СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ
ИНСТИТУТ ПО ПОЧВОЗНАНИЕ, АГРОТЕХНОЛОГИИ И ЗАЩИТА НА РАСТЕНИЯТА "НИКОЛА ПУШКАРОВ"
София 1080, ул. "Шосе Банкя" 7, ПК 1369, тел.: 02 824 61 41; факс: 02 824 89 37 e-mail: soil@mail.bg http//www.iss-poushkarov.org

Научен отдел „Физика, ерозия, почвена биота“

ВЕСЕЛИНКА КАЛИНОВА ПЕТРОВА

ЕКОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ ПРИ ОТГЛЕЖДАНЕТО НА ЛУПИНА НА АЛУВИАЛНО-ЛИВАДНА ПОЧВА

Дисертационен труд за присъждане на
Образователна и научна степен доктор
Научно направление: растениевъдство
Научна специалност: почвознание

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:
доцент д-р Христо Ивайлов Вълчовски

Рецензенти:
доц. д-р Бойка Малчева
доц. д-р Гергана Кунчева

София, 2026г.

1. УВОД

При съществуващите интензивни методи на минерално торене замърсяването на почвата може да достигне сериозни мащаби. Това налага съсредоточаване върху този проблем, които оказва неблагоприятно влияние върху здравето на населението. Друг неблагоприятен ефект е понижаването на pH на почвата. Също така се замърсяват подпочвените води с нитрати и други вредни вещества и при обилни дъждове се замърсят реките и езерата и питейната вода.

Използването на симбиотичната азотфиксация е основен метод за постигането на устойчиво биологично земеделие. Бобовите култури, които в симбиоза с грудковите бактерии представляват най-ефективните системи за азотфиксация, които повишават биологично свързания азот, както в растителната продукция, така и в почвата. Микробиалните инокулации играят ключова роля в намаляването на употребата на минерални торове. У нас са проучвани азотфиксиращите системи на голям брой бобови, зърнени и фуражни култури, но все още не е проучен потенциалът на лупината по отношение нейната отзивчивост към инокулация със специфичните за нея грудкови бактерии от род *Bradyrhizobium sp*. (Lupinus*)* и азотфиксиращата активност на симбиотичните системи. В този контекст, разглеждането на потенциала на лупината за инокулация със азотфиксиращи бактерии от род *Bradyrhizobium* и в съчетание с бактерии от род *Azospirillum* представляват целта на настоящата дисертационна разработка. Лупината като важна култура, предлага множество приложения, включително зелено торене и фураж в органичното земеделие, както и продукт за хранително-вкусовата промишленост. Европа се отличава с разнообразие от видове, като най-широкоразпространени са сладките сортове на едногодишните видове - бяла, жълта и синя лупина. Най-известна и използвана е сладката бяла лупина *(Lupinus albus saccharatus* L.), която се отличава с богато съдържание на белтъчини (32-38%), високи добиви подобно на други фуражни бобови култури. Лупината обогатява почвата с азот и органични вещества, подобрява структурата и предпазва от ветрова ерозия, благодарение на дълбокопроникващата ѝ коренова система. Това я прави ценна култура с високи качества. Семената на лупина съдържат белтъчини и мазнини, които се характеризират с висока усвоимост и ниско съдържание на фитинова киселина, инхибитори на протеазата и лектини. С тези характеристики лупината предлагат перспективна алтернатива култура.

ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Изследването има за цел се проучи ефектът от самостоятелна инокулация с бактерии от род *Bradyrhizobium* и смесена инокулация с бактерии от *род Bradyrhizobium* и от род *Azospirillum* върху качеството на растителната продукция на бялата сладка лупина, активността на почвената микрофлора и последействието върху добива и качеството на житна култура (тритикале).

ЗА ПОСТИГАНЕТО НА ПОСТАВЕНАТА ЦЕЛ Е НЕОБХОДИМО РЕШАВАНЕТО НА СЛЕДНИТЕ ЗАДАЧИ:

1. Изследване на ефекта от самостоятелна и смесена инокулация на лупина с бактерии от род *Bradyrhizobium* и един щам от род *Azospirillum* върху добива и качеството на растителната продукция.

2. Оценка на азотфиксиращия потенциал и вирулентността на изпитваните бактериални щамове от род *Bradyrhizobium*.

3.Селекция на ефективни и генетически съвместими комбинации на лупина и щамове *Bradyrhizobium spp*. и *Azospirillum sp*. с и без внасяне на органичен тор и тяхното приложение в полски условия, с оглед на увеличаване на добива и качеството на продукцията.

4. В условията на съдов опит с Алувиално-ливадна почва да се изследва последействието от отглеждането на бялата сладка лупина и приложените третирания върху добива и качеството от тритикале.

5. Да се установят оптималните комбинации от третирания, приложени при отглеждането на лупината благоприятстващи добива и качеството на житната култура.

6. Да се изпита влиянието от самостоятелна и смесена инокулация на лупина с бактерии от род *Bradyrhizobium* и *Azospirillum* върху почвената микрофлора.

3. ОБЕКТ, МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

3.1. Обект на изследването

За изпълнението на целта и планираните задачи, са изведени два съдови и три полски опита в с. Цалапица върху Алувиално-ливадна почва. Тези опити имаха за цел да изследват ефекта от инокулацията на лупина с азотфиксиращи симбиотични и асоциативни бактериии, както и последействието на приложените третирания при тритикале.

3.1.1. Почва

Характеристиките на изследваната Алувиало-ливадна почва (с. Цалапица) са представени в Табл.1 и Табл.2. Почвата е с неутрално до слабо кисела реакция, със слабо хумусно съдържание, слаба запасеност с подвижен азот и и фосфор и добра с калий. По механичен състав е лекопесъкливо-глинеста- 24,08% с преобладаваща фракция на едрия пясък (големина на частиците с размер 2-0,2 mm) (Табл.2). Общи и активни форми на $CaCO_3$ в орницата липсват. Почвата има ниска хигроскопична влага.

Таблица 1. Агрохимични характеристики на изследваната Алувиално-ливадна почва при дълбочина на пробите от 0 до 30 cm

pH (KCl)	Общ азот, %	Общ фосфор, %	Подвижен азот mg/1000g	Подвижен фосфор mg/1000g	Подвижен калий	Хумус %
6,5	0,049	0,070	7,6	8,4	25,6	1,71

Таблица 2. Механичен състав на Алувиално-ливадна почва (с. Цалапица)

Дълбочина Cm	**Хигроскопична влага %**	**Размери на частиците в mm-%**				<0,01%
		2-0,2	0,2-0,02	0,02-0,002	<0,002	
0,-30	2,04	45,40	23,2	11,3	13,1	24,08

3.1.2. Мелиоранти

Оборски тор е внесен в количество, равностойно на 4 t/da. Характеризира с високо съдържание на общ въглерод (10,58 %), минерален азот – (633,6 mg/kg); усвоим P (61,5 mg P_2O_5/100 g); калий (143,9 mg K_2O/100 g) и слабо алкална почвена реакция – 7,5 (H_2O). За съдовия опит с лупина минералните хранителни елементи бяха внесени по Hogland D.R. (1920). При полските опити с лупина азотен, фосфорен и калиев тор бяха приложени в количества - $N_4P_8K_8$ kg активно вещество/da към съответният вариант преди засяването.

3.1.3. Растителни култури

Бяла сладка лупина (*Lupinus albus saccharatus,* L.) сорт Лъки – пролетен сорт със светлобежов цвят на семената, е предоставена от Института по растителни и генетични ресурси „К. Малков” гр. Садово.



Снимка 3. Семена от бяла сладка лупина

Тритикале (*Tritico secale*) **сорт Вихрен** - средно ранен, сухоустойчив сорт.



Снимка 4. Тритикале полски опит

Тритикалето успешно се отглежда и на кисели, слабопродуктивни почви в равнинните, предпланинските и планинските райони на страната. (снимка 4)

Бактериални култури

За самостоятелна и смесена инокулация са изследвани седем щама *Bradyrhizobium sp.* (Lupinus) (295, 296 ,297, 298, 299, 300 и 301), които са симбиотични азотфиксатори, принадлежащи към род *Bradyrhizobium*, семейство Rhizobiaceae и асоциативния азотфиксатор *Azospirillum brasilense sp.* 107. (Табл.3) от колекцията от азотфиксиращи бактерии на лаборатория Микробиология на почвата, ИПАЗР „Н. Пушкаров"

3.2. Методи

Количеството на основни таксономични и физиологични и групи микроорганизми са определени чрез метода на десеткратните разреждания, като почвените суспензии са посявани върху селективни агаризирани хранителни среди, Грудева и колектив (2007). Количеството на микроорганизите е представено като брой колониобразуващи единици (КОЕ) на 1g абсолютно суха почва.

Определена е числеността на следните физиологични и таксономични групи почвени микроорганизми:

- амонифициращи микроорганизми – чрез инкубацияна почвени суспензии върху месо-пептонен агар (МПА) за период от три дни.
- спорообразуващи микроорганизми – са чрез инкубация на почвени суспензии върху месо-пептонен агар (МПА) след пастьоризация при 80^0 С за 10 минути, последвана от тридневна инкубация.
- микроскопични гъби –върху подкиселена среда на Чапек – след седемдневна инкубация.
- актиномицети и бактерии, усвояващи минерален азот чрез инкубация на почвени суспензии върху скорбяло-амонячен агар – след седем дневна инкубация.
- целулозоразлагащи микроорганизми – определени са върху твърда хранителна среда на Гутчинсон след седемдневна инкубация.
- олигонутрофилни микроорганизми – среда на Мишустин след седем дневна инкубация.
- диазотрофи – среда на Ешби след седемдневна инкубация.

3.2.1. Химични и биохимични изследвания

Нитрогеназната активност – определена чрез метода на ацетиленовата редукция (Hardy et al., 1973) по време на фазата цъфтеж на лупината, от отделената коренова система.

Определяне на макро-и микроелементи в растителната маса – методът на Милка Минчева и Анна Брашнарова беше приложен, който включва суха минерализация на растителни проби .

Обща биологична активност на почвата (продукция на CO_2) – използван е титриметричен метод, съгласно Alef K., и P. Nannipieri. (1998). Резултатите са изразени в mg CO_2 на 100 g абсолютно сухо тегло за 1 h.

Количество на Микробиален биомасен въглерод – определен е по метода на Anderson и Domsch, (1978), като резултатите са представени в mg C/100 g абсолютно сухо тегло.

Общ азот, P, K и Ca: Азотът е определен по метода на Kjeldahl (1883) чрез мокро изгаряне, Фосфорът (P) – по ванадат – молибдатния метод, а калий (K) и калций (Ca) по пламъчно-фотометричен метод

Биоелементи метали: определени са чрез атомно адсорбционноизмерване след сухо изгаряне в 20% HCl

В рамките на изследването са използвани различни химични, агрохимични и физични методи за определяне на основни свойства на почвата:

Механичен състав:определен чрез метода на Качинский (1970).

Съдържание на органично вещество: оценено по метода на Тюрин (1937).

Хидролизуем азот: използван е методът на Bremner (1965).

Подвижни форми на фосфор и калий: определени по метода на Иванов (1984).

Реакция на почвата (pH): измервана потенциометрично във вода и калиев хлорид.

3.3. Съдови опити

3.3.1. Съдов опит с лупина

В проведен съдов експеримент беше изследвано влиянието на самостоятелната и смесена инокулация на *Lupinus albussaccaharatus L.*с щам *Bradyrhizobium sp*. (Lupinus) на фон торене с оборски тор върху добива, азотфиксиращата активност, грудкообразуването и съдържанието на общ азот в растителната биомаса. Опитът беше

заложен във вегетационната къща на ИПАЗР „Н. Пушкаров” в съдове с вместимост 5 литра. Включени са 21 варианта в 4 повторения със 7 щама на *Bradyrhizobium spp*. в комбинация с минерален и оборски тор и щам *Azospirillum sp.* 107 при 60% влажност от ППВ на почвата.

Семената на изпитваната култура (*Lupinus albussaccharatus* L.) бяха стерилизирани с 95% алкохол за 10 сек., последваща стерилизация за 3-4 мин. с водороден прекис, многократно промити със стерилна вода и подсушени. Като инокуланти бяха използвани 7 бактериални щама - *Bradyrhizobium spp*. (Lupinus) 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301 от колекцията на ИПАЗР "Н. Пушкаров" и *Az. brasilense* 107, внесени под формата на суспензии с съответно с титър 10^9 и 10^8 клетки ml.

Таблица 3. Схема на опитните варианти при съдов опит

1. Контрола– с неинокулирани семена, без внасяне на торове в почвата
2. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 295 (Lupinus)
3. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 296 (Lupinus)
4. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 297 (Lupinus)
5. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 298 (Lupinus)
6. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (Lupinus)
7. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus)
8. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 301 (Lupinus)
9. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 295 (Lupinus) + оборски тор (200g /съд)
10.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 296 (Lupinus) + оборски тор (200g /съд)
11.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 297 (Lupinus) + оборски тор (200g /съд)
12.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 298 (Lupinus) + оборски тор (200g /съд)
13.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (Lupinus) + оборски тор (200g /съд)
14.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + оборски тор (200g /съд)
15.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 301 (Lupinus) + оборски тор (200g/съд)
16.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (Lupinus) + *Azospirillum sp*. 107
17.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107
18.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 + оборски тор (200g/съд)
19.Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 + оборски тор (200g/съд)
20.Оборски тор(200g/съд)
21.Минерални хранителни елементи (210 ppm)

Във фенофаза цъфтеж на растенията бяха взети растителни проби от корените на лупина и определена вирулентността на изпитваните щамове грудкови бактерии, като беше отчетен броя грудки. Във фенофази 2-3ти лист, цветообразуване, 4-5ти лист, 9-10ти лист, цъфтеж, бобообразуване и наливане на зърното беше отчитано нарастването във височина на растенията. След прибирането на опита бяха взети почвени проби за определянето на числеността и развитието на почвените микроорганизми, агрохимични анализи и определяне на общата биологична активност и микробиалния биомасен въглерод. Също така бяха отчетени биометричните данни на растенията след изсушаване. Определен беше общият азот в растителните части на лупина.

3.3.2. Съдов опит с тритикале

Оценено е последействието от приложените инокулации на лупина и внесения органичен и минерален тор върху добива и качеството на житна култура тритикале. Опитът е заложен в съдовете, в които е отглеждана лупината като предшестваща култура. След прибирането на опита с тритикале бяха взети почвени и растителни проби за извършването на микробиологичните, биохимичните, агрохимичните и физични анализи.

3.4. Полски опити

3.4.1. Полски опити с лупина

Опитът с лупина беше заложен на реколтна парцелка с размер от 10 m^2, разстоянието между парцелките беше 0.50m, а това между повторенията - 0,70m при посевна норма – 10 kg/da.

Азотен, фосфорен и калиев тор бяха приложени в количества - $N_4P_8K_8$ kg активно вещество/da към съответният вариант преди засяването.

Опитите са заложени през втората половина на месец април, а продукцията е прибрана в края на месец август. Пробите от полските опити за микробиологичен анализ са взети от дълбочина на почвения профил 0-20cm.

След прибирането на опита при пълна зрелост бяха взети почвени проби за определянето на числеността на почвените микроорганизми, бяха извършени агрохимични анализи и определяне на общата биологична активност и микробиалния

биомасен въглерод в почвата. Също така бяха отчетени биометричните данни на растенията. Определен беше общият азот в растителните части на лупина.

Схема на полски опит с лупина

1. Контрола— с неинокулирани семена, без внасяне на торове в почвата

2. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300

3. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.*300 + оборски тор

4. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.*300+ *Azospirillum sp.* 107

5. Инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.*107+ оборски тор

6. Оборски тор (оборски тор, 4 t/da)

7. Минерално торене (4 kg/da активно вещество азот и 8 kg/da активно вещество (Р и К)

Полският опит с лупина е проведен при следните климатични условия:

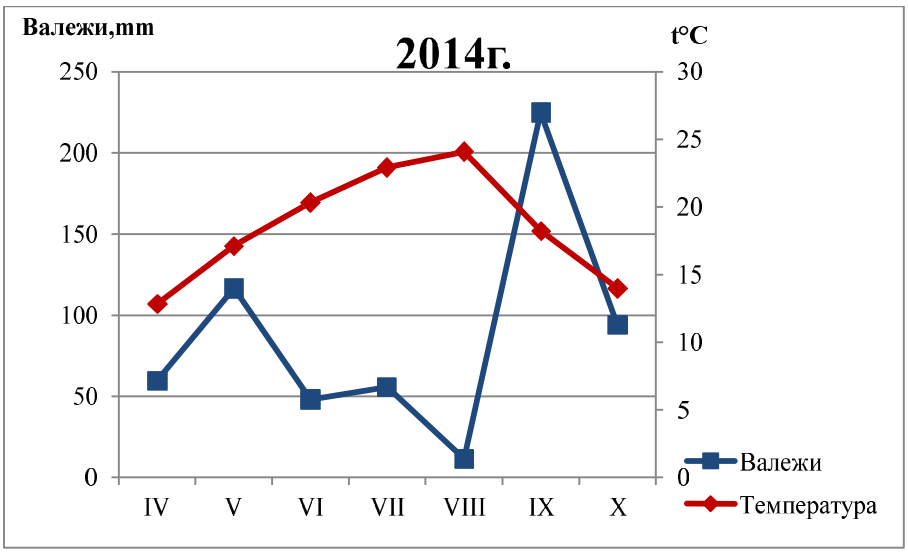
По време на вегетационния период от месец април до месец август вкл., сумата от средноденонощните температури на въздуха са били:

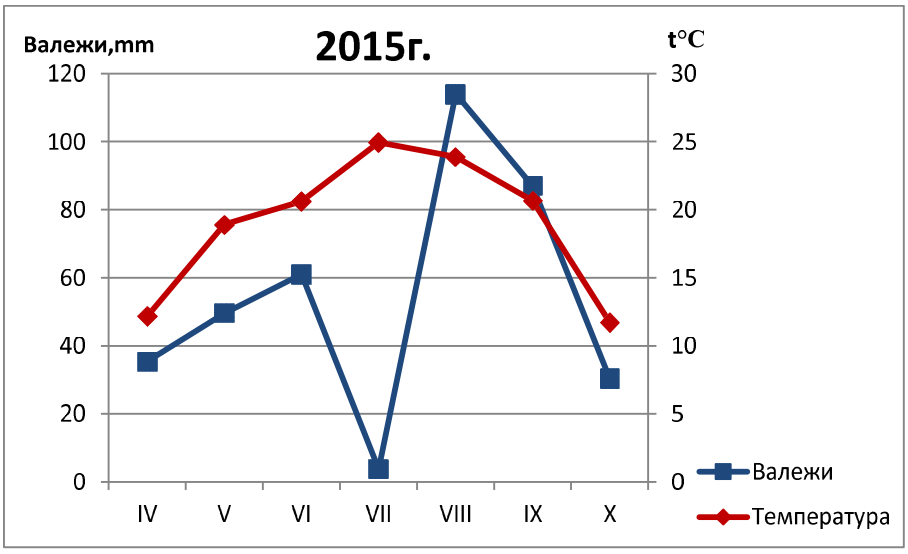
- За 2014г.– 97,3 °C
- За 2015г.– 105,5 °C

Сумата от валежите за същия период са били:

- За 2014г.-392,10 mm
- За 2015г.-263,80 mm

От тези данни е установено, че 2014 е била малко по-хладна и по-влажна година от 2015, която е била с по-висока сума на средноденонощните температури и с по-малко валежи от предходната.





Фигура 1 . Климатограма

3.4.2. Полски опит с тритикале

Оценено е последействието от приложените инокулации на отглежданата култура и внесения органичен и минерален тор върху добива и качеството на житна култура – тритикале в условията на полски опит. Опитът е заложен в средата на месец октомври, а продукцията е прибрана в пълна зрялост първите дни на месец юли. Бяха взети почвени

и растителни проби за аналогичното извършване на микробиоогичните биохимичните, агрохимичните и физични анализи.

3.5. Статистически методи

Данните от съдовите и полските опити с лупина и тритикале са обработени с програмен продукт, работещ под Windows в среда Qbase на езика Фортран. Използвани са статистически алгоритми за обработка на извадки с неголям обем, разработени от Sokal. За установяване на достоверността на получените разлики между контролата и съответните варианти е приложен вариационния метод, като е използван F критерий за оценка качеството на теста и LSD при нива на достоверност 0,05 ;0,01; или 0,001 в зависимост от дисперсията на данните. По метода на Дънкан данните са разделени на групи при ниво на достоверност $P<0,05$ (твърдението е с 95 % сигурност).

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

4.1. Съдов опит с лупина

4.1.1. Ефект от инокулациите с азотфиксиращи бактериални щамове и оборски тор върху изследваните физиологични и таксономични групи почвени микроорганизми при съдов опит с лупина

При почти всички варианти с инокулация има подчертано благоприятно комплексно въздействие върху показателите на изследваните физиологични и таксономични групи почвени микроорганизми при съдовия опит с лупина (таблица 4). Всички изследвани показатели се повлияват положително от приложените третирания, като разликата им спрямо съответните контроли е със статистически доказано увеличение при $P<0,05$, $P<0,01$ и $P>0,001$, в зависимост от варирането на данните.

Данните за ефекта от самостоятелните и смесени инокулации по отношение числеността на споровите микроорганизми показват най-високо и статистически достоверно увеличение в техния брой спрямо контролата при варианта със смесена инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (Lupinus*) + Azospirillum sp. 107* с ниво на значимост $P<0,001$, следвано от това при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + оборски тор, при $P<0,01$. Аналогичен е ефектът при варианта с минерално торене. Увеличаването на споровите бактерии е характерно за почви с наторяване и е признак за окултуреност на почвата.

При общото количество на амонифициращи микроорганизми се наблюдава повишаване на числеността им при доказана разлика $P<0,001$. Най-високата установена стойност е тази при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (Lupinus), следвана от тази при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + оборски тор при $P<0,001$. (табл. 4). Увеличаването на амонифициращите микроорганизми е свързано с увеличаване скоростта на разлагане на органичните вещества в почвата.

При диазотрофите в почти всички варианти се наблюдава съществено повишение на съобществата им доказано при $P<0,001$, спрямо контролата, с изключение на вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 301 (Lupinus) + оборски тор и варианта с минерално торене, където разликите са недоказани. Съществено значение е

оказала инокулацията при щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) при внасяне на оборски тор, където се наблюдава значително увеличение на числеността на микроорганизмите спрямо контролата (1046,34 %), следвана от тази при вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 + оборски тор (978,86%) и с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) (919%), (табл. 4). Диазоторфите са свързани с процесите на фискиране на атмосферен азот. Нарасналата им численост е свързана с инокулацията със симбиотични и свободно живеещи азотфиксиращи бактерии.

При олигонитрофилите е установено значително увеличение в числеността спрямо контролата при всички варианти статистически доказано при P<0,001, с изключение на вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 297 (Lupinus) + оборски тор и варианта с минерално торене, където разликите са недоказани. Най-високата стойност е установена при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 296 (Lupinus) + оборски тор (400 %), следвана от тази при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + оборски тор (390.47%),(табл. 4). Олигонутрофилите са свързани с процеси на метаболизиране при недостиг на хранителни вещества в почвата. Увеличаването им вероятно се дължи на липса на някои елементи в почвата.

Относно числеността при микроорганизмите, усвояващи минерален азот, се наблюдава увеличение на стойностите спрямо контролата при повечето варианти, с изключение на вариантите с органично и минерално торене, като най-значимо е при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 295 (Lupinus) + оборски тор (153,16%), следвано от вариант а с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 (146,83%). Най-ниските стойности са при варианта с органично торене, а при вариантът с минерално торене е установено понижаване на стойностите, спрямо контролата, което показва, че органичното и минерално торене потискат развитието на микроорганизмите усвояващи минерален азот. (табл. 4). Бактериите усвояващи минерален азот участват в процесите на нитрификация и азот фиксация, така че увеличението им във вариантите с инокулация е очаквано.

Влиянието от приложените третирания за развитието на на хумусообразуващи микроорганизми е най-съществено при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp*. 107 (375,86%), следвано от това при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + оборски тор (P<0,001)., (262%) ,

(табл. 4). Резултатите показват позитивното влияние на инокулацията и вариантите с внасяне на оборски тор върху образуването на хумус в почвата.

Развитието на на целулозоразлагащите микроорганизми също е повлияно от приложените третирания. Статистически доказано е увеличението на стойностите спрямо контролата при повечето варианти. При варианта с минерално торене разликата не е доказана. Най-значително увеличение в числеността спрямо контролата е при вариантът инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 (300%), следван от вариантите инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 + оборски тор и с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus, (табл. 4). Нарасналата численост на целулозоразлагащите микроорганизми е свързана с интензивното разлагане на растителните остатъци в почвата.

Действието от приложените третирания върху развитието на на микроскопичните гъби се изразява в увеличението им, доказано всички варианти, като най-значително е при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 (800%), следван от варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) (566%), (табл.4.). Подобни резултати са получени и от други автори (Bashan and Holguin 1997; German et.al., 2000; Tilak et al., 2006), които разглеждат съвместната инокулация с *Azospirillum* и изследват синергичното взаимодействие, което подпомага другите микроорганизми да проявят своето полезно действие. Микроскопичните гъби е свързано с увеличаване скоростта на разлагане на органичните вещества в почвата и кръговрата на веществата.

Заключение

Инокулацията с щам *Bradyrhizobium sp.* 300*,* съчетано с приложението на оборски тор, повлиява значително развитието и числеността на на изследваните физиологични и таксономични групи в ризосферната почва на лупина. В най-голяма степен при повечето групи положителното действие е изразено при вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (*Lupinus)* и инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (*Lupinus*) + *Azospirillum sp.* 107 със самостоятелна и смесена инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300*,* със и без приложението на оборски тор + *Azospirillum sp. 107*.

4.1.2. Ефект от приложените третирания върху съдържанието на общ азот и добива в растителните части при съдов опит с лупина

Получените резултати показват ясно изразен ефект от приложените биотехнологични методи и торове на изпитваната култура. Отчита се повишение в добива от зърно на изпитваната култура. Изключение правят тези с приложени минерални хранителни елементи и самостоятелна инокулация с *Bradyrhizobium lupini* sp. 296. Най-висок процент на увеличение е отчетен във варианта със самостоятелна инокулация с *Bradyrhizobium lupini sp*. 300 (122,2%), следван от смесената инокулация със същия щам + *Azospirillum sp*. 107 + оборски тор (107,7%). Почти равностоен е и при варианта със смесената инокулаци и комбинацията с оборски тор. Аналогични са получените резултати и по отношение влиянието на по-горе описаните третирания върху съдържанието на общия азот в зърното (Табл. 5).

Всички приложени третирания са оказали увеличения съдържанието на общ азот при сухото тегло на вегетативната надземна биомаса. По отношение на тази част от растителната маса по-висока ефективност са показали щамовете № 295, 296, 297 и 301 в условията на самоостоятелна инокулация и при смесената с № 300 и в комбинация с оборски тор с № 295, 297 и 300. Тези резултати дават възможност за избор на ефективен щам, в зависимост от целта на отглеждането на културата – за зърно, фураж или за зелено торене. Получените данни от измерената ензимна активност на нитрогеназата на кореновата система на лупината във фаза цъфтеж показват най-висока стойност във варианта със самостоятелната инокулация с щам *Bradyrhizobium lupini sp*. 300 (19.09 μM), следвана от смесената + оборски тор (13.73 μM); смесената без оборски тор (16.50 μM) и самотоятелната със същия щам + оборски тор (9.14 μM C_2H_4). По отношение грудкообразуването най-висок брой грудки е отчетен във вариантите, при които е приложена инокулация с щам *Bradyrhizobium lupini sp*. 300 - от 80 - 138 грудки на съд.

Заключение: Резултатите от експеримента доказват, че инокулацията с *Bradyrhizobium* допринася за значителни увеличения в изследваните параметри на лупината, отгледана върху Алувиално-ливадна почва. Инокулацията с щам *Bradyrhizobium* 300 може да се счита като най-ефикасния избор на инокулант за лупината (*Lupinus albussaccharatus L.*), за което свидетелства най-висок добив от зърно, брой грудки и биологична азотфиксация.

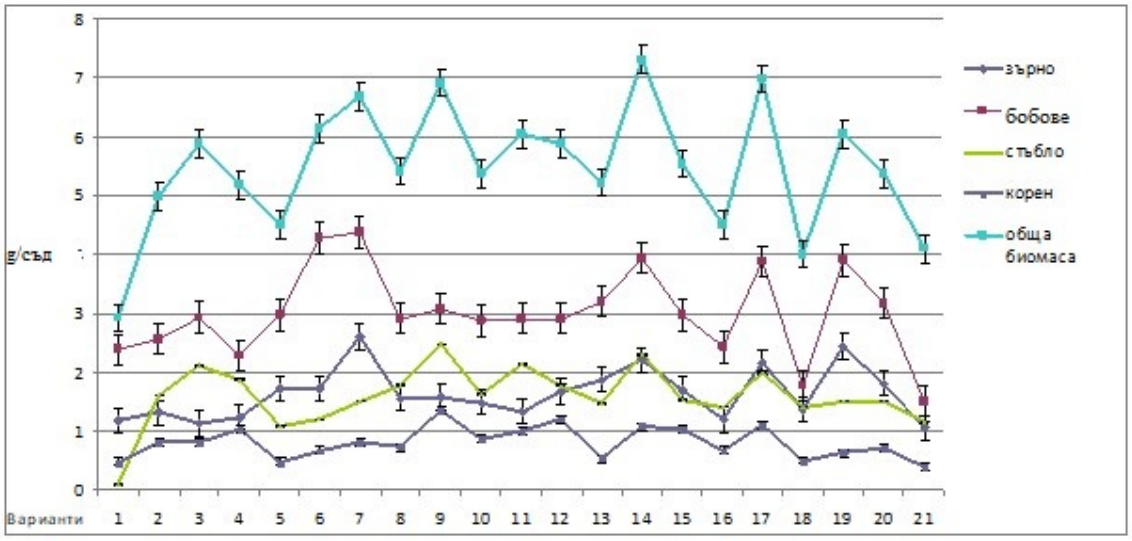
4.1.6. Ефект от инокулациите с азотфиксиращи бактериални щамове, оборски и мин. тор върху растителните параметри на суха биомаса

Данните за ефекта от самостоятелните и смесени инокулации с прибавен органичен тор показват, че добивът от лупина, се повлиява в различна степен от всички приложени третирания, както и от различните показатели на растенията – височина, тегло и др. морфологични данни (фиг. 4). Като цяло развитието на растенията се е повлияло в положителна степен спрямо контролата. Стойностите на различните изследвани параметри нарастват статистически доказано ($P<0,001$) при повечето варианти, спрямо тези на контролата.

Височината на стъблото е нараснала най-много статистически доказано при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 295 + оборски тор (60,97%) при $P<0,001$, следван от варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 297 (Lupinus) + оборски тор (39,75%) и с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + оборски тор (39,75%). Най-слабо при този показател се е повлиял при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (9,02%) и варианта с минерално торене спрямо контролата, където разликата не е доказана. (фиг.4). При теглото на стъблото най-съществено влияние статистически доказано увеличение се установи при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 295 (Lupinus) + оборски тор, следван от варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + оборски тор при $P<0,001$. При варианта с минерално торене резултатът не се е повлиял значително при $P<0,05$. При всички останали варианти разликите са статистически доказани при $P<0,001$ (фиг.4). Кореновата система на лупина се е развила най- добре при вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 296, 295 + оборски тор, 301+ оборски тор и 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 (100,42%), статистически доказано при $P<0,001$. При варианта с минерално торене се наблюдава понижение на теглото спрямо контролата (фиг.4).

Третиранията оказват положително влияние при нарастване на стойностите на теглото на зърното на лупина при всички варианти, с изключение на варианта с минерално торене, където се установява понижение на теглото, спрямо контролата. Най-високите стойности са при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 295 (Lupinus) + оборски тор (197,82%), следван от варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 298 (Lupinus) + оборски тор (160,86%) при $P<0,001$. (фиг.4).

Ефектът от инокулациите с азотфиксиращи бактериални щамове и оборски тор оказват положително влияние върху нарастването на стъблото, повишаване на теглото на надземната маса, корените и зърното. При варианта с минерално торене не се отчита стимулираш ефект, а потискащ развитието корените и теглото на зърното на лупина.



Варианти: 1.Контрола, *2.Bradyrh. sp.* 295, *3.Bradyrh. sp.* 296, *4.Bradyrh .sp.* 297, *5.Bradyrh.sp.* 298, *6.Bradyrhiz.sp.*299, *7.Bradyrh.sp.*300, *8.Bradyrh.sp.*301, *9.Bradyrh.sp.*295 + оборски тор, *10.Bradyrh.sp.*296 + оборски тор, *11.Bradyrh.sp.*297 + оборски тор, *12.Bradyrh.sp.*298 + оборски тор, *13.Bradyrh.sp.*299 + оборски тор, *14.Bradyrh.sp.*300 + оборски тор, *15.Bradyrh.sp.*301 + оборски, *16.Bradyrh.sp.*299 + *Azospirillum sp*. 107, *17.Bradyrh. sp.* 300 (*Lupinus*) + *Azosp. sp*. 107, *18.Bradyrh. sp.* 299 (Lupinus) + *Azosp. sp*. 107+ оборски тор, *19.Bradyrh. sp.* 300 + *Azosp. sp*. 107 + оборски тор, 20. Оборски тор, 21.Минерално торене.

Фигура 4. Ефект от приложени третирания на *Lupinus albussaccharatus* L. в условията на съдов опит с Алувиално-ливадна почва върху сухото тегло на зърно, стъбло, корени и общата растителна биомаса в g/съд.

4.2. Съдов опит с тритикале

4.2.1. Последействия от приложените третирания на лупина върху числеността на изследваните физиологични и таксономични групи почвени микроорганизми в ризосферата при съдов опит с тритикале

Всички изследвани микроорганизми в ризосферната почва на тритикале се повлияват положително от приложените третирания на лупината, като разликата им спрямо съответните контроли е статистически доказано увеличение при P<0.05, P<0.01, и P<0,001 в зависимост от варирането на данните (табл.12). Подобни резултати съобщават Górski and Płaza (2024) при отглеждането на лупина се наблюдава подобряване на добивите от тритикале.

По отношение числеността на споровите микроорганизми е установено, че в следствие на третиранията най-голямо увеличение в техния брой спрямо контролата е при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (159,28%) с ниво на значимост P<0,001. Най-незначително е увеличението при варианта с минерално торене (табл. 12). Оборският тор е много богат на спорови бактерии и при торенето числеността им се увеличава. При амонифициращите микроорганизми се наблюдава повишаване на числеността им, с изключение на вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 295 и инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 296, където е установено понижаване на стойностите. Третиранията са оказали най-голямо въздействие за увеличението на амонифициращите микроорганизми при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (139%) със статистически доказана разлика при P<0,001, следвана от тези при варианта със смесена инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp*. 107 при P<0,001.(табл.12). Увеличението на амонифициращите бактерии показва интензивни процеси на разлагане на органичната материя. За развитието на диазотрофите съществено значение е оказала отново инокулацията с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (565%) при ниво на достоверност P<0,001, където се наблюдава значително увеличение на числеността на микроорганизмите спрямо контролата, следвана от тази при вариантита с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300, статистически доказано при P<0,001. При варианта с минерално торене статистически не е доказана разлика (табл.12). Диазотрофите са свързани с азотфиксацията и увеличението им води до по-интензивно фискиране на азота от въздуха. Относно числеността на при микроорганизмите усвояващи минерален

азот се наблюдава увеличение на стойностите спрямо контролата при всички варианти, с изключение на варианта с минерално торене, като най-значимо статистически доказано при P<0,001 е отново при варианта инокулиран с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (263%), следвано от варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (213%)(табл.12). Повишената им численост е свързана със засилването на процесите на нитрификация и азотфиксация. Последействието от приложените третирания за развитието на на хуминифициращите микроорганизми е най-съществено при варианта инокулиран с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (331%) статистически доказано при P<0,001. При варианта с минерално торене не се наблюдават различия.(табл.12). Инокулацията благоприятства натрупването на хумус. Развитието на целулозоразлагащите микроорганизми също е повлияно от приложените третирания. Статистически доказано е увеличението на стойностите спрямо контролата при всички варианти при ниво на достоверност P<0,001, с изключение на варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 301, където стойностите са понижени. Установено е значително увеличение в числеността им спрямо контролата при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (953%) статистически доказано при P<0,001, следвано от това при варианта със смесена инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 (713%)(табл.12). Увеличената им численост вероятно е свързана с разлагането на растителните остатъци то предкултурата лупина. Последействието от приложените третирания върху развитието на микроскопичните гъби е най-съществено при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + оборски тор (351%), следван от варианта със смесена инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107 и варианта с органично торене (251%) (табл.12). В оборския тор се съдържат голям брой гъбни спори и органичното торене благоприятства увеличаването на числеността на микроскопичните гъби.

Заключение :

Инокулацията на бялата сладка лупина с щам *Bradyrhizobium sp.* 300*,* съчетано с приложението на оборски тор, както и при смесената инокулация повлиява значително развитието и числеността на изследваните физиологични и таксономични групи в ризосферната почва на последващата житна култура - тритикале. Резултатите показват засилването на процесите свързани с минерализация на органичната материя, натрупването на хумус и фиксацията на атмосферен азот в почвата.

4.2.4. Последействие от инокулациите с азотфиксиращи бактериални щамове и оборски тор на лупина върху растителните параметри на тритикале

Данните от проведения съдов опит показват, че добивът от тритикале се повлиява от всички приложени третирания, както и различните показатели на растенията (височина, тегло и др. морфологични данни) (табл. 13). Стойностите на различните изследвани параметри нарастват статистически доказано (P<0,001) при повечето варианти, но има и недоказани разлики спрямо тези на контролата.

Последействието от третиранията се изразява най-силно в нарастване на височината на стъблото, статистически доказано при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (30,76%) P<0,001, следван от същия вариант без приложението на оборски (27,17) тор и варианта със смесена инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107 (26,66%).(табл.13) Ефектът от третиранията при последействието е най- слабо изразен при този показател при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (Lupinus) + оборски тор, спрямо контролата, където разликата е недоказана.

При теглото на стъблото най-съществено статистически доказано увеличение се установи при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор(50%), следван от варианта без приложение на оборски тор и този със смесена инокулация, чиито стойности са еднакви с варианта с органично торене (44%)при P<0,001.Най-слабо изразене е ефектът при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 + *Azospirillum sp.* 107 (5,55%). (табл.13)

Доказан ефект от третиранията се наблюдава при увеличението на дължината на класа на тритикале, статистически доказано при всички варианти спрямо контролата при P<0,001. Най–добре изразено отново е при варианта - инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (17,49%), следван от варианта инокулиран със същия щам без внасянето на оборски тор (17,36%). Най-слаб ефект има при вариантита инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 (4,72%) (табл. 13).

Теглото на класа при тритикалето е нараснало при всички варианти. Най-високите стойности са при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (220%), следван от варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 296 (160%) и

варианта със смесена инокулация инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107.(табл.13)

Последействието от третиранията се е отразило положително върху повишението на теглото на зърното на тритикале, спрямо контролата. Най-голямо статистически доказано увеличение на теглото на зърното е установено при варианта със смесена инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107 (200%) при P<0,001, следван от вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300, инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор и варианта с органично торене (150%). Равни стойности с контролата са установени при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 + оборски тор, където ефект не се наблюдава.(табл.13).

Ефект от третиранията се наблюдава при увеличаването на броя на зърната в класа, който се е увеличил при всички варианти с изключение на вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 301 и инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 + *Azospirillum sp.* 107, където се наблюдава понижаване на техния брой. Най-високите установени стойности са при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (66,66%), следван от вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 (Lupinus) + *Azospirillum sp.* 107 и инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 299 + оборски тор (40,44%)(табл.13).

4.3. Полски опити с лупина

4.3.1. Изследване влиянието на инокулации с азотфиксиращи бактериални щамове, оборски и минерален тор върху числеността на почвените микроорганизми

Данните за ефекта от самостоятелните и смесени инокулации със и без внасянето на оборски тор са представени на таблица 17. При направените експерименти се наблюдава увеличение в числеността на бактериите, трансформиращи азота в почвата и следователно пряко свързани с азотното хранене на растенията, както и микроорганизмите, разлагащи по-трудно достъпни органични вещества като актиномицети и целулозоразлагащи. Carranca et al. (2009) докладва увеличение в броя на хетеротрофните бактерии и микроскопичните гъби при полски опити с лупина.

Ефектът върху развитието на амонифициращите бактерии през първата година на изследването се е изразил в нарастването на числеността им спрямо контролата във всички варианти. Значително и статистически доказано повишение се наблюдава при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (62,16%), следван от варианта с минерално торене (49,26%) (табл. 17). През втората година има значително увеличение на всички показатели спрямо контролата ($P<0,001$), като отново най-високите показатели са при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (92%).(табл.17) Обобщените данни от двете години показват, че при амонифициращите микроорганизми ефектът от приложените третирания е изразен най-съществено при вариантите с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор. (табл17.). Инокулацията и внасянето на оборски тор значително засилват процесите на разлагане на органичната материя.

И в двете години на изследването се наблюдават изменения в ризосферната микрофлора при споровите микроорганизми, спрямо контролата. През първата година при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор увеличението на стойностите е с 96,47%, а във втора с 150,38% (табл.17). Обобщените резултати за двете години показват подобно увеличение в числеността на споровите микроорганизми спрямо контролата (123,52%), което вероятно се дължи на органичното торене.

Ефектът от приложените третирания е силно изразен в двете години на изследване при олигонутрофилите, където се наблюдава увеличаване на броя им

спрямо контролата при ниво на значимост P<0,001. Най- високи резултати при стойностите са установени при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (120%), а във втората с 44,92%. Обобщените резултати от изследването показват увеличение в стойностите с 101,31 %, спрямо контролата (табл.17). Развитието на олигонутрофили е свързано с метаболизма на трудно достъпни субстрати.

В следствие на приложените третирания при диазотрофите през първата година се наблюдава съществена разлика спрямо контролата в числеността при вариантита с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.300* + оборски тор (101,31%) През втората година се установява статистически доказано увеличение при всички варианти спрямо контролата, като най- високото отново е при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (175,80). Обобщените резултати от двете години показват статистически доказано увеличение на КОЕ при при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (143,47%) (табл.17). Инокулирането увеличава числеността на диазотрофите.

Ефектът от приложените третирания се доказва при бактериите усвояващи минерален азот. И в двете години се наблюдава статистически доказано (P<0,001) увеличение в числеността. В първата година увеличението на стойностите спрямо контролата е най-високо при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.300* + оборски тор 64,3%, а през втората при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.300* + *Azospirillum sp.* 107. Обобщените резултати показват увеличение на количествата бактерии, усвояващи минерален азот, спрямо контролата при всички варианти, което е свързано с повишаване на достъпните форми на азот в почвата за растенията.

Влиянието на инокулацията върху развитието на хумусообразуващите микроорганизми през първата ггодина е изразено най-съществено при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (71,20%) През втората година увеличението на стойностите на КОЕ е с много по-голям процент при инокулацията със същия щам (42,92 %). Обобщените резултати показват, че повишаването на броя на хумусообразуващите микроорганизми е значително спрямо контролата и е статистически доказано с наи-голямо увеличение на стойностите при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (134%), което благоприятства натрупването на хумус в почвата.

Ефектът от приложените третирания в развитието на целулозоразлагащите бактерии е статистически доказано спрямо контролата и през двете години на изследването при P<0,001. Най-силно изразено е отново при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.300* + оборски тор (147,8%) през първата година и 146,51% през втората година. Това вероятно се дължи на растителните остатъци в почвата от предкултурата и в оборския тор.

В следствие приложените третирания се наблюдава увеличаването на стойностите на броя на микроскопичните гъби и през двете години. Най-високите резултати отново са при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (78,63%) за първата година и 95% за втората година. През втората година е установено понижаване на стойностите при варианта с минерално торене.

Заключение:

Според данните от получените резултати, вследствие приложените третирания е установено положително влияние върху развитието на всички изследвани групи микроорганизми. Най- голям ефект и най-голямо процентно увеличение на стойностите е установен при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор.

4.3.2. Ефект от приложените третирания върху съдържанието на общ азот в растителните части на лупина

Ефектът от приложените третирания се наблюдава при съдържанието на общ азот в корените на лупина. Установено е повишение на всички стойности спрямо контролата, като най-съществено е при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.*300 + оборски тор (78,94%) (фиг. 9). Подобни резултати докладва и Metting (1993). Установено е, че инокулацията със същия щам, както и инокулацията с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107, са повлияли върху нарастването на съдържанието на общ азот в надземната маса на лупина (33,33 %)

Стойностите на общ азот в зърното на лупина са доказано най-високи отново при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (42,85%) (фиг.9). Всички варианти с инокулация водят до по-висока азотфиксация и оттам до по-високо съдържание на азот в растителната биомаса на лупината.



Фигура 9. Съдържание на общ азот в растителната маса на лупина

4.3.4. Съдържание на протеин и общ азот в зърното при лупина

Данните за ефекта от приложените третирания показват, че е оказано съществено влияние върху увеличението на съдържанието на суров протеин в зърното статистически доказано при всички варианти спрямо контролата, като най-високите стойности са при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (129%). Най-слабо повишение на съдържанието на суров протеин в зърното се наблюдава при варианта с минерално торене. Синергичното действие на инокулацията и внасянето на оборски тор благоприятства натрупването на азот, а оттам и на суров протеин в зърното.



F	24.51	36.43	60.22
Sd	7.70	0.136	0.66
LSD $_{0.05}$	15.27	0.286	1.40

\+ P<0,5- твърдението е с 95 % сигурност

++ P<0,01- твърдението е вярно в 99% от случаите

+++ P<0,001-твърдението е вярно в 99,99 % от случаите

ns-разликата не е съществена (статистически недоказана разлика)

Фигура 12. Съдържание на на суров протеин и общ азот при полски опит с лупина

4.3.5. Ефект от инокулациите с азотфиксиращи бактерии, оборски и минерален тор върху растителните параметри и добива от лупина

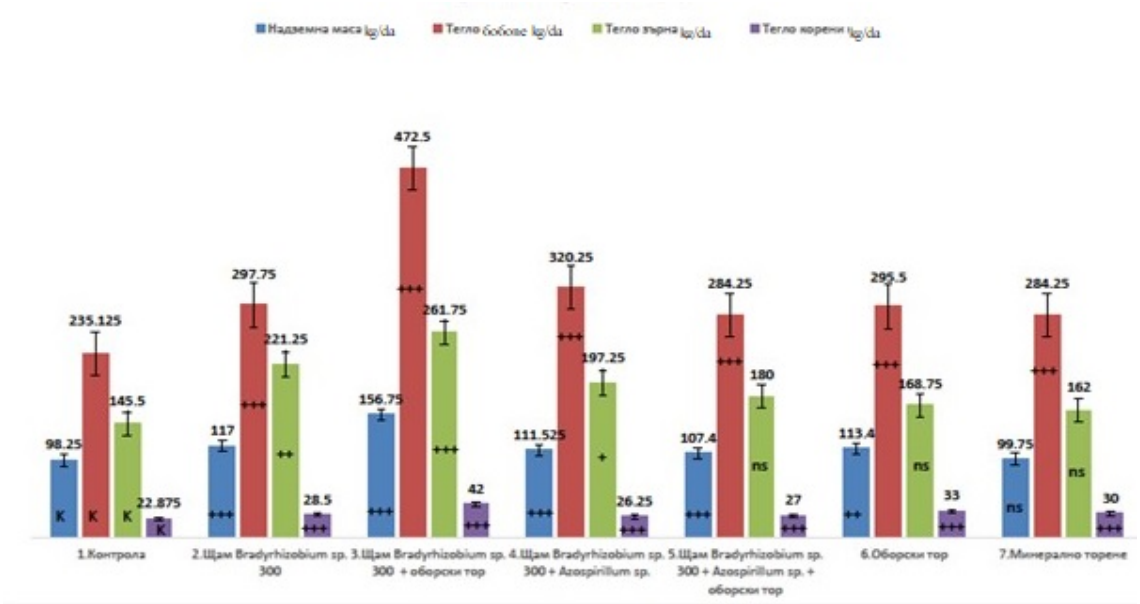
Ефектът от приложените третирания при проведените двугодишни полски опити е значим и ясно се вижда,че добивът от лупина, се повлиява в различна степен и се отразява върху различните показатели на растенията (височина, тегло и др. Морфологични данни (фиг.14 и 15). Симбиозата между азот фиксиращи бактерии от род *Bradyrhizobium* и бяла лупина дава максимален добив на семена, така и за протеини от семена. Минералното торене с азотни торове не повишава значително добива на семена, съдържанието на протеин или добива на протеини при инокулирани растения (Ayisi et al., 1992).

Вследствие на приложените третирания се установи, че при височината на стъблото на лупина се наблюдава увеличение на стойностите, спрямо контролата и в двете години, като най-силно изразено е при варианта с инокулация с щам

Bradyrhizobium sp. 300 + оборски тор. При теглото на стъблото са установени също най-големи повишения при варианта инокулиран със същия шам. В първата година увеличението е 27%, а през втората то е с 60%.) (табл.18). Относно дължината на корена приложените третирания са оказали положително въздействие върху нарастването му. През първата година при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор се наблюдава удължение, спрямо контролата с 92,3%, а през вторатас 86,9%.) (табл.18). Теглото на корена също е повлияно от инокулацията с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор най-съществено и през двете години: през 2014 с 36%, а през 2015 с 82,2 %.)(фиг.14 и15). Ефектът от третиранията е проявен и при броя и теглото на бобовете, като най-големите разлики в стойностите отново са при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор. (фиг.14 и15). При някои варианти се наблюдава понижение на стойностите, спрямо контролата (табл.18). Относно теглото на зърното на лупина се наблюдава увеличение на стойностите при всички приложени третирания, като през първата година ннай-големите разлики спрямо контролата са при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор (49%), а през втората при варианта с инокулация с щам инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107. (фиг.14 и15).

Заключение

Приложените третирания са оказали положително въздействие върху растителните параметри и добива при всички варианти, но най-силно влияние е установено при инокулацията с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107, където са най-големите разлики спрямо контролата. Най-слабо увеличение или в някои случаи намаление на стойностите спрямо контролата са при вариантите с внасяне на минерален тор. (табл.18).



+ P<0,5- твърдението е с 95 % сигурност

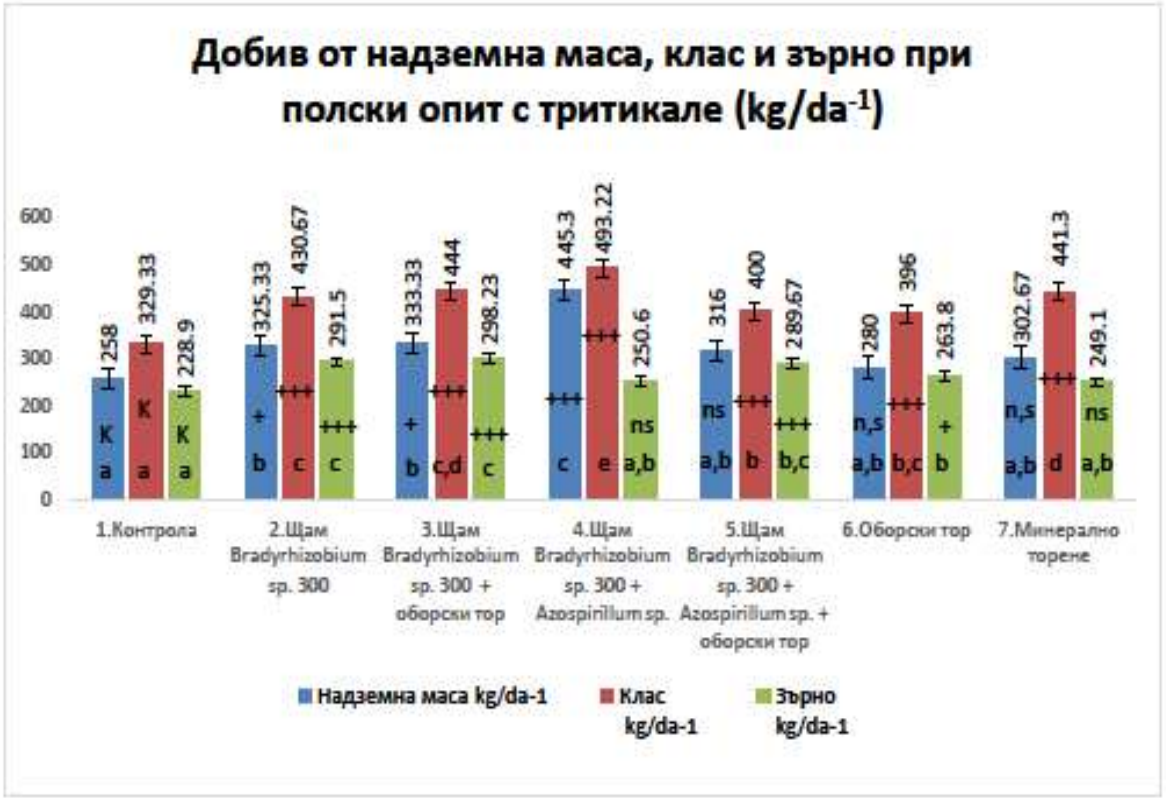
++ P<0,01- твърдението е вярно в 99% от случаите, +++ P<0,001-твърдението е вярно в 99,99 % от случаите, ns-разликата не е съществена (статистически недоказана разлика)

Фигура 14. Добив от лупина през втората година от полските опити

4.4.5. Добив от надземната биомаса на тритикале при полски опит

От резултатите получени от проведения полски опит с тритикале на Алувиално-ливадна почва се установи, че приложените при отглеждането на лупина третирания имат положително последействие върху добива от тритикале (фиг.19). Сходни резултати в увеличаването на добивите при тритикале съобщават Carton et al., (2020).

Най-силен ефект върху увеличението на теглото на надземната маса на тритикале , статистически доказано при (P<0,001) се наблюдава при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.*300 + *Azospirillum sp.* 107 (76,70%), следвано от това при варианта с инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор при P<0,5 (фиг.19).



F	7.91	26.98	6.73
Sd	30.01	13.93	14.37
$LSD_{0.05}$	63.03	29.25	30.17

Фигура 19. Добив от надземна маса, клас и зърно при полски опит с тритикале (kg/da)

5. Изводи

1. Инокулацията на бялата сладка лупина сорт Lucky повлиява положително развитието и числеността на изследваните физиологични и таксономични групи микроорганизми в ризосферната почва на изпитваната култура. В най-голяма степен положителното действие е изразено при вариантите със самостоятелна инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 с приложението на оборски тор и този със смесената инокулация на *Bradyrhizobium sp.* 300 с *Azospirillum sp.* 107.

2. В условията на ризосферната почва при лупина микробиалната биомаса, числеността на актиномицетите, диазотрофите и олигонитрофилите могат да бъдат приети като чувствителни индикатори при оценка влиянието на инокулации на културата с азотфиксиращи микроорганизми.

3. Количеството на микробиалния биомасен въглерод в ризосферната почва при съдовия опит с лупина е повлияна положително, вследствие инокулацията с *Bradyrhizobium sp.* 300, съчетана с приложението на оборски тор и смесената инокулация със същия щам и *Azospirillum sp.* 107.

4. Общата биологична активност при същия опит е стимулирана в най-голяма степен от инокулацията с *Bradyrhizobium sp.* 300, следвана от комбинацията на същия щам + оборски тор и смесената инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107.

5. Установени са статистически доказани увеличения в теглото на свежата надземна биомаса на лупината, вследствие приложението на инокулация с *Bradyrhizobium sp*. 300, същия щам + оборски тор и смесената инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 + *Azospirillum sp.* 107. Кореновата система е с увеличено тегло, вследствие смесената инокулация на *Bradyrhizobium sp.* 300 и *Azospirillum sp.* 107.

6. Най-висок процент на увеличение в сухата маса на зърното, вследствие инокулацията е отчетен във варианта със самостоятелна инокулация с *Bradyrhizobium sp*. 300 (122,2%), следван от получения вследствие приложение на смесената инокулация на същия щам с *Azospirillum sp*. 107 (107,7%). Инокулацията на лупината с *Bradyrhizobium sp*. 300 може да се счита като най-ефикасния избор на инокулант за лупината за което свидетелства най-висок добив от зърно, брой грудки и биологична азотфиксация.

7. Установени са статистически доказани увеличения в процентното съдържание на макроелементите N, P и K в зърното при съдов опит с лупина, вследствие приложени самостоятелна инокулация с *Bradyrhizobium sp*. 300, същият щам + приложен оборски тор, както и във варианта със смесената инокулация на *Bradyrhizobium sp*. 300 с *Azospirillum sp*. 107. В условията на съдовия опит са установени и статистически доказани увеличения в съдържанието на микроелементите Zn, Mn, Fe, Cu, Mg и Ca в зърното на лупината.

8. Вследствие приложените самостоятелни и съвместни инокулации с *Bradyrhizobium sp.* 300, *Azospirillum brasilense* sp. 107 и оборски тор при отглеждането на бялата сладка лупина в условията на съдов опит е установено достоверно увеличение в съдържанието на макро- и микроелементите – N, P, K, Ca, Fe, Mn, Cu и Zn в корените и надземната й биомаса.

9. При изследване влиянието на инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 и *Azospirillum sp*. 107 при отглеждането на лупина върху Алувиално-ливадна почва със и без внасяне на органичен тор върху ризосферната микрофлора в условията на полски опит е установено доказано увеличение на бактериите, трансформиращи азота в почвата, както и в тези на разлагащите по-сложните органични вещества като актиномицети и целулозоразлагащи микроорганизми.

10. Инокулацията на бялата сладка лупина с *Bradyrhizobium sp.* 300, съчетана с приложението на оборски тор в полски условия е най- ефективната комбинация от изследваните третирания за получаването на висок добив от биомаса на изпитваната култура.

11. Установени са статистически доказани увеличения в съдържанието на изследваните макро- и микроелементи в зърното, надземната маса и корените на лупина, основно вследствие комбинираното приложение на инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 с оборски тор, смесената инокулация + оборски тор и самостоятелното приложение на оборски тор.

12. Инокулацията на лупината с щам *Bradyrhizobium sp.* 300*,* съчетана с приложението на оборски тор повлиява значително развитието и числеността на изследваните физиологични и таксономични групи в ризосферната почва на последващата житна култура - тритикале. В най-голяма степен положителното последействие е изразено

при вариантите с инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор;, *Bradyrhizobium sp.* 300 и смесената инокулация на щам *Bradyrhizobium sp.* 300 с *Azospirillum sp*. 107.

13. Последействието от съвместното приложение на инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 и оборски тор и смесената инокулация на *Bradyrhizobium sp.* 300 с *Azospirillum sp*. 107 при отглеждането на лупина е довело до статистически доказани увеличения в теглото на зърното, стъблото и корените. С висока доказаност са и увеличенията при височината на стъблото, дължината и теглото на класа.

14. Установени са статистически доказани увеличения в съдържанието на изследваните макро- и микроелементи в зърното, надземната маса и корените на тритикале, вследствие приложените третирания при отглеждането на предшестващата култура – бяла сладка лупина, сорт Lucky.

15. Установени са оптималните комбинации от третирания, приложени при отглеждането на лупината – инокулация с щам *Bradyrhizobium sp.* 300 + оборски тор, самостоятелна инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 и смесената инокулация от *Bradyrhizobium sp.* 300 с *Azospirillum sp*. 107, благоприятстващи добива и качеството на житната култура.

6. Приноси

1. За първи път е извършено сравнително изследване на 7 щама *Bradyrhizobium sp.* (Lupinus): № 295, 296, 297, 298, 299, 300 и 301 от колекцията на лаборатория „Микробиология на почвата“ към Научен отдел „Физика, ерозия, почвена биота“ при ИПАЗР „Н. Пушкаров“ в почвено-климатичните условия на Алувиално-ливадна почва (Fluvisol, FAO).

2. Селекционирана е ефективна комбинация от инокулация с *Bradyrhizobium sp.* 300 и внасяне на оборски тор водеща до значително увеличаване на добива (до 80%) при отглеждане на лупина в полски условия за приложение в практиката.

3. За първи път у нас са проучени възможностите за смесена инокулация между симбиотични азотфиксиращи бактерии от род *Bradyrhizobium* и асоциативни азотфиксиращи бактерии от род *Azospirillum* при лупина.

4. Получени са нови познания за влиянието на азотфиксиращите бактерии върху грудкообразуването, натрупването на макро и микроелементи и биометричните показатели на слабо проучената култура лупина (*Lupinus albasaccharatus* L.).

5. Доказано е позитивното последействие от инокулациите с почвени микроорганизми от родовете *Bradyrhizobium* и *Azospirillum* на лупина върху добива и биомасата при житни култури (тритикале).

8. СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА

1.Veselinka Petrova, Aneta Dimitrova **(**2016**).** Response of *Lupinus albus* to Inoculation with Nitrogen- fixing Bacteria and Manure Amendment on Alluvial – meadow Soil. Balkan Ecology V.19 № 2 159-163

2.Veselinka Petrova, Aneta Dimitrova (2016). Influence of Bradyrhizobium sp. (Lupinus) Inoculations on Biological Activity and Soil Rhizosphere Microflora of Lupine. Balkan Ecology V.19 № 3 239-244

3.**Veselinka Petrova** (2018). Influence of Inoculation with Nitrogen-fixing Bacteria and Manure on Yield of Lupin. Balkan Ecology V.21 № 4 388-392