

Резюмета на научните публикации на доц. д-р Лиляна Руменова Начева

във връзка с участие в конкурс за заемане на академична длъжност "професор"
по област на висше образование: 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина;
професионално направление: 6.1 Растениевъдство; научна специалност: Овощарство

В 4. Научни публикации (не по-малко от 10), публикувани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (60/n)

4.1. Nacheva, L., Dimitrova, N., Koleva-Valkova, L., Tarakanov, I., Vassilev, A. 2021. Effect of LED lighting on the growth of raspberry (*Rubus idaeus* L.) plants *in vitro*. Agricultural Sciences, 29: 129-140, ISSN 2367-5772 (Online); **Web of Science - CABI**

In recent years, light emitting diodes (LED) have become an alternative to fluorescence lamp source of light for plant tissue culture, due to their low energy consumption, low heat emission, specific wavelength irradiation etc. The aim of this study was to investigate the effect of LEDs on the growth of *in vitro* cultivated raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Lloyd George'). The plantlets were cultivated *in vitro* under an illumination system based on Philips GreenPower LED research module. Four groups of LEDs emitting in white (W), red (R), blue (B), mixed (W:R:B:far-red=1:1:1:1) lights and fluorescent lamps (control) were used in our studies. Growth parameters, some physiological and biochemical characteristics of the plantlets were measured after three four weeks passages under corresponding light treatment. Our results indicated that different LEDs specifically influence the growth and development of *in vitro* cultivated raspberry plantlets and could be applied as an efficient lighting system for rapid *in vitro* micropropagation of *Rubus idaeus* L. The combination of blue, red, far red and white LEDs (1:1:1:1) stimulated the growth and biomass accumulation, as well as the intensity of net photosynthesis. For optimal results, it would be advisable to shorten the culture period to 3 weeks. This effective and affordable protocol would support the commercial micropropagation of raspberries and other soft fruits.

През последните години диодите, излъчващи светлина (LED), се превърнаха в алтернатива на флуоресцентните лампи като източник на светлина при *in vitro* култивирането на растителни тъкани, поради ниската си консумация на енергия, ниска топлинна емисия, излъчване на светлина със специфична дължина на вълната и др. Целта на това проучване беше да се изследва ефектът LED светлините върху растежа на *in vitro* култивирани малини (*Rubus idaeus* L. 'Lloyd George'). Микрорастенията бяха отглеждани *in vitro* осветителна система, базирана на изследователски модул Philips GreenPower LED. В изследването бяха включени четири групи светодиоди, излъчващи в бяло (W), червено (R), синьо (B) и смесени (W: R: B: far red = 1: 1: 1: 1), както и флуоресцентни лампи като контрола. Параметрите на растежа, някои физиологични и биохимични характеристики на растенията бяха измерени след три четириседмични пасажа при съответната светлина. Нашите резултати показаха, че различните светодиоди оказват специфично влияние върху растежа и развитието на *in vitro* култивирани малини и могат да бъдат приложени като ефективна осветителна система за бързо *in vitro* микроразмножаване на *Rubus idaeus* L. Комбинирането на сини, червени и бели светодиоди стимулира растежа и натрупването на биомаса, както и интензивността на нето фотосинтезата. За оптимални резултати би било препоръчително да се съкрати периодът на култивиране до 3 седмици. Този ефективен и достъпен протокол би подпомогнал комерсиалното микроразмножаване на малини и други подобни плодове.

4.2. Dimitrova, N., Nacheva, L. 2021. An optimized micropropagation protocol by *ex vitro* rooting of pear rootstock OHF333 (*Pyrus communis* L.). Acta agrobotanica ISSN: 2300357X, 00650951; Q3 (2019); IF (2020) 1.22; SJR(2020) 0.4

Pear rootstock OHF 333 (*Pyrus communis* L.), which is included in the US 'Old Home' × 'Farmingdale' series, is characterized by a strong compatibility with most other varieties, high yields, and a moderate degree of resistance to fire blight. Micropropagation *in vitro* has shown promise for rapid, large-scale cloning of disease-free plant material throughout the year. However, pear shoots are often recalcitrant to rooting, and this process is highly genotype-dependent. This study aimed to improve the micropropagation protocol by *ex vitro* rooting of pear rootstock OHF 333 (*Pyrus communis* L. 'Old Home' × 'Farmingdale'). Charkor, a new plant growth regulator of natural origin was used, which contains metabolism products of symbiotic fungus-endophytes of ginseng roots, as an alternative to synthetically produced plant growth regulators (PGRs). Microcuttings were obtained from *in vitro* cultured shoots and subjected to four different treatments for *ex vitro* rooting: 1 g L⁻¹ 1-naphthaleneacetic acid NAA (as a powder), 0.5 mL L⁻¹ Charkor for 3 h or 6 h, or the same concentration of Charkor prepared as a powder. Microshoots dipped in sterile distilled water with no additional hormonal treatments served as controls. Cultures were kept in a growth chamber under a 16 h photoperiod, with air humidity maintained close to 100% (above 96%) for 2 weeks and then gradually reduced to 60%. Data on final acclimatization rate (survival rate, %), mean number of roots per plant, stem and root length, mean number of leaves per plant, and final acclimatization rate were collected 90 days after transplanting to *ex vitro* conditions. All treatments induced a successful acclimatization rate of more than 31%. The highest survival rate (86%) and longest stems were achieved by treatment with 0.5 mL L⁻¹ Charkor for 6 h. The greatest mean number of roots per plant, root length, and number of leaves was achieved in the variant treated with 1 g L⁻¹ powdered NAA.

Крушовата подложка OHF 333 (*Pyrus communis* L.), която е част от американската серия „Old Home“ × „Farmingdale“, се характеризира с добра съвместимост с повечето крушови сортове, високи добиви и умерена степен на устойчивост на огнен пригор. Микроразмножаването *in vitro* е иновативен метод за бързо, целогодишно размножаване на големи количества здрав, изравнен посадъчен материал без болести. Но крушовите микрорастения често са трудни за вкореняване и този процес е силно зависим от генотипа. Това проучване имаше за цел да подобри протокола за микроразмножаване на крушова подложка OHF 333 (*Pyrus communis* L. 'Old Home' × 'Farmingdale') чрез едновременно вкореняване в нестерилни условия и аклиматизация *ex vitro*. Като алтернатива на синтетично произведените растежни регулатори беше използван Charkor - нов биостимулатор от естествен произход, който съдържа продукти от метаболизма на симбиотични гъби-ендофити от корени на женшен. Микрорезниците от круша бяха отделени от *in vitro* култивирани леторастчета и основата им беше третирана за вкореняване *ex vitro* по четири различни начина: 1 g L⁻¹ 1-нафталацетна киселина NAA (като пудра), 0,5 ml L⁻¹ Charkor за 3 часа или 6 часа или същата концентрация на Charkor, приготвен като пудра. Като контрола бяха използвани микрорезници, потопени в стерилна дестилирана вода, без допълнителни растежни регулатори. Третираните с растежни регулатори и контролните микрорезници бяха засадени в торфрно-перлитен субстрат и култивирани в растежна камера при 16-часов фотопериод, като влажността на въздуха се поддържаше почти 100% (над 96%) в продължение на 2 седмици и след това постепенно намаляваше до 60%. Данните за аклиматизацията (процент на преживяемост), среден брой корени на растение, дължина на стъблото и корена, среден брой листа на растение бяха отчетени 90 дни след засаждане на микрорезниците в *ex vitro* условия. При всички третираня успехът на аклиматизацията беше повече от 31%. Най-висок процент на преживяемост (86%) и най-голяма дължина на стъблата беше постигната при третиране за 6 часа с 0,5 ml L⁻¹ Charkor. Най-големият среден брой корени на растение, дължина на корена и

брой листа бе отчетен при варианта, третиран с 1 g L^{-1} NAA под формата на пудра.

4.3. Nacheva, L., Dimitrova, N., Ivanova, V., Cao, F. and Zhu, Z. 2020. Micropropagation of *Camptotheca acuminata* DECNE (Nyssaceae) – endangered ornamental and medicinal tree. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis 68(4): 679-686. ISSN: 12118516; Scopus, **Q3, SJR(2019) 0.17**; <https://doi.org/10.11118/actaun202068040679>

Camptotheca acuminata Decne (Nyssaceae) (happy tree, tree of life, cancer tree) is a rapidly growing deciduous and endangered tree endemic to east Tibet and southern China. *C. acuminata* is an ornamental tree with monopodial growth, beautiful leaves and shade- and cold- tolerant in their natural environment. Recently, its demand has grown rapidly due to secondary metabolites production like Camptothecin and its derivatives with anti cancer and antiviral activity. The aim of the present study was to develop an efficient protocol for *in vitro* micropropagation of this valuable plant. Different cultural media based on both MS (Murashige and Skoog, 1962) or DKW (Driver and Kuniyuki, 1984) formulations with different cytokinins (6-benzylaminopurine, BAP or 2-isopentenyladenine, 2iP or meta-topolin, mT) have been involved. The aromatic cytokinin meta-topolin stimulated plant growth. The optimum multiplication rate of *Camptotheca* shoots occurred on the DKW basal medium, supplemented with $2.5 \mu\text{M}$ meta-topolin, grown under mixed LED light. The highest number of roots per plantlets was recorded on the rooting medium with 0.3 mg l^{-1} NAA.

Camptotheca acuminata Decne (Nyssaceae) (дърво на щастието, дърво на живота, раково дърво) е бързо растящо широколистно и застрашено дърво, ендемично за източен Тибет и южен Китай. *C. acuminata* е декоративно дърво с моноподиален растеж, красиви листа. Устойчиво е на сянка и студ в естествената му среда. Напоследък търсенето му нараства бързо поради производството на вторични метаболити като Camptothecin и неговите производни с противотуморна и антивирусна активност. Целта на настоящото проучване беше да се разработи ефективен протокол за *in vitro* микроразмножаване на това ценно растение. В изследването бяха включени различни хранителни среди на базата на MS (Murashige and Skoog, 1962) и на DKW (Driver and Kuniyuki, 1984), обогатени с различни цитокинини - 6-бензиламинопурин (BAP), 2-изопентениладенин (2iP) или мета-тополин (mT). Ароматният цитокинин мета-тополин стимулира растежа на растенията *in vitro*. Оптимален коефициент на мултипликация на *Camptotheca* беше наблюдаван при култивиране на среда DKW с $2,5 \mu\text{M}$ mT, при смесена LED светлина. Най-голям брой корени на растения беше отчетен на среда за вкореняване с $0,3 \text{ mg l}^{-1}$ NAA.

4.4. Apostolova, E., Gozmanova, M., Ivanova, Z., **Nacheva, L.,** Toneva, V., Minkov, I., Baev, V., Yahubyan, G. 2020. MicroRNA profiling of the resurrection plants *Haberlea rhodopensis* unveils essential regulators of survival under severe drought. Biologia plantarum 64: 541-550, **Q1, SJR (2019) 0.56; IF (2019) 1.60**; DOI: 10.32615/bp.2020.062

Small RNAs (sRNAs) are essential components of gene-regulatory networks, which guide plant development and tune it to environmental challenges. Though the past years have witnessed evidences on sRNA importance for stress response, there is scarce data on their involvement in resurrection plant survival under severe drought. *Haberlea rhodopensis* (hrh) is an angiosperm resurrection species, whose vegetative tissues can tolerate desiccation and recover upon rehydration. In this study, high-throughput sequencing sRNAs indicated a higher complexity of the sRNA population, especially of a 24 nt sRNA category, in the desiccated vegetative tissue of *H. rhodopensis* compared to unstressed tissues. The cross-species discovery was performed to predict 77 mature microRNAs (miRNAs), most of which were assigned to 23 high-confidence conserved miRNA families in the leaf tissue. Several members of the miR156/157, miR166, and miR399 families were found to be desiccation-responsive. The miR156/157 family members were found up-regulated upon dehydration and

down-regulated upon rehydration, while the miR166 and miR399 family members followed an opposite trend of expression. A probable miR156/157 target, orthologous to the SQUAMOSA promoter binding proteinlike, was reconstructed in *H. rhodopensis* based on genomic data available for this species and the closely related *Boea hygrometrica*. Reverse transcription quantitative PCR analysis confirmed the expression profile of hrh-miR156a-5p and hrh-miR157-5p established by sRNA sequencing and revealed an inverse expression pattern between these miRNAs and their targets in the desiccated tissue. Our study suggests that the miR156/157 and miR399 families are essential for plant survival under severe drought due to their ability to control plant development and growth by modulating transcription.

Малките РНК са важни компоненти на генно-регулаторните системи, които контролират развитието на растенията и го адаптират към промените в околната средата. Въпреки че през последните години ролята на малките РНКи в отговор на стрес беше неоспоримо доказана, данните за тяхното участие в оцеляването на възкръсващите растения в условия на засушаване са оскъдни. *Haberlea rhodopensis* (hrh) е възкръсващ вид покритосеменно растение, чиито вегетативни тъкани могат да понесат засушаване и да се възстановяват при рехидратация. В това проучване, секвенирането на малки РНКи показва висока сложност на популацията им, особено на категорията от 24 нд малки РНКи, в засушените вегетативни тъкани на *H. rhodopensis* в сравнение с тъканите, които не са подложени на стрес. Проведен беше междувидов сравнителен анализ на малките РНК с цел идентифициране на микро РНКи (миРНКи), участващи в стресовия отговор, при който бяха установени 77 зрели миРНК в листната тъкан, повечето от които бяха причислени към 23 консервативни миРНК семейства. Установено е, че няколко членове на семействата miR156/157, miR166 и miR399 се експресират при засушаване. Членовете на семейството miR156/157 показаха повишена експресия при дехидратация и понижена експресия при рехидратация, докато членовете на семейството miR166 и miR399 следват реципрочна тенденция на експесиране. Вероятният прицелен ген на miR156/157, който е ортолог на SQUAMOSA промотор- свързващия протеин, беше реконструиран в *H. rhodopensis* въз основа на наличните геномни данни за този вид и близкородствения вид *Boea hygrometrica*. Количественият PCR анализ с обратна транскрипция потвърждава експресионния профил на hrh-miR156a-5p и hrh-miR157-5p, установен чрез секвениране на малки РНКи и показва модел на реципрочна експресия на тези миРНКи и техните таргетни гени в засушената тъкан. Нашето проучване предполага, че семействата miR156/157 и miR399 са от съществено значение за оцеляването на растенията при продължително засушаване, поради способността им да контролират растежа и развитието на растенията чрез модулиране на транскрипцията.

4.5. Milusheva, S., Nacheva, L., Benova, E., Marinova, P., Dimitrova, N. and Georgieva-Hristeva, A. 2020. Experiments on PLUM POX VIRUS inactivation from micropropagated plum plants through non-thermal plasma treatment. Plant Protection Bulletin, 60(2): 83-90. ISSN 0406-3597; Web of Science; DOI: 10.16955/bitkorb.653564

Recently, cold atmospheric plasma (CAP) is under investigation for possibility to be applied for inactivation of pathogens in medicine, food technologies, water cleaning technologies and agriculture. The aim of the current study is to investigate the effect of CAP on microplants, propagated *in vitro* from plum tree (*Prunus domestica* L., cv. 'Kyustendilska sinya') naturally co-infected by M and D strains of Plum pox virus (PPV) and in that respect the possibility for CAP application for virus inactivation. In the present work, we have used two types of plasma sources for biological systems treatments: a surface-wave-sustained Argon plasma torch and an underwater diaphragm discharge. These enabled several variants of plasma treatment to be performed. Based on the data of IC-RT-PCR tests of the microplants on the third subculture after treatment, it was found the most effective variant was the

reiterated plasma torch tip treatment to nodal segments without leaves in gas medium. The strain specific RT-PCR analysis results of PPV positive CAP-treated microplants showed that only PPV-M strain was identified after treatment, although the starting material was co-infected by both strains. The results obtained from IC-RT-PCR and strain specific RT-PCR of the acclimatized *ex vitro* plants have been in agreement with the data from molecular analyses of the microplants tested. These are the first experiments on CAP ability for inactivation of PPV from tissue of living woody plants even if in *in vitro* conditions. The completed estimation of this approach for obtaining of PPV-free plum plants will be made after more prolonged observation and testing of the *ex vitro* plants.

Напоследък се изследват възможностите за прилагане на студената атмосферна плазма (CAP) за инактивиране на патогени в медицината, хранителните технологии, почистването на водите и земеделието. Целта на настоящото проучване е да проучи ефекта на CAP върху *in vitro* микроразмножени растения от слива (*Prunus domestica* L., сорт 'Кюстендилска синя'), естествено коинфектирана с М и D щамове на *Plum pox virus* (PPV) и в това отношение възможността за прилагане на CAP за инактивиране на вируси. В настоящето изследване използвахме два вида плазмени източници за въздействие на биологични системи: плазмен факел (с газ аргон) и подводен диафрагмен разряд. Това позволи да се извършат няколко варианта на плазмено третиране. Въз основа на данните от IC-RT-PCR тестове на микрорастенията в третата субкултура след третиране е установено, че най-ефективният вариант е двукратно третиране с плазмения факел на стъблени сегменти (около 10 мм) без листа. Резултатите от специфичния за щам RT-PCR анализ на PPV положителни, третирани с плазма микрорастения показват, че е идентифициран само щам PPV-M, въпреки че изходният материал е коинфектиран и от двата щамове. Резултатите, получени от IC-RT-PCR тестове и специфични за щам RT-PCR на аклиматизираните *ex vitro* растения потвърждават данните от молекулярните анализи на тестваните *in vitro* микрорастения. Това са първи експерименти относно възможностите на CAP за инактивиране на PPV от тъкан на живи дървесни растения, макар и в *in vitro* условия. Оценката на този подход за получаване на сливови растения, свободни от вируса на шарка (PPV), ще бъдат направени след по-продължително наблюдение и изпитване на аклиматизираните към *ex vitro* условия третирани с CAP растения.

4.6. Akova, V., Nacheva, L., Dimitrova, N., Staneva, I., Vassilev, A., Gandev, S. 2020. Impact of nitrogen fertilization on growth and photosynthetic activity of walnut (*Juglans regia* L.) planting material, cultivated in containers. Scientific Papers. Series B, Horticulture. 64 (1): 15-20; ISSN 2286-1580 (Online) **Web of Sci Core collection;** http://horticulturejournal.usamv.ro/pdf/2020/issue_1/vol2020_1.pdf

The object of the experiment was the walnut cultivar Izvor 10, grafted on a walnut rootstock (*Juglans regia* L.). The plants were propagated by the "Hot Callus" method and grown in containers (50 l) with peat-pearlite mixture (2:1). The impact of nitrogen fertilization on the growth and the physiological characteristics of young walnut plants was studied. Variants of the experiment were: Control (not-fertilized), Variant II - 2 g N / container and Variant III - 4 g N container. The height of the fertilized plants varied from 86 to 107 cm and the stem diameter - from 12.76 to 13.61 mm, while the control plants reached average values of 49.33 cm in height and 10.53 mm in stem diameter and the differences were statistically proven. It was found that fertilization with ammonium nitrate (NH₄NO₃), in the range of 2 - 4g N/container contributes to a more efficient development and structuring of the photosynthetic apparatus, which, on the other hand, is a prerequisite for more intensive photoassimilation and biomass accumulation. It was concluded that fertilization is mandatory for the production of walnut planting material in containers.

Обект на експеримента беше ореховият сорт Извор 10, присаден върху орехова подложка (*Juglans regia* L.). Растенията бяха размножени по метода „топъл калус“ и се

отглеждаха в контейнери (50 l) с торфено-перлитна смес (2: 1). Изследвано бе въздействието на азотното торене върху растежа и физиологичните характеристики на младите орехови растения. Вариантите на експеримента бяха: Контрола (не торени растения), Вариант II - 2 g N/контейнер и Вариант III - 4 g N/контейнер. Височината на торените растения варираше от 86 до 107 см, а диаметърът на стъблото - от 12,76 до 13,61 мм, докато контролните растения достигнаха средни стойности от 49,33 см височина и 10,53 мм диаметър на стъблото, като разликите бяха статистически доказани. Установено бе, че подхранването с амониев нитрат (NH_4NO_3), в диапазона от 2 - 4g N/контейнер допринася за по-ефективно развитие и структуриране на фотосинтетичния апарат, което, от друга страна, е предпоставка за по-интензивно фотоасимилиране и натрупване на биомаса. Получените резултати показваха, че торенето е задължително за производството на посадъчен материал от орех в контейнери.

4.7. Dimitrova, N., Nacheva, L., Berova, M., Kulpa, D. 2021. Biofertilizer Lumbrical improves the growth and *ex vitro* acclimatization of micropropagated pear plants. Silva Balcanica, 21(3): 17-30; ISSN 1311-8706 (print); Web of Science; Scopus; SJR (2019) 0.11; doi: 10.3897/silvabalcanica.22.e57661

In vitro micropropagation of plants is highly useful for obtaining large quantities of planting material with valuable economic qualities. However, plantlets grow *in vitro* in a specific environment and the adaptation after the transfer to *ex vitro* conditions is difficult. Therefore, the acclimatization is a key step, which mostly determines the success of micropropagation. The aim of this investigation was to study the effect of the biofertilizer Lumbrical on *ex vitro* acclimatization of micropropagated pear rootstock OHF 333 (*Pyrus communis* L.). Micropropagated and rooted plantlets were potted in peat and perlite (2:1) mixture with or without Lumbrical. They were grown in a growth chamber at a temperature of 22 ± 2 °C and photoperiod of 16/8 hours supplied by cool-white fluorescent lamps ($150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ Photosynthetic Photon Flux Density, PPF). The plants were covered with transparent foil to maintain the high humidity, and ten days later, the humidity was gradually decreased. Biometric parameters, anatomic-morphological analyses, net photosynthetic rate and chlorophyll a fluorescence (OJIP test) were measured 21 days after transplanting the plants to *ex vitro* conditions. The obtained results showed that the plants, acclimatized *ex vitro* in the substrate with Lumbrical, presented better growth (stem length, number of leaves, leaf area and fresh mass) and photosynthetic characteristics as compared to the control plants. This biostimulator could also be used to improve acclimatization in other woody species.

Микроразмножаването на растения *in vitro* е много важно за получаване на големи количества посадъчен материал с ценни икономически качества. Въпреки това, микрорастенията растат *in vitro* в специфична среда и адаптацията им след прехвърляне в *ex vitro* условия е трудна. Поради това аклиматизацията е ключова стъпка, която до голяма степен определя успеха на микроразмножаването. Целта на настоящото изследване беше да се проучи ефектът на биотор Lumbrical върху *ex vitro* аклиматизацията на микроразмножени растения от крушовата подложка OHF 333 (*Pyrus communis* L.). Микроразмножените и вкоренени растения бяха засадени в смес от торф и перлит (2: 1) със или без Lumbrical. Те се отглеждаха в растежна камера при температура 22 ± 2 °C и фотопериод 16/8 часа (бели флуоресцентни лампи, $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPF). Растенията бяха покрити с прозрачно фолио, за да се поддържа висока влажност, а десет дни по-късно влажността постепенно намаляваше. Двадесет и един дни след прехвърляне на растенията към *ex vitro* условия бяха измерени иометрични показатели, скорост на нето фотосинтеза, хлорофилна флуоресценция (JIP тест), както и бяха извършени анатомо-морфологични анализи. Получените резултати показват, че растенията, аклиматизирани в субстрат с Lumbrical, имат по-добър растеж (дължина на стъблото, брой листа, площ на листата и свежа маса) и фотосинтетични

характеристики в сравнение с контролните растения. Този биостимулатор може да се използва и за подобряване на аклиматизацията при други дървесни видове.

4.8. Nacheva, L., Rankova, Z., Gercheva P. and Zlatev, Z. 2012. Stress responses of the cherry dwarf rootstock Gisela 5 (*Prunus cerasus* L. X *Prunus canescens* L.) after treatment with soil herbicides. I. Effect on the photosynthesis and chlorophyll fluorescence. Agricultural Sciences, 8: 57-60; ISSN 2367-5772 (Online); **Web of Science - CABI**

The aim of the present study was to investigate the stress responses of the vegetative rootstock GiSela 5[®] after treatment with soil herbicides under the conditions of a model pot experiment. The following variants were set: 1. Control (untreated); 2. pendimethalin – Stomp 33 EC – 400 ml/da; 3. isoxaflutole – Merlin 750 WG – 5,0 g/da; 4. oxyfluorfen – Goal 2E – 200 ml/da. Investigations on the gas exchange rate and the chlorophyll fluorescence after herbicide treatment were carried out. The obtained results showed that the soil herbicides pendimethalin, isoxaflutole and oxyfluorfen had a negative impact on the gas exchange rate, lowering the maximal (F_m) and variable (F_v) chlorophyll fluorescence, which confirmed the existence of stress responses.

Целта на настоящото проучване беше да се изследват стрес реакциите на вегетативната подложка за череша Гизела 5 след третиране с почвени хербициди в условията на моделен съдов опит. Анализирани са следните варианти: 1. Контрола (нетретирана); 2. Пендиметалин - Стомп 33ЕК-400 ml/da; 3.Изоксафлутол - Мерлин 750 ВГ- 5,0 g/da; 4. Оксифлуорфен - Гоал 2Е-200 ml/da. Проучено е влиянието на тези хербициди върху скоростта на фотосинтезата и параметрите на хлорофилната флуоресценция. Установено е, че третирането с почвените хербициди пендиметалин, изоксафлутол и оксифлуорфен води до значително потискане на фотосинтезата, понижаване на максималната (F_m) и вариабилната (F_v) флуоресценция при всички изследвани растения, което потвърждава наличието на стресови реакции.

4.9. Rankova, Z., Nacheva, L., Gercheva P. and Zlatev, Z. 2012. Stress responses of the cherry dwarf rootstock Gisela 5 (*Prunus cerasus* L. X *Prunus canescens* L.) after treatment with soil herbicides. II. Effect on the growth and photosynthetic pigments. Agricultural Sciences, 8: 69-74; ISSN 2367-5772 (Online); **Web of Science - CABI**

The aim of the present study was to investigate the stress responses of the vegetative rootstock GiSela 5[®] after treatment with soil herbicides under the conditions of a model pot experiment. The following variants were set: 1. Control (untreated); 2. pendimethalin – Stomp 33 EC – 400 ml/da; 3. isoxaflutole – Merlin 750 WG – 5,0 g/da; 4. oxyfluorfen – Goal 2E – 200 ml/da. The herbicide rates were recalculated according to the area of the plant pots. Visual observations for the appearance of external symptoms of herbicide phytotoxicity were carried out weekly. The biometric characteristics – growth increment, mean weight of a plant, mean number of leaves and nodes and chlorophyll content, were reported on the 70th day. The obtained results showed that the soil herbicide isoxaflutole caused white chlorosis and lower content of leaf pigments in the cherry rootstock GiSela 5[®].

Целта на настоящото проучване беше да се изследват стрес реакциите на вегетативната подложка за череша Гизела 5 след третиране с почвени хербициди в условията на моделен съдов опит. Анализирани са следните варианти: 1. Контрола (нетретирана); 2. Пендиметалин - Стомп 33ЕК-400 ml/da; 3.Изоксафлутол - Мерлин 750 ВГ-5,0 g/da; 4. Оксифлуорфен - Гоал 2Е-200 ml/da. Дозата на хербицидите беше преизчислена спрямо площта на култивационния съд. Проведени са ежеседмични визуални наблюдения за поява на външни симптоми на фитотоксичност от хербицидите. На 70-тия ден се отчетоха биометричните показатели прираст, средна маса на растение, брой възли, среден брой листа на растение и средна маса на листата. Извършен беше анализ за съдържанието на листни пигменти (хлорофил и каротиноиди). Установено е, че третирането с почвения хербицид изоксафлутол предизвиква хлороза, както и

понижено съдържание на листни пигменти при черешовата подложка Гизела 5.

4.10. Rankova, Z., Nacheva, L. and Gercheva P. 2010. *In vitro* model system for evaluation of fruit plants stress responses to soil herbicide treatment. Agricultural Sciences 4:93-96; ISSN 2367-5772 (Online); doi: 10.22620/agrisci.2010.04.016; **Web of Science - CABI**

Herbicide application in the fruit tree nursery as an element of good agrotechnical practice quite often might be risky for the appearance of phytotoxic symptoms in plants. That is why preliminary studies are needed to estimate the effect of different herbicides on the vegetative habits of the rootstocks. The aim of the present research was to study the effect of the soil herbicides Terbacil, Pendimethalin and Napropamide on isolated *Prunus cerasifera* embryos and some micropropagated rootstocks for fruit species - GF677, MM106 and *Prunus domestica* "Wangenheims" under *in vitro* conditions. Inhibition of root meristem growth and browning of cotyledons were established after the treatment with pendimethalin of *Prunus* embryos with embryonic roots shorter than 5mm. The soil herbicides terbacil, pendimethalin and napropamid caused phytotoxicity expressed in suppression of the root growth of rooted plants of GF677 under *in vitro* conditions. Visual symptoms of phytotoxicity in the leaves and stems were not established. Pendimethalin and napropamid depressed the stem and root growth of the apple rootstock MM106 plantlets. After treatment with terbacil of *in vitro* rooted "Wangenheims" plants no external symptoms of phytotoxicity – chlorosis, necrosis and depressing effect were observed. After treatment with pendimethalin and napropamide, a depressing effect on the root formation and growth of microplants without roots were established. The applied herbicides blocked rooting of *Prunus domestica* "Wangenheims" under *in vitro* conditions.

Приложението на хербициди в овощните разсадници като елемент от добрите агротехнически практики, често може да бъде рисково поради прояви на фитотоксични симптоми при растенията. Ето защо са необходими предварителни проучвания за оценка на ефекта от различните хербициди върху вегетативните прояви на подложките. Целта на настоящото изследване беше да се проучи ефектът от почвените хербициди тербацил, пендиметалин и напропамид върху изолирани ембриони от слива (*Prunus cerasifera*) и някои микроразмножаващи се подложки за овощни видове - GF677, MM106 и *Prunus domestica* „Wangenheims“ при *in vitro* условия. Беше установено инхибиране на растежа на кореновата меристема и покафеняване на котиледоните след третирането с пендиметалин на ембриони от *Prunus* с ембрионални корени по-къси от 5 mm. Почвените хербициди тербацил, пендиметалин и напропамид причиниха фитотоксичност, изразяваща се в потискане растежа на корените на вкоренени растения от GF677 при *in vitro* условия. Не бяха установени визуални симптоми на фитотоксичност в листата и стъблата. Пендиметалинът и напропамидът потиснаха растежа на стъблото и корените на растенията от ябълковата подложка MM106. След третиране с тербацил на *in vitro* вкоренени растения „Wangenheims“ не бяха наблюдавани външни симптоми на фитотоксичност - хлороза, некроза и депресиращ ефект. След третиране с пендиметалин и напропамид се установи потискащ ефект върху образуването на корени и растежа на микрорастения без корени. Приложените хербициди блокираха вкореняването на *Prunus domestica* "Wangenheims" при *in vitro* условия.

4.11. Ранкова З., Начева, Л., К. Запрянова, П.Герчева, В.Божкова. 2006. Влияние на почвените хербициди пендиметалин и напропамид върху растежа и вкореняването на слививата подложка Wangenheims в условия ин vitro. Journal of mountain agriculture on the Balkans 9 (3): 349-359; ISSN 2367-8364 (Online); **Web of science - CABI**

The studies on the effect of the soil herbicides pendimethalin and napropamide on the rooting and growth of the vegetative plum rootstock Wangenheims (*Prunus domestica*) under *in vitro* conditions were carried out in 2005 in the Laboratory of Plant Biotechnology of the

Fruit Growing Institute - Plovdiv. External symptoms of phytotoxicity and depression effect on the root formation and growth of microplants were established. External symptoms of phytotoxicity appear on day 14 with napropamide. They were expressed in the appearance of necrosis in the area of root formation. Treatment with pendimethalin on day 21 showed chlorosis of the leaves of in vitro plants and visible growth depression. The applied soil herbicides block the rooting of the plum rootstock Wangenheims (*Prunus domestica*) in vitro. Inhibitory effects on plant stem growth were observed after treatment with pendimethalin at all three rates applied. The active substance napropamide also has an inhibitory effect on plant growth in height, but it was slightly expressed in comparison with depressing effect of pendimethalin.

Проучванията на влиянието на почвените хербициди пендиметалин и напропамид върху вкореняването и растежа на вегетативната сливова подложка Wangenheims (*Prunus domestica*) в условия *in vitro* са извършени през 2005 г. в Лабораторията по растителни биотехнологии на Института по овощарство-Пловдив. Установени са външни симптоми на фитотоксичност и депресиращо влияние върху формирането на корените и растежа на микрорастенията. Външните симптоми на фитотоксичност се проявяват на 14-тия ден при прилагане на напропамид. Изразяват се в поява на некроза в областта на образуване на корена. При третиране с пендиметалин на 21-вия ден се наблюдава хлороза по листата на *in vitro* растенията и видима депресия на растежа. Приложените почвени хербициди блокират вкореняването на сливовата подложка Wangenheims (*Prunus domestica*) в условия *in vitro*. Инхибиращо влияние върху растежа на стъблото на растенията е установено след третиране с пендиметалин и в трите приложени дози. Активното вещество напропамид проявява също инхибиращо влияние върху растежа на растенията на височина, но то е по-слабо изразено в сравнение с депресиращото влияние на пендиметалин.

Г7. Статии и доклади, публикувани в научни издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация

7.1. Dimitrova, N., Nacheva, L., Kyoseva, Y., Berova, M. 2021. Preliminary study on the effect of LED light and cytokinin on the growth of pear plants *in vitro*. Proceedings of the 5th Balkan Scientific Conference on Biology, pp. 1-8.

In the past two decades, light emitting diodes (LED) have become an alternative source of light for plant tissue culture, due to their low energy consumption, low heat emission, specific wavelength irradiation etc. The effect of three LED lights (white, blue and mixed) and two cytokinins (6-benzylaminopurine or meta-topolin) on the growth of pear (*Pyrus communis* L. 'OHF 333') in vitro was studied. The plantlets were cultivated in microboxes on a modified MS solid medium supplemented with 2.5 μ M 6-benzylaminopurine (BAP) or meta-Topolin (mT). The plantlets were grown in controlled room using Philips GreenPower LED research module. Three groups of LEDs emitting in white (W), blue (B), mixed (W:R:B:far-red=1:1:1:1) (BR) lights were applied. Biometric parameters, content of photosynthetic pigments and gas-exchange analysis of the plants were measured after three four weeks passages under corresponding light/cytokinin treatment. The results obtained indicated that different LEDs and cytokinin specifically affected the growth and development of in vitro cultured pear plants. The highest fresh and dry mass distinguished the plants grown under white LED light with both cytokinins studied. The maximum values for plant height was achieved in plants grown under white LED light with BAP and blue LED light with mT. The leaf sizes of plants grown on mT enriched medium were larger than those grown on BAP enriched medium, regardless of light and the largest were the leaves of plants grown under white LED light. Also, plants grown with mT in the nutrient medium showed more intensive photosynthesis, with the difference between the white and mixed LED light being insignificant.

През последните две десетилетия диодите, излъчващи светлина (LED), се превърнаха в алтернативен източник на светлина за растителните тъканни култури поради ниската си консумация на енергия, ниски топлинни емисии, специфична дължина на вълната и др. Беше проучен ефектът от три LED светлини (бяла, синя и смесени) и два цитокинина (6-бензиламинопурин или мета-тополин) върху растежа на круша (*Pyrus communis* L. 'OHF 333') *in vitro*. Растенията бяха култивирани в полипропиленови съдове на модифицирана MS хранителна среда, обогатена с 2.5 μM 6-бензиламинопурин (BAP) или мета-тополин (mT). Микрорастенията бяха култивирани в растежна камера под LED светлини (изследователски модул Philips GreenPower LED). Бяха приложени три групи светодиоди, излъчващи в бяло (W), синьо (B) и смесена светлина (W: R: B: far red = 1: 1: 1: 1). Биометричните показатели, съдържанието на фотосинтетични пигменти и газообменът на растенията бяха измерени след три четириседмични пасажи при съответните условия - светлина / цитокинин. Получените резултати показаха, че различните LED светлини и цитокинин оказват специфично влияние върху растежа и развитието на *in vitro* култивирани растения от круша. С най-висока свежа и суха маса се отличиха растенията, отглеждани при бяла LED светлина и с двата изследвани цитокинина. Максимални стойности за височина на растенията са постигнати при бяла LED светлина с BAP и синя LED светлина с mT. Листата на растенията, отглеждани на среда с mT, бяха по-големи от тези, отглеждани на среда с BAP, независимо от светлината, а най-големи бяха листата на растенията, култивирани при бяла LED светлина. Също така, растенията, отглеждани с mT в хранителната среда, показват по-интензивна фотосинтеза, като разликата между бялата и смесената LED светлина е незначителна.

7.2. Dimitrova, N., Nikolova, V., Aleksandrova, D., **Nacheva, L.** 2020. Effect of biostimulator Regoplant on acclimatization of micropropagated GiSelA 6 Cherry rootstock in floating system. Scientific Papers. Series B, Horticulture, 64(2): 49-55. ISSN 2286-1580 (Online) **Web of Sci Core collection**;
http://horticulturejournal.usamv.ro/pdf/2020/issue_2/vol2020_2.pdf

Acclimatization is one of the key steps in the success of micropropagation of woody plants. Improvement of acclimatization of micropropagated woody fruit plants could be achieved in different ways. The purpose of this study was to optimize the acclimatization of micropropagated sweet cherry rootstock GiSelA 6 (*Prunus cerasus* 'Schattenmorelle' \times *Prunus canescens*) through application of biostimulators of natural origin in floating system. A new generation of plant growth biostimulators Regoplant and Charkor (Agrobiotech, Ukraine) contain metabolism products of symbiotic fungus-endophyte of ginseng roots, cultivated *in vitro*. Micropropagated and rooted plantlets from cherry rootstock GiSelA 6 (*Prunus cerasus* 'Schattenmorelle' \times *Prunus canescens*) were acclimatized in a floating system with 100 $\mu\text{l L}^{-1}$ Regoplant or Charkor. As control plantlets with no additional treatments served. Multi-cell bedding plant trays filled with peat: perlite 1:1 (v:v) were used for acclimatization. Plants were grown in a greenhouse under high humidity conditions for one week and then humidity was gradually decreased. Data on some growth, physiological and biochemical parameters were collected 45 days after transplanting to *ex vitro* conditions. Regoplant (100 $\mu\text{l L}^{-1}$) led the highest plants survival rate (86%), also the greatest values for the growth determined parameters.

Аклиматизацията е един от ключовите етапи при микроразмножаването на дървесните растения. Подобряването на акклиматизацията на микроразмножени дървесни овощни видове може да бъде постигнато по различни начини. Целта на това изследване бе да се оптимизира акклиматизацията към екс витро условия на микроразмножени растения от черешовата подложка GiSelA 6 (*Prunus cerasus* 'Schattenmorelle' \times *Prunus canescens*) чрез прилагане на биостимулатори с естествен произход във флоатинг система. Биостимулаторите от ново поколение Регоплант и Чаркор (Agrobiotech, Ukraine)

съдържат метаболитни продукти от ин витро култивирани ендифитни микромицети, изолирани от корени на жен-шен. Микроразмножени и вкоренени растения от черешовата подложка Гизела 6 бяха аклиматизирани във флоатинг система със 100 $\mu\text{l L}^{-1}$ Регоплант или Чаркор. Като контрола бяха използвани растения без добавка на растежни регулатори. За аклиматизация бяха използвани форми за разсад с торфено перлитна смес (1:1 обемно). Растенията бяха култивирани в стъклена оранжерия при висока влажност за една седмица, след което влажността постепенно бе понижавана. Данните за някои растежни, физиологични и биохимични показатели бяха отчетени 45 дни след прехвърляне на растенията в ex vitro условия. Прилагането на Регоплант (100 $\mu\text{l L}^{-1}$) доведе до най-висок процент на преживяемост на растенията (86%) и също така до най-добри растежни показатели.

7.3. Ivanova, V., Nacheva, L., Genova, D. 2019. Improvement of seed germination of *Magnolia grandiflora* L. Bulgarian Journal of Crop Science (Rasteniadvani nauki), 56(5), 12-18; ISSN 2534-9848 (Online); **Web of Science**; https://cropscience-bg.org/page/en/details.php?article_id=770

The distribution of genus *Magnolia* is limited due to difficulties in breeding and production of propagating material. The aim of present investigation is to increase the germination of *Magnolia grandiflora* L. seeds. The seeds were collected in September 2017, from a 15-year-old tree in Plovdiv region. After 2 months they were divided into 2 groups - half of them remained dry at room temperature and the other half was disinfected following the standard procedure for the Laboratory of "Plant Biotechnology". The disinfected seeds were divided into 2 subgroups in sterile glass jars with sterile wet perlite in variants at temperatures of 4 °C and 22 °C in the dark for 70 days. Gibberellic acid (GA3), Biolan and Agrostimulin were tested for germination stimulation. It was found that stratification at low positive temperature is a sine qua non for seed germination of studied magnolia. The results showed that treatment of seeds of *Magnolia grandiflora* L. with growth regulators does not increase seed germination under the specific conditions, but affects the further development of seedlings. Seeds stored at room temperature did not germinate under the conditions of the study, regardless of treatment with growth regulators. Plants obtained from 0.02% Biolan-treated seeds had higher fresh leaf weight and larger leaf area than the other variants. Treatment of the seeds after stratification with 0.005% Agrostimulin had positive influence on the development of the root system.

Разпространението на род *Magnolia* е ограничено поради трудности при отглеждането и производството на посадъчен материал. Целта на настоящото изследване е да увеличи кълняемостта на семена от *Magnolia grandiflora* L. Семената са събрани през септември 2017 г., от 15-годишно дърво в Пловдивска област. След 2 месеца съхранение в сухо състояние при стайна температура те бяха разделени на 2 групи - половината от тях останаха сухи при стайна температура, а другата половина бяха дезинфекцирани по стандартна за лабораторията по „Растителни биотехнологии“ процедура. Дезинфекцираните семена бяха разделени на 2 подгрупи в стерилни стъклени буркани със стерилен влажен перлит във варианти при температури от 4 °C и 22 °C на тъмно в продължение на 70 дни. Гиберелова киселина (GA₃), Biolan и Agrostimulin бяха тествани за стимулиране на покълването. Установено е, че стратификацията при ниска положителна температура е задължително условие за покълване на семената на изследваната магнолия. Резултатите показаха, че третирането на семена от *Magnolia grandiflora* L. с изследваните биостимулатори не повишава кълняемостта на семената при изпитваните условия, но влияе върху по-нататъшното развитие на семеначетата. Семената, съхранявани при стайна температура, не покълват при условията на изследването, независимо от третирането с растежни регулатори. Растенията, получени от третиранни с 0,02% биолан семена, имаха по-голяма свежа маса на листата и по-голяма листна площ от останалите

варианти. Третирането на стратифицирани семена с 0,005% агростимулин оказва положително влияние върху развитието на кореновата им система.

7.4. Aleksandrova, D., Nacheva, L., Nikolova, V. 2019. Improvement of Fire Blight Resistance of Pear (*Pyrus communis* L.) by Treatment with the Regoplant Biostimulator. Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 22 (3), 177-186; ISSN 2367-8364 (Online); **Web of science – CABI**; http://rimsa.eu/images/perennial_plants_vol_22-3_2019.pdf

Fire blight (*Erwinia amylovora* Burrill) is among the most destructive diseases registered in Bulgaria and worldwide and affects a wide range of hosts of the *Rosaceae* family. At the favorable conditions there is a rapid spread, affecting all plant parts. The chemical control against the bacteria is particularly difficult and includes only preventive action. The aim of the study was to investigate the possibility to improve the resistance of pear plants to the fire blight by increasing the natural plant immunity. Regoplant (Agrobiotech, Ukraine) is a new generation plant biostimulator whose action is based on synergic effect of products of biotechnological cultivation of fungi-micromycetes from root system of ginseng and Aversectine – biological product with antiparasitic action. Pear plants (*Pyrus communis* L. ‘Packham’s Triumph’) treated with Regoplant (100µl l⁻¹) before and after inoculation with the bacterial suspension were used in the investigation. As a control the same plants without Regoplant treatment were used. Best results were obtained in variant 3, in which the plants were treated with Regoplant, and 5 days later the artificial inoculation was done. In this variant, the lowest leaf attack index (18.46%) was recorded, followed by variant 2 (32.85%) and the control (34.66%).

Огненият пригор (*Erwinia amylovora*, Burrill) е сред най-унищожителните болести, регистрирани у нас и в света, и засяга широк кръг от гостоприемници от семейство Розоцветни (*Rosaceae*). При благоприятни условия има бързо разпространение като засяга всички надземни части на растението. Химичната борба с бактерията е особено трудна и до този момент включва само превантивни мерки. Целта на изследването е да се проучат възможностите за повишаване устойчивостта на крушови растения към огнен пригор чрез повишаване на естествения имунитет на растенията. Регоплант (Agrobiotech, Ukraine) е природен биостимулатор от ново поколение, чийто механизъм на действие се основава на синергичния ефект на метаболитни продукти от култивирани ендофитни гъби – микромицети, изолирани от корените на женшен, и аверсектин – биологичен продукт с противопаразитно действие. В настоящото проучване са използвани микроразмножени растения от круша сорт “Пакъмс Триумф” (*Pyrus communis* L. ‘Packham’s Triumph’), които са третирани с разтвор от Регоплант (100µl l⁻¹) преди или след инокулирането с бактериална суспензия на *Erwinia amylovora*, Burrill. Като контрола са използвани растения, които не са третирани с Регоплант. Най-добри резултати бяха получени при вариант 3, при който растенията са третирани с Регоплант, и след 5 дни беше направено изкуственото заразяване. При този вариант беше отчетен най-нисък индекс на нападение по листата (18,46%), следван от вариант 2 (32.85%) и контролата (34.66%).

7.5. Dimitrova, N., Nacheva, L., Berova, M. 2019. Optimisation of rooting and acclimatization of *Pyrus communis* L. by biostimulator Charkor. Silva Balcanica, 20 (3): 47-56; ISSN 1311-8706 (print); **Web of Science; Scopus; SJR (2019) 0.11**; <https://silvabalcanica.wordpress.com/table-of-contents/2019-2/>

Rooting *in vitro* is considered one of the main problems in the micropropagation of woody species. The aim of the present study was to optimise the rooting and acclimatization of micropropagated pear plants through applying a new plant-growth biostimulator of natural origin, Charkor (Agrobiotech, Ukraine). Charkor contains metabolism products of symbiotic fungus-endophyte of ginseng roots, cultivated *in vitro*. Microshoots of pear rootstock OHF 333 (*Pyrus communis* L. ‘Old Home’ x ‘Farmingdale’) were rooted on DKW (Driver and

Kuniyuki, 1984) media supplemented with Charkor (0.1 ml l^{-1} , 0.3 ml l^{-1} or 0.5 ml l^{-1}) and $10 \mu\text{M}$ indolyl-acetic acid (IAA; alone or in combinations). Plantlets cultivated on a medium free of growth regulators served as a control. After three weeks on rooting media, plants were transferred for acclimatization in pots (peat: perlite 2:1). Data on fresh weight of leaves, roots, stems and dry matter, leaf area, mean number of leaves per plant, stem and root length, chlorophyll fluorescence and net photosynthetic rate were recorded 20 days after acclimatization. The best result was obtained with plants treated with $10 \mu\text{M}$ IAA (alone) and in combination with 0.5 ml l^{-1} Charkor.

Вкореняването *in vitro* е един от основните проблеми при микроразмножаването на дървесни видове. Целта на настоящото проучване е да се оптимизира вкореняването и аклиматизацията на микроразмножени крушови растения чрез прилагане на нов биостимулатор от естествен произход, Charkor (Agrobiotech, Украйна). Charkor съдържа продукти от метаболизма на симбиотичната ендофитна гъба, изолирана от корени на женшен, култивирана *in vitro*. Микрорезници от крушовата подложки ОНФ 333 (*Pyrus communis* L. 'Old Home' x 'Farmingdale') са вкоренени на хранителна среда DKW (Driver and Kuniyuki, 1984), обогатена с Charkor ($0,1 \text{ ml l}^{-1}$, $0,3 \text{ ml l}^{-1}$ или $0,5 \text{ ml l}^{-1}$) и $10 \mu\text{M}$ индолил-оцетна киселина (IAA; самостоятелно или в комбинации). Контролните растения са отглеждани на среда без растежни регулатори. След три седмици в среда за вкореняване, растенията са прехвърлени за аклиматизация в саксии (торф: перлит 2: 1). Данните за свежа и суха маса на листата, корените, стъблата, листна площ, средния брой листа на растение, дължината на стъблото и корените, хлорофила флуоресценция и скорост на нето фотосинтеза са отчетени 20 дни след аклиматизацията. Най-добрият резултат е получен при растения, третирани с $10 \mu\text{M}$ IAA (самостоятелно) и в комбинация с $0,5 \text{ ml l}^{-1}$ Charkor.

7.6. Dimitrova, N. and Nacheva, L. 2018. Micropropagation of *Helichrysum italicum* – a medicinal plant with ornamental value. Journal of BioScience and Biotechnology. 7 (2-3): 97-101; ISSN:1314-6246 (online); **Web of Science**; <https://editorial.uniplovdiv.bg/index.php/JBB/article/view/164>

Helichrysum italicum (Roth) G. Don is a Mediterranean vegetal species from the *Asteraceae* family. The ornamental value of the flowers and the properties of its essential oils contribute to its popularity. The aim of the present study was to compare the effect of different cytokinins on the multiplication of *Helichrysum italicum* and to develop a reliable protocol for *in vitro* micropropagation of this medicinal and ornamental plant. Nutrient media based on both MS (Murashige and Skoog, 1962) or DKW (Driver and Kuniyuki, 1984) formulations were used. They were enriched with different cytokinins - BAP, Kinetin, or Zeatin ($5\mu\text{M}$). The best multiplication rate was achieved on DKW medium, supplemented with $5\mu\text{M}$ Kinetin. A high percentage of rooting was achieved on the control treatment and on the nutrient media, supplemented with IBA.

Helichrysum italicum (Roth) G. Don е средиземноморски растителен вид от Семейство *Asteraceae*. Декоративната стойност на цветовете и лечебните свойства на етеричните им масла допринасят за неговата популярност. Целта на настоящото проучване беше да се сравни ефектът на различни цитокинини върху мултипликацията на *Helichrysum italicum* и да се разработи надежден протокол за *in vitro* микроразмножаване на това лечебно и декоративно растение. Използвани са хранителни среди, базирани на MS (Murashige и Skoog, 1962) или DKW (Driver and Kuniyuki, 1984). Те са обогатени с различни цитокинини - BAP, кинетин или зеатин ($5\mu\text{M}$). Най-висок коефициент на мултипликация е постигнат на среда DKW с $5\mu\text{M}$ кинетин. Висок процент на вкореняване е постигнат на контролната среда и хранителните среди с добавка на IBA.

7.7. Nacheva, L. and Ivanova, V. 2017. Silver nitrate and chlorhexidine gluconate –

effective surface sterilization agents in disinfection procedures at initiation of woody shoot tip and embryo culture. Journal of BioScience and Biotechnology. 6 (3): 187-190; ISSN:1314-6246 (online); **Web of Science**; <https://editorial.uni-plovdiv.bg/index.php/JBB/article/view/165>

The surface sterilization of explants in chemical solutions is an important step to remove contaminants with minimal damage to plant cells. Woody and mature plants growing in the open field are known to harbor a large amount of microflora and are very difficult to sterilize. The routinely used surface sterilization procedures with the solution of $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ had proven to be relatively unsuccessful with *Taxus baccata* and some other woody fruit and ornamental species. The objective of the present study was to propose and to verify new procedures of surface-sterilization of *Ginkgo* and plum shoot tip explants from old trees as well as sweet cherry embryos employing silver nitrate or chlorhexidine gluconate in different concentration and periods of exposure. According to the results obtained in the present experiments we could recommend silver nitrate and chlorhexidine gluconate as effective surface sterilization agents in disinfection procedures at the initiation of woody shoot tip and embryo culture.

Повърхностната стерилизация на експлант с химически разтвори е важна стъпка към отстраняване на замърсителите с минимално увреждане на растителните клетки. Известно е, че по повърхността на дървесните и храстовидните растения, растящи на открито, се развива голямо количество съпътстваща микрофлора и са много трудно за стерилизация при въвеждане в *in vitro* култура. Рутинно използваните процедури за повърхностна дезинфекция с разтвор на $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ се оказва неуспешна при *Taxus baccata* и някои други дървесни овощни и декоративни видове. Целта на настоящето проучването беше да предложат и проверят нови процедури за повърхностна стерилизация на експлант от възрастни дървета Гинко и слива, както и ембриони от череша чрез използване на сребърен нитрат или хлорхексидин глюконат в различна концентрация и продължителност на въздействие. Резултатите, получени в настоящите експерименти, показаха че сребърен нитрат и хлорхексидин глюконат са ефективни стерилизиращи агенти в дезинфекционни процедури при въвеждане в *in vitro* култура на вегетативни връхчета от дървесни видове и ембриокултура от череша.

7.8. Dimitrova, N., Nacheva, L., Berova, M. 2017. Optimisation of acclimatization of micropropagated pear plants (*Pyrus communis* L.) by new plant biostimulators of natural origin. Journal of mountain agriculture on the Balkans, 20 (1): 296-305. ISSN 2367-8364 (Online); **Web of science-CABI**; http://rimsa.eu/images/perennial_plants_vol_20-1_part_2_2017.pdf

Acclimatization is one of the key steps in the micropropagation process. The aim of the present investigation is to study the possibility to improve acclimatization of micropropagated plants by new generation of plant biostimulators of natural origin – Regoplant and Stimpo (Agrobiotech, Ukraina). These biostimulators contain metabolism products of *in vitro* cultivation of endophyte fungus, isolated from ginseng roots. For the purpose of this study micropropagated and rooted plantlets from pear rootstock OHF 333 (*Pyrus communis* L.) are treated with Regoplant or Stimpo in concentrations $50 \mu\text{l l}^{-1}$ or $100 \mu\text{l l}^{-1}$. Plantlets treated with distilled water (without plant growth regulators) serve as a control sample. Multi-cell bedding plant trays filled with peat: perlite (1:1) are used for acclimatization. Plants were kept in a growth chamber under 16 h photoperiod ($150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPF) and high humidity. Data on fresh and dry matter, mean number of roots per plant, stem and root length, photosynthetic pigments, antioxidant activity and chlorophyll fluorescence are collected 30 days after treatment. The best result is obtained with plants treated with $50 \mu\text{l l}^{-1}$ Regoplant.

Аклиматизацията е една от най- критичните стъпки в процеса на микроразмножаване. Целта на настоящето проучване е да се изследват възможностите за оптимизиране на акклиматизацията на *in vitro* размножавани растения чрез прилагане на ново поколение

биостимулатори с естествен произход – Регоплант и Стимпо (Agrobiotech, Ukraina). Тези биостимулатори съдържат метаболитни продукти от *in vitro* култивирането на ендофитни гъби, изолирани от корените на жен-шен. За целта на настоящото проучване микроразмножени и вкоренени растения от крушовата подложка ОНФ 333 (*Pyrus communis* L.) са третирани с разтвори на Регоплант или Стимпо в концентрации $50 \mu\text{l l}^{-1}$ или $100 \mu\text{l l}^{-1}$. Контролните растения са третирани само с вода, без добавка на растежни регулатори. Всички растения са засадени във форми за разсад в торфено перлитен субстрат (1:1) и култивирани във фитостатна камера с фотопериод 16 часа ($150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD) и висока влажност. На 30-я ден след третирането са отчетени следните показатели: свежа и суха маса, съдържание на фотосинтетични пигменти, антиоксидантна активност и хлорофилна флуоресценция. Най-добри резултати са получени при растенията, третирани с $50 \mu\text{l l}^{-1}$ Регоплант.

7.9. Начева, Л., Герчева, П., Иванова, В. 2015. Влияние на гранулирани торове с контролирано освобождаване Osmocote върху растежа и развитието на семеначета от *Ginkgo biloba* L.; Аграрен университет – Пловдив, Научни трудове, т. LIX, кн. 4:143-148; ISSN 2367-5845 (Online); **Web of Science – CABI**
<http://nauchnitrudove.au-plovdiv.bg/category/2015/issue-4-2015/>

Besides their great ornamental value, *Ginkgo biloba* L. trees are known for their valuable wood with application in medicine and their seeds are used for food. The aim of this research was to study the possibilities for application of the controlled-release fertilizer Osmocote on the growth and development of *Ginkgo biloba* L. seedlings. The fertilizer Osmocote Pro 3-4M (2nd generation), Osmocote Exact Standart (3rd generation) and Osmocote (Exact Hi End) – fourth generation were used in the experiment in the manufacturer's recommended concentrations. The results showed that the Osmocote application into the substrate for production of *Ginkgo* positively influenced the growth and development of the plants. In order to achieve a more intensive growth it is necessary to apply higher concentrations.

Освен с голямата си декоративна стойност, дърветата *Ginkgo biloba* L. са известни със своята ценна дървесина, с приложение в медицината, а също така семената им се използват за храна. Целта на това изследване беше да се проучат възможностите за прилагане на тор с контролирано освобождаване Osmocote върху растежа и развитието на семеначета от *Ginkgo biloba* L. Три разновидности на Osmocote - Osmocote Pro 3-4M (2-ро поколение), Osmocote Exact Standart (3-то поколение) и Osmocote (Exact Hi End) - четвърто поколение бяха използвани в експеримента в препоръчаните от производителя концентрации. Резултатите показаха, че приложението на Osmocote в почвения субстрат на Гинко повлиява положително растежа и развитието на растенията. За да се постигне по-интензивен растеж е необходимо да се прилагат по-високи концентрации.

7.10. Начева, Л., Гандев, С., Герчева, П., Иванова, В. 2015. Възможности за присаждане на *Ginkgo biloba* L. по метода „топъл калус“. Аграрен университет – Пловдив, Научни трудове, т. LIX, кн. 4: 137-142; ISSN 2367-5845 (Online); **Web of Science – CABI**; <http://nauchnitrudove.au-plovdiv.bg/category/2015/issue-4-2015/>

Ginkgo biloba L. has been used for over 3,000 years in its homeland China for food, decoration and treatment of various diseases. *Ginkgo* can be propagated by seeds, green and ripe cuttings and by grafting. A major disadvantage in the seed propagation is that the new plants are genetically heterogeneous in terms of morphological and botanical features as well as in the content of biologically active substances in the leaves. Moreover, the signs which distinguish male from female plants appear only after 15-20 years - too late for removing the fruiting trees which are undesirable for landscaping purposes because of the bad smell of the fruits. Vegetative propagation is used on the one hand for the production of clones and

varieties having desirable decorative qualities and on the other hand – to produce only male trees for landscaping. The hot callus method of grafting has been optimized for walnut and other trees at the Fruit Growing Institute in Plovdiv by a specially developed system with water heating. The objective of this experiment was to study the possibilities for grafting *Ginkgo* by this method. Annual seedlings of *Ginkgo biloba* L. were used as a rootstock. Scions of appropriate size were taken from a male tree. The cleft grafting was carried out at the beginning of March. The grafted plants were laid horizontally on the tunnels so that the place of grafting is on the heated pipeline. The roots of the plants which were found to be outside the tunnel were covered with damp sand. A temperature of 27°C (± 1°C) was maintained for 4 weeks. After that period the grafted plants were planted in pots with a peat-pearlite mixture. The non-grafted seedlings grown under the same conditions were used as a control. A very high percentage of transplanting - 75%, with very a good development of the grafted plants was reported and the one-year vegetation growth reached 20 centimeters.

Ginkgo biloba L. се използва повече от 3000 години в родината си Китай за храна, декорация и лечение на различни заболявания. Гинко може да се размножава чрез семена, зелени и зрели резници и чрез присаждане. Основен недостатък при размножаването със семена е, че новите растения са генетично разнородни по отношение на морфологичните и ботаническите особености, както и по съдържанието на биологично активни вещества в листата. Освен това, признаците които отличават мъжките от женските растения, се появяват едва след 15-20 години - твърде късно за премахване на женските дървета, които са нежелани за озеленяване поради лошата миризма на плодовете. Вегетативното размножаване се използва от една страна за производство на форми и сортове с желани декоративни качества, а от друга - за производство само на мъжки дървета за озеленяване. Методът за присаждане „топъл калус“ е оптимизиран за орехови и други дървесни видове в Институт по овощарство - Пловдив при специално разработена система с топла вода. Целта на този експеримент беше да се проучат възможностите за присаждане на *Ginkgo biloba* L. по този метод. За подложка са използвани едногодишни семеначета от *Ginkgo biloba* L. Калемите с подходящ размер са взети от мъжко дърво. Присаждането е извършено в началото на март. Присадените растения са положени хоризонтално върху тунелите, така че мястото на присаждане да е върху отопляемия тръбопровод. Корените на растенията извън тунела, са покрити с влажен пясък. Температура от 27 ° C (± 1 ° C) се поддържа в продължение на 4 седмици. След този период присадените растения се засаждат в саксии с торфено-перлитна смес. Неприсадени растения, отглеждани при същите условия, са използвани като контрола. Отчетен е много висок процент на прихващане - 75%, с много добро развитие на присадените растения като едногодишният прираст достига 20 сантиметра.

7.11. Иванова, В., Начева, Л., Герчева, П. 2015. Инвентаризиране на генетични ресурси от *Ginkgo biloba* L. Аграрен университет – Пловдив, Научни трудове, т. LIX, кн. 4: 9-13. ISSN 2367-5845 (Online); **Web of Science – CABI**; <http://nauchnitrudove.au-plovdiv.bg/category/2015/issue-4-2015/>

Ginkgo is a deciduous tree characterized by an extremely long life. The investigation aimed at registering the genetic resources of *Ginkgo biloba* L., was conducted in the period from 30 June 2012 to 15 September 2014. Eleven towns were included in the research, namely Plovdiv, Stara Zagora, Burgas, Pazardjik, Blagoevgrad, Sandanski, Dimitrovgrad, Haskovo, Jambol, Karlovo and Sopot. A total of 751 plants was registered. The following parameters were studied: location, approximate height (m), diameter of the stem (m), approximate age (in years), vitality, decorative and sanitary condition. The height of the trees varied from 12.7 m to 22.9 m. The age of the studied plants ranged from 10 to 22.9 years. The oldest plant was located in Plovdiv – in the Tsar Simeon Gardens. The plants in Stara Zagora demonstrated the highest performance in terms of vitality, decorative value and health status.

Гинко е широколистно дърво, характеризиращо се с изключително дълъг живот. Обследването, насочено към регистриране на генетичните ресурси на *Ginkgo biloba* L., е проведено в периода от 30 юни 2012 г. до 15 септември 2014 г. В изследването са включени единадесет града, а именно Пловдив, Стара Загора, Бургас, Пазарджик, Благоевград, Сандански, Димитровград, Хасково, Ямбол, Карлово и Сопот. Регистрирани са общо 751 растения. Изследвани са следните параметри: местоположение, приблизителна височина (m), диаметър на стъблото (m), приблизителна възраст (в години), жизненост, декоративно и санитарно състояние. Височината на дърветата варира от 12,7 m до 22,9 m. Възрастта на изследваните растения е от 10 до 22,9 години. Най-старото растение се намирал в Пловдив - в Цар Симеоновата градина. Растенията в Стара Загора демонстрират най-високи показатели по отношение на жизнеността, декоративната стойност и здравословното състояние.

7.12. Димитрова, Н., **Начева, Л.**, Борова, М. 20150. Възможности за използване на съдове с газопроницаемо покритие за *in vitro* култивиране на круша (*Pyrus communis* L.). Аграрен университет – Пловдив, Научни трудове, т. LIX, кн. 4: 65-74. ISSN 2367-5845 (Online); **Web of Science – CABI**; <http://nauchnitrudove.au-plovdiv.bg/category/2015/issue-4-2015/>

The experimental work was carried out using the pear rootstock ‘Old Home’ x ‘Farmingdale’ OHF-333 (*Pyrus communis* L.) in the Plant Biotechnology Laboratory of the Fruit Growing Institute in Plovdiv, Bulgaria. All the *in vitro* plants were cultivated in a growth chamber at a temperature of 22±2°C and photoperiod of 16/8 hours (40 μmol m⁻² s⁻¹PPFD). The *in vitro* culture was sustained through a 3-week subculturing of the modified nutrient medium MS, enriched with 2,5 μM BAP or meta-topolin (mT), 0,05 μM IBA, 30 g l⁻¹ sucrose, 6,5 g l⁻¹ agar. For the purpose of carrying out the experiments, glass (G) and polypropylene (PP) containers (600 ml) were used. The PP containers were equipped with a green filter enabling gas exchange with the environment. The physiological and biochemical analyses showed that the plants grown in polypropylene containers with improved gas exchange with the environment had a better physiological status compared with those grown in glass jars.

Експерименталната работа е извършена с крушовата подложка ‘Old Home’ x ‘Farmingdale’ OHF-333 (*Pyrus communis* L.) в Лабораторията по растителни биотехнологии на Института по овощарство в Пловдив, България. Всички *in vitro* растения са култивирани в растежна камера с температура 22±2 ° C и фотопериод от 16/8 часа (40 μmol m⁻² s⁻¹PPFD). *In vitro* културата се поддържа чрез 3-седмично субкултивиране на модифицирана хранителна среда MS, обогатена с 2,5 μM BAP или мета-тополин (mT), 0,05 μM IBA, 30 g l⁻¹ захароза, 6,5 g l⁻¹ агар. За целите на експеримента бяха използвани стъклени (G) и полипропиленови (PP) съдове (600 ml). PP съдове бяха оборудвани със зелен филтър, позволяващ обмен на газове с околната среда. Физиологичните и биохимични анализи показаха, че растенията, отглеждани в полипропиленови контейнери с подобрен газообмен с околната среда, имат по-добър физиологичен статус в сравнение с тези, отглеждани в стъклени буркани.

7.13. Начева, Л., Гандев, С. 2009. Транспорт и разпределение на ¹⁴C - фотоасимилати при орехови растения, присадени по метода Топъл калус. Растениевъдни науки 46: 210-213. (Bulgarian Journal of Crop Science); ISSN 2534-9848 (Online) **Web of Science**

The production of grafted walnut trees is a difficult process due to the poor callus formation in that fruit species. That is why different methods of walnut propagation have been studied worldwide. ‘Hot callus’ grafting method has been successfully practiced in the recent years. Good results are achieved when using it, however, the data published by different authors showed that the percentage of survival ranged from 7 to 100 %. That great variation of the results puts the question about the transport and distribution of the photoassimilates in the plants grafted by the ‘hot callus’ method, which was the aim of the experiment. The study

was carried out with plants of 'Izvor 10' cultivar grafted on common walnut (*Juglans regia* L.) rootstock. Non-grafted seedlings grown under the same conditions were used as a control. At the end of their vegetation two grafted and two non-grafted plants were selected, $^{14}\text{CO}_2$ was applied to them for 30 minutes at full sunshine. The plants were fractioned forming the following fractions: leaves, annual shoot, callus from the place of grafting, root neck and roots. One grafted and one non-grafted plant was used for autoradiography. In another couple of plants the percent distribution of the radioactive marker in the different fractions was determined. The results obtained showed that both the grafted and non-grafted plants have realized transporting of newly synthesized assimilates: in the leaves the established percentage was 82.0 % in the grafted plant and 80.74 % in the non-grafted. The radioactivity reported in the roots of the grafted plant (13.3 %) was close to that in the non-grafted (15.49 %). On the basis of those results it could be concluded that the hot callus grafting method provides good transport and distribution of the newly-formed photoassimilates in the whole plant.

Производството на присадени орехови дръвчета е труден процес, поради слабото калусообразуване на този овошен вид. Поради тази причина в света се изпитват различни начини за размножаване на ореха. През последните години с успех се налага методът за размножаване 'Топъл калус'. Чрез него се постигат добри резултати, но публикуваните данни на различни автори показват, че процентът на прихващане варира от 7 до 100%. Тази разнородност на резултатите поставя въпроса за транспорта и разпределението на фотоасимилати при присадените растения по метода Топъл калус, което беше и целта на експеримента. Опитът беше проведен с растения от сорт 'Извор 10', присадени върху подложка обикновен орех (*Juglans regia* L.). За контрола бяха използвани неприсадени семеначета, отглеждани при същите условия. В края на вегетацията им бяха избрани две присадени и две неприсадени растения, които се подхраниха с $^{14}\text{CO}_2$ за 30 минути при пълно слънчево греене. Растенията бяха фракционирани и бяха оформени следните фракции: листа, едногодишен прираст, калус от мястото на присаждане, коренова шийка и корени. По едно присадено и неприсадено растения бяха използвани за автордиография. При другата двойка растения беше определено процентното разпределение на радиоактивния маркер в отделните фракции. Получените резултати показват, че както присадените, така и неприсадените растения са осъществили транспорт на новоизработени фотоасимилати в рамките на целите растения. Основното количество новосинтезирани асимилати - 82.0% при присаденото растение и 80.74% при неприсаденото е установено в листата. Отчетената радиоактивност в корените на присаденото растение (13.3%) е близка с тази на неприсаденото - 15.49%. Въз основа на тези резултати може да се заключи, че присаждането по метода 'Топъл калус' осигурява добър транспорт и разпределение на новоизработените фотоасимилати в рамките на цялото растение.

7.14. Milusheva, S., Nacheva, L., Ivanova, K. 2007. *In vitro* virus elimination in apple cultivar Remo-results after heat treatment. Journal of mountain agriculture on the Balkans, vol. 10 (6): 1140-1147. ISSN 2367-8364 (Online); Web of science - CABI

The surveys included the post thermotherapy trials on virus elimination apple cv. 'Remo' cultured in vitro. In the course of trials, the plants originating from heat-treated plants were tested by ELISA analyses for three sap transmissible viruses ACLSV, ApMV and ASGV, which were detected in the mother tree at the beginning of the studies. The serological assays of *in vitro* plants cloned after thermotherapy showed that all tested samples reacted negatively with antiserum against ACLSV. ApMV and ASGV infections were not found in 87% and 75% of tested samples, respectively. The heat treated plants were tested and after their acclimatization to ex vitro conditions. Both ACLSV and ApMV were eradicated in the same rate - 75% of analyzed samples, ASGV was eliminated in 50% of the tested clones. The results demonstrate that the combination of thermotherapy with in vitro

techniques is a suitable approach to obtain virus-free stocks for a short time, but it is necessary to carry out control at each stage of the virus elimination process.

Настоящата публикация представя резултатите от експериментите, проведени след термотерапия при *in vitro* условия на ябълковия сорт 'Ремо'. В процеса на проучването термотерапираните растения бяха анализирани за три сокопреносими вируса по ябълката ACLSV, АрMV и ASGV, които бяха идентифицирани в изходното растение, в началните етапи на изследването. Данните от серологичните тестове на *in vitro* клонираните след термотерапия растения показват, че всички тествани проби реагират отрицателно с антисеруми за ACLSV, а при 87% и 75% от тях не бяха идентифицирани съответно АрMV и ASGV. Термотерапираните растения бяха тествани и след адаптацията им към *ex vitro* условия. При 75% от растенията е постигнато успешно освобождаване на ACLSV и АрMV, а елиминиране на ASGV е постигнато при 50% от тестваните клонове. Получените резултати показват, че съчетаването на термотерапията с *in vitro* техниките е подходящ начин за получаване на безвирусни изходни растения за кратък период, но е необходимо на всеки един етап от процеса да се извършва серологичен контрол.

Г8. Статии и доклади, публикувани в нерелативирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове (10/п).

8.1. Димитрова, Н., Николова, В., **Начева, Л.** 2020. Влияние на флоатинг система върху *ex vitro* аклиматизацията на микроразмножени овощни растения. Сборник на докладите от Национална научно-техническа конференция с международно участие „Екология и здраве“, 25 - 26 юни 2020 година, Пловдив, 32-38. ISSN 2367- 9530; <https://hst.bg/bulgarian/conference.htm>

Ex vitro acclimatization of micropropagated plants is one of the key steps for rapid and large scale up clonal multiplication of quality disease-free planting material. The purpose of this study was to optimize the acclimatization of micropropagated fruit rootstocks through application of floating system. The experiment was carried out with micropropagated plantlets of sweet cherry rootstocks GiSelA 6 (*Prunus cerasus* "Schattenmorelle" × *Prunus canescens*) and Maxma 14 (Maxma Delbard® 14), as well as pear rootstock OHF 333 (*Pyrus communis* L.) in a greenhouse. Plants were grown in a floating system with perlite and three different nutrient solutions - Knopp, Hellriegel or Pryanishnikov. Plants potted in the same way in peat:perlite without any nutrient solution served as control. Data on fresh and dry matter, mean stem length, mean number of leaves and chlorophyll a fluorescence (JIP test) were measured 45 days after transplanting the plants to *ex vitro* conditions. The best results with cherry rootstocks were obtained in floating system with Pryanishnikov's nutrient solution. The plants had higher fresh and dry mass, number of leaves compared to the control plants. The pear plants acclimatized in perlite floating system with all nutrient solutions showed slow growth compared to the control.

Аклиматизацията на микроразмножени растения към *ex vitro* условия е една от най-критичните стъпки за при клоналното микроразмножаване на качествен безвирусен посадъчен материал. Целта на това проучване е да се оптимизира аклиматизацията на микроразмножени овощни подложки чрез прилагане на флоатинг система. Експериментът е извършен в оранжерийни условия с микроразмножени растения от черешовите подложки GiSelA 6 (*Prunus cerasus* "Schattenmorelle" × *Prunus canescens*) и Maxma 14 (Maxma Delbard® 14), както и крушовата подложка OHF 333 (*Pyrus communis* L.). Растенията са култивирани във флоатинг система с перлит с три различни хранителни разтвора – Кноп, Хелригел и Прянишников. Контролните растения са засадени при същите условия в торфено: перлитен субстрат без хранителен разтвор. На 45-я ден след прехвърлянето на растенията в *ex vitro* условия са отчетени биометричните показатели и анализ на хлорофилнта флуоресценция (JIP

тест). Най-добри резултати при черешовите подложки са отчетени при аклиматизиране на растенията във флоатинг система с разтвор на Прянишников. Тези растения имаха по-голяма свежа и суха маса, както и брой листа в сравнение с контролните растения. Растенията от крушовата подложка ОНФ 333, адаптирани във флоатинг система с перлит, показаха по-слаби резултати в сравнение с контролните растения.

8.2. Ivanova, V., Nacheva, L., Krusteva, I. 2019. Treatment of *Limonium* and *Goniolimon* seeds with Biolan to increase germination. International Ornamental Plants Congress, 9-11 Oct, 2019, Bursa, Turkey, pp. 16-27, ISBN: 978-605-031-323-9; https://uludag.edu.tr/dosyalar/susbitkileri/full_text_book06122019.pdf

Limonium bulgaricum Anchev and *Goniolimon dalmaticum* (C. PRESL) RCHB. F. are Balkan endemic species. According to Agrobiotech (Ukraine), Biolan is a preparation of biological origin (a product from the cultivation of micromycetes isolated from ginseng roots), which is characterized by increased support of analogues of phytohormones and polyunsaturated fatty acids responsible for the synthesis of phytonutrients, phytoalexins and chelate forms of biogenic microelements. It stimulates the accelerated cell division, the root system development, the increase of the leaf surface and the chlorophyll content, reduces the phytotoxic action of the pesticides, has an anti-mutagenic effect, improves the quality of the production. Seeds from 11 genotypes - *Limonium* (L) and *Gonolimonium* (G) were used as experimental material. Calibrated by size seeds were sterilized and divided into two groups. One group of seeds was placed in plates and moistened well (but not soaked in much liquid at the manufacturer's recommendation) with 2 ml of 0.01% Biolan for 12 hours. Another group (control) was presoaked in 2 ml distilled water. Then both groups of seeds are placed in Petri dish (10 cm) on moistened filter paper and covered with the cover of the plate and white paper (diffused light) at room temperature (about 22° C). Growth measurements for the seeds included measurement of germinated seed at day 7; 14 and 21; length of stem and roots on day 21; fresh and dry weights of the 21-days plants. The highest seed germination rate is genotype number 8 from *Limonium* - 63.3% at 7th and 70% at 14th day. Stem is highest in genotype 8, Biolan-10.6 mm treated, and the root is the longest in the control variant of the same genotype. For most of the genotypes, roots in the control variant are not observed. In *Gonolimon* germination at 7 and 14 is very good, in most cases between 80 and 100%. The values of stem height and root length in control and trial variants are almost the same, with the exception of genotype G5 where the stem height is 42.46 mm.

Limonium bulgaricum Anchev и *Goniolimon dalmaticum* (C. PRESL) RCHB. E. са балкански ендемични видове. Според Agrobiotech (Украйна) Biolan е препарат от биологичен произход (продукт от отглеждането на микромицети, изолирани от корените на женшен), който се съдържа аналози на фитохормони и полиненаситени мастни киселини, отговорни за синтеза на фитонутриенти, фитоалексини и хелатни форми на биогенни микроелементи. Той стимулира ускореното клетъчно делене, развитието на кореновата система, увеличаването на листната площ и съдържанието на хлорофил, намалява фитотоксичното действие на пестицидите, има антимуtagenен ефект, подобрява качеството на продукцията. Като експериментален материал са използвани семена от 11 генотипа - *Limonium* (L) и *Goniolimon* (G). Калибрираните по размер семена бяха дезинфекцирани и разделени на две групи. Едната група семена беше поставена в петрита и овлажнени добре с 2 ml 0,01% Biolan за 12 часа. Другата група (контрола) беше предварително накисната в 2 ml дестилирана вода. След това и двете групи семена бяха поставени в петрита (диаметър 10 см) върху навлажнена филтърна хартия, покрити с бяла хартия (разсеяна светлина) при стайна температура (около 22 °C). Измерванията на растежа на семената включват измерване на покълнали семена на 7-ми ден; 14 и 21; дължина на стъблото и корените на 21 ден; свежо и сухо тегло на 21-дневните растения. Най-високата процент на кълняемост на семената беше отчетен при генотип номер 8 от *Limonium* - 63,3% на 7-ми и 70% на 14-ия ден.

Стъблото бе с най-голяма дължина при генотип 8, третиран с Biolan -10,6 mm, а коренът бе най-дълъг в контролния вариант на същия генотип. За повечето от генотиповете не се наблюдаваха корени в контролния вариант. При *Gonolimon* кълняемостта при 7 и 14 е много добра, в повечето случаи между 80 и 100%. Стойностите на височината на стъблото и дължината на корена в контролния и третирания вариант бяха почти еднакви, с изключение на генотип G5, където височината на стъблото бе 42,46 mm.

8.3. Panchev, V., Ivanova, V., Nacheva, L. 2017. Leaf gas-exchange and content of total chlorophyll of the seedlings of some species of genus *Tilia*.

The aim of the study was to investigate changes in leaf gas exchange and content of total chlorophyll in seedlings of three species of linden - *T. grandifolia*, *T. argentea* and *T. parvifolia*. The experiments were carried out with 90 daily seeds after flowering, as in the seeds of 30, 45, 60 and 75 days have not been obtained plants. The percentage of germination, survival rates compared to total sown seeds as well as to sprouting seeds, intensity of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance and total chlorophyll (SPAD 502) were determinate. The percentage of germination is low, but the percentage of surviving plants to the sprouting seeds was higher – between 83.69% to 99.59%. The intensity of photosynthesis and transpiration were the highest in the leaves of *T. parvifolia*, while of the total chlorophyll was it highest value in *T. argentea*.

Целта на проучването бе да изследват промените в газообмена на листа и съдържанието на хлорофил в семеначета на три вида липа - *T. grandifolia*, *T. argentea* и *T. parvifolia*. Експериментите бяха проведени със семена, събрани 90 дни след цъфтежа, тъй като от семената от 30, 45, 60 и 75 ден растения не бяха получени. Определен бе процентът на кълняемост, степента на преживяемост на покълналите семена, интензивността на фотосинтезата, транспирацията и устичната проводимост, както и общият хлорофил (SPAD 502). Процентът на кълняемост бе нисък, но процентът на оцелелите растения спрямо покълналите семена бе по-висок - между 83,69% до 99,59%. Интензивността на фотосинтезата и транспирацията бяха най-високи в листата на *T. parvifolia*, докато най-високата стойност на общия хлорофил бе в *T. argentea*.

8.4. Zhivondov, A., Vasilev, D., Malchev, S., Nacheva, L., Gercheva, P. 2017. Study on the red-leaf hybrid no. 9-205 as a rootstock for peach and nectarine cultivars., Acta Agriculturae Serbica, Vol. XXII, 43 (2017); 3-9, eISSN: 2560-3140; CAB International Abstracts Database; http://www.afc.kg.ac.rs/files/data/acta/43/1_Zhivondov_et_al.pdf

The aim of the present study was to establish the growth characteristics of the red-leaf peach hybrid № 9-205, grown in a nursery, targeting its submission in future for recognition as a new vegetative rootstock for peach and nectarine cultivars. The traditional seedling rootstock ‘Elberta’ and the vegetative one GF-677 were included in the study. Hybrid № 9-205 was selected from a population obtained at the Fruit-Growing Institute in Plovdiv by open pollination of Rutgers Red Leaf seedling rootstock for peach, used in the past. It is characterized by high drought resistance and good resistance to diseases and pests. It is easily propagated under *in vitro* conditions and shows weaker growth compared to GF-677 rootstock. 18 cultivar/rootstock combinations were studied, including two cultivars of each peach type: for fresh consumption, for processing and of the nectarine type. ‘Laskava’ cultivar for fresh consumption, the processing cultivar ‘Spasena’ and the cultivar ‘Gergana’, which is of the nectarine type, are newly established in result of the implementation of the breeding programme at the Fruit-Growing Institute – Plovdiv. They were officially recognized in the period 2009-2012. The percentage of survival and of grafted bud shooting is high enough and meets the requirements of the production practices in nurseries. The planting material of the vegetative rootstock № 9-205 is uniform in plant height and stem

width and it fully complies with the quality standards.

Целта на настоящото проучване бе да се установят характеристиките на растеж на червенолистния прасковен хибрид № 9-205, отглеждан в разсадник, насочени към представянето му в бъдеще за признаване като нова вегетативна подложка за праскови и нектарини. В проучването бяха включени традиционната семенна подложка 'Elberta' и вегетативната GF-677. Хибрид № 9-205 е избран от популация, получена в Института по овощарство в Пловдив чрез свободно опрашване на 'Rutgers Red Leaf', използвана в миналото. Характеризира се с висока устойчивост на суша и добра устойчивост на болести и вредители. Размножава се лесно при *in vitro* условия и показва по-слаб растеж в сравнение с подложка GF-677. Проучени са 18 комбинации сорт / подложка, включително два сорта от всеки вид праскова: за прясна консумация, за преработка и от нектарини. Сортът „Ласкава“ за прясна консумация, сортът за преработка „Спасена“ и сорт „Гергана“, който е от нектаринов тип, са новосъздадени Институт по овощарство - Пловдив в резултат на изпълнението на селекционната програма. Те бяха официално признати в периода 2009-2012 г. Процентът на преживяване и на развитие на присадените пъпки е достатъчно висок и отговаря на изискванията на производствените практики в разсадниците. Посадъчният материал на вегетативната подложка № 9-205 е изравнен по височина и диаметър на стъблото и напълно отговаря на стандартите за качество.

8.5. Ivanova, V., Semkova, N., Nacheva, L. and Kosev, K. 2016. Study of the influence of time collection of seeds of certain species of linden (*Tilia* ssp.) on growth and vegetative behaviours of seedlings. *Dekortyviuju ir sodo augalu sortimento, technologiju ir aplinkos optimizavimas*. (Lithuania), (7) 12: 152-156. ISSN 2335-7282 (online); <http://ojs.kaunokolegija.lt/index.php/DTAO/issue/view/8>

The main goal of the present study was to assess the influence of collection time on growth and vegetative behaviour of seedlings from certain species of *Tilia* in order to establish the proper time with high adaptability and flexibility to environmental condition. The experiment carried out with three species of *Tilia* - *T. cordata* Mill., *T. platyphyllos* Scop., *T. tomentosa* Moench., and the seeds were collected in five terms -15.07.; 1.08.; 15.08.; 1.09.; 15.09. The number of leaves, leaf area, volume of root system, length of root system, number of roots, fresh and dry weight of leaves and roots were determined. The fastest growing plants of the three species lime derived from collected seeds in August. It was found that with the highest stem in the end of the first growing season plants were obtained from the collection of 15.08 and 1.09 seeds - 3.7; 4.7 and 4.3 cm respectively for *T. platyphyllos*, *T. cordata*, *T. tomentosa*. An effect on the stem diameter was not observed.

Основната цел на настоящото проучване беше да се оцени влиянието на срока за събиране на семена върху растежа и вегетативните прояви на семеначета от някои видове *Tilia*, за да се установи подходящото време спрямо условията на околната среда. Експериментът бе извършен с три вида *Tilia* - *T. cordata* Mill., *T. platyphyllos* Scop., *T. tomentosa* Moench. Семената бяха събрани в пет срока -15.07.; 1.08.; 15.08.; 1.09.; 15.09. Определен бе броят на листата, листната площ, обемът на кореновата система, дължината на кореновата система, броят на корените, свежото и сухо тегло на листата и корените. Най-бързо растящите растения от трите вида липа бяха получени от събрани през август семена. Установено бе, че с най-високо стъбло в края на първия вегетационен сезон са растенията, получени семена от 15.08. и 1.09. - 3,7; 4.7 и 4.3 см, съответно за *T. platyphyllos*, *T. cordata*, *T. tomentosa*. Не се наблюдават разлики при диаметъра на стъблото.

8.6. Начева, Л., Герчева, П., Иванова, В. И Томова, Т. 2015. Влияние на гранулирани торове с контролирано освобождаване Osmocote върху растежа и развитието на микроразмножени растения от *Magnolia grandiflora* L. и *Magnolia x soulangiana* Soul.-

Bod. Научни трудове на СУБ, том XII, 294-297. ISSN 1311-9419; https://usb-plovdiv.org/wp-content/uploads/2019/05/2015_tehnika_i_tehnologii_tom_XII.pdf

In addition to great decorative value, the species of the genus *Magnolia* are known for their valuable wood and application in medicine. The aim of the present study was to investigate the possibilities of applying Osmocote controlled-release granular fertilizers to stimulate the growth and development of micropropagated magnolia plants. Second, third and fourth generation Osmocote fertilizers were used in the concentrations recommended by the manufacturer. The obtained results show that the application of controlled-release fertilizers Osmocote in the substrate for further cultivation of *in vitro* propagated plants of *Magnolia grandiflora* L. and *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. positively affects the growth and development of plants. For *Magnolia grandiflora* L. the application of the 4th generation Osmocote (Exact HiEnd) is most suitable, while for *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. enrichment of the substrate with Osmocote Pro 3-4M (2nd generation) and Osmocote Exact Standart (3rd generation) has a better effect.

Освен с голяма декоративна стойност, видовете от род *Magnoliaca* известни с ценната си дървесина и с приложение в медицината. Целта на настоящото проучване е да се изследват възможностите за приложение на гранулирани торове с контролирано освобождаване Osmocote за стимулиране на растежа и развитието на микроразмножени растения от магнолия. Използвани са торовете Osmocote второ, трето и четвърто поколение в препоръчаните от производителя концентрации. Получените резултати показват, че прилагането на гранулиран тор с контролирано освобождаване Osmocote в субстрата за доотглеждане на *in vitro* размножени растеният *Magnolia grandiflora* L. и *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. влияе положително върху растежа и развитието на растенията. За *Magnolia grandiflora* L. най-подходящо е прилагането на 4-то поколение Osmocote (Exact HiEnd), докато при *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. по-добър ефект има включването в субстрата на Osmocote Pro 3-4M (2-ро поколение) и Osmocote Exact Standart (3-то поколение).

8.7. Ibrahim, O., Gercheva, P., Nacheva, L., Ivanova, V. 2015. An efficient and simple protocol for *in vitro* propagation of *Magnolia grandiflora* L. and *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. Scientific Journal, I-III, 4-15. ISSN: 2367-4725.

Magnolia lacks an optimized *in vitro* culture protocol despite the fact that it is a valuable ornamental plant of remarkable aesthetic, medicinal and timber values. Our study presents a reliable and feasible protocol for mass micropropagation of *Magnolia grandiflora* L. and *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. via enhanced axillary bud production. Explants from previously established shoot cultures of both species were studied for shoot proliferation on different basal salts (MS, WPM or DKW) containing either combination of 3.1 μM BAP + 0.057 μM IAA or 3.25 μM kinetin + 0.57 μM IAA. *In vitro* raised shoots were investigated for rooting on MS medium, 1/4 macronutrients, supplemented with IBA (0.0, 2.46, 4.92, 24.60 μM). Both species were efficiently micropropagated with high multiplication rate (10.37 mg g FW⁻¹ day⁻¹ for *M. grandiflora* L. and 4.5 for *M. x soulangiana* Soul.-Bod.) and RGR (0.051 for *M. grandiflora* L. and, 0.042 mg g FW⁻¹ day⁻¹ for *M. x soulangiana* Soul.-Bod.) on MS medium containing 3.1 μM BAP + 0.057 μM IAA. Repeated subcultures on the same medium without detaching intact shoot clumps enhanced shoot multiplication efficiency. During shoot proliferation, *M. grandiflora* L. performed better than *M. x soulangiana* Soul.-Bod. and MS was superior to the other basal media tested. Axillary shoots were induced only on BAP-containing media, whereas kinetin inhibited the formation of axillary shoots. Although the *in vitro* rooting percentage was negligible, excised shoots successfully rooted under *ex vitro* conditions and survived acclimatization and greenhouse conditions. Lower levels (2.46, 4.92 μM) of the various concentrations of IBA tested *in vitro*, resulted in the best acclimatization rate (up to 79%).

Въпреки ценните си декоративни и стопански качества (ценно лечебно растение и

висококачествена дървесина), магнолията няма оптимизиран протокол за *in vitro* култивиране. Нашето проучване представя надежден и достъпен протокол за масово микроразмножаване на *Magnolia grandiflora* L. и *Magnolia x soulangiana* Soul.-Bod. чрез ускорено формиране на аксиларни пъпки. Експлантите от *in vitro* култура от двата вида са заложили за мултипликация на хранителни среди с различен солеви състав (MS, WPM или DKW), съдържащи или комбинация от 3.1 μM BAP + 0.057 μM IAA или 3.25 μM кинетин + 0.57 μM IAA. *In vitro* получените микрорезници са заложили за вкореняване на среда MS (1/4 макроелементи), обогатена с IBA (0.0, 2.46, 4.92, 24.60 μM). И двата вида се размножават ефективно с висок коефициент на мултипликация (10,37 за *M. grandiflora* L. и 4,5 за *M. x soulangiana* Soul.-Bod.) и относителна скорост на растеж - RGR (0,051 за *M. grandiflora* L. и 0,042 мг/ г свежа маса/ ден за *M. x soulangiana* Soul.-Bod.) на MS среда, съдържаща 3,1 μM BAP + 0,057 μM IAA. Периодичното прехвърляне на формираните групи на същата хранителна среда, без да се разделят леторастчетата, повишава ефективността на микроразмножаване. По време на мултипликацията *M. grandiflora* L. показва по-добри резултати от *M. x soulangiana* Soul.-Bod. Основната хранителна среда MS е по-ефективна в сравнение с другите изпитвани хранителни среди. Аксиларните пъпки се индуцират само върху среда, съдържаща BAP, докато кинетинът инхибира образуването им. Въпреки че процентът на вкореняване *in vitro* е незначителен, микрорезниците успешно се вкореняват при условия *ex vitro* и се развиват успешно в оранжерийни условия. По-ниските тествани *in vitro* концентрации на IBA, (2,46, 4,92 μM), водят до по-добра аклиматизация (до 79%).

8.8. Gercheva, P., Nacheva, L., Ibrahim, O., Ivanova, V. 2015. Charkor stimulates rooting of *in vitro* plants – a case study with Magnolia. Scientific Journal , I-III, 16-20. ISSN: 2367-4725.

Charkor is a new, high-performance stimulant of root forming, produced by Agrobiotech, Ukraina. So far it is not applied for rooting of *in vitro* plants. The aim of the present study is to test Charkor for *in vitro* rooting of some difficult to root woody species. The experiments are performed with *in vitro*-raised microshoots of *M. grandiflora* L. and *M. x soulangiana* Soul.-Bod., maintained on MS medium, supplemented with 3.1 μM BAP, 0.057 μM IAA, 40 g l⁻¹ sucrose and 5 g l⁻¹ agar. For rooting experiments, single elongated 4 cm-long microshoots of both species are placed on perlite-based liquid rooting medium (25% MS macronutrients, 100% MS micronutrients, 100% MS vitamins, 20 g l⁻¹ sucrose). Two concentrations of Charkor (0.5 and 1.0 ml l⁻¹) with or without 1.48 μM IBA are tested. Both sole concentrations of Charkor induce higher or equal rooting percentage to their corresponding combinations with IBA. Fact of great significance is that plants on Charkor enriched media developed 3-5 times higher number of roots. All microshoots (100%) of both species rooted when 1.0 ml l⁻¹ Charkor is used alone. The same concentration combined with IBA also gives 100% rooting in *M. x soulangiana* Soul.-Bod. and insignificantly lower rooting percent (94.44%) in *M. grandiflora* L. Our study reveal that Charkor has a strong stimulatory effect on *in vitro* root formation of both *M. grandiflora* L. and *M. x soulangiana* Soul.-Bod., which in turn could be beneficial for other difficult to root plant species.

Charkor е нов, високоефективен биостимулант за вкореняване, произведен от Agrobiotech, Украйна. Досега не е прилаган за вкореняване на *in vitro* растения. Целта на настоящото проучване е да се тества Charkor за *in vitro* вкореняване на някои трудно вкореняващи се дървесни видове. Експериментите са извършени с *in vitro* получени микрорезници на *M. grandiflora* L. и *M. x soulangiana* Soul.-Bod. Културата се поддържа чрез периодично прехвърляне на хранителна среда MS, обогатена с 3.1 μM BAP, 0.057 μM IAA, 40 g l⁻¹ захароза и 5 g l⁻¹ агар. За експериментите с вкореняване, единични микрорезници (дължина 4 cm) от двата вида се залагат върху течна среда за вкореняване (25% MS макроелементи, 100% MS микроелементи, 100% MS витамини, 20 g l⁻¹ захароза). Като поддържащ материал се използва перлит. Изследвани са две

концентрации на Charkog (0,5 и 1,0 ml l⁻¹) с или без 1,48 μM IBA. И двете концентрации на Charkog самостоятелно предизвикват по-висок или равен процент на вкореняване в сравнение със съответните им комбинации с IBA. От голямо значение е фактът, че растенията на обогатена с Charkog среда са развили 3-5 пъти по-голям брой корени. При прилагане на 1.0 ml l⁻¹ Charkog самостоятелно всички микрорезници (100%) и от двата вида успешно са вкоренени. Същата концентрация, комбинирана с IBA, дава 100% вкореняване при *M. x soulangiana* Soul.-Bod. и незначително по-нисък процент на вкореняване (94,44%) при *M. grandiflora* L. Нашето проучване показва, че Charkog има силен стимулиращ ефект върху *in vitro* формирането на корени както при *M. grandiflora* L., така и при *M. x soulangiana* Soul.-Bod., което може да бъде успешно приложено и при други трудни за вкореняване растителни видове.

8.9. Гандев, С., В. Арнаудов, В. Манолова, **Л. Начева**, К. Куманов, Д. Борисова, М. Николова, Благоева, Е. 2014. Състояние и перспективи на орехоплодните култури в България. Растениевъдни науки, Vol. LI, 1, 9-14. ISSN 2534-9848 (Online); https://cropscience-bg.org/page/en/details.php?article_id=407

The nut crops of economic importance, grown in Bulgaria, are walnut, hazelnut and almond, walnut occupying the largest share in the structure of fruit-growing. Genetic resources maintained in the country, amount to 58 walnut, 115 almond and 19 hazelnut cultivars. Research on walnut, hazelnut and almond comprises different areas – breeding, cultivar studies, propagation, pruning, resistance to diseases and pests, etc. Ten new walnut cultivars have been created and a number of introduced cultivars have been studied. In parallel to that, two of the most popular in the world techniques of walnut propagation – hot callus and hypocotyl grafting – have been investigated and adapted under production conditions. A new method of industrial-scale walnut propagation was created, applying the epicotyl grafting technique. Concerning hazelnut, a production technology of single-stem hazelnut planting material on tree-like hazel bush in a nursery in the open has been developed. Seventeen hazelnut cultivars grafted on *C. colurna* L. were evaluated by different characteristics, describing their biological and economic values, susceptibility to the most economically important diseases and pests and the quality characteristics of fruit and kernel. The almond genetic material available in the country was studied, determining and creating the regional distribution of the perspective cultivars to be grown. The basic technological elements of growing all the three nut species have been defined.

Отглежданите в България орехоплодни култури с икономическо значение са орех, лешник и бадем, като орехът заема най-голям дял в структурата на овощарството. Генетичните ресурси, поддържани в страната, възлизат на 58 сорта орех, 115 бадема и 19 лешника. Изследванията върху орех, лешник и бадем обхващат различни области - селекция, сортоизучаване, размножаване, резитба, устойчивост на болести и неприятели и др. Създадени са десет нови сорта орех и са проучени редица интродуцирани сортове. Успоредно с това са изследвани и адаптирани в производствени условия две от най-популярните в света техники за размножаване на орехи - горещ калус и хипокотилно присаждане. Създаден е нов метод за размножаване на орех в промишлен мащаб, като се прилага техниката на епикотилно присаждане. По отношение на лешника е разработена технология за производство на едностеблен лешников посадъчен материал върху дървовиден лешник в разсадник на открито. Седемнадесет сортове лешник, присадени на *C. colurna* L., бяха оценени по различни характеристики, описващи техните биологични и икономически стойности, чувствителност към най-важните икономически болести и неприятели и качествените характеристики на плодовете. Беше проучен наличният в страната бадемов генетичен материал, определящ и създаващ регионалното разпределение на перспективните сортове, които ще се отглеждат. Определени са основните технологични елементи на отглеждането на трите орехоплодни вида.

<p>8.10. Джувинов, В., Пенев, Р., Славов, И., Кутинкова, Х., Герчева, П., Начева, Л. 2014. Основни резултати от изучаване на генетичните ресурси и селекцията при ябълката в Институт по Овощарство – Пловдив. Растениевъдни науки, Vol. LI, 1, 3-8. ISSN 2534-9848 (Online); https://cropscience-bg.org/page/en/details.php?article_id=406</p>
<p>The overview is covering the development of genetic resources in genus <i>Malus</i> in Bulgaria since beginning of 20 century. The germplasm of this fruit crop enlarged from 40 cultivars to more than 860 accessions currently. It is determined that for the region of Plovdiv the vegetation begins around 10th of March and finished about November 25th. As result of evaluation of genetic resources were selected cultivars for commercial propagation, as well as for parents at the new apple breeding programme for pest and diseases resistance. For the first time in Bulgaria artificial inoculation with <i>V. inaequalis</i>, <i>E. amylovora</i>, <i>D. plantagine</i> and, <i>A. pomi</i> was introduced and through somaclonal variation of <i>in vitro</i> regenerants have been obtained three clones of `Cadel`cultivar, resistant to scab and mildew, which will be evaluated under field conditions together with original cultivar.</p>
<p>Прегледът обхваща развитието на генетичните ресурси при род <i>Malus</i> в България от началото на 20 век. Генетичните ресурси на тази овощна култура са се увеличили от 40 сорта до над 860 в момента. Определено е, че за района на Пловдив вегетацията започва около 10 март и завършва около 25 ноември. В резултат на оценката на генетичните ресурси бяха избрани сортове за търговско размножаване, както и за родителски форми в новата селекционна програма за устойчивост на болести и неприятели при ябълки. За първи път в България е въведено изкуствена заразяване с <i>V. inaequalis</i>, <i>E. amylovora</i>, <i>D. plantagine</i> и <i>A. pomi</i> и чрез соматклонално вариране на <i>in vitro</i> регенеранти са получени три клона от сорта „Cadel“, устойчиви на струпяване и брашнеста мана, които ще се оценяват при полски условия заедно с изходния сорт.</p>
<p>8.11. Гандев, С., Арнаудов, В., Милушева, С., Манолова, В., Домозетова, Д., Герчева, П., Начева, Л., Попов, С., Корнова, К. 2013. Състояние, проблеми и перспективи на производството на круши в България. Journal of mountain agriculture on the Balkans,16(6): 1534 – 1552. ISSN 2367-8364 (Online); EBSCO, CABI, AGRIS</p>
<p>The paper reviews the state of the art and the problems of pear production in Bulgaria and outlines measures for its improvement. Bulgaria is a comparatively small producer of pear fruit but after 90s of the last century domestic production collapsed. From eighteenth place in the world by producing 96 thousand tons in 1980, the production has fallen down to 1974 tons at present. The major reasons for the reduction of the areas occupied with that fruit crop were revealed, paying a special attention to the used technologies, cultivars and cultivar/rootstock combinations, the methods of training and pruning, the accompanying phytosanitary problems and the methods, ways and means for limiting and controlling them. The final aim was to overcome the challenges and to offer the producers technologies suitable for the different soil and climatic regions of the country: a technology for intensive growing; a technology for growing of <i>in vitro</i> propagated pear cultivars requiring an interstock, grown on own roots without grafting on a rootstock. Finally, measures for the improvement of pear production in Bulgaria were proposed.</p>
<p>Статията прави обзор на състоянието и проблемите на производството на круши в България и очертава мерки за подобряването му. България е сравнително малък производител на плодове от круши, но след 90-те години на миналия век родното производство се срива. От осемнадесето място в света през 1980 г. с 96 хил. тона, днес производството е спаднало до 1974 тона. Изтъкват се основните причини за редуциране на площите, заети с тази овощна култура, като се отделя специално внимание на използваните технологии, сортове и сорто-подложкови комбинации, начини за формиране и резитба, съпътстващите фитосанитарни проблеми, като и методите, начините и средства за тяхното ограничаване и контрол. Крайната цел е да</p>

се преодолеят предизвикателствата, като се предложат на производителите технологии, приложими за различните почвено-климатични райони на страната: технология за интензивно отглеждане; технология за отглеждане на ин витро размножени сортове круши, изискващи междинник, на собствен корен без присаждане върху подложка. В заключение са предложени мерки за подобряване на производството на круши в България.

8.12. Ivanova, V., Nacheva, L., Kosev, K., Djankova, V., Ivanova, I. and Panayotov, N. 2014. Investigation on seed production of some annual flowers from family *Asteraceae*. Proceedings of Turkey 5th Seed Congress with International Participation and Sectoral Business Forum, OCTOBER 19-23, 2014 Diyarbakir, Turkey, pp. 279-283.

Annual flowers are one of the required elements in the design of modern landscape objects. The high cost of professional seed forced some farms to seek alternative ways of providing seedlings. Own seed is one of those ways. The problems in this case is several, namely: very few types of annual flowers have direct varieties suitable for seed production; missing some little known detail technology for seed production in annual species; received seeds have low performance. This necessitated the present study the effects of some biostimulators and microfertilizers on seed production and quality of seeds of some little-known species of annual flowers of the family *Asteraceae*. The study was conducted in the period 2011-2013 in the experimental base UBG Balchik, which is a part from UBG – Sofia. The study was the influence of “Laktofol Flowers” at 10;20;30 and 40 ml/l on the following species: *Cacalia coccinea* Curt, *Brachycome iberidifolia*, *Crepis rubra* L., *Ursinia anethoides* L. Pair. Were reported yield seeds/m², germination energy and germination of seeds received. It was found that treatment of plants with different concentrations “Lactofol Flower”s leads to increased seed yield of 2.8% at *Ursinia anethoides* L. Pair. to 65.9% in *Crepis rubra* L.; germination energy and germination of seeds also respond positively from treatment plants Laktofol for flowers, the highest values were at doses of 20 ml / l and 30 ml / l.

Едногодишните цветя са един от задължителните елементи в дизайна на съвременните ландшафтни обекти. Високата цена на професионалните семена принуди някои ферми да търсят алтернативни начини за осигуряване на разсад. Собствените семена са един от тези начини. Проблемите в този случай са няколко, а именно: много малко видове едногодишни цветя имат директни сортове, подходящи за производство на семена; липсват някои малко детайли в технологиите за производство на семена при едногодишни видове; получените семена имат ниска производителност. Това наложи настоящото проучване на ефектите на някои биостимулатори и микроторове върху производството на семена и качеството на семената на някои малко известни видове едногодишни цветя от семейство *Asteraceae*. Изследването е проведено в периода 2011-2013 г. в експерименталната база UBG Балчик, която е част от UBG - София. Изследването е влиянието на „Laktofol Flowers“ при 10; 20; 30 и 40 ml/l върху следните части: *Cacalia coccinea* Curt, *Brachycome iberidifolia*, *Crepis rubra* L., *Ursinia anethoides* L. Pair. Отчетени са следните показатели: добив на семена/м², покълване на получените семена, кълняема енергия. Установено е, че третирането на растения с различни концентрации “Lactofol Flower” води до повишен добив на семена от 2,8% при *Ursinia anethoides* L., до 65,9% в *Crepis rubra* L. . Покълването на семената и кълняемата енергия също се повлияват положително от третирането с „Laktofol Flowers“, като най-високите стойности са при дози от 20 ml/l и 30 ml/l.

8.13. Начева, Л. 2014. Влияние на концентрацията на захароза в хранителната среда във фаза удължаване върху вкореняването на ин витро култивирани растения от ябълковата подложка M26. Растениевъдни науки Vol. LI, 1, 86-89 (Bulgarian Journal of Crop Science). ISSN 2534-9848 (Online); EBSCO, CABI

The aim of the present research is to observe the effect of sucrose level (0 – 6%) in the

nutrient medium at the elongation stage on the rooting ability of *in vitro* cultivated apple rootstock M 26 (*Malus domestica* Borkh). The source microplants are maintained on a modified MS multiplication medium (5 μ M BAP, 30 g/l sucrose and 5.8 g/l agar). For the present experiment the plantlets are transferred for 14 days on an elongation (hormone-free medium) with the same mineral content with different sucrose concentrations 0, 1, 2, 4 and 6% w/v. They are cultivated in polypropylene vessels with gas-permeable closure (Combiness, Belgium, gas exchange rate – 10 GE/day) for 14 days. After that shoots 20 mm high are set for rooting in the same vessels on two types carbohydrate free medium – solidified with agar or liquid with perlite. Rooting is evaluated after 20 days. The content of glucose, fructose, sucrose, sorbitol and starch in the plants elongated on media with different sucrose concentrations is determined before transferring on rooting media. The increase in the sucrose concentration in the elongation medium (0 – 6%) leads to different content of soluble carbohydrates and starch, especially at the extreme concentrations of 0 and 6%. On a sugar-free nutritional medium (photoautotrophic variant) sorbitol predominates and this confirm the photosynthetic competence of the apple plants *in vitro*. At the highest sucrose concentration (6%) in the elongation medium accumulation of glucose, sucrose and starch in plantlets is observed, but these do not improve the rooting on carbohydrate – free medium. Elongation on the medium with 4% sucrose stimulates rooting on the agar based sucrose-free medium. When rooting is carried out in perlite based liquid medium, rooting percent is in the range of 50 – 65% and the sucrose concentration at elongation stage has no significant effect. The obtained results show some technological approaches for improving the rooting of micropropagated apple rootstock M 26 (*Malus domestica* Borkh).

Целта на настоящото изследване е да се проследи влиянието на концентрацията на захароза (0 - 6%) в хранителната среда в етапа на удължаване върху способността за вкореняване на култивирани *in vitro* растения от ябълковата подложка М 26 (*Malus domestica* Borkh). Изходните микрорастения се поддържат на модифицирана среда за мултипликация на базата на MS (5 μ M BAP, 30 g/l захароза и 5.8 g/l агар). За настоящия експеримент растенията се прехвърлят на безхормонална среда за удължаване със същия минерален състав и с различна концентрация на захароза 0, 1, 2, 4 и 6% (w/v). Те се отглеждат в полипропиленови съдове с газопроницаемо покритие (Combiness, Белгия, обмен на газ - 10 GE/ден) за 14 дни. След това микрорезници с височина 20 mm се поставят за вкореняване в същите съдове върху два вида среда без въглехидрати - твърда с агар или течна с перлит. Вкореняването се отчита след 20 дни. Съдържанието на глюкоза, фруктоза, захароза, сорбитол и скорбяла в растенията, удължени върху среда с различни концентрации на захароза, се определя преди прехвърляне върху средата за вкореняване. Повишаването на концентрацията на захароза в средата за удължаване (0 - 6%) води до различно съдържание на разтворими въглехидрати и скорбяла, особено при екстремни концентрации от 0 и 6%. В хранителна среда без захари (фотоавтотрофен вариант) сорбитолът преобладава и това потвърждава фотосинтетичната компетентност на ябълковите растения *in vitro*. При най-високата концентрация на захароза (6%) в средата за удължаване се наблюдава натрупване на глюкоза, захароза и скорбяла в растенията, но това не подобрява вкореняването в среда без въглехидрати. Удължаването на среда с 4% захароза стимулира вкореняването на агарова среда без захароза. Когато вкореняването се извършва в течна среда с перлит, процентът на вкореняване е от порядъка на 50 - 65% и концентрацията на захароза на етапа на удължаване няма значителен ефект. Получените резултати показват някои технологични подходи за подобряване на вкореняването на микроразмножени растения от ябълковата подложка М 26 (*Malus domestica* Borkh).

8.14. Rankova, Z., Nacheva, L., Gercheva, P. 2013. Effect of some soil herbicides on growth of micropropagated raspberry plants of the primocane-fruiting cultivar Lyulin. Ecology and

The experiments were carried out at the Fruit-Growing Institute – Plovdiv. The effect of the soil herbicides pendimethalin, metolachlor, oxyfluorfen and isoxaflutole on the growth habits of in vitro propagated and rooted plants of the primocane-fruiting raspberry cultivar Lyulin was studied in a model pot experiment. After treatment with soil herbicides, the incidence of external symptoms of phytotoxicity was followed up. It was established that treatment with isoxaflutole (Merlin 750 WG – 50.0 g/ha and 70.0 g/ha) caused the incidence of white chlorosis in the leaves. In the plants treated with oxyfluorfen (Goal 2E), small chlorotic spots appeared in the leaves 10 – 15 days after treatment, which developed into necrosis, followed by drying up of the necrotic areas. In the plants treated with Goal 2E – 3.0 l/ha those symptoms were not observed in the new leaves after the 40th day, which gave the grounds to assume that phytotoxicity was overcome. Necrosis was observed throughout the study period in the leaves of the plants, treated with Goal 2E – 4.0 l/ha, but the plants in that variant did not show growth suppression. Suppressed growth was established after treatment with high rates of metolachlor (Dual Gold 960 EC – 1.5 l/ha) and isoxaflutole (Merlin 750 WG – 70.0 g/ha). Lower leaf pigment content was reported after treatment with metolachlor (Dual Gold 960 EC – 1.5 l/ha). It was established that treatment with the soil herbicides pendimethalin and napropamid did not cause the appearance of external symptoms of phytotoxicity and plant growth suppression in primocane-fruiting raspberry cultivar Lyulin.

Изследванията са проведени в Института по овощарство – Пловдив. В условия на моделен съдов опит е извършено проучване относно влиянието на почвените хербициди Пендиметалин, Метолахлар, Оксифлуорофен и Изоксафлутол върху растежните прояви на ин витро размножени и вкоренени растения от ремонтантния малинов сорт Люлин. Проследена е проявата на външни симптоми на фитотоксичност след третиране с почвените хербициди. Установено е, че третирането с Изоксафлутол (Мерлин 750 ВГ – 50,0 g/ha и 70,0 g/ha) предизвиква поява на бяла хлороза по листата. При растенията, третирани с Оксифлуорофен (Гоал 2Е) на 10–15-я ден се проявява хлороза под формата на дребни точки по листата, преминаваща в некроза, последвана от изсъхване на некротиралите участъци. При растенията, третирани с Гоал 2Е – 3,0 l/ha, след 40-я ден по новите листа не се наблюдават тези симптоми, което дава основание да се приеме, че фитотоксичността се преодолява. Некрозата по листата на растенията (вариант 7) се запазва през целия период на проучването, но растенията от този вариант нямат видимо потиснато развитие. Депресия на растежа се установява след третиране с високи дози Метолахлор (Дуал голд 960 ЕК – 1,5 l/ha) и Изоксафлутол (Мерлин 750 ВГ – 70,0 g/ha). По-ниски стойности за съдържание на листни пигменти се отчитат при третиране с Метолахлор (Дуал голд 960 ЕК – 1,5 l/ha). Установено е, че третирането с почвените хербициди Пендиметалин и Напропамид не предизвиква поява на външни симптоми на фитотоксичност и потискане на растежа на растенията от ремонтантния малинов сорт Люлин.

8.15. Ibrahim, O., Gercheva, P., Nacheva, L. and Ivanova. V. 2011. Rooting of *in vitro*-raised microcuttings of *Magnolia grandiflora*, L. and *M. x soulangiana*, Soul.-Bod. Journal of Mountain Agriculture on the Balkans 14 (4): 854-868. ISSN 2367-8364 (Online); EBSCO, CABI

Magnolia grandiflora L. and *M. x soulangiana* are species with high aesthetic importance in addition to the medicinal and timber values of the former. Rooting *in vitro* is considered the main problem in the development of microculture of both species. The aim of the present study was to investigate the rooting ability of elongated *in vitro* shoots of both species. Rooting media supplemented with different concentrations of IBA - 0.0, 2.46, 4.92, 24.60 μ M were used in the study. Shoots of *M. grandiflora* were further subjected to different treatments concerning: A. auxin level (1.5 μ M IBA, 1.5 μ M IBA + 1.14 μ M IAA and 1.5 μ M

IBA + 2.85 μM IAA); B. medium type (agar-based solid or perlite-based liquid medium) and C. growing condition (dark during the first 10 days or light 16-h photoperiod). *In vitro* rooting wasn't feasible in all cases. All rooted and nonrooted microshoots were assigned for *ex vitro* rooting and acclimatization in peat: perlite (1:1). In 60 days a remarkable high rate of *ex vitro* rooting and survival was recorded in both species – up to 100% of the plants grown *in vitro* on agar-based medium with 1.48 μM IBA + 1.14 μM IAA in under light conditions, followed by the same treatment with perlite-based medium (90%).

Освен с голяма декоративна стойност, видовете *Magnolia grandiflora* и *M. x soulangiana* са известни с ценната си дървесина и с приложение в медицината. Установено е, че вкореняването е основният проблем при тяхното *in vitro* култивиране. Целта на настоящото проучване е да се изследват възможностите за вкореняване на *in vitro* растения от двата вида. Използувани са хранителни среди с различни концентрации на IBA - 0.0, 2.46, 4.92, 24.60 μM . Наред с тези варианти, връхчета от *M. grandiflora* са третирани по различни начини: А. с вариращо съдържание на ауксини (1.5 μM IBA, 1.5 μM IBA + 1.14 μM IAA или 1.5 μM IBA + 2.85 μM IAA); В. хранителни среди (твърди агарови среди или течни среди с перлит като поддържащ материал) и С. условия на култивиране (фотопериод 16 часа светло/8 часа тъмно или 10 дни тъмно и след това при споменатия фотопериод). Вкореняване *in vitro* не е отчетено при нито един от изследваните варианти. Всички растения – вкоренени и некоренени, са заложени в торфено-перлитен субстрат *ex vitro*. След 60 дни е отчетен забележително висок процент на вкореняване и адаптация *ex vitro* – до 100% при варианта с 1.48 μM IBA + 1.14 μM IAA в агаровата хранителна среда (*in vitro*) при светлинен режим 16/8 часа светло/тъмно, следвано от същия вариант, но на течна хранителна среда с перлит (90%).

8.16. Ibrahim, O., Gercheva, P., Nacheva, L. and Ivanova. V. 2011. Silver nitrate – an effective agent for *in vitro* surface-sterilization protocol of *Taxus baccata* L. shoot explants. Journal of Mountain Agriculture on the Balkans 14 (4):894-906. ISSN 2367-8364 (Online) EBSCO, CABI

Vegetative shoot apices of *Taxus*, commonly used as explants for *in vitro* shoot cultures, particularly mature ones, are under high risk of contamination. The routinely used protocols proved unsuccessful to eliminate this high rate of contamination. In the present study, several disinfection treatments were evaluated. Silver nitrate (AgNO_3) solution was prepared at three concentrations - 0.1, 0.5 and 1.0%. Explants were subjected to the three concentrations for two exposure durations – 3 and 5 minutes. These treatments either were completed at this point or were followed by immersion of the explants in 2.5 % solution of $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ for 5 minutes. As a control treatment, the standard sterilization procedure ordinarily used in our lab for other woody plants, was employed. This procedure included immersion of the explants in a 5% solution of calcium hypochlorite [$\text{Ca}(\text{OCl})_2$] for 5 minutes, followed by three rinses with sterile distilled water. Explants from the thirteen treatments were aseptically cultured on WPM-based medium supplemented with 1.64 μM zeatin + 250 mg l^{-1} CH. Involving AgNO_3 highly improved the efficacy of the sterilization process comparing to the control. Combining AgNO_3 with $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ helped the explants keep their viability. Combined- AgNO_3 (1.0%) - 3min eliminated contamination of *Taxus* apical shoot culture to a considerable extent (20%) with high viability of explants (65%).

Вегетативните връхчета от възрастни дървета *Taxus*, използвани като експланти за въвеждане в *in vitro* култура, най-често са много заразени. Рутинно използваните протоколи не успяват да елиминират тази висока степен на контаминация. В настоящото проучване са оценени редица нови процедури за стерилизация. За целта е използван разтвор на сребърен нитрат (AgNO_3) в три концентрации - 0.1, 0.5 или 1.0%. Експлантите са третирани с всяка от тези концентрации за два интервала от време - 3 или 5 минути. В допълнение, част от експлантите, обработени по гореописания начин,

са потапяни в 2.5 % разтвор на калциев хипохлорит за 5 минути. Като контрола е използвана стандартната схема, успешно прилагана в нашата лаборатория за други дървесни видове. Тя включва потапяне на експлантите в 5% разтвор на калциев хипохлорит $[Ca(OCl)_2]$ за 5 минути, последвано от трикратно изплакване със стерилна дестилирана вода. Така подготвените връхчета от всички тринадесет варианта са култивирани на хранителна среда WPM, обогатена с $1.64\mu M$ зеатин + $250mg\ l^{-1}$ казеин хидролизат (CH). Включването на $AgNO_3$ значително повишава ефикасността на стерилизацията в сравнение с контролата. Комбинирането на $AgNO_3$ с $Ca(OCl)_2$ спомага за съхраняване жизнеността на въведените в култура връхчета. Комбинираният вариант с 1.0% $AgNO_3$ за 3 минути намалява броя на заразените култури от *Taxus* до 20% с едновременно запазване жизнеспособността на 65% от експлантите.

8.17. Ibrahim, O., Gercheva, P., Nacheva, L. and Ivanova. V. 2011. Preliminary studies on *in vitro* propagation of *Ginkgo biloba* L. Proceedings of fourth International symposium “Ecological approaches towards the production of safety food”, 9 June, 2011, Plovdiv, Bulgaria pp. 117-122. ISSN: 1313-9819

In vitro shoot culture of *Ginkgo* so far is not adequate relative to its medicinal and ornamental importance. The aim of the present study was to develop methods for *in vitro* micropropagation of this fossil plant. Different cultural media have been involved in serial experiments. As a result *in vitro* shoot culture of *Ginkgo* was initiated and maintained from 2-bud shoot apices on MS or WPM nutrient media. Our work would be considered pioneer under lack of information with this regard.

Досега *in vitro* култивирането на Гинко не отговаря на широкото търсене на растението, тъй като има медицинско и декоративно значение. Целта на настоящото проучване беше да се разработят методи за *in vitro* микроразмножаване на това фосилно растение. Различни хранителни среди за култивиране са включени в серия експерименти. В резултат на това *in vitro* култура от леторастчета на Гинко е иницирана и поддържана от 2-пъпкови резници на хранителни среди MS или WPM. Поради липсата на информация в това отношение, нашата работа е едно от първите съобщения за успешно *in vitro* култивиране на вегетативни връхчета от *Ginkgo biloba* L.

8.18. Ibrahim, O., Gercheva, P., Nacheva, L. and Ivanova. V. 2011. Biotechnological approaches for propagation of *Taxus baccata* L. – an endangered plant with important ornamental and pharmaceutical value. Proceedings of fourth International symposium “Ecological approaches towards the production of safety food”, 9 June, 2011, Plovdiv, Bulgaria, pp. 111-116. ISSN: 1313-9819

Taxus is propagated by seeds and rooted cuttings though these methods are slow and can not respond to the growing demand of the planting material. The objective of our study was to refine a procedure for *in vitro* shoot culture of *T. baccata* L. Explants were obtained from a mature tree and after disinfection were inoculated on media involving various basal salts and plant growth regulators. WPM nutrient medium supplemented with $6.84\mu M$ zeatin exhibited the best initiation of shoot apices with high frequency of axillary bud induction averaged 2-3 buds/explant. WPM lacking growth regulators supported shoot elongation.

Taxus се размножава чрез семена и вкоренени резници, въпреки че тези методи са бавни и не могат да отговорят на нарастващото търсене на посадъчен материал. Целта на нашето проучване беше да се усъвършенства процедурата за *in vitro* култивиране на *T. baccata* L. Експлантите бяха взети от възрастно дърво и след дезинфекция бяха заложени на хранителна среда, включваща различни макроелементи и растежни регулатори. WPM хранителна среда, обогатена с $6.84\mu M$ зеатин, показва най-добро развитие на експлантите с висока честота на индуциране на аксиларни пъпки - средно

2-3 пъпки/експлант. Хранителна среда WPM без растежни регулатори обезпечава усължаването на леторастчетата.
8.19. Божкова, В., Джувинов, В., Живондов, А., Малчев, С., Герчева, П., Начева, Л. , Милушева, С., Корнова, К., Терзиев, И. 2011. Съвременни подходи за изучаване и опазване на местни или диви овощни генетични ресурси. Сборник с доклади от четвърти международен симпозиум „Екологични подходи при производството на безопасни храни“, 9 юни, 2011, Пловдив, България, стр. 135-140.
The aim of the present study is to find and preserve old, local or wild fruit genetic resources of the species <i>Malus</i> , <i>Pyrus</i> , <i>Prunus</i> , selected on the basis of their probable resistance to biotic and abiotic stress and having good taste or technological characteristics. In the period 2008-2009, three expeditions were organized, during which some local forms of apples, pears, cherries and plums were registered and selected. The most interesting of them are stored <i>in situ</i> and <i>ex situ</i> . The organized expeditions and the established contacts with the owners showed a large number of unknown genetic resources, interesting for the fruit science.
Целта на настоящото изследване е да се намерят и съхранят стари, местни или диви овощни генетични ресурси от видовете <i>Malus</i> , <i>Pyrus</i> , <i>Prunus</i> , отбрани на базата на тяхната вероятна устойчивост на биотичен и абиотичен стрес и притежаващи добри вкусови или технологични характеристики. В периода 2008-2009 год. са организирани три експедиции, при които са регистрирани и отбрани някои местни форми ябълки, круши, череша и сливи. Най-интересните от тях са съхранени <i>in situ</i> и <i>ex situ</i> . Организираните експедиции и установените контакти със собствениците показаха голям брой непознати генетични ресурси, интересни за овощарската наука.
8.20. Ibrahim, O., Ivanova, V., Gercheva, P., Nacheva, L. 2010. Enhancement of seed germination and seedling growth in <i>Magnolia grandiflora</i> L. using pre-sowing treatment with growth regulators (IAA and GA ₃). Jubilee Scientific Conference with International Participation, Traditions and Challenges of Agricultural Education, Science and Business. Agricultural University, Plovdiv, Scientific Works, vol. LV (3): 97-102. ISSN 2367-5845 (Online).
The efficiency of pre-sowing treatment of <i>Magnolia grandiflora</i> seeds with GA ₃ and/or IAA at different concentrations (1000, 1500, 2000 and 2500 ppm) was investigated. The highest germination percentage was obtained with 2500 ppm GA ₃ or IAA+GA ₃ (66.25%, 62.5%, respectively). Meanwhile, IAA with or without GA ₃ induced the best seedling growth. Using of 2500 ppm GA ₃ + IAA is, therefore, recommended to attain high germination percentage and vigorous seedlings.
Изследвана е ефективността на предсеитбената обработка на семена от <i>Magnolia grandiflora</i> L. с GA ₃ и / или IAA при различни концентрации (1000, 1500, 2000 и 2500 ppm). Най-висок процент на кълняемост е получен с 2500 ppm GA ₃ или IAA + GA ₃ (66,25%, 62,5%, съответно). Междувременно IAA със или без GA ₃ стимулира растежа на семеначетата. Поради това се препоръчва използването на 2500 ppm GA ₃ + IAA, за да се постигне висок процент на покълване и жизнени растения.
8.21. Nacheva, L. and S. Milusheva. 2008. Preliminary results of the effect of ribavirin on in vitro cultivated apple plants with the aim of eliminating some viruses. Journal of mountain agriculture on the Balkans 11 (1): 129-137. ISSN 2367-8364 (Online); EBSCO, CABI
Chemotherapy with Ribavirin (virazole) was applied to eliminate ACLSV, ApMV and ASGV from micropropagated apple plants cv. "Remo". The apical and axillary buds isolated from infected trees were prepared, surface sterilized and placed onto growth medium as described previously (Milusheva and Ivanova, 2004). Single apical buds (about 1.0 cm

length) were excised from micropropagated plants and transferred in nutrition medium with Ribavirin. Filter sterilized Ribavirin (20, 40, 80 and 100 mg l⁻¹) was added to the autoclaved medium before solidification. Plantlets were grown at 22±2°C with 16h photoperiod (40 μmol m⁻²s⁻¹ PAR) for three weeks. The effect of chemotherapy depended on concentration of Ribavirin. Ribavirin in concentration 20 mg l⁻¹ slightly affect plant growth, did not cause chlorosis and apex necrosis. ELISA test of the plants did not show any presence of ACLSV, ApMV and ASGV. The higher concentrations of Ribavirin were phytotoxic. Plantlets treated with 40, 80 mg l⁻¹ Ribavirin had poor growth and apex necrosis. The highest concentration of Ribavirin (100 mg l⁻¹) caused the death of the apple shoots. The plantlets which showed negative ELISA results were subcloned and will be rooted and planted in the field for a future monitoring.

Приложена е хемотерапия с рибавирин (виразол) за елиминирание на ACLSV, ApMV и ASGV от микроразмножени растения на ябълковия сорт „Ремо”. Врхъни и странични пъпки, изолирани от инфектирани дървета, са подготвени, стерилизирани и въведени в култура както е описано по-рано. Единични връхъни пъпки (дължина около 1 см) са изолирани от микроразмножени растения и са прехвърлени на хранителна среда с рибавирин. Рибавиринът (20, 40, 80 and 100 mg l⁻¹), предварително стерилизиран с милипор филтър (0.22μm), е добавен към автоклавираната хранителна среда преди втвърдяването ѝ. Растенията са култивирани в камера при температура 22±2°C и 16 часа фотопериод (40 μmol m⁻²s⁻¹ PAR) за три седмици. Ефектът от хемотерапията зависи от концентрацията на рибавирин. Рибавирин в концентрация 20 mg l⁻¹ слабо повлиява растежа на микрорастенията, без да причинява хлороза или некроза. ELISA тестовете не показват наличие на ACLSV, ApMV или ASGV. По-високите концентрации на рибавирин са фитотоксични. Микрорастенията, третирани с 40 и 80 mg l⁻¹ рибавирин имат слаб растеж и некроза на връхчетата. Най-високата концентрация на рибавирин (100 mg l⁻¹) причинява загиване на ябълковите микрорастения. Микрорастенията, показали отрицателни резултати при ELISA тестовете, са клонирани и ще бъдат вкоренени и аклиматизирани при *ex vitro* условия за бъдещ мониторинг.

8.22. Nacheva, L. and Gercheva, P. 2008. Study on the possibilities of cheaper *in vitro* strawberry cv. Selva multiplication. Journal of Mountain Agriculture on the Balkans 11 (7): 1531-1545. ISSN 2367-8364 (Online); EBSCO, CABI

Fruit Growing Institute – Plovdiv has many years experience in *in vitro* multiplication of strawberry cultivars both for experimental goals and as a part from the program of the Commercial laboratory for production of orchard, vine and strawberry planting material. The present research aims to study the possibilities of cheaper strawberry micropropagation by using different sources of carbohydrates in the nutrient medium (sucrose, glucose, table sugar and sorbitol) and perlite as a substitute of the agar in the multiplication stage. Variants of nutrient media MS with addition of different sources of carbohydrates - 30 g/l sucrose, 30 g/l glucose, 30 g/l sorbitol and 30 g/l table sugar - are tested. Each medium has two modifications – with agar as a jelly agent and liquid one (100 ml) in jars with sterile perlite as a supporting material for the plants. The use of glucose in the nutrient media leads to double increase of the multiplication rate of strawberry cv. Selva compared to that of the sucrose. This could lead to obtaining two times more high-quality plants in production conditions and to decrease in their cost price respectively. Additional decrease in the production expenses can be achieved by replacing expensive components of the medium as agar and sucrose or glucose with cheaper ones – perlite and table sugar respectively.

Институт по Овощарство – Пловдив има дългогодишен опит в размножаването на сортове ягоди ин витро както за експериментални цели, така и като част от програмата на Завода за производство на овощен, лозов и ягодов посадъчен материал. Цел на настоящото изследване е да се проучат възможностите за поевтиняване на

микроразмножаването на ягоди чрез използване на различни въглехидратни източници в хранителната среда (захароза, глюкоза, обикновена захар и сорбитол) и перлит като заместител на агара в етап мултипликация. Изпитани са варианти на хранителна среда MS с добавка на различни въглехидратни източници – 30g/l захароза, 30g/l глюкоза, 30g/l сорбитол и 30g/l обикновена захар. Всяка от средите е в две модификации - с агар като желиращ агент и течна (100 ml) в буркани със стерилен перлит като поддържащ растенията материал. Използването на глюкоза в хранителните среди води до двукратно увеличение на коефициента на мултипликация при ягодовия сорт „Селва” в сравнение със захарозата. В производствени условия това би довело до получаване на два пъти повече висококачествени растения и съответно до намаляване на себестойността им. Допълнително намаляване на производствените разходи може да се постигне чрез замяна на скъпоструващи компоненти на средата като агар и захароза или глюкоза с по-евтини – съответно перлит и обикновена захар.

8.23. Nacheva, L. and Gercheva, P. 2008. Micropropagation of the sweet cherry clonal rootstock Gisela 6 (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*). Journal of Mountain Agriculture on the Balkans 11 (7): 1569-1581. ISSN 2367-8364 (Online); EBSCO, CABI

An important element in modern fruit-growing is the establishment of new rootstocks for the fruit species and carrying out studies on their habits in different cultivar-rootstock combinations under varied soil and climatic conditions. That is why it is very important to develop methods for their mass propagation under *in vitro* conditions. The aim of the present study was to work out an efficient system of propagation of the sweet cherry rootstock Gisela 6 (*Prunus cerasus* x *P. canescens*). Ten nutrient media for multiplication were used in the experiment. The effect of the macroelements (MS and QL), growth regulators and carbohydrates included in the media, on the multiplication rate and on the height of the microplants was studied. The best results were obtained on nutrient media VM4 (MS salts, 2,5 µM BAP, 0.005 µM IBA, 15 g/l sucrose and 15 g/l sorbitol) and VM6 (MS salts, 2,5 µM BAP, 0.057 µM IAA, 15 g/l sucrose and 15 g/l sorbitol). Using the combination of sorbitol and sucrose had a positive effect on the development of microplants and the multiplication rate increased up to 5 – the highest of all the tested variants.

Важен елемент на съвременното овощарство е създаването на нови подложки за отделните овощни видове и проучването на поведението им в различни сортоподложкови комбинации при разнообразни почвени и климатични условия. По тази причина от голямо значение е да се разработят методи за масовото им размножаване в ин витро условия. Цел на настоящето изследване е да се разработи ефективна система за размножаване на черешовата подложка Gisela 6 (*Prunus cerasus* X *Prunus canescens*). В опитите са използвани 10 хранителни среди за мултипликация. Проучено е влиянието на включените в средите макроелементи (MS и QL), растежни регулатори и въглехидрати върху коефициента на мултипликация и височината на микрорастенията. Най-добри резултати са получени на хранителни среди VM4 (MS соли, 2,5 µM BAP, 0,005 µM IBA, захароза 15g/l и сорбитол 15g/l) и VM6 (MS соли, 2,5 µM BAP, 0,057 µM IAA, захароза 15g/l и сорбитол 15g/). Използването на комбинация от сорбитол и захароза има положителен ефект върху развитието на микрорастенията, при което коефициентът на мултипликация нараства до 5 - най-висок от всички изпитвани варианти.

8.24. Ранкова З., Начева, Л., Герчева, П., Божкова, В. 2006. Растежни прояви на сливовата подложка ‘Wangenheims’ след третиране с тербацил в условия ин витро. VI Национална Научно-техническа конференция с международно участие "Екология и здраве" Пловдив май 2006: 339-344. EBSCO, CABI, AGRIS; <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BG2000000215>

The studies of the effect of soil herbicide terbacil on the vegetative activities of plum

rootstock ‘Wangenheims’ (*Prunus domestica*) under *in vitro* conditions were carried out in 2005 in the Fruit-Growing Institute –Plovdiv. *In vitro* propagated and rooted plants of 2 cm height were treated with terbacil. The herbicide solution (calculated according to the area of the cultivation plate) was layered as a film over the nutrient medium surface. Four variants in three repetitions (by 10 plants per repetition) were set: 1. Control (untreated); 2. Terbacil – Sinbar 80 WP-100g/da; 3. Terbacil – Sinbar 80 WP-125g/da; 4. Terbacil – Sinbar 80 WP-150g/da. After treatment of *in vitro* rooted plants with terbacil no external symptoms of phytotoxicity – chlorosis, necrosis and depressing effect were observed. No inhibiting influence on growth of stem and roots of *in vitro* plants were observed.

Проучени са растежните прояви на вегетативната сливова подложка ‘Wangenheims’ (*Prunus domestica*) след третиране с почвения хербицид тербацил (Синбар 80 ВП) в условия *in vitro*. *In vitro* размножени и вкоренени растения с дължина на стъблото 2 cm и на корените 1 cm се третираха с тербацил, като почвеният хербицид се нанасяше по повърхността на хранителната среда като филм. Заложиха се следните варианти: 1. Контрола (не третирана); 2. Тербацил- Синбар 80 ВП-100 g/da; 3. Тербацил- Синбар 80 ВП-125 g/da; 4. Тербацил- Синбар 80 ВП-150 g/da. Дозите на хербицида се преизчисляваха спрямо площта на култивационния съд. Получените резултати показват, че при третиране на вкоренени растения с тербацил не се наблюдават външни симптоми на фитотоксичност - хлороза, некроза и депресия в растежа. Не се установява инхибиращо влияние върху нарастването на стъблата и корените на микрорастенията.

8.25. Nacheva, L. and Ivanova, K. 2006. Influence of the gas-permeable closure of the vessels on the growth of *in vitro* cultured fruit plants. *Agricultural Science*, Vol. XXXIX, No 4: 26-32. (Селскостопанска наука); ISSN: 1311-3534

The aim of the present research to study the effect of the improved gas exchange of the vessels on the growth of the *in vitro* cultivated apple rootstock MM106. The data of the investigation show that plantlets cultured in vessels with gas-permeable closure accumulate more of dry matter and more light harvesting pigments than these cultured in tightly closed jars. This precultivation of plants in the rooting stage might help the successful acclimatization of the plants to the *ex vitro* conditions.

Целта на настоящото изследване е да проучи ефектът от подобрения газообмен на културалните съдове върху растежа на *in vitro* растения от ябълковата подложка MM106. Данните от разследването показват, че растенията, култивирани в съдове с газопроницаемо покритие, натрупват повече суха маса и повече фотосинтетични пигменти в сравнение с растенията, култивирани в плътно затворени буркани. Това предтретиране на растенията в етапа на вкореняване може да помогне за успешната аклиматизация на растенията в *ex vitro* условия.

8.26. Uzunova, K., Ivanova, K., Nacheva, L. 2005. The influence of various combinations of 2, 4 – D and BAP on proliferation *in vitro* of rooted plants of ornamental Rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Anny. *Agricultural University - Plovdiv, Scientific Works*, vol. L, book 5, 127-130. ISSN 2367-5845 (Online); EBSCO, CABI, AGRIS

The effect of various combinations of 2, 4 – D (0.5 and 1 mg/l) and BAP (0.1, 0.5 and 5 mg/l) on the proliferation *in vitro* of rooted explants of ornamental roses, cv. Anny, was evaluated. 2, 4 – D (1 mg/l) and BAP (0.5 mg/l or 5 mg/l) were found to be most effective in promoting shoot proliferation. The proliferated plants are the perfect source of various explants. Thus a single plant yields genetically uniform leaves, petioles, root and stem segments for analysis of their capacity for regeneration via somatic embryogenesis and shoot organogenesis.

Беше оценено влиянието на различни комбинации от 2, 4 - D (0.5 и 1 mg/l) и BAP (0.1,

0.5 и 5 mg/l) върху пролиферацията *in vitro* на вкоренени експлант на декоративни рози, сорт Ани. Беше установено, че 2, 4 - D (1 mg/l) и BAP (0.5 mg/l или 5 mg/l) са най-ефективни за стимулиране на пролиферацията и формирането на леторастчета. Растения, активно образувачи летораста, са идеалният източник на различни видове експлант. По този начин едно растение дава генетично еднородни листа, дръжки, коренови и стволони сегменти за анализ на капацитета им за регенерация чрез соматична ембриогенеза и органогенез на летораста.

8.27. Nacheva, L. and Zlatev, Z. 1998. Photoautotrophy of *in vitro* cultured fruit plants - possibilities for optimization and application. Юбилейна научна сесия „50 години СУБ Пловдив“, 20.XI.1998 г., гр. Пловдив: 77-80.

The contribution of photosynthesis to the overall carbon metabolism of tissue cultured plants is a much debated subject. Enhancing photosynthetic ability of plants *in vitro* may improve growth conditions in the culture vessels as well favour the success of further acclimatization to conditions *ex vitro*. The subject of this report is to evaluate the photosynthetic ability of *in vitro* and *ex vitro* micropropagated apple rootstock MM106. The relationship between net photosynthetic rate (Pn) of plantlets and various ambient CO₂ concentrations (50-1500 vpm) under different irradiances (0-800 μmol m⁻² s⁻¹ PPFD) was studied. The results from this investigation can be utilized to improve the quality of mass propagated apple rootstock MM 106.

Приносът на фотосинтезата за цялостния метаболизъм на въглерода в *in vitro* култивирани растения е много обсъждана тема. Повишаването на фотосинтетичната способност на растенията *in vitro* може да подобри условията за растеж в съдовете за култивиране, както и да благоприятства успеха на по-нататъшната аклиматизация към условия *ex vitro*. Целта на това изследване е да се оцени фотосинтетичната способност на *in vitro* и *ex vitro* микроразмножаващи се растения от ябълковата подложка MM106. Изследвана е връзката между скоростта на нето фотосинтезата (Pn) на растенията и различните концентрации на CO₂ в околната среда (50-1500 vpm) при различни светлини (0-800 μmol m⁻² s⁻¹ PPFD). Резултатите от това изследване могат да бъдат използвани за подобряване на качеството на масовото микроразмножаване на ябълковата подложка MM 106.

Г11. Публикувана глава от колективна монография

11.1. Начева, Л. 2016. Биотехнологични подходи при размножаването и селекцията на ябълка. В: «Ябълка», под редакцията на В.Джувинов, (ISBN 978-954-91865-5-0), Биофрут БГ-ЕООД, Пловдив.

В представената глава от монографията „Ябълка“ е направен обстоен преглед на приложението на съвременните биотехнологични подходи в размножаването и селекцията на ябълка. Обхванати са различните направления на растителните биотехнологии в зависимост от очакваните резултати - получаването на растения, идентични с изходните, или повишаване на генетичното разнообразие чрез индуциране на мутации, соматклонално вариране и т.н. Наред с микроразмножаването са представени методите за вирусно елиминиране, микроприсаждане, криопрезервация, ембриокултури, соматичен органогенез, генетични маркери и приложението им в селекцията на ябълка и др. Рагледани са и трансгенните подходи за изучаване генома при ябълка и евентуалните им бъдещи приложения. Освен на съвременните достижения в областта на тъканните култури при ябълка в световен мащаб, е акцентирано и на разработките в нашата страна. Монографията би била полезна на научни работници, преподаватели, фермери, овощари.

In the presented chapter of the monograph "Apple" is a thorough review of the application of modern biotechnological approaches in the apple propagation and breeding. The different directions of plant biotechnologies are covered depending on the expected results - obtaining

plants identical to the original ones, or increasing the genetic diversity by inducing mutations, somaclonal variation, etc. Along with micropropagation, the methods for virus elimination, micrografting, cryopreservation, embryocultures, somatic organogenesis, genetic markers and their application in apple breeding, etc. are presented. Transgenic approaches to studying the apple genome and their possible future applications are also considered. Apart from the modern achievements in the field of tissue cultures of apple worldwide, the emphasis is also on the developments in our country. The monograph would be useful to scientists, teachers, farmers, fruit growers.