

CERCETĂRI ÎN DOMENIUL CHIMIEI ȘI BIOLOGIEI SOLULUI

LUCIAN GHINEA, GHEORGHE ȘTEFANIC,
ANA POPESCU, GEORGETA OPREA

I. FERTILITATEA SOLULUI CA FENOMEN BIOLOGIC

Cercetările în domeniul chimiei și biologiei solului întreprinse în Institutul de la Fundulea, în cursul a cinci decenii, au avut ca obiectiv cunoașterea modificărilor care se produc în sol sub influența diferitelor verigi ale tehnologiilor agricole, precum și elaborarea și/sau asimilarea unor noi metode, care să evidențieze tot mai exact direcția în care evoluează solurile agricole. Rezultatele acumulate în decursul timpului cu privire la chimia, microbiologia și pedoenziologia solului au permis conturarea unei concepții proprii despre fertilitatea solului și posibilitatea aprecierii nivelului acesteia.

De regulă, conceptului de fertilitatea solului i se substituie acela de productivitate agricolă, cele două noțiuni fiind privite ca sinonime. În realitate, productivitate agricolă are o semnificație punctuală, semnificația unui instantaneu, care sumarizează condițiile din sol în decursul unui an, dar care poate fi alterată de evoluția climatică deosebită din decursul unui an și poate fi particularizată în funcție de planta cultivată. Ea poate fi mai ales influențată de dăunători sau agenți patogeni, precum și de intervenții antropice, aportul solului fiind substituit mai ales prin fertilizare (E l i a d e și colab., 1983; G h i n e a, 2002).

Descrierea fertilității solului ca un proces evolutiv conduce evident spre considerarea sa ca pe una din numeroasele forme de exprimare a proceselor entropice (G h i n e a, 1975).

Se știe ca entropia este măsura neuniformității unui sistem, dar ea are și un aspect energetic: cu cât entropia crește, scade energia liberă a sistemului. În sol cantitatea de energie liberă este corelată cu bogăția în carbon și acesta – cu heterogenitatea sistemului (G a i l l a r d o și M a r i n o, 1998). Această heterogenitate se exprimă la trei niveluri (G h i n e a, 1975):

- ▶ la nivel molecular, pe măsura creșterii bogăției în carbon în sol se sintetizează molecule humice mai complexe, cu valoare agricolă mai mare;
- ▶ ca urmare, la nivel mecanic se obține o structură granulometrică mai favorabilă, „cheia menținerii stabilității ecosistemului” (B l a i r și colab., 1997);
- ▶ la nivel biologic, bogăția solului în carbon determină structura microbiană a solului, după cum au demonstrat F l a i g și colaboratorii (1976) studiind soluțiile din România.

În sol, procesele de sinteză humică (de sporire a acumulării de material energetic, de scădere a entropiei sistemului) sunt cuplate cu procese de mineralizare, de consumare a potențialului de fertilitate a solului, în urma cărora rezultă CO_2 și nitrați, care determină formarea biomasei vegetale, a recoltelor agricole (fig.1). Acesta este motivul pentru care fertilitatea solului este definită, de regulă, în tratatele agronomice drept capacitatea solului de a produce recolte, iar fertilitate este considerată cu atât mai mare, cu cât solul produce recolte mai mari și mai stabile (prin introducerea termenului de stabilitate definiția este acceptabilă, deși ea nu desemnează esența fertilității).

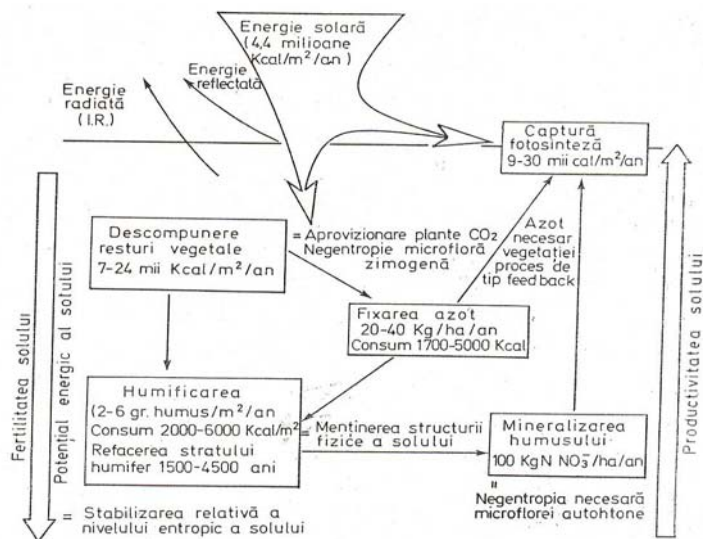


Fig. 1 – Relațiile dintre fertilitatea și productivitatea solului (G h i n e a, 1981)

Sub raport practic pot fi degajate două concluzii: pe de o parte, ca tehnologiile agricole să fie apte a converti pierderea potențialului de fertilitate în sporuri de recoltă și, pe de altă parte, a „echilibra procesele de acumulare a proceselor nutritive, care stau la baza formării complexului organo-mineral cu cele de eliberare a substanțelor nutritive pentru covorul vegetal. Omul poate dirija conștient această însușire, conservand-o și chiar sporind-o, obținând concomitent producții agricole superioare cantitativ și calitativ, prin introducerea în sol a materiei organice, având drept consecință creșterea sau menținerea cantității și calității humusului” (Ș t e f a n i c și colab., 1975).

II. PROBLEMA MĂSURĂRII POTENȚIALULUI DE FERTILITATE AL SOLULUI

Progresele în definirea fertilității solului și convertirea lor în tehnologii de dirijare a acestora pot deveni realitate numai cu condiția de a putea măsura potențialul de fertilitate și a urmări evoluția sa. Încercările de acest fel datează de peste 70 de ani și s-au utilizat diferite metode de evaluare.

Primele încercări în această direcție au fost, cu precădere, îndreptate spre studiul frecvenței și compoziției micropopulației din solurile agricole, cu scopul de a evidenția cele mai bune metode și cei mai adecvați indicatori pentru modificările induse de diferite metode agrotehnice. Două categorii de metode au fost evidențiate pe plan mondial: cercetări de observare directă a solului sub microscop (cea mai nouă tehnică aparținând lui T e n H a k M u n și colab., 1984), sau cercetări prin cultivarea bacteriilor, folosind o metodă de estimare cantitativă a diferitelor grupe de microorganisme (așa-numita metodă a „plăcilor Petri”), folosită în cadrul laboratorului de la Fundulea. Cercetările întreprinse au vizat stabilirea gradului și tipului de heterogenitate al disponibilității microorganismelor în sol, a mediului de dispersie și mediilor de cultură pentru diferitele grupe de microorganisme, a analizării statistice a rezultatelor (detaliile tehnice recomandate sunt redată în tratatul de „Microbiologia solului”, elaborat de G. E l i a d e, L. G h i n e a și G. Ș t e f a n i c, Editura Ceres, București, 1975). A fost propusă metodologia analitică pentru grupele taxonomice și fiziologice de microorganisme.

Datele obținute au permis elaborarea unei metodologii exacte sub raport analitic, dar care putea reflecta numai în mică măsură fertilitatea solurilor agricole, concluziile la care au ajuns concomitent și cercetători din alte țări. Foarte importantă este concluzia lui G a r r e t (citată de P a p a c o s t e a, 1976), „cu metoda plăcilor de cultură identificăm ceea ce nu putem vedea, în timp ce prin metoda directă vedem ceea ce nu putem identifica”. Această definiție se apropie de faimosul principiu al indeterminismului, formulat de către Heisenberg pentru fizica atomică. În ambele cazuri intervine imposibilitatea depășirii graniței între macro-, micro- și, chiar am putea spune, ultramicrocosmos.

Începând din 1962, la I.C.C.P.T. Fundulea au fost reluate și dezvoltate cercetările privind rizosfera, cercetări inițiate de H u l p o i (1936), care a prezentat date privind rizosfera ovăzului și lupinului. Cercetările întreprinse în perioada 1962-1968 (Ș t e f a n i c, 1965; Ș t e f a n i c și J a r n e a, 1965) au confirmat că microflora din rizosferă (din zona solului influențată de rădăcini) depășește de câteva sute de ori ca număr populația din edafosferă (din solul aflat în afara rădăcinilor). În rizosferă predomină bacteriile nesporogene Gram negative, cu viteza mare de multiplicare și nutriție simplă (ele metabolizează monoglucidele și aminoacizii exudați de rădăcinile tinere ale plantelor). În rizosferă există foarte puține micromicete și lipsesc total actinomicetele, reprezentate abundant în edafosferă, unde predomină și diversele specii ale genului *Bacillus*. Cercetările întreprinse n-au confirmat o specificitate taxonomică a rizosferei diferitelor plante și au arătat că efectele specifice ale microorganismelor din rizosferă sunt determinate de înalta capacitate concurențială a bacteriilor ce se multiplică acolo, îmbrăcând ca un mașon rădăcinile tinere nesuberificate.

Microflora rizosferică nu trebuie confundată cu simbioza dezvoltată de plante cu bacteriile fixatoare de azot (*Rhizobium* și *Bradyrhizobium*) sau cu ciupercile de micoriză.

Ulterior, în laboratorul de la Fundulea, a fost ameliorată metoda Tepper de studiu al rizosferei prin exprimarea raportului rizosferă/sol (R/S) la unitatea de suprafață și nu la greutate (Ș t e f a n i c, 1966; 1968; Ș t e f a n i c și L u c i a D u m i t r u, 1968).

În 1970, Lucia Mănuță a explicat oboseala lucernierelor prin colonizarea rizosferei acestor plante cultivate de către ciuperca patogenă *Fusarium culmorum*.

Cercetările ulterioare au fost îndreptate, cu precădere, asupra activității microorganismelor în sol. De fapt, încă din 1924, Stoklassa a atras atenția că, deoarece dioxidul de carbon accesibil biosferei și necesar fotosintezei plantelor cultivate sau spontane rezultă din mineralizarea materiei organice, corelarea cea mai strânsă dintre activitatea biologică a solului și fertilitatea acestuia se poate obține prin determinarea oxigenului absorbit sau a dioxidului de carbon degajat de către microorganisme. Ștefanic (1994) a imaginat un aparat și o tehnică de măsurare a CO₂ respirat de micropopulația solului, prin metoda autoalimentării cu oxigen. Încă în 1991, Ștefanic, urmărind diferiți indicatori ai fertilității solului, a ajuns la concluzia că respirația solului reflectă cel mai bine fertilitatea acestuia. Totuși, cercetările întreprinse de către el l-au condus la concluzia că precizia determinărilor poate fi îmbunătățită, prin ponderarea activității respiratorii, cu alte valori. Astfel, el a determinat un „Indicator al potențialului activității vitale” (IPAV), ca o semisumă a activității respiratorii din sol și a activității descompunerii celulozei ($IPAV\% = (R + Ce_l)/2$) și un „Indicator al potențialului activității enzimatic” (IPAE), ca semisumă a activității zaharazei și ureazei din sol ($IPAE\% = (Z + U)/2$). Semisuma celor doi indicatori determină „Indicatorul sintetic biologic” – ISB% ($ISB = (IPAV\% + IPAE\%)/2$). Acestor indicatori, Ștefanic le adăuga „Indicatorul sintetic chimic” – ISC ($ISC = [(C_t + C_e + C_{ah} + N_t) / 2 + pH] / 2$), în care: C_t = carbonul total organic al solului, C_e – carbonul extractabil în soluții alcaline diferite, C_{ah} – carbonul din acizii humici, N_t – azotul total din sol, pentru a stabili un „Indicator Sintetic al Fertilității Solului” – ISF ($ISF = (ISB\% + ISC\%)/2$).

Metodica determinării activității de descompunere a celulozei, ca și metoda determinării activității pedoenzimelor și a fracțiilor carbonului din sol vor fi discutate în continuare.

III. CERCETĂRI ASUPRA UNOR PROCESE BIOLOGICE DIN SOL

a. Celuloliza aerobă

Dintre procesele microbiene implicate în circuitul carbonului în sol, atenția cercetătorilor de la Fundulea a fost atrasă de descompunerea aerobă a celulozei. Ghinea (1964, 1966) a studiat frecvența și distribuția taxonomică a microorganismelor celulolitice aerobe în cernoziomul cambic de la Fundulea, stabilind că acestea sunt în număr de câteva mii/gram sol, primăvara predominând bacteriile, în special *Cytophaga* (alături de care se întâlnesc diferite specii de *Cellvibrio* și *Cellfalcicula*), în a doua parte a sezonului de vegetație dominând diverse mucegaiuri. Ștefanic a determinat intensitatea celulolizei prin metoda gravimetrică Vostrov și Petrova (1961).

b. Nitrificarea

Prin mineralizarea materiei organice rezultă deopotrivă CO₂, dar și NH₃, având în vedere că raportul C/N în materia organică a solului este un indicator

constant și specific pentru fiecare sol în parte Raportul între CO_2 produs prin respirație și determinat prin metodologia specifică și amoniul produs în sol și dozat ar trebui, de asemenea, să reprezinte o valoare fixă. În realitate însă, lucrurile nu stau deloc așa, datorită faptului că, în vreme ce dioxidul de carbon se degajă ca atare din sol, amoniul este supus imediat unor transformări. În principal, amoniul poate urma una din două căi: sau este metabolizat de către microorganismele heterotrofe din sol și transformat din nou în compuși organici, mai simpli sau mai complecși, sau este oxidat de către microflora autotrofă în nitriți și apoi în nitrați servind ca principal aliment azotat plantelor (numai în cazul unor îngrășăminte cu uree o parte din amoniul produs masiv prin hidroliză se poate pierde prin volatilizare).

Metabolizarea până la compuși organici este calea preferențială a reciclării amoniului, dar ea depinde de cantitatea de energie liberă din sol. În acest fel, se poate spune că masa de amoniu ce rămâne nereciclată în sol reprezintă o bună evaluare a pierderii de fertilitate potențială a solului. De regulă însă, amoniul nu rămâne ca atare, ci este imediat oxidat la nitriți și nitrați. Nitrații astfel formați reprezintă principalul rezervor de azot pentru formarea recoltelor. Waksman (1923) a fost primul cercetător care a propus testul de producere a nitraților ca o măsură a gradului de aprovizionare cu azot a solurilor și a nevoii de îngrășăminte pentru sporirea recoltelor. Metoda s-a impus într-adevăr, în acest scop, în SUA și în numeroase alte țări. În România, metoda a fost utilizată pentru caracterizarea aprovizionării cu azot a diferitelor soluri (Popovăț, 1931; Popa și Silva, 1958). Borlan (1969) a arătat că testul de incubare reflectă cel mai exact nevoia de îngrășământ azotat a culturilor, dar, din motive economice, recomandă ca producția de nitrați în sol să se determine indirect, prin produsul dintre procentul de humus (substratul mineralizărilor) și suma bazelor schimbabile, ca indicator al activității bacteriilor nitrificatoare.

Ghinea (1966) a constatat că testul Waksman reflectă foarte bine și efectul unor pesticide inhibitoare ale nitrificării, dar nu oferă niciun fel de informații asupra intensității nitrificării, în funcție de modul în care solul este afănat prin lucrări. Concluzia cercetărilor a fost că uniformizarea condițiilor de aerație a solului în timpul incubării după metoda Waksman elimină diferențele inițiale de intensitate a mineralizării humusului datorită lucrării diferențiate. Ca urmare, a fost elaborată o nouă metodă de determinare a mineralizării și nitrificării (Hulpoi și colab., 1966), ceea ce a permis evidențierea corelației între intensitatea aparentă (ca indicator al aerației) și intensitatea nitrificării. Folosind această metodă, s-a putut evidenția o scădere a nitrificării în solul tasat la densități aparente mai mari de $1,28 \text{ g/cm}^3$ și umidități mai mari de 20%, stabilindu-se nevoia păstrării afănării solului pentru a avea simultan o bună aprovizionare cu apă și nitrați a culturilor irigate (fig. 2).

Folosirea noii metode de incubare a permis să se stabilească producția unei cantități de nitrați cu circa 50 kg/ha mai mare în solul arat toamna, comparativ cu cel arat primăvara (Ghinea și colab., 1967). Recolta de porumb este, de asemenea, mai mare cu $6,9 \text{ q/ha}$ în solul arat toamna, diferența în funcție de epocile de aratură fiind foarte semnificativă. Diferența de producție este determinată exclusiv de cantitatea de nitrați acumulată suplimentar în sol (Pintilie, Ghinea și colab., 1968).

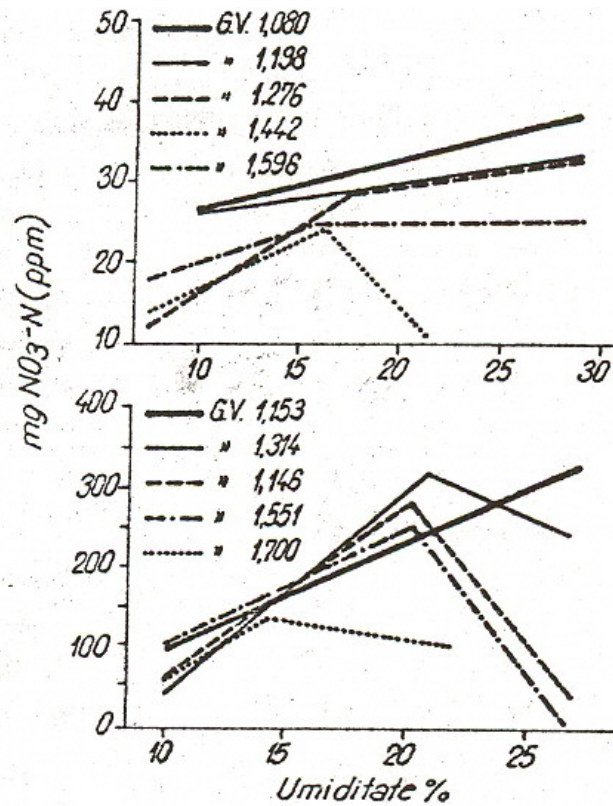


Fig. 2 – Intensitatea nitrificării azotului în cernoziomul cambic de la Fundulea (Sus – fără adăugare de sulfat de amoniu; Jos – cu încorporarea de sulfat de amoniu, în funcție de umiditatea și greutatea volumetrică ale solului) (după H u l p o i și colab., 1966)

Determinările efectuate, atât cu metode clasice, cât și cu ¹⁵N, au evidențiat că, anual, în cernoziomul cambic levigat de la Fundulea s-a mineralizat 2% din rezerva de carbon organic a solului (M i h a e l a T i a n u și colab., 1987). Astfel, solul contribuie cu 50-60% din azotul necesar formării recoltelor. Ca urmare a încorporării multianuale a îngrășămintelor cu azot, în sol se acumulează cantități diferite din acest element și care, prin remineralizare produc cantități de amoniu și nitriți corelate cu îngrășământul administrat. Ca urmare, M i h a e l a T i a n u și colaboratorii (1987) au constatat că azotul din îngrășămintă participă la formarea recoltei atât în urma absorbției sale directe de către rădăcinile plantelor, cât și prin ciclul de asimilare microbială/remineralizare. Datele experimentale au arătat că la o doză de 150 kg N/ha, 52% din azotul plantelor provine din îngrășământ, 38,7% prin absorbție radicală directă și 13,3% în urma absorbției microbiene/remineralizare. Pe de altă parte, ceva mai puțin de 50% din azotul administrat rămâne în sol sub forme organice (circa 37% sub formă de humină, care se remineralizează greu și 12% sub formă ușor mineralizabilă a

azotului extractabil în soluții alcaline diluate. Incorporarea paielor în sol contribuie la păstrarea unei cantități ceva mai mari a azotului sub formă ușor mineralizabilă.

Nitrații formați în sol sunt adesea pierduți sub formă solubilă, prin levigare sau, după transformarea în compuși gazoși ai azotului, prin denitrificare. Cercetările întreprinse la Fundulea au arătat că din azotul nitric levigat în sol la 2 m și mai jos numai 20% provine din îngrășământ, restul fiind urmarea mineralizării materiei organice a solului, cu excepția situației în care se aplică doze exagerate de îngrășăminte (H e r a și colab., 1972). Concentrația maximă de nitrați din apa freatică se înregistrează în lunile de iarnă, când consumul prin plante este practic absent, atingând 42,6 mg/l. Concentrația descrește în lunile de vară – toamnă, odată cu crșterea consumului vegetal, reducându-se la 13,2 mg/l în octombrie (H e r a și E l i a d e, 1980).

IV. CERCETARI ASUPRA PROCESELOR PEDOENZIMATICE

În sol se acumulează prin activitatea microorganismelor, a organismelor vegetale și animale diferite pedoenzime. Prezența, primei exoenzime în sol (catalaza) a fost semnalată în a doua jumătate a secolului al XIX de către fiziologul francez Boussignault. Prima lucrare de pedoenzimologie a unui român a fost publicată de I. F. R a d u (1928) și ea se referea tot la catalază. Puțin mai târziu, în 1936, I o n e s c u și apoi P a v l o v s c h i și I o n e s c u au studiat fosfatazele din sol. După 1950, K i s s împreună cu colaboratorii săi au dezvoltat la Universitatea Babeș-Bolyai un important centru de studiu al enzimelor care transformă glucidele în sol, iar la Fundulea au fost reluate cercetările privind activitatea fosfatazică a solului. Ș t e f a n i c și colaboratorii (1965), Ș t e f a n i c (1971) au dezvoltat noi metode de evaluare a potențialului fosfatazic total, pentru a evidenția atât contribuția diferitelor substanțe fosfatice, cât și activitatea tuturor fosfatazelor existente în sol (metoda este citată de R. G. B u r n e s, ed. 1979 – Soil Enzymes). Ulterior metoda a fost îmbunătățită de M i r e l a I r i m e s c u și G. Ș t e f a n i c (1988), Ș t e f a n i c (1999, 2006).

Cercetători din diferite țări ale lumii au studiat un număr foarte mare de enzime. Cercetătorii clujeni, din echipa coordonată de St. K i s s s-au orientat spre studiul enzimelor care transformă glucidele în sol, pornind de la afirmațiile (K u p e v i c i, 1949; H o f f m a n n, 1950) că zaharaza ar măsura fertilitatea solurilor și, ulterior, de la relațiile pe care enzimele levanaza și levansucraza le au cu sinteza substanțelor humice. Cercetătorii de la Fundulea și-au pus problema de a lua în studiu un număr limitat de enzime, care să fie însă implicate în circuitul carbonului, azotului și fosforului. Ca urmare, Ș t e f a n i c și D u m i t r u (1970) au luat în studiu catalaza, o enzimă importantă pentru procesele de oxidoreducere din sol. Ei au elaborat o metodă spectrofotometrică de evaluare a activității acestei enzime, pe baza unei reacții cu sulfatul de titan. Ulterior, Ș t e f a n i c și colaboratorii au imaginat un aparat automat pentru determinarea volumului de oxigen eliberat sub acțiunea catalazei din sol.

Pentru studiul unei enzime implicate în transformarea hidraților de carbon a fost elaborată, de asemenea, o metodă spectrofotometrică bazată pe reacția cu acid 3,5 dinitrosalicilic, capabilă a măsura activitatea beta-h-fructozidazei din sol.

Din circuitul azotului s-a ales determinarea activității urezei din sol, folosindu-se în acest scop metoda K u p r e v i c i (1951).

Folosind aceste instrumente analitice, a devenit posibilă caracterizarea efectului tehnologiilor agricole asupra activității microbiene a solului. Astfel, în 1997-1998 a fost caracterizat efectul lucrării solului asupra activității sale microbiene (Ștefanic, Georgeta Oprea și Mirela Irimescu, 1997 – Raport la tema A40, cod B7). S-a stabilit că în stratul superficial al solului, lucrarea cu discul are cel mai puternic efect pozitiv asupra respirației microorganismelor, asupra activității invertazice, ureazice, fosfatazice. Prin excepție, activitatea oxido-reductivă este mai slabă. Un efect foarte bun a avut și lucrarea solului cu paraplav-ul, care determină cea mai intensă activitate respiratorie, de descompunere aerobă a celulozei. A fost stimulată activitatea invertazică, fosfatazică, catalazică. Activitatea enzimatică este stimulată și de lucrarea cu cizelul, care stimulează și activitatea respiratorie a microorganismelor din sol. Sistemele clasice de arătură au avut un efect mai slab, arătura la 30 cm fiind însă ușor superioară celei efectuate la 20 cm.

Fertilizarea exclusiv minerală a solului a stimulat celuloziza (care este, se știe, corelată cu bogăția solului în nitrați) și activitatea ureazică. Paiele, care constituie un substrat energetic, stimulează respirația microflorei din sol și (moderat) celuloziza aerobă, în vreme ce fertilizarea cu gunoi a stimulat activitatea invertazică.

V. CERCETĂRI ÎN DOMENIUL SUBSTANȚEI ORGANICE A SOLULUI

Solul este un sistem complex, cuprinzând o fază lichidă („soluția solului”), o fază gazoasă („atmosfera solului”) și o fază solidă, care reprezintă 52% din total, din care câteva procente sunt reprezentate de substanța organică (de regulă, definite ca „humus”, de fapt carbon organic, multiplicat cu factorul 1,724, propus de V a n B e m a l e n, în 1924). În realitate, substanța organică din sol formează un complex de substanțe înrudite („complexul substanțelor humice”), dar și factori de altă natură, de pildă polizaharide.

Substanțele humice se caracterizează prin: culoarea lor (variind de la galben-brun la negru), caracterul acid, solubilitatea în soluții alcaline diluate (hidroxid de sodiu sau potasiu, pirofosfat de sodiu sau potasiu, toate în concentrație de 0,2%), relativă bogăție în azot. Acestor fracții organice solubile în soluții alcaline li se adaugă de obicei o fracție insolubilă (din cauza condensării foarte mari, produsă în timp îndelungat), denumită humina. Frația solubilă în soluții alcaline („carbonul extractabil”) se împarte, la rândul său, într-o subfracție precipitabilă prin tratare cu acid clorhidric („acizii humici”) și o fracție care nu precipită în urma acestui tratament („acizii fulvici”). Acizii humici sunt închiși la culoare, puternic polimerizați (greutate moleculară mai mare de 10.000) și cu o vechime de câteva sute de ani, acizii fulvici sunt galben-bruni, slab polimerizați (g.m. mai mici de 1000) și cu o vechime de câțiva zeci de ani. Datele experimentale atestă corelația dintre conținutul de carbon organic total (Ct) și fracțiile carbonului humificat: carbonul extractabil și carbonul acizilor humici (fig. 3).

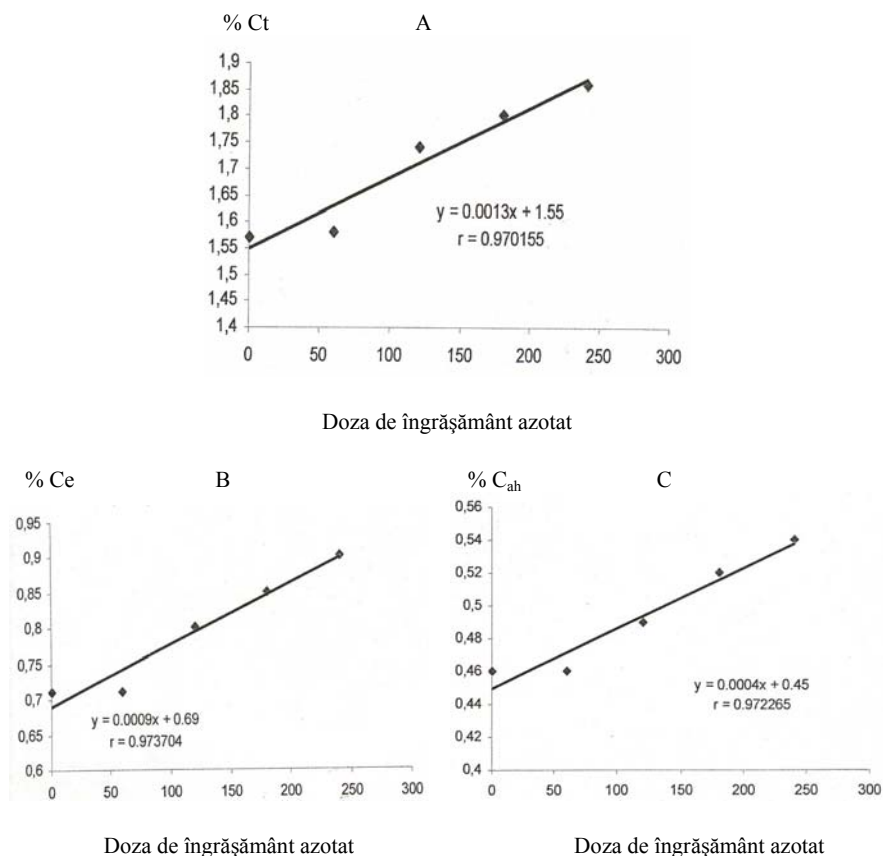


Fig. 3 – Corelarea dozelor de îngrășământ azotat încorporat timp de 19 ani în cernoziomul cambic de la Fundulea asupra evoluției humusului: A. carbon organic total (Ct); B. substanța organică extractabilă în soluții alcaline (Ce); C. carbonul din acizii humici (C_{ah}) (după Cecilia Neagu, 2006)

Elia de (1981) a observat unele regularități legate de extractabilitatea azotului, mare în solurile brun-luvice, cărora li se atașază un sol cu totul deosebit, cernoziomoidul de la S.C.D.A. Suceava (tabelul 1). Aceste soluri se caracterizează și printr-un raport al formelor extractabile C/N sub 1,05. Cernoziomurile moderat levigate au o extractabilitate moderată a azotului și un raport al formelor extractabile C/N între 1,10-1,20, în vreme ce în cernoziomurile carbonatice extractabilitatea N este slabă, iar raportul formelor extractabile C/N este mare.

Cercetările efectuate la Institutul de la Fundulea au evidențiat că scăderea conținutului în substanță organică al solurilor prin cultivare nu este un proces ireversibil. Cecilia Neagu (2006) atestă că procentul de carbon organic crește proporțional cu doza de îngrășământ azotat (tabelul 2). Creșterea se referă la carbonul extractabil în soluții alcaline diluate și la carbonul acizilor humici.

Tabelul 1

Raportul de extrahibilitate al unor soluri din România (după Eliade, 1981)

Statiunea	Tipul de sol	Extractabilitatea în soluții alcaline (%)		Raport de extrahibilitate a C/N
		N	C	
Suceava	cernoziomoid	49,18	42,18	1,05
Albota	brun luvic, textură grea	48,90	47,43	0,91
Targu Mures	brun luvic	48,84	47,20	0,97
Oradea	brun luvic	46,32	45,95	0,98
Livada	brun luvic, textura ușoara	45,90	42,95	0,90
Șimnic	brun luvic	45,28	46,31	1,02
Fundulea	Cernoziom cambic moderat levigat	40,82	45,15	1,11
Podu-Iloaiei	cernoziom cambic moderat levigat	38,23	44,56	1,16
Lovrin	cernoziom freatic	38,03	46,80	1,20
Valu lui Traian	cernoziom carbonatic	36,48	42,49	1,16
Caracal	cernoziom cambic moderat levigat	37,47	43,48	1,23
Mărculești	cernoziom carbonatic	34,25	41,63	1,22
Turda	cernoziom moderat levigat	30,20	45,53	1,24

Tabelul 2

Evoluția carbonului organic în solul de la I.N.C.D.A. Fundulea, în funcție de doza de îngrășământ azotat încorporat anual (timp de 19 ani) în cernoziomul cambic moderat levigat (după Cecilia Neagu, 2006)

Doza de NH_4NO_3	% de carbon organic total	% de carbon extractabil în alcali	% de carbon din acizii humici	% de carbon din acizii fulvici
0	1,57	0,71	0,46	0,25
60	1,58	0,71	0,46	0,25
120	1,74	0,80	0,49	0,31
180	1,78	0,85	0,52	0,33
240	1,86	0,90	0,54	0,36
DL 5%	0,013	0,018	0,015	
1%	0,018	0,027	0,021	
0,1%	0,028	0,040	0,032	

Ca urmare, conținutul solului în carbon și azot a crescut în perioada 1981-1991. Creșterile cele mai importante s-au înregistrat în cazul rotației culturilor (tabelul 3) și tendințele cele mai importante de creștere s-au înregistrat în cazul în care în fertilizare a fost utilizat și gunoiul de grajd. Totuși, nu poate fi ignorat faptul că Eliade și colaboratorii (1983), Georgeta Oprea (1997) au semnalat în cazul dozelor exagerate de îngrășămintă cu azot (mai exact, peste 100 kg/ha) scăderea conținutului solului în carbon organic, în carbon solubil în soluții alcaline diluate și în carbon din acizii humici.

Fără îndoială, că solul sărăcește în carbon organic mai ales în urma irigației. Eliade și Valeria Chiriță (1982) au semnalat reduceri cu 1,77-3,34% ale conținutului solului în carbon total. Reduceri mai importante (2,54-5,61%) au fost semnalate în cazul carbonului solubil în soluții alcaline diluate, ceea ce înseamnă că fracțiile humice sunt, în mod deosebit, supuse procesului de levigare. Aceste concluzii sunt confirmate de scăderile procentuale ale carbonului din acizii humici (2,32-11,32%) și mai ales fulvici (8-17,12%). O dinamică asemănătoare înregistrează și azotul extractabil în soluții alcaline.

Hera și Eliade (1978) au constatat că, deși încorporarea de paie sau ceni îmbogățește solul în carbon organic, numai un sfert din acest carbon se re-

găsește în carbonul solului în soluții alcaline diluate și practic acesta nu apare în carbonul acizilor humici. Situația însă se schimbă, dacă resturilor vegetale li se adaugă 60 kg N mineral/ha. Un efect mult mai favorabil are însă gunoiul de grajd, care are un coeficient dublu de humificare față de paie – 0,38 față de 0,19 (tabelul 4).

Tabelul 3

Acumularea carbonului organic și al fracțiilor humice, a N total și fracțiilor sale într-o experiență de pe cernoziomul cambic de la ICDA-Fundulea între 1981-1991 (după Cecilia Violeta Neagu, 2006)

Sistemul de cultura	Fertili-zarea	Carbonul total (Ct %)			Carbonul extractabil în alcali (Ce %)			Carbonul din acizii humici (C _{AH} %)			Carbonul din acizii fulvici (C _{AF} %)		
		1981	1999	dife-rența	1981	1999	dife-rența	1981	1999	dife-rența	1981	1999	dife-rența
Monocultu-ră de porumb	N ₀	1,431	1,515	0,084	0,650	0,745	0,095	0,451	0,544	0,093	0,199	0,201	0,002
	NP	1,491	1,586	0,094	0,665	0,793	0,128	0,471	0,499	0,028	0,195	0,294	0,099
	NP + gunoi	1,496	1,682	0,186	0,670	0,768	0,098	0,476	0,552	0,076	0,201	0,216	0,015
Rotație	N ₀	1,521	1,775	0,234	0,669	0,796	0,127	0,489	0,517	0,028	0,181	0,279	0,098
	NP	1,539	1,788	0,249	0,690	0,847	0,157	0,501	0,594	0,093	0,190	0,252	0,062
	NP + gunoi	1,634	1,774	0,139	0,633	0,861	0,228	0,509	0,599	0,090	0,194	0,329	0,135
Sistemul de cultura	Fertili-zarea	N total (%)			N _e (%)			N _{AH} (%)			N _{AF} (%)		
		1981	1999	dife-rența	1981	1999	dife-rența	1981	1999	dife-rența	1981	1999	dife-rența
Monocultu-ră de porumb	N ₀	0,138	0,194	0,056	0,052	0,098	0,046	0,030	0,047	0,017	0,021	0,051	0,030
	NP	0,136	0,181	0,045	0,053	0,095	0,042	0,034	0,050	0,016	0,019	0,045	0,026
	NP + gunoi	0,145	0,186	0,041	0,054	0,103	0,049	0,037	0,048	0,011	0,019	0,055	0,036
Rotație	N ₀	0,147	0,177	0,030	0,057	0,114	0,057	0,035	0,053	0,018	0,022	0,061	0,039
	NP	0,150	0,196	0,045	0,059	0,118	0,059	0,040	0,058	0,018	0,020	0,060	0,040
	NP + gunoi	0,154	0,192	0,038	0,060	0,125	0,065	0,039	0,066	0,027	0,022	0,060	0,038

Tabelul 4

Influența gunoiului de grajd asupra substanței organice a solului (după H e r a și E l i a d e, 1978)

Doza de gunoi de grajd (t/ha)	Ct%	Ce%	C _{ah} %
0	1,67	0,76	0,54
20	1,85	0,80	0,58
40	1,86	0,82	0,59
60	1,96	0,84	0,60

VI. CERCETĂRI PRIVIND BIOLOGIA SOLURILOR TRATATE CU PESTICIDE

Înnoirea tehnologiilor, preconizată odată cu înființarea Institutului de Cercetări pentru Cultura Porumbului de la Fundulea, avea în vedere utilizarea pesticidelor. Aceasta presupunea rezolvarea, de către specialiștii în biologia solului, a cel puțin două mari probleme:

➤ Ce efect au aceste pesticide asupra principalelor procese microbiene care condiționează fertilitatea solului prin acțiunea asupra marilor circuite ale elementelor (C, N, P, S și altele), care stau la baza formării biomasei vegetale, condiționând în acest fel producțiile agricole mari și de calitate.

➤ Efectul microorganismelor asupra moleculelor de pesticide introduse în sol sau ajunse în sol pe diferite căi.

În realitate, problematica pusă de pesticide era mult mai complexă, mai ales că datele oferite de literatura mondială asupra acestor substanțe era extrem de săracă și limitată aproape exclusiv la problemele de tehnologie. Nu exista nici măcar o metodică de dozare a fiecărui pesticid folosit, în funcție de matricile considerate (diferitele soluri, diferitele plante de cultură), la concentrațiile minime care se puteau regăsi în diferitele medii naturale. Sarcina elaborării unor metode de dozare chimică, cel puțin în cazul erbicidelor, a revenit colectivului de la Fundulea. Au fost, prin urmare, adaptate diferite metode spectrofotometrice, de cromatografie în strat subțire (TLC), cromatografie în gaz lichid (GLC) și cromatografie de lichid de înaltă presiune (HPLC) (G h i n e a, 1979; V e r o n i c a D r u m e a și C o r n e l i a I l i e s c u - C h i v u, 2002).

Dozarea chimică a reziduurilor de pesticide s-a dovedit insuficientă pentru evidențierea multiplelor efecte determinate de erbicide în sol și în plantă. A fost, de asemenea, nevoie să se elaboreze metode de testare biologică a diferitelor acțiuni ale acestor substanțe (G h i n e a, 1979; E l i a d e, G h i n e a și Ș t e f a n i c, 1983). Folosirea acestei metodologii complexe a permis determinarea volatilizării pesticidelor, adsorbției pe componentele solului, levigării lor, chiar până la apa freatică, în plante sensibile și rezistente, biodegradarea pesticidelor în plante (prin procese enzimatice și neenzimatice), sol (prin metabolizare și cometabolizare microbiană sau prin cataliza pur chimică) sau în atmosferă (prin procese de fotoliză). Pe baza acestor cercetări, a fost elaborată o schemă a circulației pesticidelor în mediul natural (fig. 4).

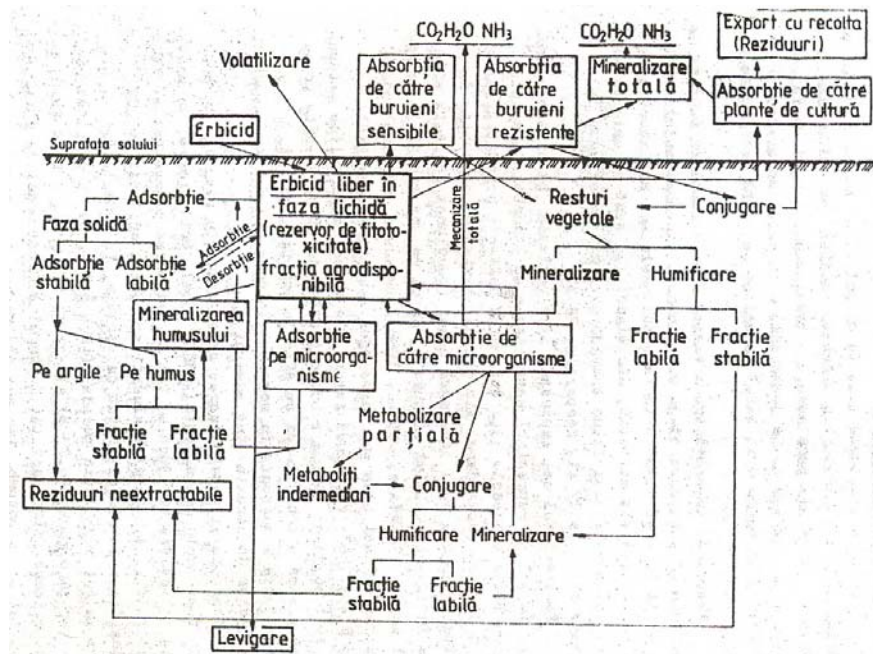


Fig. 4 – Comportarea erbicidelor în sol (G h i n e a și colab., 1996)

Primul grup de pesticide luat în studiu a fost acela al triazinelor începând cu atrazin și simazin, continuând cu prometrin, terbutilazin, cyanazin. Aceste substanțe s-au utilizat intensiv în România, la cultura porumbului precum și alte culturi importante, vreme de o jumătate de secol, terbutilazinul fiind utilizat și în prezent. Acest succes neobișnuit s-a datorat faptului ca triazinele sunt fitotoxice pentru un număr foarte mare de buruieni dicotiledonate și monocotiledonate, sunt foarte bine tolerate de plantele la care se aplică (de porumb, în mod deosebit, dar și de sorg, vița de vie, diferite specii de pomi etc.), sunt slab toxice pentru om și, în general, pentru specii de animale. Acestor calități, cercetările efectuate la Fundulea le-a adăugat și un efect slab asupra microorganismelor din sol (Ana Hulea, Eliade și Ghinea, 1961; Ghinea, 1964, 1966).

Inițial s-a apreciat că atrazinul nu ridică probleme sub raportul levigării sale în sol: erau substanțe slab sau mediocru solubile în apă (5-70 mg/l) și cu o mare afinitate pentru coloizii solului. Ca urmare, s-a apreciat că atrazinul și alte triazine nu migrează în sol cu mai mult de 20-40 cm. În 1986 însă, experiențe efectuate în colaborare de cercetători de la S.C.D.A. Livada, I.C.C.P.T. Fundulea și I.C.P.A. București (Vlăduțu și colab., 1986) cu doze de atrazin de până la 100 kg/ha au evidențiat levigarea atrazinului la adâncimi mai mari de 1 m. Ulterior, atrazinul a fost regăsit în ape freactice și de suprafață în întreaga Europă (Austria, Italia, Germania, Franța). La Fundulea, cercetări efectuate asupra unei experiențe în staționar, veche de 19 ani, au evidențiat atrazinul în sol până la 3 m adâncime (Pestemer, Ghinea și colab., 1982, 1990) și chiar în apa freatică. De fapt, levigarea atrazinului până la pânza freatică a fost principalul argument pentru interzicerea majorității triazinelor (cu excepția terbutilazinului) în Uniunea Europeană. Totuși, având în vedere toxicitatea foarte slabă a triazinelor, aceste substanțe n-au fost interzise în majoritatea țărilor cultivate de porumb, în principal în SUA.

Testările în câmp au relevat ca în România sunt necesare doze de atrazin și alte erbicide reziduale de 2-3 ori mai mari decât în alte țări. Cercetări cu triazina marcată au evidențiat că adsorbția triazinelor pe solurile din România este de 2-3 ori mai puternică în comparație cu solurile din Europa Occidentală (Ghinea și Viorica Gheorghia de, 1970). Aceleași cercetări au evidențiat că există un decalaj între adsorbția și desorbția triazinelor în sol, fenomen descris ulterior de către alți cercetători ca histerezis.

Au fost efectuate cercetări asupra principalelor tipuri de sol din România, neîngrășate, fertilizare cu NP și fertilizate cu gunoi de grajd (Hera și colab., 1982). Adsorbția este determinată de conținutul de argile din sol (factorul principal), de procentul de substanță organică (de humus) și de pH (Pestemer și colab., 1982; Ghinea și colab., 1986; Ghinea, 1990).

Cercetările privind degradarea atrazinului în sol a evidențiat că procesul este de natură biologică și în acesta sunt implicate numeroase microorganisme: mucegaiuri din genurile *Aspergillus* și *Penicillium* (mai ales *P. frequentans*, specia dominantă în micoflora cernoziomului de la Fundulea) și *Fusarium*; bacterii nesporogene (din genul *Pseudomonas*) și chiar sporogene (Ghinea, 1965). Cercetări ulterioare au evidențiat un metabolit dehidroxilat al atrazinului, acesta fiind legat de ciupercile din genul *Fusarium*, care produc metilmetoxibenzoxazolinonă (MBOA), care catalizează acest proces (Ghinea și Viorica Gheorghia de, 1970). Pe de altă parte, mucegaiurile din genurile *Aspergillus*

și *Penicillium* produc dehalchilarea atrazinului, iar cercetările ulterioare (P e s t e m e r și colab., 1990) au evidențiat în sol, cu regularitate, desetiltrazin și, accidental, deizopropilatrazin, ceea ce atesta că în sol sunt utilizate ambele căi de dehalchilare, dar mai ales desetilarea. De altfel, cercetări ulterioare efectuate în alte țări au evidențiat desetiltrazinul ca metabolitul cel mai obișnuit al atrazinului, el fiind evidențiat și în atmosferă de către cercetătorii germani. Atât deizopropilatrazinul, cât și desetiltrazinul sunt mai greu biodegradabile decât atrazinul (D o i n a P l a x i e n c o și colab., 1993; G h i n e a și colab., 1992).

Cercetările de la Fundulea au condus la concluzia că degradarea triazinelor în sol este, de regulă, un proces cometabolic, deși descompunerea poate avea loc mai rapid în prezența concentrațiilor mari de reziduuri triazinice în sol, ceea ce conduce la tendința de egalizare a acestora, indiferent de doza de la care se pornește. Totuși, întotdeauna vor exista diferențe în funcție de doza administrată.

Degradarea triazinelor în sol încetează la umidități mai mici de 10-13% și la temperaturi sub 10°C (G h i n e a și colab., 1996). Timpul de înjumătățire al atrazinului în cernoziomul de la Fundulea este de 55 de zile la 10°C și de 32 de zile la 20-30°C.

Atrazinul se administrează, de regulă, în doze de 1,5-2 kg/ha, astfel încât să se realizeze în sol concentrații de 0,1-1 mg/kg sol. În schimb, concentrații mult mai mici de atrazin pot provoca scăderea producției plantelor sensibile (soia, grâu, in), iar la plantele foarte sensibile (floarea-soarelui, rapița, sfecla de zahăr) scăderi importante se înregistrează chiar la 1% din doza de atrazin inițial încorporat (fig. 5). Aceasta este explicația pierderilor înregistrate frecvent la culturile postemergente porumbului tratat cu atrazin în deceniul 1970-1980, în special la grâu. Soluția cea mai exactă pentru a evita remanența atrazinului la grâu era biotestarea (în figura 6 se redă modul de valorificare a unor bioteste).

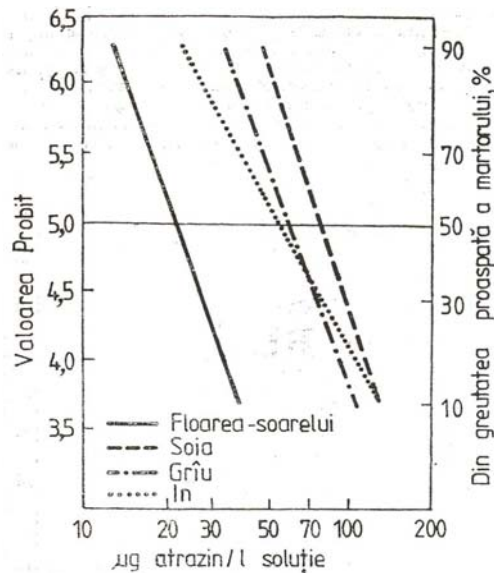


Fig. 5 – Sensibilitatea comparativă la atrazin a patru plante de cultură (după P e s t e m e r și colab., 1982)

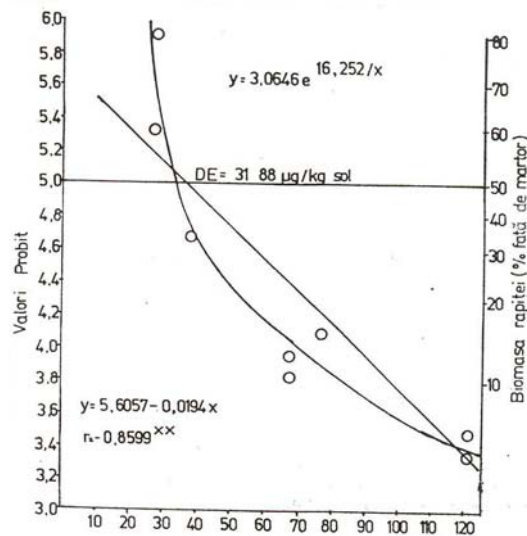


Fig. 6 – Sensibilitatea rapiței la atrazin (corelarea se face folosind două modele: unul linear și altul exponențial (după Ghinea și colab., 1986)

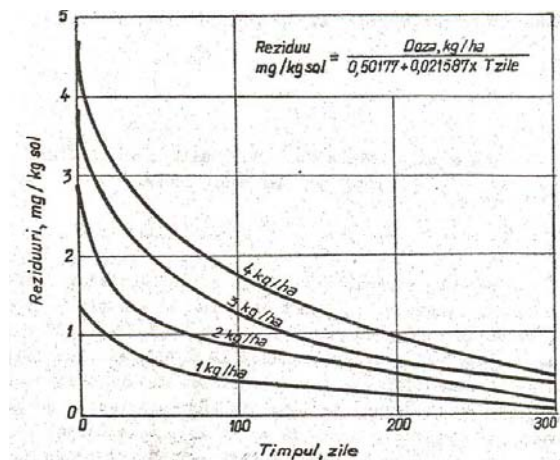


Fig. 7 – Dinamica descreșterii concentrației rezidurilor la diferitele doze de trifluralin introduse în sol (după Vlăduțu și colab., 1988)

Activitate fitotoxică au numai moleculele de erbicide libere în soluția solului, nu și cele adsorbite pe argile și diverse fracții humice. Materialele humificate sau humificabile, sporind adsorbția atrazinului în sol, reduc efectul fitotoxic al acestuia, dar îi lungesc perioada de activitate, deoarece microorganismele descompun și ele tot numai moleculele de atrazin libere în soluția solului (fig. 7).

Cercetările întreprinse la Fundulea au arătat că folosirea triazinelor nu are ca urmare acumularea reziduurilor acestor erbicide în plante. Nu au fost găsite reziduuri de triazine în boabele de porumb (ele pot apare în porumbul masă verde, dar în cantități ne semnificative). Reziduuri de cianazin și alte triazine n-au fost găsite în boabele de grâu. Reziduuri de atrazin au fost însă găsite uneori în boabele de mazăre. Adesea au fost găsite mici cantități de reziduuri triazinice în tuberculii de cartof și în fânul de lucernă (G h i n e a și colab., 1973).

Alte cercetări au arătat că tratarea porumbului cu triazine poate ameliora, în oarecare măsură, calitatea fracțiilor proteice din porumb (H e r a și colab., 1974; 1976).

Un erbicid larg utilizat în agricultura României este graminicidul trifluralin, folosit la culturile de floarea-soarelui, leguminoase ș.a. Produsul poate determina efecte remanente la culturile postmergătoare celor tratate. Astfel, o depășire a dozelor recomandate cu numai 25% poate provoca scăderi de producție la sfeclă de zahăr și soia, (H e r a și colab., 1987), scăderi determinate de reduceri ale densității culturilor respective, dar mai ales ca o scădere a numărului de nodozități fixatoare de azot pe rădăcini (fig. 8).

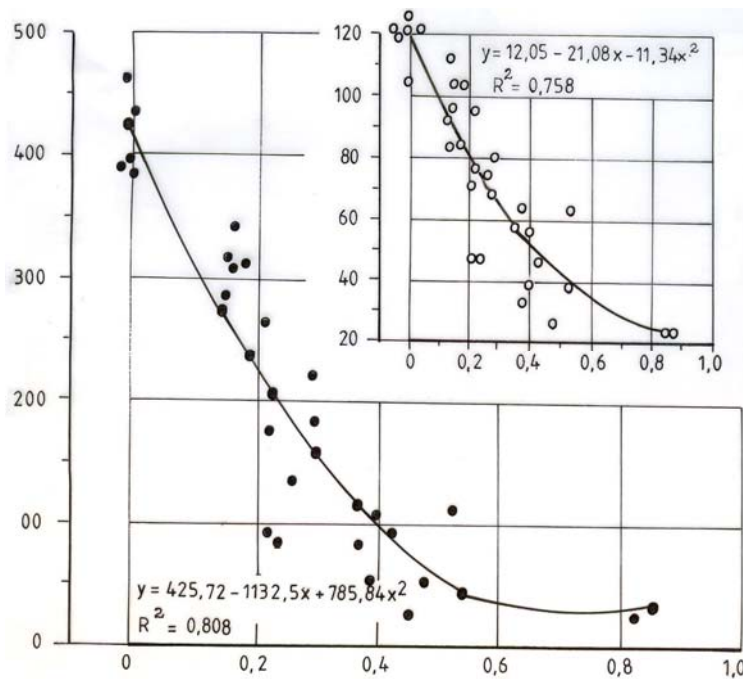


Fig. 8 – Regresia densității și a producției de sfeclă de zahăr cultivată în 1986, în funcție de reziduurile de trifluralin determinate după 300 de zile de la aplicare (S.C.C.I. Mărculești) (După H e r a și colab., 1987)

În ceea ce privește efectele remanente, s-au înregistrat scăderi de producție la grâu, dar mai ales la porumb și sfecla de zahăr, scăderile fiind proporționale cu cantitățile erbicidului în sol (tabelul 5).

Tabelul 5

Influența concentrațiilor de trifluralin determinate la data semănatului culturii postmergătoare de pe cernoziomul vermic de la Mărculești (după V l ă d u ț u și colab., 1988)

Producția, % față de martor	Concentrația trifluralinului în sol (mg/kg) la semănatul culturii postmergătoare		
	Grâu	Porumb	Sfecla de zahăr
95	0,218	0,0624	0,0302
90	0,315	0,128	0,0616
50	1,446	0,654	0,313

Este interesant de observat că uneori nu se înregistrează scăderi de producție la grâul semănat în octombrie, imediat după recoltarea soiei, dar, dacă în anul următor după recoltarea grâului se seamănă porumb, această din urmă cultură poate fi afectată.

Solul tratat cu trifluralin este detoxificat, procesul de inactivare fiind descris de o curbă logaritmică, iar cantitatea de reziduuri se poate calcula după ecuația:

Reziduuri de trifluralin (mg/kg sol) = Doza de erbicid aplicată (kg/ha) A + B x timpul, în zile (valorile coeficienților A și B au fost determinate empiric ca egale cu 0,50177, respectiv, 0,021587).

Un efect remanent a fost, de asemenea, înregistrat la erbicidul lenacil (Venzar). În tabelul 6 se redau cantitățile de reziduuri la care se pot înregistra reduceri de producție la culturile cele mai sensibile.

Tabelul 6

Cantitățile de reziduuri de lenacil care pot determina diminuări de producție la culturile cele mai sensibile (mg/kg sol) pe cernoziomul cambic moderat levigat de la Fundulea și, respectiv, solul brun luvic de la Moara Domnească (după G h i n e a și M a r i a n a T u r c u, 1989, date nepublicate)

Producția, % față de martor	Cernoziom cambic	Sol brun luvic
95	0,066331	0,04439
90	0,13266	0,08879
70	0,39799	0,26636
50	0,56619	0,44393

Dintre erbicidele mai nou intrate în practica agricolă, imazetapirul (Pivotul) are o persistență foarte mare. Determinările efectuate în laboratorul de la Fundulea (M a r i a n a T u r c u și colab., 1995) au evidențiat, la 180 zile de la aplicare, prezența a 89,3% din doza inițială în solul brun-luvic de la Lugoj și 85,2% în cernoziomul cambic de la Lovrin, în cazul solului incubat la 5°C, 67,6%, respectiv 65,3% în aceleași soluri incubate la 15°C și 54,3%, respectiv, 48,3% în solurile incubate la 35°C. Ca urmare, s-au determinat următorii timpi de înjumătățire (în zile) (T50): 559-607 la 5°C; 208-316 la 15°C; 153-182 la 35°C în cazul solurilor incubate în laborator. Determinările din câmpul experimental au dat însă un timp de înjumătățire de numai 82-93 zile, ceea ce evidențiază un rol important al levigării în procesul de detoxificare. Dozele fitotoxice de imazetapir pentru trei soluri se redau în tabelul 7 (M a r i a n a T u r c u și colab., 1997).

Tabelul 7

**Doza fitotoxică de imazetapir pentru cultura de sfeclă de zahăr ($\mu\text{g/kg}$ sol) pe trei soluri
(după **M a r i a n a T u r c u** și colab., 1997)**

Doza g/ha	Producția de sfeclă de zahăr (% din producția martorului)			
	Cernoziom cambic (Lovrin)	Brun luvic (Lugoj)	Albisol (Livada)*	
			1995	1996
50	70,97	66,28	35,62	79,17
75	58,34	54,00	43,72	71,53
100	46,94	43,90	-	-
150	-	-	32,50	30,53
200	13,71	19,26	-	-

*sfecla furajeră

Având în vedere toxicitatea ridicată a dipiridililor, lipsa unor tratamente eficiente în cazul intoxicațiilor și unele caracteristici nefavorabile ale acestora, în laboratorul de la Fundulea a fost asimilată o metodă spectrofotometrică pentru dozarea acestora. Datele obținute în cazul inului desicat (G h i n e a și colab., 1974) au permis precizarea unui risc mai mare în cazul în care tratamentul se efectuează cu paraquat, comparativ cu situația în care în tratament se utilizează diquatul.

La sfârșitul secolului al XX-lea și în prezent printre cele mai importante erbicide sunt sulfonilureidele. Cercetările colectivului de la Fundulea au avut în vedere și această categorie de substanțe. Două sulfonilureide (nicosulfuronul și amidosulfuronul) într-un sol foarte permeabil (psamosolul de la Dăbuleni) evident migrează pe întreg profilul solului, cu acumulare între 20-80 cm. În ceea ce privește persistența în sol, nicosulfuronul aplicat în doza de 60 g/ha și-a redus concentrația la 87,85%, în cazul dozei de 80 g/ha reducerea a fost de 94,08% iar în cazul dozei de 120 g/ha reducerea a fost de 96,16%.

Ca urmare a cercetărilor întreprinse în perioada 1961-1970, în laboratorul de la Fundulea, s-a conturat concluzia că efectul pesticidelor asupra activității microbiene din sol poate fi caracterizat prin trei teste aplicabile la serii mari de probe și cu un grad satisfăcător de precizie: respirația solului (estimată inițial prin testul dehidrogenazic și ulterior prin dozarea CO_2 degajat prin respirația microorganismelor), capacitatea de mineralizare-nitrificare și activitatea celulolitică. Primele determinări (G h i n e a și Ș t e f a n i c, 1971; C h i r i ț ă și G h i n e a, 1971) au evidențiat ușoare inhibări ale procesului de mineralizare-nitrificare în cazul triazinelor (atrazin, simazin) și substituienților ureici (monolinuron, Benzo-marck) și efecte nesemnificative ale aminotriazolului, tiolcarbamaților (butilat, cicloat, molinat), acetanilidelor (alaclor, propaclor), toluidinelor (trifluralin, nitratin), bromoxinilului și clorambenului. Totuși, cercetările au determinat că dicamba are o acțiune mai slabă asupra microflorei solului decât bromoxinilul și acesta a fost unul din argumentele pentru extinderea sa mai mare la tratarea grâului (C h i r i ț ă, G h i n e a și Ș t e f a n i c, 1977).

Printre erbicidele mai noi, nicosulfuronul a avut acțiunea cea mai agresivă asupra mineralizării și nitrificării în sol (G h i n e a și colab., 1996; G h i n e a și colab., 1997). De asemenea, o acțiune inhibitoare a avut fluocloridona, în vreme ce glufosinatul de amoniu și mai ales rimsulfuronul au fost lipsite de acțiune toxică. Este interesant de comparat efectul nicosulfuronului (Mistralul) și al rimsulfuronului (Titus), produse cu compoziție similară, dar totuși diferite ca efect biologic.

La Institutul de la Fundulea a fost testat sortimentul de erbicide propuse pentru tratarea grâului, sortiment format din fenoxialcani și sulfonilureide, sub raportul reziduurilor în semințe și al calității pâinii obținute din plantele tratate. Datele au demonstrat că nu există probleme legate de reziduuri, dar făina obținută din semințele de grâu tratate cu fenoxialcani a permis să se obțină o pâine cu calitate superioară comparativ cu aceea obținută din semințele grâului tratat cu sulfonilureide.

VII. CERCETĂRI CU PRIVIRE LA PRODUCEREA ȘI FOLOSIREA COMPOSTURILOR ÎN AGRICULTURĂ

În practica agricolă există trei moduri de aplicare a îngrășămintelor organice constituite din dejecțiile animalelor: încorporarea în sol a materiilor brute, neprelucrate, fertilizarea cu composturi produse în condiții de anaerobioză și, mai modern, fertilizarea cu composturi obținute în condiții de aerobioză. Prin compostarea aerobă se obține un compost cu reacție chimică neutră, liber de produși chimici toxici și de agenți patogeni. În anul 1976 au început cercetările privind tehnologia compostării aerobe și au fost introduse în experiențe de câmp, pe diferite tipuri de sol, primele composturi obținute din nămol de porc cu 70-80% umiditate, în amestec cu paie de grâu și biopreparate, de dirijarea și stimularea unor procese de biodegradare a deșeurilor organice și de sinteză a substanțelor humice. Composturile obținute au fost lipsite de mirosul dezagreabil specific nămolului de porc, au fost ușor de transportat și împrăștiat mecanizat pe sol, pentru că aveau numai 40-45% umiditate și o structură mărunțită, nefibroasă. În anii următori au fost realizate composturi cu diferite proporții de resturi vegetale, apoi cu diferite tipuri: tulpini de soia, porumb, floarea-soarelui, muștar, rapiță, precum și puzderia de la in și cânepă de la topitorii.

Cercetările desfășurate în Stațiunile de Cercetări Agricole de la Caracal, Oradea, Câmpul Experimental Didactic Periș și în câteva unități de producție au condus la stabilirea unor tehnologii de compostare aerobă adecvate diverselor posibilități și situații din apropierea sau chiar din incinta stațiilor de epurare ale întreprinderilor de creștere industrială a porcilor. Materialele de compostat (nămolul porcilor plus resturile vegetale) au fost amestecate în proporție de 8 + 2 sau 9 + 1 părți (în greutate), în funcție de umiditatea nămolului și de raportul carbon/azot al componentelor. Biopreparatele produse de Institutul de Cercetări pentru Pedologie și Agrochimie s-au folosit la construirea grămezii starter (grămada mamă) care a fost apoi inclusă prin amestecare cu celelalte deșeuri în grămada de compostare. Au fost stabilite dimensiunile optime și forma grămezii de compostare, durata desfășurării compostării, momentele de aerisire și omogenizare a materialelor din grămadă (remaniere), dinamica optimă a temperaturii din interiorul grămezii, regimul de umiditate, modalitatea de asigurare a aerației fără efectuarea lucrărilor de remaniere etc. (Ș t e f a n i c și colab., 1986)

Colectivul de Chimia și Biologia Solului din I.C.C.P.T. a efectuat cercetări complexe asupra diferitelor șarje de compost și a solurilor fertilizate cu compost, pentru a obține informații utile despre calitatea composturilor ca ferment și ca sursă de energie accesibilă pentru microflora solului. Au fost stabilite limitele de conținuturi în azot, carbon și fosfor în diferitele composturi obținute.

Analizele biologice efectuate asupra probelor de sol într-o experiență de câmp de la S.C.A. Caracal, unde s-au aplicat de două ori în 6 ani câte 60 de t/ha compost din namol de porc, au evidențiat influența favorabilă asupra solului. Cantitatea planificată de 60 t/ha a fost aplicată o dată la 4 ani și s-a justificat prin scopul avut în vedere de a remedia dezechilibrul evident ce s-a manifestat în sol, ca urmare a aplicării îndelungate a dozelor mari de azotat de amoniu. Efectul favorabil al compostului s-a manifestat imediat, atât în stimularea vieții microbiene a solului, cât și asupra calității recoltelor prin rotația grâu-porumb-soia și sfecla de zahăr.

VIII. CERCETĂRI PRIVIND PRODUCEREA ȘI UTILIZAREA BIOPREPARATELOR PE BAZĂ DE FIXATORI DE AZOT SIMBIOTIC LA LEGUMINOASE

În anul 1933 a început importul, din Germania, a biopreparatelor „Radicin” și „Biogen” conținând bacteriile simbiotice fixatoare de azot molecular *Bradyrhizobium japonicum*. Prețul ridicat și uneori calitatea nesatisfăcătoare a acestor biopreparate a determinat colectivul condus de Alice Aroneanu să selecționeze tulpini active simbiotice și, în 1937, să producă biopreparatul „Vaccin-soia” realizat pe substrat de agar. Până în pragul războiului, au fost livrate agriculturii între 3000 și 5000 flacoane anual. Un flacon asigura inocularea semințelor de soia pentru 0,5 ha.

După înființarea în 1954 a Centrului Experimental de Îngrășămintă Bacteriene (CEIB), odată cu lărgirea sortimentului de Nitragin a crescut și producția, ajungând în 1958 la următoarele cantități de borcane (în mii): Nitragin-soia (35), Nitragin-mazare (7), Nitragin-fasole (3,5), Nitragin-lucerna (19), Nitragin-trifoi (11), Nitragin-măzărice (11). Paralel cu dezvoltarea cercetărilor de selecție și tehnologie de fabricație s-au creat și câmpuri de selecție și demonstrare a eficienței simbiotice în diferite zone pedoclimatice din țară. Conținutul unui borcan era suficient pentru 0,5 ha de cultură pentru oricare din plantele leguminoase specifice.

Ștefanic și colaboratorii au reușit în 1958 să elaboreze cu succes primele sarje dintr-un nou tip de Nitragin, produs pe substrat de agar conținând decoct de fasole sau amestec de săruri minerale, la care se adaugă, ca material energetic, glucoză pentru culturile cu creștere înceată și zaharoză, pentru cele cu creștere rapidă, care au fost cele mai eficiente biologic și economic. Reducerea cheltuielilor de fabricație, simplificarea operațiunilor tehnologice și posibilitatea efectuării unui control riguros, prin vizualizarea fiecărui flacon, contra trimerii pe teren a unor biopreparate infectate, au condus la trecerea în totalitate a fabricației pe noua tehnologie.

Cercetări importante întreprinse de Bălan și colab., în perioada 1962-1976, în cadrul Institutului de Cercetări pentru Cereale și Plante Tehnice – Fundulea au aprofundat și au lărgit cunoașterea biologiei speciilor de *Rhizobium*, au contribuit la crearea unei noi colecții bacteriene cu tulpini de mare capacitate simbiotică și cu înalte calități tehnologice pentru industria microbiologică. Colaborând cu numeroși cercetători, specialiști în fitotehnie și agrotehnică, Bălan a reușit să obțină omologarea la Comisia de Stat pentru Încercarea și Omologarea

Soiurilor (C.S.I.O.S.) de tulpini bacteriene cu care s-a produs Nitraginul. Pentru aceasta, Bălan a creat microculturi de leguminoase în diferite zone pedoclimatice ale țării, obținând plante cu nodozități din microflora simbiotică specifică spontană.

În scopul selecției continue de tulpini de *Rhizobium*, cât mai adaptate condițiilor de mediu, au fost testate 52 de tulpini din diferite specii față de acțiunea antagonistă a 49 de tulpini de microorganisme cuprinzând specii de bacterii heterotrofe și 45 de tulpini de actinomicete. Rezultatele cercetărilor au arătat că în rizosfera principalelor plante leguminoase se găsesc numeroși antagoniști față de reprezentanții genului *Rhizobium* (Bălan și colab., 1970).

Cercetările dirijate pentru a stabili răspândirea bacteriofagilor anti-*Rhizobium* în solurile românești s-au efectuat pe o gamă de 168 de probe de sol (Bălan și colab., 1970). În concluzie, s-au semnalat în mod frecvent fagi anti-*Rhizobium* cu un spectru larg de activitate litică. Tulpinile de *Rhizobium phaseoli* și *Bradyrhizobium japonicum* au înregistrat cea mai ridicată lizosensibilitate. Comparativ, numărul cel mai mare de tulpini s-a găsit la *Rhizobium leguminosarum* (33-35%) și la *Bradyrhizobium lupini* (43%).

Tulpinile de *Rhizobium* sp. izolate de dr. Nicolae Bălan au fost verificate și cu privire la reacția lor față de îngrășarea chimică cu azot, precum și sub aspectul efectului simbiozei asupra producției vegetale. Rezultatele obținute în Câmpul experimental Saftica (Bălan și colab., 1970) au fost confirmate și în alte câmpuri experimentale, atât în condiții de irigare, cât și fără irigare. Astfel, la Stațiunea de Cercetări Agricole Târgu-Mureș, tulpina SO-69 a dat un spor de recoltă de 22% față de varianta nebacterizată, la S.C.A. Livada (județul Satu Mare), un spor de 22%, la Valea Lupului – Iași, sporul a fost de 30% (Cântar și colab., 1969), la S.C.A. Brăila, de 35% și la Coțofeni – Dolj, de 56%. Calitatea și eficiența biopreparatelor românești de tip Nitragin au fost confirmate și în alte țări unde au fost exportate (URSS, Bulgaria, Iran).

Într-o altă etapă cercetările au avut în vedere:

► organizarea colecției de specii și tulpini bacteriene de interes agricol, conform normelor internaționale privind Băncile de Microorganisme. Principalele specii introduse în colecție: *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium phaseoli*, *R. leguminosarum*, *R. trifolii*, *R. meliloti*, *R. loti*, *Rhizobium* sp., *Azospirillum brasilense*, *A. lipoferum*, *Beijerinckia* sp. (ultimele două specii izolate pentru prima dată în România), *Agrobacterium tumefaciens*, *A. radiobacter* și *A. rhizogenes* (utilizate ca surse de vectori – plasmide *Ti* în biotehnologie) ;

► caracterizarea și clasificarea serologică a tulpinilor de *Bradyrhizobium japonicum* în 7 serogrupuri (pe bază de antigene somatice și antigene solubile) ;

► selecția de tulpini bacteriene simbiotice pentru speciile de leguminoase cultivate în România pe baza unui complex de tehnici și criterii: specificitate și eficacitate ridicată de fixare a azotului atmosferic, competitivitate pentru formare de nodozități față de populațiile native din sol, supraviețuire și multiplicare în sol și rizosferă, compatibilitate cu pesticidele și capacitate de fixare în prezența unor factori adversi de mediu, calități de fabricație pentru bioinoculanți. Selecția pentru eficacitatea de fixare a azotului atmosferic s-a efectuat în câmpurile experimentale ale Institutului și rețelei de stațiuni de cercetare, universități agricole și alte centre de cercetare prin experiențe comparative în cicluri de 4 ani, a-

vând drept criterii sporurile de producție realizate față de variante martor neinoculate (sporurile determinate de tulpinile foarte eficiente au fost cuprinse între 19 și 33%), precum și cantitățile de azot fixat determinate prin metoda diluției izotopice (^{15}N) (Ana Popescu, 1979; Hera și colab., 1981);

- în scopul îmbunătățirii nutriției cu azot a plantelor leguminoase s-au obținut tulpini mutante de *B. japonicum* și *R. phaseoli*, tolerante față de prezența azotului combinat din sol (prioritate mondială). Cantitățile de azot fixat prin simbioză cu tulpinile mutante de *Bradyrhizobium*, estimate prin metode izotopice, au atins 220 kg N/ha. În același scop, al îmbunătățirii nutriției cu azot, au fost studiate interacțiunile dintre soiuri de plante și tulpini bacteriene, stabilindu-se cele mai bune combinații simbiotice între parteneri (Ana Popescu, 1997; Morea și Ana Popescu, 1990);

- s-a studiat rolul lectinelor vegetale în procesul de recunoaștere celulară, implicat în fixarea biologică a azotului (Hera și Ana Popescu, 1984; Andras și colab., 1986);

- s-au elaborat noi tipuri de bioinoculanți Nitragin pe suport solid (turbă);

- s-au produs bioinoculanți pe bază de *Azospirillum* și *Beijerinckia* (Hera și colab., 1981);

- s-au efectuat cercetări preliminare pentru realizarea transferului de gene *nif* (Hera și Ana Popescu, 1986; Iliescu și colab., 1994);

- s-au identificat pentru prima dată în orezăriile din țară asociațiile *Anabena* – *Azolla*;

- s-au elaborat biopreparate inoculante pe bază de tulpini selecționate din genul *Pseudomonas*, cu rol în producerea de regulatori de creștere și stimulare a aparatului radicular al plantelor.

După 1990, s-a avut în vedere testarea tulpinilor de *Rhizobium* și *Bradyrhizobium* pentru rezistența la bacteriofagi, la acțiunea antagonistă a actinomicetelor și micromicetelor. Vasilița Palanciuc (2000) a testat în acest scop câte 40 de tulpini ale bacteriilor simbiote pentru diferite leguminoase. În ceea ce privește rezistența la bacteriofagi, s-a remarcat tulpina de *Bradyrhizobium japonicum* SO 618. Tulpina are o înaltă capacitate de fixare a azotului și toleranță la insectofungicidele utilizate la soia.

S-a stabilit rezistența la bacteriofagi și pentru alte tulpini de bacterii simbiotice. Au fost, de asemenea, identificate tulpini bacteriene rezistente la acțiunea antagonistă a micromicetelor și actinomicetelor, iar rezistența a fost verificată și cu antibiotice uzuale.

S-a testat, de asemenea, rezistența bacteriilor din genurile *Rhizobium* și *Bradyrhizobium* la secetă, efectul asupra producției și calității uleiului.

S-a precizat că rezultatele cele mai bune se obțin cu preparate politulpinale. Pentru soia s-au recomandat tulpinile: SO 618 (care a fost prezentată), SO 7 (rezistența la acțiunea antagonistă a actinomicetelor, micromicetelor și antibioticele uzuale, toleranța la secetă), SOFR 10 și SO 3407.

Dintre erbicidele utilizate la leguminoase, cele mai toxice pentru bacteriile simbiotice s-au dovedit: imazetapirul (Pivotul), cletodimul și quizalofop-etilul. Toți, simbioza s-a instalat și la culturile tratate cu aceste erbicide.

Cercetările privind rezistența bacteriilor din genurile *Rhizobium* și *Bradyrhizobium* au continuat după anul 2000 (L. Ghinea, D. Prodan, Ioana

Prodan, Raluca Cristea, Georgeta Oprea, G. Ștefanic, 2003 – Raport la contractul Relansin 975). Au fost testate rezistența bacteriilor simbiotice pentru soia și fasole față de 120 de actinomicete izolate din cernoziomul de la Fundulea și Teleorman (*Streptomyces griseus*, *S. cinereus*, *S. albosporeus*, *S. violacetoruber*, *S. lavendulae* – după determinatorul Gause) și micromicete din genurile *Penicillium*, *Aspergillus* și *Trichoderma*.

A fost testată, de asemenea, toleranța bacteriilor simbiote pentru soia și fasole la tratarea culturilor cu erbicidele Aramo și Bd 3 F656-08H. Cercetările au arătat o bună toleranță, cu excepția tulpinilor de *Bradyrhizobium japonicum* de proveniență americană.

RESEARCH IN THE SOIL CHEMISTRY AND BIOLOGY

Summary

The paper presents the most important conclusions of the research performed during 50 years by researchers of soil biology staff (as part of Institute Fundulea). As follows of these researches, the experts of Fundulea elaborated a new definition of soil fertility, as expression of its entropy (soil energetical state), which determines the molecular structure of soil organic matter, physic-mechanical structure as well as pedobiocenosis one.

A system of indicators to evaluate the fertility level was also elaborated, indicators based on evaluation of pedobiocenosis respiration and of some exoenzymes accumulated into soil. For all these indicators, new methods to determinate them were performed.

Research to quantitatively and taxonomically evaluate the soil microflora and rhizosphere were also achieved, using an original and improved methodology. The cellulose intensity, mineralization and nitrification were determined. The study of mineralization-nitrification processes was performed by Waksman method, but to establish the air-water effect on these processes, a new method of sample incubation with keeping their natural structures was elaborated.

Exhaustive researches were dedicated to mineralization synthesis of soil organic matter, establishing its evolution during time, depending on applied crop management technologies, especially soil tillage, fertilization and irrigation.

Another research direction was to determine the interrelations between pesticides applied on soil and its microorganisms, to establish the microorganism effect on pesticide molecules, their decomposition by metabolic, co-metabolic and conjugation processes as well as the pesticide effect on various groups of microorganisms from treated soils. The dynamics of some pesticide loss into soil (especially triazine, lenacil, trifluralin, imazetapyr), the accumulation of harmful residues into soil and plant susceptibility to these were established.

Taking over an inter-war tradition (Waksman, Gordon and Hulpoi), research on organic residue composite were performed, establishing recommendations for agricultural practice.

Finally, exhaustive research had as aim the symbiotic nitrogen fixators, obtaining symbiotic microorganisms belonging to genera *Bradyrhizobium* and *Rhizobium* for all legumes species in Romania.

The isolated strains were tested for resistance to bacteriophagous, actynomicetes and antagonistic micromycetes, tolerance to main pesticides used in symbiotic plants.

Figures

Fig. 1 – Relations between soil fertility and productivity (Ghinea, 1981)

Fig. 2 – Intensity of nitrogen nitrification in cambic chernozem from Fundulea (Above – no ammonium sulphate adding; Down – with ammonium sulphate adding depending on the soil moisture and volumetric weight) (after Hulpoi et al., 1966)

- Fig. 3 – Correlation of nitrogen fertilizer rates applied during 19 years in cambic chernozem from Fundulea on clay evolution: A – total organic carbon (Ct); B – organic matter extractable in alkaline solutions (Ce); C – carbon from humic acids (C_{ah}) (after Cecilia Neagu, 2006)
- Fig. 4 – The behaviour of the herbicides into soil (Ghinea et al., 1996)
- Fig. 5 – Comparative susceptibility to atrazine of four crops (after Pestemer et al., 1982)
- Fig. 6 – Rape susceptibility to atrazine (correlation is made using two models: linear and exponential) (after Ghinea et al., 1986)
- Fig. 7 – Dynamics of residues concentration decreasing of different trifluralin rates introduced in soil (after Vlăduțu et al., 1988)
- Fig. 8 – Regression of density and yield at sugar beet cultivated in 1986 depending on trifluralin residues determined after 300 days of application, at Mărculești Station (after Hera et al., 1987)

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- BĂLAN, N., DINCĂ, D., GALBENU, ELENA, MUNTEANU, O., TĂBĂRAN, T., 1970 – *Selecția de tulpini bacteriene din populațiile autohtone de Rhizobium japonicum*. An. I.C.C.P.T. Fundulea, 36, B: 596-607.
- BĂLAN, N., GALBENU, ELENA, PRODAN, D., 1970 – *Cercetări asupra bacteriofagiei la unele specii ale genului Rhizobium*. Microbiologia I, 531-535. Conf. Nat. Microbiol. Gen. Aplic., București, 1968.
- CHIRIȚĂ, VALERIA, GHINEA, L., ȘTEFANIC, GH., 1976 – *Efectul erbicidelor bromoxinil și dicamba asupra activității microbiene a solului*. Lucr. Conf. Nat. St. Solului: 295-300.
- ELIADE, GH., GHINEA, L., ȘTEFANIC, GH., 1975 – *Microbiologia solului*, Edit. Ceres, București.
- ELIADE, G., GHINEA, L., ȘTEFANIC, G., 1983-1983 – *Bazele biologice ale fertilității solului*. Edit. Ceres, București.
- GHINEA, L., 1964 – *L'influence des aminotriazines sur l'activité microbiologique du sol*. 8th Int. Congr. Soil Sci., Transactions, 3: 857-869.
- GHINEA, L., 1966 – *Influența unor erbicide aminotriazinice asupra activității microbiene a solului*. Teza de doctorat, Univ. București.
- GHINEA, L., 1975 – *Marile circuite naturale ca sisteme autoreglate*. În volumul „Cibernetica și mediul”. Deva: 83-92.
- GHINEA, L., 1987 – *Research on the residual effects of atrazine in Romania*. Bull. Acad. Sci. Agric. Forest., 17: 201-219.
- GHINEA, L., 2002 – *Curs de Biologia – Microbiologia solului*. Edit. Agroprint, Timișoara.
- GHINEA, L., GHEORGHIADĂ, VIORICA, 1970 – *Erbicidele în sol*. Edit. C.I.D.A.S., București.
- GHINEA, L., ELIADE, GH., PINTILIE, C., GHEORGHIADĂ, VIORICA, 1967 – *Influența sistemului minim de lucrări asupra activității microflorei solului*. Șt. Solului, 5: 128.
- GHINEA, L., RĂDULESCU, VALERIA, VĂLĂDUȚU, I., FRITEA, T., TURCU, MARIANA, 1986 – *Unele aspecte ale efectului residual al atrazinului*. An. I.C.C.P.T.- Fundulea, 53: 415-431.
- GHINEA, L., TURCU, MARIANA, IANCU, MARIA, ȘTEFANIC, GH., 1997 – *Biological activity in a psamosol treated with a non-selective and sulphonilurea herbicides*. 10th EWRS Symp., Poznan : 188.
- GHINEA, L., VLĂDUȚU, I., CRĂCIUN, M., CRĂCIUN, IOANA, CHIRIȚĂ, VALERIA, 1992 – *Les pesticides et l'ambiental. Le cas de l'atrazine*. Probleme de agrofitehnie teoretică și aplicată, 14, 1-2 : 59-74.
- GHINEA, L., 1979 – În volumul „Metode pentru determinarea reziduurilor de produse fitofarmaceutice” (Grou, Elvira, Cicotti, M., Ghinea, L., Rădulescu, Valeria, Goga, Elena, eds). Edit. Ceres, București.
- HERA, CR., ELIADE, GH., 1978 – *Evoluția unor indici ai fertilității solului în experiențe de lungă durată cu îngrășăminte*. An. I.C.C.P.T.- Fundulea, 43: 175-179.
- HERA, CR., POPESCU, ANA, 1986 – *Research on symbiosis between Rhizobium japonicum and soybean*. Eurosoya, 4: 72-90
- HERA, CR., POPESCU, ANA, PAPACOSTEA, P., 1981 – *Asociații fixatoare de azot la plante neleguminoase*. Lucr. Conf. Naț. Șt. Solului, Brașov, 27, 8 : 1; 9 : 1-16.
- HULEA, ANA, ELIADE, GH., GHINEA, L., 1961 – *Cercetări privind influența erbicidelor asupra microflorei din sol*. Probleme agricole, 2: 57-64.

- HULPOI, N., DAKESIAN, S., ELIADE, GH., GHINEA, L., 1966 – *Beziehungen zwischen der Durchlüftung und Nitrifikationsfähigkeit des Bodens*. Zschr. Pflanz. Düng. Bodenkd. 113: 45-85.
- HULPOI, N., DAKESIAN, S., ELIADE, GH., GHINEA, L., GHEORGHIADĂ VIORICA, 1966 – *Methode zur Bestimmung der Nitrifikationsfähigkeit des Bodens in natürlicher Beschaffenheit*. Zschr. Pflanz. Düng. Bodenkd., 113: 39-45.
- IRIMESCU, MIRELA, ȘTEFANIC, GH., 1998 – *A new method determining soil phosphatase capacity*. Newsletter, 3-4: 38.
- MĂNUCĂ, LUCIA, 1970 – *Contribuții la microflora asolamentelor*. Relații între grâul de toamnă, microflora saprofită și *Fusarium culmorum*. Teză de doctorat, I.A.N.B. – București.
- NEAGU, CECILIA-VIOLETA, 2006 – *Mineralizarea azotului în județul Călărași în funcție de tipul de sol și regimul de fertilizare*. Teză de doctorat, Univ. Șt. Agric. Med. Vet. a Banatului, Timișoara.
- OPREA, GEORGETA, 1997 – *Cercetări privind semnificația biologică a componentelor materiei organice a solului sub influența măsurilor agrotehnice la aprecierea nivelului de fertilitate a solului*. Teză de doctorat, U.S.A.M.V. – București.
- PALANCIUC, VASILICA, 2000 – *Efectul inoculării cu *Bradyrhizobium japonicum* la soia în condițiile acțiunii unui complex de factori (naturali sau antropici) asupra cantității și calității recoltei*. Teză de doctorat, Univ. Șt. Agric. Med. Vet. a Banatului, Timișoara.
- PESTEMER, W., GHINEA, L., RĂDULESCU, VALERIA, 1982 – *Wirkungen von Chlorotriazin Herbiziden im Boden im drei rumänischen Standorten. II. Prognose möglicher Kulturen bei Atrazin in Ruckständen*. Boden Weed Res., 24: 171-177.
- PESTEMER, W., GHINEA, L., RĂDULESCU, VALERIA, VĂDUȚU, I., ȘARPE, N., FRITEA, T., PENESCU, A., 1990 – *Cercetări privind levigarea erbicidelor în două soluri românești în diferite condiții de aplicare*. Probleme de agrotehnie teoretică și aplicată, 12, 3: 129-134.
- PINTILIE, C., GHINEA, L., ROȘCA, VALERIA, SIN, GH., SANDU, F., CIUBOTA, P., 1968 – *Relation between soil properties as affected by its tilling and maize production*. St. Solului, 6, 2-3: 23-33.
- POPESCU, ANA, 1979 – *Bazele genetice ale procesului de fixare a azotului atmosferic*. Probleme de genetică teoretică și aplicată, 11: 305-331.
- POPESCU, ANA, 1980 – *Aspecte generale ale procesului de fixare biologică a azotului atmosferic*. Probleme de agrotehnie teoretică și aplicată, 2, 1: 31-102.
- ȘTEFANIC, GH., 1966 – *Une nouvelle methode de calcul du nombre des microorganismes pour la determination de l'effect de rizosphere*. Symp. Soil Biol, Cluj: 25-32.
- ȘTEFANIC, GH., 1968 – *Influența amendamentelor și îngrășămintelor asupra microflorei din rizosfera plantelor de mazăre, grâu și porumb cultivate pe un sol podzolic din regiunea Maramureș*. Teză de doctorat, I.A.N.B.- București.
- ȘTEFANIC, GH., 1991 – *Assay of the potential level of soil respiration with an oxygen – generating respirometer*. Bull. Sci. Agric. Forest, 21: 87-91.
- ȘTEFANIC, GH., DUMITRU, LUCIA, 1970 – *Determination de l'activité de la catalase du sol par voie colorimetrique*. Bull. UNESCO – Biol. du Sol, 12: 12-13.
- ȘTEFANIC, GH., JARNEA, SILVIA, 1965 – *Influența îngrășămintelor și amendamentelor asupra microflorei radiculare a grâului, mazărei și porumbului*. Șt. Solului, 3: 259-261.
- TIANU, MIHAELA, ELIADE, GH., TIANU, AL., 1987 – *Precizări privind participarea azotului din sol și îngrășământ în nutriția vegetală*. An. I.C.C.P.T. Fundulea, 54.
- TURCU, MARIANA, BĂRLEA, V., FRITEA, T., GHINEA, L., VLĂDUȚU, I., 1997 – *Studies in imazetapyr persistence and residues under field conditions*. 10th EWRS Symp. Poznan, 182.
- TURCU, MARIANA, GHINEA, L., BĂRLEA, V., VLĂDUȚU, I., 1995 – *Persistence, phytotoxicity and remanence of imazetapyr herbicide in two Romanian soils*. Romanian Agricultural Research, 3: 101-105.
- VLĂDUȚU, I., FRITEA, T., GHINEA, L., RĂDULESCU, VALERIA, CHIRIBELEA, CLAUDIA, GRĂU, ELENA, 1986 – *Cercetări privind remanența dozelor mari de atrazin pe un sol luvic din vestul României*. Probleme de agrotehnie teoretică și aplicată, 8, 1: 1-18.
- VLĂDUȚU, I., PASCU, MARIA, FRITEA, T., PASCU, AL., GHINEA, L., RĂDULESCU, VALERIA, 1988 – *Contribuții cu privire la remanența trifluralinului pe un cernoziom vermic de la Mărculești și pe un sol brun-luvic de la Livada*. An. I.C.C.P.T. Fundulea, 56: 321-327.