

Влияние на микробиални торове върху микробиологично и ензимно разграждане на въглехидрати в агрогенна почва

Бойка Малчева

Лесотехнически университет, София

E-mail: Boika.Malcheva@gmail.com

Резюме

Експериментът анализира влиянието на различни по състав микробиални торове върху микрофлората и активността на ензими, разграждащи въглехидрати в агрогенна почва. Биогенността на заложените варианти се повишава след наторяване в сравнение с неторена проба. Общото количество микроорганизми е по-високо при използване на комбинираните микробиални торове, съдържащи различни групи микроорганизми в сравнение с торът, който съдържа един бактериален вид. Минерализационната активност обаче е по-ниска при вариантите с комбинираните торове. Основен дял в състава на общата микрофлора заемат неспоробразуващите бактерии и бацилите, а най-слабо представени са актиномицетите и микромицетите. Комбинираните микробиални торове повишават в по-висока степен активността на амилазата, целулазата и инвертазата отколкото микробиалният тор съдържащ един вид бацил. Противоположна тенденция се установява при каталазната активност. Активностите на ензимите се повишават с нарастване на времето на действие на торовете. Корелационната зависимост между общата микрофлора и ензимите е много силна (амилаза, целулаза, инвертаза) и силна (каталаза) при всички варианти. Изследваните микробиологични и биохимични показатели могат да бъдат използвани като чувствителни биоиндикатори за определяне влиянието на микробиални торове при разграждането на въглехидрати в различен тип почви.

Ключови думи: микробиални торове; почвена микрофлора; ензими; въглехидрати

Influence of microbial fertilizers on microbiological and enzymatic decomposition of carbohydrates in agrogenic soil

Boyka Malcheva

University of Forestry, Sofia, Bulgaria

E-mail: Boika.Malcheva@gmail.com

Citation

Malcheva, B. (2021). Influence of microbial fertilizers on microbiological and enzymatic decomposition of carbohydrates in agrogenic soil. *Rastenievadni nauki*, 58(3) 95-103 (Bg).

Abstract

Experiment analyzed the influence of microbial fertilizers of different composition on the microflora and the activity of carbohydrate-degrading enzymes in agrogenic soil. Biogenicity of the analyzed variants increases after fertilization compared to the unfertilized sample. The total amount of microorganisms is higher when using combined microbial fertilizers containing different groups of microorganisms compared to the fertilizer, which contains one bacterial species. However, the mineralization activity is lower in the variants with the combined fertilizers. The main share in the composition of the total microflora is occupied by non-spore-forming bacteria and bacilli, and the least represented are actinomycetes and micromycetes. Combined microbial fertilizers increase the activity of amylase, cellulase and invertase to a higher degree than microbial fertilizers containing one type of bacillus. The opposite tendency is found for catalase activity. The activities of the enzymes increase

during the action of the fertilizers. The correlation between the total microflora and the enzymes is very strong (amylase, cellulase, invertase) and strong (catalase) in all variants. The studied microbiological and biochemical indicators can be used as sensitive biomarkers to determine the influence of microbial fertilizers on the decomposition of carbohydrates in different types of soils.

Key words: microbial fertilizers; soil microflora; enzymes; carbohydrates

ВЪВЕДЕНИЕ

Торенето е ключов фактор за поддържане на производителността в агроecosystemите. Микробиалните торове представляват биопрепарати съдържащи определен вид микроорганизъм или съвкупност от полезни микроорганизми с доказани качества за повишаване на почвеното плодородие. Освен това те подобряват усвояването на минералните елементи от растенията и съответно повишават тяхното качество и добив.

Различни микробни съобщества са отговорни за протичащите специфични процеси при разлагането на органичната маса в почвата. Бактериите доминират в началните фази на разлагане на растителните остатъци, докато гъбите преобладават през по-късни фази (Marschner et al., 2011) и са важен източник на почвени ензими (Cusack et al., 2011). Stefanova & Petrov (2019) установяват, че в началните етапи на формиране на микробоценоза основен дял заемат неспоробразуващите бактерии. Неспоробразуващите аеробни и анаеробни бактерии играят основна роля за разграждане на зелени отпадъци в отделните фази на компостирането им (Malcheva et al., 2018; Kostadinova & Dyakov, 2019). Тези тенденции се установяват и при почви след торене с неорганични или органични препарати, или комбинирано торене (Plamenov et al., 2016; Yankova et al., 2016; Malcheva et al., 2018; Malcheva et al., 2019; Malcheva et al., 2020a).

Почвените извънклетъчни ензими (предимно хидролази и оксидоредуктази) се синтезират и секретират от почвените микроорганизми и те са агенти за създаване и разлагане на органичен материал (Tiemann et al., 2011; Burns et al., 2013). Измерени дейности на такива ензими отразяват интензивността и посоката на различни биохимични процеси в почвената среда и може да се използват за оценка на микробните нужди от хранителни вещества и като чувствителни

индикатори за настъпващи промени в агроecosystemата (Wang et al., 2015, Li et al., 2017).

Торенето само с неорганични торове има различно въздействие върху ензимите, които участват в трансформацията на въглерода в почвата – например внасянето на урея увеличава стойностите на ензимите α -галактозидаза и β -галактозидаза, но намалява активността на α -глюкозидаза и β -глюкозидаза Zhang et al. (2015). Прилагането на комбинирани органични и неорганични торове стимулира активността на глюкозидазите, а използването на неорганичен тор инхибира активността на арилсулфатази (Holík et al., 2019). Комбинираното торене с органични и неорганични торове увеличава активност на ензимите дехидрогеназа, алкална фосфатаза, целулаза, целобиаза и уреаза в сравнение с почвите, които се наторяват само с органични торове Gaiнд & Nain (2012). Според Samuel et al. (2008) органичното торене води до по-значително повишаване на активността на ензимите дехидрогеназа и каталаза в сравнение с внасяне на неорганични торове. Подобни резултати се отчитат и от някои други изследователи (Mandal et al., 2007; Garg & Bahl, 2008), които обаче са установили повишена ензимна активност на почвата при комбинирано приложение на органични и неорганични торове. В предходно изследване (Naskova et al., 2016) се установи, че активността на ензима каталаза е най-висока при комбинираното торене на няколко органични тора или органичен и неорганичен тор в сравнение с почвите, при които се използва един торов продукт и неторените контролни проби. Докато целулазната активност се увеличава най-силно след приложението на микробиален тор съдържащ един микробен вид – *Bacillus sp.* – два пъти спрямо контролата. Във фазите на компостиране на растителни остатъци и заешки тор активностите на ензимите целулаза, амилаза, инвертаза

(целулаза>амилаза>инвертаза) и каталаза са в зависимост от активността на микроорганизмите, които формират микробна биомаса въглерод (Malcheva et al., 2020b).

Целта на изследването е анализиране в динамика на микробното и ензимно разграждане на въглехидрати в агрогенна почва след наторяване с микробиални препарати, съдържащи различни групи микроорганизми, при опитна постановка в оранжерийни условия.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Използвана е агрогенна почва, неторена, с глинесто-песъчлив механичен състав, от района на град Елин Пелин. Пробите са заложени в пластмасови съдове с вместимост 1,0 l (1 kg почва), при оранжерийни условия, наторявани еднократно с течни микробиални торове, доза: 50 ml/l от воден разтвор на препаратите (разреждане 1:10). Вариантите са следните:

- ▶ Контрола – без торене;
- ▶ Микробиален тор 1 (бактерии - *Bacillus sp.*);
- ▶ Микробиален тор 2 (плесенни гъби - *Chaetomium sp.*, *Farrowia sp.*, *Trichoderma sp.*, *Trichoderma sp.* и др.; бактерии (*Bacillus sp.*);
- ▶ Микробиален тор 3 (млечнокисели бактерии, дрожди, актиномицети, плесенни гъби – *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*).

Анализите са проведени в динамика на 30-ти и 90-ти ден след залагане на опита. Проследявана е влажността и температурата на почвата, като показатели, от които развитието и активността на почвените микроорганизми зависи силно. Определянето на почвената влажност е необходимо и за преизчисляване на микробиологичните резултати към 1 g абсолютно сухо тегло. За да се проследи влиянието на микробиалните торове върху активната реакция на почвата стойностите на рН също са проследявани в динамика.

За микробиологичния анализ е използван методът на разреждане и трикратна посевка на твърди хранителни среди с последващо отчитане на колониеобразуващи единици (КОЕ) в 1 g абс. суха почва (Mishustin & Emtsev, 1989). Определени са систематични и физиологични групи аеробни микроби – бацили и неспорообразу-

ващи 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; Malcheva & Naskova, 2018; Nustorova & Malcheva, 2020).

Целулазната, амилазната и инвертазната активности са определени чрез спектрофотометричен метод (Gradova et al., 2004).

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

Почвената влажност е определена на влагомерна везна.

Температурата на почвата е проследявана с температурна сонда.

Активната реакция на почвата е определяна потенциометрично, с рН метър, във воден извлек.

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: обща микрофлора, минерализационен коефициент, целулаза, амилаза, инвертаза и каталаза. За статистическата обработка е използвана програмата MS-Excel 2010.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Активната реакция на почвените варианти се повишава от 6,85 преди торене до 7,50 след наторяване. Не се установява значима разлика при повишаване на рН след торене в резултат на приложението на отделните торови варианти, която да окаже влияние върху развитието и активността на почвените микроорганизми. Заложените варианти са поддържани с постоянен влажностен и температурен режим. Почвената влажност варира в границите 24-26%, а температурата на почвата от 20 °C до 22 °C за целия период на изследване.

Биогеността на изследваните варианти е различна, нарастваща в периодите на изследване, и е представена на следващата Таблица 1.

Таблица 1. Количество на почвените микроорганизми ($\times 10^3$ КОЕ/g абс. суха почва)
Table 1. Quantity of soil microorganisms ($\times 10^3$ cfu/g abs. dry soil)

Вариант/ Variant	Неспоро- образуващи бактерии/ Non-sporo- forming bacteria	Бацили/ Bacillus	Микромицети/ Micromycetes	Актиномицети/ Actinomycetes	Бактерии, усвояващи минерален азот/ Bacteria absorb mineral N	Обща микрофлора/ Total microflora	Минерализационен коэффициент/ Mineralization coefficient
30-ти ден – средна стойност \pm коэффициент на вариация; (относителен дял, %)/ 30th day – average value \pm coefficient of variation; (relative share, %)							
Контрол/ Control	2360 \pm 0,021 (52,0)	2000 \pm 0,016 (44,1)	100 \pm 0,000 (2,2)	80 \pm 0,204 (1,8)	3480 \pm 0,047	4540	0,80
Микробиален топ 1 Microbial fertilizer 1	2560 \pm 0,019 (49,2)	2400 \pm 0,034 (46,2)	120 \pm 0,136 (2,3)	120 \pm 0,000 (2,3)	4320 \pm 0,023	5200	0,87
Микробиален топ 2 Microbial fertilizer 2	3220 \pm 0,310 (57,5)	2060 \pm 0,050 (36,8)	180 \pm 0,091 (3,2)	140 \pm 0,117 (2,5)	4040 \pm 0,049	5600	0,77
Микробиален топ 3 Microbial fertilizer 3	3360 \pm 0,069 (58,9)	2020 \pm 0,029 (35,4)	160 \pm 102 (2,8)	160 \pm 0,204 (2,8)	4060 \pm 0,040	5700	0,75
90-ти ден – средна стойност \pm коэффициент на вариация; (относителен дял, %)/ 90th day – average value \pm coefficient of variation; (relative share, %)							
Контрол/ Control	2380 \pm 0,021 (51,7)	2020 \pm 0,032	100 \pm 0,163 (2,2)	100 \pm 0,327 (2,2)	3520 \pm 0,051	4600	0,80
Микробиален топ 1 Microbial fertilizer 1	2680 \pm 0,058 (48,0)	2620 \pm 0,025	140 \pm 0,117 (2,5)	140 \pm 0,233 (2,5)	4480 \pm 0,055	5580	0,85
Микробиален топ 2 Microbial fertilizer 2	3400 \pm 0,024 (58,0)	2080 \pm 0,047	220 \pm 0,148 (3,8)	160 \pm 0,102 (2,7)	4320 \pm 0,060	5860	0,79
Микробиален топ 3 Microbial fertilizer 3	3640 \pm 0,031 (60,1)	2040 \pm 0,029	200 \pm 0,082 (3,3)	180 \pm 0,181 (3,0)	4120 \pm 0,067	6060	0,73

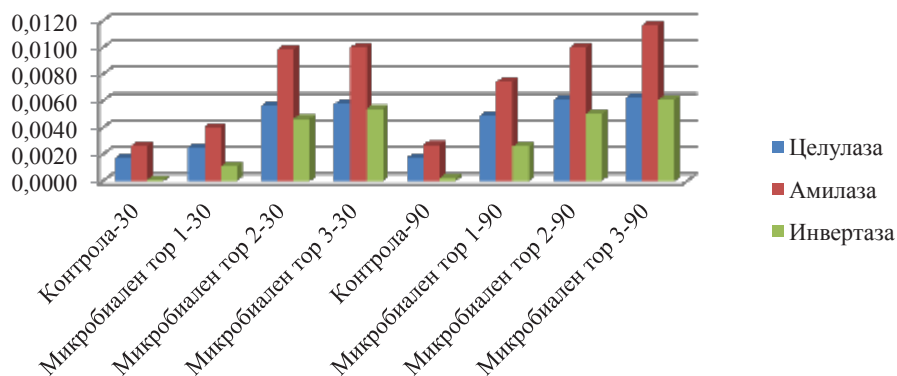
На 30-тия ден от залагане на опита стойностите на общата микрофлора са по-високи при торените варианти в сравнение с контролата. Резултатите показват, че комбинираните микробиални торове повишават биогенността в по-висока степен спрямо препарата съставен от един бактериален вид (*Bacillus sp.*) – съответно микробиален тор 1 повишава общата микрофлора 1,1 пъти, микробиален тор 2 – 1,2 пъти, микробиален тор 3 – 1,3 пъти спрямо контролата. Скоростта на разграждане на органичните вещества обаче, представена от стойностите на минерализационния коефициент, е най-висока при препарата съставен от един бактериален вид (микробиален тор 1). Подобни резултати се установяват и в предходно проучване на микробиологичната активност на почви под краставици, след наторяване с биопрепарати (Yankova et al., 2016). Следователно не винаги единствено количеството на микроорганизмите е предпоставка за тяхната минерализационна активност. Влияние оказват редица фактори – влажност и температура на почвата, качествен състав на формираната почвена микробиоценоза, вид и норма на използвания тор, тип растителност и други фактори.

С нарастване на времето на действие на торовете (90-ти ден) биогенността на торените варианти се повишава 1 пъти спрямо резултатите от 30-ти ден, докато при неторения вариант стойностите на общата микрофлора и минерализационния коефициент са приблизително еднакви за целия период на изследване. Тенденциите по отношение на общата микрофлора и минерали-

зационния коефициент при отделните варианти се запазват както тези при 30-ти ден: биогенността нараства в следния възходящ ред: микробиален тор 1 < микробиален тор 2 < микробиален тор 3, а минерализационният коефициент намалява в следния низходящ ред: микробиален тор 1 > микробиален тор 2 > микробиален тор 3. При варианта с микробиален тор 1 количеството на бацилите нараства най-силно и на 90-ти ден е близо до това на неспорообразуващите бактерии, тъй като този тор е с висока концентрация на *Bacillus sp.*

И за двата периода на изследване основен дял в състава на общата микрофлора при всички варианти заемат неспорообразуващите бактерии, следвани от бацилите. Подобни резултати се получават и в предходно изследване на микробиологичната активност на почви наторени с органични торове (Yankova et al., 2016; Malcheva et al., 2019; Malcheva et al., 2020a). Най-слабо представени са актиномицетите и микромицетите, като количеството на тези групи микроорганизми е по-високо при комбинираните торове (микробиални торове 2 и 3), които освен бактерии, съдържат също микромицети и актиномицети. Според изследване на Marschner et al. (2011) бактериите участват по-активно в началните фази на разлагане на растителните остатъци, докато гъбите преобладават през по-късни фази.

Разграждането на въглехидратите е представено чрез изследване на ензимите целулаза, амилаза, инвертаза (Фигура 1) и каталаза (Фигура 2).



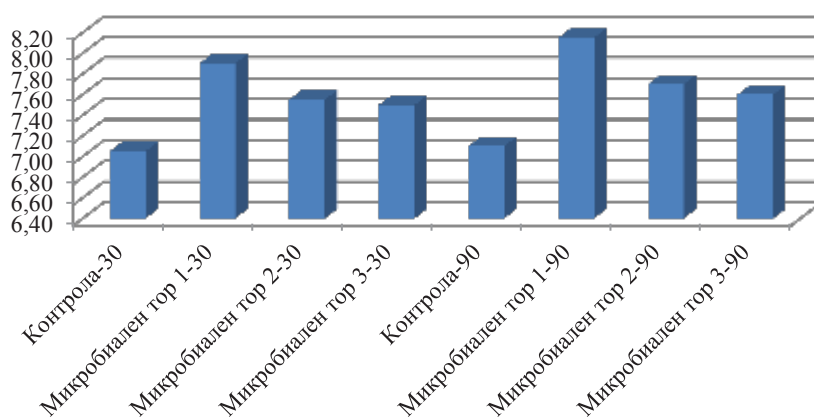
Фигура 1. Целулазна, амилазна и инвертазна активности (mg глюкоза/g почва)
Figure 1. Cellulase, amylase and invertase activities (mg glucose/g soil)

Резултатите показват, че приложението на изследваните микробиални торове повишава активността на ензимите целулаза, амилаза и инвертаза в сравнение с контролата. Gaind & Nain (2012) също установяват, че прилагането на органични торове повишава активността на ензимите целулаза и целобиаза, но най-добри резултати се получават при комбинираното използване на органични и неорганични торови препарати. Най-високи стойности при всички варианти се установяват за ензима амилаза, следва целулаза, а с най-ниски стойности е инвертазната активност, която се продуцира основно от дрожди, посочени само в състава на микробиален тор 3. Комбинираните микробиални торове повишават в по-висока степен активността на ензимите отколкото микробиалният тор съдържащ един бактериален вид (микробиален тор 1). В предходно изследване (Naskova et al., 2016) се установи, че целулазната активност се увеличава най-силно след приложението на микробиален тор съдържащ един микробен вид – *Bacillus sp.* (два пъти спрямо неторена проба), но в сравнение с други биологични торове, които не са обект на анализ в настоящото изследване. Активностите и на трите ензима обаче се повишават най-силно с нарастване на времето на действие на торовете при микробиален тор 1. Вероятно тази тенденция се дължи на по-високата скорост на минерализация на органичните вещества и по-високото количество на спорообразуващи видове (бацили), които са по-устой-

чиви на неблагоприятни външни въздействия – факти, които повишават потенциалната ензимна активност за по-дълъг период при тор 1. Тези ензими са основни деструктори на въгле-хидрати в почвата и в голяма степен характеризират посоката и скоростта на процесите на минерализация в нея.

Противоположна тенденция се установява при ензима каталаза. Каталазната активност е най-висока при използване на микробиален тор 1, съдържащ един вид бацил, докато при комбинираните микробиални торове активността на ензима е по-ниска, но остава по-висока от тази при контролата. С нарастване на времето на действие на торовете каталазната активност се повишава при всички варианти.

Подобни резултати за повишаване на каталазната активност след наторяване с органични или комбинирани торове (органични и неорганични) се отчитат и от някои други автори (Samuel et al., 2008; Mandal et al., 2007; Garg & Bahl, 2008). Освен от активността на почвените микроорганизми според Uzun & Uyanöz (2011) активността на ензима каталаза в почвите зависи и от съдържанието на глина, влажността и температурата на почвата, дълбочината на пробовземане, органичното вещество, рН, хранителни вещества, режима на торене и редуването на посевите. Освен това съществува и каталаза с растителен произход. Посочените фактори оказват влияние и върху активността на другите изследвани ензими: целулаза, амилаза и инвертаза.



Фигура 2. Каталазна активност на почвените микроорганизми, ml O₂/30 min
Figure 2. Catalase activity of soil microorganisms, ml O₂/30 min

Таблица 2. Стойности на корелационни коефициенти**Table 2.** Values of correlation coefficients

Показатели/ Indicators	Обща микрофлора/ Total microflora	Минерали- зационен коефициент/ Mineralization coefficient	Целулаза/ Cellulase	Амилаза/ Amylase	Инвертаза/ Invertase	Каталаза/ Catalase
Обща микрофлора/ Total microflora	1					
Минерализационен коефициент/ Mineralization coefficient	-0,42763	1				
Целулаза/ Cellulase	0,961167	-0,56524	1			
Амилаза/ Amylase	0,955242	-0,64907	0,989674	1		
Инвертаза/ Invertase	0,935518	-0,69406	0,970612	0,991667	1	
Каталаза/ Catalase	0,626411	0,412525	0,479932	0,401921	0,32885584	1

Зависимостите между общата микрофлора, минерализационният коефициент и ензимите са представени чрез корелационен анализ (Таблица 2).

Резултатите показват много силна, положителна зависимост между общата микрофлора и стойностите на ензимите целулаза, амилаза и инвертаза, както и силна зависимост между общото количество микроорганизми и ензима каталаза. Зависимостите между минерализационния коефициент и общата микрофлора, както и между коефициента и ензимите целулаза, амилаза и инвертаза са съответно умерена и значителни, но посоката на зависимостта е отрицателна, т.е. на по-високи стойности на единия показател съответстват по-ниски стойности на другия показател. Както беше споменато само общото количество на микроорганизмите не е единствена предпоставка за тяхната минерализационна активност. Много силна, положителна зависимост се установява между ензимите целулаза, амилаза и инвертаза, докато зависимостта им с каталазата е умерена.

ИЗВОДИ

Изследваните микробиални торове повишават почвената биогенност в различна степен,

като ефектът нараства с увеличаване на времето на действие на торовете. Общото количество микроорганизми е по-високо при използване на комбинираните микробиални торове, съдържащи различни групи микроорганизми в сравнение с торът, който съдържа един бактериален вид. Минерализационната активност обаче е по-ниска при вариантите с комбинираните торове. Тези тенденции показват, че внасянето на торови препарати с различни групи микроорганизми повишава развитието на микроорганизмите, но тяхната минерализационна активност е затруднена в известна степен.

Основен дял в състава на общата микрофлора заемат неспоробразуващите бактерии и бацилите, които в изследваните варианти участват най-активно в началните етапи на разграждане на органичните вещества в почвата. Най-високо е количеството на бацилите при вариантите с микробиален тор 1, тъй като този тор е с висока концентрация на *Bacillus sp.* Микромицетите и актиномицетите са по-слабо представени, с превес при почвените варианти с комбинираните микробиални препарати, тъй като присъстват в състава на торовете. Независимо от нарастващото количество на изследваните групи микроорганизми след торене не се установява прегрупиране в състава на общата микрофлора при торените варианти в сравнение с контролата.

Активността на ензима амилаза е най-висока, следва целулаза, а с най-ниски стойности е инвертазата при всички варианти. Комбинираните микробниални торове повишават в по-висока степен активността на посочените ензими отколкото микробниалният тор съдържащ един вид бацил. Активностите и на трите ензима обаче се повишават най-силно с нарастване на времето на действие на торовете при микробниалния тор с висока концентрация само на един вид микроорганизъм.

Противоположна тенденция се установява при каталазната активност – стойностите на каталазата са по-високи при използване на микробниалния тор, съдържащ един вид бацил, в сравнение с комбинираните препарати. С нарастване на времето на действие на торовете каталазната активност се повишава при всички варианти.

Стойностите на ензимите целулаза, амилаза и инвертаза зависят много силно от общата микрофлора, докато тази зависимост с каталазата се определя като силна. Зависимостта между минерализационния коефициент и ензимите целулаза, амилаза и инвертаза е отрицателна, а между коефициента и каталазата – умерена и положителна.

ЛИТЕРАТУРА

Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., Weintraub, M. N., & Zoppini, A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biol. Biochem.*, 58, 216–234.

Cusack, D. F., Silver, W. L., Torn, M. S., Burton, S. D., & Firestone, M. K. (2011). Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests. *Ecology*, 92, 621–632.

Gaind, S., & Nain, L. (2012). Soil carbon dynamics in response to compost and poultry manure under rice (*Oryza sativa*)-wheat (*Triticum aestivum*) crop rotation. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 82(5), 410-415.

Garg, S., & Bahl, G. S. (2008). Phosphorus availability to maize as influenced by organic manures and fertilizer P associated phosphatase activity in soils. *Bioresource Technol.*, 99, 5773-5777.

Gradova, N., Babusenko, E., & Gornova, I. (2004). *Laboratory workshop on general microbiology*. DeLi Print, Moscow, 144 p. (Ru).

Holík, L., Hlisenkovský, L., Honzík, R., Trögl, J., Burdová, H., & Popelka, J. (2019). Soil microbial commu-

nities and enzyme activities after long-term application of inorganic and organic fertilizers at different depths of the soil profile. *Sustainability*, 11, 3251. doi:10.3390/su11123251.

Khaziev, F. (1976). *Enzymatic activity of soils*. Nauka, Moscow, 180 p. (Ru).

Kostadinova, A., & Dyakov, P. (2019). Microflora dynamics in passive composting of green waste. XXIIIrd International scientific conferences “Knowledge in practice”. *International Journal Knowledge*, Scientific Papers, vol. 35.3, 849-853.

Li, W. T., Liu, M., Jiang, C. Y., Wu, M., Chen, X. F., Ma, X. Y., & Li, Z. P. (2017). Changes in soil aggregate-associated enzyme activities and nutrients under long-term chemical fertilizer applications in a phosphorus-limited paddy soil. *Soil Use Manag.*, 33, 25–33.

Malcheva, B., & Naskova, P. (2018). *Guide for laboratory exercises in Microbiology*. Universitetsko izdatelstvo pri TU-Varna, Varna, 70 (Bg).

Malcheva, B., Naskova, P., Plamenov, D., & Iliev, I. (2018). Study on impact of mineral fertilizers on biogenity and enzymatic activity of soils with common wheat. *International Journal of Advanced Research*, 6(12), 137-144.

Malcheva, B., Yordanova, M., Borisov, R., Vicheva, T., & Nustorova, M. (2018). Dynamics of microbiological indicators for comparative study of compost variants. In: *International Conference of the University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, June 7-9, 2018, Bucharest, Romania. Scientific papers, series B-Horticulture*, vol. 62, 649-654.

Malcheva, B., Yordanova, M., & Nustorova, M. (2019). Influence of composting on the microbiological activity of the soil. In: *International Conference of the University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, June 6-8 2019, Bucharest, Romania. Scientific Papers, series B, Horticulture*, vol. LXIII, No. 1, 621-625.

Malcheva, B., Petrova, V., Yordanova, M., Naskova, P., & Plamenov, D. (2020a). Influence of biochar and manure fertilization on the microbiological activity of agricultural soil. In: *International Conference of the University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, June 4-6 2020, Bucharest, Romania. Scientific papers, series B-Horticulture* (in print).

Malcheva, B., Yordanova, M., Petrova, V., Naskova, P., & Plamenov, D. (2020b). Microbial and enzymatic degradation of carbohydrates: a comparative investigation of compost variants. In: *International Conference of the University of Agronomic Science and Veterinary Medicine of Bucharest, June 4-6 2020, Bucharest, Romania. Scientific papers, series B-Horticulture*, vol. LXIV, №1, 425-433.

Mandal, A., Patra, A. K., Singh, D., Swarup, A., & Masto, R. E. (2007). Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. *Bioresource Technol.*, 98, 3585-3592.

- Marschner, P., Umar, S., & Baumann, K.** (2011). The microbial community composition changes rapidly in the early stages of decomposition of wheat residue. *Soil Biol. Biochem.*, 43, 445–451.
- 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).
- Naskova, P., Malcheva, B., Yankova, P., & Plamenov, D.** (2016). Impact of the biological fertilizers on chemical indexes and enzyme activities of soils at cucumbers. *International Research Journal of Natural and Applied Sciences*, 3 (11): 120-131.
- Nustorova, M., & Malcheva, B.** (2020). *Guide for laboratory exercises in Microbiology*. IK Gea-Print, Varna, 118 (Bg).
- Plamenov, D., Naskova, P., Malcheva, B., & Iliev, Y.** (2016). Chemical and microbiological studies for determination the influence of fertilizers produced by “Agropolychim” AD on winter common wheat and oilseed rape. *International Journal of Science and Research*, 5 (5), 1481-1486.
- Samuel, A.D., Domuța, C., Ciobanu, C., & Șandor, M.** (2008). Field management effects on soil enzyme activities. *Romanian Agricultural Research*, 25, 61-68.
- Stefanova, V., & Petrov, P.** (2019). Soil development and properties of microbial biomass succession in reclaimed sites in bulgaria. In: *International conference on innovations in science and education, March 20-22, 2019, Prague, Czech republic*, 1-9. <https://doi.org/10.12955/cbup.v7.1492>.
- Tiemann, L. K., & Billings, S. A.** (2011). Indirect effects of nitrogen amendments on organic substrate quality increase enzymatic activity driving decomposition in a mesic grassland. *Ecosystems*, 14, 234–247.
- Uzun, N., & Uyanöz, R.** (2011). Determination of urease and catalase activities and CO₂ respiration in different soils obtained from Konya, Turkey. *Trends Soil Sci Plant Nutr*, 2(1), 1-6.
- Wang, R. Z., Dorodnikov, M., Yang, S., Zhang, Y. Y., Filley, T. R., Turco, R. F., Zhang, Y. G., Xu, Z. W., Li, H., & Jiang, Y.** (2015). Responses of enzymatic activities within soil aggregates to 9-year nitrogen and water addition in a semi-arid grassland. *Soil Biol. Biochem.*, 81, 159–167.
- Yankova, P., Naskova, P., Malcheva, B., & Plamenov, D.** (2016). Impact of the biological fertilizers on the microorganisms and the nutrient elements in the soil. *International Journal of Current Research*, 5 (5), 39681-39686.