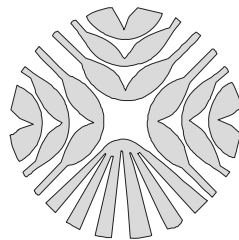


Аграрен университет Agricultural University
Пловдив Plovdiv

АГРАРНИ НАУКИ



AGRICULTURAL SCIENCES

Година I Брой 1 Volume I Issue 1
Пловдив 2009 Plovdiv 2009

Академично издателство на Аграрния университет
Academic Publishing House of the Agricultural University

Списание АГРАРНИ НАУКИ е издание на Аграрния университет - Пловдив.
В списанието се публикуват оригинални изследователски статии, кратки съобщения и обзори от всички области на растениевъдството и животновъдството на български и на английски език.

Agricultural Sciences is a journal of the Agricultural University - Plovdiv.
Original research papers, brief communications and reviews in all the areas of crop science and animal breeding and husbandry are published in the journal in Bulgarian and in English.

Редакционна колегия

Гл. редактор - проф. дсн Иванка Лечева
Зам.-гл. редактор - проф. дсн Диана Светлева
Редактор - Таня Цветковска

Членове

Чл.-кор. проф. дсн Йорданка Кузманова
Проф. дсн Славчо Панделиев
Проф. дхн Красимир Иванов
Проф. дсн Алекси Стойков
Доц. д-р Красимир Михов
Доц. д-р Борис Янков
Доц. д-р Валентин Личев
Доц. д-р Васко Копривленски
Доц. д-р Алекси Алексиев
Доц. д-р Диана Кирина
Доц. д-р Иван Брайков

Международна редакционна колегия

Проф. М. Елиот
Проф. К. Коркут
Проф. К. Хагедорн
Проф. Е. Киприотис
Проф. Н. Шенкьоюлю
Доц. д-р Я. Коня

АГРАРНИ НАУКИ

Гл. редактор - проф. дсн Иванка Лечева
Редактор - Таня Цветковска
Предпечатна подготовка - Антоанета Славова

Формат - 16/60x84
Печатни коли - 4,375

Академично издателство на Аграрния университет

Editorial Board

Editor-in-Chief - Prof. Ivanka Lecheva, DSc
Deputy-Editor-in-Chief - Prof. Diana Svetleva, DSc
Editor - Tania Tsvetkovska

Members

Correspondent member of BAS Prof. Iordanka Kouzmanova, DSc
Prof. Slavcho Pandeliev, DSc
Prof. Krassimir Ivanov, DSc
Prof. Alexi Stoykov, DSc
Assoc. Prof. Krassimir Mihov, PhD
Assoc. Prof. Boris Yankov, PhD
Assoc. Prof. Valentin Lichev, PhD
Assoc. Prof. Vasko Koprivlenski, PhD
Assoc. Prof. Alexi Alexiev, PhD
Assoc. Prof. Diana Kirin, PhD
Assoc. Prof. Ivan Braykov, PhD

International Editorial Board

Prof. M. Elliott
Prof. K. Korkut
Prof. K. Hagedorn
Prof. E. Kipriotis
Prof. N. Shenkyoylu
Доц. д-р J. Konya

AGRICULTURAL SCIENCES

Editor-in-Chief - Prof. Ivanka Lecheva, DSc
Editor - Tania Tsvetkovska
Pre-printing - Antoaneta Slavova

Format - 16/60x84
Quires - 4,375

Academic Publishing House of the Agricultural University

© Аграрни науки, 2009
ISSN 1313-6577

Аграрен университет - Пловдив, бул. "Менделеев" № 12
www.au-plovdiv.bg E-mail: agrarninauki@abv.bg; agrarninauki@au-plovdiv.bg

**СЪДЪРЖАНИЕ**

Димитър Греков. Аграрно образование, наука и бизнес.....	5
Николай Панайотов. “Пловдив” – първият български сорт физалис (<i>Physalis peruviana</i> L.).....	9
Венелин Ройчев, Тодорка Мокрева. Изследване изменчивостта на количествени признаци в хибридна комбинация между семенен и безсеменен сорт лоза (<i>Vitis vinifera</i> L.).....	13
Мариана Накова. Антракноза по розата в България.....	19
Дияна Светлева, Дочка Димова, Маргарита Велчева, Паула Крино. Влияние на мутагенни третириания върху растежа на калуса и регенерацията от листни дръжки и коренови експланти на фасул.....	25
Анна Николова, Андон Василев. Структурно-функционални промени в листата на <i>Lactuca sativa</i> L. и <i>Phaseolus vulgaris</i> L. при нарастване на нивата на тежки метали в кореновата среда.....	33
Иван Жалнов, Стоян Филипov, Росица Меранзова. Възможности за контрол на вторичното заплевеляване чрез хербигация при средно ранен полски пипер.....	39
Андон Василев, Малгожата БEROVA, Невена Стоева и Златко Златев. Разработване и пилотно изпитване на растителен тест за оценка на токсичността на замърсени с тежки метали почви.....	45
Уалид Ал Хумрани. Физиологичен анализ на растежа и продуктивността на сортове репички.....	53
Васко Герзилов. Прогнозиране на оплодителната способност на мускусни патоци чрез въвеждане на индекс за качество на спермата.....	59
Христо Христов, Васко Герзилов. Проучване на люпимостта на фазанчета в зависимост от съдържанието на витамин „А” и каротиноиди в яйчния жълтък.....	65

CONTENTS

Nikolay Panayotov. “Plovdiv” – the First Bulgarian Variety of Cape Gooseberry (<i>Physalis Peruviana</i> L.).....	9
Venelin Roytchev, Todorka Mokreva. Investigation of the Variability Of Quantitative Traits in a Hybrid Combination between a Seeded and Seedless Vine Cultivar (<i>Vitis Vinifera</i> L.).....	13
Mariana Nakova. Anthracnose Disease of Roses in Bulgaria.....	19
Diana Svetleva, Dotchka Dimova, Margarita Velcheva and Paola Crino. Influence of Mutagenic Treatments on the Callus Growth and Regeneration by Leaf Petioles and Root Explants of the Common Bean.....	25
Anna Nikolova, Andon Vassilev. Structural and Functional Changes in the Leaves of <i>Lactuca sativa</i> L. and <i>Phaseolus vulgaris</i> L. Grown at Excess of Heavy Metals in the Root Area.....	33
Ivan Zhalnov, Stoyan Filipov, Rositza Meranzova. Possibilities of Secondary Weed Infestation Management by Herbigation in Semi-Early Field Pepper.....	39
Andon Vassilev, Malgojata Berova, Nevena Stoeva and Zlatko Zlatev. Development and Pilot Application of a Plant Test System for Evaluating the Toxicity of Soils Contaminated with Heavy Metals.....	45
Walid al Humrani. Physiological Analysis of the Growth and Productivity of Radish Varieties	53
Vasko Gerzilov. Introducing a Semen Quality Index for Assessment of the Fertilizing Ability of Muscovy Drakes.....	59
Hristo Hristev, Vasko Gerzilov. Hatchability of Pheasant Chicks Depending on the Vitamin “A” and Carotenoid Content in the Egg Yolk	65



Уважаеми читатели,

Аграрният университет в Пловдив е на прага на своя 65-годишен юбилей. За този период в него са обучени повече от 22 000 български и 2500 чуждестранни студенти от Европа, Азия, Африка и Латинска Америка.

Като осъзнава своята мисия на водещ национален център за аграрно образование и наука, Аграрният университет в Пловдив прави нова голяма крачка и в навечерието на 24 май, Денят на българската просвета и култура и на славянската писменост, издава брой първи на дългоочакваното и необходимо научно списание **“Аграрни науки”**.

Списанието ще сее семената на любовта към аграрната наука и аграрното образование, ще показва посоката на правилната аграрна политика, ще споделя опита на най-добрите.

Чрез него ще се докоснете до постиженията на учени не само от България, но и от Европа и света. От него ще може да почерпите опит от добрите практики на агробизнеса и да откриете най-прекия път на вашите идеи в науката и в практиката.

Две години след приемането ни в Европейския съюз пред нас стоят сериозни предизвикателства. България е и ще бъде аграрна страна. За да се развива с по-бързи темпове, е необходима правилна аграрна политика и адекватно взаимодействие между образованието, науката и бизнеса.

Като стъпва върху солидната основа на 90-годишния опит на аграрното образование в България, върху широкомащабното международно сътрудничество и тесните връзки с агробизнеса в страната, списание **“Аграрни науки”** ще се опита да бъде обединител на идеите на всички, които осъзнават необходимостта от силно аграрно образование, наука и производство.

Пожелавам на списанието да завоюва силни позиции в научната общност на България, защото човечеството винаги ще има нужда от здрава и балансираща връзка между храна и духовност.

Доц. д-р Димитър Греков
Ректор на Аграрния университет - Пловдив



АГРАРНО ОБРАЗОВАНИЕ, НАУКА И БИЗНЕС

Димитър Греков

Ректор на Аграрния университет - Пловдив

E-mail: rector@au-plovdiv.bg; grekov@au-plovdiv.bg

С благоприятните си климатични и почвени условия през своето вековно съществуване България винаги е била привлекателен център за развитие на скотовъдство и растениевъдство. Природните условия формирали българина като отличен земеделец, независимо каква е била общественно-политическата и икономическата система. Той градил с часове, с дни и с години своя опит, адаптирал го към типичните условия на своя регион и го предавал от баща на син и внук. Така се създали вековните исторически традиции на земеделска България. Тези традиции се крепят на **любовта на българина към земята, която го храни**, като основна възможност за препитание и като добра възможност за по-добър живот, а оттам - и за по-добро настояще и бъдеще. Заради тези благоприятни почвено-климатични условия и способността на българина да обработва добре земята, са водени войни за запазване на съществуващи и за завоюване на бъдещи обработваеми и необработваеми земи. През периода 17-20 век българите са били едни от най-добрите градинари в Европа.

Преди повече от 100 години се слага началото на аграрната наука и образование в България, като се създават демонстративни полета в Садово, Враца и Образцов чифлик. Издават се първите учебни пособия по земеделие. Първите учители са се обучавали във Франция и в Германия. Много скоро след Първата световна война България започва да чувства нужда от висши кадри в земеделието. Така още през 1921 г. с помощта на Рокфелеровата фондация **в София е открито първото висше училище за агрономи**.

Нарастващият интерес на хората към земеделското производство след смяната на общественно-икономическата система през 1944 г. налага откриването през 1945 г. на Агрономо-лесовъден факултет в Пловдив, който през 1950 г. прераства в самостоятелен **Висш институт по агрономство**, а по-късно, през 1976 г., се открива и по зооинженерство в Стара Загора. Създадени са множество изпитателни станции в различни региони на страната към Селскостопанската академия, а също така и средни професионални училища. Всички те издигат престижа на земеделския труженик. Повишава се производителността на труда, създават се нови форми

на стопанисване на земята. Наред с това в България започва да се развива и тежката индустрия. В отделни периоди на 60-те и 70-те години България изнася 40-60% от някои селскостопански продукти. Създават се нови и се съхраняват типични местни сортове и породи животни.

След промените през 1989 г. се изменя начинът на стопанисване на земята. Възражда се любовта на българина към нея, но се забавя навлизането на новостите в земеделското производство. Земята се раздробява на дребни парцели, което възпрепятства използването на модерна техника и високи технологии.

От 2007 г. **България е в голямото европейско аграрно семейство**. Това дава нови големи възможности за развитие на страната. В същото време се повишават изискванията към българския земеделски производител. Дава се възможност фермерът сам да решава колко земя ще обработва, какво ще сее, с кого и как ще се сдружава, на кого и къде ще продава продукцията си. Това е една дълбоко обмислена философия на производителя на селскостопанска продукция.

В същото време в производството навлязоха хора без всякакъв опит, водени единствено от любовта към земята и считайки земеделската работа за свое хоби. Това усложни и върна години назад производството на селскостопански храни, което налага с още по-голяма сила **необходимостта от висококвалифицирани изпълнителски и ръководни кадри**.

Същевременно се „пропуска“ и системата на обучение на тези кадри. Въпреки промяната на наименованието на селскостопанските техникуми в професионални гимназии и намаляването на броя им, това не доведе до повишаване на качеството на обучението. В повечето сродни училища липсват необходимите машини за обучение на механизатори. Машините са от 60-те и 70-те години на миналия век и главно от времето на бившия СССР. Така завършващите средно професионално образование **не са подготвени за практиката**. Много от средните училища предпочитат да развиват други направления, които не изискват големи капиталовложения в нова техника и в нови технологии.

Подобно е състоянието и на висшите специалисти. **Висши училища, които нямат дори един специалист, се опитаха и се опитват да развият аграрни направления.** Такива са например Бургаският свободен университет, Техническият университет във Варна, Шуменският университет и др. Не мисля обаче, че вината е в ръководствата на тези университети, защото всеки има право да търси начин на съществуване. **Липсва държавническо мислене и поведение в Националната агенция за оценяване и акредитация.** Тя узаконява тези образователни аграрни структури, водена от мнението на хора с криворазбрано земляческо чувство. Откриването на висши училища едва ли не във всеки окръжен град води до обезценяване на българското висше образование, а оттам – до неквалифицирани специалисти и до неефективно аграрно производство. Затова през 2008 г. един крупен зърнопроизводител от Централна Северна България съвсем сериозно заяви, че „ще внася“ агрономи от Холандия. На България са необходими малко университети с утвърдени традиции, с известни учени и с добро финансиране.

Процесът на обучение на земеделските кадри е общ и в него трябва да участват както средните и висшите училища, така и бизнесът. През последните 20 години аграрният бизнес се обръща към училищата и университетите само за да получава кадри. Убеден съм, че в този процес училища, университети, бизнес и наука са свързани в единно цяло. Колкото по-бързо свържем всяко едно звено към другото в трайна верига, толкова по-бързо ще тръгнем напред. **Бизнесът трябва да навлезе в училищата и в университетите.** Успешен опит е създаването на настоятелства в тях. От друга страна, държавата следва да признава разходите, направени от бизнеса при дарителство за училища и университети под формата на стипендии, учебни пособия, инвентар, селскостопански машини и техника, изплащане на учебни практики и стажове.

Държавата със своите специализирани министерства и агенции би следвало наложително да изработи правила за обучение на своите специалисти на определени, минимум тригодишни периоди. Не може без специализирана подготовка да се произвеждат семена и посадъчен материал. Не може без специализирана подготовка да се управляват хиляди декари земеделска земя и фермерът да е доволен само от получаването на субсидии. Тук въпросът вече надхвърля личната печалба или личната загуба, **това е проблем на устойчивото развитие на селското стопанство**, на правилното използване на пестицидите и не на последно място на опазване здравето на българите.

Едно от големите предизвикателства за съвременното земеделско производство е включването на науката в производството. **Нито един важен въпрос не може да се реши без участието на науката.** Би трябвало всяка по-голяма фирма да има създадена връзка с научна институция, която да подпомага производствената ѝ дейност. Тази взаимовръзка трябва да започва от планирането на дейността на фирмата до реализирането на продукцията и насочването на паричните потоци в дълготрайни материални активи.

Имайки предвид благоприятните почвено-климатични условия, традициите и любовта на българина към земята и земеделското производство, България е изправена пред предизвикателството **да бъде аграрна страна.** За да се развива успешно в тази посока, тя трябва да има правилна аграрна политика, силно и актуализирано средно и висше образование и наука и преуспяващ бизнес. Това са основите за просперитета на днешна и утрешна Европейска България.

Живеем във времена на глобална финансова криза. Стара максима гласи, че една **добра възможност са инвестициите в аграрното производство, науката и образованието.**



“ПЛОВДИВ” – ПЪРВИЯТ БЪЛГАРСКИ СОРТ ФИЗАЛИС (*PHYSALIS PERUVIANA L.*)
“PLOVDIV” – THE FIRST BULGARIAN VARIETY OF CAPE GOOSEBERRY (*PHYSALIS PERUVIANA L.*)

Николай Панайотов
Nikolay Panayotov

Аграрен университет - Пловдив
Agricultural University - Plovdiv

E-mail: nikpan@au-plovdiv.bg

Резюме

За първи път в България в катедра “Градинарство” в Аграрния университет в Пловдив беше селектиран сорт физалис (*Physalis peruviana L.*) с название „Пловдив”. Сортът беше създаден чрез метода на индивидуалния непрекъснат отбор от растителна популация. Сортът се характеризира с много добра различимост, хомогенност и стабилност. РХС тестът премина успешно на полетата на Изпълнителната агенция по сортоизпитване, апробация и семеконтрол. Физалисът от сорта „Пловдив” е с кълбовидно-удължена форма на плодовете, с високо съдържание на витамин С и пектин и с много добър ягоди вкус. Сортът „Пловдив” е признат и регистриран в Официалната сортова листа за зеленчукови култури на Република България през 2006 година.

Abstract

For the first time in Bulgaria, in the Department of Horticulture at the Agricultural University of Plovdiv the variety cape gooseberry (*Physalis peruviana L.*), named “Plovdiv” was selected. The variety was selected from local plant population. The variety is characterized by very good distinctiveness, homogeneity and stability. The DUS test was passed successfully in the field of the Executive Agency for Variety Testing, Field Inspection and Seed Control. Cape gooseberry Plovdiv is with spherical – oblong shaped fruits, high content of vitamin C and pectin and with very good strawberry taste. The variety Plovdiv was recognized and registered in the official Bulgarian catalogue of vegetable species varieties in 2006.

Ключови думи: физалис (*Physalis peruviana L.*), сорт, селекция, отбор, морфологични признаци, стопански качества.
Key words: cape gooseberry (*Physalis peruviana L.*), variety, selection, breeding morphological behaviors, agricultural quality.

ВЪВЕДЕНИЕ

Физалисът е нова зеленчукова култура за нашата страна, но с добри възможности за отглеждане. Перспективите за производството ѝ се обуславят както от сравнително лесната технология, така и от много добрите вкусови и хранителни качества на плодовете. Производството и износът на физалис от Южна Америка, главно за страните от Европейския съюз, през последните осем години са се увеличили 11 пъти. Интересът към тази култура е особено силен в Германия, Франция, Холандия и Русия (Христов, 2003).

От голямото разнообразие на род *Physalis* основно хранително значение има перуанският физалис. Суровината се използва най-вече за прясна консумация, но е и изключително подходяща за преработка – за приготвяне на желета, сладка и други, което се дължи на високото ѝ съдържание на пектин (Скворцова, 1997). Авторката изтъква още, че поради наличие на стероидни съединения в плодовете му от

тях може да се произвеждат лекарствени препарати за потискане развитието на злокачествени образувания. Освен това плодовете имат сравнително добра съхраняемост (Sarkar et al., 1993) и подлежат на доузряване.

Изискванията към факторите на околната среда са преди всичко към температурата и въздушната влажност (Черенок, 1997). Условиата в България са благоприятни за отглеждане на тази култура, но в страната липсват подходящи форми и сортове.

Целта на настоящото изследване е да се създаде сорт физалис (*Physalis peruviana L.*), подходящ и адаптиран за условията в България.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В катедра “Градинарство” в Аграрния университет в Пловдив през периода 1996-2001 г. се изведе селекционна работа с физалис (*Physalis*

peruviana L.). В растителна популация на вида се проведе непрекъснат индивидуален отбор. Основно отборът се водеше върху признаците големина и форма на плодовете. След стабилизиране на тези характеристики се осъществиха наблюдения и биометрични измервания върху средна проба от 20 растения на: положение на растението; стъбло - дължина, оцветяване, овласеност; разклонения – брой; листа – оцветяване, широчина, дължина, форма, периферия, повърхност, овласеност; цветове – оцветяване и диаметър; плодове – форма, маса, диаметър, повърхност и оцветяване; чашка – покривност на плода и оцветяване при узряване. Определи се продуктивността. Проучи се съдържанието на абсолютно сухо вещество, витамин С (по Мури), моно- и дизахариди, общи захари като глюкоза (Хагедорн – Йенсен), обща киселинност (чрез титруване с 0,1 n NaOH)(по Станчев, 1968), пектин (по метод, прилаган в УХТ - Пловдив) и рутин (спектрофотометрично, по метод, прилаган във фирма “Българска роза” АД, Пловдив). Кандидат-сортът беше представен за изпитване за различимост, хомогенност и стабилност (РХС) в ИАСАС през периода 2002, 2003 и 2005 година. В резултат на успешното преминаване на този тест на заседание на Експертната комисия по сортове зеленчукови култури, проведено на 13.III.2006 г., със заповед на МЗГ № РД 09-207/05.04.2006 предложеният сорт физалис „Пловдив” беше признат за оригинален и утвърден за вписване в списък Б на Официалната сортова листа на Република България. Вписан е за първи път в Официалната сортова листа на Република България през 2006 година.

Основни елементи от прилаганата технология на отглеждане

Физалисът от сорта „Пловдив” е отглеждан по разсадния способ. Производството на гъст разсад беше осъществено в пластмасови оранжерии. Подходящ срок за сеитба е средата на месец март. Сеитбената норма на един квадратен метър е 1,8-2,0 г. Растенията се засаждат в средата на май. Изпитваната схема на засаждане е 70 x 50 cm. Основната особеност при отглеждането му е да не се допуска засушаване на посева. При този начин на производство получаването на продукцията започва от средата на месец август, като се извършват две или три беритби. Физалисът може да се произвежда и чрез пикиран разсад и чрез директна сеитба.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Описание на растението

Растенията физалис от сорта „Пловдив” са с добра различимост (табл. 1). Характерен признак за

вида *Physalis peruviana* L., за разлика от другите видове от този род, е изправеното положение на растенията, което се наблюдава и при селектирания сорт. Средната височина на стъблото достига 158 cm. То е оцветено в зелено, със слаб антоцианов оттенък и е средно овласено. Наблюдава се значителна разклоненост, като средният брой на разклоненията е 9.

Листата са със сърцевидна форма (фиг. 1), средно назъбени и овласени, а повърхността им е средно нагъната. Оцветени са в зелено до тъмнозелено. Средната дължина на листа достига до 9,5 cm, а широчината - до 7,8 cm.



Фиг. 1. Разклонение от физалис, сорт „Пловдив”
Fig. 1. Branche with leafs from cape gooseberry, variety Plovdiv

Образува единични цветове, жълто оцветени, със среден диаметър 10,8 mm.

Основният признак, по който сортът се разграничава най-добре, е плодът и преди всичко неговата форма (фиг. 2). Плодовете са кълбовидно-удължени, с индекс на формата $Y=1,04$. Характерна отличителна черта е и наличието на вдлъбната ямичка на върха на плода. Оцветяването им е оранжево-жълто, а повърхността им е с гланц. Средната маса на плода е 3,02 g. Височината на плода е 20,5 mm, а диаметърът – 19,6 mm.

Разпознаване на сорта и различаването му от други сортове, а и от други видове от рода, успешно може да се извърши и по чашката, която обхваща изцяло плода както преди узряване, така и в пълна ботаническа зрелост. В беритбена зрелост оцветяването ѝ е сламено-жълто, като това е един от индикаторите за готовността на плодовете за беритба.

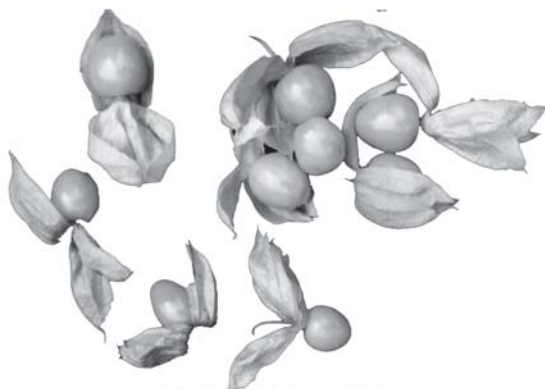
**Таблица 1.** Морфологична характеристика на физалис, сорт „Пловдив”**Table 1.** Morphological characteristics of variety of cape gooseberry Plovdiv

Признаци за разграничаване/ Signs for distinguishes	Стойности / проява Values/ manifestation	Бал по техни- чески въпро- сник/Rank by Technical Questionnaire
Растение Положение/ Plant-Position	Изправено/Erect	1
Стъбло: Дължина/Stem-Length(cm)	158,0	5
Оцветяване/ Coloring	Зелено със слабо антоцианово оцветяване/Green with light atnocian	3
Овласеност/Hairiness	Слаба до средна/Low to middle	5
Разклонения (бр.)/Branches (nr.)	9,0	7
Листа: Форма/ Leaf: Shape	Сърцевидна/Heart-shape	5
Дължина/ Length (cm)	9,5	5
Широчина/Width (cm)	7,8	5
Периферия/ Periphery	Назъбена/Indentation	9
Степен на назъбеност/Rank of indentation	Средна/Middle	5
Овласеност/ Hairiness	Слаба до средна/Low to middle	5
Повърхност/Surface	Средно нагъната/ Middle undulating	5
Оцветяване/Coloring	Зелено до тъмнозелено/ Green to dark green	5
Цветове: Оцветяване/ Coloring	Жълто/Yellow	5
Диаметър/Diameter (mm)	10,8	5
Плодове: Форма/Fruit: shape	Кълбовидно-удължена/ spherical – oblong	3
Индекс на формата/Index of shape	$Y=1,04$	
Връх/Top	С вдлъбнатина/with axilla	3
Маса/Weight (g)	3,02	
Височина/Length (mm)	20,5	7
Диаметър/Diameter (mm)	19,6	5
Повърхност/Surface	гладка с гланц/ smoothly with gloss	5
Оцветяване/coloring	оранжево-жълто/ orange-yellow	3
Чашка: Покривност на плода/ Calix:Covering of fruit	обхваща изцяло плода/ covered whole fruit	1
Оцветяване при узряване/ Coloring in ripening	Сламеножълта/ Straw-yellow	3
Продуктивност: /Yield:		
На декар (kg/dka)/ per decare	378,5	
На растение (g)/ per plant	132,48	

Таблица 2. Основни химични съставки в плодовете на физалис, сорт “Пловдив”**Table 2.** Basic chemical compounds in fruit of cape gooseberry, variety Plovdiv

Съдържание на:/ Content of:	Стойности/Values
Абсолютно сухо вещество (%)/Absolutely dry matter	17,79
Витамин С (mg%)/Vitamin C	35,45
Общи захари, като глюкоза (%)/Total sugar, as a glucose	10,72
Обща киселинност (%)/Total acid	1,03
Пектин (%)/Pectin	1,27
Флавоноиди, като рутин (%)/ Flavanoids, as rutine	0,51

Сортът е с много добра продуктивност - средният добив е 378,5 kg/dka, а от едно растение - 132,48 g.



Фиг. 2. Плодове от физалис, сорт „Пловдив“, в ботаническа зрелост
Fig. 2. Fruits of cape gooseberry from variety Plovdiv in botanical maturity

Потребителски качества и химичен състав

Сортът физалис „Пловдив“ е с чудесни потребителски качества и балансиран химичен състав (табл. 2). Вкусът му е с типичен ягодов аромат, със слаб до среден ванилов оттенък. Абсолютно сухото вещество достига до 17,79 %. Високо е съдържанието на витамин С – 35,45 mg%, а общите захари достигат до 10,72%. Вкусът е хармоничен, със съдържание на обща киселинност от 1,03%, сладък, до много леко, приятно кисел. Предвид технологичното използване на плодовете на физалиса значение има съдържанието на пектин във връзка с желирането на продуктите. Може да се подчертае, че в плодовете на сорта „Пловдив“ съдържанието на пектин е високо и достига средно до 1,27%. Това го определя, от една страна, като много подходящ да се използва за приготвяне на сладка, желета, джем, а, от друга страна, като здравословна храна (пречистващото действие на пектина в човешкия организъм от замърсители, най-вече от тежки метали). В тази насока трябва да се изтъкне и наличието на антиоксидантни вещества, каквито са флавоноидите, представени от рутин, чието съдържание е 0,51% към сухото вещество.

Сортът се характеризира с много добра съхраняемост на узрелите плодове. Пригоден е и за доузряване на плодовете, достигнали до нормални размери.

Благодарност

Изказвам благодарност на колектива на катедра „Органична химия“ при УХТ в Пловдив и лично на доц. д-р П. Денев за извършените анализи за съдържание на пектин, а също и на химика Д. Василева от фирма „Българска роза“ АД, Пловдив, за определяне на съдържанието на рутин.

Сортът е подходящ за отглеждане в почти всички райони на страната.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Със създаването на сорт физалис (*Physalis peruviana* L.) „Пловдив“ се увеличава наборът на официално признатите в България, родна селекция сортове от зеленчукови култури. Растенията му се характеризират с много добра различимост и могат да се включат като изходен материал в селекционни програми.

Плодовете на сорта „Пловдив“ са с много добри вкусови качества и поради отличните си технологични свойства и високото съдържание на хранителни съставки представляват интерес за хранително-вкусовата промишленост.

Сортът е много подходящ за отглеждане в стопанства с по-малки размери. Включването му в официалната сортова листа на Република България и в производството създава реална възможност за разнообразяване на сортимента от предлаганите зеленчуци за прясна консумация и за експорт.

Сортоподдържането, семепроизводството и разпространението на сорта се извършва изключително и само от селекционера и от Аграрния университет в Пловдив.

ЛИТЕРАТУРА

- Скворцова, Р. В., 1997. Селекция овощных паслёновых культур для открытого грунта Нечерноземья России. Москва, с. 325.
- Станчев, Л., 1968. Ръководство за химичен анализ на растения, почви и торове. Хр. Г. Данов, Пловдив, с. 287.
- Христов, Хр., 2003. Перуански физалис – *Physalis peruviana* L. http://www.gradinarstvo.hit.bg/per_fizalis.html
- Черенок, Л. Г., 1997. Помидори, перец, баклажаны, физалис. Приусадебный участок, ISBN 985-419-032-3, 258-281.
- Sarkar, T. K., Pradhan, U. and Chattopadhyay, T. K., 1993. Storability and quality changes of capegooseberry fruit as influenced by packaging and stage of maturity. – *Annals of Agricultural Research*, Vol. 14, No. 4, pp. 396-399.

Статията е приета на 13.03.2009 г.
Рецензент - проф. д-р Димитър Т. Чолаков
e-mail: dcholakov@abv.bg

**ИЗСЛЕДВАНЕ ИЗМЕНЧИВОСТТА НА КОЛИЧЕСТВЕНИ ПРИЗНАЦИ В ХИБРИДНА КОМБИНАЦИЯ МЕЖДУ СЕМЕНЕН И БЕЗСЕМЕНЕН СОРТ ЛОЗА (*Vitis vinifera* L.)****INVESTIGATION OF THE VARIABILITY OF QUANTITATIVE TRAITS IN A HYBRID COMBINATION BETWEEN A SEEDED AND SEEDLESS VINE CULTIVAR (*Vitis vinifera* L.)****Венелин Ройчев*, Тодорка Мокрева
Venelin Roytchev*, Todorka Mokreva**Аграрен университет - Пловдив
Agricultural University – Plovdiv

*E-mail: roytchev@yahoo.com

Резюме

Чрез приложение на Path-анализ е изследвана изменчивостта на количествени признаци в F_1 поколение на кръстоска между семенен и безсеменен сорт лоза. Установено е, че двата родителски сорта влияят положително върху родовитостта, големината на грозда и зърното, количеството на захарите и киселините и продължителността на някои фенофази. С най-голям дял в относителното участие на признаците за формиране на добива са общият брой гроздове, коефициентът на родовитост на главния леторасъл, средната маса на грозда и общият брой плодни леторасли. В общото изменение на фенотипа в F_1 поколението майчиният сорт влияе най-силно чрез коефициента на родовитост на леторасъла, количеството на захарите и общия брой леторасли, а бащиният - чрез напъване - технологична зрелост, коефициента на родовитост на главния леторасъл, широчината на грозда и общия брой пъпки.

Abstract

The variability of quantitative traits in F_1 -progeny from a cross between a seeded and a seedless vine cultivar has been investigated by means of Path-analysis. It has been established that both parent cultivars positively influence fertility, cluster and berry sizes, amount of sugars and acids, as well as the duration of certain phenophases. The following indices represent the biggest shares in the relative participation in yield formation: total number of clusters, main shoot fertility coefficient, average cluster mass and total number of fruiting shoots. As regards the total variability of the phenotype in the F_1 -progeny, the mother cultivar exerts the strongest influence through the shoot fertility coefficient, sugar amount and total number of shoots, while the father cultivar - through the budding-technological maturity, main shoot fertility coefficient, cluster width and total number of buds.

Ключови думи: Path-анализ, количествени признаци, F_1 поколение, сортове лози.**Key words:** Path-analysis, quantitative traits, F_1 -progeny, vine cultivars.**ВЪВЕДЕНИЕ**

Различните статистически методи, прилагани в селекцията на лозата, улесняват избора на родителски сортове за половата хибридизация и разкриват важни корелационни зависимости, свързани с ценни стопански показатели. С Path-анализа може да се изследват структурата на добива и относителното влияние на наследствеността за формирането на отделните признаци, както и взаимоотношенията генотип - среда при различни растителни видове (Pandewy and Gitton, 1975; Larik, 1978; Елисеева, 1982). Този метод намира все по-широко приложение в биологичните изследвания поради възможността за разкриване на директното и

косвеното влияние на средата върху генотипа (Рокицкий, 1973; Лидански, 1988; Мокрева, 2007). При създаването на нови сортове лози е необходимо най-благоприятно съчетаване на ампелографските характеристики, свързани със селекционната цел (Божинова-Бонева, 1973; Тодоров, 1987; Ройчев, 1996). В F_1 поколението на хибридни комбинации между различни сортове лози се наблюдава значително разнообразие на количествените признаци. Статистическият им анализ и оценка имат вероятностен характер и се основават на определени критерии и техните познавателни възможности. Целта на това изследване е да се установи чрез Path-анализ влиянето на отделните фактори върху структурата на

добива и изменението на количествените признаци в F_1 поколението на хибридна комбинация между семенен и безсеменен сорт лоза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В експерименталната работа са използвани лозови семеначета от F_1 поколение на хибридна комбинация между семенен (P_1) и безсеменен (P_2) сорт лоза - Хибрид 28-13 x Русалка. През периода 2000-2007 г. чрез хибридологичен анализ са наблюдавани и отчетени двадесет и един количествени признака, обуславящи стопански най-важните агробиологични и технологични показатели на хибридните растения от тази популация (Българска ампелография, 1990). Данните са обработени статистически чрез програма за Path-анализ, включваща и определяне на относителното участие на признаците на родителските сортове в общото им изменение в F_1 поколението (Dewey and Lu, 1959; Mokreva and Roichev, 2004). Изследваните признаци са разделени условно в шест групи, които отразяват фенологията, действителната родовитост, ботаническите особености на грозда и зърното и продуктивните възможности на семеначетата. Интерпретацията в селекционен-генетичен аспект е извършена на базата на преките и косвените корелационни коефициенти между хибридните растения и родителските сортове.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Върху добива от грозде на семеначетата от F_1 поколение на кръстоската Хибрид 28-13 (P_1) x Русалка (P_2) влияние оказват редица признаци, от които с положителен пряк и косвен ефект и значителна корелация са средната маса на грозда (0,543; 0,110; 0,653), дължината на грозда (0,132; 0,425; 0,557) и широчината на грозда (0,187; 0,274; 0,461) (табл. 1). С по-малки, но също положителни стойности на тези показатели са признаците киселини (0,359; 0,017; 0,376) и омекване (прошарване) на зърната - технологична зрелост (0,016; 0,006; 0,022). Висока корелация с добива, положително общо косвено влияние, но с отрицателен пряк ефект, са отчетени при признаците коефициент на родовитост на леторасъл (0,559; 0,765; -0,206), на главен леторасъл (0,717; 1,211; -0,494), на плоден леторасъл (0,603; 0,785; -0,182) и общ брой плодни леторасли (0,653; 2,222; -1,569). Влиянието на посочените признаци се определя от високата им корелация с добива и положителното им общо косвено влияние чрез другите признаци. Признакът общ брой гроздове е също с висок корелационен коефициент (0,790), но прякото (1,875) и косвеното влияние (-1,085) почти се елиминират. С умерена корелация и с положителен пряк ефект върху добива се отличават и признаците дължина и широчина на зърното и общ брой леторасли. При останалите

признаци липсва силна корелация с добива и преките и косвените влияния взаимно се неутрализират.

Общо 93,2 % от четири групи признаци вземат относително участие при формирането на добива от семеначета от F_1 поколението на кръстоската Хибрид 28-13 (P_1) x Русалка (P_2), а другите - 6,8 % (табл. 2). С най-голям дял са тези от първа група (33,3 %) - коефициент на родовитост на главен леторасъл - 14,4 %, на плоден леторасъл - 10,2 %, и на леторасъл - 8,7 %, следвани от общ брой гроздове (17,5 %) и общ брой леторасли (11,9 %) - шеста група. Признаците от втора група, свързани с морфологията на грозда, влияят върху формирането на добива с общо 26,5 %, от които средната маса на грозда е с 11,9 %.

Положителна корелация между F_1 поколението и двата родителски сорта е установена само при признаците цъфтеж - омекване (прошарване) на зърната (0,180; 0,179), киселини (0,346; 0,187), общ брой пъпки (0,223; 0,187) и общ брой леторасли (0,039; 0,237). С Хибрид 28-13 (P_1) съществува умерена корелация при признаците милерандирали зърна (0,228), средна маса на 100 зърна (0,237), общ брой плодни леторасли (0,298), общ брой гроздове (0,264) и слаба - при напъпване - цъфтеж (0,136). Между семеначетата и бащиния сорт Русалка (P_2) са проявени умерени и слаби корелации при признаците коефициент на родовитост на леторасъл (0,390), широчина на грозда (0,204), дължина и широчина на зърното (0,126; 0,037), индекс на формата на зърното (0,048), омекване (прошарване) на зърната - технологична зрелост (0,156) и захари (0,265). Данните показват, че двата сорта влияят в различна степен върху формирането на отделните признаци в F_1 поколението.

Родителските сортове Хибрид 28-13 (P_1) и Русалка (P_2) влияят положително върху F_1 поколението - пряко и косвено чрез признаците общ брой пъпки - съответно 0,140 и 0,047 (P_1) и 0,210; 0,031 (P_2), киселини - 0,134; 0,053 (P_1) и 0,046; 0,154 (P_2). Положителни преки влияния са констатирани от двата родителски сорта при коефициент на родовитост на леторасъл (0,442; 0,234), дължина на зърното (0,129; 0,012) и цъфтеж - омекване (прошарване) на зърната (0,182; 0,033). При отделните групи повече положителни преки влияния са установени от признаците на сорта Русалка (P_2) - коефициент на родовитост на главен леторасъл (0,304), на плоден леторасъл (0,180), милерандирали зърна (0,016), средна маса на грозда (0,046), дължина на грозда (0,173), напъпване - цъфтеж (0,054), напъпване - технологична зрелост (0,002), общ брой плодни леторасли (0,116) и общ брой гроздове (0,248). Слаби отрицателни корелации, обуславящи двата ефекта, са отбелязани във всички групи от признаци. Положително пряко влияние на Хибрид 28-13 (P_1) върху семеначетата е отчетено при признаците широчина на грозда (0,289),



Таблица 1. Преки и косвени влияния на изследваните признаци върху добива от грозде от F₁ поколение на хибридната комбинация Хибрид 28-13 (P₁) x Русалка (P₂)

Table 1. Direct and indirect influence of the studied traits on grape yield from F₁ progeny of the hybrid combination Hybrid 28-13 (P₁) x Russalka (P₂)

Г P r o p o s	Признаци Traits	№	Пряк и косвен ефект - Direct and indirect influence																		Общо косвено влияние Total indirect influence	r			
			X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃	X ₁₄	X ₁₅	X ₁₆	X ₁₇	X ₁₈			X ₁₉	X ₂₀	X ₂₁
I	К на родовитост на леторасъл	X ₁	-0.206	-0.349	-0.098	0.105	0.167	0.018	-0.023	-0.696	0.901	0.222	-0.087	0.116	0.010	-0.001	0.076	0.000	0.038	0.152	-0.181	-0.958	1.353	0.765	0.559
	К на родовитост на лавен леторасъл	X ₂	-0.145	-0.494	-0.12	0.192	0.124	0.062	0.037	-0.271	0.427	0.139	-0.031	-0.008	0.007	0.001	0.074	0.001	0.169	0.075	-0.033	-0.740	1.263	1.211	0.717
	К на родовитост на плоден леторасъл	X ₃	-0.111	-0.328	-0.182	0.090	0.085	0.019	-0.004	0.353	-0.109	-0.094	0.015	0.070	-0.002	-0.001	-0.027	0.000	0.095	-0.020	0.108	-0.470	1.146	0.785	0.603
II	Милерандирали зърна (%)	X ₄	-0.053	-0.232	-0.040	0.409	0.012	-0.018	0.043	-0.154	0.216	0.114	-0.001	-0.275	-0.009	0.000	0.026	-0.001	0.099	0.085	-0.157	-0.105	0.219	-0.229	0.180
	Средна маса на грозда (g)	X ₅	-0.063	-0.113	-0.028	0.009	0.543	0.064	0.108	-0.508	0.563	0.214	0.027	-0.113	-0.009	0.000	-0.038	0.001	-0.028	-0.012	-0.032	-0.459	0.579	0.110	0.653
	Дължина на грозда (cm)	X ₆	-0.029	-0.193	-0.026	-0.049	0.261	0.132	0.070	-0.178	0.214	0.064	0.020	0.084	-0.005	-0.003	-0.015	0.001	0.069	-0.119	0.123	-0.562	0.728	0.425	0.557
	Широчина на грозда (cm)	X ₇	0.026	-0.097	0.004	0.093	0.313	0.050	0.187	-0.093	0.060	0.119	0.032	-0.326	-0.021	-0.003	-0.037	0.001	0.113	-0.019	0.054	-0.002	0.007	0.274	0.461
III	Средна маса на 100 зърна (g)	X ₈	-0.092	-0.085	0.041	0.040	0.176	0.015	0.111	-1.566	1.392	0.461	-0.089	0.014	0.010	0.004	0.044	0.001	-0.073	0.154	-0.346	-0.138	0.077	1.617	0.251
	Дължина на зърното (mm)	X ₉	-0.127	-0.145	0.014	0.061	0.210	0.019	0.008	-1.497	1.457	0.451	-0.105	-0.001	0.009	0.003	0.056	0.001	-0.081	0.143	-0.289	-0.465	0.501	-1.234	0.063
	Широчина на зърното (mm)	X ₁₀	-0.089	-0.134	0.033	0.091	0.227	0.016	0.044	-1.410	1.284	0.512	-0.049	0.121	0.002	0.003	0.022	0.001	0.004	0.145	-0.320	-0.224	0.163	-0.312	0.200
	Индекс на формата на зърното	X ₁₁	-0.128	-0.107	-0.02	0.002	0.04	0.019	-0.042	0.966	1.088	0.176	0.141	0.161	0.014	0.001	0.082	0.000	-0.165	0.081	-0.128	-0.614	0.770	0.308	0.167
IV	Напълване - цъфтеж (дни)	X ₁₂	-0.045	0.009	-0.024	-0.213	-0.118	0.023	-0.116	-0.040	-0.002	-0.117	-0.043	0.328	0.022	0.003	-0.011	0.000	-0.028	-0.015	-0.008	-0.199	0.297	-0.623	-0.095
	Цъфтеж - оцветяване (прошарване) (дни)	X ₁₃	0.044	0.074	-0.006	0.078	0.109	0.103	0.088	0.361	-0.265	-0.024	0.045	-0.262	-0.045	-0.012	-0.165	-0.001	0.073	0.109	0.058	0.269	-0.273	0.065	0.020
	Оцветяване - технологична зрелост (дни)	X ₁₄	0.007	-0.023	0.016	-0.004	-0.017	0.028	-0.040	-0.431	0.291	0.109	-0.012	0.101	0.034	0.016	0.041	0.000	-0.037	0.043	-0.015	0.050	-0.079	0.006	0.022
	Напълване - технологична зрелост (дни)	X ₁₅	0.059	0.138	-0.019	-0.040	0.078	0.008	0.026	0.262	-0.311	-0.042	0.044	0.022	-0.028	-0.002	-0.264	-0.001	0.071	-0.173	0.109	0.398	-0.354	0.245	-0.019
V	Захарни (%)	X ₁₆	0.030	0.138	0.008	0.074	-0.227	0.064	-0.054	0.290	-0.326	-0.154	0.001	0.057	-0.008	-0.001	-0.069	-0.002	-0.024	-0.042	0.448	-0.546	-0.516	-0.519	
	Киселини (g/dm ³)	X ₁₇	-0.022	-0.233	-0.048	0.113	-0.039	0.025	0.059	0.320	-0.327	0.005	0.065	-0.041	-0.009	-0.002	-0.052	0.000	0.359	-0.113	0.152	-0.376	0.540	0.017	0.376
VI	Общ брой пъпки	X ₁₈	0.071	0.083	-0.008	-0.078	0.015	0.035	0.008	0.545	-0.469	-0.167	0.028	0.017	-0.011	-0.002	-0.103	0.000	0.091	-0.444	0.525	-0.537	0.513	0.554	0.110
	Общ брой леторасли	X ₁₉	0.060	0.026	-0.032	-0.104	0.028	0.026	0.016	0.879	-0.663	-0.268	0.029	-0.007	-0.004	0.000	-0.047	0.000	0.088	-0.378	0.617	-0.699	0.786	-0.338	0.279
	Общ брой плодни леторасли	X ₂₀	-0.126	-0.233	-0.055	0.027	0.159	0.047	0.000	-0.137	0.432	0.073	-0.055	0.067	0.008	-0.001	0.067	0.001	0.086	-0.152	0.275	-1.569	1.739	2.222	0.653
	Общ брой гроздове	X ₂₁	-0.149	-0.333	-0.11	0.048	0.168	0.051	0.001	-0.064	0.390	0.045	-0.058	0.084	0.007	-0.001	0.050	0.001	0.103	-0.121	0.259	-1.455	1.875	-1.085	0.790

Legend: K - коэффициент - C - coefficient; I - X₁ - shoot fertility coefficient; X₂ - main shoot fertility coefficient; X₃ - fruiting shoot fertility coefficient; II - X₄ - millerandage berries (%); X₅ - average cluster weight (g); X₆ - cluster length (cm); X₇ - cluster width (cm); III - X₈ - average weight of 100 berries (g); X₉ - berry length (mm); X₁₀ - berry width (mm); X₁₁ - berry shape index; IV - X₁₂ - budding - flowering (days); X₁₃ - flowering - softening (days); X₁₄ - softening - technological maturity (days); X₁₅ - budding - technological maturity (days); V - X₁₆ - sugars (%); X₁₇ - acids (g/dm³); VI - X₁₈ - total bud number; X₁₉ - total fruiting shoot number; X₂₀ - total cluster number; X₂₁ - total cluster number.

Таблица 2. Относително участие на признаците при формиране на добива от грозде на F_1 поколение на хибридната комбинация Хибрид 28-13 (P_1) x Русалка (P_2)
Table 2. Relative participation of traits in the formation of grape yield from F_1 - progeny of the hybrid combination Hybrid 28-13 (P_1) x Russalka (P_2)

Групи Groups	№	Общо изменение в добива - Total yield variation	100,0
		Относително общо участие на най-важните признаци 93,2% от което: Relative total participation of the most important traits 93,2% from which:	
I	x_1	Коефициент на родовитост на леторасъл	8,7
	x_2	Коефициент на родовитост на главен леторасъл	14,4
	x_3	Коефициент на родовитост на плоден леторасъл	10,2
II	x_5	Средна маса на грозда (g)	11,9
	x_6	Дължина на грозда (cm)	8,7
	x_7	Широчина на грозда (cm)	5,9
V	x_{17}	Киселини (g/dm^3)	4,0
VI	x_{20}	Общ брой плодни леторасли	11,9
	x_{21}	Общ брой гроздове	17,5
Други признаци - Other traits			6,8

Таблица 3. Относително участие на признаците на Хибрид 28-13 (P_1) в общото им изменение в F_1 поколение на хибридната комбинация Хибрид 28-13 (P_1) x Русалка (P_2)
Table 3. Relative participation of the traits of Hybrid 28-13 (P_1) in their total variation in F_1 - progeny of the hybrid combination Hybrid 28-13 (P_1) x Russalka (P_2)

Групи Groups	№	Общо изменение на признаците - Total variation of traits	100,0
		Относително общо участие на най-важните признаци 95,8% от което: Relative total participation of the most important traits 95,8% from which:	
I	x_1	Коефициент на родовитост на леторасъл	32,6
II	x_7	Широчина на грозда (cm)	8,9
IV	x_{13}	Цъфтеж – омекване (прошарване) на зърната (дни)	6,9
	x_{14}	Омекване - технологична зрелост (дни)	5,3
V	x_{16}	Захари (%)	15,1
	x_{17}	Киселини (g/dm^3)	7,5
VI	x_{18}	Общ брой пъпки	7,5
	x_{20}	Общ брой леторасли	12,0
Други признаци - Other traits			4,2

Таблица 4. Относително участие на признаците на сорта Русалка (P_2) в общото им изменение в F_1 поколение на хибридна комбинация Хибрид 28-13 (P_1) x Русалка (P_2)

Table 4. Relative participation of the traits of the cultivar Russalka (P_2) in their total variation in F_1 - progeny of the hybrid combination Hybrid 28-13 (P_1) x Russalka (P_2)

Групи Groups	№	Общо изменение на признаците - Total variation of traits	100,0
		Относително общо участие на най-важните признаци 92,4% от което: Relative total participation of the most important traits 92,4% from which:	%
I	x_2	Коефициент на родовитост на главен леторасъл	18,1
	x_3	Коефициент на родовитост на плоден леторасъл	8,8
II	x_6	Дължина на грозда (cm)	6,7
	x_7	Широчина на грозда (cm)	17,8
IV	x_{15}	Напъпване - технологична зрелост (дни)	18,4
V	x_{17}	Киселини (g/dm^3)	7,9
VI	x_{18}	Общ брой пъпки	11,5
	x_{21}	Общ брой гроздове	3,2
Други признаци - Other traits			7,6

широчина на зърното (0,065), индекс на формата на зърното (0,054), омекване (прошарване) на зърната - технологична зрелост (0,152), захари (0,243) и общ брой леторасли (0,240), като при повечето от тях общото косвено влияние е отрицателно.

Осем признака на Хибрид 28-13 (P_1) участват с 95,8 % в изменението на фенотипа в F_1 поколението (табл. 3). Включени са показатели от общо пет групи, без някоя от тях да доминира. С най-висок дял са коефициентът на родовитост на леторасъл (32,6 %), захарите (15,1 %) и общият брой леторасли (12,0 %), а други признаци (4,2 %) се определят от фенотипното разнообразие в F_1 поколението. Същият брой признаци и групи от бащиния сорт Русалка (P_2) участват в общото им изменение в F_1 поколението (92,4 %) (табл. 4). С най-големи дялове са коефициентът на родовитост на главен леторасъл (18,1 %), напъпване - технологична зрелост (18,4 %), широчина на грозда (17,8 %) и общ брой пъпки (11,5 %). Другите признаци са със 7,6 % участие в общото изменение на добива.

ИЗВОДИ

1. Добивът от грозде при семеначета от F_1 поколението на кръстоската Хибрид 28-13 x Русалка се определя от много признаци, от които с най-голямо значение са средната маса, дължината и широчината на грозда. Влиянието на тези показатели се дължи на високата им корелация с добива и положителното им общо косвено влияние чрез другите признаци. С умерена корелация и положителен пряк ефект върху

добива се отличават още дължината и широчината на зърното и общият брой леторасли.

2. Положителна корелация между F_1 поколението и родителските сортове е установена само при цъфтеж - омекване (прошарване) на зърната, киселини, общ брой пъпки и общ брой леторасли. Умерени и слаби корелации са отчетени при различни признаци между майчиния, бащиния сорт и семеначетата. Двата родителски сорта влияят положително върху родовитостта, големината на грозда и зърното, количеството на захарите и киселините и продължителността на някои фенофази.

3. С най-голям дял в относителното участие на признаците за формиране на добива са общият брой гроздове, коефициентът на родовитост на главния леторасъл, средната маса на грозда и общият брой плодни леторасли. В общото изменение на фенотипното разнообразие в F_1 поколението Хибрид 28-13 влияе най-силно чрез коефициента на родовитост на леторасъл, количеството на захарите и общия брой леторасли, а Русалка - чрез напъпване - технологична зрелост, коефициента на родовитост на главния леторасъл, широчината на грозда и общия брой пъпки.

ЛИТЕРАТУРА

Божинова-Бонева, И. Ц., 1973. Наследяване на основните стопански ценни признаци на десертното грозде в хибридно потомство и проучване на някои морфологични, физиологични и биохимични

- особености на лозовите сортове, свързани с ранозрелостта. Дисертация, Пловдив, с. 281.
- Българска ампелография, 1990. Обща ампелография, Издателство на Българската академия на науките. Селскостопанска академия. Институт по лозарство и винарство - Плевен. Т. I, С., с. 296.
- Лидански, Т., 1988. Статистически методи в биологията и в селското стопанство. Земиздат, София, с. 375.
- Мокрева, Т., 2007. Сравнителни характеристики на статистически критерии и алгоритми за оценка на експериментални данни от лозарството. Дисертация, Пловдив, с. 145.
- Ройчев, В., 1996. Цитоембриологични и селекционнo-генетични изследвания на безсеменни сортове лози (*Vitis vinifera* L.). Дисертация, Пловдив, с. 174.
- Тодоров, И., 1987. Сорт Болгар в селекцията на лозата - постижения и перспективи. София, БАН, с. 277.
- Елисеева, И., 1982. Статистическите методи измерения связей. Ленинград, Издательство Ленинградского университета, с. 97.
- Рокицкий, П. Ф., 1973. Биологическая статистика. В 3-е изд. - Минск: Вышэйшая школа, 328 с.
- Dewey, D. R., K. H. Lu, 1959. A correlation and path coefficient analysis of components of crested wheat grass seed production. – *Agronomy Journal*, 51, 515-518.
- Larik, A. S., 1978. Correlation and path coefficient analysis of yield components in mutants of *Triticum aestivum*. – *Structural Equation Modeling*, 6, 1-55.
- Mokreva, T., V. Roichev, 2004. An Efficient Correlation Model for the Study of Grape Cultivars (*Vitis vinifera* L.) Fertility. National Centre for Agrarian Sciences. – *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 10, 4, 423-428.
- Pandewy, P., L. Gitton, 1975. Correlation, multiple correlation and path coefficient analysis of yield components in wheat (*Triticum aestivum* L.). – *Journal of Human Genetics*, 35, 695-732.

Статията е приета на 20.03.2009 г.
Рецензент - проф. дсн Славчо Панделиев
e-mail: pandeliev@abv.bg



АНТРАКНОЗА ПО РОЗАТА В БЪЛГАРИЯ ANTHRACNOSE DISEASE OF ROSES IN BULGARIA

Мариана Накова
Mariana Nakova

Аграрен университет - Пловдив
Agricultural University - Plovdiv

E-mail: mnakova@yahoo.com

Резюме

В периода 2004-2007 г. в розовите насаждения на Пловдивския регион се наблюдава непознато за широката практика микозно заболяване, което нанесе от 5 до 10 и повече процента загуба на розов цвят. По листата се появяват малки пурпурни закръглени петна, които после стават сивобелезникави, с червеникав ореол. При силно нападение листата окапват. Симптоми има по прилистниците и основата на цвета. По летораслите петната са закръглени до елиптични, с червеникав цвят и асервули върху тях. От болните розови растения е изолиран и определен като причинител патогенът *Sphaceloma rosarum*. В асервулите на гъбата се откриват 2 вида спори – едните са елиптични, удължени, леко извити в краищата и с по една вакуола (7,65-8,42x1,74-3,82µm), а другите са нишковидни, леко завити в единия край. Мицелен растеж и покълване на спорите се наблюдава в температурния интервал от 5-6 до 30-32°C. Патогенът зимува в раковините на заразените растения като мицел, асервули и склероциоподобни структури. „In vitro” фунгициден ефект проявяват препарати на базата на тиофанат метил, хексаконазол, триадимефон, тебуконазол, миклбутанил и др.

Abstract

During the period 2004-2007 in the rose plantations in the region of Plovdiv a new unknown for producers mycotic disease appeared. As a result, yield losses varied between 5-10%, and even higher. Small, purple, roundish spots appear on rose leaves. They become whitish-grey with a reddish margin afterwards. In the case of a severe disease attack leaves drop down. Symptoms can be found also on leaflets and at the base of the flowers. On the plant shoots spots are roundish to elliptical, reddish in color with acervulae on them. The causal agent of the disease has been isolated and identified as *Sphaceloma rosarum*. Two types of spores are formed in the acervulae – the first type are elliptical, elongated, slightly curved with one vacuole at the edges (7.65-8.42 X 1.74-3.82 µm); the second type are thread-like, slightly curved at one of the edges. Mycelia growth and spore germination have been registered in the temperature interval 5-6° to 30-32°C. The pathogen over winters in infected plants as mycelia, acervulae and sclerotia-like structures. „In vitro” fungicidal effect on mycelia growth is achieved with tiophanate methyl, hexoconazole, triadimefone, tebuconazole, micobutanyl, etc.

Ключови думи: роза, антракноза, *Sphaceloma rosarum*, биология, фунгициди за контрол.

Key words: rose, anthracnose, *Sphaceloma rosarum*, biology, fungicides.

ВЪВЕДЕНИЕ

По розата са съобщени над двадесет (22) гъбни болести (Horst, 1983). Между тях като потенциално вредоносна се сочи антракнозата. Според Rane (2004), Pottorff and Broun (2005) това заболяване е малко известно, но може да причини значителни щети на производството, включително и при оранжерийни условия.

В известната ни литература се срещат малко сведения за биологията, епидемиологията, методите и средствата за борба с причинителя на антракнозата

(Nickols and Nelson, 1969; Horst, 1983; Flint and Karlik, 2000).

От химичните средства по аналогия се препоръчват тези, които се използват при черните петна по розата (Moorman, 2005). Това са фунгицидите на база хлороталонил, манкозеб, метил тиофанат, изосторбин, миклбутанил, трифорин и цирам и комбинацията на метил топсин с манкозеб.

В периода 2004-2007 г. в промишлените розови насаждения на Пловдивския регион се наблюдаваха симптоми по листата, летораслите и цветовете на

розата, сходни на описаните в литературата за заболяването антракноза (Nickols and Nelson, 1969). Повредените цветове в някои млади насаждения бяха между 5-10 и повече процента. В България не са известни данни за тази болест.

Затова целта на проведеното проучване е да се изолира и да се определи причинителят на заболяването, да се изследват симптомните прояви, влиянието на някои метеорологични фактори върху развитието на болестта, жизненият цикъл и някои фунгицидни средства за борба.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проучванията са извършени в катедра „Фитопатология“ в Аграрния университет – Пловдив, в периода 2004-2007 г.

Изолирането, определянето и доказването на патогенността на изолатите бе направено по общоприетите фитопатологични методи (Fox, 1993). Идентифицирането на причинителя бе извършено на базата на симптомните прояви по растенията и морфологичните и културалните характеристики на патогена (Fox, 1993; Horst, 1983; Nickols and Nelson, 1969). Материалите за изследване бяха събрани в промишлени насаждения в районите на Пловдив, Казанлък и Карлово от сортовете „Янина“, „Елейна“, „Популация“. Изолатите са извършени върху КДА. С получените изолати са заразени млади розови растения от сорта „Елейна“ чрез пулверизиране със спорова суспензия от 14-дневна култура. Те са поставени във влажна камера за 48 часа и след това са култивирани при лабораторни условия. Всеки вариант на инокулация включва по 5 растения, в две повторения. Резултатите са отчетени при поява на симптоми, след което е извършена и реизолация.

С лабораторни методи „in vitro“ при контролирани условия се изследва влиянието на температурите върху развитието на мицела и кълненето на спорите на гъбата в интервала от 2-3 до 34-36°C. Растежът на мицела се проучи върху КДА, в по четири повторения. Покълването на спорите се отчете по капковия метод на 24 и 48 часа, в по четири повторения.

Жизненият цикъл на патогена се проследи върху болни материали (листа и леторасли), поставени да зимуват на почвената повърхност, върху маркирани растения със симптоми по тях и в посадъчен материал от сорта „Елейна“.

По метода на Торнбъри „in vitro“ се изследва фунгицидният ефект на набор от препарати с различни активни субстанции (табл. 3). Опитът се изведе върху КДА, като всеки вариант/фунгицид включваше по 4 повторения.

РЕЗУЛТАТИ

Върху естествено и изкуствено заразени растения се наблюдаваха характерни симптоматични прояви.

По листата отначало се явяват малки, закръглени, пурпурночервени петна с размери от 1-2 до 3-5 mm. По-късно в центъра те избледняват и придобиват сивобелезникав цвят и са с червеникав венец. Често петната се сливат и обхващат голяма част от листната петура (фиг. 1). Силно нападнатите листа окапват.

Симптоми се явяват и по чашелистчетата, откъдето по-късно патогенът прониква в основата на цвета и причинява съхнене на дръжките и опадане на още неотворения цвят във фаза бутонизация.

Под формата на фини точки болестта се явява и по цвета, като засяга чашката и основите на венечните листа.

По летораслите петната са закръглени до леко елипсовидно удължени (от 2 до 5 mm), с червеникав цвят. При по-напреднала фаза се образуват раковини, които, когато са многобройни, водят до съхнене на летораслите.

Върху поразените тъкани се образува спороношението на фитопатогена под формата на плодни тела – асервули. Върху изкуствена хранителна среда и в раковините на летораслите се формират и склероции. Телеоморфната форма не е открита.

Фитопатоген. Върху поразените органи се образуват плодните тела на гъбата – асервули. В тях се образуват два вида спори (фиг. 2):

- елипсовидно удължени, леко извити в единия си край и с по една вакуола в двата полюса; имат следните размери: дължина 7,65-8,42 μm и широчина 1,74-3,82 μm ;
- нишковидни, леко извити в единия си край.

При лабораторни условия покълват само първият тип спори. Ролята на втория тип не е изяснена и вероятно те изпълняват полова функция.

Въз основа на наблюдаваните симптоми и морфологични характеристики (оцветяване на мицела и динамика на растежа му, плодни тела и форма и размери на спороношението) като причинител на болестта е определена гъбата *Sphaceloma rosarum/Pass./Jenkins*, с телеоморфен стадий *Elsinoe rosarum*.

Лабораторните опити „in vitro“ за влияние на температурата върху развитието на патогена се провеждаха в периода 2005-2006 г. (табл. 1, 2).

Данните показват (табл. 1), че кълняемост на спорите се наблюдава в температурния интервал от 5–6 до 30-32°C, като оптимални се явяват температурите от 14-16°C до 26-28°C. Температурите над 30-32°C инхибират кълненето на спорите.

Таблица 1. Влияние на температурата върху кълняемостта на спорите на *Sphaceloma rosarum*
Table 1. Effect of temperature on spore germination of *Sphaceloma rosarum*

Температура, °C Temperature, °C	Общ брой спори Total number of spores	Процент покълнали след 24 часа Percent germinated spores, 24 hrs	Процент покълнали след 48 часа Percent germinated spores, 48 hrs
2-3	500	0,0	0,0
5-6	500	0,5	5,0
14-16	500	70,0	96,0
26-28	500	32,0	62,0
30-32	500	Единични кълнове Singles germ tubes	
34-36	500	0,0	0,0

Таблица 2. Влияние на температурата върху мицелния растеж на *Sphaceloma rosarum* (обобщени данни)
Table 2. Effect of temperature on mycelia growth of *Sphaceloma rosarum* (summarized data)

Температура, °C Temperature, °C	Растеж на мицела в mm след: Mycelia growth in mm after:	
	24 часа 24 hrs	48 часа 48 hrs
2-3	0	0
5-6	0,5-1	2-3
14-16	8-20	35-35
18-20	25-28	65-82
26-28	30-30	80-85
30-32	10-15	55-55
34-36	0	0



Фиг. 1. Симптоми на антракноза по листа
Fig. 1. Anthracnose symptoms on leaves



Фиг. 2. Конидиоспори на *Sphaceloma rosarum*
Fig. 2. Conidiospores of *Sphaceloma rosarum*

Таблица 3. Фунгициден ефект на препаратите върху мицелния растеж при опити „in vitro”
Table 3. Effect of fungicides on mycelia growth “in vitro” tests

No	Вариант/фунгицид Treatment/fungicide	Активни вещества Active ingredients	%	Диаметър на колонията, mm Colony diameter, mm
1.	Шампион Champion	Меден оксихлорид Copper oxichloride	0,3	10/10
2.	Ридомил голд 68 ВП Ridomil gold 68 WP	Металаксил + манкозеп Metalaxil + mancozeb	0,25	0,0
3.	Купроцин супер Cuprozine super	Си оксихлорид + цинеб Cu oxichloride + zineb	0,4	10/10
4.	Топсин М 70 ВП Topsin M 70 WP	Тиофанат метил Tiophanat methyl	0,15	0,0
5.	Дитан М 45 Dithane M 45	Манкозеп Mancozeb	0,3	0,0
6.	Байлетон 25 ВП Bayleton 25 WP	Триадимефон Triadimefon	0,03	0,0
7.	Саназол(тилт) 25 ЕК Sanazol 25 EC	Пропиконазол Propiconazole	0,03	0,0
8.	Скор 250 ЕК Scor 250 EC	Дифенконазол Difencnazole	0,02	0,0
9.	Фалкон 450 ЕК Falcon 450 EC	Тебуконазол + спироксамин + дименол Tebuconazole + spiroxamin + dimenol	0,03	0,0
10.	Анвил Anvil	Хексоконазол Hexaconazole	0,03	0,0
11.	Систан 24 ЕК Sistane 24 EC	Миклобутанил Miclobutanil	0,03	0,0
12.	Фундазол Fundazol	Беномил Benomyl	0,1	0,0
13.	Контрола Control			90/90

Растежът на мицела на гъбата (табл. 2) протича в границите от 5-6°C до 30-32°C, като оптимумът е от 18-20°C до 26-28°C. При 30-32°C се наблюдава забавен растеж, а при 34-36°C развитието се преустановява.

Анализът сочи, че развитието на патогена протича в широк температурен интервал, като оптималните температури съвпадат с критичните фенофази от развитието на розовата култура. Прави впечатление още, че по-ниските температури (15-16°C) влияят благоприятно върху къпненето на конидиите, докато при мицела се наблюдава обратна тенденция – високите температури (26-28°C) са оптимални за мицелния растеж.

Зимуване на патогена. При наблюдението върху поставените за зимуване материали на полето, върху маркираните болни растения в насажденията и на посадъчен материал се установи, че гъбата може да зимува като мицел, асервули и склероции по раковините на летораслите. При температура над 5-6°C се образува спороношението на патогена и при наличие на вода се получават заразявания на младите

леторасли и листа. Върху посадъчния материал повреди се откриваха и по летораслите, което е основание да се приеме, че болестта в новите полета се разпространява от разсадниците.

За разкриване на *ñðããñð àà çà áí ðáà* бяха изпитани препарати с различен химичен състав и механизъм на действие (табл. 3).

Резултатите (табл. 3) показват, че изпитаните препарати при опити „in vitro” в лабораторни условия проявяват висок фунгициден ефект по отношение на причинителя на антракнозата. Изключение правят медсъдържащите средства – шампион и купроцин супер.

Според Fake (2001) при екологосъобразно отглеждане на розата особено внимание трябва да се отделя на агрохимичните подходи за борба, защото използването на силно токсични пестициди може да причини сериозно въздействие върху околната среда, количеството и качеството на цвета и произведените фармацевтични продукти. Поради специфичния характер на българското розово масло България



задоволява потребностите на парфюмерийната промишленост в света в продължение на повече от 300 години (Топалов и др., 1989). Остатъчно количество от химикали в розовото масло може да причинява алергии и затова розопроизводителите следва да се насочват към биологично производство на розов цвят или да се дава превес на агротехническите прийоми и при необходимост пестициди да се използват в ранните фенофази от развитието на розата.

Като се имат предвид големите перспективи, които се разкриват пред розопроизводството на световния пазар и с цел оптимизиране на технологията за контрол на болестите (в периода 2004-2007), се проведеха наблюдения за динамиката на развитие на болестта и фенофазите на развитие на розата.

Фаза разлистване. Започва с появата на първия лист и продължава до появата на петия лист. Летораслите имат дължина 10-12 см - явяват се първите петна по листата и летораслите.

Фаза бутонизация. Започва с разцъфтяването на бутоните от първи порядък и приключва с разпукуването на тези от последния порядък - по-масово развитие на болестта, включително и по цветните дръжки.

Фаза цъфтеж. Започва с разцъфтяване на пъпките от последния порядък - поява на болестта в основата на цвета под формата на воднистосиви петна. Цветът завяхва и опада.

Фаза втори прираст. Започва с прорастването на пъпките в пазвата на най-долния лист на цветните клонки, т.е. от края на цъфтежа до края на вегетацията - силно поразените листа опадат, а по клонките ясно личат раковинни повреди.

Наблюденията върху разпространението на антракнозата показват, че първите симптоми се явяват във фенофаза разлистване (в края на март и началото на април). Най-масово болестта се среща във фенофазите бутонизация и цъфтеж. Анализът на развитието на болестта сочи още, че нейната динамика корелира с повишаване на температурите от 14-16°C до 26-28°C и с наличието на вода.

На основата на получените резултати стратегията за борба следва да се определя след анализ на здравния статус на розовите ценози, а именно: степен на зараза през предходната година; степен на нападение по листата; степен на нападение по летораслите; метеорологични условия и механизъм на действие на фунгицидите.

За да не се допуснат вредни химични остатъчни количества в цветните части, се изисква фунгицидните третираня да се извършват в първите две фенофази и само при по-масово нападение от болестта - в началото на бутонизацията.

ИЗВОДИ

На основата на проведените проучвания може да се формулират следните по-важни изводи:

- В розовите насаждения е установена болестта антракноза с причинител гъбата *Sphaceloma rosarum* /Pass./Jenkins.
- Патогенът се развива в температурния интервал от 5-6 до 30-32°C, като оптимумът за растеж на мицела е в границите от 18-20 до 26-28°C, а за покълване на конидиите - от 14-16 до 26-28°C.
- Патогенът зимува в раковините на заразените растения като мицел, асервули и склероциоподобни структури. В почвата се запазва по окапалите листа и в болната дървесина, разпиляна при резитбата.
- От изпитаните фунгициди за борба (по In vitro методи) ефективност имат топсин М 70 ВП, дитан М 45, анвил, скор 250 ЕК, систан 24 ЕК, фундазол, саназол 25 ЕК (тилт), байлетон.

ЛИТЕРАТУРА

- Топалов, В., и др., 1989. Растениевъдство, Земиздат, София.
- Fake, Cindy, 2001. Environmentally friendly rose care. – In: Horticulture & Small Farms Advisor, Placer & Nevada counties, 31-147, X, 2001.
- Flint, M. L. and Karlik K. F., 2000. Healthy Roses, UC IPM Publication 21 589.
- Fox, R. T. F., 1993. Principles of diagnostic techniques in plant pathogens, Oxon, OX10 8DE, UK.
- Horst, R. K., 1983. Compendium of rose diseases. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 20-21.
- Rane, É., 2004. Rose spot anthracnose. Plant diseases diagnostician, Botan. & Plant Pathology, Prude University.
- Moorman, G., 2005. Plant Pathology.
- Nicôls, L. P. and Nelson P. E., 1969. Foliage diseases, 185-195. – In: Roses: A manual on the culture, Management, Diseases, Insects, Economics and Breeding of Greenhouse Roses.
- Pottorff, L. P. and Broun J., 2005. Diseases of roses in Colorado.

Статията е приета на 20.03.2009 г.
Рецензент - проф. дсн Георги Нешев
e-mail: georgineshev@yahoo.com



ВЛИЯНИЕ НА МУТАГЕННИ ТРЕТИРАНИЯ ВЪРХУ РАСТЕЖА НА КАЛУСА И РЕГЕНЕРАЦИЯТА ОТ ЛИСТНИ ДРЪЖКИ И КОРЕНОВИ ЕКСПЛАНТИ НА ФАСУЛ
INFLUENCE OF MUTAGENIC TREATMENTS ON THE CALLUS GROWTH AND REGENERATION BY LEAF PETIOLES AND ROOT EXPLANTS OF THE COMMON BEAN

Дияна Светлева^{*1}, Дочка Димова¹, Маргарита Велчева¹, Паула Крино²
Diana SVETLEVA^{*1}, Dotchka DIMOVA¹, Margarita VELCHEVA¹ and Paola CRINO²

¹Аграрен университет - Пловдив

¹Agricultural University - Plovdiv

²ENEA C.R. Casaccia, UTS Biotecnologie, Protezione della Salute e degli Ecosistemi, 00060 Rome, Italy

**Corresponding author*

E-mail: svetleva@yahoo.com

Резюме

Изследвано е влиянието на мутагенното третиране с етилметан сулфонат (ЕМС) и N-нитрозо-N^l-етил карбамид (НЕК) върху три прехвърляния на хранителна среда на калус и регенерирали прорастъци от експлантите на корени и листни дръжки на 7-дневни растения. Калибрирани стерилни семена на българския сорт фасул Пловдив 11M са култивирани на основна MS среда, допълнена с 1 μ M BAP. Третирането на експлантите с мутагените е извършено за 60 min в различни концентрации ($2.5 \cdot 10^{-2}$, $1.25 \cdot 10^{-2}$, $6.2 \cdot 10^{-3}$ M за ЕМС, и $6.2 \cdot 10^{-3}$, $3.1 \cdot 10^{-3}$, $1.55 \cdot 10^{-3}$ M за НЕК).

Мутагенните концентрации влияят върху растежа на калуса и регенерацията. При прилагане на най-ниските концентрации тези показатели се повишават. Третирането с НЕК, в сравнение с ЕМС, проявява по-силен ефект върху двата процеса. Прилагането на най-ниската концентрация на ЕМС ($6.2 \cdot 10^{-3}$ M) стимулира образуването на прорастъци и растителната регенерация.

Установени са морфологични и хлорофилни промени (от типа *chlorina* и *viridissima*) в прорастъците и регенерантите, но не се развиват цели растения от тях. Ефектът на прехвърлянията на хранителна среда върху растежа на калуса е по-силно от това на мутагенните третираня. Взаимодействието между тези фактори е сравнително ниско.

Abstract

The influence of ethyl methanesulfonate (EMS) and N-nitroso-N^l-ethyl urea (ENU) mutagenic treatments was investigated on three time sub-cultured calli and on regenerating shoots coming from roots and leaf petiole explants of 7-day old sterile plants respectively. Calibrated sterile seeds of Bulgarian the common bean variety "Plovdiv 11M" were pre-cultivated on MS basal medium supplemented with 1 μ M BAP. Different concentrations of mutagens ($2.5 \cdot 10^{-2}$, $1.25 \cdot 10^{-2}$, $6.2 \cdot 10^{-3}$ M for EMS, and $6.2 \cdot 10^{-3}$, $3.1 \cdot 10^{-3}$, $1.55 \cdot 10^{-3}$ M for ENU) were applied for 60 min to the treated explants.

Mutagenic concentrations influenced both the callus growth and regeneration, these increasing at the lowest concentrations. ENU showed a stronger effect than EMS in both processes, while the lowest EMS concentrations ($6.2 \cdot 10^{-3}$ M) stimulated significantly shoot formation and plant regeneration.

Morphological and chlorophyll changes (*chlorina* and *viridissima* types) in shoots and regenerates were found but whole plants did not develop from them. The effect of subcultures on callus growth was higher than that of mutagenic treatments. Interactions between these factors were quite low.

Ключови думи: етилметан сулфонат (ЕМС), N-нитрозо-N^l-етил карбамид (НЕК), *in vitro* култивиране, мутагени, *Phaseolus vulgaris* L.

Key words: Ethyl methanesulfonate (EMS), *in vitro* cultivation, mutagens, N-nitroso-N^l-ethyl urea (ENU), *Phaseolus vulgaris* L.

Съкращения: БАП: 6-бензил-амино-пурин; ЕМС: етилметан сулфонат; ИБА: индолил-бутирова киселина; НОК: нафтил-оцетна киселина; НЕК: N-нитрозо-N^l-етил карбамид; ТДЗ: N-фенил-N^l-1,2,3-тиадиазол-5-карбамид [тиадиазурон].

Abbreviations: BAP: 6-Benzyl-Amino-Purine; EMS: ethyl methanesulfonate; IBA: Indole-Butiric-Acide; NAA: Naphtyl-Acetic-Acide; ENU: N-nitroso-N^l-ethyl urea; TDZ: N-phenyl-N^l-1,2,3-thiadiazol-5-urea [thidiazuron].

INTRODUCTION

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most important rich-protein legumes on which different breeding methods were applied to develop cultivars with improved traits. In the last years, scientific efforts were focussed on different aspects of investigations on common bean, such as seed hormonal balance [13], seed pre-cultivation on different *in vitro* culture media [5], study of the physiological status of the plant used as source of *in vitro* culture explants [19, 27], thin-cell-layer application on *in vitro* culture methods [5], etc. However, more efforts are still required to broaden genetic variability of the natural germplasm for stress resistance [25], adaptability to mechanical harvesting, earliness, and grain quality.

Mutagenesis combined with *in vitro* culture technique can provide a profitable methodology to increase the frequency of new genetic variations [3]. In this context, we aimed at performing our investigations.

Common bean Bulgarian variety Plovdiv 11M, comparing to other varieties, showed better abilities for *in vitro* cultivation (unpublished data). That is the reason why we choose it for our investigations.

Influence of ethyl methanesulfonate (EMS) and N-nitrose-N^r-ethyl urea (ENU) mutagenic treatments was investigated either on three time sub-cultured calli or on regenerating shoots coming from roots and leaf petiole explants of 7-day old sterile plants, respectively. Mutagenic concentrations were applied for 60 min on the treated explants.

Treatment (mutagens or their concentrations) influenced either callus growth or regeneration. Morphological and chlorophyll changes in shoots and regenerates were found. Combined with *in vitro* culture technique, mutagenesis can provide a profitable methodology to increase the frequency of new genetic variation [3], this including resistance to biotic and abiotic stresses. The following main advantages such as (i) production of large populations in a small space and in a short time; (ii) easy application of mutagens; (iii) facilitated identification of stress resistant mutants by sterile treatment procedures; (iv) increased chances to display mutants within regenerates [6], are accounted by using *in vitro* culture techniques. However, although several *in vitro* regeneration procedures were up now described [4, 8, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 20, 26, 32, 33], their low efficiency still remains a problem limiting the use [2].

Exposition to the mutagenic treatment must be quite long on seeds [9, 24], while plant tissues (roots, stems or calli)

have to be treated for a shorter time [22]. Mutant frequency differed also in dependence on the type of the material treated [24] but the key factor is mainly represented by the mutagen concentration or the irradiation dose, this latter being required quite low (2-5 Gy) for *in vitro* culture [1].

In literature, data concerning the effect of the mutagenic treatment on *in vitro* seeds or explants of common bean do not yet exist. Considering this aspect together with the possibility that mutagens can make genome more plastic after treatment, this also being positively reflected on plant regeneration, we aimed at studying influence of the mutagenic treatment either on callus growth or on regeneration of common bean genotypes. On this aspect, Svetleva *et al.* [30] established that 60-min may be considered as optimal time for the mutagenic application of EMS and ENU on leaf petiole and root explants of common bean.

MATERIALS AND METHODS

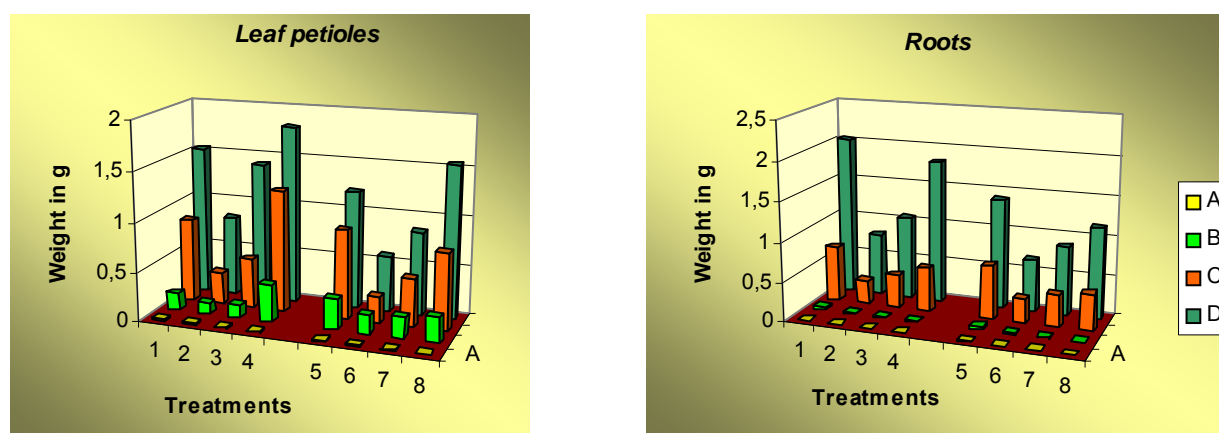
Calibrated seeds of Bulgarian common bean variety Plovdiv 11M were pre-cultivated on the basal MS medium [23] supplemented with 1 mM BAP, according to the procedure proposed by Mok and Mok [21]. Roots and leaf petioles from 7-day old sterile plants have been used as explants for *in vitro* culture techniques aimed at obtaining proliferating and shoot regenerating callus, respectively.

To study the effect of a mutagenic treatment on callus growth as well as on regeneration ability, the mutagens EMS (ethyl methanesulfonate) and ENU (N-nitrose-N^r-ethyl urea) were applied on root and leaf petiole explants for 60 min at the following concentrations: $2.5 \cdot 10^{-2}$, $1.25 \cdot 10^{-2}$, $6.2 \cdot 10^{-3}$ M for EMS and $6.2 \cdot 10^{-3}$, $3.1 \cdot 10^{-3}$, $1.55 \cdot 10^{-3}$ M for ENU. Both mutagens, ENU and EMS, were dissolved in buffers at pH 6 and pH 7, respectively, and solutions were cold sterilized through 0.45 mm Millipore filters. Then, explants were plunged under sterile conditions into the mutagen solutions. After mutagenic treatments, both root and leaf petiole explants were *in vitro* cultured on MS₁ callus induction medium.

Proliferating calli from leaf petiole explants were then transferred on the media referred as MSE and MS₀ (MS medium without phytohormones). Shoot elongation was evidenced onto MSE medium in four weeks, after the third subculture, whereas both plant growth and rooting were established on MS₀ medium. Hormonal composition of the media utilized is described in Table 1.

Table 1. Hormonal composition of the media utilized (mg · l⁻¹)

Components	Media	
	MS ₁	MSE
TDZ (N-phenyl-N'-1,2,3-thiadiazol-5-urea [thidiazuron])	2.640	-
NAA Naphtyl-Acetic-Acide	0.372	-
BAP 6-Benzyl-Amino-Purine	-	0.700
IBA Indole-Butiric-Acide	-	0.001



Subcultures: A – fresh weight; B – 1st subculture; C – 2nd subculture; D – 3rd subculture.
Treatments: 1 - Control –buffer (pH 7); EMS \Rightarrow 2 - $2.5 \cdot 10^{-2}$ M; 3 - $1.25 \cdot 10^{-2}$ M; 4 - $6.2 \cdot 10^{-3}$ M
 5 - Control –buffer (pH 6); ENU 6 - $6.2 \cdot 10^{-3}$ M; 7 - $3.1 \cdot 10^{-3}$ M; 8 - $1.55 \cdot 10^{-3}$ M

FIGURE 1. Influence of mutagenic concentrations on callus weight at different subcultures

All treatments were performed in 5 replicates. The first explant subculture was done under dark conditions, while the second and the third ones were carried out under light conditions, at the temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 8/16 hours photoperiod and 2500 Lx light intensity.

The effect of mutagenic treatments was studied by evaluating the callus weights and the regeneration ability at each subculture. Influence of different mutagenic treatments on the process of regeneration was estimated by counting the number of shoots per explant and the total number of shoots detected on the MSE medium, while the number of regenerates per explant and the total number of regenerates were recorded on MS_0 medium.

Chlorophyll changes were determined by classification of Lamprecht [14].

Results were statistically elaborated by bi-factorial ANOVA analysis or Student's "t" test, while the strength of influence of the studied factors was calculated by correlation ratio ($\eta\%$).

RESULTS AND DISCUSSION

a. Callus growth

Weight data of three-time subcultured calli, treated for 60 min with different EMS and ENU concentrations, are presented in Figure 1.

A hierarchic range of callus weights in dependence of the concentrations of both mutagens for leaf petiole and root explants.

Respect to the control buffer pH 7, in all subcultures, a stimulation effect of the lowest concentration $6.2 \cdot 10^{-3}\text{M}$ on callus weight has been seen in the experiment involving EMS treatment on leaf petiole explants. The treatment with the lowest ENU concentration ($1.55 \cdot 10^{-3}\text{M}$) also induced small stimulation, respect to the control buffer pH 6, only in

the third subculture. Similar effects were not found when root explants were treated with both mutagens.

The results statistically evaluated by dispersion analysis and showing the degree of factor's influence, are presented in Table 2.

As the mutagenic treatments with both mutagens have to be compared with the pH 6 and pH 7 buffer controls, respectively, influence of the factor A (mutagen concentrations) on callus weights showed the highest significant values for the mutagen concentrations of $1.55 \cdot 10^{-3}$ M ENU and $6.2 \cdot 10^{-3}$ M EMS, mainly when leaf petioles were used as explants. Inhibition effects of the highest mutagen concentrations ($6.2 \cdot 10^{-3}$ M ENU and $2.5 \cdot 10^{-2}$ M EMS) on callus weights were also evidenced. The same trend was noticed using the roots as explants. Referring to the influence of factor B (subculture on a fresh medium) on callus growth, the highest significant weight was found at the 3rd subculture for both types of explants, while the lowest one was recorded at the 1st subculture.

Referring to the interactions between both factors (A = mutagen concentrations and B = subculture) on callus weights, the first positions were determined by the influence of the lowest concentrations of both mutagens with the 3rd subculture on a fresh medium (Table 3).

b. Plant regeneration

Shoot formation and regeneration from root explants have been never expressed.

The effects of mutagenic treatments on shoot formation as well as on plant regeneration from leaf petiole explants have been reported in Table 4. For both mutagens applied, the number of shoots and regenerates per explant increased by decreasing the EMS and ENU concentrations.

All mutagenic treatments have inhibited the total number of shoots respect to both controls (buffers pH 7 and pH 6).

Table 2. Evaluation of significance between factor's differences

<i>Leaf petioles</i>			<i>Roots</i>		
Treatments	Average value of five replicates	Significance per P = 0.05	Treatments	Average value of five replicates	Significance per P = 0.05
Factor A = mutagen concentrations					
(A ₄) ENU 1.55 · 10 ⁻³ M	0.86	a	(A ₁) Control-buffer (pH 6)	0.70	a
(A ₈) EMS 6.2 · 10 ⁻³ M	0.65	b	(A ₄) ENU 1.55 · 10 ⁻³ M	0.60	b
(A ₁) Control-buffer (pH 6)	0.64	b	(A ₅) Control-buffer (pH 7)	0.54	c
(A ₅) Control-buffer (pH 7)	0.61	bc	(A ₈) EMS 6.2 · 10 ⁻³ M	0.41	d
(A ₃) ENU 3.1 · 10 ⁻³ M	0.51	c	(A ₃) ENU 3.1 · 10 ⁻³ M	0.37	d
(A ₇) EMS 1.25 · 10 ⁻² M	0.39	d	(A ₇) EMS 1.25 · 10 ⁻² M	0.33	de
(A ₂) ENU 6.2 · 10 ⁻³ M	0.32	de	(A ₂) ENU 6.2 · 10 ⁻³ M	0.28	e
(A ₆) EMS 2.5 · 10 ⁻² M	0.26	e	(A ₆) EMS 2.5 · 10 ⁻² M	0.25	e
Factor B = subculture on fresh medium (subculture)					
(B ₄) 3 rd subculture	1.32	a	(B ₄) 3 rd subculture	1.23	a
(B ₃) 2 nd subculture	0.67	b	(B ₃) 2 nd subculture	0.48	b
(B ₂) 1 st subculture	0.22	c	(B ₂) 1 st subculture	0.02	c
(B ₁) Fresh weight	0.01	d	(B ₁) Fresh weight	0.01	c

Table 3. Evaluation of significance between the differences of factor's combinations degrees (AB=combinations; factor A=mutagen concentrations; factor B= subculture on fresh medium)

<i>Leaf petioles</i>			<i>Roots</i>		
Combinations	Average value of five replicates	Significance per P = 0.05	Combinations	Average value of five replicates	Significance per P = 0.05
(A ₄ B ₄) ENU 1.55 · 10 ⁻³ M + 3 rd subculture	1.81	a	(A ₁ B ₄) Control pH=6.0 + 3 rd subculture	2.03	a
(A ₈ B ₄) EMS 6.2 · 10 ⁻³ M + 3 rd subculture	1.55	b	(A ₄ B ₄) ENU 1.55 · 10 ⁻³ M + 3 rd subculture	1.82	b
(A ₁ B ₄) Control pH=6.0 + 3 rd subculture	1.52	b	(A ₅ B ₄) Control pH=7.0 + 3 rd subculture	1.41	c
(A ₃ B ₄) ENU 3.1 · 10 ⁻³ M + 3 rd subculture	1.41	bc	(A ₈ B ₄) EMS 6.2 · 10 ⁻³ M + 3 rd subculture	1.17	d
(A ₄ B ₃) ENU 1.55 · 10 ⁻³ M + 2 nd subculture	1.23	c	(A ₃ B ₄) ENU 3.1 · 10 ⁻³ M + 3 rd subculture	1.06	d
(A ₅ B ₄) Control pH=7.0 + 3 rd subculture	1.20	c	(A ₇ B ₄) EMS 1.25 · 10 ⁻² M + 3 rd subculture	0.89	e
(A ₅ B ₃) Control pH=7.0 + 2 nd subculture	0.90	d	(A ₂ B ₄) ENU 6.2 · 10 ⁻³ M + 3 rd subculture	0.79	e
(A ₁ B ₃) Control pH=6.0 + 2 nd subculture	0.85	d	(A ₁ B ₃) Control pH=6.0 + 2 nd subculture	0.71	e
(A ₇ B ₄) EMS 1.25 · 10 ⁻² M + 3 rd subculture	0.85	d	(A ₅ B ₃) Control pH=7.0 + 2 nd subculture	0.68	e
(A ₂ B ₄) ENU 6.2 · 10 ⁻³ M + 3 rd subculture	0.82	d	(A ₆ B ₄) EMS 2.5 · 10 ⁻² M + 3 rd subculture	0.60	e

Influence of the degrees of both factors studied as well as that of the interaction between them (AB), expressed by η%, is reported in Figure 2. Influence of the factor B is almost three times higher (66 and 69 %) than the factor A (21 and 17 %) for callus coming both from leaf petiole and root explants.

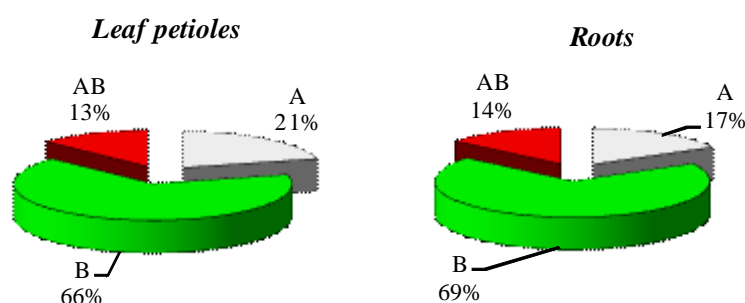


FIGURE 2. Strength of factor's influence and interactions between them showed by *hh%* index (A = mutagen concentrations; B = subcultures; AB = interaction between factors A and B)

Table 4. Regenerative capabilities of common bean variety Plovdiv 11M after EMS and ENU treatments of leaf petiole explants

Treatments	No. of initial explants	Shoots		Regenerates	
		total number	no./explant	total number	no./explant
Control-buffer (pH 7)	250	48	8	6	6
EMS					
2.5 · 10 ⁻² M	250	20 ⁻⁻⁻	6 ⁻⁻	4 ⁻⁻	1 ⁻⁻⁻
1.25 · 10 ⁻² M	250	32 ⁻⁻	9 ^{n.s.}	9 ⁺⁺	4 ⁻⁻
6.2 · 10 ⁻³ M	250	35 ⁻⁻	12 ⁺⁺⁺	10 ⁺⁺⁺	7 ^{n.s.}
Total:	1000	135	35	29	18
Control - buffer (pH 6)	250	50	7	7	5
ENU					
6.2 · 10 ⁻³ M	250	22 ⁻⁻⁻	6 ^{n.s.}	2 ⁻⁻⁻	0
3.1 · 10 ⁻³ M	250	29 ⁻⁻	8 ^{n.s.}	6 ^{n.s.}	3 ⁻⁻
1.55 · 10 ⁻³ M	250	33 ⁻⁻	10 ⁺⁺	7 ^{n.s.}	5 ^{n.s.}
Total:	1000	134	31	22	13

Respect to the control (buffer pH 7), the lowest concentration of EMS (6.2 · 10⁻³ M) stimulated shoot formation and regeneration expressed as number of shoots per explant and total number of regenerates, respectively. Significant differences were found at the highest level (P = 0,1 %).

Comparing with ENU, more regenerates were obtained after EMS treatment.

Callus and shoot formations are represented in Figure 3. After EMS and ENU mutagenic treatments, morphological changes of leaves and stems as well as chlorophyll changes mainly referred to *chlorina* and *viridissima* types (Figure 4) were induced. The number of the morphological changes was lower respect to that of the chlorophyll ones (Table 5). ENU treatment induced a number of changes higher than EMS. In general, whole plants with morphological or chlorophyll changes were not developed. The explant age and the medium choice in *in vitro* culture of common bean are of great importance for both callus formation and its subsequent growth, as preliminary steps in developing an efficient regeneration procedure of whole plants [28]. According to our previous work [27], we have

cultivated common bean seeds on MS-BAP medium to develop 7-day old plants as initial material for leaf petiole and root explants. Statistical analyses on the strength of factor's influence as well as on the interactions between them showed the highest effect of subcultures respect to that of mutagenic treatment on callus growth. Also the composition of the medium influenced strongly callus growth at the first subculture, while in the second and the third ones, the influence of both genotypes and explant age was more evident [28]. In the present study, decreases of callus weight under effect of the mutagen concentrations applied can be due to physiological disturbances expressed strongly at the first explant subculture on a fresh medium. This influence was lesser noticed at the third subculture because of the partial repairing of induced disturbances.

Both callus growth and plant regeneration capacity decreased by increasing the levels of mutagenic concentrations. Moustafa *et al.* [22] obtained similar results by studying the effect of gamma irradiation and ENU on cultured maize callus growth and plant regeneration. The lowest concentrations of the two mutagens stimulated callus induction and growth, similarly to the findings of Vu Duc

Quang *et al.* [31] on mutagenic treatment of rice (*Oryza sativa*) panicles at the uninucleate pollen stage. The type of mutagen applied and its concentration influenced lesser the total number of shoots regenerated while the number of regenerates per explant as well as the total number of regenerates were strongly affected by the mutagenic concentrations. Only a few regenerates have shown morphological changes, such as plant size and leaf shape. Regenerates with

morphological and chlorophyll changes did not develop whole plants.

A high number of shoots with chlorophyll chimerism (variegated forms) were also found after treatment of leaf explants of *Saintpaulia ionantha* Wendl. with N-methyl-N'-nitrosourea [10]. Treatments of inflorescence explants of *Brassica oleracea* with the same mutagen have induced a broad variability either in morphology or in fertility of regenerated plants [7].

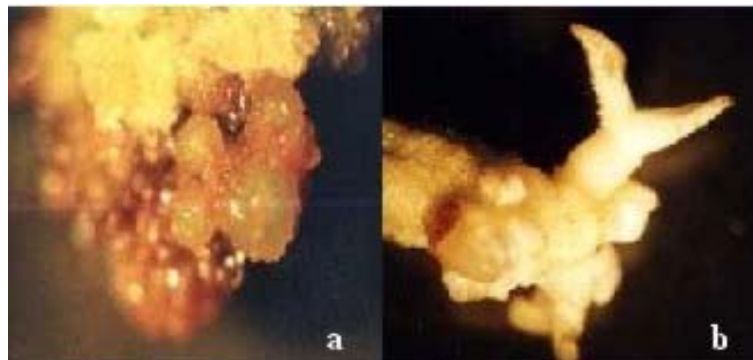


FIGURE 3. Organogenetic callus (a) and shoot formation (b) in common bean

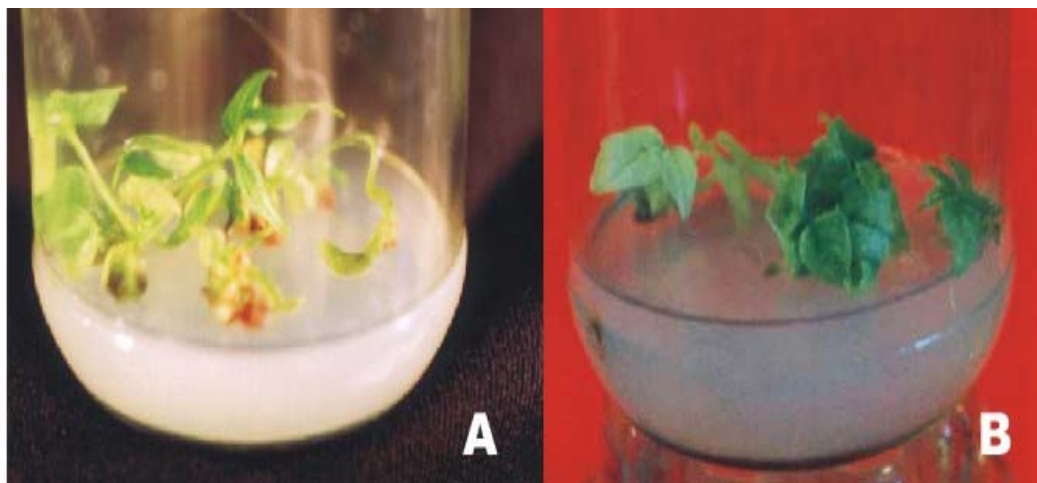


FIGURE 4. Regenerates with chlorophyll changes (A = chlorina; B = viridissima)



TABLE 5. Morphological and chlorophyll changes in shoots as well as in regenerates after EMS and ENU treatment on leaf petiole explants

Treatments	Total number	Morphological changes		Chlorophyll changes			
		irregular shape of leaves and stems		Chlorina type		Viridissima type	
		No.	%	No.	%	No.	%
Shoots							
Control-buffer (pH 7)	48						
$2.5 \cdot 10^{-2}$ M EMS	20	1	5.0	1	5.0	1	5.0
$1.25 \cdot 10^{-2}$ M EMS	32	1	3.1			2	6.2
$6.2 \cdot 10^{-3}$ M EMS	35						
Total:	135	2	1.5	1	0.7	3	2.2
Regenerates							
Control-buffer (pH 6)	50						
$6.2 \cdot 10^{-3}$ M ENU	22	2	9.1	2	9.1	2	9.1
$3.1 \cdot 10^{-3}$ M ENU	29	1	3.4			2	6.8
$1.55 \cdot 10^{-3}$ M ENU	33						
Total:	134	3	2.2	2	1.5	4	3.0
Regenerates							
Control-buffer (pH 7)	6						
$2.5 \cdot 10^{-2}$ M EMS	4						
$1.25 \cdot 10^{-2}$ M EMS	9	1	11.1			1	11.1
$6.2 \cdot 10^{-3}$ M EMS	10						
Total:	29	1	3.4			1	3.4
Control-buffer (pH 6)	7						
$6.2 \cdot 10^{-3}$ M ENU	2	1	50.0	1	50.0	1	50.0
$3.1 \cdot 10^{-3}$ M ENU	6	1	16.7			1	16.7
$1.55 \cdot 10^{-3}$ M ENU	7						
Total:	22	2	9.1	1	4.5	2	9.1

CONCLUSION

On the basis of the conducted investigations, we can conclude that the treatment of leaf petiole explants by chemical mutagens such as EMS and ENU influenced both callus growth and regeneration of common bean, these decreasing with the highest mutagen concentrations. ENU evidenced an inhibition effect stronger than EMS on the traits investigated. Treatment of explants with $6.2 \cdot 10^{-3}$ M EMS improved the efficiency of plant regeneration. This system could be useful to broaden genetic diversity of common bean that is quite narrow in the natural germplasm [29].

Plant regeneration from common bean root explants was not found.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Prof. Saccardo from Tuscia University (Viterbo, Italy) for the critical suggestions in improving the manuscript.

REFERENCES

- [1] Ahloowalia, B.S., Maluszynski M., Induced mutations. A new paradigm in plant breeding. *Euphytica* (2001) 118: 167-173.
- [2] Angelini, R.R., Genga A., Allavena A., Tissue cultures of bean (*P. coccineus* L.) and their applications to breeding. – In: Proc. 1st Int. ISHS Symposium on *In vitro* culture and horticulture breeding. Cesena, Italy, 1990, p. 99-104.
- [3] Crino', P., Lai A., Di Bonito R., Saccardo F., Genetic variability in tomato plants regenerated from irradiated cotyledons. – *J. Genet. & Breed.* (1994) 48: 253-261.
- [4] Datta, S. K., Misra P., Mandal A. K. A., In vitro mutagenesis – a quick method for establishment of solid mutant in chrysanthemum. – *Current Sci.* (2005) 88, (1): 155-158.
- [5] De Carvalho, M.H.C., Le B.V., Zuily Fodil Y., Thi A.T.P., Kiem T.T.V., Efficient whole plant regeneration of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using thin-cell-layer culture and silver nitrate. – *Plant Sci.* (2000) 159 (2): 223-232.

- [6] Dix, P.J., Use of chemical and physical mutagenesis *in vitro*. – In: K. Lindsey ed., *Plant Tissue Culture Manual*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1992, pp. 235.
- [7] Dunemann, F., Grunewaldt J., *In vitro* mutagenesis in *Brassica oleracea* var. *italica* Plenck (broccoli). *Gartenbauwissenschaft* (1990) 55 (4): 155-158.
- [8] Eissa Ahmed, E., Bisztray G.Y.D., Velich I., Plant regeneration from seedling explants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). – *Acta Biol. Szegediensis* (2002) 46 (3-4): 27-28.
- [9] Farooqui, M.A., Jaya T., Sadanandam A., Spectinomycin resistant mutants of *Solanum melongena*. – *Advances in Plant Sci.* (1998) 11 (2): 247-251.
- [10] Gaj, M., Gaj M.D., The high frequency of variegated forms after *in vitro* mutagenesis in *Saintpaulia ionantha* Wedl. – *Acta Societatis Bot. Poloniae* (1996) 65 (3-4): 339-343.
- [11] Geerts, P., Sassi K., Mergeai G., Baudoin J.P., Development of an *in vitro* pod culture technique for young pods of *Phaseolus vulgaris* L. – *In vitro Cell and Develop. Biol. Plant* (2000) 36 (6): 481-487.
- [12] Kharta, K.K., Pahl K., Leung N.L., Morginski L.A., Plant regeneration from meristems of grain legumes: soybean, cowpea, peanut, chickpea and bean. – *Can. J. Bot.* (1981) 59: 1671-1679.
- [13] Kovac, M., Piskernik D., Ravnikar M., Jasmonic acid-induced morphological changes are reflected in auxin metabolism of beans grown *in vitro*. – *Biol. Plant.* (2003) 47 (2): 273-275.
- [14] Lamprecht, H., *Über Blattfarben von Phanerogamen. Klassifikation, Terminologie und Gensymbole von Chlorophyll und anderen Farbmutanten.* – *Agri. Hort. Gen.* (1960) 18: 135-168.
- [15] Malik, K.A., Saxena P.K., Regeneration in *Phaseolus vulgaris* L.: promotive role of N6-benzylaminopurine in cultures from juvenile leaves. – *Planta* (1991) 184: 148-150.
- [16] Mariotti, D., Fontana G.S., Santini L., Genetic transformation of grain legumes: *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus coccineus* L. – *J. Genet. Breed.* (1989) 43: 77-82.
- [17] Martins, I.S., Sondahl M.R., Multiple shoot formation from shoot apex cultures of *Phaseolus vulgaris* L. – *J. Plant Physiol.* (1984) 115: 205-208.
- [18] McClean, P., Grafton K.F., Regeneration of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) via organogenesis. – *Plant Sci.* (1989) 60: 117-122.
- [19] Mohamed, M.F., Read P.E., Coyne D.P., *In vitro* response of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cotyledonary explants to benzyladenine in the medium. – *Plant Growth Regulat. Soc. Amer. Quart.* (1991) 19: 19-26.
- [20] Mohamed, F.M., Read P.E., Coyne D.P., Dark preconditioning, CCPU, and thidiazuron promote shoot organogenesis on seedling node explants of common and faba bean. – *J. Am. Soc. Hort. Sci.* (1992) 117 (4): 668-672.
- [21] Mok, M.C., Mok D.W.S., Genotypic responses to auxins in tissue cultures of *Phaseolus*. – *Physiol. Plant.* (1977) 40: 261-264.
- [22] Moustafa, R.A.K., Duncan D.R., Widholm J.M., The effect of gamma radiation and N-ethyl-N-nitrosourea on cultured maize callus growth and plant regeneration. – *Plant Cell Tissue Organ Culture* (1989) 17 (2): 121-132.
- [23] Murashige, T., Skoog, F., A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. – *Physiologia Plantarum* (1962) 15: 115-119.
- [24] Rao, A.V., Farooqui M.A., Sadanandam A., Induction of lincomycin and streptomycin resistance by nitrosomethylurea and ethyl methansulfonate in *Capsicum annum* L. – *Plant Cell Rep.* (1997) 16 (12): 865-868.
- [25] Saleem, M. Y., Mukhtar Z., Cheema A. A., Atta B. M., Induced mutation and *in vitro* techniques as a method to induce salt tolerance in Basmati rice (*Oryza sativa* L.). – *Int. J. Environ. Sci. Tech.* (2005) 2, (2): 141-145.
- [26] Santalla, M., Power J.B., Davey M.R., Efficient *in vitro* shoot regeneration responses of *Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus*. – *Euphytica* (1998) 102 (2): 195-202.
- [27] Svetleva, D., Dimova D., Irikova T., Velcheva M., Petkova S., Seed precultivation on media supplemented with different hormones and its influence on callus growth in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). – *Biotechnol. & Biotechnological Equipments* (2001a) 15 (2): 12-16.
- [28] Svetleva, D., Velcheva M., Dimova D., Ivanova Kr., Petkova S., Factors influencing the *in vitro* cultivation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaf petioles. – *Biotechnol. & Biotechnological Equipments* (2001b) 15 (1): 28-34.
- [29] Svetleva, D., Velcheva M., Bhowmik G., Biotechnology as a useful tool in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) improvement. – *Euphytica* (2003) 131: 189-200.
- [30] Svetleva, D., Crino' P., Effect of ethyl methansulfonate (EMS) AND N-nitrose-N-ethyl urea (ENU) on callus growth of common bean. – *Journal of Central European Agriculture* (2005) 6, (1): 59-64.
- [31] Vu Duc Quang, Tran Duy Guy, Phan Phai, Mutagenesis and screening method for salt tolerance in rice by anther culture. – *Genome* (1988) 30, (1): 459.
- [32] Zambre, M.A., De Clercq J., Vranova E., van Montagu M., Angenon G., Dillen, W., Plant regeneration from embryo-derived callus in *Phaseolus vulgaris* L. (common bean) and *P. acutifolius* A. Gray (teparty bean). – *Plant Cell Reports* (1998) 17 (8): 626-630.
- [33] Zambre, M.A., Geerts P., Maquet A., van Montagu M., Dillen W., Angenon G., Regeneration of fertile plants from callus in *Phaseolus polyanthus* Greenam (Yeart bean). – *Annals of Botany* (2001) 88: 371-377.

Статията е приета на 20.02.2009 г.
Рецензент - доц. д-р Антоанета Стефанова
e-mail: toni_stef@yahoo.com



СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛНИ ПРОМЕНИ В ЛИСТАТА НА *LACTUCA SATIVA* L. И *PHASEOLUS VULGARIS* L. ПРИ НАРАСТВАНЕ НА НИВАТА НА ТЕЖКИ МЕТАЛИ В КОРЕНОВАТА СРЕДА
STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE LEAVES OF *LACTUCA SATIVA* L. AND *PHASEOLUS VULGARIS* L. GROWN AT EXCESS OF HEAVY METALS IN THE ROOT AREA

Анна Николова*, Андон Василев
Anna Nikolova, Andon Vassilev

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University of Plovdiv

*E-mail: maksimova.anna@gmail.com

Резюме

Бяха проведени лабораторни експерименти с *Phaseolus vulgaris* L. и *Lactuca sativa* L. с цел да се проучи реакцията на младите растения към повишаването на нивото на тежките метали (Cd, Zn, Cu) в хранителния разтвор. Бяха измервани както промените в анатомията на листа, така и фотосинтетичните параметри. Наблюдаваха се различни промени в устройството на листата под влияние на излишъка от тежки метали при проучваните видове. При салатните растения бяха наблюдавани класически ксероморфни промени в структурата на листа, докато фасулът реагира с мезоморфни промени като увеличаване на размера на епидермалните клетки и увеличаване на дебелината на листната петура. Параметрите и на газообмена, и на хлорофилната флуоресценция, които са показателни за фотосинтезата, бяха потиснати в еднаква степен при двата вида от приложения излишък от тежки метали.

Abstract

Lab experiments with *Phaseolus vulgaris* L. and *Lactuca sativa* L. have been carried out with the purpose of studying the responses of young plants to increasing levels of heavy metals (Cd, Zn, Cu) in the root area. Both leaf anatomy and photosynthetic parameters were measured. Different responses of leaf structure to excess heavy metals were detected in the studied species. In the case of lettuce plants, classical xeromorphic changes in the leaf structure have been observed, whereas common bean plants responded by having mesomorphic changes, such as increased size of the epidermal cells and increased thickness of the leaf blade. Both leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters, characteristic of the photosynthetic performance, were inhibited similarly by the applied excess heavy metals in both species.

Ключови думи: тежки метали, Cu, Zn, Cd, листна структура, мезофил, епидермис, устица, фотосинтеза.

Key words: heavy metals, Cu, Zn, Cd, leaf structure, mesophyll, epidermis, stomata, photosynthesis.

УВОД

Растенията притежават способност за структурно-функционална адаптация към стресови въздействия, в това число и към високи концентрации на тежки метали (ТМ) в средата. Излишъкът на ТМ в почвата предизвиква нарушения в кореновата система, които повлияват негативно водния режим и минералното хранене на растенията (Barcelo and Poschenrieder, 1990; Krupa et al., 2002). Отговорът на растенията включва механизми за съхраняване на оводнеността на тъканите като намаляване на транспирацията (Vassilev et al., 1998), анатомични изменения в листата и др. Израз на анатомична адаптация могат да бъдат: (1) уплътнената структура на листата, ограничаваща листния газов обмен в резултат на намаляване на размерите на клетките и

междуклетъчните пространства (Merakchiyska-Nikolova et al., 1990); (2) увеличеният брой на устицата с намалени размери за по-ефективен контрол върху транспирацията (Димитрова и съавт., 2001); (3) увеличените размери на клетките от гъбчестата паренхима за съхраняване на повече вода във вакуолите им (Papou-Filotheou et al., 2001) и др.

С придвижването си към надземните органи ТМ предизвикват индиректни и директни негативни ефекти върху фотосинтетичния процес (Krupa and Baszynski, 1995). Известно е, че ТМ понижават скоростта на CO₂ фиксацията поради повишаване на устичното лимитиране и за сметка на мезофилни нарушения, свързани с пигментния апарат, фотосинтетичния електронен транспорт и въглеродната асимилация (Vassilev and Yordanov, 1997).

Хроничното токсично въздействие на ТМ се проявява и върху други процеси при растенията и в крайна сметка потиска растежа, който е интегрален физиологичен процес (Breckle, 1991). Степента на отклонение от нормалното физиологично състояние зависи както от силата на приложения метален стрес, така и от структурно-функционалната пластичност на растителния вид. Във всички случаи обаче намалява продуктивността на растенията, което е изключително важно за адаптивното земеделие върху замърсени с ТМ почви. Това налага провеждането на изследвания върху структурно-функционалната адаптация на конкретни растителни видове към хронична метална фитотоксичност.

Целта на настоящото изследване е да се проучи реакцията на млади растения от видовете *Lactuca sativa* L. и *Phaseolus vulgaris* L. към токсични нива на тежките метали Cd, Cu и Zn в кореновата среда чрез проследяване на структурно-функционалните промени във фотосинтетичния им апарат.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитите са проведени със салатни (*Lactuca sativa* L., сорт "Жълта красавица") и фасулеви растения (*Phaseolus vulgaris* L., сорт "Лоди") при контролирани условия на средата, както е описано по-рано (Vassilev et al., 2007). Растенията от двата вида са отгледани като хидропонна култура върху перлит, в който ежедневно е внасян 1/2 хранителен разтвор на Хогланд. След първоначално развитие на растенията е заложена опитна постановка, включваща четири варианта: (1) контрола - хранителен разтвор без включване на ТМ; (2) хранителен разтвор с добавка на Cd, Cu и Zn в концентрации 50 µM, 20 µM и 500 µM, наречен *i ūēī à äī çà Ò*; (3) хранителен разтвор с добавка на 1/2 от пълната доза ТМ; (4) хранителен разтвор с 1/4 от пълната доза ТМ.

Третирането на растенията с ТМ продължава 8 дни, след което са определени: (1) свежата маса и площта на листата, (2) скоростта на фотосинтезата и интензивността на транспирацията чрез системата LCA-4 (ADC, England), (3) параметри на хлорофилната флуоресценция с апарата MINI-PAM (H. Walz, Germany) и (4) анатомични параметри на листната петура. Анатомичните и физиологичните анализи са правени върху първия същински лист при фасула и върху четвъртия лист при салатата.

Данните са обработени статистически чрез програмата ANOVA и достоверността на разликите е преценена чрез теста на Дънкан при $P=0,05$.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Приложеното комплексно замърсяване с нарастващи дози на Cd, Cu и Zn (1/4, 1/2 и пълна доза)

предизвиква прояви на хронична токсичност при салатните и фасулевите растения (Vassilev et al., 2007). Листната площ на третираните с ТМ растения намалява, като при пълната доза ТМ тя представлява 62 и 56% от контролите съответно за салатните и за фасулевите растения. По листата на салатните растения се наблюдава хлороза, която отсъства в първичните листа на фасулевите растения и е слабо проявена върху първия сложен лист.

Третирането с пълна доза ТМ предизвиква съществени промени в анатомичния строеж на листната петура при двата вида растения (табл. 1). В третираните салатни растения се наблюдава редуциране на дебелината на листната петура с 23%, което е резултат от намаляването на обема на листния мезофил. При стоматалния апарат на салатните растения е налице статистически доказано намаляване на широчината и дължината на устицата и по двете повърхности на листа. Броят на устицата обаче не се повлиява еднопосочно. Наблюдава се увеличаване на броя на устицата от долната повърхност с 29% и намаляване на броя им по горната повърхност на листа също с 29%. Това е съчетано и със статистически доказано увеличаване на броя на основните епидермални клетки по горната и по долната повърхност на листната петура, съответно с 31% и с 44%. Достоверно намаляват и размерите на устицата по двете повърхности.

Намаляването на дебелината на листната петура, увеличаването на броя на епидермалните клетки в съчетание с намаляване на броя и размерите на устицата по горната повърхност са класически пример за адаптация към стрес с развитие на ксероморфни признаци. Такава адаптация е наблюдавана и при третираните с ТМ растения (Merakchiyska-Nikolova et al., 1990; Димитрова и съавт., 2001). Според Barcelo and Poschenrieder (1990) развитието на ксероморфна структура в третираните с ТМ растения може в определена степен да се дължи на намалена еластичност на клетъчните стени поради отлагане на феноли, калоза, както и на повишена активност на йонно-свързаните пероксидази.

Третирането с ТМ предизвиква различна анатомична адаптация в листата на фасулевите растения. За разлика от салатните растения третирането с пълна доза ТМ при тях води до увеличаване на дебелината на листната петура с 37%. Налице е и различна насока на промяна в броя на основните епидермални клетки, които намалява и за двете повърхности на листа съответно с 44% за горната и с 8% за долната. Броят на устицата по горната повърхност намалява почти наполовина, докато по долната повърхност се повишава с 9%. Размерите на устицата не се изменят съществено. Подобен тип анатомична адаптация е наблюдаван при растенията от

Таблица 1. Анатомични показатели на листната петура на контролните и третираните с Cd, Cu и Zn салатни и фасулеви растения

Table 1. Anatomical parameters of the *Lactuca* and *Phaseolus* leaves - control and treated with Cd, Cu and Zn

Варианти Treatments	Дебелина на петурата (μm) Leaf thickness (μm)	Листна повърхност Leaf surface	Брой основни епидермални клетки (mm^2) Epidermal cells (mm^2)	Брой устица (mm^2) Stomata frequency (mm^2)	Дължина на устицата (μm) Stomata length (μm)	Широчина на устицата (μm) Stomata width (μm)
<i>Lactuca sativa</i> L.						
Контрола Control	212,6 ^a (100)	Горна/Upper Долна/Lower	798 ^a (100) 715 ^a (100)	412 ^a (100) 278 ^a (100)	28,0 ^a (100) 29,5 ^a (100)	22,6 ^a (100) 22,6 ^a (100)
Пълна доза ТМ Full dose HM	163,5 ^b (77)	Горна/Upper Долна/Lower	1046 ^b (131) 1032 ^b (144)	291 ^b (71) 359 ^b (129)	25,4 ^b (91) 25,4 ^b (86)	21,7 ^b (96) 21,5 ^b (95)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.						
Контрола Control	191,1 ^a (100)	Горна/Upper Долна/Lower	487 ^a (100) 1116 ^a (100)	78 ^a (100) 394 ^a (100)	31,7 ^a (100) 25,3 ^a (100)	20,5 ^a (100) 17,9 ^a (100)
Пълна доза ТМ Full dose HM	262,4 ^b (137)	Горна/Upper Долна/Lower	323 ^b (66) 1031 ^b (92)	38 ^b (49) 431 ^b (109)	31,4 ^a (99) 23,5 ^a (93)	21,9 ^a (107) 18,3 ^a (102)

Представени са средни стойности на анализирания параметри. В скобите са посочени процентните стойности спрямо съответните контроли (100%) за долната и за горната повърхност на листната петура на двата вида. Стойностите, отбелязани с буква "b", се различават достоверно от съответните контроли при $P=0,05$.

The above represent the average values of the analyzed parameters. The brackets contain percentage values in relation to the relevant controls (100%) for the upper and lower surfaces of the leaves for both plant species. The values that are marked with the letter 'b', significantly differ from the relevant controls in the event where $P=0.05$.

риган, отглеждани в среда с излишък на Cu. Авторите Raouf-Filotheou et al. (2001) установяват в своето изследване, че увеличената дебелина на листната петура се дължи на уголемяване на клетките на гъбчестата паренхима.

Различният характер на анатомичната адаптация в листата при двата растителни вида към въздействие с ТМ показва наличие на видова специфичност. Вероятно при листата на фасула увеличаването на дебелината на листната петура в конкретните условия е по-ефективният начин за съхраняване на оводнеността в сравнение със засилването на ксероморфизма, наблюдаван при салатните растения.

Третирането на растенията с ТМ предизвиква и функционални промени във фотосинтетичния апарат. Приведените в таблица 2 данни показват, че фотосинтетичната скорост (A) в третираните с 1/2 и с пълна доза ТМ растения от двата вида намалява

значително и статистически доказано. По-значително е потискането на фотосинтезата при салатните растения, където скоростта на CO_2 фиксацията при варианта с пълна доза ТМ е 46% от контролата, докато при съответния вариант от фасулевите растения е 37%. Третирането с ТМ намалява и интензивността на транспирацията (E) в салатните и фасулевите растения. С нарастване на нивата на ТМ в средата се наблюдава постепенно намаляване на транспирацията, което при салатните растения е в границите от 6 до 30%, а при фасулевите - от 11 до 26%. Намалените стойности на транспирацията кореспондират с установените анатомични промени в листата и са част от причините, водещи до потискане на фотосинтетичната скорост поради устично лимитиране на дифузията на CO_2 . Наред с това по-значителното инхибиране на фотосинтезата в сравнение с транспирацията дава известно основание да допуснем наличие и на мезофилни лимитации.

Таблица 2. Фотосинтетични параметри на контролните и на третираните с Cd, Cu и Zn салатни и фасулеви растения

Table 2. Photosynthetic parameters of the *Lactuca* and *Phaseolus* plants – control and treatment with Cd, Cu and Zn

A - скорост на нето фотосинтезата ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E - интензивност на транспирацията ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); F_v/F_m - максимална ефективност на ФС2; ETR - скорост на фотосинтетичния електронен транспорт ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

A, net photosynthetic rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E, transpiration rate ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); F_v/F_m , maximal capacity of FS2; ETR, apparent photosynthetic electron transport rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

Варианти Treatments	A	E	F_v/F_m	ETR
<i>Lactuca sativa</i> L.				
Контрола/Control	14,12 ^a (100)	1,78 ^a (100)	0,82 ^a (100)	56 ^a (100)
¼ ТМ / ¼ НМ	12,28 ^b (87)	1,67 ^a (94)	0,77 ^a (94)	52 ^a (93)
½ ТМ / ½ НМ	10,56 ^{bc} (73)	1,39 ^b (78)	0,79 ^a (96)	41 ^b (73)
ТМ / НМ	7,56 ^c (54)	1,25 ^b (70)	0,68 ^b (83)	34 ^c (61)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.				
Контрола/Control	12,06 ^a (100)	2,11 ^a (100)	0,81 ^a (100)	42 ^a (100)
¼ ТМ / ¼ НМ	11,54 ^a (96)	1,87 ^b (89)	0,79 ^{ab} (98)	38 ^b (90)
½ ТМ / ½ НМ	10,11 ^b (84)	1,76 ^b (83)	0,76 ^b (94)	28 ^c (67)
ТМ / НМ	8,14 ^c (67)	1,56 ^c (74)	0,71 ^c (88)	24 ^c (57)

Представени са средни стойности на анализирани параметри. В скобите са посочени процентните стойности на параметрите спрямо съответните контроли (100%) за двата вида. Стойностите, последвани от различни букви (a, b, c), се различават достоверно при $P=0,05$.

The above represent the average values of the analyzed parameters. The brackets contain percentage values in relation to the relevant controls (100%) for both plant species. The values that are marked with the letters 'a', 'b' and 'c' significantly differ from the relevant controls in the event where $P=0.05$.

Отношението вариабилна/максимална (F_v/F_m) флуоресценция характеризира функционалния потенциал на фотосистема 2, която е чувствителна към стресови въздействия. Прието е, че това отношение в неувредени листа е в границите 0,75–0,82 (Bolhar-Nordenkampf and Oquist, 1993). Данните за стойността на F_v/F_m (табл. 2) показват, че третирането с ТМ предизвиква отклонение от нормата само при варианта с пълна доза. Скоростта на фотосинтетичния електронен транспорт (ETR) е критерий за преценка на квантовата ефективност на фотосинтезата *in vivo* (Hetherington et al., 1998). В конкретния случай третирането с ТМ намалява съществено ETR на двата вида, с едно изключение при варианта с 1/4 доза ТМ при *Lactuca sativa*. При отсъствие на значителни промени в F_v/F_m в растенията от вариантите с 1/4 и с 1/2 доза ТМ намаляването на ETR в тях се дължи или на директни нарушения във фотохимичните процеси, или е резултат от инхибиране по пътя на обратната връзка, както посочват в обзора си Krupa and Baszynski (1995).

ИЗВОДИ

Високите концентрации на Cd, Cu и Zn в хранителната среда предизвикват анатомични и функционални промени в листата на салатните и фасулевите растения. Те са израз на адаптация на растенията към отрицателното въздействие на ТМ върху физиологичното състояние на растенията, но водят до потискане на растежа. Растенията от двата вида показват различна анатомична адаптация на листата към приложеното въздействие с ТМ, а инхибицията на функционалните фотосинтетични параметри и редукцията на растежа е сходна.

ЛИТЕРАТУРА

Димитрова, И., К. Ст. Коев, Н. А. Христовска, 2001. Изследвания върху *Linum usitatissimum* L. при култивиране върху замърсени с тежки метали почви. II. Морфологичен и анатомичен анализ на вегетативните органи. – В: Научни трудове на Пловдивския университет, 37 (6), 25-34.



- Barcelo, J., Ch. Poschenrieder*, 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. – In: *J. Plant Nutrition*, 13 (1), 1-37.
- Bolhar-Nordenkamp, H. R., G. Oquist*, 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. – In: *Photosynthesis and Production in a changing environment: a field and laboratory manual*. Hall, D. O., J. M. O. Scurlock, H. R. Bolhar-Nordenkamp, R. C. Leegood and S. P. Long, Eds., Chapman and Hall, London, 193-205.
- Hetherington, S. E., R. M. Smille, W. J. Davies*, 1998. Photosynthetic activities of vegetative and fruiting tissues of tomato. – *J. Experim. Botany*, Vol. 49, № 234, 1173-1181.
- Krupa, Z., A. Siedleska, E. Skorzyńska-Polit, W. Maksymiec*, 2002. Heavy metal interactions with plant nutrients. – In: *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. M.N.V. Prasad, K. StrzaJka (Eds). 149-177, Kluwer Acad. Publishers, 287-301.
- Krupa, Z., T. Baszynski*, 1995. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus - direct and indirect effects on light and dark reactions. – *Acta Physiologiae Plantarum* 7: 55-64.
- Merakchiyska-Nikolova, M., E. Stoyanova, E. Chakalova*, 1990. Certain changes in leaf anatomy and mesophilic chloroplast ultrastructure of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) under the effect of various PbCl₂ concentrations. – *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.*, 39 (7), 99-101.
- Panou-Filotheou, H., A. M. Bosabaldis, S. Karataglis*, 2001. Effects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). – *Annals of Botany*, 88, 207-214.
- Vassilev, A., I. Yordanov*, 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of Cd-treated plants: a review. – *Bulg. J. Plant Physiol.*, 23 (3-4), 114-133.
- Vassilev, A., L. Koleva, M. Berova, N. Stoeva*, 2007. Development of a plant test system for metal toxicity evaluation. I. Sensitivity of plant species to heavy metal stress. – *J. Central European Agriculture*, 8 (2), 135-140.
- Vassilev, A., M. Berova, Z. Zlatev*, 1998. Influence of Cd²⁺ on growth, chlorophyll content, and water relations in young barley plants. – *Biol. Plant.*, 41 (4), 601-606.

Статията е приета на 27.02.2009 г.
Рецензент - проф. дсн Дяна Светлева
e-mail: svetleva@yahoo.com



ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА КОНТРОЛ НА ВТОРИЧНОТО ЗАПЛЕВЕЛЯВАНЕ ЧРЕЗ ХЕРБИГАЦИЯ ПРИ СРЕДНО РАНЕН ПОЛСКИ ПИПЕР
POSSIBILITIES OF SECONDARY WEED INFESTATION MANAGEMENT BY HERBIGATION IN SEMI-EARLY FIELD PEPPER

Иван Жалнов, Стоян Филипов* , Росица Меранзова
Ivan Zhainov, Stoyan Filipov*, Rositza Meranzova

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University – Plovdiv

*E-mail: stoyanf@abv.bg

Резюме

Проучването се проведе през периода 2004-2005 г. в опитното поле на катедра „Градинарство“ в АУ - Пловдив. Изпитано беше действието на някои почвени хербициди, внесени чрез капковата система (хербигация), през втората част от вегетацията на пипера със следните варианти: 1. контрола без хербициди; 2. контрола със Стомп; 3. контрола с Дуал голд; 4. хербигация с Трефлан 24 ЕК (след Стомп) в три дози: а) 350 cm³/da; б) 700 cm³/da; в) 1050 cm³/da; 5. хербигация с Дуал голд (след Стомп) в три дози: а) 120 cm³/da; б) 240 cm³/da; в) 360 cm³/da; 6. хербигация със Стомп (след Дуал голд) в три дози: а) 400 cm³/da; б) 800 cm³/da; в) 1200 cm³/da.

Установено бе, че използваните хербициди понижават плътността на плевелите в различна степен. Най-добър ефект в борбата срещу вторичното заплевеляване се получава при комбинацията Стомп, внесен почвено преди разсаждането на пипера, плюс Трефлан 24 ЕК в доза 700 cm³/da, внесен чрез капковото напояване. Високите дози и на трите хербицида водят до потискане на растежа на пипера.

Abstract

The investigation was carried out during 2004 - 2005 cropping season on the experimental field of the Department of Horticulture at the Agricultural University in Plovdiv. The effect of some soil herbicides, injected into the drip irrigation water (herbigation) was tested. The experiment was conducted during the second part of the pepper vegetation period and varied as follows: 1. control without herbigation; 2. control with Stomp; 3. control with Dual Gold; 4. herbigation with Treflan 24 EC (after Stomp) at three dosage rates - a) 350 cm³/da, b) 700 cm³/da and c) 1050 cm³/da; 5. herbigation with Dual Gold (after Stomp) at three dosage rates - a) 120 cm³/da, b) 240 cm³/da and c) 360 cm³/da; 6. herbigation with Stomp (after Dual Gold) at three dosage rates - a) 400 cm³/da, b) 800 cm³/da and c) 1200 cm³/da.

The applied herbicides were found to have decreased the weed density to a different extent. The best effect on the secondary weed management was observed with the integrated pre-plant soil application of Stomp plus Treflan 24 EC at 700 cm³/da incorporated into the irrigation water. The high dosage rates of the three herbicides inhibited pepper growth.

Ключови думи: пипер, контрол на плевелите, хербигация.

Key words: pepper, weed control, herbigation.

УВОД

Пиперът е основна зеленчукова култура, която има високи изисквания към почвения тип, торенето, напояването и борбата с вредителите. Като добавим още, че пиперът е топлолюбива култура с нисък хабитус на развитие, можем да си обясним защо при пипера се развиват едни от най-опасните плевелни видове, и то в голяма плътност и през цялата вегетация. Прилагането на утвърдените при тази култура хербициди, като Дуал голд, Стомп, Трефлан и др. (Любенов и кол., 1988; Тонев, 2000; Тонев и др., 2007), имат временен ефект, тъй като

вегетацията на културата продължава от месец май до месец октомври, а действието на хербицидите обикновено е 1-2 месеца (Жалнов, Филипов, 2007; НСРЗ, София, 2007). Това обстоятелство налага по време на вегетацията заедно с капковото напояване да подаваме определени дози от утвърдени почвени хербициди, за да можем да удължим контрола над поникващите предимно от семена плевели, без да увреждаме пипера.

Целта на настоящото изследване е да установи възможността за приложение на хербигацията като

вариант за борба с късното заплевеляване при средно ранен полски пипер и да се определи подходящ хербицид в нужната доза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОД

Проучването проведехме през периода 2004-2005 г. в учебно-експерименталната база на катедра „Градинарство“ в Аграрния университет – Пловдив. Опитът с пипер, сорт “Куртовска капия”, отгледахме на висока леха при капково напояване, като вариантите разположихме по блоковия метод в четири повторения

с големина на опитната парцелка 8,5 m², а на реколтираната - 8,0 m².

Засаждането на пипера в отделните години извършихме в края на май и началото на юни при схема 110x50x20 cm. За равномерното навлажняване на растенията на всяка леха разположихме по два маркуча, равномерно отдалечени от краищата на лехата.

За борба срещу плевелите приложихме следните варианти:

1. Контрола без хербициди (заплевелена);
2. Контрола, третирана със Стомп 33 ЕК, почвено, в доза 400 cm³/da;

Таблица 1. Брой плевели след хербигация – 2004 г.

Table 1. Weeds number after herbigation – 2004.

Варианти Variants	Отчи- тания Report	Едногодишни плевели, бр./m ² Annual Weeds, number./m ²		Многогодишни плевели, бр./m ² Perennials weeds, number./m ²		Всичко плевели, % Altogether weeds, %			
		жит- ни cereal	широко- листни brood-leaved	жит- ни cereal	широко- листни brood- leaved	бр. num- ber	I	II	
1. Контрола Control	I	32	38	13	7	90	100,00		
	II	51	48	14	9	122		100,00	
2. Стомп 33ЕК – почвено Stomp 33EC – soil-applied	I	3	8	11	8	30	27,0		
	II	9	14	13	11	47		38,5	
3. Дуал голд 960ЕК – почвено Dual Gold 960EC – soil-applied	I	2	5	8	6	21	23,3		
	II	10	12	9	11	42		34,4	
4. Стомп 33ЕК - почвено Stomp 33EC soil-applied	Хербигация с Трефлан 24ЕК в дози: Herbigation with Treflan 24EC in dosage rates								
	350 cm ³ /da	I	3	4	9	8	24	26,6	
		II	2	3	11	10	26		21,3
	700 cm ³ /da	I	1	3	5	8	17	18,9	
		II	2	2	8	9	21		17,2
	1050 cm ³ /da	I	1	3	8	7	19	21,1	
II		1	1	9	8	19		15,6	
5. Стомп 33ЕК - почвено Stomp 33EC soil-applied	Хербигация с Дуал Голд 960 ЕК в дози: Herbigation with Dual Gold 960 EC in dosage rates:								
	120 cm ³ /da	I	2	3	6	8	19	21,1	
		II	4	3	8	10	25		20,5
	240 cm ³ /da	I	2	0	7	9	18	20,0	
		II	3	1	7	11	22		18,0
	360 cm ³ /da	I	0	1	5	4	10	11,1	
II		1	1	7	8	17		13,9	
6. Дуал Голд 960 ЕК - почвено Dual Gold 960EC soil- applied	Хербигация със Стомп 33ЕК в дози: Herbigation with Stomp 33EC in dosage rates:								
	400 cm ³ /da	I	4	7	8	7	26	28,95	
		II	5	6	8	10	29		23,8
	800 cm ³ /da	I	3	5	7	7	22	24,4	
		II	2	6	8	9	25		20,5
	1200 cm ³ /da	I	4	4	6	6	20	22,2	
II		1	2	8	7	18		14,7	



3. Контрола, третирана с Дуал голд 960 ЕК, почвено, в доза 120 cm³/da;
4. Стомп 33, почвено, в доза 400 cm³/da, а по време на вегетацията – Трефлан 24 ЕК в дози: а. – 350 cm³/da;
б. – 700 cm³/da;
с. – 1050 cm³/da.
5. Стомп 33 ЕК в доза 400 cm³/da, почвено, а по време на вегетацията - Дуал голд в дози: а. – 120 cm³/da;
б. – 240 cm³/da;
с. – 360 cm³/da.

6. Дуал голд 960 ЕК в доза 120 cm³/da, почвено, а по време на вегетацията - Стомп 33 ЕК в дози: а. – 400 cm³/da;
б. – 800 cm³/da;
с. – 120 cm³/da.

Почвеното внасяне на хербицидите Стомп 33 ЕК и Дуал голд 960 ЕК във вариантите от №№ 2 до 6 внасяхме след оформяне на лехите, но преди разсаждането на пипера.

Хербигацията с Трефлан 24 ЕК, Стомп 33 ЕК и Дуал голд 960 ЕК извършихме във втората половина на юли (около 45 дни след разсаждането) с регулирано

Таблица 2. Брой плевели след хербигация – 2005 г.

Table 2. Weeds number after herbigation – 2005

Варианти Variants	Отчи- тания Reports	Едногодишни плевели, бр./m ² Annual Weeds, number./m ²		Многогодишни плевели, бр./m ² Perennial weeds, number./m ²		Всичко плевели, % Altogether weeds, %			
		жит- ни cereal	широко- листни brood-leaved	жит- ни cereal	широко- листни brood- leaved	бр. number	I	II	
1. Контрола Control	I	57	42	16	11	126	100,00		
	II	69	60	18	12	159		100,00	
2. Стомп 33ЕК – почвено Stomp 33EC – soil-applied	I	6	10	8	10	34	26,9		
	II	17	21	13	15	66		41,5	
3. Дуал голд 960ЕК – почвено Dual Gold 960EC – soil-applied	I	5	10	8	12	35	27,8		
	II	14	19	7	14	54		33,9	
4. Стомп 33ЕК - почвено Stomp 33EC soil-applied	Хербигация с Трефлан 24ЕК в дози: Herbigation with Treflan 24EC in dosage rates:								
	350 cm ³ /da	I	5	7	9	10	31	24,6	
		II	5	3	8	6	22		13,8
	700 cm ³ /da	I	3	4	7	8	22	17,5	
		II	2	3	8	7	20		12,6
	1050 cm ³ /da	I	4	2	9	8	23	18,2	
II		1	2	6	7	16		10,1	
5. Стомп 33ЕК - почвено Stomp 33EC soil-applied	Хербигация с Дуал Голд 960 ЕК в дози: Herbigation with Dual Gold 960 EC in dosage rates:								
	120 cm ³ /da	I	4	6	10	9	29	23,0	
		II	5	5	7	4	21		13,2
	240 cm ³ /da	I	4	6	8	7	25	19,8	
		II	3	8	6	8	25		15,7
	360 cm ³ /da	I	2	3	8	7	20	15,9	
II		1	3	5	6	15		9,4	
6. Дуал Голд 960 ЕК - почвено Dual Gold 960EC soil- applied	Хербигация със Стомп 33ЕК в дози: Herbigation with Stomp 33EC in dosage rates:								
	400 cm ³ /da	I	6	4	7	8	25	19,8	
		II	4	7	4	5	20		12,6
	800 cm ³ /da	I	5	5	8	9	27	21,4	
		II	2	4	7	7	20		12,6
	1200 cm ³ /da	I	4	1	7	6	18	14,3	
II		2	0	7	6	15		9,4	

количество вода в капковата система, което да осигури навлажняване на почвения слой на дълбочина от 4 до 6 см.

Приложението на тази система е насочено предимно срещу едногодишните плевели, а срещу многогодишните в началото на май третирахме с тоталния хербицид Раундъп в доза 600 cm³/da.

Отчитането на плевелите извършихме в следните срокове: в 1-ви, 2-ри, 3-ти вариант на 20-ия и 60-ия ден след разсаждането на пипера, а в 4-ти, 5-ти и 6-ти вариант – на 20-ия и на 45-ия ден след извършване на хербигацията.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Заплевеляването на опитната площ е доста разнообразно, което се вижда от резултатите в контролата (вар. 1). Едногодишните плевели (житни и широколистни) съставляват около 75-80% от заплевелеността, а многогодишните - около 20-25%.

Еднократно внасяне на хербицидите (вар. 2 и 3) - съответно Стомп 33 ЕК и Дуал голд 960 ЕК - води до значително понижаване на едногодишните плевели, но за сравнително кратък период от време (I отчитане). При второто отчитане се наблюдава възстановяване на плевелите и до края на вегетацията вариантите силно заплевеляват. В следващите три варианта - 4-ти, 5-ти и 6-ти, освен почвените хербициди чрез капковата система внасяхме и по три дози – нормална, двойна и тройно завишена - от хербицидите Трефлан 24 ЕК, Стомп 33 ЕК и Дуал Голд 960 ЕК. В резултат на тези комбинации се наблюдава много по-добър контрол върху плевелната растителност за по-дълъг период от време (табл. 1 и 2) в сравнение с 2-ри и 3-ти вариант.

В сравнение с нормалната доза двойно и тройно завишените дози не водят до драстично понижаване на плътността на плевелите, а само до намаляване от порядъка на 2-3 до 5-6% през двете опитни години. При тройно завишените дози най-добър

Таблица 3. Добив от пипер в ботаническа зрелост след хербигация с Трефлан, kg/da – средно за 2004/2005 г.

Table 3. Red pepper yield with Treflan herbigation, kg/da – average for 2004/2005

Вариант Variant Повторение Replication	Контрола Control untreatment	Стомп Stomp	Дуал голд Dual Gold	Стомп +Трефлан 350 cm ³ /da Stomp + Treflan 350 cm ³ /da	Стомп +Трефлан 700 cm ³ /da Stomp + Treflan 700 cm ³ /da	Стомп +Трефлан 1050 cm ³ /da Stomp + Treflan 1050 cm ³ /da
I	1707	1802	1883	1818	1964	1734
II	1638	1796	1872	1723	1980	1617
III	1701	1703	1771	1799	1822	1728
Средно Average	1682	1767	1842	1780	1922	1693
GD – 5% - 103,52		GD – 1 % - 147,25		GD – 0,1% - 213,13		

Таблица 4. Добив от пипер в ботаническа зрелост след хербигация с Дуал голд, kg/da – средно за 2004/2005 г.

Table 4. Red pepper yield with Dual Gold herbigation, kg/da – average for 2004/2005

Вариант Variant Повторение Replication	Контрола Control untreatment	Стомп Stomp	Дуал голд Dual Gold	Стомп +Дуал голд 120 cm ³ /da Stomp + Dual Gold 120 cm ³ /da	Стомп + Дуал голд 240 cm ³ /da Stomp + Dual Gold 240 cm ³ /da	Стомп +Дуал голд 360 cm ³ /da Stomp + Dual Gold 360 cm ³ /da
I	1707	1802	1883	1688	1907	1471
II	1638	1796	1872	1678	1802	1530
III	1701	1703	1771	1614	1771	1542
Средно Average	1682	1767	1842	1660	1875	1517
GD – 5% - 94,53		GD – 1 % - 134,45		GD – 0,1% - 194,61		

**Таблица 5.** Добив от пипер в ботаническа зрелост след хербигация със Стомп, kg/da – средно за 2004/2005 г.**Table 5.** Red pepper yield with Stomp herbigation, kg/da – average for 2004/2005

Вариант Variant	Контрола Control untreatment	Стомп Stomp	Дуал голд Dual Gold	Дуал голд + Стомп 400 cm ³ /da Dual G. + Stomp 400 cm ³ /da	Дуал голд +Стомп 800cm ³ /da Dual G. + Stomp 800 cm ³ /da	Дуал голд +Стомп 1200 cm ³ /da Dual G. + Stomp 1200 cm ³ /da
I	1707	1802	1883	1609	1870	1367
II	1638	1796	1872	1617	1884	1293
III	1701	1703	1771	1514	1756	1375
Средно Average	1682	1767	1842	1580	1837	1345
GD – 5% - 85,52		GD – 1 % - 121,64		GD – 0,1% - 176,07		

потискащ ефект се наблюдава при варианта с Дуал голд 960 ЕК, следван от Стомп 33 ЕК и Трефлан 24 ЕК. Но веднага трябва да отбележим, че и при трите хербицида в тези дози се наблюдаваше потискащ ефект и върху пипера, като най-силно изразен беше той при хербицида Дуал голд 960 ЕК. По наша преценка тройно завишените дози от трите хербицида не трябва да се прилагат при пипера. При двойно завишените дози от същите хербициди, при които не се наблюдава фитотоксичност по пипера, най-добри резултати и през двете години се наблюдаваха при хербицидите Трефлан 24 ЕК в доза 700 cm³/da, внесен чрез капковата система. Ефикасността на другите два хербицида - Дуал Голд 960 ЕК и Стомп 33 ЕК - в двойна доза, макар и малко по-слаба, също може да се прилага за борба срещу едногодишните плевели и особено ако преобладават житните видове.

Трябва да се отбележи също така, че вариантите с хербигация поддържат тази ниска степен на заплевеленост около 3 месеца след разсаждането на пипера, а при вариантите с еднократно внасяне на хербициди преди разсаждане на пипера действието им продължава от 30 до 45 дни.

Най-висок добив при хербигация за контрол на вторичното заплевеляване е отчетен при внасянето на Трефлан в двойна доза - 700 cm³/da, съответно 1922 kg/da (табл. 3). Тройното увеличаване на дозата има потискащ ефект върху растежа и плододаването, което се отразява в намаляване на добива.

Сходна тенденция се наблюдава и при използването на другите два хербицида. По-слаб потискащ ефект върху пипера оказва хербигацията с Дуал голд. Най-висок добив се отчита при хербигация с двойна доза – 1875 kg/da, като отстъпва на варианта с Трефлан (табл. 4). Хербигацията със Стомп също е най-подходяща при използване на двойна доза, като се отчита добив от 1837 kg/da (табл. 5).

Трикатното повишаване на дозите е довело до понижаване на добивите спрямо контролата при Дуал с 9,1% и значително по-силно при Стомп - с 28,1 %.

ИЗВОДИ

Хербигацията с Трефлан 24 ЕК в доза 700 cm³/da, след почвено третиране със Стомп, осигурява най-добра протекция срещу вторичното заплевеляване, без да оказва токсичен ефект върху пипера.

Тройно завишените дози при Дуал голд, Стомп и Трефлан водят до потискане на растежа, развитието и намаляване на добива при пипера.

ЛИТЕРАТУРА

- Жалнов, Ив., Ст. Филипов, 2007. Възможности за екологизация на борбата с плевелите при пипер полско производство. Possibilities for ekologization of weed control in field – produced peper. – Ecological approach in to safety foot production. Conference Plovdiv 18-19.X. Bulgaria.
- Любенов, Я. и колектив, 1988. Интегрирана система за борба срещу плевелите. Земиздат, София.
- Списък на разрешените препарати за растителна защита в България, 2007. НСРЗ, София.
- Тонев, Т., 2000. Ръководство за интегрирана борба с плевелите и култура на земеделие, Пловдив.
- Тонев, Т. и колектив, 2007. Хербология. Академично издателство на АУ – Пловдив.

Статията е приета на 31.03.2009 г.
Рецензент - доц. д-р Тоньо Тонев
e-mail: tonytonev@abv.bg



РАЗРАБОТВАНЕ И ПИЛОТНО ИЗПИТВАНЕ НА РАСТИТЕЛЕН ТЕСТ ЗА ОЦЕНКА НА ТОКСИЧНОСТТА НА ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ ПОЧВИ

DEVELOPMENT AND PILOT APPLICATION OF A PLANT TEST SYSTEM FOR EVALUATING THE TOXICITY OF SOILS CONTAMINATED WITH HEAVY METALS

Андон Василев*, Малгожата Берова, Невена Стоева и Златко Златев
Andon Vassilev*, Malgojata Berova, Nevena Stoeva and Zlatko Zlatev

Аграрен университет - Пловдив
Agricultural University - Plovdiv

* E-mail: vassilev@au-plovdiv.bg

Резюме

Разработена е растителна тест система за оценка на токсичността на замърсени с тежки метали почви. Системата се основава на промени в биометрични и физиологични параметри на млади краставични растения, отглеждани при контролирани условия върху замърсени с тежки метали хранителни среди. Тя позволява класифициране на фитотоксичността на замърсени с тежки метали среди в пет класа: нетоксична (I), слабо токсична (II), умерено токсична (III), силно токсична (IV) и летална (V). Системата е изпитана за оценка на замърсени с тежки метали почвени проби от района на предприятието Кумерио - Медет в Пирдоп. Получените резултати показват, че почвените проби, взети на разстояние до 1 km от предприятието, предизвикват фитотоксичност, която варира от летална до умерено токсична.

Abstract

A plant test system for evaluating the toxicity of heavy-metal-contaminated soils has been developed and applied. It is based on both morphological (leaf area and plant fresh biomass) and physiological (photosynthetic performance and root peroxidase activity) responses of young cucumber plant (hybrid Levina) grown in excess heavy metals in the root media at controlled environment. The system allows classifying phytotoxicity of metal-contaminated media into five toxicity classes: nontoxic (I), slightly toxic (II), moderately toxic (III), strongly toxic (IV) and lethal (V). The system has been applied to evaluating the phytotoxicity of soil samples taken from the region of Pirdop, which are industrially contaminated with heavy metals, mostly by copper. The obtained results showed that the toxicity of the soil samples taken up to 1 km from the Cu-producing plant varied from lethal to moderately toxic.

Ключови думи: тежки метали, фитотоксичност, растителен тест, фотосинтеза, пероксидазна активност.

Key words: heavy metals, phytotoxicity, plant test system, photosynthesis, peroxidase activity.

ВЪВЕДЕНИЕ

Замърсяването на почвите с тежки метали (ТМ) е актуален проблем у нас и в света (Grancharov and Pirova, 2003). Процесите на естествено почистване на почвите от ТМ продължават хиляди години (McGrath, 1987), така че замърсените почви представляват постоянен риск за здравето на хората и устойчивото функциониране на екосистемите. Това провокира интерес към провеждане на системни мониторингови проучвания и към разработване на технологии за безопасно и икономически рационално използване на

замърсени с ТМ почви (Angelova et al., 2004; Янков и съавт., 2000; Dinev et al., 2005).

Изборът на технология в голяма степен зависи от степента на здравния и на екологичния риск, който тези почви създават. При оценка на екологичния риск от замърсяване с ТМ наред със стандартните химични и физични методи се използват и биотестове с животински видове, микроорганизми и растения (Adriano, 2001). Исторически погледнато, растителните видове са считани за по-малко чувствителни към токсиканти от животинските (Lewis, 1995), поради което

фитотоксичната база данни е относително по-малка. Вече е общоприето, че чувствителността на отделните биологични организми към различни токсиканти е непредсказуема и видово-специфична (Smith, 1978).

Използването на биотестове за оценка на екологичния риск от замърсени почви се налага поради факта, че общата концентрация на отделните ТМ в почвата не дава представа за тяхната подвижност, достъпност и биотоксичност. Освен това в преобладаващия брой случаи почвите са замърсени с комплекс от ТМ и следователно тяхната токсичност може да бъде резултат както на действието на един конкретен метал, така и на взаимодействията между тях – синергистични, антагонистични или адитивни (Vangronsveld and Clijsters, 1992).

Използването на растителни тестове за определяне на фитотоксичността на замърсени с ТМ почви у нас е ограничено основно от липсата на подходяща инфраструктура за провеждане на опити при контролирани условия на средата. Преценката за фитотоксичността на замърсените почви често се прави индиректно, на базата на намаляването на добивите в сравнение с тези в близки, незамърсени райони (Yankov and Taxin, 2001). Този подход дава приблизителна оценка, тъй като не може да се избегне варирането в климатичните условия, както и влиянието на странични фактори, например ефекти от аерозолно замърсяване.

Известните растителни тестове за оценка на фитотоксичността на замърсени с ТМ почви са сравнително малко на брой. Тестът OECD – 208 (OECD, 1984) е основан на намаляването на масата на определени растителни видове при отглеждане върху замърсени с ТМ почвени проби. В друг тест като показатели за метална фитотоксичност се използват покълването на семената и сухата маса на растенията (An, 2004). Растежните параметри самостоятелно не дават достатъчно обективна информация за фитотоксичността на почвата, поради което в теста на Vangronsveld and Clijsters (1992) като функционални индикатори се използват и активностите на антиокислителни ензими.

Фотосинтетичните показатели също могат да бъдат подходящи функционални индикатори за метална фитотоксичност, защото ТМ оказват редица негативни ефекти върху отделните звена на фотосинтетичния процес (Vassilev, 2002). Те намаляват устичната проводимост и съответно дифузията на CO_2 към мезофилните клетки, нарушават хлорофилната биосинтеза и фотосинтетичния електронен транспорт, инхибират биохимичните процеси и др. (Krupa and Baszynski, 1995). От друга страна, ТМ предизвикват редица индиректни негативни ефекти върху водообмена и минералното хранене на растенията, които в крайна сметка рефлектират върху фотосинтетичния процес

(Vassilev et al., 1998). Особено подходящи за растителни тестове са недеструктивните анализи, като листния газов обмен и хлорофилната флуоресценция, които се измерват бързо и имат висока чувствителност към стресови фактори.

Целта на проведеното изследване е разработване на растителен тест за оценка на фитотоксичността на замърсени с ТМ почви. В предварителни изследвания с различни растителни видове (царевица, салатата, фасул и краставица) е установено, че краставиците са подходяща култура за разработвания тест поради бързия им растеж, високата транслокация на ТМ към надземните органи и удобните за недеструктивни фотосинтетични измервания листа (Vassilev et al., 2007). В настоящата работа са представени резултати, отнасящи се до: (1) реакцията на краставиците към нарастващи нива на замърсяване с тежките метали Cd, Zn и Cu; (2) стойностите на индикаторите, въз основа на които замърсената с ТМ среда се класифицира в различни фитотоксични класове; (3) пилотното изпитване на теста върху замърсени с ТМ почви.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитите са проведени през 2007 и 2008 г. с краставични растения (хибрид "Левина") при контролирани условия на средата: фотопериод 14/10 часа (светло/тъмно), осветеност $250 \mu\text{mol ФАР m}^{-2} \text{s}^{-1}$, температура $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ и относителна влажност на въздуха $60 \pm 5\%$.

Опитна постановка 1. Краставичните семена са засявани в съдове с перлит, в които ежедневно е внасян 1/2 хранителен разтвор на Хогланд с добавка на тежките метали Zn, Cu и Cd. Опитната постановка включва 4 варианта:

- (1) контрола – внасяне само на разтвор на Хогланд;
- (2) разтвор на Хогланд с добавка на тежките метали Cu, Zn и Cd в пълна доза, съдържаща $25 \mu\text{M Cd}$, $20 \mu\text{M Cu}$ и $500 \mu\text{M Zn}$;
- (3) разтвор на Хогланд с добавка на 1/2 доза ТМ;
- (4) разтвор на Хогланд с добавка на 1/4 доза ТМ.

Разтворът с добавката на ТМ е внасян в обем 100 ml на съд, като излишъкът се оттича за поддържане на постоянен минерален режим. Третирането на растенията с ТМ продължава 3 седмици, след което растенията се анализират.

Опитна постановка 2. Краставичните растения са отглеждани при описаните контролирани условия върху почвени проби, взети от района около металургичното предприятие Кумерио в Пирдоп. От района са взети 5 средни почвени проби, отстоящи на различно разстояние от предприятието – от 200 m до



10 km (контрола). Общото съдържание на ТМ в избраните почвени проби е посочено в таблица 3. За изравняване на минералния фон в почвените проби е внесено по 100 ml 1/2 хранителен разтвор на Хогланд. Растенията са отглеждани 3 седмици след поникването, след което са анализирани.

Показатели. Основните параметри, които са определени в растенията и в почвата, са следните:

- Растежни параметри (свежа маса и листна площ на растенията);
- Хлорофилно съдържание (общо съдържание на Chl.a и Chl.b в листата);
- Функционални фотосинтетични параметри (скорост на нето фотосинтезата и интензивност на транспирацията с апарата LCA-4 (ADC, England) и скорост на фотосинтетичния електронен транспорт по параметри на хлорофилната флуоресценция, определена с апарата MINI-PAM (H. Walz, Germany);
- Активност на ензима гваякол пероксидаза в корените по Bergmeier et al. (1974);

- Общо съдържание на Cu, Zn, Cd и Pb в почвата чрез атомноабсорбционна спектрофотометрия след суха минерализация в Лабораторния комплекс на Аграрния университет – Пловдив.

Получените данни са обработени статистически и достоверността на разликите с контролата е преценена по критерия *t* на Стюdent.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Краставичните растения, отглеждани при нарастващи нива на Cd, Zn и Cu в кореновата среда, са по-ниски от контролните растения и формират по-малка листна площ. Необходимо е да се отбележи, че същинските листа и семеделите показват различна реакция към ТМ. Листата развиват признаци на хлороза, които отсъстват в семеделите. Хлоротичните признаци са особено силно проявени в растенията, третирани с пълна доза ТМ. Причината за този ефект вероятно е свързана с миксотрофното хранене на семеделите, което ги прави относително по-независими от стресови фактори.

Таблица 1. Растежни и фотосинтетични параметри в краставични растения, отглеждани при нарастващи концентрации на Zn, Cu и Cd. FW – свежа маса (g); LA – листна площ (cm²); A – скорост на нето фотосинтезата (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹); E – интензивност на транспирацията (mmol H₂O m⁻² s⁻¹); ETR – скорост на действителния електронен транспорт (μmol m⁻² s⁻¹); Chl.a+b хлорофилно съдържание (mg g⁻¹ свежа маса); гваякол пероксидазна активност в корените (GPOD – mU g⁻¹ свежа маса)

Table 1. Growth and photosynthetic parameters in cucumber plants grown at increasing concentrations of Zn, Cu and Cd. FW – fresh mass (g); LA – leaf area (cm²); A – net photosynthetic rate (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹); E – transpiration rate (mmol H₂O m⁻² s⁻¹); ETR – apparent photosynthetic transport rate (μmol m⁻² s⁻¹); Chl.a+b – chlorophyll content (mg g⁻¹ FW); Guaiacol peroxidase activity in roots (GPOD – mU g⁻¹ FW)

Параметри Parameters	Варианти / Treatments			
	Контрола (без ТМ) Control (without HM)	¼ доза ТМ ¼ dose HM	½ доза ТМ ½ dose HM	Пълна доза ТМ Full dose HM
FW	5,60 (100)	4,25* (76)	3,28* (59)	2,45* (45)
LA	105,5 (100)	86,3* (82)	67,9* (64)	35,1* (34)
A	12,24 (100)	9,25* (76)	5,56* (45)	3,35* (27)
E	2,11 (100)	1,95 (92)	2,04 (97)	2,15 (102)
ETR	31,5 (100)	26,5 (84)	18,9* (60)	15,4* (49)
Chl.a+b	1,90 (100)	1,45* (79)	1,12* (59)	0,72* (38)
GPOD листа / leaves	921 (100)	1210* (131)	1752* (190)	2040* (221)
GPOD корени / roots	3680 (100)	4315* (117)	6503* (177)	9523* (259)

*Разликите с контролата са доказани при P = 0,05.

*Differences between the treatments and the control values are significant at P = 0.05.

В таблица 1 са приведени данни за промените в някои растежни и фотосинтетични параметри в контролните и в третираните с ТМ растения. Резултатите показват, че с нарастване на нивата на ТМ в кореновата среда свежата маса и листната площ на растенията съществено намаляват. Инхибирането на листната площ варира от 18 (1/4 доза ТМ) до 66% (пълна доза ТМ), а на свежата маса - съответно от 24 до 55%. Силната чувствителност на растежа към приложеното въздействие с ТМ може да се обясни с интегралния му характер като физиологичен процес.

Скоростта на интегралния фотосинтетичен процес в третираните с ТМ краставични растения е силно инхибирана. С нарастване на дозата на ТМ скоростта на CO₂ асимилацията намалява от 24 до 67%, докато интензивността на транспирацията не е съществено променена. Това категорично показва, че инхибирането на фотосинтезата е свързано предимно с нарушения в мезофилните процеси. Отсъствието на основания за устично лимитиране на фотосинтезата в известна степен може да се обясни с хидропонния начин на отглеждане на растенията и сравнително високите дози на третиране с ТМ.

Резултатите, представени в таблица 1, показват, че общото хлорофилно съдържание в третираните с ТМ краставични растения намалява от 21 до 62%. Фотосинтетичните пигменти са една от

основните мишени на токсичното въздействие на ТМ. Тежките метали оказват комплексно негативно въздействие както върху биосинтезата и агрегацията на хлорофилните молекули, така и върху тяхната деградация. Фотосинтетичният електронен транспорт (ETR) е намален, но в по-малка степен от скоростта на въглеродната асимилация. Инхибицията на ETR варира от 16 до 51%, като с разликите с контролата са достоверни при вариантите с 1/2 и 1/4 доза на ТМ.

Ензимът гваякол пероксидаза (GPOD) показва най-силно изразена реакция към въздействието с ТМ (табл. 1). С нарастването на нивата на ТМ активността на GPOD в листата и в корените се увеличава значително и достига при варианта с пълна доза стойности, които са над 2 пъти по-високи от тези в контролните растения. Високата активност на GPOD в третираните растения е свързана с нейната централна роля в антиокислителната защитна система на клетката и отразява негативното въздействие на ТМ върху окислително-редукционното състояние на клетките. Пероксидазната активност в корените е многократно по-висока от тази в листата.

Получените резултати потвърждават известни факти за негативното влияние на ТМ върху физиологичните процеси в растенията (Vangronsveld and Clijsters, 1992). Възможните причини за установените негативни ефекти се дискутират в обзорни

Таблица 2. Параметри на индикаторите в разработения тест с млади краставични растения за отделните фитотоксични класове (в % от контролата)

Table 2. Parameters of indicators in the developed test with cucumber plants for the different phytotoxicity classes (in % from the control)

Параметри / Parameters	Фитотоксични класове / Phytotoxicity classes				
	Нетоксична Клас I Nontoxic, Class I	Слабо токсична Клас II Slightly toxic, Class II	Умерено токсична Клас III Moderately toxic, Class III	Силно токсична Клас IV Strongly toxic, Class IV	Летална Клас V Lethal, Class V
Свежа маса / Листна площ Fresh mass / Leaf area	> 90	85–75	75–40	< 40	Няма поникване No germination
Скорост на ФС; Net photosynthetic rate	95–110	> 70	70–40	< 40	-
ETR	95–105	> 80	80–50	< 50	-
GPOD корени / roots	100–125	125–150	150–200	> 200	-



статии и монографии (Krupa and Baszynski, 1995; Vassilev and Yordanov, 1997; Adriano, 2001). В конкретния случай интерес за разработването на растителния тест представлява чувствителността на отделни физиологични параметри към замърсяване на средата с ТМ, както и зависимостта между тях при различни степени на замърсяване. Получените данни показват силната чувствителност на CO_2 фиксацията (А) и фотосинтетичния електронен транспорт (ЕТР) към метална фитотоксичност. Това дава основание за включване на тези параметри, наред с активността на GPOD и растежните параметри, като функционални индикатори в разработвания растителен тест.

В таблица 2 са представени интервалните стойности на индикаторите за различни по степен на метална фитотоксичност среди – нетоксична (клас I), слабо токсична (клас II), умерено токсична (клас III), силно токсична (клас IV) и летална (клас V). Индикаторните стойности са изразени като процент от тези в контролните растения. Стойностите на растежните индикатори за отделните фитотоксични класове кореспондират с тези от теста на Vangronsveld and Clijsters (1992), а на останалите индикатори са определени емпирично на базата на установени зависимости между инхибицията на растежа и изследваните функционални параметри в третираните с ТМ краставични растения. Общата оценка на фитотоксичността на замърсената с ТМ среда се

изчислява като средноаритметична от класовете за отделните индикатори. За летална (клас V) се определя тази среда, в която замърсяването с ТМ не позволява нормално поникване на растенията. Нетоксична (клас I) е тази среда, в която намаляването на растежните параметри не надхвърля 10%, а активността на GPOD не надвишава стойностите в контролните растения с повече от 25%. Фотосинтетичните параметри в този случай могат да бъдат и слабо завишени в резултат на промени в специфичната плътност на листата, както е установено по-рано (Vassilev and Yordanov, 1997).

Растителният тест е разработен в условия на субстратна хидропонна култура, за да бъде независим от свойствата на конкретна почва. Същевременно хидропонните и почвените култури се различават съществено, в това число и при моделиране на излишък на ТМ. В почвата е налице динамично равновесие между фондовете на ТМ в твърдата и в течната фаза, поради което най-лесноусвоимите им форми в почвения разтвор са в сравнително ниски концентрации. Излишъкът на ТМ в хидропонни условия е изцяло достъпен, поради което фитотоксичният им ефект е по-директен и по-силен.

Ефикасността на разработения растителен тест е проучена чрез пилотно изпитване върху почвени проби от района около металургичното предприятие на Кумерио край Пирдоп. За контрола са използвани почвени проби, взети на 10 km от предприятието, в които

Таблица 3. Общо съдържание на ТМ в почвени проби, взети от района около металургичното предприятие Кумерио край Пирдоп

Table 3. Total content of heavy metals in the soil samples, taken in the region around metallurgic factory Kumerio near Pirdop

Варианти / местоположение Treatments / location		Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Pb (mg/kg)
Вариант 1 Treatment 1	200 m южно от предприятието 200 m South of the factory	1125	0,4	170	34
Вариант 2 Treatment 2	1 km източно от предприятието 1 km East of the factory	272	< 0,1	129	19
Вариант 3 Treatment 3	2 km източно от предприятието (с. Антон) 2 km East of the factory (v. Anton)	356	< 0,1	85	23
Вариант 4 Treatment 4	5 km източно от предприятието – местност "Козница" 5 km East of the factory "Koznitsa"	119	< 0,1	79	20
Вариант 5 (контрола) Treatment 5 (control)	10 km източно от предприятието 10 km East of the factory	79	< 0,1	28	20

Таблица 4. Индикаторни параметри в краставични растения, отглеждани върху замърсени с тежки метали почвени проби. Свежа маса на растенията (g); скорост на нето фотосинтезата ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); ETR (скорост на фотосинтетичния електронен транспорт - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); гваякол пероксидазна активност (GPOD - mU g^{-1} свежа маса)

Table 4. Indicator parameters in cucumber plants grown in heavy metal contaminated soil samples. FW – fresh mass (g); A – net photosynthetic rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); ETR – apparent photosynthetic transport rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); Guijacol peroxidase activity in roots (GPOD – mU g^{-1} FW)

Параметри Parameters	Варианти / Treatments				
	Вариант 5 (контрола) Treatment 5 (control)	Вариант 1 (200 m) Treatment 1	Вариант 2 (1 km) Treatment 2	Вариант 3 (2 km) Treatment 3	Вариант 4 (5 km) Treatment 4
Свежа маса Fresh mass	5,47 (100)	Няма поникване No germination	2,31* (42)	4,95 (90)	4,88* (89)
Скорост на ФС Net photosynthetic rate	15,19 (100)	-	8,15* (54)	13,12* (86)	13,25* (87)
ETR	38,1 (100)	-	22,5* (59)	34,3 (90)	33,1* (88)
GPOD корени roots	2750 (100)	-	5120* (189)	3110 (113)	3268 (119)
Фитотоксичен клас Phytotoxic class	-	V	III	I	I

*Разликите с контролата са доказани при $P = 0,05$.

*Differences between the treatments and the control values are significant at $P = 0.05$.

общото съдържание на ТМ е под установените ПДК норми. Контролните и замърсените с ТМ проби не се различават съществено по физико-химични качества, а за изравняване на съдържанието на необходими и полезни минерални елементи е внесен еднакъв обем хранителен разтвор на Хогланд.

Реакцията на всички почвени проби $[\text{pH}_{(H_2O)}]$ е в диапазона 4,5-5,5. Стойностите на ПДК за Cu, Cd, Zn и Pb при посочения интервал на рН са следните - съответно 80, 1,5, 150 и 60 mg/kg (Наредба № 3 на МОСВ от 2008 г.). Съгласно с получените резултати, отразени в таблица 3, общото съдържание на Cu надвишава ПДК във всички почвени варианти, с изключение на контролата, а това на Zn – само в първия вариант, непосредствено около предприятието.

Краставичните растения, отглеждани върху незамърсените и замърсените с ТМ почвени проби, се различават по скоростта на растежа и развитието си. Растенията от най-замърсения вариант (вариант 1) не поникват нормално, не образуват корени и напълно

спират началния си растеж. Със слаб растеж и със силна инхибиция на растежа на корените и листата се отличават растенията от вариант 2. Известна инхибиция на растежа на корените, но не и на листата, се наблюдава при вариант 3, а растенията от вариант 4 не се различават съществено от контролните растения (вар. 5). Може да се допусне, че наблюдаваните токсични ефекти върху растежа се дължат предимно на елемента Cu, който е основният замърсител на почвата. Известен негативен ефект вероятно оказват йоните на Al и Mn, които при установената кисела реакция на почвата имат висока подвижност.

В таблица 4 са представени резултати за индикаторните стойности на контролните и отглежданите върху замърсени почви краставични растения, на базата на които е извършено нормиране на фитотоксичността на замърсените почвени проби. Резултатите показват, че замърсяването с ТМ предизвиква съществени нарушения във физиологичните процеси на растенията от вариант 2 (проби,



взети на 1 km източно от предприятието) и не влияе съществено върху тези от вариантите 3 и 4 (проби, взети на 2 и 5 km източно от предприятието, землище на с. Антон и местността "Козница"). Физиологичният статус на растенията от вариант 2 класифицира почвата като умерено фитотоксична (клас III). Растенията от варианти 3 и 4 са с понижена свежа маса и с по-ниски фотосинтетични показатели спрямо контролните, но установените разлики са в рамките на допустимите граници за нетоксична почва (клас I).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В резултат на проведените предварителни и настоящи изследвания е разработен растителен тест за оценка на фитотоксичността на замърсени с ТМ почви. Той е базиран на морфологични (листа площ и свежа маса) и функционални (фотосинтетични параметри и пероксидазна активност в корените) промени в млади краставични растения, отглеждани върху замърсена с ТМ коренова среда при контролирани условия на средата. Тестът позволява класифициране на замърсената среда в 5 фитотоксични класа: нетоксична (клас I), слабо токсична (клас II), умерено токсична (клас III), силно токсична (клас IV) и летална (клас V) среда. Растителният тест е приложен за оценка на фитотоксичността на почвени проби от района на металургичното предприятие Кумерио край Пирдоп. Установено е, че конкретните почвени проби, взети в зоната от 200 m до 1 km източно от предприятието, проявяват фитотоксичност от V-III клас. Растителният тест може да бъде прилаган за оценка на фитотоксичността на почвата в замърсени с ТМ райони. За целта е необходимо да се подберат представителни почвени проби, отразяващи варирането в степента на замърсяване с ТМ и в основните физико-химични свойства на почвата в дадения регион.

ЛИТЕРАТУРА

- Наредба № 3 за нормите за допустимо съдържание на вредни вещества в почвите на Министерството на околната среда и водите. – ДВ № 71 от 01.08.2008 г.
- Янков, Б., В. Делибалтова, М. Божинов, 2000. Съдържание на Cu, Zn, Cd и Pb във вегетативните органи на памукови сортове, отглеждани в индустриално замърсени райони. – Растениевъдни науки, 37: 525-531.
- Adriano, D., 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. 2nd edition. – Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg.
- An, Y-J., 2004. Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. – Environm. Poll., 127: 21-26.
- Angelova, V., R. Ivanova, K. Ivanov, 2004. Heavy metal accumulation and distribution in oil crops. – Communications in soil science and plant analysis, 35 (17-18): 2551-2566.
- Bergmeyer, H.U., K. Gawehn, M. Grassl, 1974. Enzymes as biochemical reagents. – In: H. U. Bergmeyer (Editor), Methods in Enzymatic Analysis, Academic Press, New York, pp. 425-522.
- Dinev, N., T. Raytchev, M. Benkova, 2005. Comparative research on the effect of organo-mineral liming on heavy metal polluted soil. II. Heavy metal content of cabbage production. – In: Proceedings of National Conference with international participation "Management, use and protection of soil resources", May 15-19, 2005, Sofia, ISBN 954-749-058-3, pp. 443-447.
- Grancharov, I., S. Popova, 2003. Heavy metals pollution around the metallurgy plants in some regions in Bulgaria. – In: Proceedings of the workshop "Bulgarian Priorities in Chemical Risk Assessment and Management", held on 12 September 2003, Sofia, pp.38-47.
- Krupa, Z., T. Baszynski, 1995. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus - direct and indirect effects on light and dark reactions. – Acta Physiol. Plant., 7: 55-64.
- Lewis, M. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. – Environm. Poll., 87: 319-336.
- McGrath, S. P., 1987. Long-term studies of metals transfers following applications of sewage sludge. – In: P. Coughtrey, M. Martin, M. Unsworth (Editors), Pollutant Transport and fate in Ecosystems. Special publication N 6 of the British Ecological Society, Blackwell Scientific, Oxford, pp. 301-317.
- Organisation for Economic Cooperation and Development - OECD, 1984. Terrestrial plants, growth test, OECD-208. – Paris.
- Smith, B., 1978. An inter- and intra-agency survey of the use of plants for toxicity assessment. – In: J. Gorsuch, W. Lower, W. Wang, M. Lewis (Editors), Plants for toxicity assessment, vol. 2, ASTM STP 1115, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1978, pp. 41-59.
- Vangronsveld, J., H. Clijsters, 1992. A biological test system for the evaluation of metal phytotoxicity and immobilisation by additives in metal contaminated soils. – In: E. Merian and W. Haedi (Editors), Metal compounds in environment and life, 4. Special supplement to

Chemical Speciation and Bioavailability., Wilmington: Science Reviews Inc., 1992, pp. 117-125.

Vassilev, A., 2002. Use of chlorophyll fluorescence for phytotoxicity testing. – J. Environm. Protection and Ecology, 2002, 3 (4): 901-912.

Vassilev, A., M. Berova, Z. Zlatev, 1998. Influence of Cd²⁺ on growth, chlorophyll content, and water relations in young barley plants. – Biologia Plantarum, 41 (4): 601-606.

Vassilev, A., L. Koleva, M. Berova, N. Stoeva, 2007. Development of a plant test system for metal toxicity evaluation. I. Sensitivity of plant species to heavy metal stress. – J. Central European Agriculture, 8 (2): 135-140.

Vassilev, A., I. Yordanov, 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of Cd-treated plants: a review. – Bulg. J. Plant Physiol., 23 (3-4), 114-133.

Yankov, B., N. Taxin, 2001. Accumulation and distribution of Pb, Cu, Zn and Cd in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown in an industrially polluted region. – Helia, 24: 131-136.

**Статията е приета на 27.02.2009 г.
Рецензент - проф. д-р Красимир Иванов
e-mail: kivanov1@abv.bg**

Авторите изказват благодарност на Фонда за научни изследвания за предоставеното финансиране на проект ВУ-АН-3/2005, в рамките на който бяха проведени посочените в статията изследвания.



ФИЗИОЛОГИЧЕН АНАЛИЗ НА РАСТЕЖА И ПРОДУКТИВНОСТТА НА СОРТОВЕ РЕПИЧКИ PHYSIOLOGICAL ANALYSIS OF THE GROWTH AND PRODUCTIVITY OF RADISH VARIETIES

Уалид Ал Хумрани
Walid al Humrani

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University - Plovdiv

Резюме

Проведени бяха лабораторни опити с млади растения репички от три сорта. Беше направен анализ на растежа и разпределението на биомасата по органи 15 дни след началото на формиране на кореноплода. Определени бяха параметрите на фотосинтетичния апарат – обща листна площ, площ на листната петура и котиледоните. За същия период беше отчетена биологичната и стопанската продуктивност на фотосинтетичния апарат при отделните сортове.

Установено беше, че относителната скорост на растежа (RGR) е различна при включените в експеримента сортове и е най-голяма при сорта „Едри червени“. Най-голям фотосинтетичен апарат се установява при същия сорт. Стопанската продуктивност има най-високи стойности при сорта „Сакса“.

Abstract

Laboratory experiments were conducted with young plants of three radish varieties. An analysis of the growth and distribution of the biomass by authorities 15 days after the beginning of root formation. Certain parameters of the photosynthetic apparatus were determined – total leaf area surface and leaf blade and cotyledon. For the same period the biological and economic productivity of the photosynthetic apparatus in different varieties was recorded.

It was found that the relative growth rate (RGR) of the different experimental varieties varied, being highest in Edri cherveni (Big red). The biggest photosynthetic apparatus was observed in the same variety. Economic productivity is the highest in the Sachs variety.

Ключови думи: растеж, фотосинтетичен апарат, продуктивност.

Key words: growth, photosynthetic apparatus, productivity.

ВЪВЕДЕНИЕ

Репичките са широко разпространена зеленчукова култура. Според Чолаков (2001) те се отглеждат в умерената климатична зона, но най-вече в Източна Азия, където имат най-голямо стопанско значение. Авторът подчертава още, че поради късия вегетационен период и слабата му чувствителност към ниски температури този зеленчуков вид се отглежда на открито далече на север, където други зеленчукови култури трудно биха могли да формират продуктови органи.

Различните сортове репички формират кореноплоди за период от 3 до 6 седмици (Андреев, 1990) и при благоприятни условия изваждането на кореноплодите започва 25-30-35 дни след поникването (Алипиева, 2001).

Репичките се отличават с интензивен растеж и за 30-40 дни завършват формирането на продуктивния орган – кореноплода (Журбицки и др., 1971). От същия

литературен източник става ясно, че от кореноплодните зеленчукови култури репичките се отличават с най-интензивен растеж на кореноплода. При тази култура до формирането на цветоносното стъбло донорно-акцепторната система е сравнително елементарна. Донор на фотоасимилати се явяват листата (котиледони и същински), а акцептор – коренът и кореноплодът (Кошкин, 2005). Всички същински листа до формиране на 60-70% от площта си са потребители на “чужди” фотоасимилати. След този период и до прекратяването на растежа на листната петура те са донори на асимилати, тъй като разходът за собствени нужди намалява значително.

Интензивният растеж и краткото време за формиране на продуктивния орган определят и ролята на котиледоните в този процес. Това мотивира и провеждането на физиологичен анализ на растежа и продуктивността на различни сортове репички за установяване на донорно-акцепторните отношения

между фотосинтетичния апарат и кореноплода и участието на котиледоните във формирането на продуктивния орган.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Опитите са изведени с три сорта репички - Едри червени, Сакса и Селеста. Растенията са отглеждани в неотопляема стоманено-стъклена оранжерия на катедра "Физиология на растенията и биохимия" в АУ – Пловдив през 2006-2007 г. За целта са използвани пластмасови съдове с размери 47 x 16 cm. Всеки съд е зареден с 4,0 kg торфена смес за зеленчукови разсади и в него са отглеждани по 22 растения. Торфената смес има pH = 6,41 и съдържа N – 10 ppm, P – 4,9 ppm, K – 52,3 ppm, Ca – 60 ppm, и Mg – 14,4 ppm. Чрез периодично претегляне на електронна везна и доливане с вода е поддържана 70-80% влажност. При поява на първата двойка листа, когато започва да се образува кореноплодът, на 11 растения са отстранени котиледоните. Основните показатели за анализ на растежа са отчетени след 15 дни по Beadle (1993). Листната площ на растенията е определена с електронен цифров площомер NEO-2 [ТУ - София, България] по Керин и съавт. (1997).

Експерименталните данни са обработени статистически, като достоверността на разликите е определена по критерия t на Student при значимост *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001 (1957).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Биометричните показатели са предпоставка за анализ на растежа. Биомасата на отделните органи на растението е основен параметър, особено DM (сухата) при подложени на силен воден стрес растения, а когато го няма, FM е достатъчно информативна.

В таблица 1 са представени резултатите за натрупването и разпределението на биомасата по органи в младите растения от проучваните три сорта репички. Вижда се, че биомасата на цяло растение от сортовете е различна. Най-малко са асимилирали и натрупали органична маса растенията от сорт Едри червени, като FM представлява 76% от тази на сорта Сакса и 75% от сорта Селеста.

Подобна е закономерността и по отношение на сухата биомаса DM на растенията от трите сорта. Заслужава да отбележим също, че отстраняването на котиледоните води до намаляване на синтеза на биомаса, но не променя посочената зависимост между отделните сортове.

По отношение на биомасата на котиледоните не се установяват съществени различия между отделните сортове. Данните от таблицата показват, че в същинските листа от сорт Едри червени е акумулирана най-много биомаса (1,480), а при сортовете Сакса и Селеста тя е съответно 0,994 и 0,940 g. Оттокът на фотоасимилати от листата (същински и котиледони) към акцептиращите части (кореноплод и корен) протича с различна скорост, за да се акумулират различни количества органична маса. Така при сорта Едри червени, при който масата на същинските листа е най-голяма, теглото на кореноплода е с 50% по-малко спрямо другите два сорта. Подобна закономерност се установява и при растенията с отстранени котиледони, но нарастването на кореноплода се инхибира в по-голяма степен, а именно - със 70%.

Получените резултати са основание за извода, че при сорт Едри червени по-голяма част от фотоасимилатите се използват за собствените нужди на листата и по-малко се оттичат към кореноплода като атрагиращ орган. Тази особеност в разпределението на

Таблица 1. Разпределение на биомасата в органите на млади растения от репички
Table 1. Distribution of Biomass in the organs of young plants of Radishes

Показатели Variants	Едри червени Big red		Сакса Saksa		Селеста Selesta	
	с котиледони with cotyledons	без котиледони without cotyledons	с котиледони with cotyledons	без котиледони without cotyledons	с котиледони with cotyledons	без котиледони without cotyledons
FM растение plant (g)	4,181	2,010***	5,475	3,382**	5,552	3,414***
DM растение plant (g)	0,270	0,203**	0,343	0,198**	0,276	0,177*
FM същински листа true leaf (g)	1,480	1,054***	0,994	0,904	0,940	0,907
FM котиледони cotyledons (g)	0,514	-	0,568	-	0,513	-
FM кореноплод rootcrops (g)	2,060	0,820**	3,828	2,372**	4,022	2,464***
FM корен root (g)	0,135	0,127	0,085	0,106	0,047	0,043



Таблица 2. Показатели за анализ на растежа на млади растения от репички
Table 2. Parameters for analys of young plant of Radishes

Показатели Variants	Едри червени Big red		Сакса Saksa		Селеста Selesta	
	с котиледони with cotyledons	без котиледони without cotyledons	с котиледони with cotyledons	без котиледони without cotyledons	с котиледони with cotyledons	без котиледони without cotyledons
Скорост на растежа Growth rate mg/ден day GRpL	10,4	6,3	19,2	9,5	14,7	8,1
mg/g/ден day RGR	50,0	33,0	122,0	85,0	107,0	78,0
RGR _l листа leaf mg/g/ден	29,8	24,2	68,7	37,5	53,7	28,9
RGR _{r.c.} кореноплод rootcrops mg/g/ден day	18,7	16,7	20,9	16,9	21,0	17,7
LAR cm ² /mg растение plant	11,4	13,5	6,5	7,0	6,0	6,8
SLA cm ² /mg листа leaf	25,6	26,5	22,6	25,0	23,0	25,0

фотоасимилатите се потвърждава и от данните, показващи, че при сорт Едри червени кореноплодът представлява 50% от свежата маса на цялото растение, а при сортовете Сакса и Селеста кореноплодът е съответно 70 и 72%.

Въз основа на биометричните параметри, представени в таблица 1, са определени и някои от основните показатели за анализ на растежа като скорост на растежа (GR), относителна скорост на растежа (RGR), относителна листна площ (LAR) и специфична листна площ (SLA).

Получените резултати (табл. 2) показват, че трите сорта репички се различават по-съществено по показателите на растежа GR и RGR на цяло растение. С най-ниски показатели са растенията от сорта Едри червени. Средно положение заема сортът Селеста с 40% и 50% по-високи стойности съответно за GR и RGR. Сортът Сакса е с най-голяма относителна скорост на растежа. Спрямо сорта Едри червени превишаването е със 140%, а спрямо Селеста - съответно с 15%. При отстраняване на семеделите относителната скорост на растежа намалява почти еднакво при трите сорта (с 30%).

При репичките масата на цялото растение се формира в най-голяма степен от биомасата на листата и кореноплода. Въз основа на извършените анализи може да се посочи, че по показателя RGR_l (относителна скорост на растежа на листата) включените в експеримента сортове се различават съществено. Най-високи стойности RGR_p има при сорта Сакса, а най-

малки - при сорта Едри червени. При отстраняване на котиледоните при сорта Едри червени RGR_p се инхибира с 20%, а при останалите два сорта - с близо 50%. Относителната скорост на растежа на кореноплода също е различна. Особеностите на този показател са идентични като за RGR_l. По отношение на показателя относителна листна площ (LAR) различията са най-значими при сорта Едри червени спрямо останалите. Този сорт има най-големи стойности на LAR, което показва, че натрупването на единица биомаса от растението става от голяма фотосинтезираща площ. При трите сорта LAR има по-ниски стойности при отстраняване на котиледоните. Данните в таблица 2 показват, че специфичната листна площ (SLA) не се различава съществено при включените в експеримента сортове репички.

Растежът е интегрален процес, който е функция от координацията на основните физиологични процеси, в т.ч. и формирането на фотосинтетичния апарат. Резултатите от проучването са представени в таблица 3.

Експерименталните данни в таблицата показват, че най-голяма обща листна площ имат растенията от сорта Едри червени. При сортовете Сакса и Селеста общата листна площ е с 30-35% по-малка, без значими различия между тях. Тъй като формирането на продуктивния орган (кореноплода) протича за кратък период от време, представлява интерес какъв е делът на котиледоните от общата фотосинтезираща площ на растенията.

Таблица 3. Фотосинтетичен апарат на сортове репички
Table 3. Photosynthetic apparatus of varieties **Radishes**

Сортове Cultivar	Обща листна площ Total leaf area (cm ²)	Площ на същински листа Area of true leaf (cm ²)	Площ на 1 същински лист Area of first cotyledons (cm ²)	Площ на котиледони Area of cotyledons (cm ²)	% на котиледон и от общата площ Cotyledons from total area
Едри червени Big red с котиледони with cotyledons без котиледони without cotyledons	51,0±3,7	42,7±2,6	10,7±1,90	8,3±0,3	6,3
	27,2±2,6**	27,2±2,6**	7,6±0,4*	-	-
Сакса Saksa с котиледони with cotyledons без котиледони without cotyledons	35,3±2,3	26,3±1,5	6,9±0,1	9,0±0,5	25,6
	23,5±2,2**	23,5±2,2	6,4±0,2	-	-
Селеста Selesta с котиледони with cotyledons без котиледони without cotyledons	33,3±1,7	25,2±1,3	6,4±0,2	8,1±0,3	24,3
	23,2±1,2**	23,2±1,2	6,1±0,3	-	-

Отстраняването на котиледоните забавя нарастването на фотосинтезиращата повърхност, тъй като те са донори на фотоасимилати и фитохормони за растенията. От таблицата е видно още, че различията в общата листа площ между Едри червени и останалите два сорта е изключително за сметка на площта на същинските листа, тъй като площта на котиледоните не се различава съществено. Площта на същинските листа от Едри червени е по-голяма средно с 60% спрямо Сакса и Селеста. Това се дължи на по-голямата площ на листната петура на всеки отделен лист.

Получените от нас резултати показват, че относителният дял на котиледоните от общата фотосинтезираща повърхност при трите сорта е

различен. При сортовете Сакса и Селеста котиледоните представляват около 25% от общата листа площ, а при сорта Едри червени дялът е много по-малък (16%). По-голямото участие на котиледоните в общата листа площ при двата сорта се дължи на по-бързото спиране на растежа на листната петура и на по-малките размери. Това означава още, че при сортовете Сакса и Селеста по-рано същинските листа задоволяват собствените си нужди от фотоасимилати и се превръщат в донори за растежа на кореноплода.

В таблица 4 са представени данни за продуктивността на фотосинтетичния апарат от изследваните сортове репички. Резултатите от експеримента показват, че най-голяма биологична



Таблица 4. Продуктивност на фотосинтетичния апарат
Table 4. Productivity of photosynthetic apparatus

Сорт Varieties	Биологична продуктивност Biological productivity		Стопанска продуктивност Economic productivity		% на of кореноплода rootcrops от mg FM кореноплод rootcrops cm ²
	mg FM/ cm ²	Относителен дял (%) на of котиledonите cotyledons	mg FM кореноплод rootcrops cm ²	(%) на of котиledonите cotyledons	
Едри червени Big red с котиledonи with cotyledons без котиledonи without cotyledons	81,9	10,0	40,3	35,3	49,3
	73,9	-	26,1	-	40,8
Сакса с котиledonи with cotyledons без котиledonи without cotyledons	154,7	7,0	124,8	18,9	70,1
	143,8	-	100,8	-	68,9
Селеста с котиledonи with cotyledons без котиledonи without cotyledons	165,8	3,5	120,8	12,1	72,8
	160,0	-	106,2	-	66,4

продуктивност има фотосинтетичният апарат на сорта Селеста, по-малка е тази на сорта Сакса и най-малка е на сорта Едри червени. Докато разликата между сортовете Селеста и Сакса е 7%, то намалението за сорта Едри червени е с 50%. Относителният дял на котиledonите в синтеза и натрупването на биологична маса в едно растение е най-голям при сорта Едри червени, а най-малък при сорта Селеста. От производствена гледна точка е важно каква част от фотоасимилатите се акумулира в кореноплода като продуктивни органи за репичките. Данните в таблицата показват, че показателят стопанска продуктивност има най-високи стойности при сортовете Сакса и Селеста, а

най-малки — при Едри червени. Относителният дял на котиledonите във формирането на кореноплода е най-голям при Едри червени и най-малък при Селеста. Съпоставяйки тези данни с представените в таблица 2, можем да направим извода, че по-голямата относителна скорост на растежа при сортовете Селеста и Сакса е причина листните им петури по-рано да функционират изключително като донори на фотоасимилати за растежа на кореноплода. Това становище се потвърждава и от данните за процента на кореноплода от свежата маса на цялото растение. При отстраняване на котиledonите биологичната и стопанската продуктивност намаляват в най-голяма степен при сорта Едри червени.

ИЗВОДИ

1. Относителната скорост на растежа в растенията (RGR) при сорта Едри червени е по-малка от тази при Сакса и Селеста. Между последните два съществени различия няма.
2. Фотосинтезиращата площ на котиледоните при трите сорта не се различава съществено. Общата площ на същинските листа е най-голяма при сорта Едри червени. При този сорт е най-голяма и площта на листната петура.
3. Стопанската продуктивност на фотосинтетичния апарат е най-голяма при сорта Сакса и най-малка при Едри червени. Стопанската продуктивност на фотосинтетичния апарат е най-голяма при сорта Сакса поради най-бързото превръщане на листата изключително в донори на фотоасимилати за растежа на кореноплода и най-малка при сорта Едри червени, защото листата нарастват дълго време.

ЛИТЕРАТУРА

- Андреев, А. 1990. Зеленчукопроизводство на тропика и субтропика. Земиздат, София, 127.
- Алипиева, М., В. Василева, 2001. Съвети по градинарство, Дионис, 278-282.

- Димова, Д., Е. Маринков, 1999. Опитно дело и биометрия. Акад. изд. на ВСИ - Пловдив, 131-149.
- Кошкин, Е. И., 2005. Частная физиология полевых культур. Колос, Москва, 284-285.
- Кружилин, А. С., З. М. Шведская, З. И. Журбицкий, 1971. Физиология полевых сельскохозяйственных растений, т. 12, 312-325.
- Керин, В., Ц. Цонев, М. Берова, А. Василев, З. Златев, 1997. Съвременни методи за анализ в растителната физиология. Акад. изд. на ВСИ - Пловдив.
- Чолаков, Д., 2001. Зеленчукопроизводство на тропика и субтропика. Акад. изд. на АУ - Пловдив, 279.
- Beadle, C. Growth analysis in: Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A Field and Laboratory Manual Eds: Hall, D. Scurlock, J., Bolhr-NordenkampfqH., Leegood, R., Longq S. pp-36-40, Capman § Hall, London.*
- Ramos, MLG, Gordon A.Y., Minchin F. R., Sprent, Y. I., Parsons R., 1999. Effect of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought Tolerant cultivar of common bean (Phaseolus vulgaris), Ann Bot. 83, 57-63.*

Статията е приета на 10.02.2009 г.
Рецензент - проф. дсн Славчо Панделиев
e-mail: pandeliev@abv.bg



ПРОГНОЗИРАНЕ НА ОПЛОДИТЕЛНАТА СПОСОБНОСТ НА МУСКУСНИ ПАТОЦИ ЧРЕЗ ВЪВЕЖДАНЕ НА ИНДЕКС ЗА КАЧЕСТВО НА СПЕРМАТА
INTRODUCING A SEMEN QUALITY INDEX FOR ASSESSMENT OF THE FERTILIZING ABILITY OF MUSCOVY DRAKES

Васко Герзилов
Vasko Gerzilov

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University – Plovdiv

E-mail: vasko@au-plovdiv.bg

Резюме

Индексът за качество на спермата (SQI), отнасящ се за спермални дози за изкуствено осеменяване с еднакъв обем (ml), се явява надежден критерий за прогнозиране на оплодителната способност на мускусните патоци. Представеният $SQI = N.M/100.(100-A)/100$ включва брой на сперматозоидите в спермалната доза (N), процент на подвижните сперматозоиди (M) и процент на нормалните живи сперматозоиди (100 – патологични сперматозоиди). Корелацията между SQI и оплодеността на яйцата за получаване на мюлари беше $r_p = 0,437$ ($p < 0,001$). Спермата се получаваше два пъти седмично от 6 мускусни патока чрез патица дразнител. Бяха получени и преценени общо по 10 еякулата от всеки паток по следните показатели: обем на еякулата, подвижност на сперматозоидите, концентрация, pH, дехидрогеназна активност, патологични и мъртви сперматозоиди. Осемняванията по групи се извършиха с индивидуална сперма, като бяха сформирани 6 групи с по 6 патици във всяка.

Abstract

The sperm quality index (SQI) available per equal volume of AI doses (mL), seems to be a promising predictor of the Muscovy semen fertilizing ability. The proposed $SQI = N.M/100.(100-A)/100$ includes the number of spermatozoa per an AI dose (N), the percentages of sperm motility (M) and percentages of live normal spermatozoa (100 – abnormal spermatozoa). The relationship between SQI and the fertility of mule eggs was $r_p = 0,437$ ($p < 0,001$). The semen was collected individually from 6 one-year-old Muscovy drakes by the teasing method two times per week. For individual evaluation semen was collected ten times in total from each male. In the fresh semen the following traits were estimated: ejaculate volume, sperm mobility, concentration, pH, methylene blue reduction test, abnormal and dead spermatozoa. Individual semen was inseminated into 6 Peking ducks in a group per treatment ($n = 6$ groups).

Ключови думи: мускусна патица, мюлари, оплоденост, индекс за качество на спермата.

Key words: Muscovy duck, Mule duck, fertility, semen quality index.

ВЪВЕДЕНИЕ

Високото ниво на селекционно-племенната работа, качеството на еякулатите, получавани от разплодниците, и непрекъснатото усъвършенстване на технологията за изкуствено осеменяване са в основата на успеха за повишаване на оплодеността на яйцата при птиците. Редица автори, работещи в областта на репродуктивната биология, установяват положителни корелации между отделни показатели на спермопродукцията и фертилитета (Белоречков и Средкова, 1990; Димитров, 1996; Wishart and Palmer, 1986; Froman et al., 1999, 2003; Parker and McDaniel, 2007). Според Dopoghue (1999) традиционните методи, използвани в птицевъдната селекция за преценка на разплодниците по отделни показатели на спермопродукцията, не са достатъчни за прогнозиране на оплодителната им

способност. На настоящия етап като подходящ метод за преценка на репродуктивния потенциал на мъжките птици и по-конкретно за прогнозиране на оплодителната им способност се използва индексът за качеството на спермата (SQI). Този индекс не е универсален – най-често в него се включват по-важните показатели на спермопродукцията като обем на еякулата, концентрация, подвижност, морфофункционално състояние и жизнеспособни сперматозоиди (Parker and McDaniel, 2002, 2004; Lukaszewicz and Kruszynski, 2003; Liu et al., 2008). При разреждане и in vitro съхранение на сперма някои автори включват времето за съхранение, както и биохимични показатели, отговорни за метаболизма и морфофункционалния им интегритет (Dumpala et al., 2006; Parker and McDaniel, 2006, 2007).

Целта на изследването беше да се проучи възможността за прогнозиране на оплодителната способност на мускусни патоци, участващи като бащина форма в схемата на междувидова хибридизация за получаване на мюлари чрез въвеждане на индекс за качество на спермата.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експерименталната работа по получаването и преценката на спермата, осеменяването на патиците и инкубацията на яйцата се извърши в птицефермата към катедра „Животновъдни науки“ в Аграрния университет в Пловдив през периода май – юни.

1. Получаване и преценка на спермата

Еякулатите се получаваха от 6 едногодишни мускусни патока (*Cairina moschata*) по модифицирана от нас (Герзилов, 2000) методика на Tap (1980) и Marzoni Fecia di Cossato et al. (1996) посредством спермоколектор при честота на полово натоварване два пъти седмично при редуващи се интервали 96 и 72 часа. По време на репродуктивния период мъжките птици се отглеждаха в индивидуални клетки.

Всеки еякулат се преценяше по методики, описани от Курбатов и др. (1987) и Bakst and Cecil (1997), по следните показатели:

- ▶ Обем на еякулата (ml) – чрез директно отчитане след снемане на градуираната епруветка от каучуковия маншон на спермоколектора с точност 0,05 ml.
- ▶ Подвижност на сперматозоидите (%) – чрез визуално определяне на сперматозоидите с настъпателни движения с микроскоп Nikon Alphaphot-2YS2 (увел. 10x40).
- ▶ Концентрация на сперматозоидите ($\times 10^6/\text{ml}$) - с броителната камера на Thoma.
- ▶ pH – ниво с pH-meter MS 2011 Microsyst.
- ▶ Обща дехидрогеназна активност (sec) – чрез отчитане на времето за обезцветяване на сперма, разрежена 1:1 с 0,01%-ов разтвор от метиленово синьо във физиологичен разтвор.
- ▶ Мъртви и патологични сперматозоиди (%) – чрез микроскопско наблюдение на оцветени с еозин/нигрозин натривки.

2. Изкуствено осеменяване

В схемата на междувидова хибридизация като майчина форма от вида *Anas platyrhynchos* беше използвана породата Пекинска патица. Сформирани бяха 6 групи с по 6 бр оя патици във всяка. След макро- и микроскопска преценка на еякулатите всяка група се осеменяваше със сперма от съответен мускусен паток (номерът на патока съответстваше на номера на групата

патици). Бяха извършени общо 10 осеменявания, като се използваше доза от 0,05 ml неразредена сперма, съхранена в продължение на около 60 min при стайна температура.

3. Статистическа обработка на резултатите

Показателите, характеризиращи спермопродукцията на патоците, бяха обработени вариационно-статистически. Коефициентът на фенотипна корелация между тях, както и индексът за качество на спермата, от една страна, и оплодеността на яйцата, от друга, бяха изчислени посредством отношението между ковариацията между показателите спрямо средните им квадратични отклонения (Желязков и Цветанова, 2002)

$$r_p = \frac{\text{COV}_{xy}}{S_x S_y}$$

където: $-1 \leq r_p \leq +1$

Беше извършен и регресионен анализ от вида $y = ax^2 + bx + c$,

където: y – оплодени яйца в % (функция);
 x – индекс за качество на спермата (аргумент);
 a, b, c – коефициенти.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

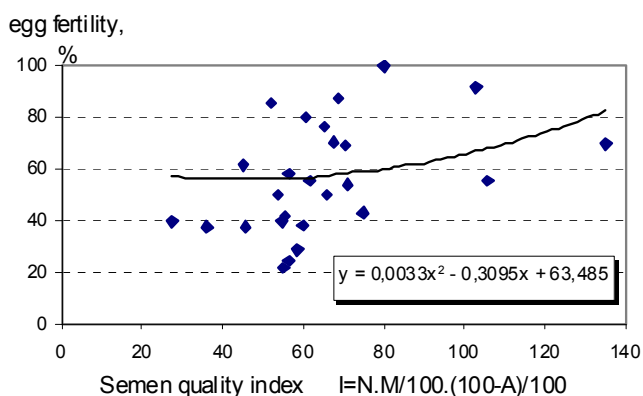
Резултатите, представени в таблица 1, показват, че има значително вариране в количествените и качествените показатели на еякулатите при различните индивиди. С най-нисък обем на еякулата е паток № 1, а с най-висок - паток № 4, като разликите са почти двойни. С доказано най-висока концентрация, но едновременно с най-ниска подвижност на сперматозоидите и с най-висок процент патологични и мъртви сперматозоиди, е паток № 3 спрямо всички останали индивиди ($p < 0,001$). По отношение на оплодеността на яйцата установихме, че тя невинаги кореспондира с високата подвижност или с по-високия брой аплицирани сперматозоиди в доза. Освен това в рамките на съответната група се наблюдава значително вариране на фертилитета. Подобни резултати на силно вариране при този вид хибридизация установяват и други автори (Chelmonska and Lukaszewicz, 1995; Pingel and Wagner, 1995). Склонни сме да приемем становището на Hailu et al. (1999), че цитогенетичните различия между родителските форми увеличават честотата на хромозомните аберации, които са основната причина за много ранната ембрионална смъртност. Тази смъртност трудно може да се отчете по време на първия биологичен преглед чрез овоскопиране и това е една от причините за констатирането на по-ниска оплоденост на яйцата. Неслучайно Sellier et al. (2005) установяват различия в процента на ранната ембрионална

Таблица 1. Характеристика на еякулатите и оплодотелната способност на мускусни патози
Table 1. Individual semen characteristic fertilizing ability of Muscovy drakes

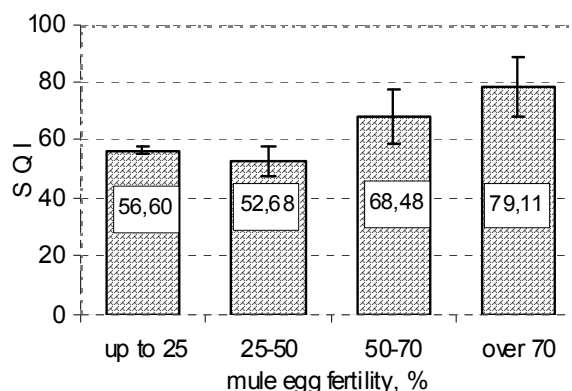
Показатели / Traits	Номер на мускусния паток / Number of Muscovy drakes					
	N 1	N 2	N 3	N 4	N 5	N 6
Характеристики на спермопродукцията / Semen characteristics						
Обем на еякулата Ejaculate volume (ml)	0,94±0,07 a ₁ , a ₂ , b ₁ , c ₁	1,19±0,06 a ₃ , b ₂ , c ₁	1,24±0,07 a ₄ , b ₁ , c ₂	1,73±0,06 a ₁ , a ₃ , a ₄ , a ₅ , b ₃	1,46±0,06 a ₂ , b ₂ , b ₃ , b ₄ , c ₂	1,01±0,06 a ₅ , b ₄
Подвижност на сперматозоидите Sperm motility (%)	81,56 ± 2,62 a ₁	78,20 ± 1,12 a ₂	56,50 ± 3,43 a ₁ , a ₂ , a ₃ , a ₄ , a ₅	81,00 ± 1,63 a ₃	81,25 ± 2,62 a ₄	81,25 ± 2,73 a ₅
Концентрация на сперматозоидите Number of spermatozoa per 1ml (x10 ⁶ /1ml)	1150 ± 103 a ₁ , a ₂ , b ₁ , c ₁	1895 ± 163 a ₃ , b ₁	3552 ± 300 a ₁ , a ₃ , a ₄ , a ₅ , a ₆	1962 ± 164 a ₂ , a ₄	1536 ± 101 a ₅ , c ₁	1530 ± 141 a ₆
pH	7,23 ± 0,06 a ₁ , a ₂ , b ₁	6,98 ± 0,06 b ₁	6,88 ± 0,06 a ₁	6,90 ± 0,06 a ₂	7,00 ± 0,11 a ₂	7,04 ± 0,06 a ₂
Обща дехидрогеназна активност Methylene blue reduction test (sec)	472 ± 64	405 ± 33	327 ± 26	367 ± 31	337 ± 26	464 ± 57
Мъртви сперматозоиди Dead spermatozoa (%)	7,56 ± 1,08 a ₁	10,11 ± 3,08 c ₁	19,33 ± 2,25 a ₁ , a ₂ , a ₃ , c ₁	7,63 ± 1,03 a ₂	7,57 ± 1,81 a ₃	8,17 ± 1,64 a ₃
Патологични сперматозоиди Abnormal spermatozoa (%)	8,80 ± 1,47 a ₁	10,17 ± 3,03 a ₂	31,29 ± 3,36 a ₁ , a ₂ , a ₃ , a ₄	9,00 ± 2,00 a ₃	15,80 ± 7,12 a ₃	12,00 ± 2,36 a ₄
Искусствено осеменяване / Artificial insemination						
Време на ИО след еякулацията Time of AI after ejaculation (min)	64,67 ± 2,85	65,89 ± 2,78	67,67 ± 3,03	69,22 ± 3,89	66,86 ± 3,72	75,70 ± 1,94
Брой сперматозоиди в доза за ИО Number of spermatozoa per an AI dose (x10 ⁶ /50 µL)	57,5 ± 5,19 a ₁ , a ₂ , b ₁ , c ₁	94,75 ± 8,13 a ₃ , b ₁	177,6 ± 14,98 a ₁ , a ₃ , a ₄ , a ₅	98,1 ± 8,19 a ₂ , a ₄ , a ₆	76,81 ± 5,03 a ₅ , a ₆ , c ₁	57,5 ± 5,19 a ₁ , a ₂ , b ₁ , c ₁
Оплоденост на яйцата/Egg fertility (%) min - max	51,40 28,57–81,82	68,03 41,67–100	50,47 22,22–76,97	68,57 44,44–91,67	55,39 25,00–100	61,86 33,33–80,00

Таблица 2. Фенотипни корелации между показатели на спермата и оплодеността на яйцата
Table 2. Phenotypic correlations (r_p) between different semen traits and fertility of mule eggs

Показатели Traits	n	r_p	t_d	Достоверност Significant
Брой на сперматозоидите в доза за ИО Number of spermatozoa per an AI dose, $\times 10^6/50 \mu\text{L}$	59	-0,029	0,221	n.s.
Подвижност на сперматозоидите Sperm motility, %	59	0,141	1,105	n.s.
pH	59	-0,206	1,649	n.s.
Обща дехидрогеназна активност Methylene blue reduction test, sec	49	-0,130	0,928	n.s.
Мъртви сперматозоиди Dead spermatozoa, %	43	-0,152	1,022	n.s.
Патологични сперматозоиди Abnormal spermatozoa, %	28	-0,196	1,047	n.s.
Индекс за качество на спермата Semen quality index (SQI)	28	0,437	4,413	$p < 0,001$



Фиг. 1. Направление на регресията между индекса за качество на спермата и оплодеността на яйцата
Fig. 1. Regression trend between semen quality index and egg fertility



Фиг. 2. Изменение на индекса за качество на спермата в зависимост от оплодеността на яйцата
Fig. 2. Variation of semen quality index according to fertility of mule eggs

смъртност при обикновеното овоскопиране на яйцата и при използване на стереоскопския метод.

Получените ниски стойности на фенотипни корелации между отделните показатели, характеризиращи спермопродукцията и оплодеността на яйцата, ни даде основание да въведем като комплексен показател индекса за качеството на спермата (SQI), който е по-надежден критерий за прогнозиране на фертилитета на мъжките разплодници, като се има предвид получената стойност на фенотипна корелация $r_p = 0,437$ (табл. 2).

Предложеният от нас индекс включва най-важните показатели на спермопродукцията

$$SQI = N \cdot \frac{M}{100} \cdot \frac{(100 - A)}{100},$$

където: N е броят на аплицираните сперматозоиди в една доза за изкуствено осеменяване;

M – подвижността на сперматозоидите в %;

A – патологичните сперматозоиди (abnormal spermatozoa) в %, където $(100 - A)$ ни дава нормалните живи сперматозоиди.



От предложената формула става ясно, че индексът е валиден в рамките на равни количества спермални дози, които се аплицират в половия апарат на птиците.

Регресията между индекса за качеството на спермата (SQI) и оплодеността на яйцата, получени при междувидовата хибридизация (♀ Пекинска х ♂ Мускусна), показва тенденция (тренд) на изменение във възходяща посока (фиг. 1). По-високият фертилитет е свързан с по-високи стойности на SQI като цяло. При ниска оплоденост на яйцата, получени при различните осеменявания на патиците, съответно до 25 % и от 25 до 50 %, SQI е почти еднакъв и най-нисък, докато при средно висока (50-70 %) и висока оплоденост (над 70%) той се повишава (фиг. 2).

ИЗВОДИ

Комплексният показател индекс за качеството на спермата (SQI), който включва брой на аплицираните сперматозоиди в една доза за изкуствено осеменяване, подвижност и нормални живи сперматозоиди, е надежден критерий за прогнозиране на репродуктивните способности на мускусните патоци, участващи в схемите на хибридизация като бащина форма по отношение на оплодеността на яйцата в сравнение с отделно взетите показатели на спермопродукцията им.

ЛИТЕРАТУРА

- Белоречков, Д. и В. Средкова, 1990. Характеристика на основни показатели на еякулата от петли и зависимостите помежду им и с оплодяемостта на яйцата при четири линии от хибридната комбинация РА-4. – Животновъдни науки 27 (6): 18-25.
- Герзилов, В., 2000. Метод за получаване на сперма от вида Мускусна патица (*Cairina moschata*). – Животновъдни науки, год. XXXVII, кн. 4, 56–63.
- Димитров, С., 1996. Използване на отделни показатели за преценка на съхранена семенна течност от пуяци за прогнозиране на оплодилната ѝ способност. – Животновъдни науки 33 (5): 60-63.
- Курбатов, А. Д., Л. Е. Нарубина, В. В. Богомолов, В. И. Бесулин, А. Д. Давтян, 1987. Искусственное осеменение птицы, М., ВО "Агропромиздат", с. 127.
- Желязков, Е. и Я. Цветанова, 2002. Ръководство за упражнения по генетика., Стара Загора, с. 220.
- Bakst, M. R. and H. C. Cecil, 1997. Technique for semen evaluation, semen storage, and fertility determination, PSA, Savoy, Illinois, p. 97.
- Chelmonska, B. and E. Lukaszewicz, 1995. Current state and future artificial insemination in waterfowl. – In: Proc. 10th Europ. Symp. on Waterfowl, Halle – Germany, pp. 225-240.
- Donoghue, A. M. 1999. Prospective approaches to avoid flock fertility problem: Predictive assessment of sperm function traits in poultry. – *Poult. Sci.* 78:437–443.
- Dumpala, P.R., H.M. Parker and C. D. McDaniel, 2006. The sperm quality index from fresh semen predicts chicken semen quality after storage. – *Int. J. Poult. Sci.*, 5(9): 850-855.
- Froman, D. P., A. J. Feltmann, M. L. Rhoads and J. D. Kirby. 1999. Sperm mobility: A primary determinant of fertility in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). – *Biol. Reprod.* 61:400–405.
- Froman, D. P., E. R. Bowling and J. L. Wilson. 2003. Sperm mobility phenotype not determined by sperm quality index. – *Poult. Sci.* 82:496–502.
- Gvariahu, G., B. Robinzon, A. Meltzer and N. Snapir (1984) Semen characteristics of the Muscovy drake (*Cairina moschata*) as affected by seasonal variation. – *Reprod. Nutr. Develop.*, 24 (4), 343-350.
- Hailu, C., H. Pingel and W. Saar, 1999. Investigation on frequency of chromosome aberrations (CA) in embryos of Pekin, Muskovies and Mule ducks. – In: Proc. 12th Europ. Symp. on Waterfowl, Adana, Turkey.
- Liu, S.J., JX Zheng and, N Yang, 2008. Semen quality factor as an indicator of fertilizing ability for geese. – *Poult. Sci.*, 87: 155-159.
- Lukaszewicz, E. and W. Kruszynski. 2003. Evaluation of fresh and frozen-thawed semen of individual ganders by assessment of spermatozoa motility and morphology. – *Theriogenology*, 59:1627–1640.
- Marzoni Fecia di Cossato, I. M. Bagliacca, G. Paci and C. Fedeli Avanzi (1996) Capacita fecondante dello sperma nell'anatra muschiata. – *Rivista di Avicoltura*, 12, pp. 34-40 (Ital.).
- Parker, H. M. and C. D. McDaniel, 2002. Selection of young broiler breeders for semen quality improves hatchability in an industry field trial – *J. Applied Poult. Sci.*, 11: 250-259.
- Parker, H. M. and C. D. McDaniel, 2004. The optimum semen dilution for the sperm quality index that is most predictive of broiler breeder fertility. – *Int. J. Poult. Sci.*, 3: 588-592.
- Parker, H. M. and C. D. McDaniel, 2006. The immediate impact of semen diluent and rate of dilution on the sperm quality index, ATP utilization, gas exchange and ionic balance of broiler breeder sperm. – *Poult. Sci.*, 85: 106-116.
- Parker, H. M. and C. D. McDaniel, 2007. Correlation of the sperm quality index with ATP utilization, gas exchange and ionic balance of broiler breeder semen. – *Int. J. Poult. Sci.*, 6(12): 928-932.

Pingel, H., and A. Wagner, 1995. Improvement of reproduction rate in production of Mulards. – In: Proc. 10th Europ. Symp. on Waterfowl, Halle - Germany, p. 257–264.

*Sellier, N., J. M. Brun, M. M. Richard, F. Batellier, V. Dupuy and J. P. Brillard, 2005. Comparison of fertility and embryo mortality following artificial insemination of common duck females (*Anas Platyrhynchos*) with semen from common or Muscovy (*Cairina Moschata*) drakes.– Theriogenology, 64: 429-439.*

Tan, N. S., 1980. The training of drakes for semen collection. – Ann. Zootech., 29 (2): 93-102.

Wishart, G. J. and F. H. Palmer, 1986. Correlation of the fertilizing ability of semen from individual male fowls with sperm motility and ATP content. – Br. Poult Sci, 27(1): 97-102.

**Статията е приета на 23.03.2009 г.
Рецензент - доц. д-р Димитър Греков
e-mail: grekov@au-plovdiv.bg**



**ПРОУЧВАНЕ НА ЛЮПИМОСТТА НА ФАЗАНЧЕТА В ЗАВИСИМОСТ ОТ СЪДЪРЖАНИЕТО НА ВИТАМИН „А” И
КАРОТИНОИДИ В ЯЙЧНИЯ ЖЪЛТЪК
HATCHABILITY OF PHEASANT CHICKS DEPENDING ON THE VITAMIN “A” AND CAROTENOID CONTENT IN THE EGG
YOLK**

**Христо Христов*, Васко Герзилов
Hristo Hristev, Vasko Gerzilov**

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University - Plovdiv

*E-mail: hrh.1234@abv.bg

Резюме

Целта на настоящото изследване беше да направим оценка доколко съдържащите се в яйчния жълтък на фазани (*Phasianus colchicus*) каротиноиди и витамин А оказват влияние върху тяхната люпимост. Птиците се отглеждаха във волиери 4 x 5 m при полово съотношение 1:5. Концентрацията на каротиноиди в жълтъка беше 32,2–49 UI/g през април, 245,7–272,5 - през май, и 164,2–178,3 UI/g - през юни. По същото време концентрацията на витамин А беше 164,2–178,3 UI/g през април, а през май и юни - 262,5–292 UI/g. Люпимостта на яйцата беше най-ниска в началото на репродуктивния период (април) – 57,54%, и най-висока в средата на месец май – 70,10%. Резултатите показват, че съдържанието на каротиноиди и витамин А в яйца от фазани не са от първостепенно значение за люпимостта по време на репродуктивния им период.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the influence of carotenoid and vitamin A content in the egg yolk on the hatchability in game pheasants (*Phasianus colchicus*). The birds were kept in 4 x 5 m aviaries at sex ratio 1:5. Carotenoid concentrations in the egg yolk were 32,2–49 UI/g in April, 245,7–272,5 UI/g in May and 164,2–178,3 UI/g in June, while vitamin A concentrations were 164,2–178,3 UI/g in April, 262,5–292 UI/g in May and June. The egg hatchability was the lowest at the beginning of the reproductive period (April) – 57,54%, and the highest in the middle of May – 70,10%. The results showed that vitamin A and carotenoid contents of the egg yolk were not of paramount importance for the egg hatchability during the reproductive period.

Ключови думи: фазан, люпимост, каротиноиди, витамин А.

Key words: pheasant, egg hatchability, carotenoids, vitamin A.

ВЪВЕДЕНИЕ

Животните получават витамин А главно чрез храната под формата на каротиноиди. За правилния му синтез и обмяна са необходими известни количества неутрални мазнини. Основни депа за натрупване на витамин А при птиците са черният дроб и жълтъкът на яйцето.

Отдавна е доказано, че витамините в храната на птиците влияят върху съдържанието им в яйцето, а оттам - и върху оплодеността и люпимостта, поради което те се нормират при приготвянето на рецепти за комбинирани фуражи. Проучванията върху оптималните нива на витамини не са еднозначни. Damgon et al. (1984) в опит с кокошки, без и със добавяне на три нива на α -каротен, не установяват доказани разлики в

носливостта, яйчното тегло, конверсията на фураж, в оплодеността и люпимостта на яйцата, но има увеличаване на съдържанието му в жълтъка и на неговата пигментация. Донякъде противоположно на тях Squires and Naber (1993) установяват, че носачките, хранени без добавка на витамин А, в сравнение с тези, на които са давани дву- и четирикратно по-високи нива във фуража, по-бързо понижават продуктивността и люпимостта си. Kerti and Bardos (1997) при опити с японски пъдпъдъци установяват, че съдържанието на витамин А и β -каротен се повишава в яйчния жълтък с увеличаването на нивата им в изхранвания фураж, което води и до повишаване на оплодеността и люпимостта на яйцата. Marzoni et al. (2000) при добавяне на 200 mg/kg α -токоферол в комбинирания

фураж за фазани установяват доказано ($p < 0,01$) висока оплоденост на яйцата. Nowaszewski and Kontecka (2005) при изпитване на добавен във фуража витамин С от 0, 100, 200 и 300 mg/kg установяват, че няма доказани разлики в оплодеността на яйцата в първите три групи, докато при добавянето на най-високите нива оплодеността доказано се понижава.

Целта на настоящото изследване беше да извършим мониторингово проучване върху люпимостта на яйца от фазани през размножителния им период в зависимост от съдържанието на каротиноиди и витамин А в жълтъка.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Извършено беше мониторингово изследване в ловно стопанство – фазанария край село Любен на територията на Пловдивска област. Фермата е населена от колхидски фазан (*Phasianus colchicus*). Клетките за фазани са с размери 4 x 5 m, покрити са с мрежа. Половото съотношение на птиците беше 1:5. Яйцата се снасяха направо на земята върху пясъка. До момента на люпенето яйцата се събираха и съхраняваха в складово помещение с температура 15-22° C, а преди зареждането им в инкубатора се подлагаха на фумигация. Самото излюпване се извършваше в инкубатори тип „Victoria”. Контролни прегледи на яйцата се извършваха на 7-ия и на 14-ия ден от залагането им. Всички яйца, получени през размножителния период и отговарящи на изискванията за люпене, се включваха в партиди, които се зареждаха в инкубаторите през 7 дни.

Съдържанието на каротиноиди и на витамин А в жълтъка определихме по метода на Kagg-Price (Начев и др., 1963).

Храненето на птиците през целия период беше на воля с готов комбиниран фураж за фазани, съдържащ 89,60% сухо вещество, 21,60% суров протеин, 4,00% сурови влакнини, 2,45% калций, 0,70% фосфор, 0,35% хлориди и 7800 UI/kg витамин А.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Известно е, че размножаването на фазана проявява определена сезонност – от началото на месец април до края на месец май или средата на месец юни. Според Kim et Yang (2001) оплодеността на яйцата силно се повлиява от нивото на тестестерон у мъжките индивиди. Неговата концентрация започва да нараства от края на месец февруари и началото на март, за да достигне своя максимум през месец април. Ниските си нива достига в края на месец юни и началото на юли, когато и процентът на оплодените яйца рязко пада.

От таблица 1 се вижда, че в началото на размножителния период броят на снесените яйца е по-малък, но относителният дял на отпадналите при първия биологичен преглед е най-висок и това се дължи

най-вече на неоплодените, поради което и люпимостта е по-ниска. Най-висока носливост, оплоденост и люпимост на яйцата се наблюдава през месец май.

В някои изследвания люпимостта на яйцата се свързва със съдържанието на каротиноиди, витамин А и витамин Е в жълтъка им (Балев, 1963 и 1966). Други автори установяват, че по-високото им ниво в жълтъка не е причина за повишаване на оплодеността и люпимостта на яйцата (Damron et al., 1984; Karadas et al., 2005), още повече, че усвояването на каротина е от 30 до 60%, а на витамин А - от 80 до 100% (Привало, 1983).

Данните от нашите изследвания показват (табл. 2), че в началото на репродуктивния период нивото на каротиноидите и на витамин А в жълтъка е ниско. През най-активната част на размножителния период - месец май, нивото на каротиноидите достига своя пик, като нивата на витамин А се запазват, за да достигнат през месец юни най-високите си стойности, когато каротиноидите отново намаляват. Люпимостта на яйцата не се повлиява съществено от промяната на каротиноидите и витамин А, а остава в граници, характерни за вида и потвърдени от изследванията на редица автори (Захлуп и Григоров, 2006; Jakovac and Mrsic, 1989; Ledvinka and Mandak, 1990; Marzoni et al., 2000). Натрупването на каротиноиди и витамин А в жълтъка според Привало и др. (1983) е обратнопропорционално на броя на снесените яйца. Според Четкин и др. (1982) това натрупване, както и предпазването им от окисляване, косвено се влияе от съдържанието на витамин Е. Подобно на нас Ascarelli и Senger (1962) не откриват зависимост между нивото на каротиноидите и витамин А, от една страна, и люпимостта на яйцата, от друга. Поради това ние сме склонни да допуснем, че нивата на каротин и витамин А в жълтъка, гарантиращи нормалната люпимост на яйцата от фазани, са ниски, но все пак достатъчни за развитието на зародиша. Подобно становище застъпва и Балев (1963), който много преди нас установява различно съдържание на каротин и витамин А в жълтъка на яйца от кокошки носачки през отделните месеци на годината, независимо че количеството им в дажбата и компонентния ѝ състав са оставали непроменени. Приемаме, че люпимостта на яйцата се подчинява на определена биологична закономерност, която е във връзка с половата активност на птиците, в резултат на което и нивото на каротина и на витамин А в жълтъка търпи промяна.

ИЗВОДИ

Средната люпимост на яйцата от фазани е 66,19 % с вариране от 57,54 % в началото на април до 70,10 % в средата на май. Резултатите показват, че съдържанието на каротиноиди и витамин А в яйцата от фазани не са от първостепенно значение за люпимостта по време на репродуктивния им период.

Таблица 1. Инкубация на фазанови яйца
Table 1. Incubation of pheasant eggs

Партида Batch	Дата Date	Заре- дени яйца Egg set	Отстранени яйца / Discarded eggs						Всичко отпад- нали All dis- carded	Излюпени фазанчета Hatching chicks	
			I ^{ви} преглед I st candling (7 ^{ми} ден/ day)		II ^{ри} преглед II nd candling (14 ^{ти} ден/day)		При люпене At hatching			n	%
			n	%	n	%	n	%			
1	07.04.	2 772	642	23,16	68	2,45	463	16,70	1 173	1599	57,54
2	14.04.	7 392	1548	20,94	113	1,53	1171	15,84	2 832	4560	61,69
3	21.04.	11 088	1929	17,40	193	1,74	1741	15,70	3 863	7225	65,16
4	28.04.	12 936	2041	15,78	218	1,68	2007	15,51	4 266	8670	67,02
5	05.05.	12 936	1953	15,10	208	1,61	1785	13,80	3 946	8990	69,50
6	12.05.	12 936	1979	15,30	221	1,71	1668	12,89	3 868	9068	70,10
7	19.05.	12 012	1898	15,80	188	1,57	1863	15,51	3 949	8063	67,12
8	26.05.	12 012	2069	17,22	222	1,85	1971	16,41	4 265	7147	59,50
9	01.06.	11 088	1898	17,12	215	1,94	1633	14,72	3 746	7342	66,22
10	06.06.	9 240	1774	19,20	164	1,77	1460	15,80	3 398	5842	63,23
Всичко		104412	17731	16,98	1810	1,73	15765	15,10	35 306	69106	66,19

Таблица 2. Съдържание на каротин и витамин „А“ в жълтъка на яйцата и люпимост
Table 2. Vitamin „A“ and carotene yolk egg contents and hatching

Месец/ Month	Каротини / Carotenoids UI/g	Витамин А / Vitamin A UI/g	Люпимост / Hatching %
Април / April	32,2-49	164,2-178,3	57,54-67,02
Май / May	245,7-272,5	262,5-292	59,50-70,10
Юни / June	164,2-178,3	262,5-292	63,23-66,22

ЛИТЕРАТУРА

Балев, П., 1966. Върху зависимостта между протеина в дажбите и витамин А в яйчния жълтък. – Ветеринарномедицински науки, 4, 373-377.

Балев, П., 1963. Върху съдържанието на витамин А и витамин Е и люпимостта на яйцата от птицеферми в Старозагорски окръг. – В: Известия на Ветеринарния научно-изследователски институт по незаразни болести и зоохигиена, БАН, том III, 51-53.

Захлул, А., И. Григоров, 2006. Проучване върху яйценосливостта и люпимостта на яйца от фазани, яребици и кеклици. – В: Международна научна конференция, Ст. Загора, том 2, Ветеринарна медицина и животновъдство, 225-230.

Начев, Б., Св. Ников, Хр. Лалов, 1963. Клинично-лабораторна диагностика във ветеринарната медицина. Земиздат, С., 76-82.

Привало, О. Е., С. М. Паенок, Я. С. Гусак, 1983. Витамини в кармлении сельскохозяйственных животных, Урожай, Киев, с. 160.

Чечеткин, А. В., И. Д. Головацкий, П. А. Калиман, В. И. Воронянский, 1982. Биохимия животных, Высшая школа, Москва, с. 511.

Ascarelli, I., M. Senger, 1962. – J. Sci. Food and Agriculture, N 6, p. 322-338.

Damron, B.L., SR. Goodson, R.H Harms, D.M. Janky and H.R. Wilson, 1984. Beta-carotene supplementation of laying hen diets. – Br. Poult. Sci., 25 (3): 349-52.

Jakovac, M. and Z. Mrcic, 1989. Reprodukcijski potencijal proronih i umjetnih uzgoja fazana (Phasianus colchicus). – Zbornik Biotehniske Fakultete Univerze Edvarda Kardelja v Ljubljani, Veterinarstvo; 26 (1), 89-92.

Karadas, F., N. Wood, P. Surai and N. Sparks, 2005. Tissue-specific distribution of carotenoids and vitamin E in tissues of newly hatched chicks from various avian species. – Comp. Bioch. & Physiol. Part A: Molecular & Integrative Physiology, 140(4): 506-511.

Kerti, A. and L. Bardos, 1997. Effect of different amount of vitamin A equivalent β -carotene on the hatchability of Japanese quail eggs (Kulonbozo merteku A-vitamin ekvivalens β -karotine kiegeszites hatasa a japanfurj tojasok kel tethetosegere). – Allattenyeztes es Takarmanyozas, 46(5): 515-524 (Hungary).

Kim, I. S., N. N. Yang, 2001. Seasonal changes of testicular weight, sperm production, serum testosterone, and in

vitro testosterone release in korean ring-necked pheasants (*Phasianus colchicus karpowi*). – Journal of Veterinary Medical Science, Japan, Feb., vol. 63(2), p.151-156.

Ledvinka, Z. and K. Mandak, 1990. Studium vybranych reprodukcnich ukazatelu bazantich slepic v systemu umeleho chovu. – Sbornik Vysoke Skoly Zemedelske v Praze, Fakulta Agronomicka, Rada B, Zivocisna Vyroba, 52: 233-238.

Marzoni, M., S. Zanobini, V. T. Guerzilov, I. Romboli, 2000. Effect of dietary Vitamin E supplementation on fertilizing ability of pheasant semen following artificial insemination. – Br. Poult. Sci., vol. 41(supplementum), s.18-20 (a transaction of International Conference on Bird Reproduction, 22-24 Sept. 1999, Tours, France).

Nowaszewski, S. and H. Kontecka, 2005. Effect of dietary vitamin C supplementum on reproductive performs of aviary pheasants. – Czech. J. Anim. Sci., 50 (5): 208-212.

Squires, M. N. and E. C. Naber, 1993. Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: vitamin A study. – Poult Sci., 72 (1): 154-64.

**Статията е приета на 23.03.2009 г.
Рецензент - доц. д-р Димитър Греков
e-mail: grekov@au-plovdiv.bg**



УКАЗАНИЯ КЪМ АВТОРИТЕ

Оригиналните научни статии в списание **Аграрни науки (Agricultural Sciences)** задължително трябва да съдържат резюме, въведение, материал и методи, резултати, обсъждане, изводи и литература.

Резюме – на български и на английски, трябва да отразява в максимално сбита форма (до 15 реда или 200 думи) целта на изследване, експерименталните материали и методи, основните резултати и изводите.

Ключови думи – до 5, на български и на английски.

Въведение - обосновава необходимостта от проведените изследвания на фона на най-съвременните литературни данни по дадения проблем, формулират се работната хипотеза и поставените цели.

Ясно и точно се описват или цитират използваните **материали и методи**.

В раздела **резултати** се представят оригиналните резултати от проучването, които представляват значителен принос в развитието на науката. Избягва се подробното описание на първични и статистически необработени данни.

Обзорните статии трябва да разглеждат актуални и научнозначими проблеми в различни научни направления и да съдържат изчерпателен и задълбочен анализ на нашите и световните постижения в конкретната област.

В **кратките съобщения** (до 3-4 страници, включително с таблиците и с фигурите) се докладват оригинални резултати за създадени нови сортове, нови технологии или нови растителни форми и методи.

Техническо оформление

1. Ръкописите се представят в редакцията в два напълно окомплектовани екземпляра и на диск, написани на стандартни страници формат А4, с margins 2,4 cm (1 инч) отгоре, отдолу и отстрани, на *Ariel*, **size 10**, придружени с протокол от заседание на първичното научно звено, на което е приета статията. Материалите трябва да бъдат написани на MS Word for Windows, а фигурите като растрерни изображения във формат *.TIFF, *.JPG (с подходяща за печат разделителна способност).

2. Езиковото и стилово оформление на материалите е задължение и отговорност на самите автори.

3. Титулната (заглавната) страница на статията трябва да включва следното:

- **заглавието** на статията (на български и на английски) да бъде написано кратко, точно, без съкращения и да съдържа наименованието на обектите на изследване (болд, главни букви); да се избягват съкращения, химични формули, символи и запазени марки;

- под него се изписват изцяло **името и фамилията** на авторите (на български и на английски, (болд, редовни букви);

- наименованието на **институцията**, в която работят (на български и на английски);

- при колективни статии със звездичка се посочва **авторът**, с който редакцията ще кореспондира и неговият e-mail адрес.

4. Заглавията на разделите са написани с главни букви, болд.

5. Таблиците се представят на отделни файлове. Заглавията на таблиците и текстовата част в тях се изписват на български и на английски език.

6. Илюстрациите се оформят на отделни файлове и трябва да бъдат изработени с достатъчно високо качество и вид, който позволява тяхното директно използване за печат. Частите на съставните фигури се означават с малки латински букви (a, в, с ...). Заглавията на фигурите се изписват на български и на английски език.

7. Използва се Международната система от измерителни единици SI. При изписване на дробни се използва десетичната запетая, а не точка.

8. При **цитиране вътре в текста** се ползва стандартът име - година. Ако за дадена теза се привеждат няколко цитата, те се подреждат в хронологичен ред. Цитирането на авторите да става с името на автора (без инициал за първото име) и годината. Например „...според Ранков (1980)...“; „Това е в съгласие с установеното от други автори (Петров, 1990), (Wayland and Rieger, 1991)“. При цитиране на отделни страници от книга това се посочва в текста на статията. Например „...Според Kramer et al. (1993 pp. 725-736)“.

9. В списъка на **ползваната литература** се включват всички автори и заглавия, за които в текста има отправки. Първо авторите на кирилица, след това на латиница и др. Ако са цитирани няколко труда на един и същи автор/автори от една и съща година, добавяме буквени означения: 1995 а, 1995 б и т.н. Посочените в списъка на литературата списания, книги, сборници и др. трябва да имат пълно библиографско описание.

При позоваване на лично съобщение името на автора не се вписва в списъка на литературата, а това се отбелязва в текста след цитирането му по следния начин: (Brown, Y. M. Personal communication, 2002). В този случай се посочват инициалите на името в текста.

10. Ръкописите, които не отговарят на поставените от Редакцията изисквания, се връщат на авторите за преработване.

11. Окончателното решение за публикуване на представените ръкописи се взема от Редакцията въз основа на становището на определен от нея рецензент.

12. Списанието не приема материали, които изцяло или частично са публикувани или са под печат в други издания.

13. При неспазване на посочените условия редакцията не дава ход на материалите, не връща ръкописи и не носи отговорност за непотърсени до **6** месеца статии.

