

CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA FERTILIZĂRII ȘI AMESTECULUI DE *ONOBRYCHIS VICIIFOLIA* SCOP. ȘI *BROMUS INERMIS* LEISS. ASUPRA MICROFLOREI SOLULUI

**E. ULEA¹, F. D. LIPȘA¹,
Nicoleta IRIMIA¹, Gabriela Mihaela BALAN¹**

¹ Universitatea de Științe Agricole și Medicină
Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iași
e-mail: eulea@univagro-iasi.ro

*This paper presents the results obtained from an experiment placed on temporary meadows, in south region of Moldavian plain, created by sowing a mix of *Onobrychis viciifolia* Scop. (esparcet) and *Bromus inermis* Leiss. (brome grass) in different proportions. Microbiologic activity of the temporary grassland soil was studied, under the influence of fertilizations with an unconventional product (Vinassa Rompak - 3% N, 0.5% P, 7% K, pH 7-8), and with different doses of organic and chemical fertilizers.*

The objectives of this investigation were to isolate and quantify the microbial population existent in soil (Gram positive bacteria, Gram negative bacteria, micromycete and the nitrogen-fixing bacteria) establishing their participation ratio, the main fungus genres which activate in soil and their activity level for each variant.

The results illustrate the influence of the fertilization on the total number of microorganisms, on the relationship between the main groups (bacteria and fungi), and on the micromycetes spectrum determined in each variant of our experiment.

Key words: microbial activity, temporary meadow soil, fertilization

Menținerea sau îmbunătățirea conținutului în substanță organică a solului este în general acceptată ca fiind un important obiectiv pentru orice sistem de agricultură durabilă. Pierderea de substanță organică are un efect negativ asupra proprietăților chimice, fizice și biologice ale solului. În mod particular, îngrijorătoare ar fi reducerea activității microbiene, datorită rolului activ al microorganismelor în cadrul proceselor desfășurate în sol: degradarea și mineralizarea materiei organice, formarea și stabilizarea agregatelor de sol ș. a.

În ecosistemele naturale, pierderile principalelor elemente minerale din sol ce sunt necesare nutriției plantelor, sunt compensate de procesele de fixare și solubilizare, pe când în sistemele supuse procesului de agricultură pierderile depășesc ritmul de înlocuire. Acest fapt conduce spre apariția unor frecvente dezechilibre între necesarul de elemente nutritive și posibilitatea de acoperire a acestuia.

Soluționarea acestei probleme poate fi realizată prin utilizarea produselor convenționale (îngrășăminte organice și minerale) sau neconvenționale (Vinassa Rompak), cu condiția ca aplicarea acestora să se facă în doze și combinații bine determinate. Acest lucru este necesar pentru a nu induce apariția unor dezechilibre în sol în ceea ce privește microflora naturală a solurilor respective, microfloră care garantează menținerea stării de sănătate a solurilor și implicit un potențial productiv constant.

Scopul acestui studiu a fost de a analiza și compara activitatea microbiologică a solului ocupat de două tipuri de pajiști temporare, sub influența fertilizării cu un produs neconvențional (Vinasse Rompak), cu îngrășăminte organice și chimice.

MATERIAL ȘI METODĂ

Experiența a fost înființată pe un teren din cadrul fermei Ezăreni, cu panta de 2-3 %, solul fiind un cernoziom cambic slab degradat, luto-argilos, cu pH cuprins între 6,7 și 6,8 și un conținut de 2,73-2,93 % humus, 51-55 ppm P_2O_5 , 314-336 ppm K_2O și 184-187 ppm CaO. Zona se caracterizează prin temperaturi medii anuale de 9,6°C, precipitații anuale de 517,8 mm și o umiditate relativă a aerului de 69 %.

Din punct de vedere fizico-geografic teritoriul face parte din compartimentul sudic al Câmpiei Moldovei, denumit Câmpia Jijiei Inferioare și a Bahluiului, fiind situat în extremitatea sud-vestică a acestei unități naturale.

Factorii studiați au fost :

- Factorul A = amestecul de graminee și leguminoase perene:
 $A_1 = \text{Onobrychis viciifolia } 20\% + \text{Bromus inermis } 80\%$
 $A_2 = \text{Onobrychis viciifolia } 70\% + \text{Bromus inermis } 30\%.$
- Factorul B = fertilizarea:
 $B_1 = \text{nefertilizat (martor);}$
 $B_2 = N_{200}P_{100} \text{ kg/ha;}$
 $B_3 = 30 \text{ t gunoi de grajd/ha;}$
 $B_4 = 5 \text{ t/ha Vinassa.}$

Pentru determinarea numărului de microorganisme la 1 g de sol s-a utilizat metoda culturilor în plăci Petri. Recoltarea probelor de sol s-a realizat în pungi de hârtie, cu ajutorul unei spatule metalice, iar materialul utilizat a fost sterilizat în prealabil. Recoltarea probelor s-a făcut de la adâncimea de 10 cm, după care au fost prelucrate prin farâmițare și omogenizare într-un mojar steril. Ulterior s-au preparat diluții de sol după metoda diluțiilor succesive și s-au efectuat însămânțări în vase Petri prin încorporare în mediu.

Pentru identificarea ușoară a coloniilor s-au folosit medii de cultură diferențiate, specifice grupelor sistematice. Astfel, pentru determinarea numărului total de microorganisme s-a utilizat mediul PDA simplu (potato-dextroză-agar), pentru determinarea numărului de bacteriilor gram pozitive s-a utilizat mediul PDA cu streptomycină (35 ppm), pentru determinarea numărului de micromicete s-a utilizat mediul PDA cu roz bengal (33 ppm), iar fixatorii de azot din genurile *Azotobacter* și *Clostridium* au fost evidențiați prin utilizarea mediului Ashby.

Însămânțarea s-a realizat prin introducerea unui ml de diluție în fiecare placă Petri cu mediu topit și răcit la 45°C.

Plăcile însămânțate au fost incubate la termostat la 28°C. Determinarea numărului de colonii bacteriene s-a realizat la 24 ore, a coloniilor de ciuperci la 5 zile,

iar numărătoarea s-a efectuat cu ochiul liber folosindu-se un marker, iar în cazul unor densități mari s-a utilizat placa Wolfhügel.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Din analiza datelor obținute pe cele două tipuri de pajiști temporare, se observă o creștere semnificativă a activității biologice a solului în toate variantele fertilizate, comparativ cu martorul nefertilizat, cu excepția variantei însemăntate cu amestecul *Onobrychis viciifolia* 20% + *Bromus inermis* 80% fertilizate cu produsul Vinassa Rompak unde numărul de microorganisme pe gramul de sol a fost sensibil egal cu cel de la varianta martor (tab. 1).

Tabelul 1

Activitatea biologică din solul ocupat de pajiști temporare

Nr. crt.	Amestec	Varianta de fertilizare	Total microorg mii/g sol	Bacterii		Ciuperci		Fixatori N ₂
				mii/g sol	%	mii/g sol	%	
1	A ₁	Nefertilizat (martor)	277	157	56,7	120	43,3	x
	A ₂		444	250	56,3	194	43,7	x
2	A ₁	N ₂₀₀ P ₁₀₀ kg/ha	1103	1033	93,7	70	6,3	x
	A ₂		940	810	86,2	130	13,8	x
3	A ₁	Gunoii de grajd 30 t/ha	414	314	75,8	100	24,2	x
	A ₂		885	785	88,7	100	11,3	x
4	A ₁	5 t/ha Vinassa Rompak	270	210	77,8	60	22,2	x
	A ₂		599	549	91,7	50	8,3	x

A₁ = *Onobrychis viciifolia* 20% + *Bromus inermis* 80%;

A₂ = *Onobrychis viciifolia* 70% + *Bromus inermis* 30%;

x - semnalarea prezenței fixatorilor de azot.

La toate variantele avute în studiu au fost izolate specii fixatoare de azot molecular aparținând genurilor *Azotobacter* și *Clostridium*.

La ambele amestecuri utilizate pentru însemăntarea celor două tipuri de pajiști temporare activitatea biologică cea mai intensă s-a înregistrat la variantele fertilizate cu îngrășăminte minerale pe bază de azot și fosfor. Astfel, în cazul amestecului *Onobrychis viciifolia* 20% + *Bromus inermis* 80% (A₁), activitatea cea mai intensă s-a înregistrat la varianta B2 (N₂₀₀P₁₀₀ kg/ha) urmată la mare distanță de varianta B3 (30 t/ha gunoii de grajd). În cazul amestecului *Onobrychis viciifolia* 70% + *Bromus inermis* 30% (A₂), aceeași variantă de fertilizare a evidențiat un număr maxim de microorganisme/g sol, urmată de variantele B3 (30 t/ha gunoii de grajd + N150) și B4 (5 t/ha Vinassa) (fig. 1).

Analizând raportul dintre principalele grupe de microorganisme existente în solul ocupat de cele două tipuri de pajiști temporare se remarcă diferențele semnificative care există între toate variantele de fertilizare cu excepția variantei martor, nefertilizată, unde se observă că pentru cele două tipuri de pajiști raportul dintre bacterii și micromicete este identic. Grupa de microorganisme cel mai bine reprezentată pentru toate variantele de fertilizare și pentru fiecare tip de pajiște este cea a bacteriilor, care reprezintă între 56,7% (varianta B1) și 93,7% (varianta B2)

din totalul microorganismelor în cazul amestecului A1 și 56,3% (variante B1) și 91,7% (variante B3) în cazul amestecului A2 (fig. 2).

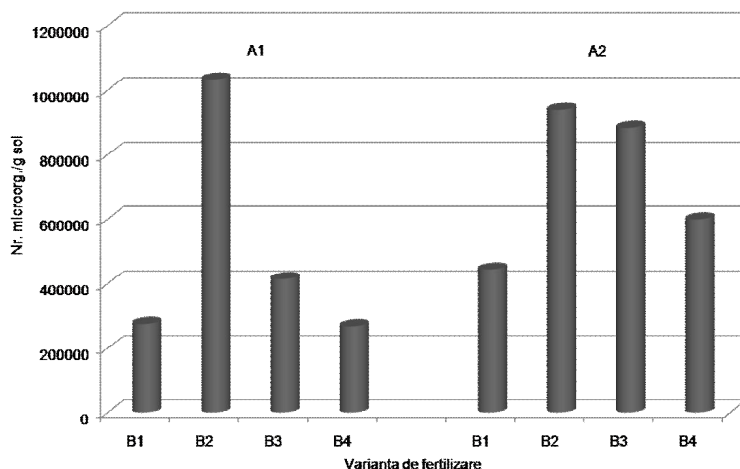


Figura 1 Diferențierea activității microbiologice pe variante de fertilizare și tip de pajiște temporară

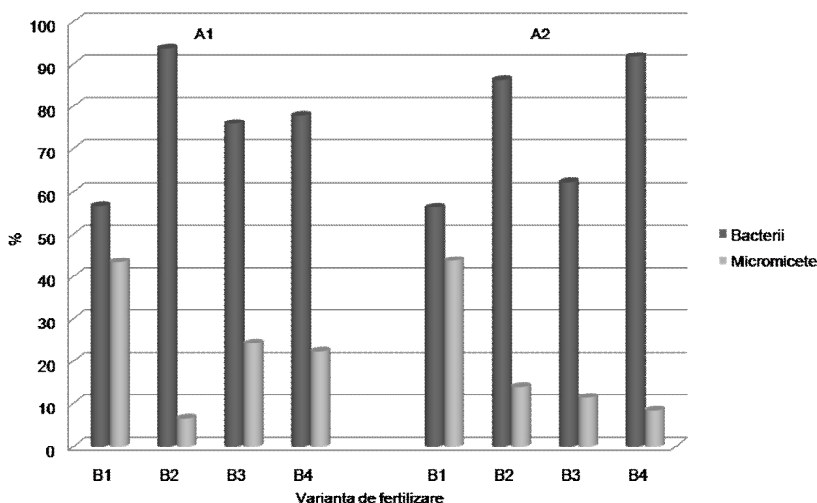


Figura 2 Principalele grupe de microorganisme pentru fiecare variantă de fertilizare și tip de pajiște temporară

Schimbarea raportului între principalele grupe sistematice, în sensul favorizării creșterii numerice a speciilor de bacterii sau ciuperci în detrimentul celuilalt grup de microorganisme se explică prin aplicarea de îngrășăminte sau alte produse neconvenționale (Vinassa Rompak). Proporția ridicată a bacteriilor din sol în toate variantele fertilizate și pentru ambele tipuri de pajiști poate fi explicată prin concurența realizată de acestea micromicetelor și plantelor în ceea ce privește

anumite elemente nutritive, dar și prin creșterea concentrației soluției solului în elemente nutritive datorită aplicării fertilizanților (în special îngrășăminte minerale cu azot și fosfor) care determină o creștere exponențială a populațiilor bacteriene.

Cercetările efectuate cu privire la frecvența genurilor de micromicete au evidențiat în primul rând o diminuare a numărului de genuri în cazul variantelor fertilizate, comparativ cu martorul nefertilizat, la ambele amestecuri utilizate (tab.2).

Tabelul 2

Genuri de micromicete izolate din solul ocupat de pajiști temporare

Nr. crt.	Amestec	Varianta de fertilizare	Genuri de micromicete izolate
1	A ₁	Nefertilizat (martor)	<i>Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Alternaria, Rhizopus, Mycogone</i>
	A ₂		<i>Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Alternaria, Robillarda, Cladosporium, Trichoderma, Mucor, Rhizopus</i>
2	A ₁	N ₂₀₀ P ₁₀₀ kg/ha	<i>Penicillium, Aspergillus, Alternaria, Rhizopus</i>
	A ₂		<i>Penicillium, Fusarium, Alternaria, Robillarda, Cladosporium, Trichoderma, Rhizopus</i>
3	A ₁	Guno de grajd 30 t/ha	<i>Penicillium, Fusarium, Aspergillus, Rhizopus, Mycogone</i>
	A ₂		<i>Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Melanospora, Cladosporium, Trichoderma, Mucor, Rhizopus</i>
4	A ₁	5 t/ha Vinassa Rompak	<i>Penicillium, Trichoderma, Rhizopus</i>
	A ₂		<i>Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Trichoderma, Rhizopus</i>

A₁ = *Onobrychis viciifolia* 20% + *Bromus inermis* 80%;

A₂ = *Onobrychis viciifolia* 70% + *Bromus inermis* 30%;

De asemenea, se observă și faptul că numărul genurilor de ciuperci izolate la varianta de pajiște însămânțată cu amestecul A1 este cu mult mai redus comparativ cu amestecul A2. Astfel, în cazul amestecului *Onobrychis viciifolia* 20% + *Bromus inermis* 80% (A1) au fost izolate specii aparținând la 6 genuri de micromicete (*Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Alternaria, Rhizopus, Mycogone, Trichoderma*), iar la amestecul *Onobrychis viciifolia* 70% + *Bromus inermis* 30% (A2) au fost identificate specii incluse în 10 genuri (*Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Alternaria, Robillarda, Cladosporium, Trichoderma, Melanospora, Mucor, Rhizopus*).

Această diferență poate fi explicată prin selectarea unor genuri specifice de ciuperci funcție de particularitățile biochimice ale secrețiilor radiculare ale celor două amestecuri însămânțate. Astfel, specii din genurile *Robillarda, Cladosporium, Melanospora* și *Mucor* au fost izolate doar de pe pajiștea temporară însămânțată cu amestecul *Onobrychis viciifolia* 70% + *Bromus inermis* 30%, iar genul *Mycogone* a fost identificat doar în cazul amestecului *Onobrychis viciifolia* 20% + *Bromus inermis* 80% (fig. 3).

Dintre micromicetele determinate pentru toate variantele avute în studiu se detașează genul *Penicillium* care a fost izolat într-o proporție cuprinsă între 50 și

69,9% din totalul genurilor identificate în cazul amestecului A1 și respectiv, între 35,7 și 60% pentru amestecul A2. Spectrul de micromicete al amestecului A1 este completat la mare diferență de genurile *Fusarium*, *Aspergillus* și *Rhizopus*, iar în cazul amestecului A2 de genurile *Trichoderma*, *Fusarium*, *Cladosporium* și *Rhizopus* (fig. 3).

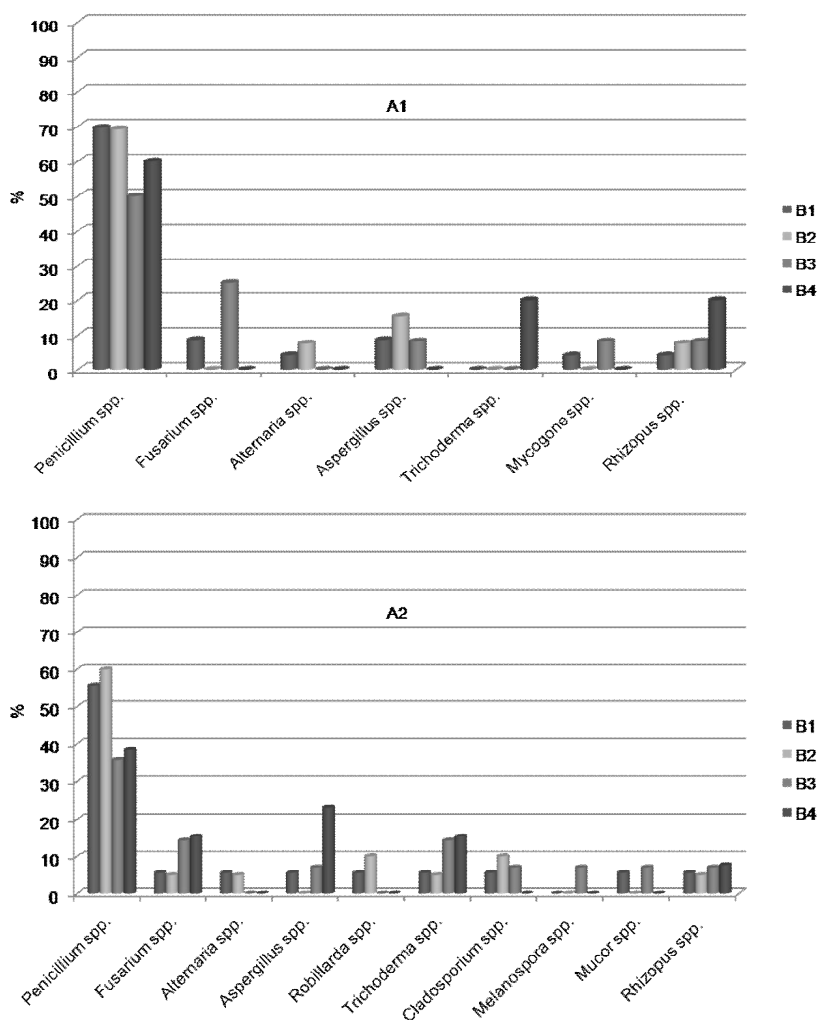


Figura 3 **Spectrul micromicetelor pentru fiecare variantă de fertilizare (B1, B2, B3, B4) și tip de pajiște temporară (A1, A2)**

Analiza numărului de colonii de micromicete/vas Petri a evidențiat faptul că dintre variantele de fertilizare cel mai mic număr de colonii a fost înregistrat la varianta fertilizată cu Vinassa 5 t/ha (B4), iar cel mai mare în cazul variantei martor, nefertilizate (B1) (fig.4).

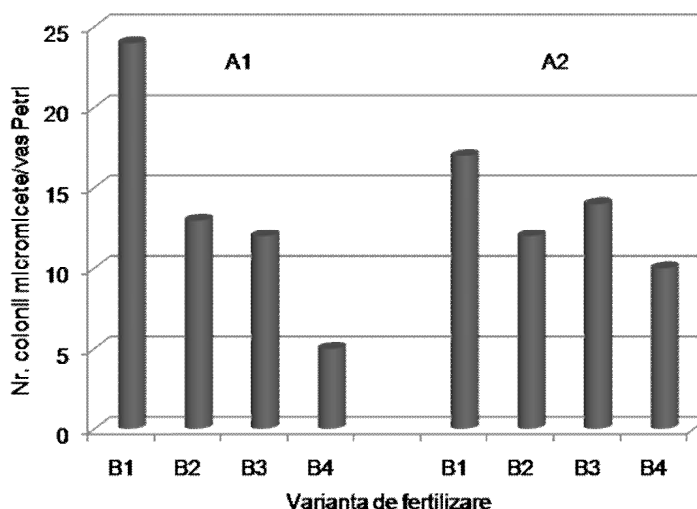


Figura 4 Determinarea numărului de colonii de micromicete/vas Petri pentru fiecare variantă de fertilizare și tip de pajiște temporară

CONCLUZII

Rezultatele obținute în perioada de experimentare permit unele observații cu caracter general asupra activității biologice globale din solurile ocupate cu pajiști temporare și în mod special asupra prezenței și dinamicii bacteriilor și micromicetelor:

a) Observațiile efectuate au evidențiat o foarte bună activitate a fixatorilor de azot, aerobi și anaerobi, care trăiesc liber în sol și care completează activitatea bacteriilor din nodozitățile leguminoaselor.

b) Dintre cele două amestecuri folosite la înființarea pajiștilor, activitatea microbiană cea mai intensă la variantele B1 (nefertilizat), B3 (gunoi de grajd 30 t/ha) și B4 (Vinassa 5 t/ha) s-a înregistrat pentru amestecul *Onobrychis viciifolia* 70% + *Bromus inermis* 30% (A2), iar pentru varianta B2 ($N_{200}P_{100}$ kg/ha) la amestecul *Onobrychis viciifolia* 20% + *Bromus inermis* 80% (A1).

c) Activitatea microbiană a prezentat o creștere semnificativă pentru ambele amestecuri folosite la însămânțare la toate variantele fertilizate comparativ cu varianta martor nefertilizată.

d) În cazul ambelor amestecuri, *Onobrychis viciifolia* 20% + *Bromus inermis* 80% (A1) și *Onobrychis viciifolia* 70% + *Bromus inermis* 30% (A2), numărul cel mai mare de microorganisme s-a înregistrat la varianta fertilizată cu $N_{200}P_{100}$ kg/ha.

e) La ambele experiențe s-a consemnat o scădere a numărului de genuri de ciuperci identificate, în cazul variantelor în care s-au aplicat îngrășăminte, comparativ cu martorul nefertilizat.

f) Pentru toate variantele avute în studiu, din spectrul de micromicete izolate frecvența cea mai ridicată a avut-o genul *Penicillium* urmat la mare distanță de genurile *Fusarium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* și *Rhizopus*.

BIBLIOGRAFIE

1. Bontea, Vera, 1986 - *Ciuperci parazite și saprofite din România*, Ed. Acad. R.S.R. București.
2. Constantinescu, O., 1974 - *Metode și tehnici în micologie*, Ed. Ceres, București.
3. Cardon, G. Zoe, Whitbeck, L. Julie, 2007 - *The Rhizosphere: An Ecological Perspective*, Elsevier Academic Press, U.S.A.
4. Eliade, G., Ghinea, L., Ștefanic, G., 1975 - *Microbiologia solului*, Ed. Ceres, București.
5. Gilman, J., 1959 - *A Manual of Soil Fungi*, The Iowa University Press, Iowa, S.U.A.
6. Hiltner, L., 1904 - *Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache*, Arb. Dtsch. Landwirt. Ges. 98, p. 59-78.
7. Larpent, J.P., Larpent-Gourgand, M., 1990 - *Memento technique de Microbiologie*, Lavoisier, Paris.
8. Ulea, E., Samuil C., 1999 - *Dinamica activității biologice a pajiștilor temporare situate pe teren erodat*, Lucr. șt., seria Agronomie, vol. 42, U.Ș.A.M.V. Iași, p. 90-96.
9. Zarnea, G., 1994 - *Tratat de Microbiologie generală*, Ed. Academiei Române, București, vol. V.
10. Wood, M., 1989 - *Soil Biology*, Blackie and Son et al, London a Saint-Amand.C.