

## Микробиологични и физични характеристики на скелетни почви използвани за отглеждане на тютюн

Галина Петкова\*, Костадинка Недялкова, Йонита Перфанова, Милена Керчева, Мариана Христова, Женья Илиева

Институт по почвознание, агротехнологии и защита на растенията „Н. Пушкаргов“, Селскостопанска академия, София, България

Email\*: galina50@abv.bg

### Резюме

Целта на настоящето изследване е да се характеризират основни микробиологични и физични свойства на скелетни почви от района на Гоце Делчев, използвани за отглеждане на ориенталски тютюн и се анализират взаимозависимости между изследваните показатели. Определени са рН, съдържание на общ органичен С, механичен състав, обемна плътност, обща порьозност, аерационен капацитет, численост на основни морфологични и физиологични групи микроорганизми, продукцията на  $\text{CO}_2$ , количество на микробиялния биомасен въглерод и активността на ензимите  $\beta$ -глюкозидаза и кисела фосфатаза. Изследваните почви (Рендзина, Слабо и Средно Излужени Канелени горски почви и Алувиално-делувиална почва) се различават по местоположение, механичен състав, степен на каменистост и водно-физични свойства. Установено е, че скелетните почви се характеризират с близка структура на микробиялните популации и доминиране на процесите на имобилизация на азотните органични съединения, но се различават по микробиологичната си активност. Амонифициращите бактерии са с по-висока численост в почвите с по-висока каменистост – Рендзината и Слабо Излужената Канелена горска почва. Високите стойности на числеността на целулозоразлагащите микроорганизми, продукцията на  $\text{CO}_2$  и  $\beta$ -глюкозидазната активност при Рендзината и Алувиално-делувиалната почва доказват по-интензивната минерализация на органичната материя в тези почви в сравнение с двете Излужени Канелени горски почви. Количеството на микробиялния биомасен С е в положителна корелация с някои от изследваните показатели – продукцията на  $\text{CO}_2$ , численост на амонифициращите бактерии и бактериите, използващи минерален азот, рН, съдържанието на глина и пясък. Активността на  $\beta$ -глюкозидазната активност и киселата фосфатаза са в положителна корелация с обема на пори, заети с вода при потенциал  $pF_{1,7}$  ( $\theta_{pF_{1,7}}$ ) и съдържанието на прах.

**Ключови думи:** скелетни почви, почвени микроорганизми, физични показатели, микробиологични показатели, ензимна активност

# Microbiological and physical properties of skeletal soils used for tobacco growing

Galina Petkova\*, Kostadinka Nedyalkova, Jonita Perfanova, Milena Kercheva, Mariana Christova, Zhenya Ilieva

*Institute of Soil Science, Agrotechnology and Plant Protection "Nikola Poushkarov", National Center for Agrarian Science, Sofia, Bulgaria*

**Corresponding author\*:** galina50@abv.bg

**Citation:** Petkova, G., Nedyalkova, K., Perfanova, J., Kercheva, M., Christova, M., & Ilieva, Zh. (2022). Microbiological and physical properties of skeletal soils used for tobacco growing. *Bulgarian Journal of Soil Science Agrochemistry and Ecology*, 56(1), 3-16.

## Abstract

The aim of the present study was to characterize the main microbiological and physical properties of skeletal soils near to the town of Gotze Delchev under oriental tobacco, and to analyze the interdependencies among the studied parameters. Content of total and organic C, pH, particle size distribution, bulk density, total porosity, aeration capacity, number of main morphological and physiological groups of microorganisms, CO<sub>2</sub> evolution, amount of microbial biomass carbon and activity of  $\beta$ -glucosidase and phosphatase enzymes were assessed. The studied soils (Rendzina, Slightly and Medium Leached Cinnamonic Forest soils and Alluvial- Deluvial soil) differed in location, soil texture, degree of stoniness and hydraulic properties. It was established that skeletal soils had a similar structure of microbial populations and dominance of the processes of nitrogenous organic compounds immobilization but differed in their microbiological activity. Ammonifying bacteria were more abundant in soils with higher stoniness - Rendzina and Slightly Leached Cinnamonic forest soil. The high values of the number of cellulose-decomposing microorganisms, CO<sub>2</sub> evolution and  $\beta$ -glucosidase activity in Rendzina and Alluvial-Deluvial soil indicated a more intensive mineralization of the organic matter in comparison with studied Leached Cinnamonic forest soils. The amount of microbial biomass C was positively correlated with some of the studied parameters - CO<sub>2</sub> evolution, number of ammonifying bacteria and bacteria using mineral nitrogen, pH, clay and sand content. The activity of  $\beta$ -glucosidase and acid phosphatase were positively correlated with the volume water stored at potential pF1,7 ( $\theta_{pF1,7}$ ) and silt content.

**Key words:** skeletal soils, soil microorganisms, physical properties, microbiological properties, enzyme activity

## Въведение

Почвените микроорганизми са основен компонент на сухоземните екосистеми, тъй като участват във всички процеси, свързани с почвеното плодородие (формиране на почвена структура, трансформация на органичното

вещество, кръговрата на биогенните елементи, създаване на трофични вериги с растенията и почвената фауна и други). Те реагират бързо на промените в околната среда, изменяйки морфологичните и физиологичните си свойства. Голямата екологична пластичност на почвените микроорганизми определя възможността

показателите, които характеризират тяхната численост и активност да бъдат използвани за оценка на нейното качество и като ранни индикатори за неблагоприятни изменения в почвата (Bending et al., 2004; Schoter et al., 2018).

Развитието на почвените микроорганизми зависи от голям брой биотични и абиотични фактори, между които от съществено значение са основните физични свойства на почвите (механичен състав, обемна и относителна плътност, порьозност, водозадържаща способност). Първичните органо-минерални комплекси, които се съдържат в отделните почвени фракции (пясък, прах и глина) се различават по своя състав и сорбционна активност и създават различни по съдържание на вода, кислород и хранителни вещества микросреда. Различните физиологични групи и видове микроорганизми се приспособяват избирателно към условията за развитието им в тези микросреда (Hassink, 1994; Müller-Hoper, 2004; Hemkemeyer et al., 2015). Установена е връзка между специфични активности на почвената микрофлора (азотна минерализация, амонификация, нитрификация, разграждане на органични замърсители) с различните почвени фракции (Nacro et al., 1996; Christensen & Olsen, 1998; Hemkemeyer et al., 2018). Според Namarashid et al. (2010) почвите с по-високо съдържание на глина се характеризират с по-висока микробиологична активност. Carson et al. (2010) установяват отрицателна зависимост между бактериално разнообразие в почвата и почвената порьозност. Все повече изследвания са насочени за изясняване ролята на водата в почвата и нейната динамика, структурата на поровото пространство и разпределението на органичното вещество в порите за взаимоотношенията между микроорганизмите и с останалата част от почвената биота (корени, червеи и други) (Teson & Or, 2017).

Известно е, че каменистостта на почвата влияе върху водния, въздушния и топлинния ѝ режим. Изследванията на Chow et al. (2007) показват, че обемната плътност и обемът на едрите пори (с диаметър >148  $\mu\text{m}$ ) се увеличават, а порьозността и усвояемият воден капацитет

намаляват с нарастване от 0 до 30 обемни % на съдържанието на скални фрагменти с диаметър 10-19 mm. Каменистостта е ограничаващ природен фактор за отглеждане на повечето земеделски култури (Terres et al., 2016). Ориенталският тютюн е сред малкото култури, които виреят добре на скелетни нископлодородни почви (Zarrianova, 2006).

Целта на настоящето изследване е да се направи характеристика на микробиологичните и физични свойства на скелетни почви от района на Гоце Делчев, използвани за отглеждане на Ориенталски тютюн и се оцени зависимостта между изследваните почвени показатели.

## Материали и методи

### *Описание на обектите и пробовземане*

Обектите на изследване са скелетни почви, на които се отглежда ориенталски тютюн. Разположени са на различна надморска височина (от 514 до 1175 m) в района на община Гоце Делчев. Информация за местоположението и наименованието на почвите е представена в таблица 1. Две от почвите са плитки, излужени Канелени горски почви, но с различна степен на излужване – слабо и средно. Най-високо разположената почва е Рендзина, а най-ниско – Алувиално-делувиална почва.

Пробовзимането е извършено в периода 24-26.09.2020 г. след прибиране на тютюневата реколта. Почвени проби в нарушено и ненарушено състояние са взети от повърхностните 0-5 cm и 10-15 cm в четири пункта на пробовзимане, разположени на разстояние 10 m един от друг.

### *Лабораторни анализи*

Механичният състав е определен по ISO 11277 (2009), а текстурният клас – по FAO (2006).

Във всеки пункт на пробовзимане обемната плътност във всеки слой е определена в 5 повторения с пръстени от 100 cm<sup>3</sup>. Количеството на скелета (фракция на чакъла и камъни с размер 2-40/60 mm) е определено след промиване на ненарушената проба в пръстените първо с вода, а след това след на кисване в натриев

пирофосфат, промиване и изсушаване.

В почви, съдържащи непорьозни фрагменти порьозността ( $\phi$ ) на почвата се изчислява, като се използва обемната плътност ( $\rho_{bf}$ ) и относителната плътност ( $\rho_{bs}$ ) на фината почвена фракция (McKenzie et al., 2002):

$$\phi = (1 - \rho_{sb} / \rho_{sf}) \times (V - V_{sc}) / V \quad (1)$$

където  $V_{sc} = M_{sc} / \rho_{sc}$  - обем на непорьозните груби фрагменти (скелет);  $V$  - общ обем на пробата;  $M_{sc}$  - масата на скелета. Обемната плътност на фината почвена фракция ( $\rho_{bf}$ ) в смеси на почва и фрагменти (камъни) се определя чрез формулата:

$$\rho_{bf} = (M_s - M_{sc}) / (V - V_{sc}) \quad (2)$$

където  $M_s$  - е абсолютно сухата маса на твърдата фаза (фината почва и грубите фрагменти).

Специфичната плътност на ситнозема ( $\rho_{sf}$ ) е определена във вода с пикнометри с вместимост  $100 \text{ cm}^3$ , съгласно ISO 11508:1998.

Съдържанието на общи карбонати в Рендзината е определено газометрично с апарат на Шайблер (Scheibler volumetric method). Почвената реакция във вода е определена по ISO 10390 (2011). Съдържанието на почвения органичен въглерод е определено по модифициран метод на Тюрин (окисление с разтвор на  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 / \text{H}_2\text{SO}_4$  в термостат при  $125^\circ \text{C}$  45 мин., в присъствие на катализатор на  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  и титруване с  $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , индикатор фенилантранилова киселина) (Kononova, 1963; Filcheva & Tsadilas, 2002).

Водозадържащата способност на почвените проби при матричен потенциал  $pF_{1,7}$  и  $pF_{2,0}$  е определена в лабораторни условия с капиляриметър с висящ воден стълб, на който се поставят почвените проби в ненарушено състояние (пръстени от  $100 \text{ cm}^3$ ). Водозадържането при матричен потенциал  $pF_{4,2}$  ( $W_{pF_{4,2}}$  влажност на завяхване) е определено на стрита проба  $< 2 \text{ mm}$  с преса на Ричардс с целофанова мембрана (SME Equipment). При изчисляване на усвояемия воден капацитет е направена корекция за съдържание на скелет

$$AWHC = W_{pF_{2,0}} - W_{pF_{4,2}}^* = W_{pF_{2,0}} - W_{pF_{4,2}} \times (1 - M_{sc} / M_s) \quad (3)$$

Обемът на пори, заети с въздух (AP), при даден потенциал ( $P$ ) се изчислява като разлика между общата порьозност и измерената обемна влажност ( $\theta = W \times \rho_b$ ) при този потенциал.

Определени са следните микробиологични показатели:

1. Численост на микроорганизмите от основни морфологични и физиологични групи (амонифициращи бактерии; бактерии, използващи минерален азот; микроскопични гъби, актиномицети и целулозоразлагащи микроорганизми) – по метода на десетичните разреждания чрез посяване на почвени суспензии на агаризирани хранителни среди (Grudeva et al., 2007). Данните са представени като брой на колонииобразуващите единици (КОЕ), съдържащи се в  $1 \text{ g}$  суха почва.

2. Обща биологична активност (по продукцията на  $\text{CO}_2$ , тириметрично) (Alef & Nannipieri, 1995).

3. Количество на микробиалния биомасен въглерод – по метода на Anderson & Domsh (1978).

4. Активност на ензимите  $\beta$ -глюкозидаза и кисела фосфатаза – по методи на Tabatabai (Alef & Nannipieri, 1995).

Статистическият анализ е извършен със статистически пакет Statgraphics. Извършен е еднофакторен дисперсионен анализ на изследваните показатели за установяване разлики между изследваните обекти в двата почвени слоя. Анализирани са зависимостите между отделните микробиологични показатели, както и връзката им с изследваните физични и химични показатели чрез корелационен и регресионен анализ.

## Резултати и обсъждане

Показателите, характеризиращи физичните и химични условия в изследваните почви, са представени в таблица 2. Според механичния състав Рендзината е с относително по-финочастичен механичен състав, класифициран като Loam (L), със средно съдържание на органичен въглерод,



слабо алкална почвена реакция и с наличие на 2% карбонати в повърхностните слоеве. Останалите три обекта са с по-едрочастичен състав, определящ текстурен клас Sandy Loam (SL), много ниско (<0,6%) съдържание на органичен въглерод (SOC) и от слабо кисела до слабо неутрална почвена реакция (таблица 2). Според съдържанието на глина, четирите обекта се разделят на три групи, съвпадащи с почвения тип. С най-високо съдържание на глина е Рендзината, със средно – двете Излужени Канелени горски почви, а с най-ниско е Алувиално-делувиалната почва (таблица 2). Същата подредба се наблюдава при неусвояемата от растенията вода, задържаща се при потенциал  $rF_{4,2}$  ( $W_{rF_{4,2}}$ ), поради силната връзка на този показател с глината (таблица 2).

Каменистостта в повърхностните почвени слоеве на изследваните почви варира от ниска (<10%w) при плитката Средно излужена Канелена горска почва край с. Вълкосел и в Алувиално-делувиална почва (с. Дъбница) до висока (20-40 тегловни %) в Рендзината (с. Рибново) и в плитката Слабо излужена Канелена горска (с. Абланица) (таблица 2). Малкият обем на пръстените, които бяха използвани – 100 cm<sup>3</sup> занижава действителната оценка за каменистост на полето, защото не може да обхване съдържанието на едрите камъни. Значителното вариране в скелетното съдържание се отразява във вариране на обемната плътност във всеки от обектите и съответно в общата порьозност (таблица 2). Почвообработките също способстват за уеднаквяване на тези показатели. Със статистически значима по-висока плътност и съответно по-ниска обща порьозност се отличават само повърхностния 0-5 cm на Алувиално-делувиалната почва край с. Дъбница. Това се дължи на най-ниското съдържание на органичен въглерод и глина, които възпрепятстват образуването на стабилна структура. Съдържанието на едри пори (>60  $\mu$  m), определени като пори, заети с въздух при воден потенциал  $rF_{1,7}$  (аерационен капацитет) е много високо във всички обекти и предполага висока водопропускливост. С дълбочина личи тенденция за нарастване на обемната плътност и водозадържащата способност на почвата при

изследваните водни потенциали и съответно за намаляване на общата порьозност и аерационния капацитет (таблица 2). По-високата каменистост на почвата в с. Рибница и с. Абланица води до по-нисък капацитет на усвояема вода (AWHC) в слоя 10-15 cm спрямо останалите два обекта (таблица 2).

Разпределението на числеността на микроорганизмите в изследваните обекти в двата повърхностни слоя е представено на фиг. 1. В повърхностния слой 0-5 cm броят на амонифициращите бактерии варира от  $23 \cdot 10^6$  КОЕ/g почва при Средно излужената Канелена горска почва от с. Вълкосел до  $58 \cdot 10^6$  КОЕ/g почва при Рендзината от с. Рибново. Сравнително висок е броят на амонификаторите в Слабо излужената Канелена горска почва от с. Абланица. За всички изследвани почви в слоя 10-15 cm броят на амонифициращите бактерии остава с близки до регистрираните в повърхностния слой стойности, като отново те са най-високи при Рендзината. Както беше посочено при описанието на физичните и химични условия, тази почва е с най-голямо съдържание на органичен въглерод и глина (таблица 2) и е разположена на най-висока надморска височина (таблица 1), което предполага по-хладен климат и по-добра водозапасаеност.

Прави впечатление, че количеството на амонифициращи бактерии е по-високо в почвите с по-висока каменистост. Числеността на бактериите, използващи минерален азот превишава от 2 до 3 пъти тази на амонифициращите бактерии при всички изследвани обекти в двата почвени слоя. Тези резултати доказват, че в изследваните почви в началото на есенния сезон, когато е извършено пробовземането, процесите на имобилизация на минералния азот доминират над процесите на минерализация на азотсъдържащите органични съединения. Имобилизацията на минералния азот в микробиалната биомаса след приключване вегетацията на растенията е полезен процес, тъй като чрез нея се предотвратява измиването му с дъждовните води. След минерализация на мъртвите микробни клетки азотът и другите биогенни елементи, включени в тяхната

биомаса, отново преминават в достъпна за растенията форма.

Актиномицетите участват в разграждането на по-трудно усвоимите от микроорганизмите съединения (включително и почвения хумус). Броят на тази група микроорганизми е сравнително висок и в двата почвени слоя за всички изследвани обекти. За повърхностния слой 0-5 cm тези стойности са най-високи при Алувиално-делувиалната почва (D), а за слоя 10-15 cm - при Слабо излужената Канелена горска почва (A). Числеността на микроскопичните гъби приема близки стойности за отделните почви и в двата изследвани почвени слоя – от 8 до  $20 \cdot 10^3$  КОЕ/g. За повърхностния слой не са получени доказани разлики между обектите, а за слоя 10-15 cm статистически доказана е по-ниската численост на микроскопичните гъби при Алувиално-делувиалната почва (D). Това съвпада с установения най-нисък аерационен капацитет. Целулозоразлагащите микроорганизми са с най-висока популационна плътност в повърхностния слой на Алувиално-делувиалната почва (A), следвани от Рендзината (R). В тези почви числеността им остава по-висока и в слоя 10-15 cm в сравнение с двете изследвани плитки Канелени горски почви (V, A). Установените различия в броя на микроорганизмите от изследваните основни групи е възможно да се дължат освен на различните физични условия на изследваните скелетни почви, така и на различен по сила алелопатичен ефект, свързан с натрупване на никотин в почвата при продължително монокултурно отглеждане на тютюн. В България традиционно тютюнът се отглежда като монокултура върху ерозирани ниско плодородни планински и полупланински почви, неподходящи за отглеждането на други култури (Hristeva, 2016). Установено е, че никотинът оказва подтискащо влияние върху голям брой видове почвени микроорганизми (Lisuma et al., 2019). Освен това, освобождаването на никотин в ризосферата на растенията повлиява разтворимостта на някои елементи като P, K, S, Mg, което променя условията за развитие на микроорганизмите (Lisuma et al., 2020).

Общата биологична активност (продукция на

CO<sub>2</sub>) е интегрален показател за интензивността на минерализация на органичната материя в почвата. Доказано по-високи стойности в сравнение с двете плитки Канелени горски почви са получени при Рендзината (R) (10,61 mg CO<sub>2</sub>/100 g/24 h) и Алувиално-делувиалната почва (A) (10,53 mg CO<sub>2</sub>/100 g/24 h) (таблица 3). Регистрираните стойности на този показател са близки до получените от Hristeva (2016) данни за Излужени Канелени горски почви от Благоевградска област, на които се отглежда тютюн. Продукцията на CO<sub>2</sub> на двете плитки Канелени горски почви е в границите на 7,5 -7,9 mg CO<sub>2</sub>/100 g/24 h.

Количеството на микробиалния биомасен C е най-високо при Рендзината (R) и в двата почвени слоя (съответно 26,4 и 23,6 mg C/100 g) (таблица 3). Алувиално-делувиалната почва (D) и Слабо излужената Канелена горска почва (A) се характеризират със сравнително високи стойности на този показател в слоя 0-5 cm. Най-ниски стойности са получени за Средно излужената Канелена горска почва (V) за двата почвени слоя. Количеството на микробиалния биомасен C и продукцията на CO<sub>2</sub> за Рендзината (R) в двата почвени слоя са близки, докато при останалите изследвани почви те намаляват двукратно в по-ниско разположения слой (таблица 3). Тези резултати доказват по-високата микробиологична активност на Рендзината по дълбочина на почвения слой до 15 cm в сравнение с останалите изследвани почви.

β-Глюкозидазата участва в крайните етапи от трансформацията на целулозата в почвата (превръщането на целобиозата в глюкоза). Активността на този ензим е по-висока при почви, съдържащи лесноразлагаща се органична материя (Stege et al., 2010). Scott et al. (2010) предлагат β-глюкозидазната активност като показател за качеството на почвата. От таблица 3 се вижда, че като цяло, тя приема ниски стойности при всички изследвани обекти като максималните са 2,02 μg NP/g/h. И в двата почвени слоя β-глюкозидазната активност е по-висока при Алувиално-делувиалната почва (D) и Рендзината (R). Тези данни са еднопосочни с по-високата численост на целулозоразлагащите

микроорганизми при посочените почви (фиг. 1). Плитките Излужени Канелени горски почви са със статистически доказана по-ниска активност. Получените стойности за  $\beta$ -глюкозидазната активност на Рендзината (R) и Алувиално-делувиалната почва са близки (D) до данните на Perfanova et al. (2020) за активността на същия ензим в недоразвити Канелени горски почви под тревна растителност.

Фосфатазите катализират разграждането на някои органични съединения на фосфора (глицерофосфати, захарофосфати), които представляват от 30 до 70% от общите запаси на фосфор в почвата. Тъй като неорганичните съединения на фосфора се отличават с ниска разтворимост, превръщането на фосфора от органична в неорганична форма е от важно значение за храненето на растенията. В двата изследвани почвени слоя активността на киселата фосфата е най-висока при Алувиално-делувиалната почва (D), следвана от Рендзината (R). Средно излужената Канелена горска почва от Вълкосел (V) е с близки стойности на изследвания показател до тези на Рендзината. Подобни резултати за активността на киселата фосфатаза са получени от Nedyalkova et al. (2013) за неерозирани и слабо ерозирани Канелени горски почви от Софийска област. Двукратно по-ниски са стойностите при Слабо излужената Канелена горска почва в Абланица (A), където те са съответно 0,98 и 1,38  $\mu\text{g NP/g/h}$  за двата почвени слоя.

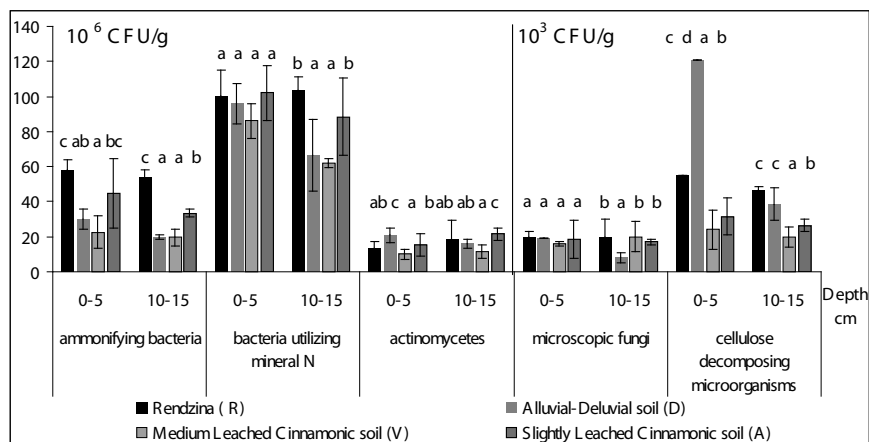
Зависимостите между микробиологичните показатели и на тези показатели с част от физичните и химичните са анализирани чрез корелационни коефициенти (таблици 4 и 5) и чрез линейни регресионни зависимости (фиг. 2). Установена е положителна корелация между броят на целулозоразлагащите микроорганизми и  $\beta$ -глюкозидазната активност ( $r = 0,77$ ) (таблица 4). Положителна е и корелацията на количеството на микробиалния биомасен C с продукцията на  $\text{CO}_2$  ( $r = 0,71$ ), с числеността на амонифициращите бактерии ( $r = 0,84$ ) и на бактериите, използващи минерален азот ( $r = 0,71$ ). Множествена линейна регресионна зависимост със статистически доказани коефициенти е получена между количеството на микробиалния биомасен C ( $C_{mic}$ ,  $\text{mg}/100\text{ g}$ ) и броя на амонифициращите бактерии ( $X_1$ ,  $10^6\text{ КОЕ g}^{-1}$ ) и  $\beta$ -глюкозидазната активност ( $X_2$ ,  $\mu\text{g NP/g/h}$ ):

$$C_{mic} = 1,03 + 0,37 \times X_1 + 2,92 \times X_2,$$

$$R^2 = 78,9\% (R^2_{adj} = 75,6\%), \text{SEE} = 3,11 \text{ mg}/100 \text{ g}$$

Включването на  $\beta$ -глюкозидазната активност, като втора независима променлива, подобрява оценката на микробиалния въглерод в сравнение с проста регресия само от амонифициращите бактерии (фиг. 2).

Количеството на микробиалния биомасен C нараства с нарастване на рН, съдържанието на общ органичен C (SOC), глината и праха и



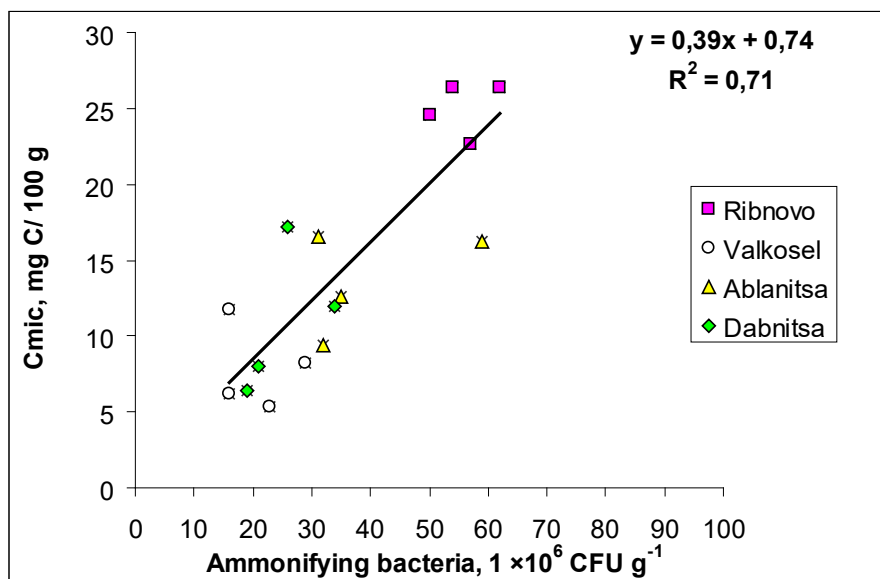
Фиг. 1. Численост (КОЕ/г) на микроорганизмите в изследваните почви.

\*Стойностите при отделните групи стълбчета, обозначени с различни букви се различават при ниво на вероятност  $p \leq 0,05$

Fig. 1. Number (CFU/g) of the microorganisms in the studied soils.

\*Values above the bars, followed by different letters are significantly different at  $p \leq 0.05$

намалява с увеличаване на пясъка (таблица 5). прах (таблица 5).  
 Активността на двата изследвани ензима е в  
 положителна корелация с  $\theta_{pF1,7}$  - обем на пори,  
 заети с вода при  $pF1,7$  и със съдържанието на



**Фиг. 2.** Зависимост на микробния биомасен С от числеността на амонифициращите бактерии  
**Fig. 2.** Relationship between microbial biomass C content and the number of ammonifying bacteria

**Таблица 1.** Описание на местоположението на обектите на изследване и наименования на почвените различия

**Table 1.** Description of site location and classification of soil varieties

Обект/Site	Г.Ш.; Г.Д.; Н. в, m Lat.; Long.; Altitude, m	Почвено различие/Soil variety	
		Национална класификация/National classification	WRB, 2015
Рибново Ribново (R)	41,726N; 23,762E; 1175	Рендзина, плитка, средно и силно ерозирана/Rendzina, shallow, moderately and strongly eroded	Eutric Leptic Cambisols (Humic, Loamic, Protocalcic)
Вълкосел Valkosel (V)	24,000N; 41,529E; 793	Средно излужени Канелени горски почви, плитки, слабо и средно ерозирани/ Shallow, Moderately leached Cinnamonic forest soil, slightly and moderately eroded	Eutric Leptic Cambisols (Loamic, Ochric)
Абланица Ablanitsa (A)	41,546N; 23,918E; 671	Слабо излужени Канелени горски почви, плитки, слабо ерозирани/ Slightly leached Cinnamonic forest soil, shallow, slightly eroded	Eutric Leptic Cambisols (Loamic, Ochric)
Дъбница Dabnitsa (D)	41,569N; 23,807E; 514	Алувиално-делувиална, слабо мощна/Alluvial-Deluvial soil	Eutric Fluvisol (Loamic, Ochric)



**Таблица 2.** Основни характеристики на изследваните повърхностни почвени слоеве в ниви с тютюн край с. Рибново (R), Вълкосел (V), Абланица (A) и Дъбница (D) в района на Гоце Делчев  
**Table 2.** Main characteristics of the studied surface soil layers in tobacco fields near the villages of Ribnovo (R), Valkosel (V), Ablanitsa (A) and Dabnitsa (D) in the region of the town of Gotze Delchev

Показатели/ Parameters	Дълбочина/ Depth, cm	(R)	(V)	(A)	(D)	НМДП LSD p<0,05
SOC, %	0-5	1,47	0,52	0,40	0,29	
pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	0-15	7,9a	5,7c	5,9c	6,4b	0,2
Маса на скелета (Msc), % тегловен Mass of coarse fragments, %w	0-15	21a	8b	18a	6b	5
Обем на скелета (Vsc), % обмен Volume of coarse fragments, %vol.	0-15	10a	4b	10a	3b	2
Пясък Sand (2000-63 μm), %	0-15	41a	62b	59b	54b	11
Праx Silt (63-2 μm), %	0-15	36a	20b	24b	33a	8
Глина Clay (<2 μm), %	0-15	22a	18b	17b	12c	4
Текстурен клас Texture class	0-15	L	SL	SL	SL	
Обемна плътност (ρ <sub>v</sub> ), g.cm <sup>-3</sup>	0-5	1,26a	1,27ab	1,32ab	1,38b	0,11
Soil bulk density, g.cm <sup>-3</sup>	10-15	1,33a	1,44a	1,41a	1,46a	0,14
Обща порьозност (φ), %обмен	0-5	52,7a	52,8a	51,0ab	48,4b	4,0
Total porosity, %volume	10-15	50,2a	47,0a	47,7a	45,5a	5,2
Пори заети с въздух при pF1.7 (φ-θ <sub>pF1.7</sub> ), %обмен	0-5	23,6ab	25,5ab	26,3b	18,7a	7,5
Air filled pores at pF1.7, %volume	10-15	18,7a	16,8a	20,5a	13,9a	7,0
Обемна влажност при pF1.7 (θ <sub>pF1.7</sub> ), %обмен	0-5	29,1ab	27,4ab	24,6b	29,6a	4,7
Water content at pF1.7, %volume	10-15	31,5a	30,2ab	27,2b	31,6a	3,4
Усвояем воден капацитет (AWHC), %тегловен	0-5	10,3a	10,2a	10,2a	11,2a	1,1
Available water holding capacity, %w	10-15	12,3a	14,7b	12,1a	13,4ab	1,4
W <sub>pF4.2</sub> , %w	0-5	10,4a	8,4b	7,8b	5,2c	0,9
Water content at pF4.2, %w	10-15	11,2a	8,7b	8,5b	5,6c	1,1

**Таблица 3.** Обща биологична активност, количество на микробиалния биомасен въглерод и ензимна активност на изследваните почви

**Table 3.** Total biological activity, amount of microbial biomass C and enzyme activity of the studied soils

Показатели/ Parameters	Дълбочина/ Depth, cm	Рендзина/ Rendzina (R)	Плитка, средно излужена канелена/ Shallow, Moderately leached Cin- namonic soil (V)	Плитка, слабо излужена канелена/ Shallow, Slightly leached Cinnamonic soil (A)	Алувиално- делувиално ливадна/ Alluvial-Delu- vial soil (D)	НМДР LSD $p \leq 0,05$
Продукция на CO <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> evolution (mg/100g/24 h)	0-5	10,61b	7,56a	7,90a	5,47b	1,02
	10-15	9,30c	3,36a	3,96a	10,53b	2,61
Количество на микроби- алния биомасен C Microbial biomass C content (mg/100 g )	0-5	26,40c	9,89a	16,38b	14,58b	2,96
	10-15	23,60c	5,78a	10,98b	7,18a	1,97
β-глюко- зидазна активност β-glucosidase activity (μg NP/g/h)	0-5	0,99b	0,38ab	0,22a	2,02c	0,62
	10-15	1,50b	0,25a	0,18a	1,12b	0,42
Кисела фосфа- тазна активност Acid phos- phatase activity (μg NP/g/h)	0-5	2,04b	2,05b	0,98a	3,32c	0,70
	10-15	2,92b	2,60b	1,38a	3,86c	0,63

\*Стойностите във всеки ред, обозначени с различни букви се различават при ниво на вероятност  $p \leq 0,05$

\*Values in each row, followed by different letters are significantly different at  $p \leq 0,05$

**Таблица 4.** Коефициенти на корелация (r) между микробиологичните показатели за двата слоя  
**Table 4.** Correllation coefficients (r) among microbiological parameters for both soil layers

Показатели/ Parameters	Продукция на CO <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> evolution	β-глюко- зидазна активност β-glucosidase activity	Активност на кисела фосфатаза Acid phosphatase activity	КОЕ на амонифициращи бактерии CFU of ammonifying bacteria	КОЕ на бактерии, използващи минерален N CFU of bacteria utilizing mineral N	КОЕ на микроскопични гъби CFU of microscopic fungi	КОЕ на актиномицети CFU of actinomycetes	КОЕ на целулозо- разлагащи микро- органи- зми CFU of cellulose decom- posting micro- organisms
Продукция на CO <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> evolution	1	0,54 <sup>+</sup>	0,01	0,64 <sup>++</sup>	0,59 <sup>++</sup>	-0,02	0,23	0,65 <sup>++</sup>
Съдържание на микробнален С Microbial biomass С	0,71 <sup>+++</sup>	0,40	-0,15	0,84 <sup>+++</sup>	0,71 <sup>++</sup>	0,17	0,34	0,29
β-глюко- зидазна активност β-glucosidase activity	0,54 <sup>+</sup>	1	0,72 <sup>++</sup>	0,14	0,27	0,43	0,08	0,77 <sup>+++</sup>
Активност на кисела фосфатаза Acid phosphatase activity	0,01	0,72 <sup>++</sup>	1	-0,31	-0,31	0,12	-0,20	0,40

+p≤0,05; ++p≤0,01; +++p≤0,001; p- статистическа значимост на коефициентите; p- statistical significance of the coefficients

**Таблица 5.** Коефициенти на корелация между някои микробиологични (C mic, активност на кисела фосфатаза), химични (C org, pH<sub>(H2O)</sub>) и физични (clay, silt, sand, total porosity Pt, обем пори, заети с вода при потенциал pF 1,7 и pF 4,2) показатели

**Table 5.** Correlation coefficients among some microbiological (microbial C, acid phosphatase activity), chemical (Corg, pH<sub>(H2O)</sub>) and physical parameters (clay, silt, sand, total porosity, water content (θ, vol.) at pF 1.7 and 2.0)

Показатели/ Parameters	Органичен C/ Organic C	pH (H <sub>2</sub> O)	Глина Clay	Прах Silt	Пясък Sand	Обща порьозност Total porosity (Pt)	Обем пори заети с вода при pF = 1,7 Water content (vol.) stored at pF 1,7 θ <sub>pF1.7</sub>	Обем пори заети с вода при pF = 2,0 Water content (vol.) stored at pF 2,0 θ <sub>pF2.0</sub>
Количество на микробиален C Amount of microbial C	0,85 <sup>++</sup>	0,86 <sup>+++</sup>	0,74 <sup>++</sup>	0,62 <sup>+</sup>	-0,80 <sup>+++</sup>	0,29	0,13	0,28
β-глюкозидазна активност β-glucosidase activity	0,28	0,64	0,01	0,84 <sup>+++</sup>	-0,66 <sup>+</sup>	-0,36	0,81 <sup>+++</sup>	-0,04
Активност на кисела фосфатаза Acid phosphatase activity	0,21	0,27	-0,31	0,62 <sup>+</sup>	-0,35	-0,42	0,79 <sup>+++</sup>	-0,04

\* за повърхностния 0-5 cm слой

\*for surface soil layer 0-5 cm

+p≤0, 05; ++p≤0,01; +++p≤0,001; p- статистическа значимост на корелационните коефициенти

p- statistical significance of the correlation coefficients

## Заклучение

Направена е характеристика на микробиологични и физични свойства на каменисти почви при отглеждане на тютюн в района на гр. Гоце Делчев. Чрез статистически анализ на избрани показатели е оценено влиянието на проучените физичните и химични свойства върху микробиологичните. Изследваните почви се различават по механичен състав, степен на каменистост, водно-физични свойства и надморска височина. Установено е, че скелетните почви се характеризират с близка структура на микробиалните популации и доминиране на процесите на имобилизация на азотните органични съединения, но се различават по микробиологичната си активност. Амонифициращите бактерии са с по-голяма численост в почвите с по-висока каменистост (Рендзината и Слабо излужената Канелена горска почва). Високите стойности на числеността на целулозоразлагащите микроорганизми, продукцията на  $\text{CO}_2$  и  $\beta$ -глюкозидазната активност при Рендзината и Алувиално-делувиалната почва доказват по-интензивната минерализация на органичната материя в тези почви в сравнение с Излужените Канелени горски почви. Количеството на микробиалният биомасен C е в положителна корелация с голям брой изследвани показатели – продукцията на  $\text{CO}_2$ , числеността на бактериите, рН, съдържанието на глина и пясък. Активността на  $\beta$ -глюкозидазната активност и киселата фосфатаза са в положителна корелация с обема на пори, заети с вода при потенциал рF1,7 и съдържанието на прах.

**Благодарности** Изследванията са извършени с подкрепата на ФНИ, МОН по договор № КП-06 Н 36/12 от 2019 г.

## Литература

- Alef, K., & Nannipieri, P. (Eds.). (1995). *Enzyme Activities. Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press.
- Anderson, J. P., & Domsch, K. H. (1978). A physiological method for the quantitative measurement of

microbial biomass in soils. *Soil biology and biochemistry*, 10(3), 215-221.

Bending, G. D., Turner, M. K., Rayns, F., Marx, M. C., & Wood, M. (2004). Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(11), 1785-1792.

Carson, J. K., Gonzalez-Quiñones, V., Murphy, D. V., Hinz, C., Shaw, J. A., & Gleeson, D. B. (2010). Low pore connectivity increases bacterial diversity in soil. *Applied and environmental microbiology*, 76(12), 3936-3942.

Chow, T. L., Rees, H. W., Monteith, J. O., Toner, P., & Lavoie, J. (2007). Effects of coarse fragment content on soil physical properties, soil erosion and potato production. *Canadian Journal of Soil Science*, 87(5), 565-577.

Christensen, B. T., & Olesen, J. E. (1998). Nitrogen mineralization potential of organomineral size separates from soils with annual straw incorporation. *European Journal of Soil Science*, 49(1), 25-36.

FAO (2006). *Guidelines for Soil Description. Fourth ed. Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome. p 97.

Filcheva, E. G., & Tsadilas, C. D. (2002). Influence of clinoptilolite and compost on soil properties. *Communications in soil science and plant analysis*, 33(3-4), 595-607.

Grudeva, V., P. Moncheva, Sv. Naumova, B. Gocheva, T. Nedeva, S. Antonova-Nikolova. (2007). *Handbook on Microbiology*, Saint Kliment Ohridski University Ed., Sofia.

Hamarashid, N. H., Othman, M. A., & Hussain, M. A. H. (2010). Effects of soil texture on chemical compositions, microbial populations and carbon mineralization in soil. *Egypt. J. Exp. Biol. (Bot.)*, 6(1), 59-64.

Hassink, J. (1994). Effect of soil texture on the size of the microbial biomass and on the amount of C and N mineralized per unit of microbial biomass in Dutch grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(11), 1573-1581.

Hemkemeyer, M., Christensen, B. T., Martens, R., & Tebbe, C. C. (2015). Soil particle size fractions harbour distinct microbial communities and differ in potential for microbial mineralisation of organic pollutants. *Soil Biology and Biochemistry*, 90, 255-265.

Hemkemeyer, M., Dohrmann, A. B., Christensen, B. T., & Tebbe, C. C. (2018). Bacterial preferences for specific soil particle size fractions revealed by community analyses. *Frontiers in microbiology*, 9, 149. doi.10.3389/fmicb.2018.00149.

Hristeva, T. (2016). Processes of mineralization and biological activity in soils with monoculture oriental tobacco at region Blagoevgrad. *Pochvoznanie, agrokhimiya i ekologiya/Bulgarian Journal of Soil Science, Agrochemistry and Ecology*, 50(2), 35-49.

ISO 10390 (2011). *Soil Quality. Determination of pH*.

ISO 11277 (2009). *Soil Quality. Determination of particle size distribution in mineral soil material. – Method by*



sieving and sedimentation. Second edition.

**ISO 11508** (1998). *Soil quality. Determination of particle density*.

**Kononova, M.** (1963). *Soil Organic Matter*. AN SSR, Moskva (Ru).

**Lisuma, J. B., Mbega, E. R., & Ndakidemi, P. A.** (2019). Influence of nicotine released in soils to the growth of subsequent maize crop, soil bacteria and fungi. *International Journal of Agriculture and Biology*, 22(1), 1-12, doi.10.17957/IJAB?15.1026.

**Lisuma, J., Mbega, E., & Ndakidemi, P.** (2020). Influence of tobacco plant on macronutrient levels in sandy soils. *Agronomy*, 10(3), 418, doi.10.3390/agronomy10030418.

**McKenzie, N., Coughlan, K., & Cresswell, H.** (2002). *Soil physical measurement and interpretation for land evaluation (Vol. 5)*. Csiro Publishing.

**Müller, T., & Höper, H.** (2004). Soil organic matter turnover as a function of the soil clay content: consequences for model applications. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(6), 877-888.

**Nacro, H. B., Benest, D., & Abbadie, L.** (1996). Distribution of microbial activities and organic matter according to particle size in a humid savanna soil (Lamto, Côte d'Ivoire). *Soil Biology and Biochemistry*, 28(12), 1687-1697.

**Nedyalkova, K., Donkova, R., & Petkova, G.** (2013). Phosphatase activity of eroded (arable and virgin) soils. *Journal of Balkan Ecology*, 16(4), 367-373.

**Perfanova, J., Nedyalkova, K., & Donkova, R.** (2020). Microbiological Properties of Soils from Mountain Areas. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 23(6), 292-304.

**Schoter, M., Nannipieri, P., Sorensen, S., & J. van Elsas.** (2018). Microbial Indicators for Soil Quality. *Biology and Fertility of Soils*, 54, 1-10.

**Stege, P. W., Messina, G. A., Bianchi, G., Olsina, R. A., & Raba, J.** (2010). Determination of  $\beta$ -glucosidase Activity in Soils with a Bioanalytical Sensor Modified with Multiwalled Carbon Nanotubes. *Anal. Bioanal. Chem.*, 397(3), 1347-1353, doi.10.1007/s00216-010-3634-7.

**Scott, D. E., Andrews, S. S., Liebig, M. A., Wienhold, B. J., & Karlen, D. L.** (2010). Evaluation of  $\beta$ -glucosidase activity as a Soil Quality Indicator for the Soil Management Assessment Framework. *Soil Science Society of America Journal*, 74(1), 107-119.

**Tecon, R., & Or, D.** (2017). Biophysical processes supporting the diversity of microbial life in soil. *FEMS microbiology reviews*, 41(5), 599-623, <https://doi.org/10.1093/femsre/fux039>.

**Terres, J. M., Toth, T., Wania, A., Hagyo, A., Koeble, R., & Nisini, L.** (2016). Updated guidelines for applying common criteria to identify agricultural areas with natural constraints. *Joint Research Centre Technical Report*; doi.10.2788/130243.

**Zaprianova, P.** (2006). Soil and Climatic Characteristics of Oriental Tobacco Growing Areas. *Ecology and Future, Journal of Agricultural Science and Forest Science*, 2, 68-76.