

Въздействие на клоновата подложка „Доцера 6“ върху стопанските характеристики на сливовите сортове



гл. ас. д-р Мариета Нешева
гл. ас. д-р Дияна Александрова
гл. ас. д-р Наталия Димитрова
гл. ас. д-р Нешо Нешев
гл. ас. д-р Ваня Акова
гл. експерт Лейда Тодорова

УВОД

Сливата (*Prunus domestica* L.) е един от основните костилкови овощни видове за България. Видът се отглежда и се развива успешно във всички райони, а по размер на реколтираните в България площи, отстъпва единствено пред черешата. По данни на Агростатистика (МЗМ) през 2021 г. сливата се нарежда на първо място по количество произведени плодове – 65 123 тона.

Заедно с широкото разпространение на вида, в страната ни ендемично е разпространено и основно заболяване свързано с него. Болестта шарка по сливата, с причинител вируса *Plum pox virus* (PPV) е сред най- вредоносните и е основен лимитиращ фактор за сливовото производство (Milusheva et al.; 2015). Тъй като срещу вирусните заболявания няма ефикасна химична борба, толерантността или устойчивостта към PPV е търсено качество в новите сливови сортове и подложки. Поради сложната генетична структура на *Prunus domestica* L., до момента, ограничаването на разпространението на вирусните частици, чрез хиперчувствителната реакция на растенията е най-обещаващото средство обуславящо устойчивост при сливата. Използвайки тази специфична реакция на растенията е създаден устойчивият сорт „Йойо“, а по-късно и клоновата подложка „Доцера 6“.

Основна подложка за сливите у нас е силно растящата семенна подложка джанка (*Prunus cerasifera* Ehrh.). Джанката има много добра приспособимост към различните типове почви и проявява задоволителна сухоустойчивост и студоустойчивост. Семената на джанката се добиват евтино и лесно и имат добър процент на поникване. Подложката има добра съвместимост със сливовите сортове. Присадените дървета проявяват силен растеж и плододават обилно. Това се дължи на мощната коренова система и добрата приспособимост на джанката към различни почвени условия. В Европа обаче масово се използват клоновите подложки, които са по-подходящи за интензивно отглеждане на сливата. У нас вече има създадени насаждения с посадъчен материал на клоновите подложки Миробалан 29С и Вавит, които показват добра съвместимост със сливовите сортове и придават различна растежна сила на присадниците.

Лабораторните и полски тестове на „Доцера 6“, проведени в Института по овощарство – гр. Пловдив я определят, като обещаваща подложка по отношение на реакцията и към вируса (Milusheva et al. 2015). Устойчивостта на подложката към определени болести е изключително важна, но не е достатъчен критерий за внедряването ѝ в овощните насаждения. От първостепенно значение са стопанските качества и биологичните особености, които тя индуцира върху присъдения сорт и от които зависят приходите на производителите. Подложката неминуемо оказва съществено въздействие върху развитието на дърветата, встъпването им в плододаване, качеството и количеството на плодовата продукция. В някои случаи тя влияе и върху устойчивостта на дърветата към биотичните и абиотичните фактори на средата. В световен мащаб проучванията с „Доцера

б“ за момента са концентрирани главно върху реакцията ѝ при заразяване с вируса на шарката, а полски изследвания в плододаващи насаждения почти липсват, което не позволява да се пристъпи към внедряването и в производствените градини.

СТОПАНСКИТЕ ОСОБЕНОСТИ И КАЧЕСТВОТО НА ПРОДУКЦИЯТА НА СОРТОВЕТЕ ПРИСАДЕНИ ВЪРХУ „ДОЦЕРА 6“

Стопанските особености и качеството на продукцията са от първостепенно значение и са движеща сила при избора на сорто-подложкови комбинации, при създаването на нови насаждения. У нас полските проучвания свързани с вегетативните особености, които подложката индуцира върху присадения сорт започнаха през 2017 г., в Института по овощарство – гр. Пловдив. В питомника на Института, „Доцера 6“ показва добра съвместимост със сортовете „Йойо“ и новоинтродуцираният „Топгигант Плюс“, а растежната ѝ сила е съпоставима с тази на подложката „Сен Жулиен“ (Bozhkova & Nesheva, 2017). По-късно, в в Института беше създадено опитно насаждение със сорто-подложковите комбинации „Топгигант Плюс“/ „Доцера 6“, „Топгигант Плюс“/ „Джанка“, „Йойо“/ „Доцера 6“ и „Йойо“/ „Джанка“. След петата и шестата вегетация на дърветата, ясно личи, че „Доцера 6“ индуцира по-слаб растеж при силно растящият сорт „Топгигант Плюс“, докато при „Йойо“ не се наблюдават съществени различия в растежната сила на дърветата присадени на двете различни подложки (табл. 1).

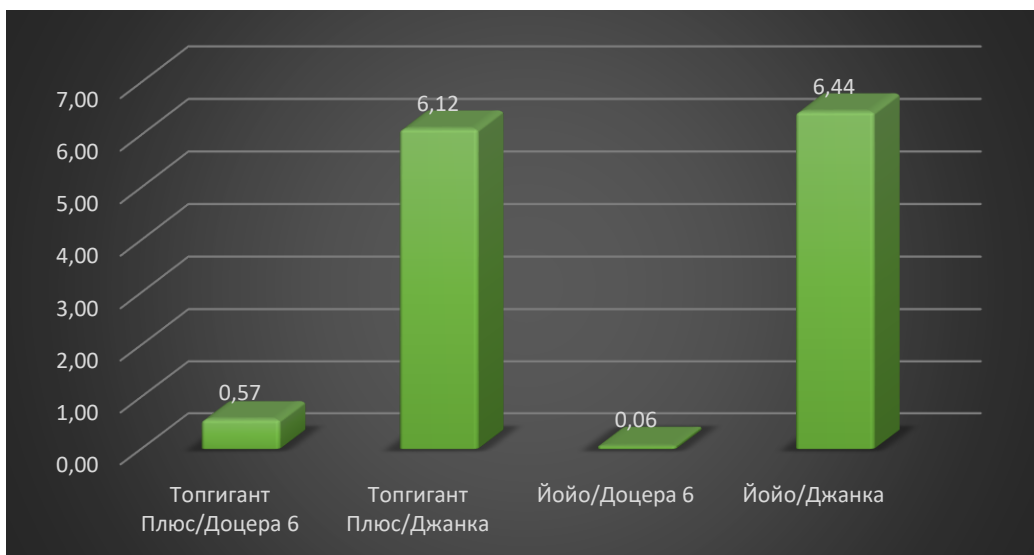
Табл. 1. Вегетативни показатели на изследваните сорто-подложкови комбинации

Вариант	Обем на короните /м ³ /	Диаметър на ствола /см/	TSCA /cm ² /
2020-2021 г.			
Топгигант/Доцера 6	3,74 b*	7,55 а	45,48 а
Топгигант/Джанка	5,19 а	6,84 b	37,36 b
Йойо/Доцера 6	3,96 b	7,53 b	44,88 а
Йойо/Джанка	4,74 ab	7,61 b	46,15 а
2021-2022 г.			
Топгигант/Доцера 6	3,89 b	8,26 а	54,94 b
Топгигант/Джанка	7,72 а	7,01 b	42,91 с
Йойо/Доцера 6	4,65 b	9,15 а	66,23 ab
Йойо/Джанка	4,72 b	9,32 а	69,36 а

*Средните стойности, последвани от различни букви в една и съща колона, показват статистически значима разлика чрез теста на Дънкан за множество диапазони (p<0,05).

Основен недостатък на семенната подложка джанка е способността да образува множество издънки, дори и при редовното им отстраняване. Множеството издънки около ствола на дърветата са силно нежелани в овощните градини, тъй като затрудняват

агротехническите мероприятия. Категорично предимство на клоновата подложка „Доцера 6“ е много по-слабата издънкообразователна способност. На фигура 1 е представен средният брой образувани издънки около 1 дърво в края на шестата им вегетация.



Фигура 1. Среден брой издънки на дърво

През 2021 г. сорт „Йойо“ беше сериозно засегнат от повратни пролетни мразове. През 2022 г. също са отчетени изключително ниски добиви при сливовите дървета. Това се дължи на неблагоприятни метеорологични условия и липсата на опрашители по време на цъфтежа на дърветата. Проблемът е регистриран не само на територията на Института по овощарство, но и в цялата страна. За него сигнализираха множество производители, отглеждащи овощни градини в различни части на страната, както и колеги от други институти, развиващи научна дейност в областта на производството на сливи. В последствие беше наблюдавано изключително силно юнско опадване на неоплодените завръзи. Въпреки статистически незначимите разлики в получените добиви е ясна тенденцията, че дърветата от двата сорта са с по-високи коефициенти на продуктивност, спрямо обема на короните когато са присадени върху „Доцера 6“ (табл. 2). Важно е да се отбележи, че обемът на короните и коефициентът на продуктивност за изчислени и валидни за дървета отглеждани без прилагана резитба за формиране на короната. В насаждението е прилагана само резитба за просветляване на короните и премахване на изсъхналите клонове, за да се проследи естественият хабитус на дърветата.

Табл. 2. Получени добиви и коефициент на производителност на сорто-подложковите комбинации

Вариант	Среден добив /kg/ 2021	Коефициент на продуктивност спрямо V на короната	Среден добив /kg/ 2022	Коефициент на продуктивност спрямо V на короната
Топгигант Плюс/Доцера 6	28,64 а	7,66	34,20 а	4,43
Топгигант Плюс/Джанка	25,84 а	4,98	7,00 b	2
Йойо/Доцера 6	13,26 b	3,35	8,89 b	1,91
Йойо/Джанка	8,72 b	1,84	5,76 b	1,22

Качеството на получената продукция е най-важно за всеки, който участва в производството и преработката. Размерът на плода е една от водещите характеристики, които влияят на пазарната стойност и потребителски предпочитания. Въпреки, че качеството на плодовете се определя основно от сорта, то може да се влияе пряко или косвено и от подложката (Scalzo et al., 2005).

В съчетание с по-високата продуктивност размерите на плодовете на сорта „Топгигант Плюс“ присаден върху тестваната подложка не се различават от тези получени от дърветата присадени върху джанка. При „Йойо“ се наблюдава драстично понижаване на всички размери на плодовете, когато сортът е присаден върху „Доцера 6“ (табл. 3). Най-вероятна причина за това е по-високата чувствителност на сорто-подложковата комбинация „Йойо“/ „Доцера 6“ към засушаване. При условията на суша наблюдавани през 2021 г. при тези дървета сериозно се редуцира размера на плодовете.

Табл. 3 Средни биометрични размери на плодовете за 2021 и 2022 г.

сорт/подложка	Средна дата на зреене	Височина (mm)	Ширина (mm)	Дебелина (mm)	Средна маса на 1 плод (g)
Топгигант Плюс/Джанка	21.08.	57,57 а	43,56 а	45,29 а	68,32 а
Топгигант Плюс/Доцера 6	21.08.	58,44 а	44,39 а	45,66 а	71,40 а
Йойо/Джанка	30.08.	52,86 b	37,63 b	38,36 b	47,50 b
Йойо/ Доцера 6	30.08.	48,45 c	35,57 c	35,03 c	36,68 c

В някои случаи подложките оказват въздействие върху съдържанието на минерали, захари и органични киселини в плодовете. Установяването на такива разлики, важно тъй като това може да повлияе на търговската им стойност и избора на подложка при планиране и създаване на овощна градина (Caruso et al., 1996). След анализиране на химическото съдържание на плодовете при четирите сорто-подложкови комбинации са установени значителни разлики между двата сорта, което а напълно нормално и се дължи на генетически заложените им характеристики (Таблицы 4 и 5). Плодовете на сорт „Йойо“

се отличават с по-високо съдържание на разтворимо сухо вещество, в сравнение с тези на сорт „Топгигант Плюс“. Сорт „Йойо“ се отличава с по-високо общо съдържание на захари и по-ниско съдържание на киселини. Незначителните разлики между сортове, присадени на различни подложки ни показват, че качеството на плодовете им се запазва, когато присадника се развива върху „Доцера 6“.



Сн. 1 Плодове от Топгигант Плюс/Доцера 6



Сн. 2 Плодове от Йойо/Джанка

Табл. 4 Химичен анализ на плодовете получени през 2021 г.

Сорт	Подложка	Сухо в-во Brix %	Захари %			Киселини %	pH
			Обща	Инвертна	Захароза		
Йойо	Джанка	24,9	14,8	10,4	4,2	1,2	3,5
	Доцера 6	22,7	14,8	11,8	2,9	0,9	3,3
Топгигант Плюс	Джанка	19,2	13,0	9,0	3,7	1,4	2,8
	Доцера 6	16,2	11,5	7,9	3,4	1,2	2,9

Табл. 5 Химичен анализ на плодовете получени през 2022 г.

Сорт	Подложка	Сухо в-во Brix %	Захари %			Киселини %	pH
			Обща	Инвертна	Захароза		
Йойо	Джанка	22,1	11,5	7,2	4,1	0,8	4,2
	Доцера 6	22,1	14,5	10,2	4,1	0,9	4,2
Топгигант Плюс	Джанка	16,5	9	5,6	3,2	1,6	3,5
	Доцера 6	17,1	9,2	5,7	3,3	1,2	3,6

РЕАКЦИЯ КЪМ НЕБЛАГОПРИЯТНИ АБИОТИЧНИ ФАКТОРИ

През 2021 и 2022 г. цъфтежът на сливовите сортове започна в края на месец март. Сортът „Йойо“ е сред първите цъфтящи за района на гр. Пловдив и развитието му започва по-рано в сравнение с „Топгигант плюс“ (сн. 3,4,5,6). Въпреки същественото различие във

фенологичното развитие на двата сорта, не се наблюдава различие в настъпването и протичането на фенофаза цъфтеж индуцирано от изпитваната подложка „Доцера 6“.

Фенологичното развитие на дърветата, температурният спад и времето на въздействие на критичните температури имат сериозно значение за степента на повредите от повратни пролетни мразове. Проучвания върху ефекта от ниските зимни температури показват, че сортовете от вида *P. domestica* имат добра студоустойчивост. Повредите от повратни пролетни мразове при сливовите сортове в района на гр. Пловдив не са а често срещано явление и щетите обикновено не са в особено висок процент. През 2021 г., бяха регистрирани критично ниски температури на 27.03 (-2,9 °C), 28.03 (-2,8 °C) и 11.04 (-1,2 °C). В края на месец март, сортът „Йойо“ присаден на двете подложки, беше във фенологичен стадий „Разпукване на пъпки: разделени покривни люспи, видими светлозелени части на пъпките“ (ВВСН 53), докато плодните пъпки на „Топгигант плюс“ бяха набъбнали, но все още затворени (ВВСН 51). Повреди във висок процент бяха наблюдавани по репродуктивните цветни органи само при сорта „Йойо“ (табл. 6). Повреди от измръзване при „Топгигант плюс“ регистрирахме след критичното понижаване на температурата на 12 април. И при двата сливови сорта проучваната подложка не оказва въздействие върху чувствителността към повратни пролетни мразове. Високият процент на повреди от измръзване на „Йойо“ се дължи на чувствителността на самият сорт, описана в предходни наши изследвания.



Сн. 3 Йойо/Доцера 6



Сн. 4 Йойо/Джанка



Сн. 5 Топгигант Плюс/Доцера 6



Сн. 6 Топгигант Плюс/Джанка

Табл. 6. Повреди от повратни пролетни мразове отчетени през 2021 г.

Сорто-подложкова комбинация	Дата на отчитане	Повредени цветове (%)	SD	SE
Топгигант Плюс/Доцера 6	16.4.2021	12 b*	5,00	2,89
Топгигант Плюс/Джанка		15 b	7,02	4,06
Йойо/Доцера 6	1.4.2021	92 a	2,00	1,15
Йойо/Джанка		87 a	4,36	2,52

В условията на интензивни климатични промени сушата става все по актуален глобален проблем, все по-силно осезаем и в нашата страна. През месеците август и септември 2021 г. валежите бяха оскъдни, което доведе до ниско съдържание на вода в почвата през юли-септември. Дълъг период без валежи започна през месец юли 2022 и продължи до средата на октомври. Периодите без дъжд доведоха до драстично намаляване на съдържанието на вода в почвата до 0 % от ППВ и дърветата от сорто-подложковата комбинация „Йойо“/„Доцера 6“ първи показаха сериозни визуални симптоми на засушаване и през двете години - загуба на тургор на листата и увяхване (Снимка 5). Поради ниската атмосферна влажност в съчетание с ниската почвена влажност по листата на „Топгигант Плюс“ бяха наблюдавани пригори (сн. 7).



Сн. 7 Загуба на тургор на листата при Йойо/Доцера 6 и липса на визуални симптоми на засушаване при Йойо/*P. cerasifera*

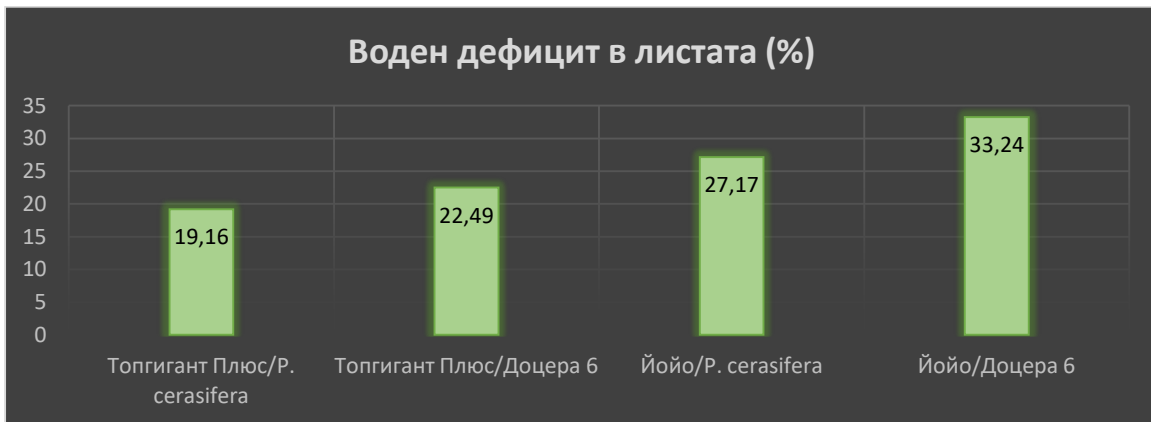


Сн. 8 Симптоми на засушаване при Йойо/Доцера 6



Сн. 9 Симптоми на засушаване при Топгигант/Доцера 6

Водният дефицит е физиологичен показател, който представлява онова количество вода, което не достига на тъканите, за да бъдат в състояние на пълна оводненост. При изчисляване на водният дефицит в листата на четирите сорто-подложкови комбинации с цифрово изражение се потвърждават визуалните наблюдения. Дефицитът на вода в листата на дърветата присадени върху „Доцера 6“ е по-голям в сравнение с присадените върху джанка сортове. В условията на нашата страна новоинтродуцираната подложка се проявява като чувствителна към засушаване.



Фигура 2. Воден дефицит в листата на дърветата (%)

РЕАКЦИЯ НА ДЪРВЕТАТА КЪМ ОСНОВНИ ЗА ВИДА ФИТОПАТОГЕНИ

„Доцера 6“ е подложка, получена в резултат на селекционната програма на Университета в Мюнхен, чиято основна цел е създаването на устойчиви към вируса на шарка по сливата (*Plum Pox Virus*) подложки, подходящи за костилковите овощни видове. Получените от серията „Доцера“ растения представляват междувидови хибриди между *Prunus domestica* и *Prunus cerasifera*. Нейната устойчивост към шарката, обаче не е абсолютна, а се базира на свръхчувствителната ѝ реакция към вируса (Kegler et al.; 2000). До сега този механизъм на ограничаване на фитопатогена е най-обещаващият и

единственият възможен при сливата, обуславящ устойчивост. Според авторите на подложката, при присаждане на заразени със шарка пъпки и калеми те не се развиват. В питомника на Института по овощарство – Пловдив, най висок процент на прихващане е получен със сорта „Йойо“, но трябва да се има предвид, че той е устойчив към шарка. Интересна е реакцията на другите сортове присадени върху „Доцера 6“. От една страна произведените дървета ще бъдат чисти от вируса, но от друга при заразяване на присадника в новозасадената градина дръвчетата ще отмират и ще остават само подложки.

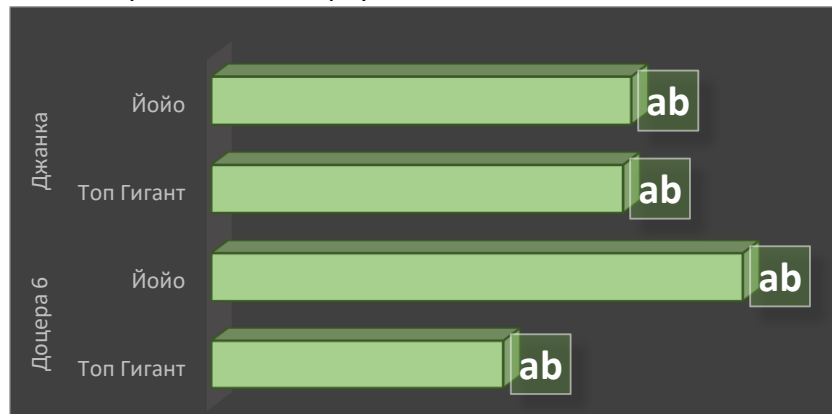
Сортът „Топгигант Плюс“ е толерантен към PPV и при заразяване проявява симптоми по листата, като това не води до влошаване на качеството на продукцията и драстични загуби на добив. От момента на засаждането до края на вегетационния период през 2022 г. типични симптоми на PPV са наблюдавани върху листата на дърветата от сорта „Топгигант Плюс“ присаден и върху двете подложки (сн. 10). Наличието на вируса при дърветата със симптоми е потвърдено и чрез серологично изследване с ELISA метод, проведено в акредитирана лаборатория. Част от дърветата от сорто-подложковата комбинация „Топгигант Плюс“/„Доцера 6“, при които бяха регистрирани симптоми през 2021 г., загинаха в началото на вегетационния период през 2022 г. При тази сорто-подложкова комбинация, процентът на пропаднали дървета от засаждането им през 2016 г. до 2022 г. е висок - 22%. Разбира се, причините за това могат да са най-различни напр. суша, „шарка“ и др. Всички дървета от сорто-подложковата комбинация „Топгигант Плюс“/ „Джанка“ до края на вегетационния период през 2022 г. са жизнени.



Сн. 10 Симптоми на шарка по сливата (*Plum Pox Virus*) по листата на „Топгигант Плюс“

В опитното насаждение е проследено нападението от основни болести, които компрометират сливовата продукция и ранното кафяво гниене е първата регистрирана болест. Причинител е гъбният фитопатоген *Monilinia laxa* с конидиална форма *Monilia laxa*. Разпространението ѝ се благоприятства от хладен и влажен климат особено в периода на цъфтеж. Цветовете при силно заразените дървета изглеждат като “опожарени” (Снимка 11). От инфектираните завръзи или цветчета по дръжката на плода се пренася и до

носещата я плодна клонка, която също изсъхва (Снимка 12). В опитното насаждение не е отчетено значимо различие в степента на нападение от *Monilinia laxa* върху дърветата присадени на двете подложки т.е реакцията на сортовете присадени върху „Доцера 6“ е сходна с реакцията на присадените върху джанка.



Фигура 3. Процент на нападение от ранно кафяво гниене



Сн. 11 „Опожарени“ цветове



Сн. 12 Заразена плодна клонка

В сливовото насаждение са наблюдавани и симптоми на сачмянка (сн. 13). Типични симптоми по листата са дребни пурпурни точки, които се разрастват до дребни закръглени петна (1-6 mm) с бледокафяв до охрен цвят. При младите все още нарастващи листа, тъканите в средата на петната некротират и отпадат, поради което върху петурите се образуват дребни кръгли дупки. По плодовете симптомите са подобни - появяват се дребни закръглени петна (2-3 mm в диаметър), ограничени с бледочервен до жълто-кафяв венец. При нарастващите плодове засегнатата тъкан засъхва, в резултат на което се образуват вдлъбнатини изпълнени със смола. Нападението от този фитопатоген върху дърветата присадени върху изпитваната клонова подложка е сходно с присадените върху стандартната за страната джанка.



Сн. 13 Симптоми на сачмянка при сливовите сортове

СЪВМЕСТИМОСТ НА ПОДЛОЖКАТА С ПРИСАДЕНИТЕ СОРТОВЕ

В рамките на проучванията проведени в Института по овощарство – Пловдив са проведени редица биохимични и физиологични анализи. Отношението на хлорофил а/хлорофил b е индикатор за стареенето на листните тъкани и показател за функционалната активност на фотосинтетичния апарат. Промените в отношението между хлорофила и каротиноидите е индикация за наличие на стрес при растенията (Hendry and Grime, 1993). При сорто-подложковите комбинации не са наблюдавани значими разлики в съдържанието на хлорофил и каротиноиди. Съотношенията хлорофил а/b и хлорофили/каротеноиди са в границите на нормалните, което показва, че при изследваните дървета функционира нормално развит фотосинтетичен апарат. Липсата на биохимични индикатори на стрес и нормално функциониращият фотосинтетичен апарат са признаци за липсата на прояви на несъвместимост между подложката и присадените сортове.

ОБОБЩЕНИЕ

След проведените подробни изследвания и анализи установихме, че най-категоричното предимство на „Доцера б“ е слабата издънкообразователна способност. Подложката индуцира по-слаб растеж на присадника в питомник, а в насаждение индуцирането на по-слаб растеж е по-осезаемо единствено при силно растящия сорт. Както при повечето клонови подложки недостатък е по-високата чувствителност към засушаване спрямо семенно размножените. В съчетание на „Доцера б“ със сорт „Йойо“ се наблюдава сериозно намаляване на размерите на плодовете в условия на недостиг на вода. Въпреки, че подложката е устойчива към вируса на „шарка“ по сливата, това не възпрепятства заразяването на дървото, когато на „Доцера б“ е присаден толерантен сорт, каквито са масово разпространените и предпочитани за отглеждане в нашата страна. Смущаващ е значително по-високият процент на внезапно умиращи дървета, спрямо присадените върху подложка джанка.

Качества на дърветата присадени на „Доцера 6“ и отглеждани в условията на района на гр. Пловдив

ПОЛОЖИТЕЛНИ	НЕУТРАЛНИ	ОТРИЦАТЕЛНИ
<p>✓ Слаба издънкообразователна способност</p> <p>✓ Слаб растеж, но при силно растящия сорт</p>	<p>✓ Запазват се химичните характеристики на плодовете</p> <p>✓ Не оказва въздействие върху фенологичното развитие на дърветата от двата проучвани сорта</p> <p>✓ Не оказва влияние върху устойчивостта на двата сорта към повратни пролетни мразове</p> <p>✓ Реакцията към гъбните фитопатогени наблюдавани в насаждението е съпоставима с тази на дърветата присадени върху джанка</p> <p>✓ Отсъстват биохимични признаци на несъвместимост между присадените сортове и подложката</p>	<p>✓ По-висока чувствителност на засушаване</p> <p>✓ Редуцира размера на плодовете в условия на недостиг на вода</p> <p>✓ Не възпрепятства заразяването на толерантен присадник</p> <p>✓ Висок процент на внезапно умиращи дървета</p>

ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

1. Агростатистически справочник, (2022), Министерство на земеделието
2. Milusheva, S. and Bozhkova, V. (2015). Reaction of six *Prunus* rootstocks to *Plum Pox Virus* in Plovdiv, Bulgaria, *Acta Hort.*, 1063, 111-116 <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1063.15>
3. Bozhkova, V., & Nesheva, M. (2017). Investigation of the rootstocks 'Docera 6', 'Garnem' and 'Greenpac' in nursery. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 20(1), 328-335.
4. Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21, 207-213.
5. Caruso, T., Giovannini, D., & Liverani, A. (1996). Rootstock influences the fruit mineral, sugar and organic acid content of a very early ripening peach cultivar. *Journal of Horticultural Science*, 71(6), 931-937.
6. Kegler, H., Schwarz, S., Fuchs, E. and Gruentzig, M. (2000). SHARKA RESISTANT PLUMS AND PRUNES BY UTILIZATION OF HYPERSENSITIVITY. *Acta Hort.* 538, 391-395
7. Hendry G.A., Grime J.P.- 1993 - books.google.com. Methods in Comparative Plant Ecology

БЛАГОДАРНОСТИ

Всички описани изследвания са проведени в рамките на проект КП-06 М46/2 „Проучване въздействието на новата клонова подложка „Доцера 6“ върху стопанските характеристики и качеството на плодовете“, финансиран по „Конкурс за финансиране на фундаментални научни изследвания на млади учени и постдокторанти – 2020 год.“ на Фонд „Научни изследвания“. Екипът от млади учени е изключително признателен на проф. д-р Валентина Божкова и проф. д-р Лиляна Начева за съдействието и методическите указания по време на извеждане на експериментите.