

CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA FERTILIZĂRII ȘI AL AMESTECURILOR COMPLEXE DIN STRUCTURA COVORULUI VEGETAL AL UNOR PAJIȘTI TEMPORARE ASUPRA MICROFLOREI SOLULUI

F. D. LIPȘA¹, E. ULEA¹

Nicoleta IRIMIA¹, Irina-Vasilica TALPAN¹

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

Researches were carried out on south region of Moldavian plain, studying the effects of fertilization and different ratio of perennial fodder plants (grasses and legumes) from vegetal canopy of two temporary meadows on soils microflora. Perennial fodder legumes were represented by Medicago sativa and Lotus corniculatus, and the perennial fodder grasses by Dactylis glomerata, Festuca pratensis, Poa pratensis and Lolium perenne. The temporary meadows have been fertilized with an unconventional product (Vinasse), and with different doses of organic (dung) and chemical fertilizers (N, P). The by-product Vinassa Rompak (3% N, 0.5% P, 7% K, pH 7-8), resulted from the yeast obtaining technology process, can be a good fertilizer and a factor for maintaining the balance between the soils microorganisms populations.

The objectives of this investigation were to isolate and quantify the existing microbial population in soil (Gram positive bacteria, Gram negative bacteria, micromycetes 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 community structure, temporary meadow soil, fertilization

Microflora solului joacă un rol esențial în cadrul ecosistemelor agricole, deoarece participă activ la procesele de degradare și mineralizare a substanțelor organice ajunse în sol, la formarea și stabilizarea agregatelor de sol ș. a.

Fertilizarea pajiștilor este un factor care poate influența structura și activitatea florei microbiene existente în sol, iar aceasta, la rândul ei, poate influența negativ sau pozitiv proprietățile chimice și fizice ale solului. Modificarea structurii și a activității microflorei solului ca efect al aplicării fertilizanților, s-a demonstrat a fi dependentă și de o serie de alți factori. Spre exemplu,

Sarathchandra *et al.* [7] raportează că pe pajiștile temporare cultivate pe soluri fertile, aplicarea îngrășămintelor nu are nici un efect sau unul redus asupra microflorei solului, în timp ce pe pajiștile submontane de pe solurile mai puțin fertile, Bardgett și Leemans [2] raportează că microbiota solului este influențată de densitatea la însămânțare a pajiștilor și doza de îngrășământ aplicată. Lovell *et al.* [6] fac cunoscut faptul că microflora solului nu este afectată de aplicarea unor doze de îngrășămintele minerale cu azot la doi ani, însă aplicarea anuală pe parcursul unei perioade de zece ani influențează negativ numărul și structura populațiilor microbiene.

Concomitent cu variația numărului de microorganisme au loc schimbări și în ceea ce privește stuctura florei microbiene. Într-un studiu efectuat asupra microflorei din solurile pajiștilor submontane, Bardgett *et al.* [1] arată că micromicetele sunt cele domină procesul de descompunere la varianta nefertilizată, în timp ce la varianta fertilizată, activitatea acestora este inhibată de către bacterii. La aceeași concluzie ajunge și Lovell *et al.* [6], care arată că aplicarea îngrășămintelor pe pajiști favorizează comunitatea bacteriană existentă în sol. Pe același tip de sol, au raportat un număr de bacterii de patru ori mai mare în varianta fertilizată comparativ cu cea nefertilizată. Bardgett *et al.* [3] raportează că încetarea aplicării îngrășămintelor pe pajiștile submontane induce o schimbare rapidă a raportului dintre bacterii și fungi, în favoarea celor din urmă. Aceste studii sugerează faptul că micromicetele au un rol mai important în descompunerea materiei organice și în circuitul elementelor minerale din solurile pajiștilor nefertilizate, iar speciile bacteriene domină aceste procese în solurile pajiștilor fertilizate.

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 îngrășămintele organice (gunoi de grajd) și minerale (N, P).

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 = *Medicago sativa* 60% + *Lotus corniculatus* 10% + *Dactylis glomerata* 10% + *Festuca pratensis* 10% + *Poa pratensis* 5% + *Lolium perenne* 5%;

A_2 = *Medicago sativa* 30 % + *Lotus corniculatus* 10 % + *Dactylis glomerata* 20 % + *Festuca pratensis* 15 % + *Poa pratensis* 15 % + *Lolium perenne* 10%.

- Factorul B = fertilizarea:

B_1 = nefertilizat (martor);

B_2 = $N_{200}P_{100}$ kg/ha;

B_3 = 5 t/ha Vinassa Rompak;

B_4 = 30 t gunoi de grajd/ha.

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

În urma studiului efectuat asupra microflorei din solul prelevat de pe cele două tipuri de pajiști temporare, s-a observat în toate variantele fertilizate o creștere semnificativă a activității biologice comparativ cu martorul nefertilizat (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)	1974	1884	95,4	90	4,6	x
	A ₂		1414,5	1334,5	94,3	80	5,7	x
2	A ₁	$N_{200}P_{100}$ kg/ha	3221,5	3061,5	95,0	160	5,0	x
	A ₂		2014	1884	93,5	130	6,5	x
3	A ₁	5 t/ha Vinassa Rompak	2141	2041	95,3	100	4,7	x
	A ₂		1424,5	1334,5	93,7	90	6,3	x
4	A ₁	Gunoi de grajd 30 t/ha	2762	2512	90,9	250	9,1	x
	A ₂		1750	1570	89,7	180	10,3	x

A₁ = *Medicago sativa* 60% + *Lotus corniculatus* 10% + *Dactylis glomerata* 10% + *Festuca pratensis* 10% + *Poa pratensis* 5% + *Lolium perenne* 5%;

A₂ = *Medicago sativa* 30 % + *Lotus corniculatus* 10 % + *Dactylis glomerata* 20 % + *Festuca pratensis* 15 % + *Poa pratensis* 15 % + *Lolium perenne* 10%;

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 tipuri de pajiști temporare activitatea biologică cea mai intensă s-a înregistrat la variantele fertilizate cu îngrășămintă minerale pe bază de azot și fosfor. Astfel, atât în cazul amestecului *Medicago sativa* 60% + *Lotus corniculatus* 10% + *Dactylis glomerata* 10% + *Festuca pratensis* 10% + *Poa pratensis* 5% + *Lolium perenne* 5% (A1), cât și în cazul amestecului *Medicago sativa* 30 % + *Lotus corniculatus* 10 % + *Dactylis glomerata* 20 % + *Festuca pratensis* 15 % + *Poa pratensis* 15 % + *Lolium perenne* 10% (A2), activitatea cea mai intensă s-a înregistrat la varianta B2 (N₂₀₀P₁₀₀ kg/ha), urmată de varianta B4 (30 t/ha gunoi de grajd) și varianta fertilizată cu Vinassa Rompak (B3). În ceea ce privește numărul de microorganisme/g sol, există diferențe pozitive în favoarea amestecului A1, acest aspect putând fi explicat prin raportul de 7:3 în favoarea leguminoaselor perene furajere, comparativ cu amestecul A2 unde raportul este 6:4 în favoarea gramineelor furajere (fig. 1).

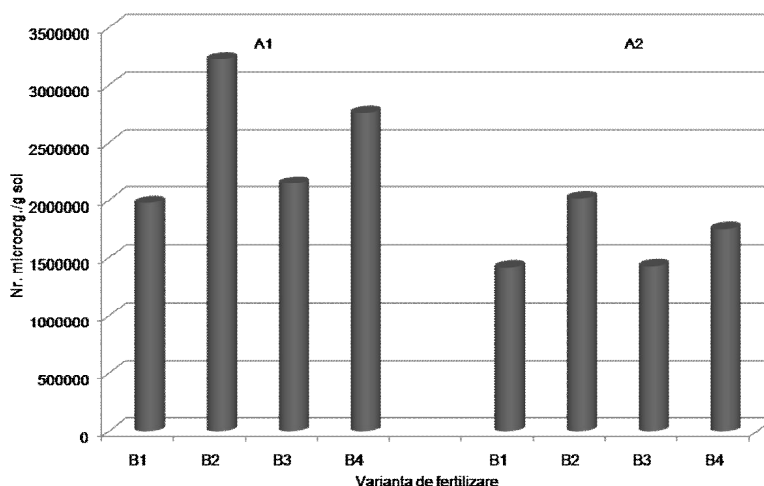


Figura 1 Diferențierea activității microbiologice pe variante de fertilizare și tip de pajiște temporară

Analizând raportul dintre principalele grupe de microorganisme pentru cele două tipuri de pajiști temporare, se remarcă diferențele semnificative care există între toate variantele de fertilizare și varianta martor, nefertilizată. Astfel, în cazul acestei variante (B1) pentru ambele amestecuri (A1, A2) se observă că flora microbiană este dominată de bacterii Gram pozitive (67%), urmate la mare distanță de bacterii Gram negative (28%) și micromicete (5%). În cazul variantelor fertilizate, grupa de microorganisme cel mai bine reprezentată pentru toate variantele de fertilizare și pentru fiecare tip de pajiște este cea a bacteriilor Gram negative, care reprezintă între 62,2 (B4) și 82,8% (B2) din totalul microorganismelor în cazul amestecului A1 și între 49,3 (B4) și 70,2% (B2) în

cazul amestecului A2 (fig. 2). Schimbarea raportului dintre cele două grupe de bacterii la aplicarea fertilizanților, poate fi pusă pe seama faptului că bacteriile Gram pozitive sunt mai sensibile la concentrații mai ridicate de nitrați [10]. Procentul de micromicete a fost redus la toate variantele avute în studiu, fiind mai ridicat la varianta fertilizată cu gunoi de grajd. Acest procent a variat între 4,6 și 9,1% la amestecul A1 și între 5,7 și 10,3% la amestecul A2.

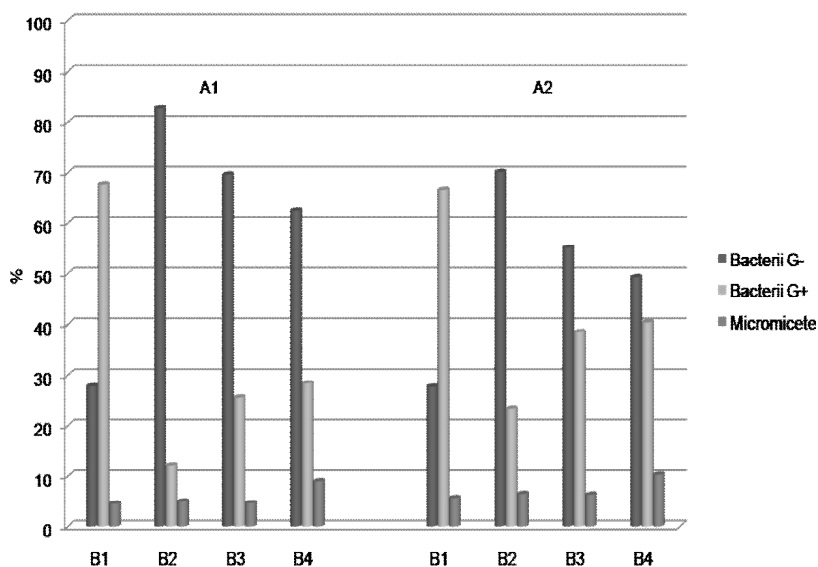


Figura 2 **Principalele grupe de microorganisme pentru fiecare variantă de fertilizare și tip de pajiște temporară**

Proporția ridicată a bacteriilor din sol în toate variantele fertilizate și pentru ambele tipuri de pajiști temporare 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 identificarea și raportarea procentuală a genurilor de micromicete, au evidențiat la ambele tipuri de pajiști temporare o diminuare a numărului de genuri în cazul variantelor fertilizate comparativ cu matorul nefertilizat. De asemenea, se observă și faptul că numărul genurilor de ciuperci izolate la varianta de pajiște însămânțată cu amestecul A1 este mai ridicat comparativ cu amestecul A2. Astfel, în cazul amestecului *Medicago sativa* 60% + *Lotus corniculatus* 10% + *Dactylis glomerata* 10% + *Festuca pratensis* 10% + *Poa pratensis* 5% + *Lolium perenne* 5% (A1) au fost izolate specii aparținând la 12 genuri de micromicete, iar la amestecul *Medicago sativa* 30 % + *Lotus corniculatus* 10 % + *Dactylis glomerata* 20 % + *Festuca pratensis* 15 % + *Poa*

pratensis 15 % + *Lolium perenne* 10% (A2) au fost identificate specii incluse în 8 genuri (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</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Mycogone</i> , <i>Thielaviopsis</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Torula</i> , <i>Mucor</i> , <i>Melanospora</i>
	A ₂		<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Mucor</i>
2	A ₁	N ₂₀₀ P ₁₀₀ kg/ha	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Trichoderma</i>
	A ₂		<i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Trichoderma</i>
3	A ₁	5 t/ha Vinassa Rompak	<i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Mycogone</i>
	A ₂		<i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Mucor</i>
4	A ₁	Guno de grajd 30 t/ha	<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Mycogone</i> , <i>Thielaviopsis</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Torula</i> , <i>Mucor</i>
	A ₂		<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Trichoderma</i>

A₁ = *Medicago sativa* 60% + *Lotus corniculatus* 10% + *Dactylis glomerata* 10% + *Festuca pratensis* 10% + *Poa pratensis* 5% + *Lolium perenne* 5%;

A₂ = *Medicago sativa* 30 % + *Lotus corniculatus* 10 % + *Dactylis glomerata* 20 % + *Festuca pratensis* 15 % + *Poa pratensis* 15 % + *Lolium perenne* 10%;

Această diferență poate fi explicată prin selecția naturală a genurilor de fungi în funcție de particularitățile biochimice ale secrețiilor radiculare eliberate în sol de cele două amestecuri însămânțate. Astfel, specii din genurile *Thielaviopsis*, *Torula*, *Mycogone* și *Melanospora* au fost izolate doar de pe pajiștea temporară însămânțată cu amestecul *Medicago sativa* 60% + *Lotus corniculatus* 10% + *Dactylis glomerata* 10% + *Festuca pratensis* 10% + *Poa pratensis* 5% + *Lolium perenne* 5%. Dintre micromicetele determinate pentru toate variantele avute în studiu se detașează genul *Penicillium* care a fost izolat într-o proporție cuprinsă între 33,3 și 64,3% din totalul genurilor identificate în cazul amestecului A1 și între 44,4 și 58,8% 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 *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Fusarium* și *Rhizopus* (fig. 3).

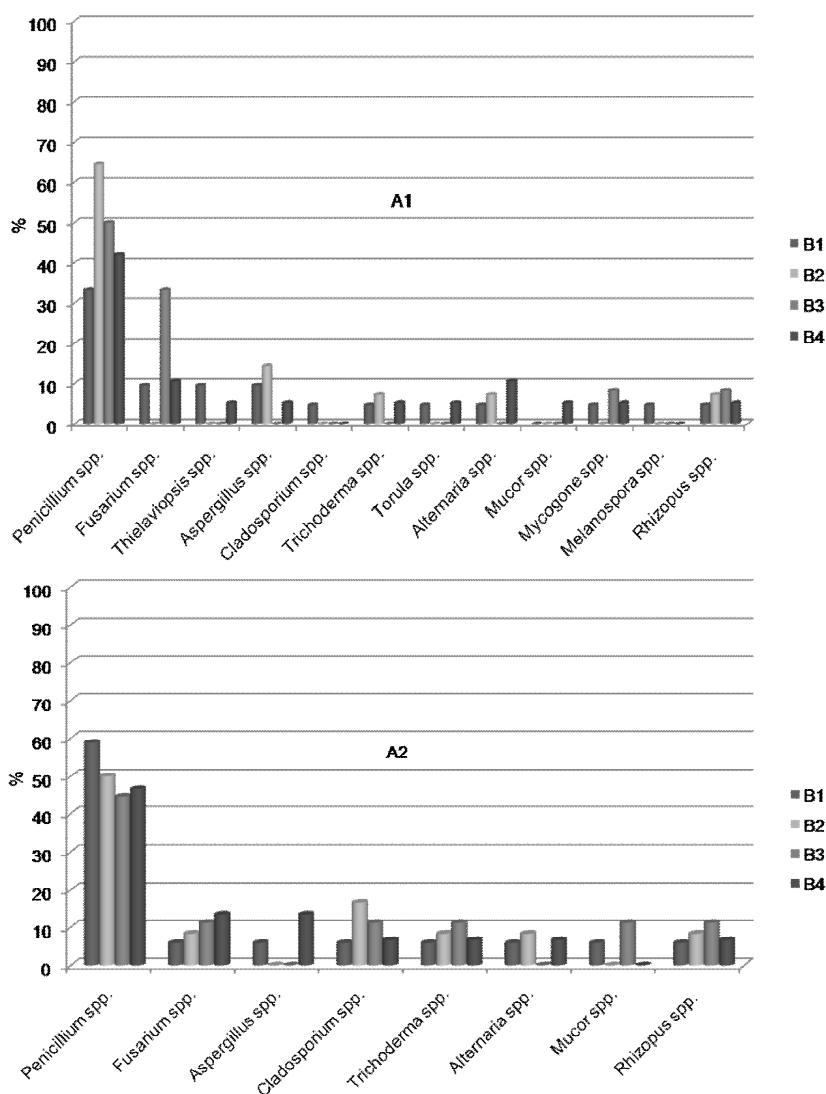


Figura 3 **Spectrul micromicetelor pentru fiecare variantă de fertilizare (B1, B2, B3, B4) și tip de pajiște temporară (A1, A2)**

CONCLUZII

Observațiile efectuate asupra activității biologice din solurile ocupate cu pajiști temporare au evidențiat următoarele aspecte:

1. fixatorii de azot, aerobi (*Azotobacter* spp.) și anaerobi (*Clostridium* spp.), sunt prezenți și completează activitatea bacteriilor din nodozitățile leguminoaselor perene furajere;

2. dintre cele două amestecuri folosite la înființarea pașiștilor, activitatea microbiană cea mai intensă s-a înregistrat la amestecul *Medicago sativa* 60% + *Lotus corniculatus* 10% + *Dactylis glomerata* 10% + *Festuca pratensis* 10% + *Poa pratensis* 5% + *Lolium perenne* 5% (A1);

3. activitatea microbiană a prezentat o creștere semnificativă pentru ambele amestecuri folosite la însămânțare la toate variantele fertilizate comparativ cu varianta martor nefertilizată;

4. dintre microorganismele izolate bacteriile reprezintă procentul cel mai ridicat, în timp ce speciile micotice reprezintă un procent redus. Dintre bacterii, la variantele nefertilizate predomină bacteriile Gram pozitive, în timp ce la variantele fertilizate cele Gram negative;

6. în cazul ambelor amestecuri numărul cel mai mare de microorganisme s-a înregistrat la varianta fertilizată cu îngrășămintă minerale ($N_{200}P_{100}$ kg/ha);

7. spectrul de micromicete s-a redus în cazul variantelor în care s-au aplicat îngrășămintă, comparativ cu martorul nefertilizat;

8. 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*, *Rhizopus* în cazul amestecului A1 și genurile *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Fusarium* în cazul amestecului A2.

BIBLIOGRAFIE

1. Bardgett, R.D., Frankland, J.C., Whittaker, J.B., 1993a - *The effects of agricultural management on the soil biota of some upland grasslands*, Agriculture Ecosystems and Environment 45,p. 25-45.
2. Bardgett, R.D., Leemans, D.K., 1995 - *The short-term effects of cessation of fertilizer applications, liming and grazing on microbial biomass and activity in a reseeded upland grassland soil*, Biology and Fertility of Soils 19, p. 148-154.
3. Bardgett, R.D., Hobbs, P.J., Frostegard, A., 1996 - *Changes in soil fungal:bacterial ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland*, Biology and Fertility of Soils 22,p. 261-264.
4. Eliade, G., Ghinea, L., Ștefanic, G., 1975 - *Microbiologia solului*, Ed. Ceres, București.
5. Larpent, J.P., Larpent-Gourgand, M., 1990 - *Memento technique de Microbiologie*, Lavoisier, Paris.
6. Lovell, R.D., Jarvis, S.C., Bardgett, R.D., 1995 - *Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: effects of management changes*, Soil Biology & Biochemistry 27, p. 969-975.
7. Sarathchandra, S.U., Perrott, K.W., Boase, M.R., Waller, J.E., 1988 - *Seasonal changes and the effects of fertiliser on some chemical, biochemical and microbiological characteristics of high-producing pastoral soil*, Biology and Fertility of Soils 6, p. 328-335
8. Ulea, E., Samuil C., 1999 - *Dinamica activității biologice a pașiștilor temporare situate pe teren erodat*, Lucr. șt., seria Agronomie, vol. 42, U.Ș.A.M.V. Iași, p. 90-96.
9. Yevdokimov, I., Gattinger, A., Buegger, F., Munch, J.C., Schloter, M., 2008 - *Changes in microbial community structure in soil as a result of different amounts of nitrogen fertilization*, Biol Fertil Soils 44, p. 1103–1106.
10. Zarnea, G., 1994 - *Tratat de Microbiologie generală*, Ed. Academiei Române, București, vol. V.
11. Wood, M., 1989 - *Soil Biology*, Blackie and Son et al, London a Saint-Amand.C.