

Микробно разнообразие и ензимна активност на почви в иглолистни горски екосистеми

Бойка Малчева

Лесотехнически университет, София

E-mail: Boika.Malcheva@gmail.com

Резюме

Проучено е микробното разнообразие и ензимната активност на кафяви горски почви (Distric-Eutric Cambisols, FAO) под смърч (*Picea abies* L.) и бял бор (*Pinus sylvestris* L.) от района на Западни Родопи. Основна роля в началните етапи на разграждане на органичните вещества в изследваните горски почви имат неспоробразуващите бактерии, следвани от бацилите. По-слабо представени са актиномицетите и микромицетите, които участват по-активно в крайните етапи на деструкция на органиката. Установява се правопрпорционална зависимост между количеството на бактериите, усвояващи минерален азот и съдържанието на общ азот в почвите. Стойностите на ензимите целулаза и каталаза корелират с общото количество на микроорганизмите. Общата микрофлора и ензимните активности са по-високи при почвите под смърч спрямо почвите под бял бор. Ефектът на торене на почвите след многогодишен период е разгледан като косвен фактор за микробиологичната и ензимна активност, чрез по-добро развитие на дървесните видове и по-цялостно структуриране на микробиоценоза. При тези почви биогенността и ензимните активности са с по-високи стойности в сравнение с контролните, неторени почви. Повишава се дялът на актиномицетите в състава на общата микрофлора при почвите косвено повлияни от торенето, в сравнение с контролите, което показва, че микробиоценоза е в по-краен етап на сформиране при тези почви.

Ключови думи: горски почви, иглолистни екосистеми, микроорганизми, ензими

Microbial diversity and enzymatic activity of soils in coniferous forest ecosystems

Boyka Malcheva

University of Forestry, Sofia, Bulgaria

E-mail: Boika.Malcheva@gmail.com

Abstract

Malcheva, B. (2020). Microbial diversity and enzymatic activity of soils in coniferous forest ecosystems. *Bulgarian Journal of Soil Science Agrochemistry and Ecology, 54(4)*, 43-54.

Microbial diversity and enzymatic activity of brown forest soils (Distric-Eutric Cambisols, FAO) under spruce (*Picea abies* L.) and white pine (*Pinus sylvestris* L.) from the region of the Western Rhodopes were studied. Main role in the initial stages of decomposition of organic matter in the studied forest soils is played by non-spore-forming bacteria, followed by bacilli. Actinomycetes and micromycetes, which are more actively involved in the final stages of organic degradation, are less represented. A directly proportional relationship is established between the amount of bacteria that absorb mineral nitrogen and the content of total nitrogen in the soil. The values of enzymes cellulase and catalase correlate with the total amount of microorganisms. Total microflora and enzyme activities are higher in the soils under spruce than in the soils under white pine. The effect of soils fertilization after a long period of time is considered as an indirect factor for microbiological and enzymatic activity, through better development of tree species and more complete structuring of the microbiocenosis. In these soils, biogenicity and enzyme activities have higher values compared to control, non-fertilized soils. The share of actinomycetes in the composition of total microflora in soils indirectly affected by fertilization increases, compared to the controls, which shows that the microbiocenosis is in a more final stage of formation in these soils.

Key words: forest soils, coniferous ecosystems, microorganisms, enzymes

Почвените микроорганизми са ключови компоненти на екосистемите, поради основната им роля в разграждането на органични вещества и кръговрата на хранителните елементи, чийто баланс зависи главно от структурата и функционирането на почвената микробиота. Микробиологичните и биохимичните почвени показатели като чувствителни индикатори се променят не само под въздействие на абиотични и биотични фактори, но и в зависимост от насоките в управлението на почвените ресурси (Salazar et al., 2011). Следователно те се разглеждат като полезни показатели за качеството на почвата (Yakovchenko et al., 1996; Baum et al., 2003; Burylo et al., 2007). Фактори, влияещи върху микробната активност на почвата, упражняват контрол върху производството на почвени ензими и наличието на хранителни вещества (Sinsabaugh et al., 1993).

Микробното разнообразие и ензимната активност в горските почви се ръководят от динамиката на екосистемните процеси, до голяма степен зависима от дървесните видове като основни първични производители. Микробната активност също се влияе в краткосрочен план от климатичните събития и в дългосрочен план от развитието на екосистемата след нарушения (Baldrian, 2017). Според изследване на Žifčáková

et al., (2016) разбирането на екологията на иглолистните гори е много важно, защото в тези среди се акумулират най-високи количества на въглерод в световен мащаб. Тези автори проучват микробиологичната активност на почви от гори с доминиране на смърч (*Picea abies*) и установяват, че микробните общности се характеризират с висока активност на плесенните гъби, особено в постелята, като отчитат и сезонност при развитието на микромицети, археи и повечето бактериални родове. По-специално, през зимата активността на изобилните ектомикоризни гъбички намалява, което показва, че растителното фотосинтетично производство вероятно е било един от основните двигатели на промените във функционирането на почвените микробни общности в изследваната от тях иглолистна гора. Baldrian (2017) при изследване на горски почви също установява, че поради ниското съдържание на N гъбите са основните разградители на сложна растителна биомаса. Те формират свързани общности с бактериите, които играят важна роля при разграждането на мицеларното тяло на плесенните гъби и участват в процесите на N-цикъла, включително и за N-фиксацията. Въпреки че повечето изследвания са фокусирани върху гъбичките,

горските почвени бактерии също играят важна роля в тази среда (Liado et al., 2017). Изследванията на тези автори потвърждават, че бактериите допринасят за редица основни почвени процеси, участващи в цикличния цикъл на въглерод, азот и фосфор, участват в разграждането на мъртвата растителна биомаса и са изключително важни за разграждането на мъртвия гъбичен мицел. Други автори (Susyan et al., 2006) констатираха развитие на олиготрофни микроорганизми на обикновен агар в повърхностния почвен слой (5 cm) на сива горска почва до 50% от общата микрофлора, докато в дълбочина процентът нараства до 88-96%. Точната степен на приноса на бактериите в процесите в горската екосистема ще бъде призната само в бъдеще, когато дейностите на всички членове на почвената общност се изучават едновременно (Liado et al., 2017). Според изследвания на много автори горските почви са сред най-разнообразните микробни местообитания на Земята, в които бактериите са най-изобилната група от микроорганизми (Nacke et al., 2012; Haridoim et al., 2015). Голямото изобилие от *Acidobacteria*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria* по горските почви (Lipson, 2007; Nacke et al., 2011; Baldrian et al., 2012; Kuffner et al., 2012; Kurth et al., 2013; Uroz et al., 2013; López-Mondéjar et al., 2015) изглежда показва тяхното функционално значение. Fang et al., 2016 установяват, че след проведена сеч микробиологичната почвена активност се повишава в по-висока степен при възстановяване на горската зона с използване на смесена широколистна и иглолистна растителност, отколкото при залесяване само с широколистни или само с иглолистни дървесни видове.

Почвените ензими като индикатори за микробния метаболизъм играят важна роля в биогеохимията на хранителните вещества на ниво екосистема. В свое изследване на девет горски екосистеми по трансекта Север-Юг в източен Китай Xu et al., (2017) установяват, че почвените дейности на β -глюкозидаза и N-ацетилглюкозаминидазата са по-високи в умерените гори, отколкото в субтропичните и тропическите гори, като активността на

ензимите корелира значително и отрицателно със средната годишна температура, средните годишни валежи, почвените въглеродни (C): P и почвени азотни (N): P съотношения, но не и със съотношението C:N. При изследване на ензимите инвертаза, уреаза, каталаза и фенолоксидаза след прореждане на насаждения *Pinus tabuliformis* (Carrière) Wang et al., (2016) отразяват, че с увеличаване на времето нараства основно активността на инвертазата и уреазата. Изследваните от тези автори ензими се влияят от сезонността и дълбочината на пробовземане – максимални стойности са установени през лятото в повърхностния почвен слой (0-10 cm) и минимални през есента. В горските екосистеми бактериите и гъбичките са отговорни за извънклетъчния синтез и секрецията на ензими, като протеази, уреази и пектинази, които представляват важна част от почвената матрица (Sinsabaugh & Moorhead, D., 1994) и допринасят за разграждане на почвената органична материя и следователно за съхраняването на почвен въглерод (Waldrop et al., 2004; Cusack et al., 2010). Разработването на подходи за оценка на ензимното функционално разнообразие на почвата ще увеличи разбирането за връзките между наличността на ресурси, структурата и функцията на микробната общност и процесите в екосистемите (Caldwell, 2005).

В средния горскорастителен пояс на Западните Родопи са разпространени едни от най-високопродуктивните смърчови и бялборови гори, при част от които е прилагано наторяване на почвите (Bogdanov, 2014; Bogdanov, 2019).

Целта на изследването е определяне и оценяване на микробиологични и ензимни индикатори при горски почви, дългогодишен период след наторяване, под различни видове иглолистна дървесна растителност от района на Западни Родопи.

Материали и методи

Изследваният район се намира в Средния лесорастителен пояс (700 – 2000 m надморска височина) на Тракийската лесорастителна област,

на територията на УОГС Юндола. Почвата при всички варианти е кафява горска (Distric-Eutric Cambisols, FAO), маломощна до средно мощна с дълбочина 80 – 110 cm. Отличава се с висока скелетност, лек механичен състав и физични показатели, които осигуряват добра аерация. През 1976 г. е приложена многовариантна схема на торене с три нива на азот, фосфор и калий – 0, 150, 300 kg/ha азот и 0, 75 и 150 kg/ha фосфор и калий. Влиянието на торенето върху микроорганизмите за отдел 103в е разгледано в предишни наши публикации (Bogdanov et al., 2015). Предвид многогодишния период на изследване след наторяването в настоящото проучване се отразява само неговото косвено влияние за структурирането и активността на микробиоценоза. Наторяването е оказало влияние върху сформиранието на определен микробен пул в почвите, както и за по-доброто развитие на дървесните видове, а оттам и за поддържане на по-висока микробна активност в почвите. Поради тези фактори вариантите условно са разделени на: контрола (без повлияване върху развитието на дървостоя от торене – вариант А) и с повлияване върху развитието на дървостоя от торене (косвено влияние) – вариант Б. Дървостоят е представен от различни иглолистни видове, естествен, на възраст 80-110 години, II бонитет (табл. 1).

Пробонабирането е осъществено през м. май 2019 г., на две дълбочини (0-10 cm и 10-40 cm) със стерилен инструмент в стерилни хартиени пликове. Използваните методи за анализ са както следва.

Хетеротрофен блок на микробиоценоза – чрез методите на разреждане и трикратна посявка на твърди хранителни среди с последващо отчитане на колониеобразуващи единици (КОЕ) в 1 g абс. суха почва (Mishustin & Emtsev, 1989).

Аеробен компонент на микрофлората. Определени са систематични и физиологични групи микроби – бацили и неспорообразуващи бактерии (на обикновен агар), микромицети (плесенни гъби) - на Чапек-Докс агар, актиномицети и бактерии, усвояващи минерален азот (на *Actinomycetes isolation agar*). Определена е общата микрофлора. Изчислен е минерализационният коефициент

по формулата: бактерии, усвояващи минерален азот / (неспорообразуващи бактерии+бацили) (Mishustin & Runov, 1957; Nustorova, 2011; Malcheva & Naskova, 2018).

Целулазната активност беше определена чрез лабораторен метод (Khaziev, 1976). В петрита с диаметър 10 cm се насипва почва с дебелина около 7 mm, като се поддържа 60% ППВ (пределна полска влагоемност). Във всяко петриево блюдо върху почвата се поставят по 3 ленти стерилна филтърна хартия с размери 10/50 mm и се култивират при 25° C. През 15 дни се отчита площта на разградената целулоза с мрежа-еталон. Изчисляват се средни стойности от трите ленти.

Каталазната активност е определена по мангано-метричен метод (Khaziev, 1976).

Почвената влажност е определена на влагомерна везна, марка DBS.

Общ азот – метод на Келдал (Donov et al., 1974).

Статистическата обработка на данните от микробиологичните показатели включва изчисляване на средната стойност от три повторения и коефициент на вариация (КВ). Представен е корелационен анализ за показателите: бактерии, усвояващи минерален азот и общ азот. За статистическата обработка е използвана програмата MS-Excel 2010.

Резултати и обсъждане

Биогенността на изследваните почви е представена на следващата таблица 2.

Общата микрофлора е с по-високи стойности при варианти Б с повлияване върху развитието на дървостоя от торене в сравнение с контролните почви. Тази тенденция е по-ясно изразена при почвената проба от отдел 20ж за горния почвен слой, с растителност смърч, при която общото количество микроорганизми е около 3 пъти увеличено в сравнение с контролата и почвите под бял бор. В средния горскорастителен пояс на Западните Родопи са разпространени едни от най-високопродуктивните смърчови гори, което е тясно свързано с плодородието на почвата (Bogdanov, 2019), което пък от своя страна е

в зависимост от развитието и активността на почвените микроорганизми. Развитието на микроорганизмите в горния почвен слой се е увеличило съответно 1,1 пъти при отдел 35г (бял бор) и 1,2 пъти при отдел 103в (бял бор) спрямо контролите. В дълбочина общото количество на микроорганизмите намалява до 12,5 пъти, като се запазва по-високо при варианти Б от отдел 103в и 35г (повлияни от торенето) спрямо контролите. Богданов (2014) в свое изследване посочва значителен прираст на белия бор от отдел 103в за 30-годишен период след торене, особено при вариантите с внесени азотни торове. Според този автор един от факторите за добрия прираст е характерната за белия бор коренова система, благоприятстваща бързото усвояване на внесените хранителни елементи. Значението на торенето не се заключава само в прякото повишаване на запасите от усвоими хранителни елементи, но преди всичко в подобряване на цялостната биологична обстановка чрез активизиране на процесите на разлагане и регулиране на биологичния кръговрат (Bogdanov, 2014). При почвите от отдел 20ж и 35г по-високата биогенност корелира и с по-висока влажност в сравнение с почвите от отдел 108б и 103в. Romanowicz et al., (2016) разграничават обща и активна микрофлора при изследване на горски почви. Те установяват, че съставът както на общите, така и на активните микробни общности варира в зависимост от разликите в почвената влага, рН, съдържанието на карбоксилни соли, както и концентрацията на С и N.

Най-висок процентен дял в състава на общата микрофлора заемат неспорообразуващите бактерии (60-80%), следвани от бацилите (10-30%), с изключение при отдел 20ж (смърч) 0-10 cm. При този вариант количеството на актиномицетите (25%) е по-високо от това на бацилите, т. е. установява се прегрупиране на микроорганизмите в сравнение с другите варианти. Амонифициращите бактерии (неспорообразуващи бактерии и бацили) участват най-активно в началните етапи на деструкция на органичната материя. Най-слабо представени са актиномицетите и микромицетите, които участ-

ват по-активно в крайните етапи на разграждане на органиката. Вероятно по-доброто развитие на дървостоя след наторяване води до повишаване количеството на всички групи микроорганизми, основно в горния почвен слой – до 3 пъти при неспорообразуващите бактерии, 1,4 пъти при бацилите, 12 пъти при актиномицетите и до 2,4 пъти при микромицетите спрямо контролните почви. Установява се повишаване на делът на актиномицетите в състава на общата микрофлора при почвите косвено повлияни от торенето, в сравнение с контролите. Тази тенденция е показателна, че микробиоценоза е в по-краен етап на сформирание при почвите от вариантите повлияни от торене. Други автори също установяват изобилие основно на бактериални видове в горски почви (Nustorova & Yordanov, 1991; Susyan et al., 2006; Grigorova et al., 2007; Hardoim et al., 2015; Lipson, 2007; Nacke et al., 2011; Nacke et al., 2012; Baldrian et al., 2012; Kuffner et al., 2012; Kurth et al., 2013; Uroz et al., 2013; López-Mondéjar et al., 2015; Hardoim et al., 2015; Bogdanov et al., 2015; Naskova, 2016), което отразява тяхното функционално значение за протичането на кръговратите на основни хранителни елементи, както и при минерализацията на по-лесно разградими органични вещества. В противовес на тази тенденция някои автори отчитат при горски екосистеми по-активно развитие на плесенни гъби в почвите (Žifčáková et al., 2016; Baldrian, 2017), които пък са основни разградители на по-трудно разградими органични вещества.

Количеството на бактериите, усвояващи минерален азот е по-високо при два от вариантите – 20ж (смърч) 0-10 cm и 103в (бял бор) спрямо съответните контроли, като при смърчовото месторастене количеството им е два пъти по-високо отколкото при гората с бял бор. От съотношението между тази група микроорганизми и амонификаторите зависи скоростта на разграждане на органичните вещества в почвата – стойностите на минерализационния коефициент са по-високи от съответната контрола само при един от варианти Б – 103в (бял бор), т.е. не само количеството определя активността на микроорганизмите

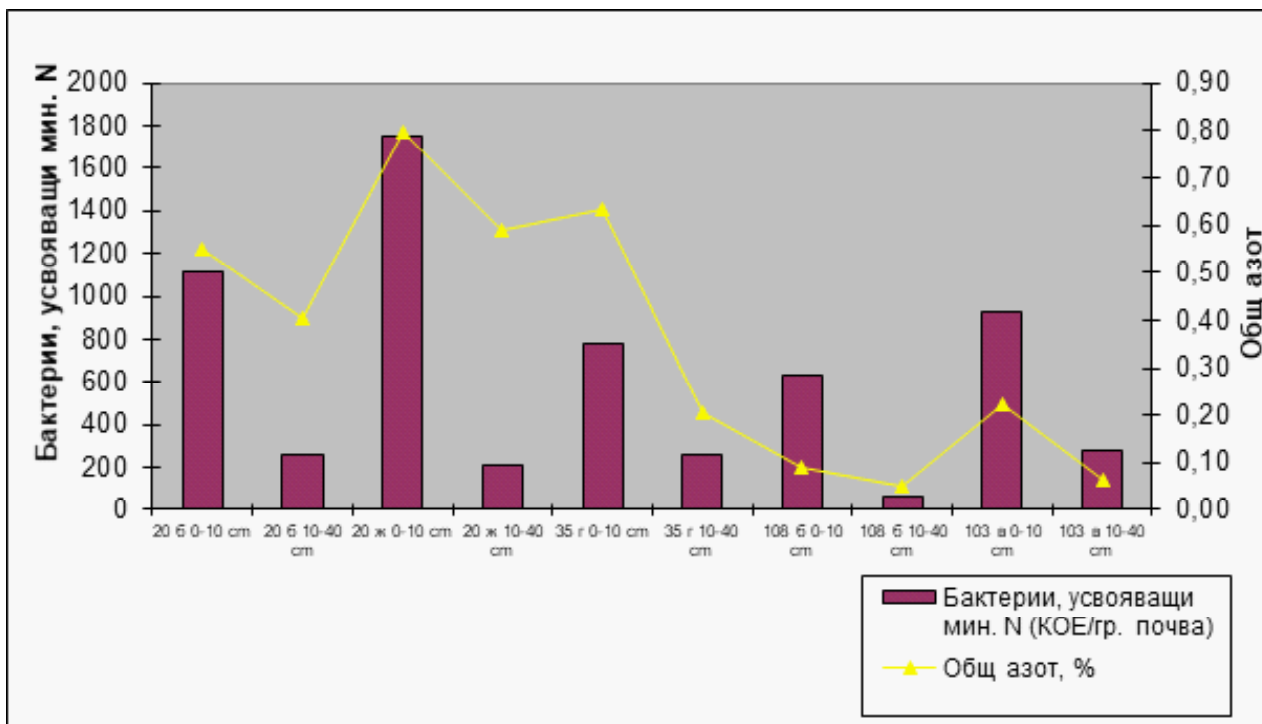
и съответно интензивността на деструкция на органиката в почвата. Влияние за този процес оказват и редица други фактори – влажност, температура, рН, хранителен запас на почвата, ензимна активност, както и типа растителност. Установено е, че иглолистата се разграждат по-бавно, отколкото растителните остатъци от широколистни и тревни видове, поради по-високото съдържание на фенолни съединения в тях. Всички почви са под иглолистни видове, но при вариант 103в (бял бор) подрастът е съставен освен от житни и от хростови видове. Изследваните почви са добре запасени с общ азот. Установява се значима зависимост ($r=0,63$) между количеството на бактериите, усвояващи минерален азот и съдържанието на общ азот в почвите – по-добре запасените почви с азот активират в по-висока степен развитието на бактериите, усвояващи минерален азот (фиг. 1 и табл. 3).

При изследване разграждането на целулоза в горски почви Nottingham et al. (2018) установяват, че съдържанието на азот в почвите е ограничаващ фактор за развитието главно на плесенни гъби, в комбинация с фосфор и за развитието на бактериите, както и за деструкцията на целулозата. Разграждането на органиката се дължи на различни целулолитични ензими, включващи ендоцелулази, целобихидролази и глюкозидази (Sinsabaugh et al., 1992). Деструкцията на целулоза и хемицелулоза от горски почвени бактерии протича под действието на структурно променливи ензимни системи като целулази, хемицелулази и други гликозилови хидролази (López-Mondéjar et al., 2016). Разграждането на целулозата в изследваните варианти е представено чрез изследване активността на ензима целулаза (фиг. 2).

Резултатите показват, че целулазната активност е по-висока при вариантите Б (косвено повлияване от торене) (от 60 до 78% разградена площ), отколкото при контролните проби (от 59 до 67% разградена площ). По отношение на растителността почвата под смърч (20ж) има по-висока целулазна активност спрямо почвите под бял бор. Скоростта на разграждане на целулозата корелира с общото количество на

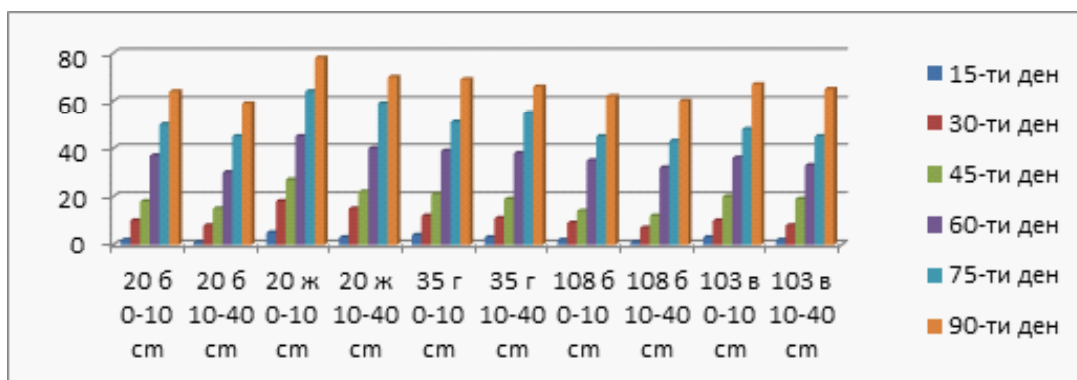
микроорганизмите и с наличието на органични вещества в почвата – констатира се намаляване на целулазата в дълбочина. Подобна тенденция установяват и Kanazawa & Miyashita (1987) при изследване на кафяви горски почви. Тези автори констатираат, че активността на ензима целулаза намалява в долните почвени хоризонти, което зависи от количеството и качествения състав на микроорганизмите в отделните почвени слоеве. Полученият водороден пероксид при деструкцията на целулозата и други въглеhidрати като скорбяла и захароза се разгражда до вода и кислород с помощта на ензима каталаза. Неговата активност е представена на следващата фигура 3.

При каталазната активност се установява същата тенденция, както при активността на ензима целулаза – по-високи стойности при варианти Б (косвено влияние на торене) и зависимост между активността на ензима и общото количество микроорганизми. Значение за активността на ензима оказва и каталазата с растителен произход. По отношение на растителността при изследваните варианти каталазната активност е с по-високи стойности под смърчови месторастения, отколкото под бял бор. И при този ензим се установява спад в дълбочина. Активността на ензимите каталаза и уреаза обикновено е по-висока в примозолите, камбизолите и аргозолите, отколкото в ферозолите (Zheng et al., 2018). Тези и други автори (Purev et al., 2012) установяват, че ензимната активността до голяма степен намалява в дълбочина на почвата и се увеличава при по-високо количество на органична материя. Активността на каталазата според тяхното изследване зависи от средногодишната температура на въздуха – констатираат максимална активност на ензима в диапазона 2,5–17,5° С, докато отрицателно корелира със средните годишни валежи. Каталазната активност при горски почви има пряка и обратна връзка със съдържанието на разтворим протеин в почвите (Purev et al., 2012). Някои автори (Wang et al., 2016) установяват противоположна тенденция при горски почви – леко увеличаване на каталазната активност в дълбочина, но отбелязват, че



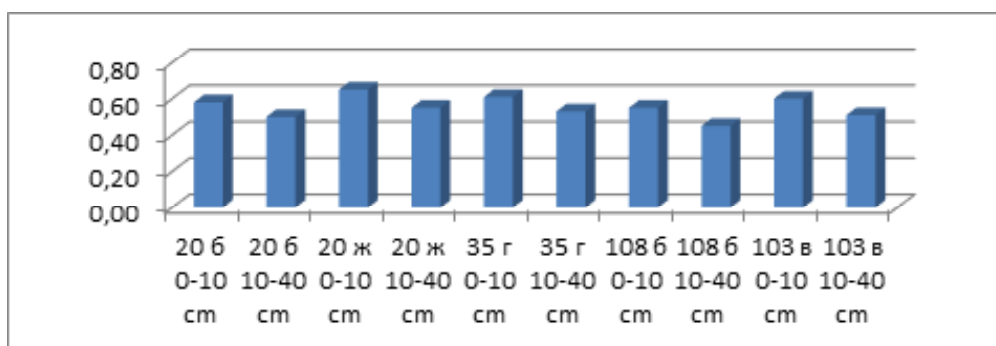
Фиг. 1. Зависимост между съдържанието на общ азот и количеството на бактериите, усвояващи минерален азот

Fig. 1. Relationship between total nitrogen content and the amount of bacteria absorbing mineral nitrogen



Фиг. 2. Целулазна активност (% разградена площ, дни)

Fig. 2. Cellulase activity (% decomposed area, days)



Фиг. 3. Каталазна активност (ml O₂/30 min)
Fig. 3. Catalase activity (ml O₂/30 min)

Таблица 1. Характеристика на месторастенията
Table 1. Characteristic of habitats

Отдел Department	Вариант Variant	Растителност Vegetation
20 б	Контрола 1 (A) Control 1 (A)	Смърч (<i>Picea abies</i> L.) (80-90 г.), подраст / undergrowth vegetation: смърч (<i>Picea abies</i> L.), Житни (<i>Poaceae</i>)
20 ж	20ж-1Б	Смърч (<i>Picea abies</i> L.) (80-90 г.), подраст / undergrowth vegetation: смърч (<i>Picea abies</i> L.), Житни (<i>Poaceae</i>)
35 г	35г-1Б	Бял бор (<i>Pinus sylvestris</i> L.) (80-90 г.), подраст / undergrowth vegetation: бял бор (<i>Pinus sylvestris</i> L.), Житни (<i>Poaceae</i>)
108 б	Контрола 2 (A) Control 1 (A)	Бял бор (<i>Pinus sylvestris</i> L.) (110 г.), подраст / undergrowth vegetation: смърч (<i>Picea abies</i> L.), бял бор (<i>Pinus sylvestris</i> L.), Житни (<i>Poaceae</i>)
103 в	103в-2Б	Бял бор (<i>Pinus sylvestris</i> L.) (90 г.), подраст / undergrowth vegetation: смърч (<i>Picea abies</i> L.), боровинка (<i>Vaccinium</i> sp.), Житни (<i>Poaceae</i>)

Таблица 3. Корелационна зависимост между показателите бактерии, усвояващи минерален азот и общ азот

Table 3. Correlation between the indicators of bacteria absorbing mineral nitrogen and total nitrogen

	Бактерии, усвояващи мин. N	Общ азот
Бактерии, усвояващи мин. N	1	
Общ азот	0,63124689	1

Таблица 2. Количество на почвените микроорганизми (КОЕ/г абс. суха почва x 10³)
Table 2. Quantity of soil microorganisms (cfu/g abs. dry soil x 10³)

Отдел Department	Вариант Variant	Дълбочина Depth, cm	Влажност Humidity	Обща микрофлора Total microflora	Неспоро- образуващи бактерии Non-spore- forming bacteria	Бацили Bacilli	Актино- мицети Actino- mycetes	Микро- мицети Micro- mycetes	Бактерии, усвояващи мин. азот Bacteria absorb min. N	Минерали- зационен коэффициент MC
20 Б	Контрол 1 (A)	0-10	31,8	1536,8	884,0±2,51 (57,5)	448,8±2,47 (29,2)	95,2±6,43 (6,2)	108,8±5,66 (7,1)	1115,2±1,99	0,84
		10-40	23,1	381,9	235,6±3,74 (61,7)	95,5±1,32 (25,0)	20,0±3,72 (5,2)	30,8±2,32 (8,1)	257,2±2,93	0,78
20 Ж	20ж-1Б	0-10	26,9	4613,6	2569,6±1,86 (55,7)	613,2±1,94 (13,3)	1168,0±4,08 (25,3)	262,8±2,57 (5,7)	1752,0±3,40	0,55
		10-40	28,7	370,6	255,6±2,27 (69,0)	51,1±1,30 (13,8)	38,3±3,02 (10,3)	25,6±4,54 (6,9)	214,4±2,16	0,70
35 Г	35г-1Б	0-10	34,6	1729,0	1040,0±3,06 (60,2)	481,0±2,21 (27,8)	117,0±9,07 (6,8)	91,0±6,43 (5,3)	780,0±2,72	0,51
		10-40	11,2	405,8	322,2±1,80 (79,4)	42,7±3,40 (10,5)	12,5±7,07 (3,1)	28,5±5,10 (7,0)	256,3±2,84	0,70
108 Б	Контрол 2 (A)	0-10	10,3	1368,0	720,0±4,08 (52,6)	234,0±6,28 (17,1)	126,0±6,43 (9,2)	288,0±2,89 (21,1)	630,0±2,33	0,66
		10-40	9,4	212,9	127,4±2,33 (59,8)	29,1±5,10 (13,7)	27,3±3,07 (12,8)	29,1±3,01 (13,7)	61,9±4,80	0,40
103 В	103в-2Б	0-10	14,2	1668,4	774,0±1,81 (46,4)	481,6±2,92 (28,9)	240,8±3,29 (14,4)	172,0±4,56 (10,3)	928,8±4,54	0,74
		10-40	7,4	474,3	325,5±2,80 (68,6)	104,2±4,37 (22,0)	24,2±3,54 (5,1)	20,5±7,42 (4,3)	282,7±3,76	0,66

това трябва допълнително да бъде проучено. Malcheva et al. (2015) докладват, че активността на каталаза е най-висока в L слой, а активността на целулазата в H слой на горска постеля при почва под бял бор, в сравнение с другите два слоя на постелята. Според изследването на тези автори спрямо посочените слоеве на постелята каталазната активност е по-висока в минералните хоризонти, като леко се увеличава в дълбочина, докато целулазната активност е по-ниска в минералните почвени слоеве, също с леко увеличаване в дълбочина. В същото изследване се отбелязва зависимост на двата ензима и от температурата и влажността на почвата – при опожарени горски почви по-високата температура намалява активността на ензимите в сравнение с тази в минералните по-дълбоки почвени слоеве, както и спрямо неопожарени почви активността на ензимите е по-ниска.

Изводи

Биогенността на почвата е по-висока при вариантите с косвено последствие на торене (по-добро развитие на дървостоя) в сравнение с контролите. По отношение на растителността при вариантите със смърч общата микрофлора е с по-добро развитие спрямо вариантите с бял бор.

Основен дял в състава на общата микрофлора заемат неспоробразуващите бактерии, следвани от бацилите. Тези две групи микроорганизми имат основна роля в началните етапи на разграждане на органичните вещества в изследваните горски почви. Най-слабо представени са актиномицетите и микромицетите, които участват активно в крайните етапи на деструкция на органиката. Повишава се делът на актиномицетите в състава на общата микрофлора при почвите косвено повлияни от торенето, в сравнение с контролите, което показва, че микробиоценоза е в по-краен етап на формиране при тези почви. Установява се правопрпорционална зависимост между количеството на бактериите, усвояващи минерален азот и съдържанието на общ азот в почвите. Количеството на бактериите,

усвояващи минерален азот е по-високо в почвите при смърчовото месторастение отколкото при насаждението с бял бор. Минерализационната активност е най-висока при едната контролна почва, под смърч (206-1A), следвана от тази при вариант 103в-2Б (бял бор), което показва, че не винаги количеството на почвените микроорганизми е единствена и самостоятелна предпоставка за тяхната активност.

Активностите на ензимите целулаза и каталаза са по-високи при вариантите Б (косвено повлияване от торене), отколкото при контролните проби. По отношение на растителността почвата под смърч има по-висока ензимна активност спрямо почвите под бял бор.

Изследваните микробиологични и ензимни показатели могат да служат като чувствителни биологични и биохимични индикатори за протичащи процеси в почвите в горски екосистеми, особено при продължителното им оценяване в динамика.

Литература

Baldrian, P. (2017). Microbial activity and the dynamics of ecosystem processes in forest soils. *Current Opinion in Microbiology*, 37, 128-134. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.06.008>.

Baldrian, P., Kolařík, M., Štursová, M., Kopecký, J., Valášková, V., Větrovský, T., ... & Voříšková, J. (2012). Active and total microbial communities in forest soil are largely different and highly stratified during decomposition. *The ISME journal*, 6(2), 248-258. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.95>.

Baum, C., Leinweber, P., & Schlichting, A. (2003). Effects of chemical conditions in re-wetted peats on temporal variation in microbial biomass and acid phosphatase activity within the growing season. *Applied Soil Ecology*, 22(2), 167-174.

Bogdanov, S. (2014). Results from fertilization of scot pine stand on brown forest soils. *Ekologichno inzhenerstvo i opazvane na okolnata sreda*, 3-4, 99-104 (Bg).

Bogdanov, S. (2019). Soil conditions under high productive spruce stands. *Ekologichno inzhenerstvo i opazvane na okolnata sreda*, 4, 66-72 (Bg).

Bogdanov, S., Noustorova, M., & Malcheva, B. (2015). Long-lasting effect of fertilization on soil microflora of Brown Forest soils (District-Eutric Cambisols) from the western Rhodope region. *Ecology and Future-Journal of Ecology and Environment Sciences*, 14(1/2), 23-30 (Bg).

- Burylo, M., Rey, F., & Delcros, P.** (2007). Abiotic and biotic factors influencing the early stages of vegetation colonization in restored marly gullies (Southern Alps, France). *Ecological engineering*, 30(3), 231-239.
- Caldwell, B. A.** (2005). Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, 49(6), 637-644.
- Cusack, D. F., Torn, M. S., McDOWELL, W. H., & Silver, W. L.** (2010). The response of heterotrophic activity and carbon cycling to nitrogen additions and warming in two tropical soils. *Global Change Biology*, 16(9), 2555-2572.
- Donov, V., Gencheva, S., Yorova, K.** (1974). Guide to exercises in forest soil science. *Zemizdat*, Sofia, 218 (Bg).
- Fang, X., Yu, D., Zhou, W., Zhou, L., & Dai, L.** (2016). The effects of forest type on soil microbial activity in Changbai Mountain, Northeast China. *Annals of forest science*, 73(2), 473-482. <https://doi.org/10.1007/s13595-016-0540-y>. hal-01532397.
- Grigorova, V., Popova, V., Svetoslavov, A.** (2007). Microbiological analysis in forest and agroecosystems. In: Yearbook of the Technical University - Varna, Varna, 461-467 (Bg).
- Hardoim, P. R., Van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., ... & Sessitsch, A.** (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293-320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>.
- Kanazawa, S., & Miyashita, K.** (1987). Cellulase activity in forest soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 33(3), 399-406. <https://doi.org/10.1080/00380768.1987.10557585>.
- Khaziev, F.** (1976). Enzymatic activity of soils. *Nauka*, Moskva, 180 (Ru).
- Kuffner, M., Hai, B., Rattei, T., Melodelima, C., Schloter, M., Zechmeister-Boltenstern, S., ... & Sessitsch, A.** (2012). Effects of season and experimental warming on the bacterial community in a temperate mountain forest soil assessed by 16S rRNA gene pyrosequencing. *FEMS microbiology ecology*, 82(3), 551-562. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01420.x>.
- Kurth, F., Zeitler, K., Feldhahn, L., Neu, T. R., Weber, T., Krištůfek, V., ... & Tarkka, M. T.** (2013). Detection and quantification of a mycorrhization helper bacterium and a mycorrhizal fungus in plant-soil microcosms at different levels of complexity. *BMC microbiology*, 13(1), 205. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-205>.
- Lipson, D. A.** (2007). Relationships between temperature responses and bacterial community structure along seasonal and altitudinal gradients. *FEMS microbiology ecology*, 59(2), 418-427. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00240.x>.
- Lladó, S., López-Mondéjar, R., & Baldrian, P.** (2017). Forest soil bacteria: diversity, involvement in ecosystem processes, and response to global change. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(2). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00063-16>.
- López-Mondéjar, R., Voříšková, J., Větrovský, T., & Baldrian, P.** (2015). The bacterial community inhabiting temperate deciduous forests is vertically stratified and undergoes seasonal dynamics. *Soil Biology and Biochemistry*, 87, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.04.008>.
- López-Mondéjar, R., Zühlke, D., Becher, D., Riedel, K., & Baldrian, P.** (2016). Cellulose and hemicellulose decomposition by forest soil bacteria proceeds by the action of structurally variable enzymatic systems. *Scientific reports*, 6, 25279. <https://doi.org/10.1038/srep25279>.
- Malcheva, B., Naskova, P.** (2018). Guide for laboratory exercises in Microbiology. Universitetsko izdatelstvo pri TU-Varna, Varna, 70 (Bg).
- Malcheva, B., Velizarova, E., Nustorova, M., & Ibrahim, M.** (2015). Enzyme activity of forest fire-influenced soils from north slopes of Rila mountain (region of Dolna Bania). *Forestry Ideas*, 21, 55-66.
- Mishustin, E., Runov, E.** (1957). The success of the development of the principles of microbiological diagnosis of soil condition. *Uspekhi sovremennoy biologii*, 44, 256-268 (Ru).
- Mishustin, F., Emtsev, N.** (1989). Microbiology. *Moskva*, Kolos, 367 (Ru).
- Nacke, H., Engelhaupt, M., Brady, S., Fischer, C., Tautz, J., & Daniel, R.** (2012). Identification and characterization of novel cellulolytic and hemicellulolytic genes and enzymes derived from German grassland soil metagenomes. *Biotechnology letters*, 34(4), 663-675. <https://doi.org/10.1007/s10529-011-0830-2>.
- Nacke, H., Thürmer, A., Wollherr, A., Will, C., Hodac, L., Herold, N., ... & Daniel, R.** (2011). Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils. *PLoS one*, 6(2), e17000. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017000>.
- Naskova, P.** (2016). Seasonal and annual dynamics of microbial activity in soils from natural, agro and urboecosystem. In: *Proceedings of University of Ruse*, 55(1.2), 249-257 (Bg).
- Nottingham, A. T., Hicks, L. C., Ccahuana, A. J., Salinas, N., Bååth, E., & Meir, P.** (2018). Nutrient limitations to bacterial and fungal growth during cellulose decomposition in tropical forest soils. *Biology and fertility of soils*, 54(2), 219-228. <https://doi.org/10.1007/s00374-017-1247-4>.
- Nustorova, M.** (2011). E-Guide for laboratory exercises in soil microbiology. www.ltu.bg. <http://193.23.52.11>.
- Nustorova, M., Yordanov, Ts.** (1991). Seasonal dynamics of the microflora in brown forest soils (District-Eutric Cambisols) from the Western Balkan mountains. *Nauka za gorata*, 68-75 (Bg).
- Purev, D., Bayarmaa, J., Ganchimeg, B., Ankhtsetseg, B., & Anumandal, O.** (2012). Catalase, protease and urease activity in some types of soil. *Mongolian Journal*

of *Chemistry*, 13, 16-18.

Romanowicz, K. J., Freedman, Z. B., Upchurch, R. A., Argiroff, W. A., & Zak, D. R. (2016). Active microorganisms in forest soils differ from the total community yet are shaped by the same environmental factors: the influence of pH and soil moisture. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(10). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw149>.

Salazar, S., Sánchez, L. E., Alvarez, J., Valverde, A., Galindo, P., Igual, J. M., ... & Santa-Regina, I. (2011). Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. *Ecological Engineering*, 37(8), 1123-1131.

Sinsabaugh, R. L., & Moorhead, D. L. (1994). Resource allocation to extracellular enzyme production: a model for nitrogen and phosphorus control of litter decomposition. *Soil biology and biochemistry*, 26(10), 1305-1311.

Sinsabaugh, R. L., Antibus, R. K., Linkins, A. E., McClougherty, C. A., Rayburn, L., Repert, D., & Weiland, T. (1993). Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. *Ecology*, 74(5), 1586-1593.

Susyan, E. A., Rybyanets, D. S., & Ananyeva, N. D. (2006). Microbial activity in the profiles of gray forest soil and chernozems. *Eurasian Soil Science*, 39(8), 859-867.

Uroz, S., Ioannidis, P., Lengelle, J., Cébron, A., Morin, E., Buée, M., & Martin, F. (2013). Functional assays and metagenomic analyses reveals differences between the microbial communities inhabiting the soil horizons of a Norway spruce plantation. *PLoS One*, 8(2), e55929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055929>.

Waldrop, M. P., Zak, D. R., Sinsabaugh, R. L., Gallo, M., & Lauber, C. (2004). Nitrogen deposition modifies soil carbon storage through changes in microbial enzymatic activity. *Ecological Applications*, 14(4), 1172-1177.

Wang, W., Page-Dumroese, D., Lv, R., Xiao, C., Li, G., & Liu, Y. (2016). Soil enzyme activities in pinus tabulaeformis (Carrière) plantations in Northern China. *Forests*, 7(6), 112. <https://doi.org/10.3390/f7060112>.

Xu, Z., Yu, G., Zhang, X., He, N., Wang, Q., Wang, S., ... & Wang, C. (2017). Soil enzyme activity and stoichiometry in forest ecosystems along the North-South Transect in eastern China (NSTEC). *Soil Biology and Biochemistry*, 104, 152-163. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.10.020>.

Yakovchenko, V., Sikora, L. J., & Kaufman, D. D. (1996). A biologically based indicator of soil quality. *Biology and Fertility of Soils*, 21(4), 245-251.

Zheng, H., Liu, Y., Zhang, J., Chen, Y., Yang, L., Li, H., & Wang, L. (2018). Factors influencing soil enzyme activity in China's forest ecosystems. *Plant ecology*, 219(1), 31-44. <https://doi.org/10.1007/s11258-017-0775-1>.

Žifčáková, L., Větrovský, T., Howe, A., & Baldrian, P. (2016). Microbial activity in forest soil reflects the changes in ecosystem properties between summer and winter. *Environmental microbiology*, 18(1), 288-301. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13026>.