits in Serbia in the period 2012−2017 was 404.109 t (FAOSTAT, 2017). Favorable climate and soil conditions, economic interest, and tradition of growing and processing made plum a leading fruit species in Serbia. Production of other stone fruits is considerably modest. In the same period, the average annual production of apricots and peaches was 22.529 t and 84.694 t, respectively.

A common pathogen of stone fruits in Serbia is *Plum pox virus* (PPV). PPV is the causal agent of the Sharka disease – the most detrimental viral disease of plum, apricot, peach and nectarine. There are no official data on the number of PPV infected trees worldwide, but according to the estimation from the 1990s, more than 100 million of stone fruit trees were infected in Europe (Roy and Smith, 1994).

Sharka occurrence has serious agronomic, economic and political consequences. Reduction of fruit quality and yield, premature fruit drop are the common problems in the growing of sensitive plum, apricot and peach cultivars. According to estimations, global costs (direct and indirect) associated with PPV amounts more than 10 billion Euros in the period of three decades (Cambra et al., 2006).

PPV was first described on European plum (*Prunus domestica* L.) in Bulgaria in 1932, and three years later in Serbia (Atanasov, 1932; Josifović, 1937).

Josifović, 1937). Оттогава болестта се е разпространила в цяла Европа и в много страни на други континенти, с изключение на Австралия.

Шарката присъства в Сърбия повече от 80 години и освен други фактори определя значителните промени в отглеждането на сини сливи. „Пожегача“, някога доминиращ сливов сорт , днес присъства само в стари и изоставени овощни градини. Основните сортове в плодопроизводството са „Стенлей“ и сортове, отглеждани в Изследователски институт по овощарство в Чачак ("Чачанска родна", "Чачанска лепотица", „Валевка“, "Чачанска найболя“ и др.). Въз основа на научната и икономическа значимост, PPV е един от 10-те най-важни растителни вируси в света (Scholthof et al., 2011). През последните две десетилетия се положиха големи усилия за подобряване на контрола и управлението на *Plum pox virus*.

PPV принадлежи към род *Potyvirus* от семейство *Potyviridae*. Потивирусите са много и са икономически важен род от растителни вируси. Геномът на PPV е типичен за род *Potyvirus* и съдържа една голяма рамка отворена за четене (ORF), изразена като полипротеинов прекурсор от 340-370 kDa, който ко- и пост-транслационно се разцепва от вирус-кодирани протеинази, до получаване на 10 протеинови продукта: P1, HC- Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, NIa, VPg, NIb и CP (Salvador et al., 2006). При друг кратък ORF - доста интересен Potyviridae ORF (PIPO) също се съобщава за Potyviruses (Chung et al., 2008).

Досега са признати десет PPV щама: PPV-M, -D, -EA, -C, -Rec, -W, -T, -CR, -An and -CV. Щамове PPV-M, -D и -Rec се считат за основни, които присъстват в много държави и заразяват сини сливи, кайсии и праскови. Други (незначителни) щамове са с географско значение или ограничено разпространени.

PPV предизвиква симптоми върху различни растителни органи: При

Since then, the disease has spread throughout Europe and many countries on other continents, except Australia.

Sharka is present in Serbia more than 80 years, and apart other factors, contributed to the significant changes in plum growing. ‘Požegača’, once dominant plum cultivar, is today only present in old and abandoned orchards. Major cultivars in the production are ‘Stenley’ and cultivars bred at the Fruit Research Institute in Čačak (‘Čačanska Rodna’, ‘Čačanska Lepotica’, ‘Valjevka’, ‘Čačanska Najbolja’ and others).

Based on the scientific/economic importance PPV is one of the ‘top 10’ plant viruses in the world (Scholthof et al., 2011). Great efforts were made in the past two decades to improve the control and management of the *Plum pox virus*.

PPV belongs to the genus *Potyvirus* in the *Potyviridae* family. *Potyviruses* are numerous and economically important genus of plant viruses. PPV genome is typical for *Potyvirus* and contains one large Open Reading Frame (ORF) expressed as a polyprotein precursor of 340-370 kDa that is co- and post-translationally cleaved by virus-encoded proteinases to produce 10 protein products: P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, NIa, VPg, NIb and CP (Salvador et al., 2006). Another short ORF - Pretty Interesting Potyviridae ORF (PIPO) was also reported for *Potyviruses* (Chung et al., 2008).

Ten PPV strains have been recognized so far: PPV-M, -D, -EA, -C, -Rec, -W, -T, -CR, -An and -CV. PPV-M, -D and -Rec strains are considered as major strains that are present in many countries and they infect plum, apricot and peach. Other (minor) strains are geographically or host limited.

PPV induce symptoms on different plant organs: leaves, flowers, fruits, seeds

чувствителни сортове симптомите по плодовете са тежки и PPV инфекцията ги прави неизползваеми и непродаваеми. При тежка инфекция при сорт "Пожегача" добивът може да падне с 80-100%.

PPV естествено заразява много културни костилкови видове като например: синя слива, японска слива (*P. salicina Lindl.),* праскова *(P. persica* (L.) Batsch), кайсия (*P. armeniaca L.),* череша *(P. avium* L), вишна (*P. cerasus* L.) и бадем (*P. amygdalus* L.).

PPV се пренася от въшки и над 20 вида са посочени като повече или по-малко ефективни приносители. Заразеният посадъчен и репродуктивен материал е основният начин за разпространение на вируса на далечни разстояния.

Изследване на вируса на PPV в Сърбия

Поради голямото си икономическо значение, шарката е най-изследваното вирусно заболяване при растенията в Сърбия. Проучването за наличие на *Plum pox virus* в Сърбия започна след откриването му в края на 30-те години на миналия век, но през 50-те години в Изследователски институт по овощарство в Чачак започват усилени изследвания. Целта на първите проучвания е да се установи въздействието на болестта върху различни сортове сливи, особено върху качеството на плодовете и загубите в добива, но също така и разпространението на болестта в насажденията. По-късните изследвания са насочени към изследване на най-подходящите тревни и дървесни индикаторни растения за биологични тестове (Jevremović and Paunović, 2014). Разработването на серологични техники (ELISA) подобрява и ускорява откриването на вируса в различни растителни проби. Методът ELISA е широко използван за откриване на PPV в проби от различни видове *Prunus* от началото на 80-те години (Ranković and Vuksanović, 1981).

and branches. In sensitive cultivars, symptoms on fruits are severe and PPV infection make them unusable and unmarketable. In severe infection of plum ‘Požegača’ yield loses can reach 80−100%.

PPV naturally infects many cultivated stone fruit species: European plum, Japanese plum (*P. salicina* Lindl.), peach (*P. persica* (L.) Batsch), apricot (*P. armeniaca* L.), sweet cherry (*P. avium* L.), sour cherry (*P. cerasus* L.) and almond (*P. amygdalus* L.).

PPV is aphid borne virus and more than 20 aphid species are reported as more or less efficient vectors. Infected planting and reproductive material is the main manner for long distance virus spread.

PPV research in Serbia

Because of its great economic importance, Sharka is the most studied plant viral disease in Serbia. The survey on *Plum pox virus* presence in Serbia started after its discovery in late 1930s, but intensive studies were initiated during 1950s at the Fruit Research Institute in Čačak.

First studies were aimed to investigate the impact of the disease on different plum cultivars, particularly on the fruit quality and yield loses, but also the disease spread within the orchards.

Later research was focused on the investigation of the most appropriate herbaceous and woody indicator plants for biological tests (Jevremović and Paunović, 2014). The development of serological techniques (ELISA) improved and speeded up the detection of the virus in different plant samples. ELISA technique was widely used for PPV detection in samples of different *Prunus* species since the beginning of 1980s (Ranković and Vuksanović, 1981).

През последните 15 години изследванията се съсредоточават върху прилагането на нови разработени протоколи за молекулярно откриване и характеризиране на PPV изолати. Основните цели на настоящото изследване са да се установи наличието, разпространението и епидемиологията на щамовете на PPV в Сърбия.

Характеристика на щама

По време на изследването, проведено от 2005 до 2013 г., са събрани и анализирани 618 проби от костилкови видове (Jevremović, 2008, 2013; Paunović и Jevremović, 2009). Голяма част от пробите са от синя слива (338), следвани от праскова (74), кайсия (56) и череши (150). Пробите са тествани чрез IC-RT-PCR тест, който позволява точно определяне на конкретния щам (-мове) във всяка изследвана проба. PPV е установен в 434 проби (70%). PPV-Rec е най-разпространеният щам, открит в 51.8% от пробите като самостоятелна и смесена инфекция. Наличие на PPV-M и PPV-D са почти еднакви в изследваните проби (при самостоятелни и смесени инфекции), съответно с 28.3% и 30.4%. И трите основни PPV щама са открити при слива и кайсия. В праскова са потвърдени само щамове PPV-M и PPV-D. Дори при висок заразен фон не е открито нито едно прасковено или нектариново дърво, заразено с щам PPV-Rec. Щамът PPV-Rec е характеризиран през 2004 г. от Glasa et al. (2004), и значителното му разпространение в страните от Източна и Средна Европа предполага неговото дългосрочно присъствие в тази област. При изследване на рекомбинантни PPV изолати от Сърбия, Glasa et al. (2005) изразиха хипотеза, че бивша Югославия е център на произход на щама PPV-Rec. Резултатите от последвал анализ на секвенцията на голям брой рекомбинантни изолати от Сърбия и други страни оспорват по-горното твърдение

In the last 15 years, the research was focused on the application of newly developed protocols for molecular detection and characterization of PPV isolates. The main goals of this research were to access into the presence, distribution and epidemiology of PPV strains in Serbia.

Strain characterization

During study performed from 2005 to 2013, a number of 618 samples of stone fruits were collected and analyzed (Jevremović, 2008, 2013; Paunović and Jevremović, 2009). The great majority of samples were from plum (338), followed by peach (74), apricot (56), and cherries (150). Samples were tested by IC-RT-PCR test that allowed proper characterization of present strain(s) in each tested sample. PPV was detected in 434 samples (70%). PPV-Rec was the most prevalent strain detected in 51.8% of the samples in single and mixed infections. PPV-M and PPV-D were almost equally detected in analyzed samples (in single and mixed infections), 28.3% and 30.4%, respectively.

All three major PPV strains were found in plum and apricot. In peach, only PPV-M and PPV-D strains were confirmed. Even in high inoculum pressure not a single peach or nectarine tree infected with PPV-Rec was found. PPV-Rec strain was characterized in 2004 by Glasa et al. (2004), and significant distribution of this strain in East and Middle European countries suggests its long-term presence in this area.

Analyzing recombinant PPV isolates from Serbia Glasa et al. (2005) put a hypothesis that former Yugoslavia is a center of origin of PPV-Rec strain. Results of further sequence analysis of the large number of recombinant isolates from Serbia and other countries disagree with this statement (Jevremović, 2013).

(Jevremović, 2013)

Всички основни PPV щамове са потвърдени в проучените находища в цяла Сърбия (Фигура 1). Географското разпределение на щамовете е в пряка зависимост от видовете гостоприемници. От откриването през 1935 г., PPV се е разпространил в цялата страна, заразявайки различни видове и сортове. Днес, според нашата оценка, около 70% от сливовите дървета са заразени.

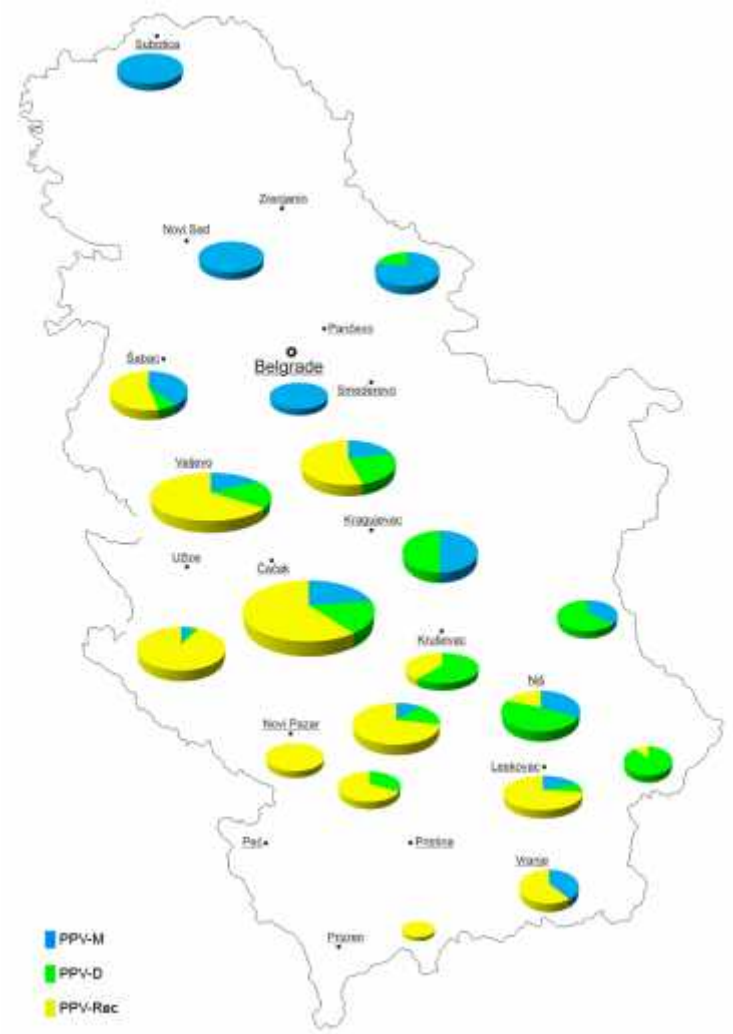
Всички сортове сливи, които се отглеждат в търговски насаждения, показват ясни симптоми на PPV инфекция по листата. Симптомите на шарка върху листата от кайсия и праскова не се забелязват лесно, както при слива или изчезват при високи летни температури, което затруднява визуалните изследвания. Няма оценка за процента на заразени кайсии и праскови. По време на нашите проучвания не е установена връзка на PPV щама и вида и интензивността на изразените листни симптоми.

При изследване наличието на PPV при череши не е открито нито едно черешово и вишнево дърво, заразено с *Plum pox virus* (Paunović и Jevremović, 2009). Щамове и изолати, пригодени към череши, естествено заразяват само черешите и вишните. Досега са описани три щама, които носят инфекцията по черешите: PPV-C, PPV-CR и PPV-CV (Chirkov et al., 2018). Тези изолати са открити в Русия, Беларус, Молдова, Унгария, Италия и Хърватия. Влиянието на PPV върху индустриалното производство на череши, все още не е известно. .

All major PPV strains were confirmed in surveyed localities throughout Serbia (Figure 1). Geographical distribution of strains was directly dependent on the host species. Since discovery in 1935, PPV has spread to entire country infecting different species and cultivars. Today, according to our estimation, about 70% of plum trees are infected.

All plum cultivars that are grown in commercial plum orchards express clear foliar symptoms of PPV infection. Sharka symptoms on apricot and peach leaves are not easily noticeable as in plum, or disappear during high summer temperatures making visual surveys complicated. There are no estimation for the percentage of infected apricot and peach trees. During our studies we have not found association of the PPV strain and the type and intensity of the expressed foliar symptoms.

Investigating the PPV presence in cherries not a single sweet and sour cherry tree infected with *Plum pox virus* was found (Paunović and Jevremović, 2009). Cherry-adapted strains and isolates naturally infect only sweet and sour cherries. To date, three strains infecting cherries were described: PPV-C, PPV-CR and PPV-CV (Chirkov et al., 2018). These isolates were detected in Russia, Belarus, Moldova, Hungary, Italy and Croatia. The PPV effect of on cherry industry is still unknown.



Фиг. 1. Разпространение на щамове на PPV в Сърбия (Jevremović and Paunović, 2014)
Fig. 1. Distribution of PPV strains in Serbia (Jevremović and Paunović, 2014)

Конкурентоспособност на щамовете

Изследвания на конкурентоспособността и динамиката на разпространението на щамовете PPV-Rec и PPV-D започват през 2008 г. (Jevremović, 2013). Изследването целеше да се установи разпространението на болестта в експериментални овощни градини от сливи и кайсии, като се използват съвременни молекулярни технологии. Експериментът е заложен в овощни градини от сливи и кайсии, засадени

Competitiveness of strains

The ongoing research on the competitiveness and dynamics of spreading of PPV-Rec and PPV-D strains has started in 2008 (Jevremović, 2013). The focus of the research was to evaluate the disease spread in plum and apricot experimental orchards using up-to-date molecular techniques.

The experiment was set up in plum and apricot orchards planted in 2008 in locality

през 2008 г. в местността Остра, Западна Сърбия. Разпространението на PPV щама се проследи в овощна градина с 400 сливови дървета от сорт „Чачанска лепотица“ и в кайсиева градина с 400 дървета от сорт „Роксана“. От началото на експеримента всички дървета ежегодно се проверяват визуално и се тестват чрез ELISA и IC-RT-PCR. Всички открити изолати са частично секвенирани (n-ter CP област) и анализирани.

Получените резултати показват, че PPV-Rec изолатите са конкурентни и потенциално по-заразни от PPV-D изолатите в сливовата градина при сръбските агроекологични условия (Jevremović et al., 2017). Подобно изследване в сливови насаждения е извършено и в България (Kamenova et al, 2017), потвърждавайки доминиращото разпространение на PPV-Rec. В градината от кайсии не е установено разпространение на болестта няколко години след засаждането (Jevremović, непубликувани резултати).

Епидемиология

Проведено е тригодишно проучване върху летателната активност и видовия състав на въшките, върху сливи и кайсии в Западна Сърбия (Jevremović et al., 2016). Популациите от листни въшки се наблюдават чрез метода на залепване по летораста, от края на април до края на септември. Открити и идентифицирани са повече от 40 различни вида, които посещават овощните градини от сливи и кайсии. Най-разпространените видове, идентифицирани през две от годините на проучването, принадлежат към род *Aphis*, а в една от годините на проучването *Myzocallis.* Дванадесет уловени вида са посочени преди това като PPV вектори: *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus), *Aphis fabae* Scopoli, *Aphis craccivora* Koch, *Aphis spiraecola* Patch, *Hyalopterus pruni* (Geoffroy), *Phorodon humuli* (Schrank), *Brachycaudus helichrysi*

Ostra, Western Serbia. PPV strain spread was followed-up in plum orchard of 400 ‘Čačanska Lepotica’ trees and apricot orchard of 400 ‘Roxana’ trees.

Since the beginning of the experiment, all trees were annually visually inspected and tested by ELISA and IC-RT-PCR. All detected isolates were partially sequenced (n-ter CP region) and analyzed.

Obtained results showed that PPV-Rec isolates are competitive and potentially more epidemic than PPV-D isolates within the plum orchard in Serbian agro-ecological conditions (Jevremović et al., 2017). Similar research in plum orchard was also performed in Bulgaria (Kamenova et al., 2017), confirming the dominance of PPV-Rec spread within the orchard. In apricot, there was no disease spread within the orchard several years after planting (Jevremović, unpublished results).

Epidemiology

A three-year study was conducted to evaluate flight activity and species composition of the aphids landing on plum and apricot trees in Western Serbia (Jevremović et al., 2016). Aphid populations were monitored using sticky shoot method from late April to late September. More than 40 different species were detected and identified that visit plum and apricot orchards. The most abundant species identified during two years of the study belonged to the genus *Aphis*, and *Myzocallis* in one year of the study.

Twelwe captured species were previously reported as PPV vectors: *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus), *Aphis fabae* Scopoli, *Aphis craccivora* Koch, *Aphis spiraecola* Patch, *Hyalopterus pruni* (Geoffroy), *Phorodon humuli* (Schrank), *Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach),

(Kaltenbach), *Myzus persicae* (Sulzer) *Brachycaudus cardui* (Linnaeus), *Aphis gossypi* Glover, *Macrosiphum rosae* (Linnaeus) и *Metopolophium dirhodum* (Walker). Максималните пикове на популации от листни въшки в градините от сливи и кайсии в Сърбия са регистрирани през пролетта.

Селекция

Разпространението на PPV не е контролирано в по-голямата част от Европа. Отглеждането на по-слабо чувствителни и/или толерантни сортове е една от най-важните мерки за контрол на PPV в държави с ендемично присъствие на PPV. Програмата за разработване на толерантни/резистентни към PPV сортове сливи в Сърбия започна през 80-те години в Изследователски институт по овощарство. Екипи от селекционери и вирусолози осъществяват дългосрочна програма за да се създадат нови сортове с по-добро качество на плодовете, но толерантни или устойчиви на PPV. Нови хибриди са тествани за чувствителност към PPV, чрез изкуствено заразяване с различни PPV щамове. Част от програмата включва оценка на хибриди при полски условия към PPV инфекция от листни въшки.

През последните 15 години в Института по овощарство са разработени девет нови сливови сорта, толерантни към PPV: "Милдора", "Тимочанка", "Боранка", "Позна Плава", "Златка", "Нада", "Дивна" и "Петра" (Lukić et al., 2016; Glišić et al., 2018). Всички посочени сортове се считат за толерантни, тъй като показват симптоми на PPV инфекция само по листа, а плодовете са без видими повреди. Два сорта сливи "Милдора" и "Златка" показват висока устойчивост при полски условия към PPV инфекция от листни въшки и представляват значителен ресурс за бъдещата селекция при слива.

Myzus persicae (Sulzer), *Brachycaudus cardui* (Linnaeus), *Aphis gossypi* Glover, *Macrosiphum rosae* (Linnaeus) and *Metopolophium dirhodum* (Walker). The maximum peaks of aphid populations in the plum and apricot orchards in Serbia were recorded during spring.

Plum breeding

The spread of PPV is not under control in most of Europe. Cultivation of less susceptible and/or tolerant cultivars is one of the most important measures for PPV control in countries with endemic PPV presence.

Plum breeding program for developing PPV tolerant/resistant cultivars in Serbia has started in 1980s at the Fruit Research Institute. Teams of breeders and virologists have been realizing this long-lasting program with the goal to create new cultivars of better fruit quality, but tolerant or resistant to PPV. New hybrids have been tested on the PPV susceptibility by artificial inoculation with different PPV strains. A part of the program includes hybrid evaluation in open field conditions to PPV infection by aphids.

In the past 15 years, nine new plum cultivars tolerant to PPV were released from the Fruit Research Institute: ‘Mildora’, ‘Timočanka’, ‘Boranka’, ‘Krina’, ‘Pozna Plava’, ‘Zlatka’, ‘Nada’, ‘Divna’ and ‘Petra’ (Lukić et al., 2016; Glišić et al., 2018). All stated cultivars are considered as tolerant as they express only foliar symptoms of PPV infection, but the fruits are without any visible damage.

Two plum cultivars ‘Mildora’ and ‘Zlatka’ showed high field resistance to PPV infection by aphids and may represent a significant source in plum breeding in the following period.

Контрол

В Сърбия няма текущи програми за ликвидиране на PPV. За да се извърши успешно ликвидирането, всички дървета от род *Prunus* в посочената зона трябва да бъдат отстранени. Поради латентния период, частичното ликвидиране (отстраняване само на дървета със симптоми на шарка) не е достатъчно. PPV е широко разпространен в Сърбия и изкореняването не е вариант за контрол. Полезна и необходима мярка е изкореняването на малки по размер площи, предназначени за производство на посадъчен материал на открито, отговарящи на всички законови разпоредби. Подобна мярка е проведена през 2008−2009 г. на централно място в Сърбия (Лазаревац, Крушевац) със значителен брой разсадници. Цел на програмата бе изкореняване на всички дървета от род *Prunus* от кадастъра на Община Лазаревац и да се създаде зона без PPV и по-широка буферна зона за разсадници. Всички производители бяха компенсирани за разходите по премахване на дърветата. Мерките дадоха положителни резултати, но програмата не беше разширена за по-обширна област.

Борбата срещу вируса на шарката в Сърбия е важна част от фитосанитарния контрол в страната. PPV е регулиран растителен патоген и методите за изследване и откриване са описани в Стандартната оперативна процедура за лабораторна диагностика на растения за *Plum pox virus*-PPV (Paunović и Jevremović, 2008). Маточни насаждения от костилкови ежегодно се проверяват визуално и всички дървета се изследват лабораторно за наличие на PPV, чрез серологични и молекулярни методи. Тази мярка е задължителна за маточни насаждения от сливи, кайсии, праскови и нектаринови Черешите не попадат в тези мерки за контрол, тъй като щамовете, адаптирани към череша, не присъстват в Сърбия. Визуалните проверки също са

Control

There are no ongoing programs for PPV eradication in Serbia. To conduct eradication successfully all *Prunus* trees from the stated area must be removed.

Because of the latency period, partial eradication (removal of only trees with Sharka symptoms) is not sufficient. PPV is widely dispersed in Serbia and eradication is not an option for the control. Useful and required measure is eradication of the small-scale areas intended for the production of planting material in an open field satisfying all law regulations. Such measure was conducted during 2008−2009 in a location in central Serbia (Lazarevac, Kruševac) with significant number of nurseries.

The aim of the program was to eradicate all *Prunus* trees from the cadastral municipality of Lazarevac and to create PPV-free area and wider buffer zone for nurseries. All producers were compensated for the costs of removing the trees. The measure gave positive results, but program was not expanded to wider area.

The control of Sharka virus in Serbia is important part of the phytosanitary control in the country. PPV is regulated plant pathogen and survey and detection methods have been described in the Standard Operating Procedure for plant diagnostic laboratories *Plum pox virus*-PPV (Paunović and Jevremović, 2008). Mother blocks of stone fruits are annually visually inspected and all trees are laboratory tested on PPV presence using serological and molecular methods.

This measure is obligatory for plum, apricot, peach and nectarine mother blocks. Cherries are not under this control because cherry-adapted strains are not present in Serbia. Visually inspections are also regular procedure for nurseries.

редовна процедура за разсадниците. Не трябва да има симпроми подобни на шарка по всички дървета и ако някой от тези симптоми е забелязан, растенията се подлагат на лабораторни анализи. Ако се открият инфектирани с PPV дървета в маточното насаждение, те трябва да бъдат ликвидирани и насаждението да бъде блокирано за една година. При потвърждение за наличие на PPV в разсадник, той преустановява и нито един посадъчен материал не може да излезе на пазара. Търговските насаждения не са обект на официален контрол върху наличието на PPV.

В Сърбия не съществуват специализирани институции за сертифициране на овощен посадъчен материал. За да се осъществи програма за сертифициране производството на посадъчен материал от сливи, Изследователският институт по овощарство предприема такава дейност през 2002 г. (Jevremović and Paunović, 2010). В резултат на това е произведен и проверен от Министерството на земеделието, горите и управлението на водите, предбазов материал от 14 сливови сорта.

Контролът на PPV е сложна задача в рамките на фитосанитарната система и всички участници в производството на костилкови плодове, от правителствени и научни институции, фитосанитарни служби, от производители на посадъчен материал до производители на плодове, трябва да участват.

Бъдещи перспективи

Програмата за селекция при сливи е една от ключовите теми в дейността на Изследователски институт по овощарство. Селекционерите и вирусолозите непрекъснато работят за създаване на нови сортове сливи с едри и висококачествени плодове, висока и редовна родовитост, ранно или късно узряване и толерантност към значимите заболявания и вредители, особено към PPV. Толерантността или резистентността към PPV е една от

All trees must be free from Sharka-like symptoms, and if any of these symptoms are noticed plants are subjected to the laboratory analysis. If PPV-infected trees are found in the mother block, they must be eradicated and the block is suspended for one year. For nurseries, if there is a laboratory confirmation of PPV presence the entire nursery is suspended and not a single planting material from the nursery block can enter onto the market. Commercial plantations are not a subject of any official control on the PPV presence.

Specialized institutions for certification of fruit planting material do not exist in Serbia. In order to implement the certification program in the production of plum planting material Fruit Research Institute has started this activity in 2002 (Jevremović and Paunović, 2010).

As a result, pre-basic material of 14 plum cultivars have been produced and verified by the Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management.

PPV control is a complex task within the phytosanitary system and all participants in the stone fruit production, from the government and scientific institutions, phytosanitary service, producers of the planting material to the growers should be included in its control.

Future prospects

Plum breeding program is one of the key topics of the Fruit Research Institute activity. Breeders and virologists are continuously working to create new plum cultivars with large and high quality fruits, high and regular fertility, early or late maturation time and tolerance to the significant diseases and pests, particularly to PPV.

Tolerance or resistance to PPV is one of the main prerequisite for successful

основните предпоставки за успешно отглеждане на костилкови видове при ендемичното присъствие на PPV. Нови сортове и хибриди ще бъдат изследвани при контролирани условия след изкуствено инокулиране с различни локални PPV изолати на основните щамове. Скоро признатите сортове сливи, като "Дивна" и "Петра", също ще бъдат изследвани при полски условия на няколко места с различно разпространение на PPV.

По-нататъшни проучвания върху щамовете на вируса ще бъдат насочени към изследване на възможното наличие на други щамове на PPV в Сърбия. Сърбия е голям износител, но и вносител на овощен посадъчен материал. Вносът на посадъчен материал от костилкови от държави с потвърдено наличие на други щамове на PPV, представлява опасност от тяхното въвеждане. По време на всеки внос, официалната лаборатория извършва лабораторни тестове за наличие на PPV в материала. Визуалните изследвания и лабораторните анализи на симптоматичните проби от новозасадени овощни градини трябва да се извършват през първите години след засаждането.

Широкото разпространение на PPV, присъствието на всичките три основни щама, значителен процент от смесени инфекции, открити при единични дървета, са предпоставка за възможна поява на нови рекомбинанти, както е посочено по-рано. Проучването на разнообразието на PPV при синята слива трябва да продължи, защото тя представлява “идеалния” гостоприемник за възникване на нови рекомбинанти.

През следващите години ще продължи епидемиологичното проучване на конкурентоспособността на PPV-Rec и PPV-D щамовете в сливови градини. Планът е да се проследи разпространението на тези щамове до момента на заразяване на всички дървета от овощната градина.

growing of stone fruits in endemic PPV presence.

New cultivars and hybrids will be evaluated under controlled conditions after artificial inoculation with different local PPV isolates of major strains. Lately recognized plum cultivars ‘Divna’ and ‘Petra’ will be also evaluated in the field in several locations with different PPV inoculum pressure.

Further research on PPV strains will be focused on the investigation of the possible presence of other PPV strains in Serbia. Serbia is a big exporter, but also importer of fruit planting material.

The import of stone fruits planting material from countries with confirmed presence of other PPV strains poses a risk of their introduction. During each import event, official laboratory performs laboratory test on the PPV presence in the material.

Visual surveys and laboratory analysis of the symptomatic samples from newly planted orchards should be performed in the first years after planting.

Wide PPV distribution, presence of all three major strains, significant percentage of mixed infections detected in single trees represent a prerequisite for possible occurrence of new recombinants, as reported earlier. The research of PPV diversity in plum should continue because plum represents the “ideal” host for emerging new recombinants.

Epidemiological study on the competitiveness of PPV-Rec and PPV-D strains in plum orchard will be continued in the following years. The plan is to follow the spread of these strains until the infection of all trees from the orchard.

ИЗВОДИ

В настоящия обзор са обобщени резултати от изследване на *Plum pox virus* в Сърбия през последните 15 години.

Дългосрочните проучвания са насочени към: достъп до разпространението и генетичното разнообразие на PPV изолати, като се използват най-точните молекулярни методи за откриване и характеризиране; изследване интензивността на разпространение и конкурентоспособността на щамовете PPV-Rec и PPV-D в експериментални овощни градини от сливи и кайсии; оценка на летателната активност и видовия състав на листните въшки в посочените овощни градини; изследване на новопризнати сортове сливи и хибриди за PPV чувствителност; прилагане на програмата за сертифициране на производството на посадъчен материал за сливи.

Тези проучвания донесоха нови и обогатиха съществуващите познания за вируса на Plum pox. Селектирането и отглеждането на толерантни и устойчиви сортове костилкови видове, както и производството и използването на безвирусен посадъчен материал са най-важните мерки за производство на плодове за пазара.

CONCLUSIONS

In this review, we summarize our results of the research on *Plum pox virus* in Serbia in the last 15 years.

Long-term studies were aimed to: access into the prevalence and genetic diversity of PPV isolates using the most accurate molecular methods for detection and characterization; investigate the intensity of spreading and competitiveness of PPV-Rec and PPV-D strains in experimental plum and apricot orchards; evaluate flight activity and species composition of the aphids landing in stated orchards; test newly recognized plum cultivars and hybrids on PPV susceptibility; and implement the certification program in the production of plum planting material.

These studies have brought new and improved existing knowledge on *Plum pox virus*. Breeding and cultivating tolerant and resistant stone fruit cultivars and the production and use of virus-free planting material are the most important measures to ensure feasible commercial stone fruit production.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящето проучване е подкрепено от грант ECONET № 10159PL, FP7 проект SharCo, и проекти TR-20013A и TR-31064, финансирани от Министер-ството на образованието, науката и технологичното развитие на Република Сърбия.

ACKNOWLEDGEMENTS

Presented study was supported by the ECONET grant no. 10159PL, the FP7 project SharCo, and projects TR-20013A and TR-31064 funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Atanasov, D.**, 1932. Plum pox. A New Virus Disease. *Annals of the University of Sofia Faculty of Agriculture and Silviculture*, 11, 49-69 (Bg).
2. **Cambra, M., N. Capote, A. Myrta and G. Llácer**, 2006. *Plum pox virus* and the Estimated Costs Associated with Sharka Disease. *EPPO Bulletin*, 36(2), 202-204.
3. **Chirkov, S., A. Sheveleva, P. Ivanov and A. Zakubanskiy**, 2018. Analysis of Genetic Diversity of Russian Sour Cherry *Plum pox virus* Isolates Provides Evidence of a New Strain. *Plant Disease*, 102(3), 569-575.

4. **Chung, B. Y., W. A. Miller, J. F. Atkins and A. E. Firth**, 2008. An Overlapping Essential Gene in the *Potyviridae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(15), 5897-5902.
5. **FAOSTAT**, 2017. http://www.fao.org/faostat/en/#data
6. **Glasa, M., L. Palkovics, P. Kominek, G. Labonne, S. Pittnerova, O. Kudela, T. Candresse and Z. Subr**, 2004. Geographically and Temporally Distant Natural Recombinant Isolates of *Plum pox virus* (PPV) Are Genetically Very Similar and Form a Unique PPV Subgroup. *Journal of General Virology*, 85(9), 2671-2681.
7. **Glasa, M., S. Paunovic, D. Jevremovic, A. Myrta, S. Pittnerova and T. Candresse**, 2005. Analysis of Recombinant *Plum pox virus* (PPV) Isolates from Serbia Confirms Genetic Homogeneity and Supports a Regional Origin for the PPV-Rec Subgroup. *Archives of Virology*, 150(10), 2051-2060.
8. **Glišić, I., N.Milošević, Ž.Karaklajić-Stajić, M.Đorđević and M. Lukić**, 2018. 'Divna' - New Plum (*Prunus domestica* L.) Cultivar Developed at Fruit Research Institute, Čačak. *Journal of Pomology*, 52, 201, 7-13 (Sr).
9. **Jevremović, D.**, 2008. Molecular Characterization and Genetic Structure of *Plum pox virus* Isolates in Serbia. MSC thesis. Belgrade, Serbia (Sr).
10. **Jevremović, D.**, 2013. Distribution of PPV-D and PPV-Rec Strains of *Plum pox virus* in Serbia and the Dynamics of Their Spread in Plum Orchard. Ph.D. Thesis, Belgrade, Serbia (Sr).
11. **Jevremović, D. and S. Paunović**, 2010. Introduction of Certification Program in Production of Plum Planting Material. *Julius-Kühn-Archiv*, 427, 44-46.
12. **Jevremović, D. and S. Paunović**, 2014. *Plum pox virus* strains: Diversity and Geographical Distribution in Serbia. *Pesticidi i fitomedicina*, 29(2), 97-107.
13. **Jevremović, D., S. A. Paunović and O. Petrović-Obradović**, 2016. Flight Dynamics and Species Composition of Aphids Landing on Plum and Apricot Leaves in the Orchards in Western Serbia. *Phytoparasitica*, 44(4), 501-511.
14. **Jevremović, D., S. A.Paunović and S. Dallot**, 2017. Long-term foLlow-up of PPV-Rec and PPV-D in an Experimental Plum Orchard. In: 24th International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops, 5-9 June 2017, Thessaloniki, Greece (Abstracts), P-16.
15. **Josifović, M.**, 1937. Plum Mosaic – one Virus Disease of Plum. *Archives of the Ministry of Agriculture*, 4(7), 131-143 (Sr).
16. **Kamenova, I., E. Tasheva-Terzieva, K. Dragoyski and B. Stefanova**, 2017. Spread and Competitiveness of *Plum pox virus*: Rec and -D Strains in Experimental Plum Orchard. *Journal of Phytopathology*, 165(9), 602-609.
17. **Lukić, M., M. Pešaković, S. Marić, I. Glišić, N. Milošević, S. Radičević, A. Leposavić, M. Đorđević, R. Miletić, Ž. Karaklajić-Stajić, J. Tomić, M. S. Paunović, M. Milinković, Đ. Ružić, T. Vujović, D. Jevremović, A. S. Paunović, B. Popović, O. Mitrović and M. Kandić.**, 2016. Fruit Cultivars Developed at the Fruit Research Institute Čačak (1946-2016). Fruit Research Institute, Čačak (Sr).
18. **Paunović, S. and D. Jevremović**, 2008. Standard Operating Procedure for Plant Diagnostic Laboratories *Plum pox virus*-PPV. Ministry of agriculture, forestry and water management of the Republic of Serbia and Fruit research institute, Belgrade, Čačak (Sr).
19. **Paunović, S. and D. Jevremović**, 2009. Investigation of C-strain of *Plum pox virus* in Serbia. In: VI congress of plant protection with symposium about biological control of invasive species, 23-27 November 2009, Zlatibor, Serbia (Abstracts), P-70 (Sr).

20. **Ranković, M. and S. Vuksanović**, 1981. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) in the Detecting Sharka Virus. *Plant protection*, 32(1), 155, 55-60 (Sr).
21. **Roy, A. S. and I. M. Smith**, 1994. Plum pox Situation in Europe. *EPPO Bulletin*, 24(3), 515-523.
22. **Salvador, B. , J. A. García and C. Simón-Mateo**, 2006. Causal Agent of Sharka Disease: *Plum pox virus* Genome and Function of Gene Products. *EPPO Bulletin*, 36(2), 229-238.
23. **Scholthof, K. B., S. Adkins, H. Czosnek, P. Palukaitis, E. Jacquot, T. Hohn, B. Hohn, K. Saunders, T. Candresse, P. Ahlquist, C. Hemenway and G. D. Foster**, 2011. Top 10 Plant Viruses in Molecular Plant Pathology. *Molecular Plant Pathology*, 12(9), 938-954.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (2), 177-184 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Чувствителност на сливови сортове към гъбните болести: червени листни петна, ръжда и сачмянка

Силвена Тодорова*, Николина Маринова, Дарина Иванова

Институт по планинско животновъдство и земеделие, 5600 Троян, България

Susceptibiity of Plum Cultivars to Fungi Diseases: Red Leaf Spots, Rust and Shot Hole Disease

Silvena Todorova*, Nikolina Marinova, Darina Ivanova

Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 5600 Troyan, Bulgaria
**E-mail: silvena_koleva@mail.bg*

Original scientific paper

Received: 16.04.2019 *Accepted:* 25.04.2019 *Published:* 05.08.2019

РЕЗЮМЕ

През периода 2017-2018 г. е направено изследване върху причинителите на гъбните болести: червени листни петна (*Polystigma rubrum)*, ръжда (*Tranzschelia pruni-spinosae f. typical)* и сачмянка (*Stignima carpophila)* и реакцията на сливовите сортовете: Малвазинка, Тулеу тимпуриу, Опал, Невена, Анна Шпет и Стенлей. Проучването е извършено в единадесетгодишно сливово насаждение във филиал Дряново, към ИПЖЗ-Троян. При изследванията е използвана общоприетата методика за изучаване на растителните ресурси. През периода на проучването е отчетена висока чувствителност спрямо червени листни петна при сортовете Опал и Ана шпет. През 2017г. пораженията нанесени от ръжда са в много нисък процент (под 5%) при всички наблюдавани сортове. Спрямо сачмянката при сортовете Малвазинка и Ана шпет е отчетена по-висока чувствителност над 15%, за същият период. През 2018г. пораженията от ръжда са по-големи като при чувствителните сортове

SUMMARY

In the period of 2017-2018, a study was carried out on the causes of fungal diseases: red leaf spot (*Polystigma rubrum)*, rust (*Tranzschelia pruni-spinosae f. typical)* and shot hole disease (*Stignima carpophila)* and responses of plum cultivars: 'Malvazinka', 'Tuleu Timpuriu', 'Opal', 'Nevena', 'Anna Spaeth' and 'Stanley'. The study was conducted in an eleven-year plum plantation at the Plum Experimental Station in Dryanovo, a branch of RIMSA-Troyan. The commonly used methodology for the study of plant resources was used in the studies. During the study period, a high sensitivity to red leaves was observed in 'Opal' and 'Anna Spaeth'. In 2017 the damages to rust were in very low percentage (less than 5%) for all cultivars observed. Compared to the Malvinkinka and Anna Schweit variety, the sensitivity of more than 15% was recorded for the same period. Compared to 'Malvazinka' and 'Anna Spaeth', higher susceptibility was reported for the same period. In 2018 rust damages were greater, as for the

Стенлей и Опал е отчетен над 15%. Нападенията от сачмянка през 2018г. са по-големи при сортовете Анна шпет (18,8%) и Малвазинка, а при другите сортове е под 10%.

Ключови думи: болест, чувствителност, сорт, ръжда, червени листни петна, сачмянка

susceptible cultivars 'Stanley' and 'Opal' they were over 15%. The attacks of shot hole disease in 2018 were larger for 'Anna Spaeth' (18.8%) and 'Malvazinka', and for other cultivars they were below 10%.

Key words: disease, susceptibility, cultivar, rust, red leaf spots, shot hole disease

УВОД

Сливовата култура е овощен вид, който се напада от много болести, причинени от вируси, гъби и бактерии. Гъбните болести нанасят сериозни щети на сливовата култура. Проявата им се влияе от климатичните фактори на райони, но най-силно от сортовите особености (Vitanova et al., 2006). Икономически значими гъбни болести са червени листни петна, ръжда и сачмянка.

Болестта червени листни петна (*Polystigma rubrum Pers.D.S.)* се явява почти ежегодно в типичните сливопроизводителни райони на страната. Болестта се проявява само по листа във вид на сравнително едри закръглени петна, цветът на които през вегетацията се изменя от бледо зелен до червен. При силно нападение причинява преждевременен листопад още към средата на лятото, поради което плодовете остават недоузрели (Balevski et al., 1971). Според наблюдения на Borovinova (2006) ранния листопад води до залагане на по-малко плодни пъпки за следващата година. Iliev и Stoev (2011) са проучвали чувствителността на 25 сливови сорта, като са ги групирали в четири категории спрямо реакцията им: практически устойчиви (Октомврийска, Кишеневска рана, Визиан и Рут Герщетер); слабо чувствителни (Калифорнийска синя, Жълта бутилковидна, Стенлей); умерено чуствителни (Чачанска найболе, Центенар, Валор); силно чувствителни (Чачанска лепотица и Кюстендилска синя слива). Todorova (2012) е установила, че сорт Гуляева е толерантна на червени листни петна.

Според Tsonkovski (1970) ръжда-

INTRODUCTION

Plum is a fruit species that is attacked by many diseases caused by viruses, fungi and bacteria. Fungal diseases cause serious damage to plum crops. They are influenced by the climatic factors of the regions, but most strongly by the cultivar characteristics (Vitanova et al., 2006). Economically significant fungal diseases are red leaf spots, rust and shot hole disease.

Red leaf spots (*Polystigma rubrum Pers.D.S.)* occurs almost annually in the typical plum-growing regions of Bulgaria.

The disease manifests only on the leaves in the form of relatively large rounded spots, whose colour changes during vegetation from pale green to red. In severe attack, it causes premature leaf fall as early as mid-summer, leaving the fruits unripe (Balevski et al., 1971).

According to observations by Borovinova (2006), early leaf fall leads to fewer fruit buds set for next year. Iliev and Stoev (2011) examined the susceptibility of 25 plum cultivars, grouping them into four categories according to their response: practically resistant ('Octomvriiska', 'Kishinevska ranna', 'Vizian' and 'Ruth Gerstetter'); slightly susceptible ('California blue', 'Jalta butilkovidna', 'Stanley'); moderately susceptible ('Čačanska najbolja', 'Centenar', 'Valor'); highly susceptible ('Čačanska lepotica' and 'Kystendilska plum'). Todorova (2012) found that the 'Gulyaeva' is tolerant to red leaf spots.

According to Tsonkovski (1970),

та нанася най-големи поражения в сливовите насаждения в затворени и непроветриви падини на България. Причинителят (*Tranzchelia pruni-spinosae Pers. D.* с две форми *f. typical* и *f. discolor)* напада листата и по-рядка летораст. От горната страна на листата се наблюдават дребни, ъгловати, жълтеникави или виолетово червеникави петънца. От долната страна под тях, през лятото се образуват купчинки от соруси, със светло кафяв цвят – спороношение за масово заразяване, а през есента – соруси с черен цвят, спороношение за зимуване. Болестта избухва масово, когато има пренос на големи маси уредоспри в умерено топло (20-23^{0}C) и влажно време (Karov and Andreev, 2000). Макар, че ръждата се проявява сравнително късно, в средата на лятото, може да причини значителни щети вследствие на преждевременен листопад (Stoyanova and Minev, 2005).

Гъбната сачмянка по листата на сливата се причинява от *Stigmina carpophila.* Причинителят се характеризира със сравнително малки по размери, некротични петна с ясно очертана червеникава граница на поразената тъкан и отделяне на същата от здравата част. В резултат на това се получават пробите участъци. Силно повредените листа пожълтяват и опадват преждевременно (Stancheva, 2001).

Целта на изследването е да се установи чувствителността на изпитваните сливови сортове към икономически важните гъбни болестите в района на Дряново.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването се проведе през периода 2017-2018 г. в сливови насаждения в района на Дряново. Проучена е реакцията на шест сливови сорта: Малвазинка, Тулеу тимпуриу, Опал, Невена, Анна Шпет и Стенлей, спрямо причинителите на гъбните болести: червени листни петна (*Polystigma*

rust causes the greatest damage to the plum plantations in closed and airless hollows of Bulgaria. The causative agent (*Tranzchelia pruni-spinosae Pers. D.* with two forms *f. typical* and *f. discolor)* attacks the leaves and less often the shoots. There are small, angular, yellowish or violet reddish spots on the upper side of the leaves. On the underside of them, in the summer, piles of sori are formed, with a light brown colour – a fructification for mass contamination, and in the autumn – sori with a black colour, a fructification for wintering.

The disease erupts massively when large masses of uredospores are transported to the device in moderate warm (20-230C) and wet weather (Karov and Andreev, 2000). Although rust occurs relatively late in mid-summer, it can cause significant damage due to premature leaf falling (Stoyanova and Minev, 2005).

The fungal shot hole disease on the plum leaves is caused by *Stigmina carpophila.* The causative agent is characterized by relatively small, necrotic spots with a clearly marked reddish border of the affected tissue and separating it from the healthy part. The results are pierced spots. Severely damaged leaves turn yellow and fall prematurely (Stancheva, 2001).

The aim of the present study is to determine the susceptibility of the tested plum cultivars to the economically important fungal diseases in the region of Dryanovo.

MATERIAL AND METHODS

The survey was conducted during the period 2017-2018 in plum plantations in the region of Dryanovo. The response of six plum varieties was studied: 'Malvazinka', 'Tuleu Timpuriu', 'Opal', 'Nevena', 'Anna Spaeth' and 'Stanley', to the cause of fungal diseases: red leaf spots (*Polystigma rubrum)*, rust

rubrum), ръжда (*Tranzschelia pruni-spinosae f. typical)* и сачмянка (*Stignima carpophila).* Дърветата са на единадесет годишна възраст и не е извършено пръскане с фунгициди. Отглеждат се по възприетата методика при неполивни условия (Nedev et al., 1979). Наблюдението върху развитието на болестите е извършено при естествен фон на зараза. Пробите се отчитат по време на масово развитие на болестите, като се вземат по 200 листа от 5 дървета от всеки сорт. Развитието на болестите (изразени като % поразена площ) се изчисляват по формулата на McKinney:

(*Tranzschelia pruni-spinosae f. typical)* and shot hole disease (*Stignima carpophila)* The trees are eleven years old and no fungicides have been sprayed. They are grown according to accepted methodology under non-irrigation conditions (Nedev et al., 1979). Disease development was monitored against a natural background. Samples are recorded during the mass development of the disease, taking 200 leaves from 5 trees of each cultivar. Disease development (expressed as % of affected area) is calculated using the McKinney formula:

$$I = \sum \frac{(n.k)}{N.K}.100 ,$$

където I – индекс на развитие на болестта в %;
n – брой отчетени растения от дадена категория;
k – степен на повреда по съответния бал (скала);
N – общ брой отчетени растения;
K – най-високата степен на повреда по приетия бал (скала).

За определяне на устойчивостта на сортовете към гъбните болести се използва методиката за изучаване на растителните ресурси по овощните растения (Nedev et al., 1979), като се използва следната скала: 0 – имунни – без петна по листата; 1 – практически устойчиви – малки единични петна; 2 – слабо чувствителни – до 5% повреди по листата; 3 – средно чувствителни – до 10% нападната повърхност; 4 – чувствителни – нападение до 25% по листата; 5 – силно чувствителни – 50% и повече нападение по листата.

where I is the disease development index in %;
n – number of plants reported in a given category;
k – degree of damage according to the corresponding score (scale);
N – total number of recorded plants;
K – highest damage rate on the received score (scale).

To determine the resistance of cultivar to fungal diseases, the methodology for the study of plant resources in fruit plants is used (Nedev et al., 1979), using the following scale: 0 – immune – no spots on the leaves; 1 – practically resistant – small single spots; 2 – slightly susceptible – up to 5% leaf damage; 3 – medium susceptible – up to 10% damaged surface; 4 – susceptible – up to 25% damage on leaves; 5 – highly susceptible – 50% or more damage on leaves.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В района на Централна Стара планина има благоприятни условия - чести превалявания и висока атмосферна влажност през вегетацията за развитие на гъбни болести.

RESULTS AND DISCUSSION

There are favourable conditions in the region of the Central Balkan Mountain (frequent rainfall and high atmospheric humidity during the vegetation season) for the development of fungal diseases.

Таблица 1. Сума на валежите и средно месечни температури за 2017-2018 г.
Table 1. Total precipitation amount and average monthly temperatures for 2017-2018

Месец Month	Сума на валежите Precipitation amount – l/m^2		Средно месечни температури Average monthly temperatures -^{o}C	
	2017	2018	2017	2018
Януари / January	71.7	33.2	-5.6	1.4
Февруари / February	14.0	96.1	1.2	2.3
Март / March	55.2	80.5	8.9	5.4
Април / April	57.7	10.6	9.9	16.7
Май / May	127.8	65.3	15.2	19.5
Юни / June	57.4	114.5	20.7	21.1
Юли / July	122.5	147.0	23.5	21.8
Август / August	3.0	19.5	22.2	22.6
Септември / September	29.9	39.5	18.8	17.9
Октомври / October	134.5	28.5	14.0	12.7
Обща сума валежи Total precipitation amount	673.7	628.4		

В началото на вегетацията, през двете години се отчитат температурни разлики, които оказаха влияние върху епидемиологията на патогените (Таблица 1). Сумата на валежите през вегетационния период е близка за двете години. През 2018 година, общата сума на валежите за периода януари-октомври е 628 литра като количества над 100 l/m^2. са паднали през юни и юли. За 2017 година сумата на валежите за същият период е 673,7 l/m^2, като по-голямо количество е отчетено през месеците май, юли и октомври, а за м. август е едва 3,0 l/m^2 (Таблица 1).

At the beginning of the vegetation season, temperature differences were observed during the two years, which had an impact on the epidemiology of the pathogens (Table 1). Precipitation amount during the vegetation season is almost similar for both years. In 2018, the total precipitation amount for the period January-October is 628 liters with quantities exceeding 100 l/m^2 fell in June and July. For 2017, the amount of precipitation for the same period is 673.7 l/m^2, with a higher amount reported in May, July and October, and for August it is only 3.0 l/m^2 (Table 1).

Таблица 2. Чувствителност на сливови сортове към гъбните болести – Червени листни петна, ръжда и сачмянка за периода 2017-2018г.
Table 2. Susceptibility of plum cultivars to fungal diseases – Red leaf spots, rust and shot hole disease for the period 2017-2018

Сорт Cultivar	Червени листни петна Red leaf spot		Ръжда Rust		Сачмянка Shot hole disease	
	2017	2018	2017	2018	2017	2018
Опал / Opal	19.2%	18.0%	2.0%	15.6%	8.8%	9.0%
Стенлей / Stanley	2.2%	2.2%	2.8%	15%	8.0%	9.2%
Невена / Nevena	4.6%	5.0%	4.0%	9.8%	2.4%	9.8%
Малвазинка Malvazinka	4.0%	1.6%	1.8%	3.0%	9.8%	15.2%
Анна Шпет Anna Spaeth	12.8%	11.8%	3.2%	5.0%	9.2%	18.8%
Тулеу тимпуриу 'Tuleu Timpuriu'	2.6%	3.8%	2.2%	2.8%	8.0%	11.4%

По литературни данни, заразяването с червени листни петна става през пролетта и по време на цъфтежа при чести и продължителни валежи. През периода на изследването бяха направени фенологични наблюдения на сливовите сортове, като се отчетоха фазите – начало на цъфтеж и край на цъфтежа. През 2017г. цъфтежът е протекъл в периода 31.03 - 17.04; а през 2018г. в интервала 07.04 - 21.04. Чувствителни на болестта са младите листа от 1-ия до 43-ия ден, след това те стават имунни. Появата на листа започва два до три дни след началото на цъфтежа. Метеорологичните условия през двете години, по време на цъфтежа се различават както спрямо валежите, така и спрямо месечните температури. През април средномесечната температура през 2018 г. е с 6^{o}C по-висока в сравнение с предходната, а количествата на валежите за същият период е съответно 57,7 l/m^2 за 2017г., а през 2018 г. е едва 10,6 l/m^2 (Таблица 1).

С висока степен на нападение от червени листни петна и през двете години на наблюдаване е сорт Опал, с 19,2% – 2017г. и 18% за 2018г. Другият сорт проявил чувствителност е Анна Шпет – 12,8% за 2017г. и 11,8% съответно за 2018г. (Таблица 2). При останалите наблюдавани сливови сортове степента на нападение е под 5%, за двугодишните наблюдения. Според скалата на Nedev et al. (1979) ги определяме като слабо чувствителни спрямо болестта червени листни петна (Таблица 2).

От две годишните наблюдения за гъбната болест ръжда установихме различна степента на нападение. През 2017 г. изследваните сливови сортове проявиха слаба реакция – под 5% степен на нападение. Това се дължи на ниската активност на патогена.

През месеците юни и юли на 2018г. месечните валежи са над нормалните количества, съответно: 114,5

According to the literature, infestation with red leaf spots occurs in spring and during blossoming in frequent and prolonged rainfall. Phenological observations of plum cultivars were made during the study period, taking into account the phases – beginning of blossoming and end of blossoming. In 2017 blossoming took place in the period 31.03 - 17.04; and in 2018 in the interval 07.04 - 21.04. The young leaves from day 1 to day 43 are susceptible to the disease, after which they become immune. The appearance of the leaf begins two to three days after blossoming begins. Meteorological conditions during the two years, during blossoming, differ in both precipitation and monthly temperatures.

In April, the average monthly temperature in 2018 is 6^{o}C higher than the previous one, and the precipitation for the same period is 57.7 l/m^2 for 2017, and in 2018 it is only 10.6 l/m^2 (Table 1).

'Opal' cultivar has a high degree of red leaf spots during both years of observation, with 19.2% – 2017 and 18% for 2018. 'Anna Spaeth' is also susceptible – 12.8% for 2017 and 11.8% for 2018 respectively (Table 2). In the other plum cultivars observed, the rate of attack is below 5% for two-year observations. According to the scale of Nedev et al. (1979), we define them as slightly susceptible to red leaf spots (Table 2).

There is a different degree of attack of rust for two year observations. In 2017, the plum cultivars tested showed a weak reaction - below 5% attack rate. This is due to the low activity of the pathogen.

In June and July 2018, the monthly rainfall is above normal, respectively: 114.5 l/m^2 and 147.0 l/m^2 (Table 1) at the

l/m^2 и 147,0 l/m^2 (Таблица 1) при оптимална средно месечна температура, което благоприятства развитието на уредоспорите. При тези условия се отчете много висока степен на нападение при всички изследвани сортовете спрямо предходната година. От изследванията, за същия период, наблюдавахме слаба чувствителност при сортовете: Малвазинка, Анна Шпет и Тулеу тимпуриу. Чувствителност проявиха сортовете Опал и Стенлей, при степен на нападение, съответно – 15,8 и 15,0%. При сорт Невена установихме средна чувствителност – 9,8% (Таблица 2).

За развитието на гъбната сачмянка благоприятни условия са продължителни дъждовни периоди. Болестта е в състояние да се развие не само през пролетта и лятото, но и през есента, а при топло време и през зимата. И през двете години са наблюдават подобни условия.

Спрямо гъбната сачмянка през 2018г. е отчетен по-висок процент на нападение при всички наблюдавани сортове. Като чувствителни сортове се отбелязват Анна Шпет – 18,8%, Малвазинка – 15,2% и Тулеу тимпуриу – 11,4%. При другите сортове степента на нападение е под 10% и се определят като слабо чувствителни (Таблица 2). През 2017г. при всички наблюдавани сортове се отчете ниска реакция на проявление спрямо гъбната сачмянка. Това вероятно се дължи на слаб инфекциозен фон.

optimum average monthly temperature, which favors the development of the uredospores. Under these conditions, a very high degree of attack was observed in all the cultivars tested compared to the previous year. From the surveys, for the same period, a low susceptibility is observed in the following cultivars: 'Malvazinka', 'Anna Spaeth' and 'Tuleu Timpuriu'. 'Opal' and 'Stanley' cultivars are susceptibility, with an attack rate of 15.8% and 15.0%, respectively. 'Nevena' cultivar has medium susceptibility of 9.8% (Table 2).

Long rainy periods are favourable conditions for the development of shot hole disease. The disease is able to develop not only in spring and summer, but also in autumn, but in warm weather and in winter. Similar conditions have been observed for both years.

Compared to shot hole disease in 2018, a higher attack rate was observed for all cultivars observed. 'Anna Spaeth' – 18.8%, 'Malvazinka' – 15.2% and 'Tuleu Timpuriu' – 11.4% are susceptible.

In the other cultivars, the rate of attack is less than 10% and is considered to be slightly susceptible (Table 2). In 2017, a low response to shot hole disease was observed in all cultivars. This is probably due to a low infectious background.

ИЗВОДИ

От извършените изследвания през периода 2017 и 2018 години можем да направим следните изводи:

Като чувствителни на болестта червени листни петна *Polystigma rubrum Pers.D.S.)* определяме сортовете Опал и Анна Шпет. Като слабо чувствителни, със степен нападение под 5% са сортовете Стенлей, Невена, Малвазинка и Тулеу Тимпуриу.

Към болестта ръжда, *Tranzchelia*

CONCLUSIONS

The following conclusions can be drawn from the conducted surveys during the period 2017 and 2018:

'Opal' and 'Anna Spaeth' are susceptible to red leaf spots (*Polystigma rubrum Pers.D.S.)* Slightly susceptible, with an attack rate of less than 5% are 'Stanley', 'Nevena', 'Malvazinka' and 'Tuleu Timpuriu'.

The plum varieties tested in 2017

pruni-spinosae Pers. D. изследваните сливови сортове през 2017 год. проявиха слаба реакция – под 5% степен на нападение. При оптимални условия за развитие на болестта през 2018 год. чувствителност проявиха сортовете Опал и Стенлей, а сортовете Малвазинка, Тулеу Тимпуриу и Анна Шпет са слабо чувствителни.

Спрямо гъбната сачмянка (*Stignima carpophila),* през 2018 г. е отчетен по-висок процент на нападение при всички наблюдавани сортове. Като чувствителни определихме Анна Шпет, Малвазинка и Тулеу Тимпуриу, а като слабо чувствителни – Опал, Стенлей и Невена.

showed a weak reaction to rust (*Tranzchelia pruni-spinosae Pers. D.*) – below 5% attack rate. Under the optimum conditions for the development of the disease in 2018, 'Opal' and 'Stanley' cultivars are susceptible, while 'Malvazinka', 'Tuleu Timpuriu' and 'Anna Spaeth' are slightly susceptible.

In 2018, a higher percantahe of shot hole disease (*Stignima carpophila*) was reported for all cultivars observed. 'Anna Spaeth', 'Malvazinka' and 'Tuleu Timpuriu' are considered as susceptible, and 'Opal', 'Stanley' and 'Nevena' as slightly susceptible.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Balevski, A., K. Tsonkovski and S. Dimov**, 1971 Opportunities to Fight Red Leaf Spot on Plums (*Polystigma rubrum Pers. D.*). *Horticultural and Viticultural Science,* VIII (7), 33-38 (Bg).
2. **Borovinova, M.**, 2006. Fungi Diseases. *Plant Protection*, 3, 6-7 (Bg).
3. **Iliev, P. and A Stoev**, 2011. Susceptibility of Plum Cultivars to Red Leaf Spot /*Polystigma rubrum (Persoon) deCandolle*/. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 14 (1), 163-172.
4. **Karov, St. and R. Andreev**, 2000 Plant Protection of the Yard Organic and Integrated Garden. Noemvri, Plovdiv (Bg).
5. **Nedev, N., Y. Grigorov, H. Baev, S. Serafimov, A. Strandjev, L. Kavardjikov, K. Lazarov, N. Nikolov, D. Djovinov, L. Popova, N. Slavov, P. Iliev, D. Stoyanov, I. Kanev, H. Krinkov, Y. Vishanska, M. Topchiyska and L. Petrova**, 1979. A Methodology for Studying Plant Resources in Fruit Plants. NIO - Plovdiv (Bg).
6. **Stancheva, Y.**, 2001. Atlas of Diseases on Crops, 2, Diseases of Perennial Crops. PENSOFT, Sofia - Moscow, pp. 84-88 (Bg).
7. **Stoyanova, T. and I. Minev**, 2005. Symptoms of Red Leaf Spots (*Polystigma rubrum Pers. D. C.*) and Rust (*Tranzshelia pruni spinose Pers. Diet*) in the Plum Varieties 'Čačanska lepotica' and 'Čačanska najbolja' in the Troyan Region. *Plant Science*, 42 (2), 184-187 (Bg).
8. **Todorova, S.**, 2012. Sensibility of Some Plum Cultivars to Red Leaf Spot (*Polystigma rubrum Pers. D. C.). Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 15(4), 912-918.
9. **Tsonkovski, K.**, 1970. Plum Rust Studies in Bulgaria. Monograph (Bg).
10. **Vitanova, I., D. Ivanova, S. Dimkova and N. Marinova**, 2006. The Plum Garden. Zemizdat, Sofia (Bg).

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (2), 185-192 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Възможности за биологична борба с някои гъбни болести при касиса

Петко Минков*, Теодора Стоянова, Силвена Тодорова

Институт по планинско животновъдство и земеделие, 5600 Троян, България

Opportunities for Biological Control of Certain Fungal Diseases on Black Currant

Petko Minkov*, Teodora Stoyanova, Silvena Todorova

Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 5600 Troyan, Bulgaria
**E-mail: petco_m@abv.bg*

Original scientific paper

Received: 10.05.2019 *Accepted:* 26.06.2019 *Published:* 05.08.2019

РЕЗЮМЕ

Изследването е проведено през периода 2017-2018 година в колекционно касисово насаждение в района на Института по планинско животновъдство и земеделие-Троян при сортовете Lissil и Titania.

Изпитани са биологично сертифицираните препарати: Sectomyel, Grafox, Myelfos и Demolution MPT, Funguran за борба с икономически важните болести – антракноза (*Gloeosporium ribis*) и американска брашнеста мана (*Sphaerotheca mors-uvae*) по касиса.

През периода на изследване климатичните условия бяха благоприятни за развитие на гъбните болести. И през двете години беше отчетено по-слабо нападение при вариантите с биологично сертифицираните препарати в сравнение с контролите, като при сорт Titania е отчетена по-слаба чувствителност и при двете болести (7,29% индекс на нападение през 2017 година от американската брашнестата мана

SUMMARY

The survey was conducted during the period 2017-2018 in a collection plantation with black currant in the region of the Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture in Troyan with 'Lissil' и 'Titania' cultivar.

The following certified biological preparations were tested: Sectomyel, Grafox, Myelfos and Demolution MPT, Funguran for fight over the economically important diseases, such as anthracnose (*Gloeosporium ribis*) and powdery mildew (*Sphaerotheca mors-uvae*) on black currant.

During the study period, climatic conditions were favourable for the development of fungal diseases. There was a lesser attack on variants with biologically-certified preparations compared to controls in both years.

'Titania' was less susceptibile to both diseases (7.29% attack index in 2017 of powdery mildew (*Sphaerotheca mors-uvae*) and 6.70% of anthracnose

(*Sphaerotheca mors-uvae*) и 6,70% от антракноза (*Gloeosporium ribis*) през 2018 година.

При варианта с медсъдържащи препарати индексът на нападение и от двете болести е нисък (0,70% при сорт Lissil и 8,00% индекс на нападение при сорт Titania за *Gloeosporium ribes*) и съответно 11,30% за Titania и 12,0% при сорт Lissil за *Sphaerotheca mors-uvae*).

Резултатите от проучването са основа за разработване на растително-защитни технологии за борба с болестите по касиса.

Ключави думи: касис, болести, сортове, биологични препарати, борба

(*Gloeosporium ribis*) in 2018.

In the variant of copper containing preparations, the attack index of both diseases was low (0.70% for 'Lissil' and 8.00% for 'Titania' by *Gloeosporium ribes*) and 11.30% for 'Titania' and 12.0% for 'Lissil' cultivar by *Sphaerotheca mors-uvae*).

The results of the study provide a basis for the development of plant protection technologies for the control over black currant diseases.

Key words: black currant, diseases, cultivars, biological preparations, fight

УВОД

Черното френско грозде (*Ribes nigrum*) известно още като касис е ягодоплодна култура, която се нарежда на второ място в света след ягодата. У нас най-широко разпространен е през 60-те години на миналия век. Напоследък културата бележи ново развитие, което се определя от ценните ú хранителни, диетични, терапевтични и стопански качества (Hristov, 1980). Отглеждан при неподходящи условия – затворени и непроветриви месторастения, касисът се напада от редица болести, в това число антракноза и американска брашнеста мана, които нанасят големи поражения, в резултат на което добивите намаляват значително, като повредите се отразяват на плододаването и през следващата година (Tsonkovski and Krasteva, 1970).

Развитието и степента на нападение от болестите зависи от метеорологичните условия и биологичните особености на сортовете (Goryacheva, 1962, Natalina, 1963; Litvinova and Ravkin, 1972; Kuzmina, 1986).

За района на Троян е проучена чувствителността на някои новоинтродуцирани и перспективни сортове към двете икономически важни болести по касиса – американска брашнеста

INTRODUCTION

Black currant (*Ribes nigrum*) is a berry crop that ranks second in the world after strawberries. In Bulgaria it was most widespread in the 1960s. Recently, that fruit crop has undergone a new development, which is determined by its valuable nutritional, dietary, therapeutic and economic qualities (Hristov, 1980).

Grown under inappropriate conditions – closed and nonventilated habitats, the blackcurrant is attacked by a variety of diseases, including anthracnose and powdery mildew, which cause major damage, resulting in significant yield reductions, with damages affecting the fruit in the following year (Tsonkovski and Krasteva, 1970).

The development and extent of disease onset depends on the weather conditions and the biological characteristics of the cultivars (Goryacheva, 1962; Natalina, 1963; Litvinova and Ravkin, 1972; Kuzmina, 1986).

The susceptibility of some newly introduced and promising cultivars to both economically important black currant diseases, such as powdery mildew and anthracnose in the natural background of

мана и антракноза при естествен фон на зараза. С комплексна слаба и средна чувствителност на изследваните болести са сортовете Ben Sarek, Неосипаюшчияся, Богатир, Titania, Ometa (Stoyanova et al., 2008).

Има разработена нова растително-защитна система за борба с някои неприятели по касиса с приложение само на биологични средства (Minkov, 2012).

Целта на изследването е да се разработят алтернативни методи за биологична борба с икономически важните болести по касиса – антракноза (*Gloeosporium ribis*) и американска брашнеста мана (*Sphaerotheca mors-uvae*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено в района на Института при касисовите сортове Titania и Lissil, отглеждани в колекционно овощно насаждение, създадено през 2015 година. Изпитани са биологично сертифицираните препарати: Sectomyel, Grafox, Myelfos, Demolution MPT и Funguran OH 50 ВП. Заложени са 4 варианта със следните комбинации:

I - ви вариант Sectomyel **(**500 ml/da) + Grafox (в доза 0,3 l/da) + Myelfos (200 ml/da) + Demolution MPT **(**400 ml/da)

II - ри вариант Медният препарат Funguran OH 50 ВП в доза 0,15% разтвор

III - ти вариант - третиране с химичните препарати – Систан супер в конц. 0,03% + Нуреле Дурсбан - 0,07%

IV - ти вариант - нетретирана контрола

Проведени са 7 третирания от началото на вегетацията на всеки 10-15 дни. Резултатите от първи и втори вариант сравнявахме с химичния вариант и контролата.

Отчитанията за нападението от болестите и ефекта от прилаганите препарати са направени съгласно Методиката за изучаване на растителните

the infection, has been studied in the Troyan region. 'Ben Srek', Neosypayuschiyasya, 'Bogatir', 'Titania', 'Ometa' cultivars show a complex slight and average susceptibility to the studied diseases (Stoyanova et al., 2008).

A new plant protection system has been developed to combat some blackcurrant pests using only biological agents (Minkov, 2012).

The purpose of the study is to develop alternative methods for the biological control of economically important diseases on black currant - anthracnose (*Gloeosporium ribis*) and powdery mildew (*Sphaerotheca mors-uvae*).

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in the area of the Institute on blackcurrant cultivars of 'Titania' and 'Lissil' grown in a collection fruit plantation, established in 2015. The following certified biological preparations were tested: Sectomyel, Grafox, Myelfos, Demolution MPT and Funguran OH 50 VP. There are 4 variants with the following combinations:

I variant - Sectomyel **(**500 ml/da) + Grafox (0.3 l/da) + Myelfos (200 ml/da) + Demolution MPT (400 ml/da)

II variant - Copper preparation Funguran OH 50 VP at a dose of 0.15% solution

III variant - Chemical Treatment - Sistan Super in concentration of 0.03% + Nurelle Dursban - 0.07%

IV variant - untreated control

Seven treatments were performed from the beginning of the growing season every 10-15 days. The results of the first and second variants were compared with the chemical variant and the control.

Disease attack reports and the effects of the preparations used were made according to the Methodology for Studying Plant Resources in Fruit Plants

ресурси при овощните растения (Nedev et al., 1979). Индексът на нападение от проучваните болести е изчислен по формулата на Mc Kinney (1923).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Повишеното потребителско търсене на екологично произведени плодове и изискванията за опазване на околната среда, налагат необходимостта от разработване на алтернативни методи за контрол на болестите като се ограничи употребата на химически препарати.

Борбата с икономически важните болести по касиса е важен елемент за отглеждане и опазване на този овощен вид. През периода 2017-2018 година проведохме полски опити при касисовите сортове Titania и Lissil, с използване на комбинации от биологични препарати за защита на храстите от антракноза (*Gloeosporium ribis*) и американска брашнеста мана (*Sphaerotheca mors-uvae*).

Резултатите от проведените опити за установяване биологичната ефективност на проучваните биопрепарати за борба с икономически важните болести по касиса са представени в Таблица 1 и 2.

През 2017 година в периода на заразяване се създадоха благоприятни условия за развитие на проучваните болести. Количеството на измерените валежи само за м. май беше 133,1 l/m^2. В съчетание с високата въздушна влага и умерени температури нападението от антракноза при сорт Lissil беше 11,20% при първи вариант и 12,00% при втори вариант. Сходни стойности отчетохме при трети вариант (контрола със използване на химични средства) - 11,20%. Най-висок индекс на нападение бе отчетен при варианта нетретирана контрола (25,60%). Нападението от американската брашнеста мана при сорт Lissil по варианти е 25,60% за първи вариант и 24,00% индекс на нападение за втори.

(Nedev et al., 1979). The attack index of the diseases studied is calculated using the formula of Mc Kinney (1923).

RESULTS AND DISCUSSION

The increased consumer demand for organic fruits and environmental requirements necessitate the development of alternative methods of disease control by limiting the use of chemicals.

The fight with economically important diseases on black currant is an important element for the cultivation and conservation of this fruit species. During the period 2017-2018, we conducted field experiments on black currant cultivars of 'Titania' and 'Lissil', using combinations of biological preparations for the protection of anthracnose (*Gloeosporium ribis*) and powdery mildew (*Sphaerotheca mors-uvae*).

The results of the biological efficiency of the studied biological preparations for the control of economically important diseases on black currant are presented in Table 1 and 2.

In 2017, there were favourable conditions for the development of the studied diseases during the period of infection. The amount of precipitation for May only was 133.1 l/m^2. Combined with the high air humidity and moderate temperatures, the anthracnose attack on 'Lissil' cultivar was 11.20% in the first variant and 12.00% in the second variant.

Similar values were reported for the third variant (using chemical agents with the control) - 11.20%. The highest attack index was reported in the untreated control variant (25.60%). The attack of powdery mildew on 'Lissil' cultivar is 25.60% for the first variant and 24.00% for the second one.

Сравнително близка стойност има и при трети вариант (контрола с използване на химични препарати) - 31,20%. При варианта нетретирана контрола е отчетен над 50% индекс на нападение. През 2018 година при сорт Lissil бяха отчетени близки стойности на нападение с тези отчетени в предходната година от антракнозата - 11,33% за първи вариант и 8,00% за втори вариант. При контролата с използване на химични средства индексът на нападение е 26,67%, а при нетретираната контрола - 42,67%. За американската брашнеста мана индексът на нападение е 19,33% при първи вариант и 12,00% при втори. За сравнение при контролите са отчетени съответно 28,67% при трети вариант и над 50% при нетретираната контрола. (Таблица 1). При сорт Lissil през двете години на изследване най-нисък индекс на нападение е отчетен във втори вариант - с използване на Фунгуран ОН 50 ВП, следван от първи вариант с приложение на биологично сертифицираните препарати. Използваните средства при двата биологични варианта показват много добър ефект върху изследваните болести.

There is a relatively similar value in the third variant (control using chemical preparations) - 31.20%. More than 50% attack index was reported in the untreated control variant. In 2018, similar attack values for 'Lissil' cultivar were reported to those in the previous year by anthracnose - 11.33% for the first variant and 8.00% for the second variant.

The attack index for the chemical control was 26.67% and in the untreated control was 42.67%. The attack index for powdery mildew was 19.33% in the first variant and 12.00% in the second one.

For comparison, controls accounted for 28.67% in the third variant and over 50% in the untreated control, respectively. (Table 1). For 'Lissil' cultivar during both years of study, the lowest attack index was reported in the second variant - using Funguran OH 50 VP, followed by the first variant with the use of biologically certified preparations.

The agents used in both biological variants show a very good effect on the diseases studied.

Таблица 1. Индекс на нападение (%) от американска брашнеста мана и антракноза при касисовия сорт Lissil (2017-2018)
Table 1. Attack index (%) of powdery mildew and anthracnose for 'Lissil' black currant cultivar (2017-2018)

Варианти Variants	2017		2018	
	Sphaerotheca mors-uvae	*Gloeosporium ribes*	*Sphaerotheca mors-uvae*	*Gloeosporium ribes*
I-ви с продукти на Green Smile I Green Smile products	25,60	11,20	19,33	11,33
II- ри с Фунгуран ОН 50 ВП II Funguran OH 50 WP	24,00	12,00	12,00	8,00
III-ти химичен III chemicals	31,20	11,20	28,67	26,67
IV-ри контрола нетретирана IV untreated control	над 50%	25,60	над 50%	42,67

Сравнително нисък индекс на нападение от антракноза и американска брашнеста мана е отчетен при сорт Titania през 2017 година при двата биологични варианта за антракнозата - при първи вариант 8,00% индекс на нападение и 1,60% при втори вариант. При контролните варианти индексът на нападение е 3,20% при трети вариант и над 50% при нетретираната контрола. През 2017 година нападението от друга-та изследвана болест - американската брашнеста мана в първи вариант е отчетен 7,20% индекс на нападение, а във втори - 3,20%. В двата контролни варианта - трети и четвърти стойностите са еднакви (22,40%). През 2018 година при сорт Titania индиксът на нападение от антракноза отново е най-нисък при двата биологични варианта - при втори вариант 0,67%, а при първи вариант - 6,67% (Таблица 2). Двата контролни варианта са със стойности съответно 28,67% за трети вариант и 34,00% за четвърти вариант (нетретираната контрола). При сорт Titania нападението от американска брашнеста мана е с по-високи стойности от предходната година - 16,67% за първи вариант и 11,33% за втори вариант, в сравнение с нетретираната контрола при която е отчетено нападение над 50%.

The relatively low anthracnose and powdery mildew attack index was reported for 'Titania' cultivar in 2017 for both biological variants for anthracnose - the attack index for the first variant was 8.00% and 1.60% in the second variant. In the control variants, the attack index was 3.20% in the third variant and above 50% in the untreated control. In 2017, the attack index of powdery mildew in the first variant was 7.20% and it was 3.20% in the second one. In both control variants, the third and fourth one, the values were the same (22.40%).

In 2018, the anthracnose attack index for Titania cultivar was again the lowest for both biological variants - 0.67% in the second variant and 6.67% in the first variant (Table 2). Both control variants were respectively 28.67% for the third variant and 34.00% for the fourth variant (untreated control). The powdery mildew attack index for 'Titania' cultivar was higher than the previous year - 16.67% for the first variant and 11.33% for the second variant, compared to the untreated control which reported an attack of more than 50%.

Таблица 2. Индекс на нападение (%) от американска брашнеста мана и антракноза при касисовия сорт Titania (2017-2018)
Table 2. Attack index (%) of powdery mildew and anthracnose for 'Titania' blackcurrant cultivar (2017-2018)

Варианти Variants	2017		2018	
	Sphaerotheca mors-uvae	*Gloeosporium ribes*	*Sphaerotheca mors-uvae*	*Gloeosporium ribes*
I-ви с продукти на Green Smile I Green Smile products	7,20	8,00	16.67	6.67
II- ри с Фунгуран ОН 50 ВП II Funguran OH 50 WP	3,20	1,60	11.33	0.67
III-ти химичен III chemicals	22,40	3,20	40.67	28.67
IV-ри контрола нетретирана IV untreated control	22,40	над 50%	над 50%	34.00

И при сорт Titania най-нисък индекс на нападение от антракноза и брашнеста мана е отчетен във втори вариант с използване на препарата Фунгуран ОН 50 ВП, следван от първи вариант. Изпитваните препарати при първи и втори вариант имат много добър ефект върху изследваните болести.

For 'Titania' cultivar, the lowest anthracnose and powdery mildew attack index was reported in the second variant using Funguran OH 50 VP preparation, followed by the first variant. The test preparations in the first and second variants have a very good effect on the diseases studied.

ИЗВОДИ

През периода на проучване най-нисък индекс на нападение от антракноза и брашнеста мана при сортовете Lissil и Titania е отчетен при варианта с използване на препарата Фунгуран.

Биологично сертифицираните препарати използвани във първи вариант показват много добър ефект при борбата с антракноза и брашнеста мана при сортовете Lissil и Titania в сравнение с варианта нетретираната контрола.

От направените изследвания и получените много добри резултати при касиса успешно може да се прилага биологична растителна защита.

CONCLUSIONS

During the study period, the lowest anthracnose and powdery mildew attack index for 'Lissil' and 'Titania' cultivars was reported after using Funguran product.

The biologically certified preparations used in the first variant show a very good effect in the control of anthracnose and powdery mildew for 'Lissil' and 'Titania' cultivars compared to the untreated control variant.

The present studies and good results show that biological protection can be successfully applied for plant protection of black currant.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Bielenin, A., D. Gajek, J. Gwozdecki, J Lisek, B. Labanovska, J. Mochecki and E. Niemczyk**, 2002. Integrowana Produkcja Owocow-Porzeczki, Skierniewice, pp. 52-53.
2. **Goryacheva, E.**, 1962. Development of Measures to Fight Diseases and Pests on Black Currant in the Region of Leningrad. Collection of reports of a scientific conference on plant protection 1960, Tartu, pp. 230-237 (Ru).
3. **Hristov, L.**, 1980. Black Currant. Hristo G. Danov, Plovdiv, pp. 70-73 (Bg).
4. **Kuzmina, E.,** 1986. Assessment of the Potential Productivity of Black Currant Cultivars. Collection of scientific reports, 46, 41-45 (Ru).
5. **Litvinova, B. and A. Ravkin**, 1972. Evaluation of Black Currant Cultivars for Susceptibility to Powdery Mildew and Bud Mites in the Moscow Region. Collection of fruit growing and berry growing in the non-chernozem zone, Moscow, vol. VIII (Ru).
6. **Mc Kinney, H. H.**, 1923. Influence of Soil Temperature and Moisture on Infection on Wheat Seedling by *Helmintosporium sativum*. *J. Agric. Research*, 34: 108-114.
7. **Minkov, P.**, 2012. Adaptation and Development of Elements of Existing Technologies for Fruit Production in Mountain Conditions to the Requirements of Organic Agriculture. Dissertation, Troyan, pp. 103-105 (Bg).
8. **Natalina, O.**, 1963. Diseases on Berries. Moscow, pp. 171-192 (Ru).

9. **Nedev, N., Y. Grigorov, H. Baev, S. Serfimov, A. Strandzhev, L. Kavardzhikov, K. Lazarov, N. Nikolov, V. Dzhuvinov, L. Popova, N. Slavov, P. Iliev, D. Stoyanov, I. Kunev, H. Krinkov, Yu. Vishanska and M. Topchiiska**, 1979. A Methodology for Studying Plant Resources in Fruit Plants, Plovdiv, pp. 121-123 (Bg).
10. **Stoyanova, T., P. Minkov and Iv. Minev**, 2008. Attitude of Introduced Black Currant Cultivars to Some Fungal Diseases for the Troyan Region. Ecology and Health, Academic Publishing House of Agrarian University, Plovdiv, pp. 291-296 (Bg).
11. **Tsonkovski, K. and V. Krasteva**, 1970. Grey Leaf Spots on Black Currant (*Mycosphaerella ribis Lind*) Biology and Fight, Academy of Agricultural Sciences, Complex Experimental Station, Troyan, Sofia, pp. 203-212 (Bg).

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (2), 193-204
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Роля на фитоцистатините в устойчивостта на земеделските култури към абиотични стресови фактори

Петя Христова

Агробиоинститут, 1164 София, България

The Importance of Phytocystatins for the Resistance of Crop Plants to Abiotic Stress Factors

Petya Christova

AgroBioInstitute, 1164 Sofia, Bulgaria
E-mail: petyachristova@abi.bg

Review paper

Received: 14.04.2019 *Accepted:* 24.04.2019 *Published:* 05.08.2019

РЕЗЮМЕ

Растителните цистатини (фитоцистатини) са обект на задълбочени изследвания повече от 30 години. Те са цистеинови протеазни инхибитори и са изолирани от различни видове растения. Фитоцистатините участват в редица важни функции в жизнения цикъл на растенията, започвайки от покълването на семената, защита от биотични и абиотични стресови фактори, стареенето и програмираната клетъчна смърт. Продължаващите глобални климатични промени през последните десетилетия изискват по-добра адаптация на растенията към внезапно променящата се среда. По тази причина цистатините имат важна роля при активирането на комплексни механизми за защита в растенията и за подобряване на устойчивото развитие на земеделските култури. Нашите 15 годишни изследвания в тази област доказват значението на цистатин от пшеница в защитата на растенията от абиотичен и биотичен стрес.

Ключови думи: фитоцистатини, засушаване, ниски температури, засоляване, растителна защита

SUMMARY

Plant cystatins (phytocystatins) are object of intense investigations more than 30 years. They are cysteine protease inhibitors that have been isolated from various plant species. Phytocystatins are involved in many important functions in the life cycle of plants, starting from seeds germination, protection to biotic and abiotic stress factors, senescence and programmed cell death.

The on-going global climate changes over the last decades require better adaptation of plants to the suddenly altering environments. Therefore, the role of plant cystatins is significant for the activation of a cross tolerance mechanisms for plant protection and the improvement of agricultural crops sustainability.

Our 15-year studies in this topic proved the importance of a wheat cystatin in the plant response to abiotic and biotic stress.

Key words: phytocystatins, drought, cold temperatures, salinity, plant protection

УВОД

Фитоцистатините са протеазни инхибитори участващи в защитните механизми на растенията към биотични (Martinez et al., 2003; Alvarez-Alfageme et al. 2007; Goulet et al. 2008; Popovic et al., 2012) и абиотични стресови фактори (Gaddour et al., 2001; Massonneau et al., 2005; Chojnacka et al., 2015). Те са включени в комплекс от регулаторни механизми, които водят до отговор на растенията спрямо различни неблагоприятни условия на средата (Velasco-Arroyo et al., 2018b). По тази причина, растителните цистатини са важни за оцеляването на растенията, подобряване качеството на земеделските култури и като следствие от това за увеличаването на добивите. Промените в тяхната експресия имат ключова роля в адаптирането на растенията към климатичните промени, които стават все по-екстремни и чести. Редица примери показват, че повишената толерантност на земеделските култури и моделните растения към абиотичен стрес е свързана с увеличени нива на експресията на фитоцистатини (Van der Vyver et al. 2003; Zhang et al., 2008; Wang et al., 2012; Quain *et al.* 2014; Tan et al., 2016). Натрупаните данни за ролята на цистатините в защитата на растенията доказват техния потенциал и участието им в разработването на стратегии за подобряване качествата на земеделските култури и развитието на устойчиво селско стопанство.

Влиянието на абиотичните стресови фактории, като засушаване и наводняване, ниски и високи температури, засоляване и други, върху добивите на основните земеделски култури по света се изследва задълбочено. Редица проучванията оценяват тяхното значение за земеделското производство и безопасността на храните в глобален мащаб (Porter et al., 2014). Разработени са различни моделни системи за предсказване на риска от намаляване на добивите от земеделските култури в

INTRODUCTION

Phytocystatins are well known protease inhibitors that are involved in protective mechanisms of plants to biotic (Martinez et al., 2003; Alvarez-Alfageme et al. 2007; Goulet et al. 2008; Popovic et al., 2012) and abiotic stress factors (Gaddour et al., 2001; Massonneau et al., 2005; Chojnacka et al., 2015). They take a part in the complex of regulatory events that leads to the response to a various unfavourable conditions of the environment (Velasco-Arroyo et al., 2018b). Therefore, plant cystatins are important for plant survival, crop improvement and increase of yields in the agriculture.

Their modified expression has a key role in the adaptation of plants to climate changes that become much more extreme and frequently occurred.

Several examples presented elevated tolerance to abiotic stress of crops or model plants based on higher level of the expression of phytocystatins (Van der Vyver et al. 2003; Zhang et al., 2008; Wang et al., 2012; Quain et al. 2014; Tan et al., 2016).

Accumulating evidence for the significance of the cystatins for plant protection suggests their potential usage in strategies for the improvement of crops and sustainable agriculture.

The effect of abiotic stress conditions such as drought and flooding, cold and heat, salinity and other factors on the yield of a major crop species worldwide is thoroughly explored. A lot of investigations assessed their impact on agricultural production and global food security (Porter et al., 2014).

Moreover, a variety of modelling systems to predict the risk for yield losses of crop plants caused by abiotic stress have been developed (Zhao et al., 2017; Leng and

следствие на абиотичен стрес (Zhao et al., 2017; Leng and Hall, 2019). Резултатите от серия анализи показват, че ежегодното повишаване на температурата може да доведе до редуциране на добивите на голяма територия в глобален мащаб (Porter et al., 2014). Обект на строг мониторинг са житните растения, като една от най-важните земеделски култури. Установено е, че царевицата и пшеницата са най-застрашени от повишаването на температурата с 1ºC, според резултатите от проучване, публикувано през 2017г. (Zhao et al., 2017). Изчислено е, че добивите от царевица и пшеница могат се понижат средно съответно със 7.4% и 6%, ако температурата се повиши с един градус. Същата температурна промяна ще доведе и до намаляване на добива от ориз с 3.2%. Значително понижение на добивите от ечемик в резултат на екстремни условия на средата е калкулирано с помощта на Earth System Models (Xie et al., 2018). Изчислените загуби започват от 3% и могат да достигнат до 17%, в зависимост от силата на стресовите фактори. Последните проучвания показва, че добивите от пшеница могат да намалеят под средното ниво в резултат на екстремално засушаване (Leng and Hall, 2019). Освен житните растения, другите земеделски култури също са засегнати от промените в условията на средата. Качеството и хранителната стойност на плодовете и зеленчуците зависи от наличието на вода и температурата, и могат значително да се повлияят от неблагоприятни фактори по време на прибиране на реколтата, обработване, съхранение и транспорт (Toivonen and Hodges, 2011). Редица изследвания показват, че засушаването например води до понижаване качеството на плодовете и намалява добивите в овощарството (Girona et al., 2010; Marsal et al., 2010; Lopez et al., 2013). Ето защо, една от основните цели в селекцията и програмите за

Hall, 2019).

Several analyses showed that annual increasing of temperature can lead to the reduction of crop yields across a wide area (Porter et al., 2014).

As the most important agricultural crop, cereals are strictly monitored and series of analyses have been published. According to a new study that calculates the impact of each degree Celsius of rising global temperature, corn and wheat are at a major risk (Zhao et al., 2017). It was estimated that corn and wheat yields could fall average of 7.4% and 6% respectively, if the temperature rise up with 1ºC. The yield of rice will decrease by 3.2% as a result of the same temperature changes.

Significant decrease of barley yields worldwide cause by extreme weather conditions was predicted by using Earth System Models (Xie et al., 2018). Calculated losses started from 3% and can reach up to 17% depending on the severity of stress factors. More recently it was found that the yields of wheat could fall below the average at the result of exceptional drought conditions (Leng and Hall, 2019). Besides cereal plants, other agricultural crops also suffer by the extreme changes of environmental conditions.

Quality and nutritional value of fruits and vegetables depend on water supply and temperature, and can be significantly affected by unfavourable factors during harvest, handling, storage and distribution (Toivonen and Hodges, 2011).

A lot of investigations showed that drought stress for example implicates fruit quality and yield of orchards (Girona et al., 2010; Marsal et al., 2010; Lopez et al., 2013). Therefore, the stress tolerance is a one of the main targets for crop breeding and improvement programmes in

развитие на устойчиво земеделие, е повишаване толерантността на стрес (Araus et al., 2008; Parry et al., 2012).

В този обзор са представени обобщени данни за фитоцистатините, участващи в толерантността на земеделските култури към абиотичен стрес, тяхната експресия при различни условия на средата и потенциалът им за повишаване на устойчивостта на растенията.

sustainable agriculture (Araus et al., 2008; Parry et al., 2012).

This review presents a summarized data for phytocystatins that are involved in response of crops to abiotic stress factor, their diverse expression under different environmental conditions and the potential application in stress tolerance of plants.

Фитоцистатини от земеделски култури, участващи в толерантността към абиотичен стрес

Ролята на цистатините в толерантността на растенията към различни абиотични стресови фактори е доказана при редица земеделски култури. В Таблица 1 са представени избрани примери за цистатини от житни, други земеделски култури и овощни видове.

Phytocystatins of crop plants involved in abiotic stress response

Involvement of phytocystatins in the response to different abiotic stress factors was reported for various crop plants. Some examples of cystatins from cereals, field and fruit crops are presented at Table 1.

Таблица 1. Фитоцистатини от земеделски култури, участващи в толерантността към абиотичен стрес
Table 1. Phytocystatins of crop plants involved in abiotic stress response

Cystatin; Цистатин	Crop plant; Култура	Abiotic stress; Абиотичен стрес	Author; Автор
HvCPI	barley; ечемик (*Hordeum vulgaris*)	cold shock, dark; студ, тъмнина	Gaddour et al., 2001
		drought; засушаване	Velasco-Arroyo et al., 2018a
TaMDC1	wheat; пшеница (*Triticum aestivum*)	cold, drought, salinity, abscisic acid; студ, суша, засоляване, абсцисинова киселина	Christova et al., 2006
TrcC-8	triticale; тритикале (*Ttiticum monococcum*)	water-deficit; воден дефицит	Chojnacka et al., 2015
OsCYS	rice;ориз (*Oryza sativa*)	cold, drought, salt; студ, суша, засоляване	Wang et al., 2015
CC	maize; царевица (*Zea mays*)	cold, drought; студ, суша	Massonneau et al., 2005
BvM14	sugar beet; захарно цвекло (*Beta vulgaris*)	salt; засоляване	Wang et al., 2012
VuC1	cowpea; аспержов боб (*Vigna unguiculata*)	drought, abscisic acid; суша, абсцисинова киселина	Diop et al., 2004
AhCPI	amaranth; амарант (*Amaranthus hypochondriacus*)	drought, salinity, cold, heat; суша, засоляване, студ, високи температури	Valdés-Rodrigues et al., 2007
Cystatin	grape; грозде (*Vitis vinifera*)	drought, salinity; суша, засоляване	Cramer et al., 2007
MdCYS	apple; ябълка (*Malus* sp.)	drought, cold, heat; суша, студ, високи температури	Tan et al., 2014

В житни култури са идентифицирани редица цистеинови протеазни

Several cysteine protease inhibitors associated with response to cold, drought

инхибитори свързани с реакцията на студ, суша и засоляване. Семейството на цистатините в ечемика се състои от 13 членове и някои от тях се индуцират от ниски температури и тъмнина (Gaddour et al., 2001), докато други са свързани с толерантността към засушаване (Velasco-Arroyo et al., 2018a). В царевица (*Zea mays*) също са открити цистатини с различни функции, свързани с отговора на растенията към застудяване и засушаване (Massonneau et al., 2005). В геномът на ориз (*Oryza sativa*) са характеризирани 11 цистатинови гена, като голяма част от тях са асоциирани с устойчивостта на стресови фактори на средата, включително студ, суша, засоляване и влияние на растителни хормони (Wang et al., 2015). От аклимирана на студ зимна пшеница (*Triticum aestivum* cv. Chihoku) е изолиран цистатин TaMDC1, състоящ се от два домена, който се индуцира от ниски температури (Christova et al., 2006). Освен от студ, този цистатин се натрупва в растенията и при други абиотични стресове като суша, засоляване и третиране с ABA. В тритикале (*Triticum monococcum*), хибрид между пшеница и ръж, е установена повишена експресия на цистатин TrcC-8 в резултат на воден дефицит (Chojnacka et al., 2015).

Освен в житни, фитоцистатини свързани с абиотичния стрес, са открити и характеризирани в редица други земеделски култури. От листа на вигна (*Vigna unguiculata*) след засушаване е изолиран мултицистатин VuC1, състоящ се от два цистатинови домена (Diop et. al., 2004). Проучено е значението на кДНК на този цистатин в клетъчния отговор на прогресивно засушаване, десикация и третиране с абсцисинова киселина. Редица абиотични стресови фактори, в това число воден дефицит, висока и ниска температура, засоляване, предизвикват тъканноспецифична експресия на цистатин AhCPI в амарант (*Amaranthus hypochondriacus*; Valdes-Rodrigues et

and salinity of cereal crops have been identified. The cystatin family of barley (*Hordeum vulgaris*) is consisted of 13 members and some of them are induced by cold shock and dark (Gaddour et al., 2001), whereas others are involved in drought tolerance (Velasco-Arroyo et al., 2018a). A number of cystatins with distinct functions that respond to cold and drought stress were also identified in maize, *Zea mays* (Massonneau et al., 2005). Wang et al. (2015) characterized 11 cystatin genes in rice (*Oryza sativa*) genome and showed that majority of them are responsive to various environmental stress factors as cold, drought and salt, as well as plant hormones (Wang et al., 2015).

A cold inducible multidomain cystatin TaMDC1 was isolated from cold acclimated winter wheat *Triticum aestivum* cv. Chohoku (Christova et al., 2006). In addition to cold, accumulation of the TaMDC1 was provoked by other stresses including drought, salt and ABA treatment. The elevated expression of the TrcC-8 cystatin in triticale (*Triticum monococcum*), a hybrid of wheat and rye, in a response to water-deficit was recently reported (Chojnacka et al., 2015).

In addition to cereals, phytocystatins from other crop plants that are involved in response to abiotic stress were also identified and characterized. A multicystatin VuC1 containing of two two cystatin-like domains was isolated from leaves of cowpea (*Vigna unguiculata*) after induction by drought stress (Diop et. al., 2004). Involvement of the VuC1 cDNA in the cellular response to progressive drought-stress, dessication and application of exogenous abscissic acid was studied. A multiple abiotic stress factors, including water deficit, heat, cold and salinity, induced tissue-specific expression of the AhCPI cystatin in amaranth *Amaranthus hypochondriacus* (Valdés-Rodrigues et al., 2007). An

al., 2007). Мащабен мРНК анализ показва също, че водният дефицит и засоляването индуцират експресия на цистатин във вегетавните тъкани на лоза (*Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon; Cramer et al., 2007). Резултатите от това прочуване показват транзитна експресия на цистатина на 4-ти ден от третирането, последвана от неговото нарастващо синтезиране между 8-ми и 16-ти ден, което доказва участие на цистатина от лоза в началните промени на генната експресия, свързани с реакцията на стрес. Друго изследване, установява, че третирането със солеви стрес на семеначета от захарно цвекло (*Beta vulgaris*) води до натрупване на цистатин BvM14 (Wang et al., 2012). В геномът на ябълка (*Malus* × *domestica* Borkh.) е идентифицирано семейство цистатини, състоящо се от 26 PhyCys гена и е анализирано участието на 8 от тях в отговора на растенията към третиране с един или повече абиотични стресови фактори (Tan et al., 2014).

Експресия на цистатини при абиотичен стрес и мултифункционалност

Повечето растителни цистатини имат повишена експресия под влияние на различни стресови фактори. Освен това, тяхното натрупване е свързано също така с органна или тъканна специфичност, както и с изпълнение на редица други функции. Така например е установена повишената експресия на осем цистатинови гена в ябълка в резултат на третиране с абиотични стимули (Tan et al., 14). Тяхното ниво на траскрипция се повишава и по време на нарастването и стареенето на листата, което показва участие на цистатините в развитието на тъканите и стареенето на листата, в допълнение към ролята им в толерантността към стрес. Мултифункционалност е доказана и за цистатин от амарант AhCPI, който от една страна е регулатор на покълването на семена, но също така е защитен елемент при абиотичен стрес.

induction of cystatin expression in vegetative tissues of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon) under water deficit and salinity stress was demonstrated by the large-scale mRNA analysis (Cramer et al., 2007). Resultas of this experiment showed that transient peak of cystatin at the day 4^{th} followed by increasing accumulation between the day 8^{th} and the day 16^{th} proved that the cystatin in grape is involved in early changes in gene expression associated with stress response.

In the other experiments, Wang et al. (2012) reported that salt-stress treatment leaded to accumulation of the BvM14 cystatin in seedlings of the sugar beet (*Beta vulgaris*). Cystatin family consisting of 26 PhyCys genes were identified within the entire apple genome (*Malus* × *domestica* Borkh.) and eight selected genes involved in response to treatment with one or more abiotic stresses were analyzed (Tan et al., 2014).

Expression pattern in response to abiotic stress and multiple functions of cystatins

Most of plant cystatins have been found to be up-regulated by different stress factors. Moreover, their expression is also associated with organ or tissue specificity, as well as multiple functions.

For example, the up-regulation of eight cystatin genes from apple in response to abiotic treatments was reported (Tan et al., 14). Their transcription level was also elevated during maturation and senescence of leaves indicating for the involvement of cystatins in the tissue development and leaf senescence, in addition to stress tolerance.

Diverse functions were described also for the amaranth cystatin AhCPI that was described as a regulator of seed germination as well as a protective agent against abiotic stimuli.

Неговата експресия се повишава значително в корени и стъбла при воден дефицит, засоляване, третиране с ниски и високи температури, докато в листа е установена транзитна експресия само при високи температури, което показва тъканна специфичност в натрупването на цистатин в зависимост от приложения стрес (Valdes-Rodrigues et al., 2007). Анализирана е функцията на цистатин VuC1 при засушаване, десикация и третиране с ABA на два сорта вигна, различаващи се по тяхната толерантност към воден стрес (Diop et al., 2004). Установен е различен модел на натрупване на VuC1 транскрипта във всеки от сортовете, съответстващо на тяхното ниво на толерантност към стрес. Нашите изследвания проведени с мултицистатин TaMDC1 от пшеница също потвърждават плейотропните функции на растителните цистатини (Christova et al., 2006; Christova et al., 2018). Експресия на мРНК на *TaMDC1* се повишената в зародиша, първичните листа и корените на семеначета по време на аклимирането на пшеницата. Установено е също така и натрупване на пшеничения цистатин в листа и корени при засушаване, засоляване и третиране с ABA (Christova et al., 2006).

Докато по-голяма част от цистатините се характеризират с натрупване при абиотичен стрес, за някои представители на семейството е установена понижена експресия или липса на промяна (Massonneau et al., 2005; Wang et al., 2015). Два цистатинови гена (*CC8* и *CC9*) в царевица се индуцират от ниски температури, докато пет други гена (*CCII*, *CC3*, *CC4*, *CC5* и *CC9*) имат по-ниско ниво на експресия при воден дефицит (Massonneau et al., 2005). Освен това, генът *CCI* се натрупва главно в незряла метлица, други два гени (*CC*8 и *CC10*) се експресират в развиващи се зърна, докато някои от гените се експресират в повече от една растителна тъкан. Тези резултати

The expression of the AhCPI cystatin was significantly elevated in roots and stems in the response to water deficit, salinity, cold and heat treatment, whereas a transient accumulation of the transcript in leaves as a result of high temperatures was detected suggesting for tissue and stress-specific mode of the cystatin accumulation (Valdés-Rodrigues et al., 2007). The role of the VuC1 cystatin in response to drought stress, dessication and treatment with ABA was analyzed using two cowpea cultivars with different water stress tolerance (Diop et al., 2004).

Diverse accumulation pattern of the VuC1 transcript in each cultivar was observed, corresponding to their level of stress tolerance. Our investigations with the multidomain wheat cystatin TaMDC1 also confirmed pleiotropic functions of plant cystatins (Christova et al., 2006; Christova et al., 2018).

Elevated expression of the TaMDC1 mRNA in crown, shoots and roots during cold acclimation of wheat was detected. Accumulation of the TaMDC1 in shoots and roots was also induced by drought, salt and ABA treatment (Christova et al., 2006).

Whilst the majority of cystatins demonstrated elevated expression, some members of the family have been reported to be down-regulated by abiotic stimuli or remain stable (Massonneau et al., 2005; Wang et al., 2015).

Two cystatin genes in maize (*CC8* and *CC9*) were induced by cold stress, but other five genes (*CCII*, *CC3*, *CC4*, *CC5* and *CC9*) were down-regulated in response to water deficiency (Massonneau et al., 2005). Moreover, the *CCI* gene was mainly expressed in immature tassels, *CC*8 and *CC10* genes were accumulated in developing kernels, while the other seven cystatin genes were expressed in more than one plant tissue.

показват разнообразието от функции изпълнявани от цистатиновите *CC* гени в царевица (Massonneau et al., 2005). Въз основа на модела на експресия на 11 цистатинови гена в ориз е доказана тяхната мултифункционалност при промени в условията на средата, а също така и по време на развитието на семената (Wang et al., 2015). За по-голяма част от гените е установено участие в отговора на растенията на различни абиотични фактори, докато някои гени остават стабилни при стрес, което показва тяхната важна роля за нормалното развитие на растенията (Wang et al., 2015).

Натрупването на фитоцистатини при абиотичен стрес, техният модел на експресия и изпълнението на разнообразни функции доказва ключовата роля на цистатините в комплексния отговор на растенията спрямо различни стимули. Техният плейотропен ефект и потенциалното им приложение за подобряване на земеделските култури са представени в изследванията на редица автори (Munger et al. 2011; Kunert et al., 2015; Chrsitova et al., 2018; Velasco-Arroyo et al., 2018b).

Свръхекспресия на фитоцистатини, обуславяща толерантност към стрес

Получените резултати от изследванията на фитоцистатините показват, че те имат важна роля в адаптирането на растенията към различни стресови фактори. Редица проучвания анализират функцията на растителните цистатини в отговор на абиотичен стрес чрез екзогенна експресия на цистеинови протеазни инхибитори главно в моделни растения като *Arabidopsis* и тютюн, но също така и при някои култури като соя, захарно цвекло и ябълка. Така например цистатин от ориз (OCI) участва в редуцирането на негативния ефект от от въздействието на ниските температури върху протичането на фотосинтезата при трансгенни растения тютюн,

All these findings demonstrated the variety of distinct functions performed by *CC* genes in the maize plant (Massonneau et al., 2005). Multiple roles of eleven rice cystatin genes in the response of plants to environmental changes as well as at the time of seeds development were established based on their expression pattern (Wang et al., 2015). Most of the genes were responsive to different abiotic factors, while some others were stable under stress, indicating their essential roles in normal plant development (Wang et al., 2015).

The accumulation of phytocystatins in response to abiotic stress, their expression pattern and the performance of multiple functions proved the key place of cystatins into the complex response to different stimuli.

Their pleiotropic effect and potential for the crop improvement is presented by a number of investigations (Munger et al. 2012; Kunert et al., 2015; Chrsitova et al., 2018; Velasco-Arroyo et al., 2018b).

Overexpression of phytocystatins for stress tolerance

Collected data for phytocystatins showed that they are important for the adaptation of plants to various stress factors. A series of studies have explored the function of plant cystatins in the response to abiotic stress by exogenous expression of cysteine protease inhibitors mainly into model plants *Arabidopsis* and tobacco, but also in some crop species as soybean, sugar beet and apple.

The oryzacystatin I (OCI) decreased negative effect of chilling temperatures on photosynthesis in transgenic tobacco plants expressing rice cystatin (Van der Vyver et al., 2003).

чрез повишената му експресия (Van der Vyver et al., 2003). Освен с температурния стрес, OCI е свързан и с толерантност към суша при соя (*Glycine max*) и моделното растение *Arabidopsis thaliana* чрез активиране на стригалактоновия сигнален механизъм (Quain et al., 2014). Ролята на цистатини от ябълка при различни абиотични стресови фактори е доказа-на наскоро чрез свърхекспресията им в ябълка (*Malus prunifolia*) и *A. thaliana*. Експресията на ябълковият цистатин MpCYS5 обуславя толерантност към солеви стрес в *A. thaliana* (Tan et al., 2016), докато свръхекспресията на MpCYS4 в *Arabidopsis* и ябълка (*Malus domestica*) повишава толерантността към суша чрез ABA трансдукция (Tan et al., 2017). Хомозиготни растения *Arabidopsis* с повишена устойчивост на засоляване са получени и в следствие на свръхекспресия на цистатин BvM14 от захарно цвекло (Wang et al., 2012). Комплексна толерантност към суша, студ, засоляване и окислителен стрес при *Arabidopsis* е постигната чрез екзогенна експресия на два цистеинови протеазни инхибитора *AtCYSa* и *AtCYSb* изолирани от същия растетен вид (Zhang et al., 2008). Всички тези моделни системи, свръхекспресиращи фитоцистатини, показват значението на цистатините за толерантността на растенията към неблагоприятните условия на средата. Те също така подпомагат изучаването механизма на устойчивост на растенията към абиотичен стрес, който все още не е добре проучен.

In addition to temperature stress, OCI is also associated with drought tolerance in soybean (*Glycine max*) and *Arabidopsis thaliana* through strigolactones-mediated signalling (Quain *et al.* 2014).

Recently, the involvement of the apple cystatins in various abiotic stress factors was proved by overexpression in apple (*Malus prunifolia*) and *Arabidopsis thaliana*.

The ectopic expression of the MpCYS5 cystatin led to salt stress tolerance of *A. thaliana* (Tan et al., 2016), whereas overexpression of MpCYS4 in *Arabidopsis* and apple (*Malus domestica*) enhanced drought tolerance by ABA-mediated signal transduction (Tan et al., 2017).

Improved salinity tolerance of homozygous *Arabidopsis* plants as a result of overexpression of the sugar beet cystatin BvM14 was reported (Wang et al., 2012). A multiple tolerance to drought, cold, salt and oxidation in *Arabidopsis* plants was achieved by overexpression of two cysteine proteinase inhibitors *AtCYSa* and *AtCYSb* isolated from the model plant (Zhang et al., 2008).

All these plant model systems overexpressing phytocystatins supply significant knowledge for the role of cystatins into abiotic stress tolerance and support the examination of a resistance mechanism, that is still not well examined.

ИЗВОДИ

Фитоцистатините са ключов фактор за приспособяването на културните растения към неблагоприятните условия на околната среда. Освен с толерантността на растенията към абиотични стресови фактори, те са свързани и с устойчивостта на биотичен стрес. Ето защо цистатините играят важна роля за активирането на меха-

CONCLUSIONS

Phytocystatins they are a key factor in the adaptation of crop plants to unfavourable conditions of the environment. In addition to response of plants to abiotic stress factors, they take a part in resistance to biotic stress factors. Therefore, plant cystatins play an important role for the activation of a cross tolerance mechanisms for the protection

низми за комплексна защита на растителна и подобряване на устойчивостта на земеделските култури.

of plants and the sustainability of agricultural crops.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Alvarez-Alfageme, F., M. Martinez, S. Pascual-Ruiz, P. Castanera, I. Diaz and F. Ortego**, 2007. Effects of Potato Plants Expressing a Barley Cystatin on the Predatory Bug *Podisus maculiventris* via Herbivorous Prey Feeding on the Plant. *Transgenic Res*, 16, 1-13.
2. **Araus, J. L., G. A. Slafer, C. Royo and M. D. Serret**, 2008. Breeding for Yield Potential and Stress Adaptation in Cereals. *Critical Reviews Plant Sciences*, 27, 377-412.
3. **Chojnackaa, M., J. Szewinska, M. Mielecki, M. Nykiel, R. Imai, W. Bielawski and S. Orzechowski**, 2015. A Triticale Water-Deficit-Inducible Phytocystatin Inhibits Endogenous Cysteine Proteinases *In Vitro*. *Journal of Plant Physiology*, 174, 161-165.
4. **Cramer, G. R., A. Ergül, J. Grimplet, R. L. Tillett, E. A. R. Tattersall, M. C. Bohlman, D. Vincent, J. Sonderegger, J. Evans, C. Osborne, D. Quilici, K. A. Schlauch, D. A. Schooley and J. C. Cushman**, 2007. Water and Salinity Stress in Grapevines: Early and Late Changes in Transcript and Metabolite Profiles. *Functional and Integrative Genomics*, 7, 111-34.
5. **Christova, P.K., N. K. Christov, P. V. Mladenov and R. Imai**, 2018. The Wheat Multidomain Cystatin TaMDC1 Displays Antifungal, Antibacterial, and Insecticidal Activities *In Planta*. *Plant Cell Rep*, 37(6), 923-932.
6. **Christova, P., N. Christov and R. Imai**, 2006. A Cold Inducible Multidomain Cystatin from Winter Wheat Inhibits Growth of Snow Mold Fungus, *Microdochium nivale*. *Planta*, 223, 1207-1218.
7. **Diop, N. N., M. Kidric, A. Repellin, M. Gareil, A. d'Arcy-Lameta, A. T. Pham Thi and Y. Zuily-Fodil**, 2004. A Multicystatin is Induced by Drought-Stress in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Leaves. *FEBS Lett*, 577, 545-550.
8. **Gaddour, K., J. Vicente-Carbajosa, P. Lara, I. Isabel-Lamoneda, I. Diaz and P. Carbonero**, 2001. A Constitutive Cystatin-Encoding Gene From Barley (Icy) Responds Differentially to Abiotic Stimuli. *Plant Mol Biol*, 45, 599-608.
9. **Girona, J., M. H. Behboudian, M. Mata, J. del Campo and J. Marsal**, 2010. Exploring Six Reduced Irrigation Options Under Water Shortage for 'Golden Smoothee' Apple: Responses of Yield Components over Three Years. *Agric. Water Manag*., 98, 370-375.
10. **Goulet, M. C., C. Dallaire, L. Ph. Vaillancourt, M. Khalf, A. M. Badri, A. Preradov, M. O. Duceppe, G. C. Cloutier and C. D. Michaud**, 2008. Tailoring the Specificity of a Plant Cystatin toward Herbivorous Insect Digestive Cysteine Proteases by Single Mutations at Positively Selected Amino Acid Sites. *Plant Physiol*, 146, 1010-1019.
11. **Kunert, K. J., S.G. van Wyk, C. A. Cullis, B. J. Vorster and C. H. Foyer**, 2015. Potential Use of Phytocystatins in Crop Improvement, with a Particular Focus on Legumes. *Journal of Experimental Botany*, 66(12), 3559-3570.
12. **Leng, G. and J. Hall**, 2019. Crop Yield Sensitivity of Global Major Agricultural Countries to Droughts and the Projected Changes in the Future. *Science of the Total Environment*, 654, 811-821.
13. **Lopez, G., M. H. Behboudian, J. Girona and J. Marsal**, 2013. Drought in Deciduous Fruit Orchards: Implications for Yield and Fruit Quality. In: R. Aroca (ed.),

Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, DOI: 10.1007/978-3-642-32653-0-17.2013.
14. **Marsal, J., M. H. Behboudian, M. Mata, B. Basile, J. del Campo, J. Girona and G. Lopez**, 2010. Fruit Thinning in 'Conference' Pear Grown Under Deficit Irrigation to Optimise Yield and to Improve Tree Water Status. *J. Hort. Sci. Biotech.,* 85, 125-130.
15. **Martinez, M., E. Lopez-Solanilla, P. Rodriguez-Palenzuela, P. Carbonero and I. Diaz**, 2003. Inhibition of Plant-Pathogenic Fungi by the Barley Cystatin Hv-CPI (Gene Icy) is Not Associated with Its Cysteineproteinase Inhibitory Properties. *Mol Plant Microbe Interact*, 16, 876-883.
16. **Massonneau, A., P. Condamine, J. P. Wisniewski, M. Zivy and P. M. Rogowsky**, 2005. Maize Cystatins Respond to Developmental Cues, Cold Stress and Drought. *Biochim Biophys Acta*, 1729(3), 876-883.
17. **Munger, A., K. Coenen, L. Cantin, Ch. Goulet, L. P. Vaillancourt, M. C. Goulet, R. Tweddell, F. Sainsbury and D. Michaud**, 2012. Beneficial 'Unintended Effects' of a Cereal Cystatin in Transgenic Lines of Potato, *Solanum tuberosum*. *BMC Plant Biol*, 12, 198-209.
18. **Parry, M. A. J., J. Wang and J. L. Araus**, 2012. New Technologies, Tools and Approaches for Improving Crop Breeding. *Journal of Integrative Plant Biology*, 54, 210-214.
19. **Popovic, M. M., A. Balajic, D. Ristic, B. Krstic, M. J. Jankov and M. Gavrovic-Jankulovic**, 2012. In Vitro and In Vivo Antifungal Properties of Cysteine Protease Inhibitor from Green Kiwifruit. *J Sci Food Agric*, 92, 3072-3078.
20. **Porter, J. R., L. Xie, A. J. Challinor, K. Cochrane, S. M. Howden, M. M. Iqbal, D. B. Lobell and M. I. Travasso**, 2014. Food Security and Food Production Systems. Chapter 7, Cambridge University Press.
21. **Quain, M. D., M. E. Makgopa, B. Márquez-García, G. Comadira, N. Fernandez-Garcia, E. Olmos, D. Schnaubelt, K. J. Kunert and C. H. Foyer**, 2014. Ectopic Phytocystatin Expression Leads to Enhanced Drought Stress Tolerance in Soybean (*Glycine max*) and *Arabidopsis thaliana* through Effects on Strigolactone Pathways and Can Also Result in Improved Seed Traits. *Plant Biotechnol J*, 12(7), 903-913.
22. **Tan, Y., M. Li, Y. Yang, X. Sun, N. Wang, B. Liang and F. Ma**, 2017. Overexpression of Mpcys4, a Phytocystatin Gene From *Malus prunifolia* (Willd.) Borkh., Enhances Stomatal Closure to Confer Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis and Apple. *Frontiers in Plant Science*, 8, 33.
23. **Tan, Y., S. Wang, D. Liang, M. Li and F. Ma**, 2014. Genome-Wide Identification and Expression Profiling of the Cystatin Gene Family in Apple (*Malus* × *Domestica* Borkh.). *Plant Physiol. Biochem.*, 79, 88-97.
24. **Tan Y., X. Wei, P. Wang, X. Sun, M. Li and F. Ma**, 2016. A Phytocystatin Gene from *Malus prunifolia* (Willd.) Borkh., MpCYS5, Confers Salt Stress Tolerance and Functions in Endoplasmic Reticulum Stress Response in Arabidopsis. *Plant Mol Biol Rep*, 34, 62-75.
25. **Toivonen, P. M. A. and D. M. Hodges**, 2011. Abiotic Stress in Harvested Fruits and Vegetables. Chapter in book: Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations, doi:10.5772/22524.
26. **Valdés-Rodríguez, S., A. Guerrero-Rangel, C. Melgoza-Villagómez, A. Chagolla-López, F. Delgado-Vargas, N. Martínez-Gallardo, C. Sánchez-Hernández and J. Délano-Frier**, 2007. Cloning of a cDNA Encoding a Cystatin from Grain Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) Showing a Tissue-Specific Expression that

is Modified by Germination and Abiotic Stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 790-798.

27. **Van der Vyver, C., J. Schneidereit, S. Driscoll, J. Turner, K. Kunert and C. H. Foyer**, 2003. Oryzacystatin I Expression in Transformed Tobacco Produces a Conditional Growth Phenotype and Enhances Chilling Tolerance. *Plant Biotechnol J*, 1, 101-112.

28. **Velasco-Arroyo, B., M. Diaz-Mendoza, A. Gomez-Sanchez, B. Moreno-Garcia, M. E. Santamaria, M. Torija-Bonilla, G. Hensel, J. Kumlehn, M. Martinez and I. Diaz**, 2018a. Silencing Barley Cystatins Hvcpi-2 and Hvcpi-4 Specifically Modifies Leaf Responses to Drought Stress: Barley Cystatin Roles in Response to Drought. *Plant Cell Environ*., 41(8), 1776-1790.

29. **Velasco-Arroyo, B., M. Martinez, I. Diaz and M. Diaz-Mendoza**, 2018b. Differential Response of Silencing *Hvicy2* Barley Plants against *Magnaporthe Oryzae* Infection and Light Deprivation. *BMC Plant Biology*, 18, 337.

30. **Wang, W., P. Zhao, X. Zhou, H. Xiong and M. Sun**, 2015. Genome-Wide Identification and Characterization of Cystatin Family Genes in Rice (Oryza sativa L.). *Plant Cell Rep*, 34(9), 1579-1592.

31. **Wang, Y., Y. Zhan, C. Wu, S. Gong, N. Zhu, S. Chen and H. Li**, 2012. Cloning of a Cystatin Gene from Sugar Beet M14 That Can Enhance Plant Salt Tolerance. *Plant Science*, 191-192, 93-99.

32. **Xie, W., W. Xiong, J. Pan, T. Ali, Q. Cui, D. Guan, J. Meng, N. D. Mueller, E. Lin and S. J. Davis**, 2018. Decreases in Global Beer Supply Due to Extreme Drought and Heat. *Nature Plants*, 4(11), 964-973.

33. Zhao, C., B. Liu, S. Piao, X. Wang, D. B. Lobell, Y. Huang, M. Huang, Y. Yao, S. Bassu, P. Ciais, J.-L. Durand, J. Elliott, F. Ewert, I. A. Janssens, T. Li, E. Lin, Q. Liu, P. Martre, C. Müller, S. Peng, J. Peñuelas, A. C. Ruane, D. Wallach, T. Wang, D. Wu, Z. Liu, Y. Zhu, Z. Zhu and S. Asseng, 2017. Temperature Increase Reduces Global Yields of Major Crops in Four Independent Estimates. *PNA*S, 114(35), 9326-9331.

34. **Zhang, X.X., S. K. Liu and T. Takano**, 2008. Two Cysteine Proteinase Inhibitors from *Arabidopsis thaliana*, *Atcysa* and *Atcysb*, Increasing the Salt, Drought, Oxidation and Cold Tolerance. *Plant Molecular Biology,* 68, 131-143.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2019, 22 (2), 205-211 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

In vitro тестове за чувствителност към фунгициди на видове от род *Phytophthora* изолирани от различни екосистеми в България

Анета Любенова*, Славчо Славов, Калоян Костов

Агробиоинститут, бул. Драган Цанков 8, 1164 София, България

In vitro Susceptibility to Fungicides by *Phytophthora* Species Isolated from Different Ecosystems in Bulgaria

Aneta Lyubenova*, Slavcho Slavov, Kaloyan Kostov

AgroBioInstitute, 8 Dragan Tzankov Blvd, fl. 4, 1164 Sofia, Bulgaria
**E-mail: anetalyubenova@abi.bg*

Original scientific paper

Received: 18.04.2019 *Accepted:* 25.04.2019 *Published:* 05.08.2019

РЕЗЮМЕ

Шест вида от род *Phytophthora* изолирани в България (*Phytophthora rosacearum*, *P. cryptogea*, *P. plurivora*, *P. cambivora*, *P. citricola* и *P. megasperma*) бяха тествани в *in vitro* експеримент за чувствителност към различни фунгициди. Използвани са четири популярни фунгицида, регистрирани за борба с оомицетите: Верита ВГ (667 g/kg алуминиев фозетил и 44 g/kg фенамидон), Акробат МЦ (90 g/kg диметоморф и 600 g/kg манкоцеб), Инфинито СК (625 g/l пропамокарб хидрохлорид и 62,5 g/l флуопиколид) и Ридомил Голд МЦ (64% манкоцеб и 4% металаксил–М). Четирите фунгицида потискат в различна степен растежа на мицела на изследваните изолати. Фунгицидът Верита в най-ниска степен влияе върху мицелния растеж на изолатите при *in vitro* експериментите, като това може да се обясни с неговия механизъм на действие. От тестваните изолати най-чувствителен към всички фунгициди е *P. rosacearum* Т 8/2. По-голям фунги-

SUMMARY

Six *Phytophthora* species originating from Bulgaria (*Phytophthora rosacearum*, *P. cryptogea*, *P. plurivora*, *P. cambivora*, *P. citricola* and *P. megasperma*) were tested in *in vitro* experiment for susceptibility to different fungicides. Four popular fungicides registered for control of the *Oomycetes* were used: Verita WG (667 g/kg fosetyl aluminum and 44 g/kg fenamidone), Acrobat M DG (90 g/kg dimethomorph and 600 g/kg mancozeb) ,Infinito SC (625 g/l propamocarb hydrochloride and 62.5 g/l fluopicolide) and Ridomil Gold MZ 68 WP (64% mancozeb and 4% metalaxyl-M). The four fungicides exhibited varying mycelial growth inhibiting effect on the tested isolates. Among the tested isolates, the most sensitive to all fungicides was *P. rosacearum* Т 8/2. The fungicide Verita had the lowest impact on the growth of isolates in the *in vitro* experiments, which may be explained by its action mechanism.

статичен ефект върху мицелния растеж на изолатите имаха фунгицидите Акробат, Ридомил голд и Инфинито, които евентуално могат да се използват при ограничаване на вредите причинявани от тези растителни патогени при *in vivo* условия.

Ключови думи: *Phytophthora,* фунгициди, мицелен растеж

A greater fungistatic effect on the mycelial growth of the isolates was demonstrated by the fungicides Acrobat, Ridomil Gold and Infinito, which are promising in restriction of disease symptoms caused by these plant pathogens *in vivo*.

Key words: *Phytophthora*, fungicides, mycelial growth

УВОД

Видовете от род *Phytophthora* са важни патогени по земеделските култури. *Phytophthora infestans* причинява болестта мана по картофите, *Phytophthora capsici* нанася вреди по различни икономически важни култури от сем. Тиквови (*Cucurbitaceae*), *Phytophthora cactorum* и *Phytophthora cryptogea* причиняват болести по овощните растения и т.н (Erwin and Ribeiro, 1996). В последните две десетилетия нарасна значението на растителните патогени от род *Phytophthora* за горските екосистеми. В следствие на различни фактори като интензифицирането на международната търговия с растения и други, някои интродуцирани видове от род *Phytophthora* се превърнаха в голям проблем за естествените екосистеми. Така например загиването на обикновения бук (*Fagus sylvatica* L.) се свързва с *Phytophthora plurivora, Phytophthora cambivora u P. cactorum* (Jung et al., 2005). Загиването на елшата с *Phytophthora alni*, а *Phytophthora ramorum* с внезапното загиване на дъба в смесените гори на централното Калифорнийско крайбрежие и Орегон (САЩ) (Brasier et al., 1999, Garbelotto et al., 2001). Контролът на болестите причинявани от оомицети, включително *Phytophthora* с помощта на фунгициди е обект на редица проучвания. Поради това, че оомицетите не могат да синтезират стероли, те не са чувствителни към фунгициди, инхибиращи синтеза на стероли за разлика от същинските гъби. В настоящото изследване при *in vitro* условия са изпитани шест вида от

INTRODUCTION

Species of the genus *Phytophthora* are important pathogens on agricultural crops. *Phytophthora infestans* is the causative agent of the potato late blight, *Phytophthora capsici* is a pathogen on economically important crops from *Cucurbitaceae* family, *Phytophthora cactorum* and *Phytophthora cryptogea* are causing diseases on horticulture plants and etc. (Erwin and Ribeiro, 1996). In the last two decades the importance of plant pathogens from the genus *Phytophthora* for forest ecosystems has increased. As a result of a various factors, like the intensification of international plant trade and others, alien *Phytophthora* species have become a major problem for natural ecosystems.

For example, beech (*Fagus sylvatica* L.) decline is associated with *Phytophthora plurivora*, *Phytophthora cambivora* and *P. cactorum* (Jung et al., 2005). The alder decline is associated with *Phytophthora alni,* and *Phytophthora ramorum* is the causative agent of Sudden Oak Death in the mixed forests of the central California coast and Oregon (USA) (Brasier et al., 1999, Garbelotto et al., 2001). The control of diseases caused by *Oomycetes*, including *Phytophthora*, through fungicides, has been a subject of a number of studies. Because oomycetes do not synthesize sterols, they are not susceptible to fungicides that inhibit synthesis of sterols as opposed to the Fungi. In the present study six *Phytophthora* isolates recovered from different ecosystems in Bulgaria

род *Phytophthora* изолирани от различни екосистеми в България (*P. rosacearum*, *P. cryptogea*, *P. plurivora*, *P. cambivora*, *P. citricola* и *P.megasperma*) за чувствителност към четири фунгицида регистрирани за борба с оомицети.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

От всички изолати *Phytophthora* беше избран по един представител от вид, като са подбрани най-агресивните, според резултатите от тестовете за патогенност проведени в предишно изследване (Lyubenova et al., 2016). Следните изолати *Phytophthora* бяха тествани за чувствителност към 4 вида фунгициди регистрирани за борба с оомицетите: *P. rosacearum* Т 8/2, *P. cryptogea* Б 10/2, *P. plurivora* Т 2/1, *P. cambivora* В 4/1, *P. citricola* ГД 1 и *P. megasperma* Вр.с. 3/2а.

Беше приготвен 1% разтвор в стерилна дестилирана вода на всеки от фунгицидите. В центъра на Петриеви блюда с морковен агар (16 g агар, 3 g CaCO3, 100 ml морковен сок/1L) бяха поставени малки парченца мицел на всеки от изследваните изолати. По две Петриеви блюда за всяка комбинация фунгицид/изолат и още четири контролни без фунгицид са инокулирани по този начин.

Петриевите блюда бяха оставени за един ден при стайни условия за иницииране на растежа. През центъра на всяко Петриево блюдо е прекарана линия преминаваща през центъра на колонията и през точките в които ще бъде накапан фунгицида. Преди накапването върху линията е отбелязан края на колонията, което и началната точка за измерване на растежа. По 30 µl от 1% разтвор на всеки фунгицид бяха накапани от двете срещуположни страни на колонията върху стерилни кръгчета филтърна хартия с диаметър около 3 mm. Отчитането е извършено два пъти - след три и след пет дни. Измерен е радиуса на колониите по дължината на предварително начертаните линии, от момента на на-

(*Phytophthora rosacearum*, *P. cryptogea*, *P. plurivora*, *P. cambivora*, *P. citricola* and *Phytophthora megasperma*) have been tested for susceptibility to various fungicides in *in vitro* experiment.

MATERIAL AND METHODS

The *Phytophthora* isolates used in this study have shown to be the most aggressive in pathogenicity tests performed in a previous study (Lyubenova et al., 2016): *P. rosacearum* Т 8/2, *P. cryptogea* B10/2, *P. plurivora* Т 2/1, *P. cambivora* V 4/1, *P citricola* GD 1 and *P. megasperma Vr. s*. 3/2a.

A 1% solution was prepared in sterile distilled water of each fungicide. At the center of petri dishes with carrot agar (16 g agar, 3 g CaCO3, 100 ml carrot juice/1L) were placed small agar pieces with culture of each of the studied isolates.

Two Petri dishes for each fungicide/isolate combination and four other non-fungicidal controls were prepared in this way.

Petri dishes were left for one day under room conditions to initiate growth. A line intersecting the center of the colony and the points where the fungicide will be drip in the center of each Petri dish was drawn. Before the dripping of the fungicide, the end of the colony on the line is indicated, from where should be the starting point for measuring. 30 µl of 1% solution of each fungicide was dripped from the two opposite sides of the colony onto sterile circles of filter paper with a diameter of about 3 mm.

Measurements are done twice - after three and five days. The radius of the colony was measured along the lines intersecting the center of the colony and the drop-in point.

капване до този на отчитането. Направени са по две измервания за всяко Петриево блюдо. Резултатите от вариантите с фугицидите са сравнени с тези от контролните варианти без фунгицид.

Two measurements were made for each Petri dish. The results of the fungicide variants were compared with those of the control variants without fungicide.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Четири популярни фунгицида, регистрирани за борба с оомицетите бяха използвани за тестване на чувствителността на изолатите: Верита ВГ (Bayer crop science), Акробат МЦ (BASF), Инфинито (Bayer crop science) и Ридомил Голд МЦ (Syngenta). Активните вещества на фугицида Верита ВГ са 667 g/kg алуминиев фозетил и 44 g/kg фенамидон. Препаратът има предпазно и лечебно действие, попада в III-та категория за употреба (за свободна употреба от лица навършили 18 години); регистриран е за картофена мана по домати (*P. infestans*) (оранжерийно производство). Акробат МЦ е с активни вещества 90 g/kg диметоморф и 600 g/kg манкоцеб. Той е регистриран за борба срещу обикновени мани по лозя, зеленчукови и технически култури, с предпазно и лечебно действие, в доза 200 g/da и е III-та категория за употреба. Инфинито е с активно вещество 625 g/l пропамокарб хидрохлорид и 62,5 g/l флуопиколид, III-та категория за употреба, регистриран за картофена мана по картофи (*P. infestans*). Има предпазно, лечебно и антиспорулантно действие срещу патогени от клас Oomycetes. Препарата се поема чрез листата и оттам се разнася по проводящата сиситема на растенията. Пропамокарб се включва в няколко стадия в синтеза на фосфолипиди и мастните киселини, така разрушава образуването на клетъчните мембрани. Флуопиколид разстройва клетъчната структура на патогена и пречи на формирането на протеините, играещи важна роля в стабилността на клетъчната мембрана. Използва се в концентрация 0,024-0,06 %. Четвъртият използван фунгицид е Ридомил Голд МЦ с активни вещества

RESULTS AND DISCUSSION

Four popular fungicides were used in this study: Verita WG (667 g/kg kg fosetyl aluminum and 44 g/kg fenamidone), Acrobat M DG (90 g/kg dimethomorph and 600 g/kg mancozeb), Infinito SC (625 g/l propamocarb hydrochloride and 62.5 g/l fluopicolide) and Ridomil Gold MZ 68 WP (64% mancozeb and 4% metalaxyl-M). The fungicide Verita has a precautionary and curative effect, falling into the III category for use and is registered for potato late blight on tomatoes (*P. infestans*) for greenhouse production.

Acrobat MC is registered for use against downy mildew on grapevine, vegetables and technical cultures, with protective and curative action, at a dose of 200 g/da and is third category for use.

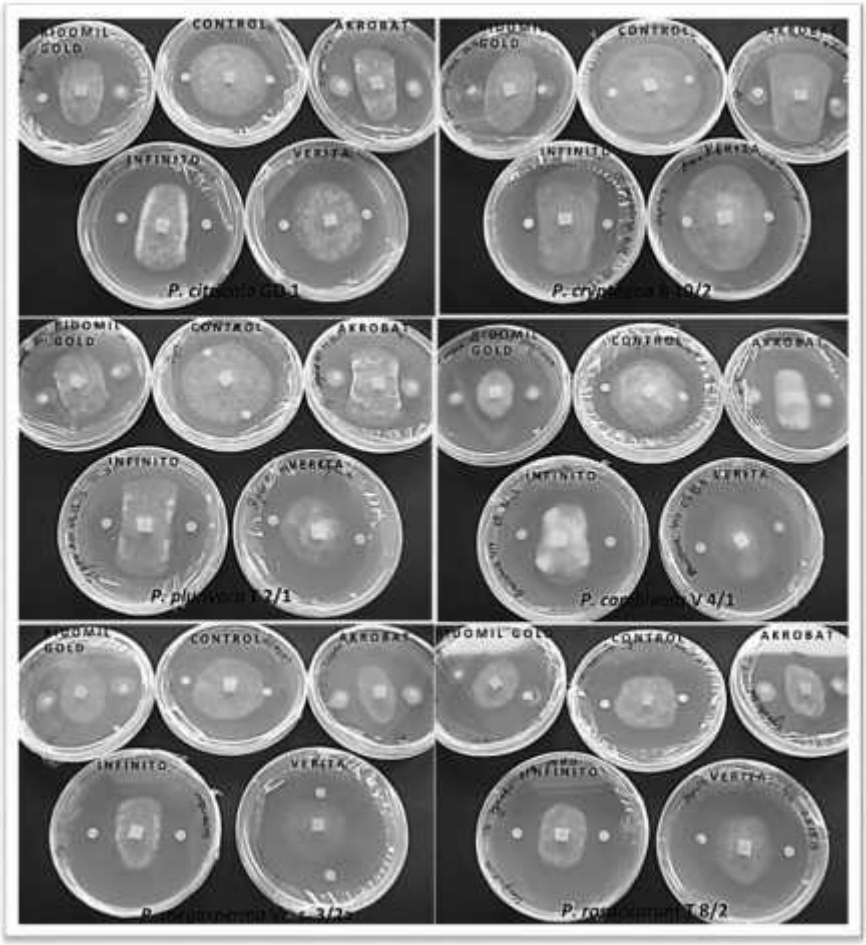
Infinity has active substance of 625 g/l propamocarb hydrochloride and 62.5 g/l of fluopicolide, the third category for use, registered for potato late blight (*P. infestans*). It possesses protective, curative and antisporullant action against Oomycete pathogens.

The preparation is taken through the leaves and from there spreading through the conductive system of plants. Propamocarb is involved in several stages in the synthesis of phospholipids and fatty acids, thus destroying the formation of the cell membranes. Fluopicolide disrupts the cellular structure of the pathogen and interferes with the formation of proteins that play an important role in the cell membrane's stability. It is used at a concentration of 0.024-0.06%.

The fourth fungicide used is Ridomil Gold

64% манкоцеб и 4% металаксил-М (мефеноксам), III-та категория за употреба, регистриран за мани по зеленчуковите култури с предпазно и лечебно действие. Прилага се в доза 250 g/da. Мефеноксам е системен фунгицид, който се поема бързо от зелените части на растенията (за 30 минути) транспортира се чрез движението на растителния сок и се разпределя в листната маса. И четирите тествани фунгицида - Верита, Акробат, Инфинито и Ридомил Голд проявяват потискащ растежа на изследваните изолати ефект (Фигура 1).

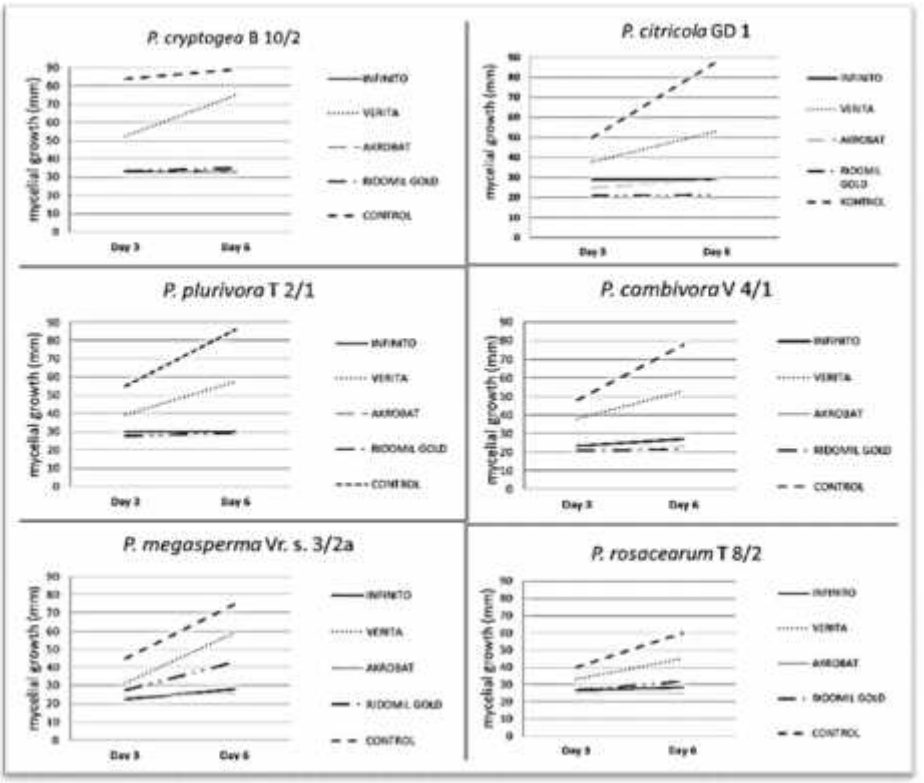
MC with active ingredients 64% mancoceb and 4% metalaxyl-M (mefenoxam), 3rd category for use, registered for late blights on vegetable crops with protective and curative action. It is applied at a dose of 250 g/da. Mefe noxam is a systemic fungicide that is rapidly absorbed by the green parts of the plants (for 30 minutes) transported by the movement of the plant juice and distributed to the foliage. All of the four tested fungicides - Ridomil Gold, Acrobat, Infinito and Verita exhibited inhibitory effect on the growth of the studied isolates (Figure 1).



Фиг. 1. Растеж на изолатите от род *Phytophthora* при третиране с фунгицидите Ридомил Голд, Акробат, Инфинито и Верита.
Fig. 1. Growth of *Phytophthora* isolates after treatment with the fungicides Ridomil Gold, Acrobat, Infinito and Verita

Фунгицидът Верита ВГ в най-ниска степен влияе върху растежа на изолатите при *in vitro* експериментите. Това може да се обясни с неговия механизъм на действие, проявяващ се в живото растение. Фунгицидното действие на активното му вещество алуминиев фозетил се дължи в голяма степен на непрякото му действие, изразяващо се в това, че третираните растения много по-бързо образуват фитоалексини при контакт с патогена в сравнение с нетретираните и предизвикват различни промени във взаимодействията гостоприемник – патоген (Smillie et al., 1989). От тестваните изолати най-чувствителен към всички фунгициди е *P. rosacearum* Т 8/2. По-голям фунгистатичен ефект върху растежа на изолатите имат фунгицидите Акробат, Ридомил голд и Инфинито (Фигура 2).

Fungicide Verita has the lowest impact on the growth of isolates in *in vitro* experiments. This can be explained by its mechanism of action appearing in the living plant. The fungicidal action of its active substance kg fosetyl aluminum is largely due to its indirect action, expressing in that the treated plants much more rapidly synthesize phytoalexins when are in contact with the pathogen, than untreated and cause various changes in the host-pathogen interactions (Smillie et al., 1989). Of the tested isolates, *P*. *rosacearum* T8/2 is the most sensitive to all fungicides. The major fungistatic effect on the growth of the isolates has the fungicides Acrobat, Ridomil Gold and Infinito (Figure 2).



Фиг. 2. Влияние на фунгицидите Инфинито, Верита, Акробат и Ридомил Голд върху растежа на българските изолати *P. cryptogea* Б 10/2, *P. citricola* ГД 1, *P. plurivora* Т 2/1, *P. cambivora* В 4/1, *P. megasperma* Вр. с. 3/2а и *P. rosacearum* Т 8/2.
Fig. 2. Effect of the fungicides Ridomil Gold, Acrobat, Infinito and Verita on the growth of Bulgarian isolates *P. cryptogea* B 10/2, *P. citricola* GD 1, *P. plurivora* T 2/1, *P. cambivora* V 4/1, *P. megasperma* Vr. s. 3/2a and *P. rosacearum* T 8/2

ИЗВОДИ

Най-силно потискащо действие – инхибиращ ефект върху мицелния растеж на всички тествани изолати като цяло се проявява от Инфинито и Акробат, следван от Ридомил Голд и най-слаб при Верита. Първите три фунгицида се проявяват като потенциално ефективни при ограничаване на разпространението на изпитаните видове *Phytophthora* при естествени условия на терен.

CONCLUSIONS

The most potent inhibitory effect on mycelial growth of all tested isolates, is generally demonstrated by Infinito and Acrobat, followed by Ridomil Gold and the weakest Verita.

The first three fungicides appear to be potentially effective in limiting the spread of tested *Phytophthora* species under natural terrain conditions.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Brasier, C. M., D. E. L. Cooke and J. M. Duncan**, 1999. Origin of a New *Phytophthora* Pathogen through Interspecific Hybridization. *Population Biology*, 96, 5878-5883.
2. **Erwin, D. C and O. K. Ribeiro,** 1996. *Phytophthora* Worldwide. APS PRESS. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
3. **Garbelotto, M., P. Svihra and D. M. Rizzo**, 2001. Sudden Oak Death Syndrome Fells 3 Oak Species. *California Agriculture,* 55 (1), 9-19.
4. **Jung, T., G. W. Hudler, S. L. Jensen-Tracy, H. M. Griffiths, F. Fleischmann and W. Osswald**, 2005. Involvement of *Phytophthora* Species in the Decline of European Beech in Europe and the USA. *Mycologist*, 19 (4), 159-166.
5. **Lyubenova, A. B., J. A. Nowakowska, K. Sikora., K. Kostov, M. Borys, S. B. Slavov and T Oszako**, 2016. Pathogenicity of *Phytophthora* Isolates Originating from Several Woody Hosts in Bulgaria and Poland. *Folia Forestalia Polonica*, 58 (3) 105-115.
6. **Smillie, R., B. R. Grant and D. Guest**, 1989. The Mode of Action of Phosphite: Evidence for Both Direct and Indirect Modes of Action on Three Phytophthora spp. in Plants. *Phytopathology,* 79: 921-926.