

SAT-8.303B-ASVM-02

---

**BIOCHEMICAL EVALUATION OF ALFALFA FORAGE MASS GROWN UNDER  
CONVENTIONAL AND BIOLOGICAL CONDITIONS** <sup>135</sup>

---

**Todor S. Kertikov, Prof. DSC**

Institute of Forage Crops, Pleven, BG

E-mail: t.kertikov@abv.bg

**Anna V. Ilieva, PhD**

Institute of Forage Crops, Pleven, BG

E-mail: ifc@el-soft.com

**Daniela V. Kertikova, Prof. PhD**

Institute of Forage Crops, Pleven, BG

***Abstract:** The field experiment was conducted during the period 2011-2014. Biochemical evaluation of forage mass of alfalfa variety Dara grown in two inter-row spacing in eight variants in conventional and biological conditions was carried out.*

*The analysis shows that the forage mass of biological crops in inter-row spacing 37,5 cm distinguished by higher crude protein content - until 19,23%, Mg - until 0,236%, sugar - until 2,95% and in vitro digestibility - until 63,06%. In inter row spacing 12,5 cm forage mass produced by conventional technology is high and balanced levels of biochemical indicators.*

*Regardless of conditions (factors) and inter row spacing of farming with the highest both general and structural elements (leaves, stems and roots) nitrate reductase activity of plants and total content of plastid pigments stand biological crops treated with bio preparation "Ecofil P".*

***Keywords:** Alfalfa, forage mass, quality, biological agriculture*

## **ВЪВЕДЕНИЕ**

Водещ проблем на новото столетие е осигуряването на чиста от химически замърсявания храна, основа за здравния статус на населението обитаващо всички страни и континенти. В тази връзка земеделската наука у нас все по-голямо внимание отделя на развитието на екологичното земеделие, позволяващо ефективното използване на естествените природни ресурси [5, 11]. Един от ключовите фактори за успеха на тази система на земеделие е създаването и проучването на подходящи сортове за условията на биологично земеделие [1]. Обикновената люцерна, *Medicago sativa L. ssp. sativa* е най-значимата и широко отглеждана фуражна бобова култура в света [13]. В Европа тя се възприема като вид с най-голям принос за постигане на устойчиво земеделие [15]. Люцерната разглежда в контекста на биологичното производство [12, 19, 22] е култура, чието използване покрива основните принципи и критерии на биологичното земеделие. Регистрираните през последните десетилетия сортове люцерна у нас и в света показват прогрес по отношение както на устойчивост към болести и неприятели, така и към повишаване качеството на фуражната маса [4, 20, 18]. Тези им качества са предпоставка за тяхната по добра адаптация към отглеждане в условия без използване на торове и пестициди. На този етап нашите усилия са насочени основно към изучаване на възможностите за производство на биологично чисти семена от люцерна. За целта е използван широко разпространеният в страната сорт Дара, отличаващ се с устойчивост на фузариоза и люцернов семеяд.

---

<sup>135</sup> Presented a parallel sessions room 8.303B report of October 29, 2016 with the original title: БИОХИМИЧНА ОЦЕНКА НА ФУРАЖНА МАСА ОТ ЛЮЦЕРНА, ОТГЛЕЖДАНА ПРИ КОНВЕНЦИОНАЛНИ И БИОЛОГИЧНИ УСЛОВИЯ

В настоящата статия са представени резултатите от биохимичната оценка на фуражната маса от люцерна отглеждана при конвенционални и биологични условия.

## **ИЗЛОЖЕНИЕ**

Експеримента е проведен през периода 2011 – 2014 г. на Второ опитно поле в Института по фуражните култури с люцерна сорт Дара, върху почвен подтип слабо-излужен чернозем, при неполивни условия. Използван е метода на дробните парцели в четирикратна повторяемост на вариантите, при реколтната парцела 15 m<sup>2</sup>. Варианти на полския опит: А/ При междуредово разстояние 12,5 cm (вариант 1 контрола – по конвенционална технология, включваща торене и третиране с хербициди и инсектициди; вариант 2 – без химическа и физическа дейност; вариант 3 – без химическа и физическа дейност, но с третиране с БАВ от органичен произход - „Екофил Р”); В/ При междуредово разстояние 37,5 cm (вариант 4 контрола – по конвенционална технология; 5 – без химическа и физическа дейност; вариант 6 – без химическа дейност само с 1-2 окопаване на междуредията; вариант 7 – без химическа и физическа дейност, но с третиране с „Екофил Р”; вариант 8 – третиране с „Екофил Р” + 1-2 окопаване на междуредията). Третирането с биопрепарата „Екофил Р” (биоинсектицид) е извършвано във фенофази бутонизация - начало на цъфтеж в доза 3,5 l/da. В годината на създаване на люцерновите посеви всички варианти са прибрани двукратно за производство на зелена/суха маса. През следващите три години само първи откос е реколтиран за фураж. При извеждането на опита са извършвани мероприятия както в зависимост от методичните постановки, така и в зависимост от биологичните изисквания на културата в процеса на нейното развитие съгласно технологията за отглеждане [8]. Извършена е биохимична оценка на растителни проби (надземна биомаса) изсушени при 60°C, а на нитратредуктазната активност на свежи проби. Анализа на получените резултати е направен върху осреднените данни за периода на проучване. В зависимост от приложените агротехнически мероприятия са проследени редица показатели, в т.ч. сухо вещество, суров протеин (по Келдал - СП = общ N x 6.25), сурови влакнини (по Веенде метода), калций (комплексометрично - [9], фосфор (колориметрично, по хидрохионов метод [9], магнезий (колориметрично, метод с титаново жълто - [7], *in vitro* смиланост на сухото вещество [14], водоразтворими захари [2], нитратредуктазна активност *in vivo* [16] и съдържание на пластидни пигменти [3].

## **РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ**

При биохимичният анализ на сухата надземна маса от люцерна сорт Дара (табл. 1) в зависимост от използваните агротехнически прийоми се установява, че при посевите с междуредово разстояние 12,5 cm разликите в съдържанието както на суров протеин, така и на сурови влакнини, при отделните варианти са минимални. Те са в границите до 1% и не могат да бъдат математически доказани.

Таблица 1 Биохимична характеристика на биомаса от люцерна сорт Дара, средно за периода 2011-2014 г.

Показатели* Варианти	Суров протеин	Ca	P	Mg	Водоразтворими захари	Сурови влакнини	Смилаемост in vitro на сухо вещество
A/ междуредово разстояние – 12,5 cm							
Вариант 1 - контрола	17,96	2,095	0,282	0,232	2,90	25,39	62,23
Вариант 2	17,27	2,116	0,281	0,220	2,35	25,91	58,36
Вариант 3	17,80	2,154	0,282	0,227	2,65	25,75	58,91
B/ междуредово разстояние – 37,5 cm							
Вариант 4 - контрола	18,93	2,058	0,289	0,215	2,80	24,46	60,83
Вариант 5	17,84	2,179	0,255	0,206	2,95	26,57	58,83
Вариант 6	16,94	2,268	0,216	0,204	2,80	27,80	53,01
Вариант 7	19,05	2,108	0,246	0,234	2,65	24,71	61,73
Вариант 8	19,23	2,211	0,249	0,236	2,65	24,92	63,06

\*% от сухото вещество

При фуража на вариантите с по-високо съдържание на суров протеин, влакнините съответно намаляват и обратно. При тази група посеви съдържанието на суров протеин е в границите от 17,27% при вариант 2 и достига до 17,96% при фуража получен по конвенционална технология (вар. 1). Стойностите на съдържанието на сурови влакнини са много близки (25,39%-25,91%) и това не може да окаже съществено влияние върху качеството на фуража. С по-високо съдържание на калций (2,154%), фосфор (0,282%) и магнезий (0,227%) се откроява сухата маса получена от посева при вариант 3, а на водоразтворими захари (2,90%) и *in vitro* смилаемост (62,23%) тази получена при отглеждане на посева по конвенционална технология. Необходимо е да се отбележи, че *in vitro* смилаемостта при фуража получен от контролния вариант е по-висока (с около 4,0%) в сравнение с тази при фуража от останалите два посева в групата. При фуража получен от вариантите с междуредово разстояние 37,5 cm разликите в зависимост от начина на отглеждане както на суров протеин, така и на сурови влакнини са в по-широки граници. В сухата маса съдържанието на суров протеин варира от 16,94% (вариант 6) до 19,23% (вариант 8). Високо е съдържанието на суров протеин и при фуража получен от варианти 7 и 1 (контрола), съответно 19,05% и 18,93%. И при тази група посеви процентното съдържание на влакнини от отделните варианти е в обратна зависимост на съдържанието на суровия протеин. Стойностите на суровите влакнини са в границите от 24,46% (вариант 1) до 27,80% (вариант 6). Анализът на резултатите показва, че широкоредовото отглеждане на люцерната оказва благоприятно влияние върху нарастване на съдържанието на протеина и намаляване на влакнините. То е много добре изразено при варианти 8, 7 и 4. Средно от вариантите, при широкоредовите посеви съдържанието на суров протеин нараства с 1,43% спрямо това при средното за тесноредовите посеви. По съдържание на елементите калций, фосфор и магнезий, както и на захари, при широкоредовите посеви не се наблюдават съществени различия при отделните фуражи в зависимост от приложените фактори. Най-висока *in vitro* смилаемост (63,06% или с 2,23% над тази при контролата) се установява при посева от вариант 8, следвана от тази при фуража получен от вариант 7 (61,73%).

Резултатите относно нитратредуктазната активност в листа, стъбла и корени на люцерновите растения са представени на таблица 2.

Таблица 2 Нитратредуктазна активност в структурните елементи (листа, стъбла и корени) на добива фураж от люцерна сорт „Дара”, средно за периода

Варианти	Нитратредуктазна активност					
	листа		стъбла		корени	
	$\mu\text{mol NO}_2/\text{g fr wt}$	% към варианти 1 и 4	$\mu\text{mol NO}_2/\text{g fr wt}$	% към варианти 1 и 4	$\mu\text{mol NO}_2/\text{g fr wt}$	% към варианти 1 и 4
А/ междуредово разстояние – 12,5 cm						
1. По технология (контрола)	0,50	100,0	0,50	100,0	3,25	100,0
2. Без химическа и физическа дейност	0,75	150,0	0,50	100,0	2,25	69,2
3. Третиране с „Екофил Р”	1,25	250,0	0,50	100,0	2,20	67,7
В/ междуредово разстояние – 37,5 cm						
4. По технология (контрола)	1,50	100,0	0,50	100,0	3,25	100,0
5. Без химическа и физическа дейност	0,75	50,0	0,50	100,0	1,75	53,8
6. С 1-2 окопаване на междуредията	0,50	33,3	0,50	100,0	3,25	100,0
7. Третиране с „Екофил Р”	1,00	66,7	0,75	150,0	3,50	107,7
8. Третиране с „Екофил Р”+1-2 окопаване на междуредията	0,75	50,0	0,50	100,0	2,00	61,5

Данните показват, че при тесноредовите посеви нитратредуктазната активност в листата е най-висока при варианта третиран с „Екофил Р” ( $1,25 \mu\text{mol NO}_2/\text{g fr wt}$ ). При този посев нитратредуктазната активност в листата е по-висока от контролният вариант със 150%, а спрямо посева без химическа и физическа дейност с 50%. От данните следва, че биопрепарата „Екофил Р” оказва положителен ефект върху активността на нитратредуктазата при листата вследствие на което нараства и фотосинтетичната активност на културата.

При широкоредовите посеви приложените различни агротехнически мероприятия при отделните посеви са повлияли положително при контролния посев ( $1,50 \mu\text{mol NO}_2/\text{g fr wt}$ ) и при третирания с „Екофил Р” ( $1,00 \mu\text{mol NO}_2/\text{g fr wt}$ ). При останалите посеви се отчита по-ниска нитратредуктазна активност в листата. При стъблата нитратредуктазната активност е еднаква при всички проучвани посеви без значение на прилаганите фактори на отглеждане. Изключение към по-висока активност с 50% спрямо останалите варианти се отчита единствено при стъблата на посева третиран с „Екофил Р”. При корените стойностите на нитратредуктазната активност са по-високи в сравнение с тази при листата и стъблата. Отчетената нитратредуктазна активност при корените на люцерната от двата контролни посева (широкоредов и тясно редов) е еднаква и е равна на  $3,25 \mu\text{mol NO}_2/\text{g fr wt}$ . Толкова е и при вариант 6 от широкоредовия посев. С най-висока нитратредуктазна активност при корените се откроява посева третиран с биопрепарата „Екофил Р”.

На табл. 3 са отразени биохимичните резултати относно общата нитратредуктазна активност и общото съдържание на пластидни пигменти при изследваната култура. Видно е, че активността и съдържанието се променят в зависимост от прилаганите агротехнически фактори. Най-висока обща нитратредуктазна активност се наблюдава при третиране на люцерновия посев с биопрепарата „Екофил Р”, независимо от междуредовите разстояния на отглеждане на културата. При тесноредовите посеви посоченият вариант е с 61,2% по-висока активност и с 8,7% по-високо общо съдържание на пластидни пигменти спрямо резултатите отчетени при контролния вариант. При растенията отглеждани без химическа и физическа дейност, общата нитратредуктазна активност, както и общо съдържание на пластидни пигменти е по-ниско от това при контролния вариант, съответно с 17,7% и 21,95%.

Таблица 3 Обща нитратредуктазна активност и общо съдържание на пластидни пигменти при биомаса от люцерна сорт „Дара”, средно за периода

Варианти	Обща нитратредуктазна активност		Общо съдържание на пластидни пигменти	
	$\mu\text{mol NO}_2/\text{g fr wt}$	% към вар. 1 % към вар. 4	mg/100mg свежо тегло	% към вар. 1 % към вар. 4
А/ междуредово разстояние – 12,5 cm				
1. По технология (контрола)	0,85	100,0	280,14	100,0
2. Без химическа и физическа дейност	0,70	82,3	218,64	78,1
3. Третиране с „Екофил Р”	1,37	161,2	304,38	108,7
В/ междуредово разстояние – 37,5 cm				
4. По технология (контрола)	1,22	100,0	347,76	100,0
5. Без химическа и физическа дейност	0,72	59,0	265,41	76,3
6. С 1-2 окопаване на междуредията	1,17	95,9	292,53	84,1
7. Третиране с „Екофил Р”	1,67	136,9	348,33	100,1
8. Третиране с „Екофил Р”+1-2 окопаване на междуредията	0,87	71,3	295,14	84,9

При широкоредовите посеви също се отчита подобна закономерност. Отново най-висока ефективност е получена при третиране с биопрепарата „Екофил Р”, а именно с 36,9% обща нитратредуктазна активност над тази отчетена при контролата. При този вариант общото съдържание на пластидни пигменти е равно на това при контролния посев. С приложените агротехнически мероприятия при останалите биологични варианти (посеви) не е постигнат положителен ефект.

Отчитането на промените в нитратредуктазната активност при азотфиксиращите култури, каквато е люцерната, са свързани със сложни взаимоотношения между процесите на азотфиксация и нитратна асимилация. Между ензимите на тези два процеса съществуват комплиментарни взаимоотношения-намалването на активността на един ензим увеличава активността на другия [11, 21]. Активността на нитратредуктазата е лимитиращ фактор по отношение на растежа и развитието на растенията [17]. Процеса на нитратна редукция е тясно свързан с фотосинтезата като източник на енергия. Измененията във фотосинтетичната активност довеждат до съществени смени в натрупването на възстановените съединенията, участващи в процесите на азотфиксация и редукция на нитратите [6, 23]. Получените от нас резултати показват, че нитратредуктазна активност би могла да се повиши при третиране на люцерновите посеви с биопрепарата „Екофил Р”.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фуражната маса на люцерна сорт Дара при широкоредовите биологични посеви се отличава с по-високо съдържание на суров протеин – до 19,23%, магнезий – до 0,236% и захари – до 2,95%, както и *in vitro* смилаемост на сухото вещество – до 63,06%. При тесноредовите посеви фуражната маса получена по конвенционална технология е с най-високи и балансирани стойности на биохимичните показатели.

Независимо от условията (факторите) и междуредовите разстояние на отглеждане, с най-висока както обща, така и по структурни елементи (листа, стъбла и корени) нитратредуктазна активност на растенията, и по общо съдържание на пластидни пигменти, се открояват биологичните посеви третирани с биопрепарата „Екофил Р”.



## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Божанова В., Д. Дечев. Проблеми и перспективи свързани с отглеждане на житни видове по биологичен начин. International Science conference "Economics and Society development on the Base of Knowledge", 4th - 5th June 2009, Stara Zagora, BULGARIA, Agricultural science. Plant studies, 2009, 1, 322-327.
- [2] Ермаков А., В. Арасимович, Н. Ярош, Ю. Перуанский, Г. Луковникова, М. Икономова. Методы биохимического исследования растений. Агропромиздат, М., 1987, 134-135.
- [3] Зеленский М., Г. Могилева. Методические указания. Сравнительная оценка фотосинтетической способности сельскохозяйственных растений по фотохимической активности хлоропластов. Ленинград, ВИР, 1980, 36-37.
- [4] Иванова И., Д. Петкова, Д. Маринова, Д. Кертикова. Проучване върху продуктивността на сортове люцерна при нападение от жълти листни петна (*Pseudopeziza jonesii* Nannf.). Известия, СУБ-Русе, 2011, Серия 3, том 6: 16-21.
- [5] Каров Ст., В. Попов, П. Параскевов, Е. Благоева. Преход към биологично земеделие, Пловдив ВСИ, 1999, 17-23.
- [6] Львов Н. Молибден в ассимиляции азота у растений и микроорганизмов.43 Баховские чтения. М., Наука, 1989, 86-87.
- [7] Меньшиков В. Лабораторные методы исследования в клинике. М., 1987, 266.
- [8] Радева В., Димитрова Цв., Кертикова Д., Кертиков Т., Кирилов А., Крачунов И., Илиева А., Пачев И., Василев Е., Василева В., Стойкова М., Николова И. Технология за производство на фураж от люцерна. Технологии за научно осигуряване на земеделското производство в България. ССА-София, 2009, том I, 5-15.
- [9] Сандев С. Химични методи за анализ на фуражите. Земиздат, София, 1979.
- [10] Сидорова К., Годовикова В., Столярова С. Исследование нитрогеназной и нитратредуктазной активности мутантов гороха. Генетика, 1988, 24, 1, 136-140.
- [11] Стойнев К. Екологични и технологични аспекти на съвременното земеделие. София, 2004, Наука, 17-27.
- [12] Annicchiarico P., L. Pacetti. Forage and seed yield response of lucerne cultivars to chemically weeded and non-weed management and implications for germplasm choice in organic farming. European Journal Agronomy, 2010, 33:74-80.
- [13] Bouton J. H. Breeding lucerne for persistence. Crop & Pasture Science, 2012, 63: 95-106.
- [14] De Boever J., B. Cottyn, F. Buysse, F. Wainmann and J. Vanacker. The use of an enzymatic technique to predict digestibility metabolizable energy and net energy of compound feedstuffs for ruminants. Animal Feed Sci. and Technol., 1986, 14, 203 – 214.
- [15] Huyghe C. Acres des Journees AFPP, 2003, 17-32.
- [16] Jaworski E. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1971, 13, 6: 1274 – 1279.
- [17] Kaiser W., Weiner H., Huber S. Nitrate reductase in higher plants: a case study for transduction of environmental stimuli into control of catalytic activity. Physiol. Plant, 1999, 105, 385-390.
- [18] Kertikova D. The newest achievements in lucerne breeding in Bulgaria. In Proc. Breeding 08, 24-27 November 2008, Novi Sad, Serbia, 509-512.
- [19] Moghaddam A., J. Vollmann, W. Wanek, M. R. Ardakani, A. Raza, G. Pietsch, and J. K. Friedel. Suitability of drought tolerance indices for selecting alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes under organic farming in Austria. Crop Breeding Journal, 2012, 2(2): 79-89.

[20] Rotili P., C. Scotti., D. Kertikova., G. Gnocchi. Metodologia del processo di creazione varietale in erba medica: costituzione di semi – ibridi. II. Primi risultatisperimentali. Annali ISCF, 2005, Vol. IX: 111-115.

[21] Silsbury J. H., Catchpoole D. W., Wallace W. Effect of nitrate and ammonium on nitrogenase (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> reduction) activity of swards of subterranean clover *Trifolium subterraneum* L., Aust. J. Plant Physiol, 1986, 13, 2: 257-273.

[22] Sheaffer C., K. Martinson, D. Wyse, K. Moncada. Companion Crops for Organic Alfalfa Establishment. Agronomy Journal Accepted paper, posted 11/21/2013. doi:10.2134/agronj2013.0250.

[23] Vincentz M., Moreax T., Leydeckr M., Vaucheret H., M. Caboche. Regulation of nitrate and nitrite reductase expression in *Nicotiana plumbaginifolia* leaves by nitrogen and carbon metabolites. Plant Journal, 1993, 3, 315-324.