Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (4), 62-73
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Съдържание на мастни киселини и състав на мляко от крави отглеждани в подобрени субалпийски тревостои

Андреea Андреоиу[1]*, Ерсилиа Алекса[2], Теодор Марушка[1], Адриан Блаж[1], Михаи Костеску[1]

[1]Научно-изследователски институт по пасищата, 500128 Брашов, Румъния
[2] Банатски университет за селскостопански науки и ветеринарна медицина, 300645 Тимишоара, Румъния
** E-mail: andreea.ciopata@yahoo.com*

Fatty Acids Profile and Cow's Milk Composition Obtained on Improved Subalpine Grasslands

Andreea Andreoiu[1]*, Ersilia Alexa[2], Teodor Marușca[1], Adrian Blaj[1], Mihai Costescu[1]

[1]Research-Development Institute for Grasslands, 500128 Brasov, Romania
[2]Banat's University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, 300645 Timisoara, Romania
**E-mail: andreea.ciopata@yahoo.com*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Поради богатството и разнообразието на растенията в тревната покривка, планинската зона предлага ценни възможности чрез естествените тре=востои, които се използват за паша от говедата, осигурявайки качествена храна. Целта на настоящото проучване е да изследва съдържанието на мастни киселини и състава на мляко, получено от крави, пасящи върху пет подобрени тревостои: вариант А – торене; В – торене последвано от ограждане; С – варуване, торене, последвано от ограждане, D – подсяване, варуване, химическо торене и ограждане; и Т – деградирало пасище с *Nardus stricta* (контролен парцел) разположени на 1800 м н. в. в планината Блана Бучеги. Определени са физико-

SUMMARY

Due to the richness and diversity of plants in the grass carpet, the mountain area offers a valuable potential of natural grasslands that are exploited by cattle through grazing, providing quality food.

The aim of this study was to evaluate the fatty acids content and composition of milk obtained from cows that grazed on five grasslands improved by: A – chemical fertilization; B – chemical fertilization followed by paddocking; C – liming, chemical fertilization and paddocking, D – reseeding, liming, chemical fertilization and paddocking, and T – degraded pasture by *Nardus stricta* (control plot), located at 1800 m altitude in Blana Bucegi Mountains. The physico-chemical parameters and fatty acids profile of the химичните параметри и профилът на мастните киселини на мляко, изследвано в началото на лятото, през първата паша Млякото, произведено от животни, използващи планинските пасища, е обогатено с мазнини и микрокомпоненти, които са полезни за човешкото здраве (мастни киселини, витамини и т.н.). При анализа на състава на мастните киселини в млякото изпъква лауриновата киселина C12:0 с високи концентрации (6.14-7.74%), присъстващи във всички анализирани проби. От особено значение са ненаситените мастни киселини като палмитоленова киселина C16:1 и линолова киселина C18:2, които са в по-висока концентрация в подобрените парцели в сравнение с контролния парцел. Във флористичния състав на подобрените варианти преобладават *Festuca nigrescens*, *Agrostis capillaris* и *Poa pratensis*, които постепенно заместват *Nardus stricta* от контролния парцел.

Ключови думи: субалпийски тревостои, пасища, краве мляко, мастни киселини, флорален състав

milk analyzed in early summer, during the first part of grazing, were determined.

The milk produced by animals using the mountain pastures is enriched in fats and microcomponents, which are beneficial for human health (fatty acids, vitamins etc.).

From the analysis of the fatty acids composition in milk, the lauric acid C12:0 is highlighted, with high concentrations (6.14-7.74%), present in all the analyzed samples. Of particular importance are the unsaturated fatty acids, such as palmitoleic acid C16:1 and linoleic acid C18:2, which are in a higher concentration in the improved plots compared to the control plot. The floristic composition of the improved variants highlights the dominance of the *Festuca nigrescens*, *Agrostis capillaris* and *Poa pratensis*, which have gradually replaced *Nardus stricta* from the control plot.

Key words: subalpine grasslands, grazing, cow's milk, fatty acids, floral composition

УВОД

Поради богатството и разнообразието на растенията в тревната покривка, планинската зона предлага ценни възможности чрез естествените тревостои, които се използват за паша от говедата, осигурявайки качествена храна.

Romanzin et al. (2013), в изследване на характеристиката на мастните киселини на мляко от крави, които пасат върху планински тревостои или се хранят със сено, посочват че пресния фураж покачва нивото на полиненаситените и мононенаситените мастни киселини.

Неконтролируеми фактори, като например характеристики на животните и физическата им активност, управление на пашата, фенологична фаза на тревите, могат да повлияят върху състава на мастните киселини чрез промяна в избора на растителна храна на

INTRODUCTION

The mountain area offers a valuable potential of natural grasslands that are exploited by the cattle through grazing, providing quality food, due to the richness and diversity of plants in the grass carpet.

Romanzin et al. (2013), comparing the profile of fatty acids obtained from cow's milk, which grazed on mountain grasslands or fed a hay-based diet, showed that fresh feed increased the level of both polyunsaturated and monounsaturated fatty acids.

Uncontrolled factors such as animal characteristics and physical activity, grazing management, and grass phenological stage may affect milk fatty acids profile through changes in animal herbage selection (Coppa et al., 2009).

животните (Coppa et al., 2009). Млякото, произведено от животни, използващи планинските пасища, е обогатено с мазнини и микрокомпоненти, които са полезни за човешкото здраве (мастни киселини, витамини).

Мляко от крави, които пасат или са хранени със свеж фураж, особено от тревостои богати на видове или бобови треви, има значително по-високо съотношение на ненаситени спрямо наситени мастни киселини и по-високо съдържание на хранителни вещества (Kalac and Samkova, 2010).

Кравето мляко съдържа главно наситени мастни киселини, тъй като бактериите в търбуха чрез процеси на хидрогениране предотвратяват образуването на по-голям процент ненаситени мастни киселини (Georgescu, 2000).

Концентрацията на мастни киселини се влияе от фактори като: хранене на животните, период на паша, генетични параметри (влияние на породата), индивидуалност на животните, лактация и млечен добив (Hanuš et al., 2018).

Целта на настоящето проучване е да проучи съдържанието на мастни киселини и състава на млякото крави, пасящи върху пет тревостои, третирани по пет различни начини.

The milk produced by animals using the mountain pastures is enriched in fats and microcomponents, which are beneficial for human health (fatty acids, vitamins).

Milk from cows grazed or fed fresh forage, especially from species-rich grasslands or forage legumes, has a considerably higher ratio of unsaturated to saturated fatty acids and a higher content of nutritionally beneficial (Kalac and Samkova, 2010).

Cow's milk mainly contains saturated fatty acids, because the bacteria in rumen through hydrogenation processes prevent the formation of a higher proportion of unsaturated fatty acids (Georgescu, 2000).

Fatty acid concentration is influenced by factors such as: animal nutrition, grazing period, genetic parameters (breed influence), animal individuality, lactation and milk yield (Hanuš et al., 2018).

The aim of this study was to evaluate the fatty acids content and composition of milk obtained from cows that grazed on five differently treated grasslands.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията са проведени през 2019 година, в началото на лятото, в първата част на пашата, на 1800 м надморска височина в планината Блана Бучеги

Изследването използва крави от порода *Brown of Maramures* (Schwyz), адаптирани към най-суровите планински условия, със средна млечност (12-14 l/глава с 3,5% мазнини). За всеки парцел, взет в проучването, са разпределени 3 крави, които пасяха под открито небе, без подслон, които се хранят само с трева от парцела, сол и вода (Marușca et al., 2016).

MATERIAL AND METHODS

The researches were conducted in 2019 year, in early summer, in the first part of the grazing, at 1800 m altitude in Blana Bucegi Mountains.

The study used cows from the *Brown of Maramures* (Schwyz) breed adapted to the harshest mountain conditions, with average production milk (12-14 l/head). For each plot taken in the study were distributed 3 cows, which grazed under the open sky, without shelter, these feeding only with grass from the plot, salt and water (Marușca et al., 2016).

Петте експериментални парцела A, B, C, D и T са обработвани по различен начин, както следва:

1. Парцел (група) A: Естествен тревостой (*Nardus stricta* доминиращ вид), наторен с химически торове, както следва: 200 kg/ha N + 100 kg/ha P_2O_5 +100 kg/ha K_2O през 2000 г.; 150 kg/ha N + 75 kg/ha P_2O_5 +75 kg/ha K_2O през 2001 г.; 100 kg/ha N + 50 kg/ha P_2O_5 + 50 kg/ha K_2O през 2002 г .; 150 kg/ha N + 100 kg/ha P_2O_5 + 100 kg/ha K_2O през 2010 г .; 100 kg/haN през 2011 г .; 50 kg/ha N през 2012 г.; 150 kg/ha N + 100 kg/ha $_2O_5$ + 100 kg/ha K_2O през 2014 г.; 100 kg/ha N през 2015 г.; 50 kg/ha N през 2016 г.

2. Парцел (група) B: Естествен тревостой (*Nardus stricta* доминиращ вид), химическо торене в периода: 1996-1998 г. с норма 150 kg/ha N + 75 kg/ha P_2O_5 +75 kg/ha K_2O, след това са лагерували млечни крави на паша през 2004, 2010 и 2016; Преди или непосредствено след пашата е торен със суперфосфат в доза 100 kg/ha P_2O_5.

3. Парцел (група) C: Естествен тревостой (*Nardus stricta* доминиращ вид), варовик на 2/3 от Ah през 1995 г., химически оплодена в периода 1996-1998 г. с доза 150 kg/ha N + 75 kg/da P_2O_5 +75 kg/da K_2O, след което са лагерували млечни крави за паша през 2003, 2009 и 2015 година.

4. Парцел (група) D: Пасище посято със семена и варувано през 1995 г., торено с химическа тор NPK между 1996-1998 г., , идентично на парцели B и C, след което са лагерувалимлечни крави за паша през 2002, 2008 и 2014 година.

За сеитбата е използвана смес от многогодишни треви и фуражни бобови култури, състояща се от: *Phleum pratense* със сорт Favorit (40%), *Festuca pratensis* с Transilvan (25%), *Lolium perenne* с Marta (5%), *Trifolium hybridum* - местна популация на сорт Brasov (15%), *Lotus cornicuvadaus* сорт Livada (15%).

The 5 experimental plots A, B, C, D, and T were treated differently, as follows:

1. Plot (Group) A: Natural grassland (*Nardus stricta* dominant species) fertilized with chemical fertilizers, as follows: 200 kg/ha N + 100 kg/ha P_2O_5 +100 kg/ha K_2O in the year 2000; 150 kg/ha N + 75 kg/ha P_2O_5 +75 kg/ha K_2O in the year 2001; 100 kg/ha N + 50 kg/ha P_2O_5 + 50 kg/ha K_2O in the year 2002; 150 kg/ha N + 100 kg/ha P_2O_5 + 100 kg/ha K_2O in the year 2010; 100 kg/ha N in the year 2011; 50 kg/ha N in the year 2012; 150 kg/ha N + 100 kg/ha P_2O_5 + 100 kg/ha K_2O in the year 2014; 100 kg/ha N in the year 2015; 50 kg/ha N in the year 2016.

2. Plot (Group) B: Natural grassland (*Nardus stricta* dominant species) chemically fertilized in the period: 1996-1998 with a rate of 150 kg/ha N + 75 kg/ha P_2O_5 +75 kg/ha K_2O, then paddocked with dairy cows in the years 2004, 2010 and 2016; Before or immediately after paddocking, chemically fertilized by superphosphate at a dose of 100 kg/ha P_2O_5.

3. Plot (Group) C: Natural grassland (*Nardus stricta* dominant species), limed on 2/3 of Ah in 1995, chemically fertilized in the period 1996-1998 with a dose of 150 kg/ha N + 75 kg/ha P_2O_5 +75 kg/ha K_2O, then paddocked with dairy cows in the years 2003, 2009 and 2015.

4. Plot (Group) D: Seeded and limed pasture in 1995 year, chemically fertilized with NPK between 1996-1998 years, identical to plots B and C, and paddocked with dairy cows in the years 2002, 2008 and 2014.

For sowing it has been used a mixture of perennial grasses and forage legumes consisting of: *Phleum pratense* Favorit variety (40%), *Festuca pratensis* Transilvan (25%), *Lolium perenne* Marta (5%), *Trifolium hybridum* - local population of Brasov (15 %), *Lotus corniculatus* Livada variety (15%).

5. Парцел (група) Т: Естествен трвостой (*Nardus stricta* доминиращ вид), 30 години рационално използване, разположен в рамките на експерименталното поле на Изследователска планинска база в Бучеги.

Всеки парцел има 0,75 ha площ.

Определят се физико-химичните параметри (мазнини, протеин, лактоза, сух безмаслен остатък, гъстота и pH) на млечни проби, получени през първата и трета седмица на юни, в началото на паша. Анализирани са средните млечни проби за всяка група чрез анализатор Ekomilk Total Bulteh 2000. От хомогенизираните млечни проби е определен профила на мастните киселини. Метиловите естери на мастните киселини са анализирани чрез газова хроматография с масспектрометрия чрез оборудване Shimadzu GC MS – QP 2010 PLUS.

Програма MSTATC е използвана за статистическата обработка на експерименталните данни. Вариационният анализ е изследван чрез стандартни техники, а разликите между средните стойности са сравнени чрез тест на Дънкан при ниво на значимост от α = 5%.

5. Plot (Group) T: Natural grassland (*Nardus stricta* dominant species), 30 years rationally used, located within the experimental field of the Mountain Grassland Research Base from Bucegi.

Each plot has 0.75 ha area.

The physico-chemical parameters (fat, protein, lactose, solids nonfat (SNF), density and pH) of the milk samples, collected in the first and third week of June, at the beginning of grazing period were determined. The average milk samples for each group using the Ekomilk Total Bulteh 2000 analyzer were analyzed. From the homogenized milk samples, were made determinations for the fatty acids profile. The methyl esters of fatty acids were analyzed by Gas Chromatography with Mass Spectrometry using a Shimadzu GC MS – QP 2010 PLUS equipment.

The MSTATC program was used for the statisc processing of the experimental data. Analysis of variance was performed using standard techniques and differences between the mean values were compared through Duncan’s test at significance level α = 5%.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите по отношение на физико-химичните параметри на анализираните проби от краве мляко са представени в Таблица 1.

RESULTS AND DISCUSSION

The results regarding the physico-chemical parameters of analyze cow’s milk samples are presented in Table 1.

Таблица 1. Физико-химични характеристики на краве мляко
Table 1. The physico-chemical parameters of cow’s milk

Групи крави Group of cows	Мазнини Fat %	Протеини Protein %	Лактоза Lactose %	SNF* %	Плътност Density kg/m^3	pH
Group A	3,67^{b}	3,51^{b}	4,86^{bc}	8,67^{b}	1,0310	6,47^{a}
Group B	3,52^{c}	3,42^{c}	4,82^{cd}	8,60^{b}	1,0305	6,38^{c}
Group C	3,68^{b}	3,49^{bc}	4,88^{ab}	8,73^{b}	1,0299	6,43^{b}
Group D	3,82^{a}	3,68^{a}	4,92^{a}	8,97^{a}	1,0299	6,46^{b}
Group T	3,40^{d}	3,41^{c}	4,77^{d}	8,61^{b}	1,0298	6,39^{c}
DL 5%	0,10%	0,08%	0,059%	0,157%	-	0,03%

$^{a\text{-}d}$ стойностите с различни индексни букви се различават при DL 5% (DL – различна граница)
$^{a\text{-}d}$ value with different subscript letters differ at DL 5% (DL – different limit)
***** SNF – сух безмаслен остатък / solid non fat

От гледна точка на физико-химичните параметри, млечните проби се различават при различните групи. Сухият безмаслен остатък в млечните проби показва стойности между 8.60-8.97%. Съдържанието на мазнини в анализираните млечни проби е между 3.40-3.82%. Най-високото съдържание е получено в група D, от крави които пасат на подсят парцел с варуване. Съдържанието на протеин също е най-високо в група D (3,68%), последвано от Група А (3.51%), крави които пасат върху торен парцел. Съдържанието на лактоза е между 4.82-4.92%.

Съдържанието на ненаситени мастни киселини в млечните проби за всяка група крави е представено в Таблица 2.

From the physico-chemical parameters of cow's milk samples point of view, were differences between groups. The solid nonfat of milk samples showed values between 8.60-8.97%. The fat content in the milk samples analyzed was between 3.40-3.82%, and the highest content was obtained at Group D, cows that grazed on the plot with reseeding and liming treatment. Also the protein content was the highest at Group D (3,68%), followed by Group A (3,51%), cows that grazed on fertilized plot only. The lactose content had values between 4.82-4.92%.

The content of unsaturated fatty acids for the milk samples for every group cows is presented in Table 2.

Таблица 2. Концентрация на наситени мастни киселини в краве мляко
Table 2. The concentration of saturated fatty acids in cow's milk

Мастни киселини Fatty acids %	Групи крави/Group of cows						DL 5%
Наситени/Saturated	Киселина Notation of acid	Group A	Group B	Group C	Group D	Group T	
Капронова киселина/Caproic acid	C6:0	$9,65^{a}$	$7,85^{c}$	$7,96^{b}$	$6,54^{d}$	$5,82^{e}$	0,04%
Каприлова киселина/Caprylic acid	C8:0	$6,15^{a}$	$6,08^{a}$	$5,98^{a}$	$6,03^{a}$	$4,63^{b}$	0,57%
Капринова киселина/Capric acid	C10:0	$3,4^{a}$	$3,26^{a}$	$3,44^{a}$	$3,56^{a}$	$3,69^{a}$	0,71%
Лауринова киселина/Lauric acid	C12:0	$7,68^{a}$	$6,35^{b}$	$7,42^{a}$	$6,14^{b}$	$7,74^{a}$	0,58%
Миристинова киселина/Miristic acid	C14:0	$6,14^{b}$	$6,05^{b}$	$6,08^{b}$	$5,96^{b}$	$10,18^{a}$	0,89%
Пентадеканова киселина/Pentadecanoic acid	C15:0	$2,49^{a}$	$2,56^{a}$	$2,85^{a}$	$2,42^{a}$	$0,2^{b}$	0,46%
Палмитинова киселина/Palmitic acid	C16:0	$11,29^{c}$	$12,87^{b}$	$11,35^{c}$	$11,48^{c}$	$21,04^{a}$	0,45%
Маргаринова киселина/Margaric acid	C17:0	$0,71^{b}$	$0,68^{b}$	$0,74^{b}$	$0,65^{b}$	$1,45^{a}$	0,46%
Стеаринова киселина/Stearic acid	C18:0	$15,21^{a}$	$16,24^{a}$	$15,87^{a}$	$15,43^{a}$	$11,98^{b}$	1,94%

$^{a-e}$ стойностите с различни индексни букви се различават при DL 5% (DL – различна граница)
a-e value with different subscript letters differ at DL 5% (DL – different limit)

Идентифицираните мастни киселини са предимно монокарбоксилни киселини с четен брой въглеродни атоми с редица въглеродни атоми в обхвата С6 и С18.

Мастните киселини с нечетен брой въглерод присъстват, но в по-малки количества. Внимание заслужава пентадекановата киселина С15:0, която е установена в млечната мазнина с пропорция от около 2.5% във всички млечни проби, с изключение на Т групата, с много по-ниско съдържание (0.2%).

От Таблица 2 се забелязва, че

The fatty acids identified are predominantly monocarboxylic acids with an even number of carbon atoms, with a number of carbon atoms in the range C6 and C18.

Fatty acids with an odd number of carbon are present, but in smaller quantities. Note the pentadecanoic acid C15:0, which was identified in milk fat with a proportion of about 2.5% in all milk samples, except for the T group, with a much lower content (0.2%).

From Table 2, it is observed that in

във всички млечни проби от крави от групата (A, B, C, D и T) каприновата киселина C10:0 има сходни концентрации (3.26-3.69%). Лауриновата киселина C12:0 също има стойности, близки за всички млечни проби и се намира в по-високи концентрации (6-7%).

Тези две средноверижни мастни киселини, капринова киселина C10:0 и лауринова киселина C12:0 имат бактерицидна активност, която е токсични срещу редица микроорганизми (*Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes и Clostridium perfringens*), причиняващи гастроентерит, предаван чрез храната (Sprong et al., 2001). Jewell și Cashman (2003) установяват, че абсорбцията на калций in vivo е засилена от присъствието на тези киселини в млякото.

Наситените мастни киселини, които са ≈ 40% от мастните киселини в млечната мазнина, лауринова (12:0), миристинова (14:0) и палмитинова (16:0), са известни като основни хранителни мастни киселини, които повишават холестерола (Berner, 1993; Katan et al., 1995). По отношение на съдържанието на миристинова киселина C14:0 и палмитинова киселина C16:0 в проби от краве мляко от A, B, C, D група, които пасяха върху подобрените варианти, те имат по-ниски концентрации от T групата.

Сред мастните киселини с нечетен брой въглеродни атоми е идентифицирана маргаринова киселина (C17:0), която присъства в ниски концен-трации във всички млечни проби (0.65-0.74%), с изключение на T групата с по-висока концентрация (1.45%). По отношение на концентрацията на стеаринова киселина C18:0, група B група се забелязва най-висока концентрация (16.24%), докато за T група концентрацията е по-ниска (11.98%), Общото съдържание на наситени мастни киселини в млечните проби е представено във Фигура 1.

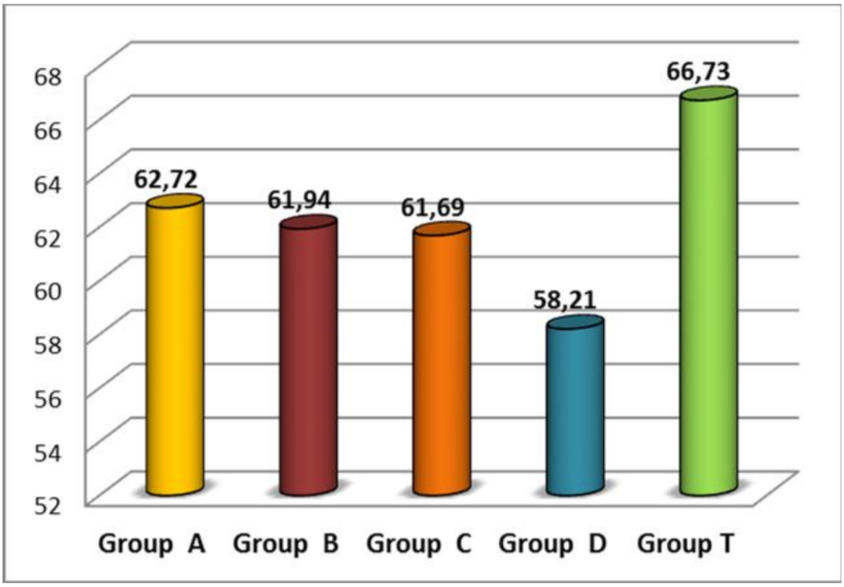
all the milk samples of the group cows (A, B, C, D, and T), capric acid C10:0 has similar concentrations (3.26-3.69%). Lauric acid C12:0 also has values close for all milk samples and is found in higher concentrations (6-7%).

These two medium chain fatty acids, capric acid C10:0 and lauric acid C12:0 have bactericidal activity, being toxic to a number of microorganisms (*Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes and Clostridium perfringens*) which causes gastroenteritis transmitted by food (Sprong et al., 2001). Jewell și Cashman (2003) found that calcium absorption in vivo was enhanced by the presence of these acids in milk.

Saturated fatty acids, which are ≈ 40% of the fatty acids in milk fat, lauric (12:0), myristic (14:0) and palmitic (16:0), are known to be the main food fatty acids that increase cholesterol (Berner, 1993; Katan et al., 1995).

Regarding the content of myristic acid C14:0 and palmitic acid C16:0 in cow's milk samples of A, B, C, D group, who grazed on the improved variants they had lower concentrations than the T group.

Among the fatty acids with an odd number of carbon atoms, margaric acid (C17:0) was identified, which was present in low concentrations in all milk samples (0.65-0.74%), with the exception of the T group with a higher concentration (1.45%). Regarding the concentration of stearic acid C18:0 in milk samples, B group is noted, with the highest concentration (16.24%), while, for the T group, the concentration was lower (11.98%). The total content of saturated fatty acids in the milk samples is present in the Figure 1.



Фиг. 1. Съдържание на наситените мастни киселини в млечните проби
Fig. 1. Content of saturated fatty acids in milk samples

Съдържанието на ненаситени мастни киселини в млечните проби за всяка група крави е представено в Таблица 3.

The content of unsaturated fatty acids for the milk samples for every group cows is presented in Table 3.

Таблица 3. Концентрация на ненаситени мастни киселини в кравето мляко
Table 3. The concentration of unsaturated fatty acids in cow's milk

Ненаситени мастни киселини Unsaturated fatty acids %	Групи крави/Group of cows						DL 5%
	Киселина Notation of acid	Group A	Group B	Group C	Group D	Group T	
Мононенаситени/Monounsaturated							
Миристинова киселина/Myristoleic acid	C14:1	2,1[a]	1,54[ab]	1,83[a]	1,12[b]	0,03[c]	0,58%
Палмитинова киселина/Palmitoleic acid	C16:1	7,27[b]	7,54[b]	8,47[a]	6,54[c]	2,78[d]	0,52%
Олеинова киселина/Oleic acid	C18:1	9,94[d]	11,48[c]	10,35[d]	15,64[b]	22,77[a]	1,11%
Полиненаситени/Polyunsaturated							
Линолова киселина/Linoleic acid	C18:2	3,61[a]	3,68[a]	3,58[a]	3,12[ab]	2,6[b]	0,66%
α-линоленова киселина/α-Linolenic acid (ALA)	C18:3	6,69[a]	5,87[b]	6,96[a]	7,45[a]	2,29[c]	0,76%
Руменна киселина/Rumenic acid	CLA	3,49[a]	3,87[a]	2,44[b]	3,98[a]	1,73[b]	0,74%

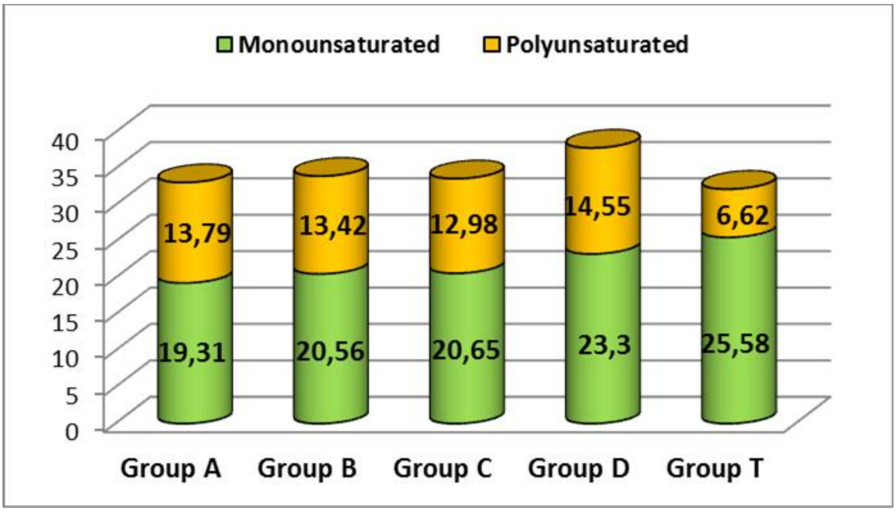
[a-d] стойностите с различни индексни букви се различават при DL 5% (DL – различна граница)
a-d value with different subscript letters differ at DL 5% (DL – different limit)

Особено значение имат ненаситените мастни киселини с няколко двойни връзки, наричани също незаменими мастни киселини, необходими на организма, тъй като той не може да ги синтезира. Сред най-важните мастни киселини, идентифицирани в пробите от мляко,

A particular importance has the unsaturated fatty acids with several double bonds, also called essential fatty acids, necessary for the body because it cannot synthesize them. Among the most important fatty acids identified in milk samples are linoleic acid (C18:2), α-са линолова киселина (C18: 2), α-линоленова киселина (ALA) (C18:3), присъстваща във високи концентрации в проби от краве мляко от A, B, C, D група, които пасат върху подобрени варианти. Отбелязваме група D с най-висока концентрация на ALA (7,45%). Фигура 2 представя съдържанието на мононенаситени и полиненаситени мастни киселини в млечните проби.

linoleic acid (C18:3), present in high concentrations in cow's milk samples of A, B, C, D group, who grazed on the improved variants.

We note D group, with the highest concentration in ALA (7.45%). Figure 2 presents the content of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in milk samples.



Фиг. 2. Съдържание на ненаситените киселини в млечните проби
Fig. 2. Content of unsaturated fatty acids in milk samples

Съдържанието на конюгирана линолова киселина (CLA), по-специално руменна киселина, изомери на линолова киселина, за които се смята, че имат висок потенциал в човешкото хранене с техните полезни свойства (Chambaa et al., 2006), също е в по-високи стойности в млечните проби от крави, които пасат върху подобрените парцели.

Качеството на млякото се влияе пряко от състава на тревната покривка, поради което познаването на флористичния състав на субалпийските пасища с млечни крави, е много важно.

Тревната покривка е в постоянно развитие и еволюция, като променя своята структура и флористичен състав под въздействието на природни условия (климатични, едафични и биотични), както и на дейността на хора и животни.

The content of conjugated linoleic acid (CLA), in particular rumenic acid, isomers of linoleic acid, which are said to have a high potential in human nutrition for their beneficial properties (Chambaa et al., 2006), was also higher in cow's milk samples that grazed on the improved plots.

The quality of the milk is directly influenced by the composition of the grass cover, therefore the knowledge of the floristic composition of the subalpine grassland grazed with dairy cows is very important

The grass cover is in a permanent development and evolution, modifying its structure and floristic composition under the influence of natural conditions (climatic, edaphic and biotic) as well as the action of humans and animals.

Резултатите от използваните технологии за подобряване на субалпийските пасища, върху които пасат млечни крави, се изразяват и от техния ботаничен състав (Таблица 4).

The results of used technologies for improvement of subalpine pastures grazed by dairy cows are also expressed by their botanical composition (Table 4).

Таблица 4. Ботанически състав на субалпийски тревостои подобрени чрез различни методи
Table 4. Botanical composition of subalpine improved grasslands by different methods

Видове/Species	Индекс на качество на фураж Index of fodder quality	T	A	B	C	D
Житни треви/Grases		% съотношение / participation				
Agrostis capillaris	7		7	10	17	48
Agrostis rupestris	5	3	5	2		
Anthoxantum odoratum	5					
Dactylis glomerata	9				1	
Deschampsia caespitosa	0	2	2	25	10	11
Deschampsia flexuosa	0	1	6			
Festuca nigrescens	7	40	45	33	10	+
Festuca pratensis	9					2
Nardus stricta	0	27	5	+		
Phleum alpinum	6		10	3		1
Phleum pratense	9					5
Poa annua	7			+		
Poa media	5	2	8	2	3	
Poa pratensis	8			7	27	8
Бобови/Legumes						
Trifolium repens	8	10	5	7	13	10
Други семейства/Other families						
Achillea stricta	6					
Alchemilla vulgaris	6	1	+	3	1	6
Campanula abietina	0	+				
Campanula napuligera	0	2	1		1	
Geum montanum	0	+				
Hieracium aurantiacum	0		+			
Ligusticum mutellina	6	7				3
Polygonum bistorta	5		5	1	7	
Potentilla aurea	0	2	1			+
Ranunculus montanus	0			4	5	4
Taraxacum officinale	7			3	4	2
Други видове/Other species	0	+	+	1	1	+
Стойност на пасище/Pastoral value (PV)	**x**	**48**	**62**	**49**	**67**	**69**
Въздействие на подобрението/Improvement effect	**x**	**100**	**129**	**102**	**140**	**144**
Въздействие на пасищно отглеждане/Paddocking effect	**x**	**x**	**100**	**79**	**108**	**111**
Въздействие на варуванеLiming effect	**x**	**x**	**x**	**100**	**137**	**141**
Въздействие на сеитба/Sowing effect	**x**	**x**	**x**	**x**	**100**	**103**

Има по-голямо участие на вид *Agrostis capillaris* (48%) в парцел D (засят) и на вид *Poa pratensis* (27%) в парцел C (естествен), което също определя високата пасищна стойност. Пасищната стойност на засетия парцел D е с 3% по-висока от естествения (C) и с по-изразен калциев ефект.

There is a greater participation of the species *Agrostis capillaris* (48%) in D plot (sown) and of the species *Poa pratensis* (27%) in C plot (natural), which also determines a high pastoral value. The pastoral value of the sown D plot is 3% higher than the natural one (C) and with a more pronounced calcium effect.

ИЗВОДИ

От гледна точка на физико-химичните параметри, млечните проби се различават при различните групи.

Най-високото съдържание на наситени мастни киселини е установено в парцел T (контролен парцел) с 66.73%.

Съдържанието на есенциални мастни киселини, по-специално палмитолеинова киселина C16: 1, линолова киселина C18: 2 и α-линоленова киселина (ALA) C18: 3, които са полезни за човешкото здраве, са с по-високи стойности в млечните проби от крави, които пасат върху подобрени парцели.

След 24 годишен период, във флористичния състав на подобрените парцели преобладават *Festuca nigrescens*, *Agrostis capillaris* и *Poa pratensis*, които постепенно заместват *Nardus stricta* от контролния парцел.

CONCLUSIONS

From the physico-chemical parameters of cow's milk samples point of view, were differences between groups.

The highest content of saturated fatty acids was obtained on T plot (control plot), 66,73%.

The content of essential fatty acids, in particular palmitoleic acid C16:1, linoleic acid C18:2 and α-linolenic acid (ALA) C18:3, which are beneficial for human health, were higher in milk samples from cows that grazed on the improved plots.

After 24 year the floristic composition of the improved plots highlights the dominance of the *Festuca nigrescens* species, *Agrostis capillaris* and *Poa pratensis* species, which have gradually replaced *Nardus stricta* species from the control plot.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Berner, L.**, 1993. Round Table Discussion on Milk Fat, Dairy Foods, and Coronary Heart Disease Risk. *The Journal of Nutrition*, 123 (6), 1175-1184
2. **Chambaa, J-F., J-M. Chardignyb, S. Gnädigb, E. Perrearda, S. Chappazd, R. Rickerte, H. Steinharte and J-L. Sébédiob**, 2006. Conjugated Linoleic Acid (CLA) Content of French Emmental Cheese: Effect of the Season, Region of Production, Processing and Culinary Preparation. *Le lait Dairy science and tehnology*, 86 (6), 461-467.
3. **Coppa, M., A. Farruggia, P. Pradel, G. Lombardi, and B. Martin**, 2009. How Does Grazing Management and Vegetation Type Influence Selection and Grazing Behaviour of Dairy Cows on Upland Pastures? In: Proceedings: 15th FAO CIHEAM Mountain Pasture Network, Led Diableretz, Switzerland,pp. 171-173.
4. **Georgescu, Gh.**, 2000. Milk and Dairy Products. Ceres. București, Romania (Ro).
5. **Hanuš, O., E. Samková, L. Křížová, L. Hasoňová and R. Kala**, 2018. Role of Fatty Acids in Milk Fat and the Influence of Selected Factors on Their Variability - a review. *Molecules*, 23(7), 16-36.
6. **Jewel, C. and K.D. Cashman**, 2003. The effect of conjugated linoleic acid and medium-chain fatty acids on transepithelial calcium transport in human intestinal-like Caco-2 cells. *Brithish Journal of Nutrition*, 89 (5), 639-647.

7. **Kalac, P. and E. Samkova**, 2010. The Effect of Feeding Various Forages on Fatty Acid Composition of Bovine Milk Fat: A review, *Czech Journal of Animal Science*, 55(12), 521-537.

8. **Katan, M., P. Zock and R. Mensink**, 1995. Dietary Oils, Serum Lipoproteins, and Coronary Heart Disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61 (6), 1368-1373.

9. **Maruşca, T., V. Blaj, V. Mocanu, A. T. Ene, A. Andreoiu, M. Dragoş and P. Zevedei**, 2016. An Efficient System of Organic Farming on Mountain Grasslands from Carpathian. *Journal of mountain Agriculture on the Balkans*,19, 42-52

10. **Romanzin, A., M. Corazzin, E. Piasentier and S. Bovolenta**, 2013. Effect of Rearing System (Mountain Pasture vs. Indoor) of Simmental Cows on Milk Composition and Montasio Cheese Characteristics, *Journal of Dairy Research*, (80), 390-399

11. **Sprong, RC., M.F. Hulstein and R. Van der Meer**, 2001. Bactericidal Activities of Milk Lipids. *Antimicrob Agents Chemother*, 45 (4), 1298-1301

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (4), 74-86 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Разнокачественост на семена в зависимост от разположението им върху майчиното растение при видовете *Pisum sativum* и *Vicia sativa*

Наталия Георгиева[1]*, Нуреттин Тахсин[2]

[1]*Институт по фуражни култури, 5800 Плевен, България*
[2]*Аграрен университет, 4000 Пловдив, България*

Heterogeneity of Seeds in Dependence of Their Position on the Mother Plant in *Pisum sativum* and *Vicia sativa* Species

Natalia Georgieva[1]*, Nurettin Tahsin[2]

[1]*Institute of Forage Crops, 5800 Pleven, Bulgaria*
[2]*Agrarian University, 4000 Plovdiv, Bulgaria*
**E-mail: imnatalia@abv.bg*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Настоящият експеримент има за цел да установи качеството на семена, формирани върху различни части на майчиното растение при пролетен грах (представен от сортове Глянс, Свит, Камертон, Модус, Плевен 4) и пролетен фий (Лия, Лорина, Вилена, Молдовская, Образец 666). В технологична зрелост, семената от бобовете, разположени в долната (1ви етаж) и горната половина (2ри етаж) на растенията, подбрани рандомизирано, са събрани поотделно и анализирани. Определени са маса на 1000 семена, съдържание на суров протеин, кълняемост, параметри на първоначален растеж и индекс на растежна сила. Резултатите показват хетерогенност на семената от различните етажи. Стойностите на дължината и теглото на кълна, и кълняемостта на семената от 2ри етаж са доказано по-ниски в сравнение със същите от 1ви етаж средно с 25.1, 30.0 и 9.1% при пролетния грах, и с 14.5, 21.9 и 6.2% при пролетния фий. Различията в пара-

SUMMARY

The present experiment aimed to determine the quality of seeds formed on different parts of the mother plant in spring pea (represented by cultivars Glyans, Svit, Kamerton, Modus, Pleven 4) and vetch (Liya, Lorina, Vilena, Moldovskaya, Obrazets 666).

At technological maturity, the seeds of pods located in the lower half (1st layer) and upper half (2nd layer) of plants, selected randomly, were harvested separately. 1000 seeds mass, crude protein content, seed germination, length and weight of primary germ, and seedling vigour index were reported. The results showed the existence of heterogeneity of the seeds from the different layers. The values of germ length and weight, and germination of the 2nd-layer seeds, were significantly lower compared to the values of the 1st-layer seeds, on average with 25.1, 30.0 and 9.1% for spring pea, and with 14.5, 21.9 and 6.2% for spring vetch.

метрите на първоначален растеж са по-силно изразени при сортове, отличаващи се с по-голяма височина, продължителен период на цъфтеж и бобообразуване – Плевен 4 и Образец 666. Индексът на растежна сила, като сумарен показател за оценка, определя по-висока жизненост на семената, формирани в бобовете от 1^{ви} етаж (1208 и 1940, съответно при грах и фий) в сравнение с жизнеността на семената от 2^{ри} етаж (838 и 1569). Липсват доказани разлики между семената от двата етажа по отношение маса на 1000 семена и съдържание на суров протеин.

Ключови думи: хетерогенност, матрикален тип, етажност на семена, кълняемост, параметри на растеж

Differences in initial growth parameters were stronger for cultivars with greater height, longer flowering and pod formation stages – Pleven 4 and Obrazets 666. The seed vigour index, as an estimating summary indicator, determined higher seed vitality of seeds formed in the 1st layer pods (1208 and 1940 for pea and vetch, respectively), compared with seed vitality of 2nd layer pods (838 and 1569). There were no significant differences between the seeds of the two layers in terms of 1000 seeds mass and crude protein content.

Key words: heterogeneity, maternal type, seed-layers effect, germination, growth parameters

УВОД

Качеството на семената зависи изцяло от състоянието на растението в момента на залагането и формирането им. През периода на цъфтеж, цветовете, които се образуват, а също така семената, които впоследствие се формират, се развиват на различни части на майчиното растение и са с различен статус. Това е предпоставка за формиране на разнокачествени семена (Panayotov and Popova, 2010) и се определя като разнокачественост от матрикален тип (Panayotov, 2005).

Разнокачествеността на семената при различни култури е проучвана от редица руски изследователи (Fedotova, 1960; Ovcharov and Kizilova, 1966; Gromova, 1968) още през миналия век, но резултатите не са еднопосочни. Авторите обаче установяват категорично, че семената от различните етажи на растението се различават помежду си по маса на 1000 семена, посевни качества и химичен състав. За силно влияние на матрикалната разнокачественост съобщават Dudhe et al. (1996) и Siddique et al. (2003) – при зеленчукови култури, Foroughi et al. (2014) – при плевелни видове, Adam et al. (1986) и Illipronti et al. (2000) – при бобови кул-

INTRODUCTION

Seed quality thoroughly depends on the plant condition at the moment their planting and formation. The flowers formed during the flowering period, as well as the flowers generated at a later stage, develop on various parts of the mother plant manifesting a different status.

The latter is a prerequisite for heterogeneous seeds (Panayotov and Popova, 2010) and is defined as maternal type heterogeneity (Panayotov, 2005).

Seed heterogeneity for various crops has been studied by a number of Russian researchers (Fedotova, 1960; Ovcharov and Kizilova, 1966; Gromova, 1968) ever since the 20th century, but the results have not been unidirectional. However, the authors have explicitly stated that seeds from various plant layers differ in terms of 1000 seeds mass, planting qualities and chemical content. Dudhe et al. (1996) and Siddique et al. (2003) reported on strong influence of maternal heterogeneity for vegetable crops, Foroughi et al. (2014) – for weed species, Adam et al. (1986) and Illipronti et al. (2000) – for leguminous plants.

тури. Naneva and Sachanski (1972) установяват нееднородност на семената от различните етажи при сортове фуражен грах. От семената от долния и средния етаж са получени по-продуктивни и по-високи растения в сравнение с тези от връхния етаж.

Според Siddique et al. (2003), хетерогенността на семената се определя от вариране между растенията и в рамките на едно растение. В по-ранно проучване, Austin and Longden (1975) установяват, че различията в теглото на грахови семена се дължат на разлики между растенията, между бобовете на едно растението и в един боб. Авторите посочват, че около 87% от общата вариабилност в теглото на семената се определя от вариране между растенията, 10% се дължи на позицията на бобовете върху растението и 3% се дължи на варирането в рамките на един боб.

Целта на изследването е да се установи качеството (в т.ч. маса на 1000 семена, съдържание на суров протеин, кълняемост, параметри на първоначален растеж и индекс на растежна сила) на семена в зависимост от разположението им върху майчиното растение при пролетен грах и фий.

Naneva and Sachanski (1972) established seed heterogeneity for the various layers of forage peas. More productive and higher plants were obtained from the lowest- and middle-layer seeds compared with those on the top layer.

According to Siddique et al. (2003), seed heterogeneity is determined by variation among plants and within a single plant.

In an earlier study, Austin and Longden (1975) reported that variation of pea seed weight was due to differences among plants, within the pods of the same plant and a single pod. The authors pointed out that about 87% of the total seed mass variability was defined by plant variation, 10% was due to the pod position on the plant and 3% was due to the variation within a single pod.

The objective of this research was to determine the quality (including 1000 seeds mass, crude protein content, germination, initial growth parameters and seedling vigour index) of seeds in dependence of their position on the mother plant in spring pea and vetch.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Лабораторният експеримент е проведен през 2015 г. в Институт по фуражните култури (Плевен). Обект на проучване са семена от пет сорта пролетен грах (*Pisum sativum* L.) (Глянс, Свит, Камертон, Модус, Плевен 4) и фий (*Vicia sativa* L.) (Лия, Лорина, Вилена, Молдовская, Образец 666), които са реколтирани през предходната година. В технологична зрелост, семената от бобовете, разположени в долната половина ($1^{ви}$ етаж) и горната половина ($2^{ри}$ етаж) на 20 растенията, подбрани рандомизирано, са събрани поотделно. Анализите са проведени върху средна проба от семената. Определени са маса на 1000 семена и съдържание на

MATERIAL AND METHODS

The laboratory experiment was conducted during 2015 at the Institute of Forage Crops (Pleven). The subjects of the study were seeds of five cultivars of spring pea (*Pisum sativum* L.) (Glyans, Svit, Kamerton, Modus, Pleven 4) and vetch (*Vicia sativa* L.) (Liya, Lorina, Vilena, Moldovskaya, Obrazets 666) which were harvested in the previous year. At technological maturity, the seeds of pods located in the lower half (1^{st} layer) and upper half (2^{nd} layer) of 20 plants, selected randomly, were harvested separately. Analyses were performed on an average seed sample. 1000 seeds mass and crude protein content (Kjeldahl method) were determined.

суров протеин (по метода на Келдал). По 20 броя семена от всеки вариант в три повторения са поставени в петриеви блюда с диаметър 9 cm, върху филтърна хартия. Във всяко петриево блюдо са пипетирани 4 и 6 ml (съответно при фий и грах) дестилирана вода. Подготвените проби са поставени в термостат при температура 22 °C в продължение на 7 дни. Отчетени са кълняемост (%), дължина на първичен кълн (корен + стъбло) (cm), тегло на първичен кълн (корен + стъбло) (g) и индекс на растежна сила (SVI) (съгласно Abdul-Baki and Anderson (1973). Данните са анализирани със софтуерният продукт Statgraphics Plus for Windows Ver. 2.1.

Twenty seeds of each variant in three replicates were placed in Petri dishes (9 cm in diameter), on filter paper. In each Petri dish, 4 and 6 ml (respectively, for vetch and pea) of distilled water were pipetted. The prepared samples were placed in a thermostat at a temperature of 22 °C for 7 days. Seed germination (%), length of primary germ (root + stem) (cm), weight of primary germ (root + stem) (g) and seedling vigour index (SVI) (according to Abdul-Baki and Anderson (1973) were recorded.

The data were analyzed using the software product Statgraphics Plus for Windows Ver. 2.1.

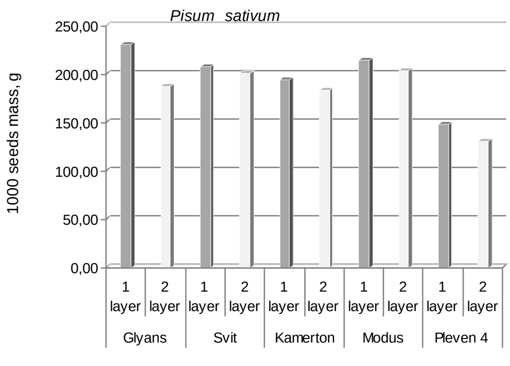
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

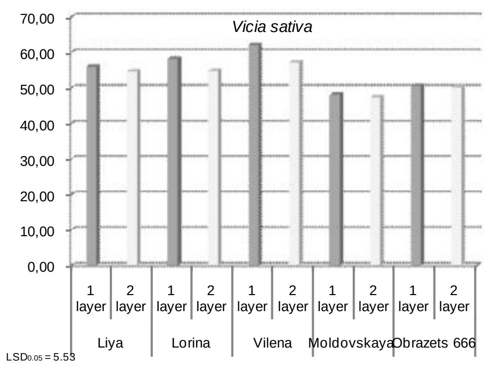
Основен момент в производството на селскостопанските култури е използването на качествен посевен материал. Семената са носители на биологичните и стопанските признаци на растенията. От техните качества зависи в голяма степен не само добивът, но и качеството на продукцията (Radevska et al., 2012). Теглото на семената при проучваните сортове грах и фий, изразено чрез маса на 1000 семена, се влияе от разположението на семената върху майчиното растение (Фигура 1).

RESULTS AND DISCUSSION

The use of high-quality planting material is fundamental in agricultural crop production. Seeds bear the biological and agricultural characteristics of plants.

To a great extent, their features determine not only yield but also production quality (Radevska et al., 2012). Seed weight for the studied peas and vetch cultivars, shown as 1000 seeds mass, was influenced by seed location on the mother plant (Figure 1).





Фиг. 1. Маса на 1000 семена при сортове грах и фий в зависимост от разположението им върху растението (1ви и 2ри етаж)
Fig. 1. Mass of 1000 seeds in pea and vetch cultivars in dependence of their position on the plant (1st and 2nd layer)

По-голяма маса се наблюдава при семената от 1^{ви} етаж (199.19 и 54.98 g, съответно при пролетен грах и фий) и по-малка – при семената от 2^{ри} етаж (181.02 и 52.82 g). Въпреки установената обща тенденция на понижение при семената от 2^{ри} етаж, обработката на данните показва, че разликите при всички сортове не са статистическата значими (с изключение на сорта грах Глянс). Получените резултати са в съответствие с тези на Illipronti et al. (2000) при соя. При проучване, проведено с грах (сорт "Baccara"), Siddique et al (2003) установяват по-голямо тегло на 100 семена (26.99-29.95 g) при по-ниско разположени бобовете, и респективно по-малко тегло (30.63-32.42 g) – при бобовете от горния етаж. Според Cocks (1990), по-високото тегло на семената при по-ранoформираните бобове може да е свързано с по-бързо наливане на семената, което от своя страна се дължи на по-слаба конкуренция за натрупване на хранителни резерви. По-малките семена се образуват по-късно, когато повечето от бобовете са вече формирани и се намират в условия на по-висока конкуренция за натрупване на хранителни вещества. Според други автори (Bewley and Black, 1994), ранните бобове се ползват от по-голям приток на асимилати, когато растението преминава от вегетативна към репродуктивна фаза. Също така, увеличаването на дела на жълтите („стареещи") листа по време на наливане на семената в късните бобове, вероятно допринася за по-ниското тегло. Фактът, че семената от ранoформираните бобове са по-тежки, може да има положителни и отрицателни последици за биологичните прояви на растенията. По-тежките семена способстват за формиране на по-големи поници и по-висок процент на покълнване в сравнение с по-малките семена при фасул и соя (Doijode, 1984; Egli et al., 1990).

Известно е, че факторите на средата като температура, светлина, pH и почвена влага влияят върху покълване-

A greater mass was observed for 1st layer seeds (199.19 and 54.98 g, for spring pea and vetch, respectively) and smaller – for 2nd layer seeds (181.02 and 52.82 g). Despite the established common tendency of decrease for 2nd layer seeds, data processing showed that differences for all cultivars were statistically insignificant (except for Glyans pea cultivar). The obtained results were in conformity with those of Illipronti et al. (2000) for soybean. In their study related to Baccara pea cultivar, Siddique et al (2003) found a greater weight of 100 seeds (26.99-29.95 g) for lower located pods and smaller weight (30.63-32.42 g) – for higher located pods, respectively. According to Cocks (1990), the higher seed weight in early-formed pods can be related to faster seed-filling rate, which on its part, was due to less competition for the accumulation of nutrient reserves. Smaller seeds were formed later after most of the pods have already been formed and were in the conditions of stronger competition for nutrient reserve accumulation.

Other authors (Bewley and Black, 1994) stated that early pods benefited from a higher influx of assimilates when the plant switched from the vegetative to the reproductive phase. It was also observed that the increase of yellow ("ageing") leaves share during the seed filling stage of late pods, probably contributed to their lower weight. The fact that early-formed pod seeds were heavier may have positive or negative effects for the biological performances of plants. Heavier seeds contributed the formation of greater seedlings with a higher germination percentage compared with smaller seeds in common bean and soybean seeds (Doijode, 1984; Egli et al., 1990).

It is well-known that environmental factors such as temperature, light, pH and soil moisture influence seed то на семената (Ikeda et al., 2008; Rizzardi et al., 2009). Разликите в средата, на които е подложено майчиното растение по време на узряване, може да доведат до промени в кълняемостта на семената в една популация (Baskin and Baskin, 1998; Munir et al., 2001; Luzuriaga et al., 2006). Резултатите в настоящия експеримент показват доказани разлики в кълняемостта на семената от различните етажи при три от сортовете грах (Камертон, Модус и Плевен 4) и четири от сортовете фий (Лия, Лорина, Молдовская и Образец 666) (Таблици 1 и 2). Кълняемостта на семената от 2[ия] етаж е средно с 9.1 и 6.2% по-ниска (съответно при грах и фий) в сравнение с кълняемостта на семената, реколтирани от 1[ви] етаж. При останалите сортове Глянс, Свит и Вилена, се наблюдава същата зависимост, но значително по-слабо изразена и статистически недоказана. Вариране в кълняемостта на семената в зависимост от позиционирането им върху майчиното растение е установено от редица изследователи (Alan and Eser, 2007; Panayotov and Popova, 2010; Foroughi et al., 2014).

germination (Ikeda et al., 2008; Rizzardi et al., 2009). The environmental distinctions experienced by the mother plant in the maturing stage may lead to seed germination changes in a single population (Baskin and Baskin, 1998; Munir et al., 2001; Luzuriaga et al., 2006). The results of the present experiment showed significant differences in seed germination for the various layers of three peas cultivars (Kamerton, Modus and Pleven 4) and four vetch cultivars (Liya, Lorina, Vilena, Moldovskaya and Obrazets 666) (Tables 1 and 2). Seed germination of the 2[nd] layer was by 9.1 and 6.2% lower, on the average (for peas and vetch, respectively), compared with 1[st] layer seed germination. The same dependenc was observed for Glyans, Svit and Vilena, but it was considerably weaker and statistically not significant. A great number of researchers (Alan and Eser, 2007; Panayotov and Popova, 2010; Foroughi et al., 2014) established seed germination variation according to the seed position on the mother plant.

Таблица 1. Покълнване и параметри на първоначален растеж при семена на пролетен грах в зависимост от разположението им върху растението
Table 1. Germination and initial growth parameters in spring pea seeds in dependence of their position on the plant

Сорт Cultivar	Разположение на семената Seed position	Покълнване Germination, %		Дължина на кълн Germ lenght, cm		Тегло на кълн Germ weight, g		SVI
Глянс Glyans	1ви етаж/1st layer	95.0	d*	6.25	b	0.164	b	594
	2ри етаж/2nd layer	91.7	cd	3.91	a	0.118	a	359
Свит Svit	1ви етаж/1st layer	91.7	cd	10.99	e	0.244	d	1008
	2ри етаж/2nd layer	90.0	cd	9.35	d	0.198	c	842
Камертон Kamerton	1ви етаж/1st layer	88.3	bc	10.90	e	0.240	d	962
	2ри етаж/2nd layer	80.0	a	8.20	c	0.152	b	656
Модус Modus	1ви етаж/1st layer	95.0	d	13.39	f	0.377	f	1272
	2ри етаж/2nd layer	86.7	bc	11.23	e	0.266	e	974
Плевен 4 Pleven 4	1ви етаж/1st layer	91.7	cd	24.04	h	0.398	g	2203
	2ри етаж/2nd layer	83.3	ab	16.31	g	0.250	de	1359

*Стойностите във всяка колона следвани от едни и същи букви не са стаистически доказани/Means in each column followed by the same letters are not significantly different ($P > 0.05$)
SVI – индекс на растежна сила/ seedling vigour index

Таблица 2. Покълнване и параметри на първоначален растеж при семена на пролетен фий в зависимост от разположението им върху растението
Table 2. Germination and initial growth parameters in spring vetch seeds in dependence of their position on the plant

Сорт Cultivar	Разположение на семената Seed position	Покълнване Germination, %		Дължина на кълн Germ lenght, cm		Тегло на кълн Germ weight, g		SVI
Лия Liya	$1^{ви}$ етаж/1^{st} layer	93.3	cde*	20.44	de	0.146	cd	1908
	$2^{ри}$ етаж/2^{nd} layer	86.7	ab	16.69	a	0.110	a	1446
Лорина Lorina	$1^{ви}$ етаж/1^{st} layer	90.0	bc	19.75	cd	0.163	de	1777
	$2^{ри}$ етаж/2^{nd} layer	85.0	a	16.98	a	0.133	bc	1443
Вилена Vilena	$1^{ви}$ етаж/1^{st} layer	91.7	cd	20.53	e	0.193	f	1882
	$2^{ри}$ етаж/2^{nd} layer	90.0	bc	19.16	bc	0.167	e	1724
Молдовская Moldovskaya	$1^{ви}$ етаж/1^{st} layer	96.7	e	20.19	de	0.167	e	1952
	$2^{ри}$ етаж/2^{nd} layer	90.0	bc	17.16	a	0.128	b	1544
Образец 666 Obrazets 666	$1^{ви}$ етаж/1^{st} layer	95.0	de	22.94	f	0.222	g	2180
	$2^{ри}$ етаж/2^{nd} layer	90.0	bc	18.72	b	0.157	de	1685

*Стойностите във всяка колона следвани от едни и същи букви не са стаистически доказани/Means in each column followed by the same letters are not significantly different ($P > 0.05$)
SVI – индекс на растежна сила/ seedling vigour index

Параметрите на първоначален растеж също са повлияни от положението на семената върху майчиното растение. С по-високи стойности по отношение на дължина и тегло на кълна при пролетният грах са семената от $1^{ви}$ етаж (съответно 13.11 cm и 0.285 g), при стойности от 9.80 cm и 0.197 g на тези от $2^{ия}$ етаж. Понижението при семената от $2^{ия}$ етаж е статистически доказано и варира от 14.9 до 37.4% (за дължина на кълна), и от 18.9 до 37.2% (за тегло на кълна). Най-съществени различия в параметрите на семената от двата етажа демонстрира Плевен 4, което вероятно се дължи на по-голямата височина на сорта, продължителният му период на цъфтеж и узряване на бобовете (респ. семената). По данни на Panayotov and Popova (2010) разликите в свежото тегло и дължината на първичните прорастъци (ембрионален корен + хипокотил) на семена, получени от горен и долен етаж на сортове зеле, варират от 11.1 до 20.6%, и от 9.7 до 30.8% съответно. Според Still (1999), причината за формиране на семена с различно качество е продължителния период на цъфтеж. Според други автори Naneva and Sachanski (1972), неедновременното формиране на семената се явява един от основните фактори, обуславящи раз-

The parameters of initial growth were also influenced by the seed position on the mother plant. In relation to germ length and weight of spring pea, higher values were observed for the 1^{st} layer seeds (13.11 cm and 0.285 g, correspondingly), compared with the values of the 2^{nd} layer seeds – 9.80 cm and 0.197 g. The decrease of the 2^{nd} layer seeds was statistically significant and varied from 14.9 to 37.4% (for germ length), and from 18.9 to 37.2% (for germ weight). Pleven 4 cultivar showed the most essential differences of seed parameters for both layers. That was probably due to the greater height of the cultivar, its longer flowering and pod maturation stage (seed maturation stage, respectively). Panayotov and Popova (2010) reported that the differences in fresh mass and initial germinating seedling length (embryonal radicle + hypocotyl) of top and lower layer for cabbage seeds varied from 11.1 to 20.6% and from 9.7 to 30.8%, correspondingly.

According to Still (1999), the longer flowering stage is the reason for different quality seed formation. Other authors, Naneva and Sachanski (1972), claimed that the asynchronous seed formation is a basic factor for heterogeneity seed development. The latter is related to the витието на разнокачествени семена. То е свързано както с нееднаквото въздействие върху формиращите се семена на условията на външната среда (интензивност и качество на светлината, температура, влага и др.), така и с нееднаквата им обезпеченост с хранителни вещества.

Подобни на посочените при пролетния грах зависимости, се наблюдават и при сортовете пролетен фий, като понижението в дължината и теглото на кълна са в границите 6.7-18.4% и 13.7-29.4%, съответно. Тук по-съществени различия в параметрите на семената от двата етажа показва Образец 666, който подобно на Плевен 4, се отличава с по-голяма височина на стъблата и по-продължителен цъфтеж. Като цяло, проявите на разнокачественост на семената са значително по-силно изразени при *P. sativum* в сравнение с *V. sativa*, при средни стойности от 25.1 и 30.0% за първия вид, и 14.5 и 21.9% за втория вид, съответно за дължина и тегло на кълна.

Растежната сила на семената представлява сумарна оценка на всички свойства на семената, които определят техния потенциал за бързо и дружно поникване, развитие на нормални прорастъци и впоследствие растения, при широк диапазон от условия на околната среда (ISTA, 2003). TeKrony and Egli (1991) посочват, че растежната сила на семената влияе пряко върху развитието на новоформираните растения, отразявайки се силно на вегетативното развитие и продуктивността им. За нейното определяне се използва разработения от Abdul-Baki and Anderson (1973) тест, основаващ се на кълняемостта и дължината на ембрионалния корен и хипокотила. В настоящият експеримент, семената, формирани в бобовете от долния ($1^{ви}$) етаж се отличават с по-висок индекс на растежна сила (1208 и 1940, съответно при грах и фий) от тези, формирани в бобовете от горния етаж (838 и 1569).

unequal impact of environmental conditions (light quality and intensity, temperature, moisture, etc.) on seed formation.

On the other hand, it is influenced by the uneven nutrient supply.

Spring pea dependencies were similarly observed for the spring vetch cultivars, whereas the decrease in germ length and weight was from 6.7 to 18.4% and from 13.7 to 29.4%, respectively.

Obrazets 666 showed more essential parameter differences for both seed layers. Similarly to the Pleven 4 cultivar, it was characterized by higher stems and longer flowering stage. As a whole, seed heterogeneity was more strongly expressed for *P. sativum* compared to *V. sativa*, with average values of 25.1 and 30.0% for the former, and 14.5 and 21.9% for the latter, for germ length and weight, correspondingly.

Seed vigour index represents a summary assessment of all seed characteristics determining their potential for fast and simultaneous germination, the formation of normal seedlings, and subsequently – plants under a wide range of environmental conditions (ISTA, 2003). TeKrony and Egli (1991) pointed out that the seed vigour index directly influenced the development of the new-formed plants, as well as their vegetation and productivity. It was defined by the elaborate test of Abdul-Baki and Anderson (1973) based on germinating capacity and embryonal radicle and hypocotyl length.

In the present experiment, the seeds, formed in the pods of lower (1st) layer, stand out with higher seedling vigour index (1208 and 1940 for pea and vetch, respectively), than those, formed in the pods from the higher layer (838 and 1569). The average values of decrease in

Средните стойности на понижение в жизнеността на семената от 2-ия етаж са съответно 29.9 и 19.0%, особено силно изразени при сортовете грах Глянс и Плевен 4, и фий – Лия и Образец 666. Panayotov and Popova (2010) предполагат, че повишената жизненост на семената от съответен етаж, е свързана с по-благоприятни условия на растеж и развитие през този период. От друга страна, Ries et al. (1976) установяват, че жизнеността на семена от пшеница, които са с различно разположение в класа, доказано корелира с размера на семената. В условията на проучването тази зависимост се потвърждава, като стойностите на корелационния коефициент е 0.898.

Дисперсионният анализ на данните показва доказано влияние на факторите „сорт" и „етажност на семената" по отношение на основните параметри (кълняемост, дължина и тегло на кълна) и при двете бобови култури (Таблица 3).

seed vitality for the 2nd layer were 29.9 and 19.0%, respectively, and were especially strong-pronounced for Glyans and Pleven 4 pea cultivars, and Liya and Obrazets 666 vetch cultivars. Panayotov and Popova (2010) suggested that the higher seed vitality of the respective layer was related to more favourable growth and development conditions during that period.

On the other hand, Ries et al. (1976) established that the vitality of wheat seeds with different positions within the ear had a significant correlation with seed size. This correlation was confirmed in the course of the present study with a correlation coefficient value of 0.898.

Dispersion data analysis showed a significant impact of "cultivar" and "seed layering" factors in relation to the basic parameters (germination, germ length and weight) for both leguminous crops (Table 3).

Таблица 3. Анализ на варианса по отношение покълнване на семената и нарастване на кълна в зависимост от проучваните фактори
Table 3. Analysis of variance for seed germination and germ growth depending on the factors studied

Причини за вариране Causes of variation	Степени на свобода Degrees of freedom	Сума на квадратите Sum of squares	Влияние на фактори Influence of factors	Сума на квадратите Sum of squares	Влияние на фактори Influence of factors	Сума на квадратите Sum of squares	Влияние на фактори Influence of factors
Показатели Indicators		Покълнване/ Germination		Дължина на кълн/ Germ length		Тегло на кълн/ Germ weight	
	Pisum sativum						
Общо/Total	29	920.47	100.0	856.75	100.0	0.227	100.0*
Фактор А - сорт Factor A -cultivar	4	303.63	33.0*	736.15	85.9*	0.155	68.3*
Фактор Б – етажност на семена/Factor B – seed-layers effect	1	270.60	29.4*	82.24	9.6*	0.058	25.6*
A×B	4	62.90	7.6	37.37	4.4*	0.011	4.8*
Грешка/Error	20	283.33	30.8	0.99	0.1	0.002	0.9
	Vicia sativa						
Общо/Total	29	504.17	100.0	106.50	100.0	0.031	100.0
Фактор А/Factor A -- cultivars	4	125.00	24.8*	26.86	25.2*	0.016	51.6*
Фактор Б/Factor B - layers	1	187.50	37.2*	68.86	64.7*	0.012	38.7*
A×B	4	25.00	5.0	7.15	6.7*	0.001	3.2*
Грешка/Error	20	166.17	33.0	3.86	3.6	0.002	6.5

*LSD at 0.05 probability level

При пролетния грах, факторът „сорт” оказва най-силно влияние върху проучваните параметри – от 33.0 до 85.9% от общото вариране. При пролетния фий, сортът има доминиращо действие само по отношение тегло на кълна, докато факторът „етажност на семената” има определящо значение за кълняемостта и дължината на кълна (37.2 и 64.7%). И при двата вида, взаимодействието на факторите (A × B) е по-слабо изразено, но математически доказано за параметрите на първоначален растеж.

Съдържанието на суров протеин при бобовите култури определя в значителна степен качеството на семената. Количеството му при сортовете грах, обект на настоящия експеримент, варира от 185.9 (Глянс) до 225.5 (Свит) g kg DM^{-1}, а при сортовете фий – от 289.0 (Образец 666) до 320.5 (Молдовская) g kg DM^{-1} Фигура 2). В противовес на предходните показатели, разликите в съдържанието на СП между семената от двата етажа са незначителни (от 0.0 до 2.8%), нееднопосочни и статистически недоказани. При оценка на пет сорта грах, Naneva and Sachanski (1972) установяват по-високо протеиново съдържание на семената от долните и средните етажи при три от тях (Монголия 1372, Африка 171, Палмиро Тоби 1667), а при останалите два (Испания 135, Америка 1289) подобна зависимост липсва. Като цяло, проучванията по този въпрос в научната литература са ограничени и в много случаи противоречиви. Необходими са допълнителни изследвания, които да изяснят промените в химичния състав на семената в зависимост от положението им върху майчиното растение при различните видове, които да са представени от достатъчен на брой сортове.

For spring pea, the cultivar factor had the strongest effect on the studied parameters – from 33.0 to 85.9% of the total variation. For spring vetch, the cultivar factor dominated only with regard to germ weight, while seed layering acted essential for germination capacity and germ length (37.2 and 64.7%).

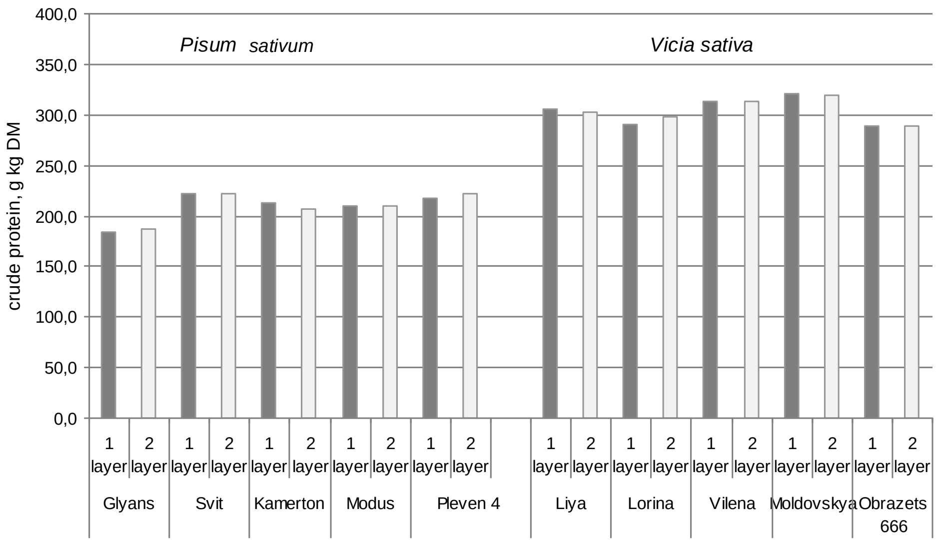
For both species, the interaction of factors (A × B) was weaker pronounced, but mathematically significant for initial growth parameters.

Crude protein content in leguminous crops determines seed quality to a great extent. Its quantity in peas cultivars, subjects of the present experiment, varied from 185.9 (Gliyans) to 225.5 (Svit) g kg DM^{-1}, and for vetch cultivars - from 289.0 (Obrazets 666) to 320.5 (Moldovskaya) g kg DM^{-1} (Figure 2).

Contradicting the former indicators, the differences of seed crude protein content in both layers were negligible (from 0.0 to 2.8%), unidirectional and statistically not significant. Naneva and Sachanski (1972) studied five peas varieties and established higher protein content in low- and middle-layer seeds for three of them (Mongolia 1372, Africa 171, Palmito Tobi 1667), and in the other two (Spain 135 and America 1289) such dependency was not detected.

As a whole, research studies in this area are limited and often controversial.

Additional experiments are needed to clarify the changes in seed chemical content according to seeds position on the mother plant for the different species, represented by a sufficient number of cultivars.



Фиг. 2. Съдържание на суров протеин при сортове грах и фий в зависимост от разположението им върху растението (1ви и 2ри етаж)

Fig. 2. Crude protein content in pea and vetch cultivars in dependence of their position on the plant (1st and 2nd layer)

ИЗВОДИ

Резултатите от проведения експеримент показват наличие на хетерогенност в качеството на семената в зависимост от разположението им върху майчиното растение при видовете *Pisum sativum* и *Vicia sativa*.

Стойностите на параметрите на първоначален растеж (дължина и тегло на първичния кълн) и кълняемостта на семената от горния (2ри) етаж са по-ниски в сравнение със същите от долния (1ви) етаж средно с 25.1, 30.0 и 9.1% при пролетния грах, и с 14.5, 21.9 и 6.2% при пролетния фий. Различията в параметрите на първоначален растеж са по-силно изразени при сортове, отличаващи се с по-голяма височина, продължителен период на цъфтеж и бобообразуване – Плевен 4 и Образец 666. Индексът на растежна сила, като сумарен показател за оценка, определя по-висока жизненост на семената, формирани в бобовете от 1ви етаж в сравнение с жизнеността на семената от 2рия етаж.

CONCLUSIONS

The results from the conducted experiment showed the existence of heterogeneity in seed quality according to their position on the mother plant for *Pisum sativum* and *Vicia sativa* species.

The values of initial growth parameters (germ length and weight) and germination of the upper-layer (2nd-layer) seeds were, on the average, lower than the values of the 1st-layer seeds with 25.1, 30.0 and 9.1%, for spring peas and with 14.5, 21.9 and 6.2% for spring vetch.

Differences in initial growth parameters were stronger for cultivars with greater height, longer flowering and pod formation stages – Pleven 4 and Obrazets 666.

The seed vigour index, as an estimating summary indicator, determined higher seed vitality of seeds formed in the 1st layer pods compared with seed vitality of 2nd layer pods.

Липсват доказани разлики между семената от двата етажа по отношение маса на 1000 семена и съдържание на суров протеин.

Concerning 1000 seed mass and crude protein content, differences between seeds on both layers were not significant.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Adam, N.M., J.M.B. McDonald and P.R. Henderlong**, 1989. The Influence of Seed Position, Planting and Harvesting Dates on Soybean Seed Quality. *Seed Science and Technology*, 17 (1), 143-152.
2. **Alan, O. and B. Eser**, 2007. Pepper Seed Yield and Quality in Relation to Fruit Position on the Mother Plant. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (23), 4251-4255.
3. **Austin, R.B. and P.C. Longden**, 1975. Source of Variation in Weight of Peas. National Vegetable Research Station, Annual Report.
4. **Abdul-Baki, A. and J. D. Anderson**, 1973. Vigour Determination in Soyabean Seed by multiple Criteria. *Crop Science*, 13 (6), 630-63.
5. **Baskin, C.C. and J.M. Baskin**, 1998. Seeds, Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy, and Germination. San Diego: Academic Publishing
6. **Bewley, J.D. and M. Black**, 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. Plenum press, New York.
7. **Cocks, P.S**., 1990. Dynamics of Flower and Pod Production in Annual Medics *(Medicago* spp.). I. Spaced Plants. *Australian Journal of Agricultural Research*, 41 (5), 911-921.
8. **Doijode, S.D**., 1984. Effect of Seed Size on the Longevity of Seeds in French Bean *(Phaseolus vulgaris* L.). *Singapore Journal Primary Industries*, 12, 62 - 69.
9. **Dudhe, A.T., A.D. Dumbre and M.T. Bhingar**, 1996. Effects of Umbel Order on Viability and Vigour of Onion Seed. *Journal of Maharashtra Agricultural University*, 21: 353-355.
10. **Egli, D.B., D.M. TeKrony and R.A. Wiralaga**, 1990. Effect of Soybean Seed Vigour and Size on seedling Growth. *Journal of Seed Technology*, 14 (1), 1-12.
11. **Fedotova, V.S.**, 1960. Peas. Moscow. (Ru)
12. **Foroughi, A., J. Gherekhloo and F. Ghaderifar**, 2014. Effect of Plant Density and Seed Position on Mother Plant on Physiological Characteristic of Cocklebur (*Xanthium strumarium*) Seeds. *Planta Daninha Viçosa-MG*, 32 (1), 61-68.
13. **Gromova, A.I**., 1968. Variation in Quality of Soybean Seeds Depending on the Time of Formation and Location of the Plants. Amur Agricultural Experiment Station. (Ru).
14. **Illipronti, J.R.A., W.J.M. Lommen, C.J. Langerak and P.C. Struik**, 2000. Time of Pod Set and Seed Position on the Plant Contribute to Variation in Quality of Seeds within Soybean Seed Lots. *Netherlands Journal Agricultural Science*, 48 (2), 165-180.
15. **Ikeda, F.S., R. Carmona, D. Mitja and R.M. Guimaraes**, 2008. Light and KNO3 on *Tridax procumbens* Seed Germination at Constant and alternating Temperatures. *Planta Daninha*, 26 (4), 751-756.
16. ISTA, 2003. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. Bassersdorf, CH-Switzerland.
17. **Luzuriaga, A.L., A. Escudero and F. Perez-Garsia**, 2006. Environmental Maternal Effects on Seed Morphology and Germination in *Sinapis arvensis* (Cruciferae). *Weed Research*, 46 (2): 163-174.
18. **Munir, J., L.A. Dorn, K. Donohue and J. Schmitt,** 2001. The Effect of Maternal Photoperiod on Seasonal Dormancy in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 88 (7), 1240-1249.

19. **Naneva, D. and S. Sachanski**, 1972. The Productive Properties of Pea Grains, Depending on the Position of the Pods in Storeys. Scientific session of IFC "Problems of protein fodder production", Agricultural Academy, pp.117-121.
20. **Ovcharov, K.E. and E.G. Kizilova**, 1966. Differences in Seed Quality and Productivity of Plants. Kolos (Ru).
21. **Panayotov, N**., 2005. Technological Management and Factors Influencing Seed Quality of Vegetable Crops. In: Vegetables: Growing Environment and Mineral Nutrition (D. Ramdane, ed.). WFL Publisher, Helsinki, Finland, pp. 138-165.
22. **Panayotov, N. and A. Popova**, 2010. Heterogeneity Behaviors of Cabbage in Dependence of Their Position on the Mother Plant. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 47: 574-579.
23. **Radevska, M., A. Stoilova, I. Palov and K. Sirakov**, 2012. Impact of Electromagnetic Treatment and Storage Term on the Pre-sowing Properties of Cotton Seeds. I. Laboratory germination. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 49: 19-27.
24. **Ries, S., G. Ayers, V. Wert and E. Everson**, 1976. Variation in Protein, Size and Seedling Vigor with Position of Seed in Heads of Winter Wheat Cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*, 56 (4), 823-827.
25. **Rizzardi, M. A., A.R. Luiz, E.S. Roman and L. Vargas**, 2009. Effect of Cardinal Temperature and Water Potential on Morning Glory (*Ipomoea triloba*) Seed Germination. *Planta Daninha*, 27 (1), 13-21.
26. **Siddique, A.B., A. Khatun, M.M. Rahman and D. Wright**, 2003. Studies on the Effects of Pod Position on the Mother Plant and Sowing Density on Flowering, Pod Production, Seed Yield, Yield Components and Viability of Pea Seeds. *Pakistan Journal of Biological Science*, 6 (7), 680-685.
27. **Still, D.W**., 1999. The Development of Seed Quality in Brassicas. *HortTechnology*, 9 (3), 335-340.
28. **TeKrony, D. M. and D. B. Egli**, 1991. Relationship of Seed Vigor To Crop Yield: A review. *Crop Science*, 31: 816-822.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (4), 87-99 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Растежните регулатори – средство за повишаване количеството и качеството на протеина при пролетен фий (*Vicia sativa* L.)

Николай Минев

Аграрен университет, бул. Менделеев 12, 4000 Пловдив, България

Growth Regulators as a Means of Increasing the Quantity and Quality of Protein in Common Vetch (*Vicia sativa* L.)

Nikolay Minev

Agricultural University, 12 Mendeleev Blvd., 4000 Plovdiv, Bulgaria
**E-mail: nikiminev@abv.bg*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Проучването е проведено с цел да се установи ефекта от прилагането на листни растежни регулатори, както върху съдържанието и качеството на протеина, така и върху биологичната му стойност при пролетен фий. За изпълнение на поставената цел през периода 2008-2010 г. бе изведен тригодишен полски експеримент с два български сорта пролетен фий – „Добруджа“ и „Образец 666“. Внасянето на регулаторите бе еднократно, във фенофаза бутонизация - начало на цъфтеж. Резултатите сочат, че при сорт „Добруджа“ листното прилагане на препаратите РЕНИ Д и Молибденит повишава съдържанието на суров протеин с 4.4 и 1.1%. При сорт „Образец 666“, вариантите с прилагане на РЕНИ, РЕНИ Д и Бормакс са с най-високи стойности по отношение на този показател (5.1, 3.8 и 2.5% повече протеин спрямо нетретираните растения). Третирането на *Vicia sativa* L. с растежните регулатори РЕНИ, РЕНИ Д и биологичния продукт Бормакс повишава количеството на протеино-

SUMMARY

The study was carried out with the aim of establishing the effect of the application of foliar growth regulators on the content and quality of protein and its biological value in common vetch. For achieving the aim set, a three-year field trial was carried out in the period 2008-2010 with two Bulgarian common vetch cultivars – ‘Dobrudzha’ and ‘Obrazets 666’. The regulators were applied once in the season in the phenological stage of budding to beginning of flowering. The results obtained show that in ‘Dobrudzha’ cultivar, the foliar applied products RENI D and Bormax increased the crude protein yield by 4.4 and 1.1%. In ‘Obrazets 666’ the highest values of the characteristics were obtained after treatment with RENI, RENI D and Bormax (5.1, 3.8 and 2.5% higher protein yield compared to the untreated plants). Treatment of *Vicia sativa* with the growth regulators RENI, RENI D and the biological product Bormax increased the amount of proteinogenic amino acids and EAAI index of the obtained protein in both

генните аминокиселини и EAAI индекса на добития протеин при двата сорта пролетен фий, включени в опита.

Ключови думи: пролетен фий, растежни регулатори, протеинови култури, качество на протеина

common vetch cultivars included in the study.

Key words: common vetch, growth regulators, protein crops, protein quality

УВОД

През последните години изследванията, свързани с влиянието на различни екзогенни вещества (растежни регулатори, листни торове и др.) върху добива и качеството на зърнено-бобовите растения, представляват интерес за много автори (DeMason and Chawa, 2005; Bora and Sarma, 2006; Elkoca and Kantar, 2006; Lingorski and Kertikov, 2005; Yadav et al., 2008). Установено е, че прилагането им води до положителен ефект върху симбиотичната азотфиксация и повишава добива и качеството на зърното при бобовите култури (Popov and Dzimotudis, 2007; Popov and Georgieva, 2009).

Най-добре проучената азотфиксираща система е между почвената бактерия *Rhizobium spp* и различни представители на бобовите растения от сем. *Fabaceae*. Причината за това е, че бобовите културни растения имат основен принос за белтъчния баланс в храненето на хората и животните. Някои от тях (соя, грах, и др.) съдържат до 35% пълноценен белтък в семената си. Предимството на бобовите растения е, че могат да растат на почви с много ниска концентрация на свързан азот, където развитието на други растения е затруднено. Въпреки това са известни над 200 видове небобови растения, фиксиращи атмосферен азот в симбиоза с микроорганизми.

Извънкореновото внасяне на B, Mo, Co и комплексния микротор Миком (съдържащ B, Mo, Co и Zn) във фаза бутонизация, повлияват добива на зърно при полски грах. Третирането с B повишава добива на зърно средно с 0.33 t/ha, с Mo – 0.26 t/ha, с Co – 0.28 t/ha и с комплексния микротор Миком -

INTRODUCTION

In recent years, research studies on the effect of various exogenous substances (growth regulators, foliar fertilizers, etc.) on the yield and quality of legumes have been of interest to a number of authors (DeMason and Chawa, 2005; Bora and Sarma, 2006; Elkoca and Kantar, 2006; Lingorski and Kertikov, 2005; Yadav et al., 2008). It was established that the application of those substances had a positive effect on symbiotic nitrogen fixation and increased the grain yield and quality in legumes (Popov and Dzimotudis, 2007; Popov and Georgieva, 2009).

The best studied is the nitrogen-fixation system between the soil bacterium *Rhizobium spp*. and various legumes of the *Fabaceae* family. The reason is that legumes have a major contribution to the protein balance in human and animal nutrition. Some of them (*soy-bean, peas*, etc.) contain up to 35% of full-value protein in their grain. The advantage of the legumes is that they can be cultivated on soils with very low concentrations of bound nitrogen, where the development of other plants is hampered. However, more than 200 species of non-legumes are known to fix atmospheric nitrogen in symbiosis with microorganisms.

The foliar application of B, Mo, Co and the complex microfertilizer Mikom (containing B, Mo, Co and Zn) in the budding stage had a positive effect on the grain yield of field peas. Treatment with B increased the grain yield by an average of 0.33 t/ha, Mo – by 0.26 t/ha, Co – by 0.28 t/ha and the complex microfertilizer Mikom –

0.43 t/ha. Съдържанието на суров протеин се повишава (с 1.0 - 1.1%) във вариантите пръскани с Co и Mo. Под влиянието на Mo и комплексния микротор Миком нараства коефициентът на използване на фосфора (Tsyganov and Vildlush, 2004).

Внасянето на манган под формата на $MnSO_4$ също е ефективно мероприятие от технологията за отглеждане на граха. Прилагането му повишава добивите на зърно средно с 250 до 300 kg/ha (Gómez et al., 2006). Като елемент с променлива валентност, Mn активно участва в регулиране на окислително-редукционните реакции при процесите на дишането, фотосинтезата, азотния и въглехидратния обмен и др. Освен това участва в активния център на хидроксилредуктазата и т. нар. Асимилационен ензим (Gorbanov et al., 2005).

Борът е елемент, който играе ключова роля в строежа на клетъчната мембрана, добивът на семена, удължаването на корена и метаболизма на захари в растителния организъм. Молибденът стимулира основно азотфиксацията при бобовите и редукцията на NO_3^-, свързани с по-високо протеиново съдържание в зърното на бобовите култури (Gupta et al., 2011).

Увеличение на азотното, белтъчното и аминокиселинното съдържание в зърното на граха регистрират El-Beheidi et al. (1995) и Stakhova et al. (2000), след листно приложение на фолиева киселина, като преимуществено се повишава съдържанието на аминокиселините глутамин, глицин и метионин.

В изследванията си Zhelyazkova and Pavlov (2007), изпитват влиянието на препаратите N-40 (NAA) – 200 и 300 cm^3/ha, HP-55 (хлорофеноксиоцетна киселина) – 100 и 200 cm^3/ha и G-31 (хлорофеноксиоцетна киселина + нафтоксиоцетна киселина) – 300 cm^3/ha върху продуктивността, химичния състав и хранителната стойност на пролетен грах сорт „Богатир“. С най-благоприятен ефект е N-40 в доза 200

by 0.43 t/ha. The crude protein content also increased in the variants treated with Co and Mo (1.0 and 1.1%). Application of Mo and the complex microfertilizer Mikom increased the phosphorus utilization factor (Tsyganov and Vildlush, 2004).

The introduction of manganese in the form of $MnSO_4$ is also an effective measure in the pea cultivation technology. Its application increased the grain yields by an average of 250 to 300 kg/ha (Gómez et al., 2006). As an element having a variable valence, Mn actively participates in the regulation of redox reactions in the processes of respiration, photosynthesis, nitrogen and carbohydrate metabolism, etc. In addition, it participates in the active center of hydroxyl reductase and the so-called assimilation enzyme (Gorbanov et al., 2005).

Boron is an element playing a key role in the cell membrane structure, grain yield, root elongation and sugar metabolism in the plant organism. Mo mainly stimulates nitrogen fixation in legumes and the reduction of NO_3^-, associated with the higher protein content in the grain of legumes (Gupta et al., 2011).

Increased content of nitrogen, protein and amino acids in pea grain was reported by El-Beheidi et al. (1995) and Stakhova et al. (2000) after foliar application of folic acid, increasing mainly the content of the amino acids glutamine, glycine and methionine.

In their studies, Zhelyazkova and Pavlov (2007) tested the effect of N-40 (NAA) – 200 and 300 cm^3/ha, HP-55 (chlorophenoxyacetic acid) – 100 and 200 cm^3/ha and G-31 (chlorophenoxyacetic acid + naphthoxyacetic acid) – 300 cm^3/ha, on the productivity, chemical composition and nutritional value of field peas of ‘Bogatir’ cultivar. The most favourable effect was established after treatment with N-40 applied at the rate of cm^3/ha. Във вариантите добивът на зърно се увеличава с 17.4%, количеството суров протеин с 14.3%, а кръмните единици с 17.8%.

В проучванията на Kertikov (2002), свързани с третиране на пролетен фуражен грах „Плевен 4“ с биологично активни вещества в различни дози се установява положителното им влияние върху добива на зърно и суров протеин. Най-висок ефект е наблюдаван при третирането с биопрепарата Н-40. Приложен във фаза бутонизация и доза 100 cm^3/ha увеличението на добив зърно е с 18.7%, а на суров протеин с 13.0%, а във фаза цъфтеж и доза 200 cm^3/ha превишението в стойностите на показателите е съответно с 20.8 и 20.7%.

Информацията по отношение ефекта на екзогенно внесените вещества с регулаторни функции върху добива и качеството на протеина при бобовите култури е недостатъчна. Ето защо, настоящото проучване може да бъде полезно за научната и научно-приложната дейност.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изведен е полски опит, за установяване влиянието на РЕНИ, прилаган самостоятелно и в комбинация с елемента бор (В), както и на търговските препарати Бормакс, Манганов хелат и Молибденит, върху качествените параметри на сортове пролетен фий. Опитът е заложен на УОВБ на Аграрен университет - Пловдив през периода 2008-2010 г. по метода на дробните парцели, в четири повторения и големина на опитната парцела 10 m^2. Третирането на двата сорта е извършено във фаза бутонизация, при следните концентрации: РЕНИ – 0.5%; РЕНИ Д – 0.5%; Манганов хелат – 0.4%; Молибденит – 0.2%; Бормакс – 0.4%.

Растителни анализи

Суровият протеин (%) в зърното на фия е определен чрез минерализи-

200 cm^3/ha. In the treated variants, the grain yield increased by 17.4%, the crude protein by 14.3% and the feed units by 17.8%.

In studies of Kertikov (2002) on treatment of forage peas of ‘Pleven 4’ cv. with biologically active substances, applied at different rates, it was established that they had a positive effect on the grain yield and the crude protein content. The highest effect was obtained after treatment with the bioproduct H-40. When applied at the rate of 100 cm^3/ha in the budding stage, the increase in grain yield was 18.7% and in crude protein 13.0%. The product application at the rate of 200 cm^3/ha in the flowering stage resulted in an increase of 20.8 and 20.7%, respectively.

However, there is very scarce information regarding the effect of exogenously imported substances with regulatory functions on the protein yield and quality in legumes. Therefore, we believe that the present study could be useful from both a scientific and a scientific-and-applied point of view.

MATERIAL AND METHODS

A field trial was carried out to establish the effect of RENI, applied separately and in a combination with boron (B), as well as the commercial products Bormax, Manganese chelate and Molybdenite, on the quality characteristics of common vetch cultivars. The experiment was conducted on the Training-and-Experimental Site of the Agricultural University of Plovdiv in the period 2008-2010 by the split-plot design method in four replications, the size of the experimental plot being 10 m^2. The two cultivars were treated in the stage of budding with the following concentrations: RENI – 0.5%; RENI D – 0.5%; Manganese chelate – 0.4%; Molybdenite – 0.2%; Bormax – 0.4%.

Plant analysis

The crude protein content (%) in common vetch grain was determined by ране на растителните проби с концентрирана сярна киселина и катализатор перхидрол по метода на Келдал, с последваща дестилация на минерализираната проба на апарата на Парнас-Вагнер и умножаване на получените стойности на общия азот по коефициент 6.25.

Общите и незаменимте аминокиселини (%) са определени на аминоанализатор тип Knauer в зърното на фия, след хидролиза на растителния материал с 6nHCl.

Essential amino acid index (EAAI), изчислен по формулата на Oser (1951) и по логаритъм на проф. дсн Д. Павлов, отразяващ каква част представляват незаменимите аминокиселини от незаменимите аминокиселини на яйчния белтък.

Използвани сортове пролетен фий

Пролетен фий сорт „Образец 666“ е създаден е от проф. М. Пехливанов и е изпитан в системата на държавното сортоизпитване за БСК през 1970-1973 г. и за РХС - 2001-2002 година. Сортът има бърз темп на развитие, рано изцъфтява и узрява, като изпреварва летните засушавания. Абсолютното тегло на семената е 80 - 100 g, а и хектолитровата маса – 80-85 kg. Средениият добив на сорта е 2326 kg/ha.

Пролетен фий сорт „Добруджа“ е създаден в Добруджански земеделски институт - Г. Тошево. Изпитван в системата на държавното сортоизпитване за БСК през 2001-2002 г., а за РХС - през 2002-2003 г. Вегетационният му период е средно 81 дни. Височината на залагане на първия боб е 33 cm. Сортът е неустойчив на полягане, както и стандартния сорт. Масата на 1000 семена е 62.99 g. Хектолитровата маса варира от 76.9 до 85.0 kg. Съдържанието на протеин е средно 31.37% абсолютно сухо вещество. Сортът е със средна устойчивост на аскохитоза, и устойчивост на брашнеста мана и ръжда.

mineralization of the plant samples with concentrated sulfuric acid and perhydrol used as a catalyst, following the method of Kjeldahl, with subsequent distillation of the mineralized sample on Parnassus-Wagner apparatus and multiplying the obtained values of total nitrogen by a coefficient of 6.25.

Total and essential amino acids (%) in vetch grain were determined by a Knauer type amino-analyzer after hydrolysis of the plant material with 6nHCl.

Essential amino acid index (EAAI) was calculated by the formula of Oser (1951) and by the logarithm of Prof. D. Pavlov, reflecting the ratio of the essential amino acids to those in egg white.

Common vetch cultivars used

Common vetch cultivar ‘Obrazets 666’ was developed by Prof. M. Pehlivanov and tested by the State Varietal Testing system for biological and economic qualities in 1970-1973 and for distinctness, uniformity and stability in 2001-2002. The cultivar has a rapid development rate, early flowering and maturity, before summer droughts. The absolute seed weight is 80-100 g and the hectolitre weight – 80-85 kg. The average yield is 2326 kg/ha.

Common vetch cultivar ‘Dobrudzha’ was established at Dobrudzha Agricultural Institute in General Toshevo and tested by the State Varietal Testing system for biological and economic qualities in 2001-2002 and for distinctness, uniformity and stability in 2002-2003. The vegetation period is 81 days on average. The height of the first pod is 33 cm. The cultivar is susceptible to lodging, as is the standard cultivar. The weight of 1000 seeds is 62.99 g. The hectoliter weight varies from 76.9 to 85 kg. The protein content is 31.37% of the absolute dry matter on average. It is moderately resistant to ascochitosis and resistant to powdery mildew and rust.

Използвани препарати.

Препаратите **РЕНИ** са комбинации от йоните на молибден, манган, магнезий в различни концентрации и съотношения, които допълнително и целенасочено се комбинират с агенти, имащи известно биохимично и физиологично действие, като микроелементи, синтетични регулатори от цитокининов тип, основни метаболити и др.

РЕНИ Д е с основен състав на РЕНИ и допълнителна добавка на елемента бор.

Манганов хелат – листен тор за фертигация, хидропоника и листно приложение при недостиг на манган. Прилага се в концентрация 0.2-0.4% разтвор. Използването може да бъде комбинирано с листно подхранване с воден разтвор на карбамид. Манганът е в хелатна форма (EDTA), която е по-лесно достъпна за растенията.

Молибденит – листен тор за фертигация, хидропоника и листно приложение при култури (картофи, зеле, броколи, фасул, грах, домати) с високо изискване на молибден. Прилага се листно в концентрация 0.1-0.2%.

Бормакс – листен тор за всички култури (царевица, цвекло, овощни, картофи, бобови, зеленчукови и цветя) с високи изисквания към елемента бор. Внася се листно в концентрация 0.3-0.4%. Норма на приложение - 1 l/ha.

Growth regulators used

RENI products are combinations of molybdenum, manganese and magnesium ions in different concentrations and ratios, which are additionally and purposefully combined with agents with a biochemical and physiological action, such as trace elements, synthetic regulators of cytokinin type, basic metabolites and others.

RENI D contains the main elements of RENI with B (boron) added.

Manganese chelate is a foliar fertilizer for fertigation, hydroponics and foliar application in manganese deficiency. It is applied at a concentration of 0.2-0.4% solution. Its introduction can be combined with foliar nutrition with an aqueous solution of urea. In the present study Mn is in a chelated form (EDTA), which is easily absorbed by plants.

Molybdenite is a foliar fertilizer for fertigation, hydroponics and foliar application in crops with high molybdenum requirements: potatoes, cabbage, broccoli, beans, peas, tomatoes. Leaf application is at a concentration of 0.1-0.2%.

Bormax is a foliar fertilizer for different crops with high requirements for boron – maize, beets, fruits, potatoes, legumes, vegetables and flowers. Foliar application is at a concentration of 0.3-0.4% and the application rate is 1 l/ha.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Съдържание на суров протеин

Зърното на пролетният фий е богато на протеин, но поради високото участие на някои глюкозиди (вицин и ковицин) не може да се използват за изхранване на селскостопанските животни в големи количества.

За периода 2008-2010, при сорт „Добруджа“, количеството на суровия протеин варира от 27.06 g/100 g до 32.44 g/100 g СВ. Сорт „Образец 666“ се характеризира с по-ниско протеиново съдържание в зърното (от 25.07 до 30.06 g/100 g СВ).

RESULTS AND DISCUSSION

Crude protein content

Vetch grain is rich in protein, but due to the high content of some glycosides (vicine and convicine), it cannot be used in large quantities in animal feed.

For the period 2008-2010, the crude protein yield obtained from ‘Dobrudzha’ cultivar varied by variants from 27.06 g/100 g of dry matter to 32.44 g/100 g of dry matter. ‘Obrazets 666’ cv. was characterized by lower protein content in grain (from 25.07 to 30.06 g/100 g of dry matter).

Анализът на резултатите по години при сорт „Добруджа“ показва най-високо протеиново съдържание в състава на зърното през последната (2010) година на опита. Стойностите на показателя варират от 30.44 g/100 g (Контрола) до 32.44 g/100 g (РЕНИ Д). С най-ниски стойности на показателя е първата (2008) година от експеримента във вариантите с Бормакс (27.06 g/100 g) и РЕНИ Д (29.47 g/100 g). Семената на сорт „Образец 666“ са с най-високи стойности на суров протеин през опитната 2009 година (29.06-30.63 g/100 g), а през първата година, средното съдържание на протеина е най-ниско (27.06-29.47 g/100 g) (Таблица 1).

Резултатите сочат, че внасянето на изпитваните регулатори на растежа повлиява положително протеиновото съдържание в състава на зърното за двата изпитвани сорта.

При сорт „Добруджа“, количеството на суровия протеин е повишено в по-висока степен (4.4%) единствено при третиране с РЕНИ Д. При останалите регулатори на растежа, разликите в средните стойности на показателя сравнение с контролата са несъществени.

Пролетният фий сорт „Образец 666“ реагира по-чувствително на действието на изпитваните регулатори. Увеличението в съдържанието на суров протеин е по-високо сравнено с това на сорт „Добруджа“. Стойностите на показателя във вариантите с третиране превишават контролата от 1.8% (Mn хелат) до 5.1% (РЕНИ). Минимална е разликата в съдържанието на суров протеин във вариантите с РЕНИ (28.16 g/100 g) и Молибденит (28.07 g/100 g).Третирането с РЕНИ Д (27.82 g/100 g) и Бормакс (27.47 g/100 g), повиши съдържанието на суров протеин в зърното на културата съответно с 3.8 и 2.5% спрямо контролата.

In ‘Dobrudzha’ cultivar, the analysis of the results by years shows the highest protein content in the last year of the study (2010), the values ranging from 30.44 g/100g (Control) to 32.44 g/100g (RENI D).

The lowest values were reported in the first year (2008) – from 27.06 g/100 g in the variant treated with Bormax to 29.47 g/100 g in the variant treated with RENI D. The highest values of that characteristic in ‘Obrazets 666’ cultivar were reported in 2009 (29.06 to 30.63 g/100 g), while in the first year of the study the average content was the lowest (27.06 to 29.47 g/100 g), (Table 1).

The results show that the application of the tested growth regulators had a positive effect on the protein content in both studied cultivars.

In ‘Dobrudza’ cultivar, the crude protein content increased more significantly (4.4%) only after treatment with RENI D. In the other variants the differences compared to the control were insignificant.

Common vetch of ‘Obrazets 666’ cv. had a higher response to the applied growth regulators. A more significant increase in the crude protein content was reported compared to ‘Dobrudzha’. The values in the treated variants were higher compared to the control (1.8% after treatment with Mn chelate to 5.1% in the variant treated with RENI). A small difference in the crude protein content was reported between the variants with the application of RENI (28.16 g/100 g) and Molybdenite (28.07 g/100 g). Treatment with RENI D (27.82 g/100 g) and Bormax (27.47 g/100 g) resulted in an increase in the crude protein content in the crop grain by 3.8 and 2.5%, respectively, compared to the control variant.

Таблица 1. Съдържание на суров протеин в зърното на пролетен фий сортове „Добруджа“ и „Образец 666“по години и средно за периода 2008-2010, g/100 g сухо вещество

Table 1. Crude protein content in the grain of common vetch, ‘Dobrudzha’ and ‘Obrazets 666’ cultivars, by years and on average for the period 2008-2010, g/100 g of dry matter

Variants	Crude protein content, ‘Dobrudzha’ cv., g/100 g dry matter							
	2008	%	2009	%	2010	%	Average	%
Control	28.27	100.0	29.94	100.0	30.44	100.0	29.55	100.0
RENI	27.60	97.6	29.06	97.1	30.69	100.8	29.12	98.5
RENI D	29.47	104.2	30.63	102.3	32.44	106.6	30.85	104.4
Bormax	27.06	95.7	30.50	101.9	31.38	103.1	29.65	100.3
Mn Chelate	27.56	97.5	29.50	98.5	31.75	104.3	29.60	100.2
Molybdenite	28.20	99.7	29.94	100.0	31,50	103.5	29.88	101.1
-	Crude protein content, ‘Obrazets 666’ cv., g/100 g dry matter							
Control	25.68	100.0	28.63	100.0	26.06	100.0	26.79	100.0
RENI	25.85	100.7	28.69	100.2	29.94	114.9	28.16	105.1
RENI D	25.65	99.9	28.81	100.6	29.00	111.3	27.82	103.8
Bormax	25.60	99.7	30.06	105.0	26.75	102.6	27.47	102.5
Mn Chelate	25.93	101.0	28.06	98.0	27.81	106.7	27.27	101.8
Molybdenite	25.07	97.6	29.69	103.7	29.44	113.0	28.07	104.8

Сорт „Добруджа“ е с по-високо протеиново съдържание в зърното сравнен с „Образец 666“. Ефектът от прилагането на изпитваните препарати е по-нисък. Действието на растежния регулатор РЕНИ Д, оказва най-силно положително влияние върху съдържанието на суров протеин.

При „Образец 666“, листно приложените растежни регулатори имат по-силно изразен ефект. Внасянето на препаратите РЕНИ, Молибденит и РЕНИ Д, може да бъде препръчано като звено от технологията на отглеждане, с цел повишаване съдържанието на суров протеин в зърното на сорт „Образец 666“.

Аминокиселинен състав на зърното

Общото количество на заменимите аминокиселини във вариантите на сорт „Добруджа“ варира от 67.11 (РЕНИ Д) до 71.07 g/100 g (Бормакс) суров протеин (Таблица 2). Във варианта с Бормакс почти всички стойности на общи протеиногенни аминокиселини (пролин, глицин, хистидин, аланин, аспаргинова киселина, серин и глутаминова киселина) са повишени. Също така се наблюдава положително изменение в

‘Dobrudzha’ cultivar had a higher protein content in grain compared to ‘Obrazets 666’. The effect of the application of the studied products was lower. RENI D had the strongest positive effect on the crude protein content.

In ‘Obrazets 666’, the foliar applied growth regulators had a more pronounced effect. The application of RENI, Molybdenite and RENI D can be recommended for application in the cultivation technology with the aim of increasing the crude protein content in the grain of ‘Obrazets 666’ cv.

Amino acid content in grain

The total amount of the non-essential amino acids in the grain of ‘Dobrudza’ cultivar varied from 67.11 (RENI D) to 71.07 g/100 g of crude protein (Bormax), (Table 2). In the variant treated with Bormax the values of almost all the common proteinogenic amino acids (proline, glycine, histidine, alanine, aspartic acid, serine and glutamic acid) increased. In the other studied variants, there were positive changes in the amino стойностите на аминокиселините и при другите изпитвани препарати, но при тях липсва ясно изразена тенденция.

По отношение съдържанието на незаменимите аминокиселини, повишаващата тенденция в третираните варианти е ясно изразена. При внасяне на растежните регулатори РЕНИ и РЕНИ Д, количеството им в зърното на сорт „Добруджа“ се увеличава средно с 5.5 и 3.4% спрямо контролата. Препаратите Бормакс, Mn хелат и Молибденит увеличават незначително (от 2.5 до 2.9%) съдържанието на есенциални аминокиселини в зърното на пролетния фий.

acid values, but the tendency was not clearly observed.

An obvious tendency to an increase in the content of the essential amino acids in the treated variants was reported. After the application of the growth regulators RENI and RENI D their content in the grain in ‘Dobrudzha’ cv. increased by 5.5 and 3.4% on average compared to the control. The products Bormax, Mn chelate and Molybdenite slightly increased the content of the essential amino acids in common vetch grain (2.5 to 2.9%).

Таблица 2. Съдържание на незаменими аминокиселини в зърното на пролетен фий сорт „Добруджа“ (% към протеин), средно за периода 2008-2009 г.
Table 2. Content of essential amino acids in the grain of common vetch, ‘Dobrudzha’ cultivar (% to protein), on average for the period 2008-2009

Amino Acid	Variants					
	Control	RENI	RENI D	Bormax	Mn chelate	Molybdenite
Arginine	8.98	8.58	9.33	9.00	9.11	9.28
Histidine	2.94	2.76	2.99	3.14	3.02	3.18
Tyrosine	2.57	2.81	2.50	2.36	2.32	2.49
Alanine	4.28	4.42	4.47	4.41	4.42	4.33
Glycine	4.09	4.21	4.21	4.42	4.34	4.35
Cysteine	1.05	0.97	0.70	0.71	0.46	0.77
Proline	7.31	6.06	4.87	8.64	5.74	5.79
Glutamic acid	21.57	20.30	22.76	22.00	22.27	21.57
Serine	3.43	3.46	3.45	3.52	3.36	3.57
Asparagine acid	12.52	13.54	12.49	12.87	12.88	12.67
Total	68.74	67.11	67.77	71.07	67.92	68.00
	Essential Amino acids					
Lysine	6.27	**7.02**	6.70	6.81	6.73	6.70
Phenylalanine	4.58	5.34	4.76	4.55	4.55	4.91
Leucine	7.23	7.29	7.69	7.51	7.55	7.43
Isoleucine	4.46	4.51	4.52	4.42	4.56	4.35
Methionine	0.473	0.393	0.181	0.247	0.368	0.288
Valine	5.16	5.20	5.33	5.27	5.28	5.21
Threonine	3.04	3.17	3.09	3.18	3.09	3.14
Total	31.21	32.92	32.27	31.99	32.13	32.03
EAAI	0.63	**0.64**	0.59	0.60	0.63	0.62

Съдържанието на аминокиселината лизин се повишава най-съществено (12.0%) след третиране с препарата РЕНИ. В останалите варианти, количеството на лизина се увеличава от 6.9 до 8.6%. Прилагането на РЕНИ

The content of the amino acid lysine increased most significantly after treatment with RENI (12.0%). In the other variants, the lysine content increased by 6.9 to 8.6%. The application of RENI increased also the content of повишава и количеството на фенилаланин с 16.6%. Нарастват и стойностите на EAAI индекса (0.64) – критерий за повишаване на биологичната пълноценност на протеина във варианта с листно третиране на РЕНИ. Съдържанието на треонин нараства във всички третирани варианти: Mn хелат (с 1.6%), РЕНИ Д (с 1.6%), Молибденит (с 3.3%), РЕНИ (с 4.3%) и Бормакс (с 4.6%).

Средно за периода на изследване, съдържанието на общите протеиногенни аминокиселини в състава на протеина при пролетен фий сорт „Образец 666" (изразени като грамове на 100 грама суров протеин) варира от 67.99 g/100 g (РЕНИ Д) до 68.78 g/100 g (Mn хелат). Наблюдавано е значимо повишение в стойностите на аминокиселината цистеин в зърното третирано с РЕНИ Д и Молибденит. Стойностите на показателя превишават контролата съответно с 50.6 и 43.2%. Количеството на тирозина е повлияно съществено при внасянето на препаратите Бормакс, Mn хелат и РЕНИ. Превишението спрямо контролата е съответно с 20.8%, 19.2% и 16.7%. Макар и в по-малка степен, концентрацията на хистидина в зърното на сорт „Образец 666" нараства с от 1.0% (Mn хелат) до 7.4% (РЕНИ) в изпитваните варианти (изключение прави третирането с Молибденит).

Внасянето на регулаторите на растежа влияе положително върху съдържанието на незаменимите аминокиселини в протеина на семената от „Образец 666", особено във вариантите с внесен Бормакс, РЕНИ Д и РЕНИ (Таблица 3).

Специфичното тук е значимото повишение в стойностите на сяросъдържащата аминокиселина метионин в протеина на зърното от вариантите третирани с РЕНИ Д и Бормакс. Средните стойности на показателя превишават контролата съответно с 47.2 и 35.2%. Отчетено е увеличение в съдържанието на фенилаланин и валин във вариантите с внесени листно растежни регулатори и биоторове. Регистрирано

phenylalanine by 16,6%. The values of the EAAI index increased in that variant, too (0.64), which confirmed the improvement of the biological value of protein in the variant with foliar application of RENI. The content of threonine increased in all the treated variants: Mn chelate (1.6%), RENI D (1.6%), Molybdenite (3.3%), RENI (4.3%) and Bormax (4.6%).

On average for the study period, the content of the total proteinogenic amino acids in the protein of common vetch of 'Obrazets 666' cv. (expressed as grams per 100 g of crude protein) varied from 67.99/100 g (RENI D) to 68.78 g/100 g (Mn chelate). A great increase in the levels of the amino acid cysteine in the grain in the variants treated with RENI D and Molybdenite was found, the values exceeding the control by 50.6 and 43.2%, respectively. The tyrosine content was significantly affected by the application of Bormax, Mn chelate and RENI. The values were 20.8, 19.2% and 16.7% higher than in the control variant. The concentration of histidine in the studied variants increased in the grain of 'Obrazets 666' cv., although to a lesser extent – from 1.0% (Mn chelate) to 7.4% (RENI), the only exception being the variant treated with Molybdenite.

The introduction of growth regulators had a positive effect on the content of essential amino acids in the protein of grain in 'Obrazets 666' cv., especially in the variants treated with Bormax, RENI D and RENI (Table 3).

What is specific here is that the values of the sulfur-containing amino acid methionine in the grain protein in the variants treated with RENI D and Bormax increased sharply. The average values of the characteristic exceeded the control by 47.2 and 35.2%. An increase in the content of phenylalanine and valine was also reported in all the variants treated with foliar applied growth regulators and biofertilizers. An increase in the EAAI е нарастване и в стойностите на EAAI индекса във вариантите с Рени Д (0.61) и Бормакс (0.62).

index was also registered in the variants treated with RENI D (0.61) and Bormax (0.62).

Таблица 3. Съдържание на незаменими аминокиселини в зърното на пролетен фий сорт „Образец 666“ (% към протеин) средно за периода 2008-2009 г.
Table 3. Content of essential amino acids in the grain of common vetch, 'Obrazets 666' cv. (% to protein), on average for the period 2008-2009

Amino acid	Variants					
	Control	RENI	RENI D	Bormax	Mn chelate	Molybdenite
Arginine	9.10	9.11	9.15	9.19	9.07	8.83
Histidine	2.97	3.19	3.03	3.18	3.00	2.90
Tyrosine	2.45	2.86	2.29	2.96	2.92	2.27
Alanine	4.46	4.43	4.53	4.46	4.46	4.47
Glycine	4.37	4.44	4.49	4.47	4.39	4.41
Cysteine	0.81	0.81	1.22	0.81	0.86	1.16
Proline	5.48	5.17	5.61	4.93	5.25	6.50
Glutamic acid	22.22	21.96	21.70	21.75	22.40	21.75
Serine	3.60	3.58	3.41	3.60	3.54	3.45
Asparagine acid	12.88	12.77	12.56	12.81	12.89	12.93
Total	68.34	68.32	67.99	68.16	68.78	68.67
	Essential amino acids					
Lysine	6.70	6.91	6.90	6.91	6.71	6.52
Phenylalanine	4.22	4.59	4.51	4.49	4.37	4.45
Leucine	7.50	7.58	7.53	7.64	7,55	7.43
Isoleucine	4.54	4.43	4.46	4.49	4.58	4.46
Methionine	0.199	0.203	**0.293**	**0.269**	0.165	0.155
Valine	5.26	5.38	5.35	5.39	5.26	5.38
Threonine	3.16	3.13	3.00	3.19	3.12	2.98
Total	31.58	32.22	32.04	32.38	31.76	31.38
EAAI	0.58	0.60	**0.61**	**0.62**	0.57	0.56

Тенденцията за нарастване количеството на лимитиращата аминокиселина лизин, макар и в по-малка степен, се запазва за сорт „Образец 666“. Лизинът преобладава с около 3.0% повече в зърното на вариантите, третирани с препаратите РЕНИ, РЕНИ Д и Бормакс.

The tendency to an increase in the content of the limiting amino acid lysine remained the same in the cultivar 'Obrazets 666', although to a lesser extent. The lysine content was about 3.0% higher in the grain of the variants treated with RENI, RENI D and Bormax.

ИЗВОДИ

Листното прилагане на растежните регулатори води до повишаване на количеството на суровия протеин в зърното на сорт „Добруджа“ с 4.4% (РЕНИ Д).

Сорт „Образец 666“ реагира на изпитваните регулатори с по-чувствително увеличение в съдържанието на суров протеин, сравнен с „Добруджа“.

CONCLUSIONS

The foliar application of growth regulators led to an increase in the crude protein content in 'Dobrudzha' cultivar by 4.4% (RENI D).

'Obrazets 666' cv. responded to the studied regulators by a more significant increase in the crude protein content compared to 'Dobrudzha'. The protein

Протеиновото съдържание в зърното на сорт „Образец 666" е най-високо във вариантите с РЕНИ (28.16 g/100 g) и Молибденит (28.07 g/100 g). Превишението на показателя спрямо контролата е съответно с 5.1% и 4.8%. С 2.5 и 3.8% е повишено съдържанието на суров протеин във вариантите третирани с Бормакс и РЕНИ Д.

При сорт „Добруджа" внасянето на растежните регулатори променя съотношението на общите и незаменимите аминокиселини в полза на вторите, като най-силно изразен ефект има растежният регулатор РЕНИ (EAAI = 0.64). Наблюдава се значим превес в количеството на лизина в семенния протеин на варианта с РЕНИ (12.0%).

При „Образец 666", препаратите Бормакс, РЕНИ Д и РЕНИ променят съотношението между незаменимите и общите аминокиселини в суровия протеин в полза на незаменимите, което води до повишаване биологичната пълноценност на протеина (EAAI = 0.62, 0.61 и 0.60).

Прилагането на РЕНИ и РЕНИ Д повишава съдържанието на аминокиселините лизин и метионин в зърното на двата изпитвани сорта пролетен фий. Това е ценен показател, защото двете аминокиселини се явяват лимитиращи по отношение храненето на селскостопанските животни.

При пролетния фий сорт „Образец 666" се наблюдава нарастване общото количество на сяросъдържащите аминокиселини цистеин и метионин, което подобрява биологичната стойност на протеина. За разлика от „Образец 666", при сорт „Добруджа" се наблюдава обратната тенденция – съдържанието на цистеин и метионин в зърното на третираните варианти е по-ниско сравнено с контролата.

content in the grain of 'Obrazets 666' cv. was the highest in the variants treated with RENI (28.16 g/100 g) and Molybdenite (28.07 g/100 g). The values were 5.1% and 4.8% higher compared to the control. The protein content in the variants treated with Bormax and RENI D was 2.5 and 3.8% higher than in the control variant.

In 'Dobrudzha' cultivar, the application of the growth regulators changed the ratio of total and essential amino acids in favour of the latter, the strongest effect being established for the growth regulator RENI (EAAI = 0.64). The lysine content in the grain protein sharply increased in the variant treated with RENI (12.0%).

In 'Obrazets 666' cultivar, the application of the products Bormax, RENI D and RENI changed the ratio of essential and total amino acids in the crude protein in favour of the essential amino acids, increasing the biological value of protein (EAAI = 0.62, 0.61 and 0.60, respectively).

The application of RENI and RENI D led to an increase in the content of the amino acids lysine and methionine in the grain of the two studied common vetch cultivars. That is a valuable indicator, as both amino acids are limiting in the diets of farm animals.

In common vetch of 'Obrazets 666' cultivar, there was an increase in the total amount of the sulfur-containing amino acids cysteine and methionine in the treated variants, which improved the biological value of protein. In contrast to 'Obrazets 666', the opposite tendency was observed in 'Dobrudzha' cultivar – the content of cysteine and methionine in the grain was lower in the treated variants compared to the control.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Bora, R. K. and C. M. Sarma**, 2006. Effect of Gibberillic Acid and Cycocel on Growth, Yield and Protein Content of Pea. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5 (2), 324-330.

2. **El-Beheidi, M. A., El-Mansi A. A., Metwally A. M., Guirgis A. A. and S. A. Swidan**, 1995. Effect of Nitrogen Sources and Vitamin B1 on Growth and Yield of Pea Plants*. Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 33 (4), 1481-1459.

3. **Elkoca, E. and F. Kantar**, 2006. Response of Pea (*Pisum sativum* L.) to Mepiquat Chloride under Varying Application Doses and Stages. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 192 (2), 102-110.

4. **Gomez, M. I., Lopez, M. A. and Y. C. Cifuentes**, 2006. Manganese as a Positive Factor in the Potato (*Solanum tuberosum* L.) and Pea (*Pisum sativum* L.) Production in Soils of Cundiboyacense high Plain. Agronomia Colombiana, 340-347.

5. **Gorbanov, S., Stanchev, L., Matev, Y., Tomov, T. and G. Rachovski**, 2005. Agrochemistry. Academic Publishing House of the Agricultural University - Plovdiv.

6. **Gupta, C., Srivastava C., Prakash and C. Subhas**, 2011. Role of Micronutrients; Boron and Molybdenum in Crops and in Human Health and Nutrition. *Current Nutrition & Food Science*, 7 (2), 126-136.

7. **Kertikov, T.**, 2002. Effect of Some Biologically Active Substances on the Yield of Grain and Crude Protein from Spring Forage Peas. *Plant Sciences*, 39 (2), 26-30 (Bg).

8. **Lingorski, V. and T. Kertikov**, 2005. Determination of Suitability of Annual Spring Legume Forage Crops for Production of Green Forage under the Condition of Central Balkan Mountains. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 11 (5), 557-563.

9. **Oser, B.L.**, 1951. Methods for the Integrating Essential Amino Acid Content in the Nutritional Evaluation of Protein. *J Am Dietet Assoc*., 27: 399-404.

10. **Popov, N. and A. Dzimotudis**, 2007. Study of the Effect of ‘RENI‘ on the Quality and Productivity of Garden Peas. *Journal of Central European Agriculture*, 413-418.

11. **Popov, N. and T. Georgieva**, 2009. Study of the Effects of Treatment with Growth Regulators on Quality Characteristics of Oats. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 12 (5), 990-1002.

12. **Stakhova, L. N., Stakhov L. F. and V. G. Laygin**, 2000. Effect of Exogenic Folic Acid on the Yield and Amino Acid Composition of the Seeds of *Pisum sativum* L. and *Hordeum vulgare* L. *Applied Biochemistry and Microbiology (Prikladnaya biokhimiya I mikrobiologiya),* 36 (1), 98-103.

13. **Tsyganov, A. and O. Vildflush**, 2004. The Influence of Microfertilizers on Productivity and Quality of Peas Grain on Sward-Podzolic Soils. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skodowska. Sectio E.* Agricultura Lublin: Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skodowskiej, 59 (4), 1527-1532.

14. **Yadav, R. K., Raj Bahadur, Nirbahay S. and G. S. Chaturvedi**, 2008. Effect of Bioregulators on Growth and Grain Yield in Field Pea. *Journal of Food Legumes,* Kanpur: Indian Society of Pulses Research and Development, Indian Institute of Pulses Research, 21 (3), 206-207.

15. **Zhelyazkova, T. and D. Pavlov**, 2007. Influence of Some Plant Growth Regulators on Spring Pea (*Pisum sativum* L.) Productivity, Chemical Composition and Nutritive Value. *Rasteniev’dni Nauki*, 44 (6), 551-554 (Bg).