

**UNIVERSITATEA “BABEȘ – BOLYAI” CLUJ – NAPOCA
FACULTATEA DE BIOLOGIE – GEOLOGIE
CATEDRA DE BIOLOGIE MOLECULARĂ ȘI BIOTEHNOLOGII**

TEZĂ DE DOCTORAT

**EVALUAREA MICROBIOLOGICĂ ȘI
ENZIMOLOGICĂ A POTENȚIALULUI BIOLOGIC AL
SOLULUI TEHNOGEN DE LA ROVINARI – JUDEȚUL
GORJ
(rezumat)**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
PROF. UNIV. DR. MIHAIL DRĂGAN – BULARDA**

DOCTORAND:

**GORNOAVĂ MONICA
(căsătorită COPÂNDEAN)**

**CLUJ – NAPOCA
- 2014 -**

CUPRINS

INTRODUCERE.....	1
SCOPUL ȘI OBIECTIVELE.....	5
PARTEA I GENERALĂ	
CAP.1. IMPORTANȚA TEORETICĂ ȘI PRACTICĂ A STUDIERII SOLURILOR TEHNOGENE.....	8
CAP.2. STADIUL CERCETĂRILOR PE PLAN MONDIAL ȘI NAȚIONAL PRIVIND VALORIFICAREA TERENURILOR DEGRADATE PRIN EXPLOATĂRI MINIERE LA ZI.....	13
2.1. Stadiul cercetărilor pe plan mondial privind valorificarea terenurilor degradate prin exploatare miniere la zi.....	13
2.2. Cercetări privind valorificarea terenurilor degradate prin exploatare miniere la zi în România.....	26
CAP.3. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PE PLAN NAȚIONAL.....	28
3.1. Cercetări realizate la Universitatea din Craiova.....	28
3.2. Cercetări realizate la Stațiunea de Cercetare și Producție Pomicolă Târgu- Jiu.....	29
3.3. Cercetări realizate la Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Cluj-Napoca.....	32
CAP.4. ASPECTE MICROBIOLOGICE ALE SOLULUI.....	35
4.1. Grupe ecologice bacteriene și rolul lor în circuitul biologic al elementelor biogene în natură	35
4.1.1. Bacterii implicate în circuitul azotului.....	35
4.1.2. Bacterii implicate în circuitul sulfurii.....	39
4.1.3. Bacterii implicate în circuitul carbonului.....	42
4.1.3.1. <i>Bacterii amilolitice</i>	43

4.1.3.2. <i>Bacterii celulozolitice</i>	44
4.1.4. Bacterii implicate în circuitul fierului.....	45
4.1.5. Influența factorilor de mediu asupra micropopulației solului.....	47
4.1.5.1. <i>Efectul pH-ului asupra microorganismelor din sol</i>	47
4.1.5.2. <i>Temperatura și activitatea microbiană a solului</i>	48
4.1.5.3. <i>Energia radiantă și microbiota solului</i>	49
4.1.5.4. <i>Compoziția mineralogică a solului și microbiota solului</i>	49
CAP.5. ASPECTE ENZIMOLOGICE ALE SOLURILOR TEHNOGENE.....	51
5.1. Activitatea dehidrogenazică.....	56
5.2. Activitatea catalazică.....	56
5.3. Activitatea fosfatazică.....	57
5.4. Activitatea ureazică.....	57
5.5. Activitatea unor oligaze și poliaze	58
PARTEA a II-a EXPERIMENTALĂ	
CAP.6. CARACTERIZAREA SOLULUI ȘI A MATERIALELOR LITOLOGICE.....	61
6.1. Descrierea morfologică a deschiderilor litologice și a terenului haldat.....	61
6.2. Caracterizarea fizică și hidrofizică a solului și materialelor litologice.....	62
6.3. Caracterizarea chimică a solului și materialelor litologice	63
CAP.7. MATERIALE ȘI METODE DE ANALIZĂ.....	64
7.1. Caracteristicile zonei de lucru.....	64
7.1.1. Poziția geografică.....	64
7.1.2. Principalele caracteristici climatice ale regiunii miniere a Olteniei.....	67
7.1.3. Vegetația.....	67
7.2. Recoltarea probelor de sol.....	69
7.3. Metode de analiză a bacteriilor din diferite grupe ecofiziologice.....	70
7.3.1. Metoda culturilor în plăci.....	70
7.3.2. Determinarea numărului celui mai probabil de bacterii.....	71
7.3.3. Determinarea bacteriilor heterotrofe aerobe	73
7.3.4. Determinarea bacteriilor amonificatoare	74
7.3.5. Determinarea bacteriilor denitrificatoare	74
7.3.6. Determinarea bacteriilor desulfificatoare	75

7.3.7. Determinarea bacteriilor fier-reducatoare	76
7.3.8. Determinarea bacteriilor levanosintetizante	76
7.3.9. Determinarea bacteriilor levanolitice	77
7.4. Metode enzimaticе.....	78
7.4.1. Determinarea activității catalazice a solului	78
7.4.2. Determinarea activității dehidrogenazice a solului	79
7.4.3. Determinarea activității fosfatazice a solului	81
7.4.4. Determinarea activității ureazice a solului	83
7.4.5. Determinarea unor oligaze și poliaze din sol	85
CAP. 8. METODE PENTRU ANALIZE STATISTICE.....	89
CAP. 9. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	91
9.1. Cercetări asupra grupelor ecologice de bacterii.....	92
9.2. Stabilirea indicatorului bacterian al calității solului (IBCS).....	123
9.3. Analiza activității enzimaticе a solului tehnogen de la Rovinari.....	133
9.3.1. Activitatea enzimatică cantitativă	134
9.3.1.1. Activitatea fosfatazică.....	134
9.3.1.2. Activitatea catalazică și activitatea catalitică neenzimatică.....	146
9.3.1.3. Activitatea dehidrogenatică actuală și potențială.....	167
9.3.1.4. Activitatea ureazică.....	187
9.3.1.5. Indicatorul enzimatic al calității solului (IECS).....	200
9.3.2. Activitatea enzimatică calitativă.....	229
CONCLUZII.....	244
BIBLIOGRAFIE.....	248
LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE DIN SUBIECTUL TEZEI DE DOCTORAT.....	268

INTRODUCERE

Solurile tehnogene sunt soluri care se formează în urma recultivării tehnico-miniere și biologice a materialelor de descopertare, a haldelor de steril și a altor reziduuri rezultate din exploatarea miniere la zi și subterane și din alte activități industriale. Totodată, toate aceste reziduuri constituie o sursă periculoasă de poluare a mediului înconjurător (Kiss și colab., 1993).

Recultivarea terenurilor degradate de exploatarea miniere la zi constituie acțiunea de restituire a capacității utile sau de producție a solurilor prin tratamente tehnice și biologice.

Refertilizarea și recultivarea terenurilor degradate constituie o preocupare de prim ordin a specialiștilor și impune o colaborare armonioasă între un număr mare de discipline științifice și tehnice, începând cu chimia, biologia și organizarea muncii în întreprinderi, apoi geologia, hidrogeologia, botanica și meteorologia până la tehnica minieră și pedologie, cultura ogoarelor și a plantelor (Huidu și Jescu, 1987).

Prin recultivarea biologică se înțelege cultivarea propriu-zisă a terenurilor cu culturi.

În această etapă se plantează suprafețele agricole și forestiere.

Recultivarea agricolă cuprinde un program complex de refertilizare, recoltare și asanare, selecționarea semințelor și în special dirijarea competentă a fâneței și pășunatului pentru prevenirea degradării solului de către animale.

Recultivarea agricolă se execută în două etape.

În prima etapă, după ameliorarea terenului, se urmărește regenerarea fertilității solului, în care scop trebuie să se cultive plante nepretențioase față de condițiile de sol și care să aibă rezistență mare față de boli și buruieni și să dea cantități mari de materie vegetală.

Cele mai indicate sunt trifolienele (lucerna, trifoi).

În etapa a doua se cultivă culturi agricole, cu care după regenerarea fertilității solului să conducă la obținerea recolte normale (Huidu și Jescu, 1987).

Înainte de semănare, terenul este mai întâi brăzdat (grăpat) cu diferite grape (grapa cu discuri). La început solul este semănat cu iarbă sau lucernă. În general în al patrulea sau al cincilea an, în funcție de condițiile pedologice, se execută o a doua arătură, urmată de o nouă însămânțare. De regulă se poate adapta alternativ un sistem de rotație a culturilor pentru terenurile arabile (Huidu și Jescu, 1987).

În cursul perioadei de refacere este necesar, pe baza experimentărilor în câmp să se folosească îngrășăminte în cantități duble decât cele normale. Uneori și după această perioadă este necesară continuarea folosirii din abundență a îngrășămintelor pe o perioadă de câțiva ani.

Un rol foarte important la recultivarea agricolă îl are: tratarea cu apă, aerația activă a terenului și aplicarea îngrășămintelor.

Recultivarea forestieră poate începe chiar de la faza nivelării terenului și a grăpării lui.

Împădurirea, pe terenul grăpat se face de regulă direct cu puiți de arbori de esențe diferite, în funcție de condițiile silvoclimatice locale și de natura haldelor.

În general, puiții se plantează la distanțe de 4 metri.

După circa 4 ani, în cazul ulmilor sau salcânilor pădurea este practic refăcută.

Dacă terenul mai necesită activare, dezagregare și îmbogățire în humus, atunci se plantează mai întâi varietăți de copaci care cresc repede și nu sunt pretențioși (plopi, hibrizi, arini, salcâmi) cu caracter de preplantație, care vor fi apoi înlocuite cu specii de copaci cu valoare economică superioară.

Se utilizează și procedeul de transplantare a arborilor maturi.

În bazinul Rovinari s-au plantat (halda Cicani) pomi fructiferi (meri, cireși) atât în terenuri ameliorate cât și în cele neameliorate, rezultatele fiind foarte bune în ambele cazuri (Huidu și Jescu, 1987).

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE

În lucrarea de față am urmărit interacțiunile microorganisme-sol-plante în variantele experimentale ale unui sol tehnogen din zona Rovinari, sol rezultat în urma exploatării de suprafață a lignitului și supus recultivării biologice.

În acest context, obiectivele principale ale tezei de doctorat au fost următoarele:

1) Studiarea abundenței, diversității, dinamicii și semnificației ecologice a unor grupe de bacterii din solurile tehnogene (bacterii heterotrofe aerobe, amonificatoare, denitrificatoare, desulfificatoare, fier-reducătoare, levanosintetizante, levanolitice) în scopul obținerii datelor pentru stabilirea indicatorului bacteriologic al calității solului, indice determinat pentru prima oară în România la acest tip de sol;

2) Evaluarea activităților enzimatic cantitative (fosfatazică, catalazică, catalitică neenzimatică, dehidrogenazică actuală și potențială, ureazică) și a activităților enzimatic calitative (activitatea amilazică, dextranazică, levanazică, celulazică, inulinazică);

3) Determinarea indicatorului bacterian al calității solului (IBCS) și a indicatorului enzimatic al calității solului (IECS), aceștia permițând compararea și ierarhizarea probelor analizate;

4) Analizarea corelațiilor existente între variația densității numerice a grupelor de bacterii din solul tehnogen de la Rovinari-județul Gorj și sezon, adâncime și locul de prelevare.

5) Analizarea corelațiilor existente între valorile activităților enzimatic cantitative din solul tehnogen de la Rovinari-județul Gorj și sezon, adâncime și locul de prelevare.

6) Estimarea bioremedierii solului tehnogen din zona Rovinari-Gorj prin teste biologice (microbiologice și enzimologice), în scopul redării unor suprafețe însemnate de teren circuitului agricol, prin recultivarea biologică.

7) Determinarea potențialului biologic al solului tehnogen care este strâns legat de gradul de fertilitate al unui sol. În cazul de față, potențialul biologic al solului tehnogen din zona Rovinari-Gorj s-a apreciat prin determinarea indicelui bacteriologic al calității solului, respectiv prin calcularea indicatorului enzimatic al calității solului.

Teza de doctorat este structurată pe 9 capitole. În prima parte a tezei sunt prezentate noțiunile teoretice, sunt descrise metodele de lucru, iar în partea a doua sunt cuprinse rezultatele și discuțiile pe marginea cercetărilor științifice întreprinse și concluziile aferente.

Teza de doctorat aduce contribuții de o reală valoare științifică legate de potențialul biologic al solurilor tehnogene de la Rovinari-județul Gorj, acesta fiind în strânsă relație cu tehnologia de recultivare a solului, cu natura plantelor cultivate, fiind influențați de schimbările sezoniere. Prin analiza indicatorului bacterian și enzimatic al calității solului se încearcă evidențierea unei evoluții a potențialului biologic, de refacere și îmbunătățire a proprietăților biologice ale acestui sol tehnogen rezultat în urma exploatării cărbunelui prin procedeul de suprafață.

CAP.6. CARACTERIZAREA SOLULUI ȘI A MATERIALELOR LITOLOGICE

6.1. Descrierea morfologică a deschiderilor litologice și a terenului haldat

În *cariera Cicani*, solul este brun aluvial, slab humificat, luto-nisipos, necarbonatic, cu grosime cuprinsă între 1 – 1,5 m. Sub stratul de sol urmează un depozit de nisip grosier, pietriș și pietre până la circa 6 m adâncime. Sub acest depozit apare stratul de marnă, cu o grosime de 40 cm. Cărbunele se află la 640 cm adâncime (Munteanu, 1998).

6.2. Caracterizarea fizică și hidrofizică a solului și materialelor litologice

Solurile în regim natural prezintă în orizonturile A (0 – 40 cm) textură luto-nisipoasă . În partea inferioară a profilului, textura este în general nisipoasă sau nisipo-lutoasă, conținutul în argilă este cuprins între 4 – 19%, iar greutatea volumetrică variază între 0,82 și 1,34 g/cm³ în raport cu conținutul granulometric (Munteanu, 1998).

În general, proprietățile fizice și hidrofizice ale solurilor naturale și ale fiecărui strat litologic sunt bune, acestea fiind înrăutățite numai de amestecarea lor cu straturi de prundiș și pietre, care împiedică executarea normală a lucrărilor agricole (Munteanu, 1998).

6.3. Caracterizarea chimică a solului și materialelor litologice

Reacția solurilor din lunca și terasa inferioară a Jiului este variată. Astfel, solurile din terasa inferioară au reacție slab acidă (pH 6,3 – 6,8 în apă), iar solurile din lunca propriu-zisă au la suprafață reacție neutră, slab alcalină (pH 7,2) și slab acidă spre adâncime.

Solurile evaluate în regim natural, sunt, în general, soluri mijlociu aprovizionate în elemente nutritive, au un regim hidrofizic bun și sunt corespunzătoare pentru culturi agricole (Munteanu, 1998).

CAP.7. MATERIALE ȘI METODE DE ANALIZĂ

7.1. Caracteristicile zonei de lucru

7.1.1. Poziția geografică

Din rezerva de lignit a țării, peste 80% este concentrată în zona sudică a țării, în bazinele Rovinari, Motru, Jilț, Albeni, Seciuri (județul Gorj), Berbești (județul Vâlcea) și Mehedinți.

Dintre acestea, cele mai importante bazine sunt Rovinari și Motru-Jilț.

Bazinul Rovinari este situat în zona subcarpatică a Depresiunii Getice, cuprinzând în principal zonele din apropierea cursului mijlociu al Jiului. În acest bazin, prin lucrările de cercetare geologică au fost scoase în evidență 17 straturi, dintre care importanță economică au doar straturile V – XII (Munteanu, 1998).

În bazinul minier Rovinari se disting două zone bine individualizate de exploatare a cărbunelui și anume:

a) zona de luncă în care în prezent se extrage lignitul prin carierele Gârla, Roșia de Jiu, Peșteana Sud și Peșteana Nord;

b) zona colinară în care se extrage lignitul prin carierele Rovinari est – Poiana Tismana I și II, Pinoasa și Urdari (Munteanu, 1998).

Cariera Cicani a fost localizată pe malul stâng al râului Jiu regularizat, pe raza comunei Bâlteni. Lucrările de deschidere a carierei Cicani au început în anul 1963, iar excavațiile de cărbune în anul 1965. Inițial excavațiile la steril s-au făcut cu excavatoare cu cupă și transport auto (Huidu, 2000).

În anul 1967 a intrat în funcțiune tehnologia continuă de excavare, cu excavatoare cu rotor, transportul sterilului și cărbunelui cu transportoare cu benzi, iar depunerea prin intermediul unei mașini de haldat.

Cărbunele a fost introdus într-un siloz din beton cu capacitatea de 1600 t și încărcată în vagoane CFR. Utilajele și mijloacele de transport de la cariera Cicani au fost de proveniență germană. În anul 1973, în luna aprilie a avut loc inversarea fluxului tehnologic la extracția cărbunelui prin schimbarea dirijării producției spre punctul de încărcare Rogojelu printr-o magistrală de cărbune. Cariera a fost oprită în anul 1974 datorită epuizării rezervelor.

Documentația de închidere a carierei a fost aprobată începând cu data de 1 ianuarie 1975 de către conducerea Ministerului Minelor, Petrolului și Geologie.

La data închiderii carierei, rezervele de bilanț au fost complet epuizate.

Halda carierei Cicani a fost folosită pentru experimentarea culturilor cerealiere în perioada anilor 1970 iar în prezent este recultivată cu pomi, viță de vie și cereale producțiile obținute fiind comparabile cu cele din terenurile obișnuite (Huidu, 2000).

7.1.2. Principalele caracteristici climatice ale regiunii miniere a Olteniei

Temperatura medie a aerului este cuprinsă între 9 și 10⁰C, iernile fiind în general călduroase (- 2⁰C în ianuarie), iar verile cu un regim termic atenuat (21⁰C în iulie), deși valorile maxime absolute pot atinge 38-40⁰C. Ca urmare, numărul de zile de vară pe an este de 70-90, iar cele tropicale de 20-30. Toamna, temperaturile medii depășesc 11⁰C, datorită predominării circulației sudice îndeosebi în prima jumătate a lunii octombrie. De asemenea, iarna debutează în decembrie cu temperaturi pozitive ca urmare a aceleiași circulații atmosferice, dominante. Precipitațiile maxime în 24 ore sunt printre cele mai mari din Subcarpați, ca și valoarea intensității precipitațiilor excepționale, adică 5,6 mm/min/m² la Târgu-Jiu (Huidu, 2000).

7.1.3. Vegetația

Zăcămintele de lignit din Oltenia sunt situate în zona de vegetație a pădurilor, etajul gorunului în amestec cu fagul și a pădurilor de stejar, care se întrepătrund, stejarul pătrunzând în special pe văile râurilor, în zona fagului și gorunului (Munteanu, 1998).

În zona exploatărilor la suprafață a cărbunelui, în lunca Jiului, terenurile neafectate de minerit sunt ocupate de culturi agricole anuale: grâu, porumb, orz, secară, cartofi.

Versanții cu pante line sunt cultivați cu plante anuale, pomi fructiferi și viță de vie. Unele zone de luncă și de deal sunt ocupate cu pășuni și fânețe.

Deși exploatățile carbonifere de la Rovinari se găsesc în zona de pădure, etajul gorunului, pe văi se întâlnește *Fagus silvatica* (Munteanu, 1998).

7.2. Recoltarea probelor de sol

În lucrarea de față a fost luat în studiu solul tehnogen de la Rovinari-Gorj, din zona carierei Cicani rezultat în urma exploatării miniere de suprafață a lignitului. Cariera Cicani a fost localizată pe malul stâng al râului Jiu, pe raza comunei Bâlteni. Lucrările de deschidere a carierei Cicani au început în anul 1963, iar excavațiile de cărbune în anul 1965. Perioada de exploatare a carierei Cicani a fost între anii 1965 – 1974. Cariera a fost oprită în anul 1974 datorită epuizării rezervelor. Halda carierei Cicani a fost folosită pentru experimentarea culturilor cerealiere în perioada anilor '70, iar în prezent este recultivată cu pomi fructiferi, viță-de-vie și cereale. Evoluția acestui sol, care reflectă eficiența recultivării biologice, s-a studiat prin metode microbiologice și enzimologice.

Experiențele au fost efectuate în perioada 2002-2006.

Au fost analizate probe de sol, recoltate sezonier, din șapte variante experimentale, de la adâncimea de 5-15 cm, respectiv 20-40 cm. Fiecare variantă de sol a fost introdusă în baloane Erlenmeyer prevăzute cu dopuri de vată. Baloanele Erlenmeyer și dopurile de vată au fost în prealabil sterilizate. Pe fiecare balon s-a atașat câte o etichetă pe care s-a notat: locul prelevării, data, adâncimea de la care s-a efectuat prelevarea. Variantele luate în studiu au fost următoarele:

I – sol cultivat cu pomi fructiferi (meri);

II – sol cultivat cu lucernă;

III – sol cultivat cu aluni și mesteacăn;

IV – sol cultivat cu pomi fructiferi (pruni);

V – sol cultivat cu viță-de-vie tânără;

VI – sol cultivat cu viță-de-vie pe rod (peste 20 de ani);

VII – sol martor (de pajiște) dintr-o zonă învecinată neafectată de exploatări miniere.

Toate variantele experimentale (I-VI) au fost fertilizate cu gunoi de grajd. Toate probele de sol au fost transportate în laboratorul de microbiologie din cadrul Universității "Babeș-Bolyai" Cluj-Napoca și păstrate în frigider, la o temperatură de 4° C, până la prelucrare.

7.3. Metode de analiză

Prin metodele de analiză s-au determinat bacterii din diferite grupe ecofiziologice: bacterii heterotrofe aerobe, bacterii amonificatoare, bacterii denitrificatoare, bacterii desulfificatoare, bacterii fier-reducatoare, bacterii levanosintetizante, bacteriilor levanolitice.

7.4. Metode enzimatică

În cele șapte probe de sol au fost determinate cantitativ următoarele activități enzimatică: activitatea fosfatazică (AF), activitatea catalazică (AC), activitatea catalitică neenzimatică (ACN), activitatea dehidrogenazică actuală (ADA), activitatea dehidrogenazică potențială (ADP) și activitatea ureazică.

Tot în cele șapte variante de sol tehnogen au fost determinate calitativ 5 activități poliazice: amilazică (AA), dextranazică (AD), levanazică (AL), celulozică (AC) și inulinazică (AI).

CAP.9. REZULTATE ȘI DISCUȚII

9.1. Cercetări asupra grupelor ecologice de bacterii

Rezultatele analizelor bacteriologice efectuate asupra solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în perioada 2002-2006 au arătat că bacteriile din cele 7 grupe fiziologice s-au putut evidenția din aproape toate variantele experimentale studiate, ceea ce dovedește că microbiota solului este complexă și că în acest sol tehnogen de la Rovinari potențialul microbiologic este în curs de restabilire, de evoluție spre cel al solului martor (neafectat de lucrările miniere). Așa cum era de așteptat bacteriile heterotrofe aerobe (BHA) sunt cel mai bine reprezentate fiind prezente în toate variantele. Aceste bacterii sunt responsabile de mineralizarea substanțelor organice și sunt influențate de cantitatea resturilor vegetale introduse în sol, respectiv de fertilizarea organică cu gunoi de grajd (Drăgan și Kiss, 1986).

Analiza anuală arată o creștere generală a valorilor începând de la anul 2002 la anul 2006 ceea ce indică evoluția solului tehnogen spre un sol fertil.

Analiza sezonieră arată că numărul de bacterii atinge valori mari primăvara și toamna, valorile înregistrând o scădere ușoară vara și valori mici iarna. Totuși, în cursul iernii

începând cu anul 2002 și până în anul 2006 s-a observat o creștere semnificativă a numărului de bacterii.

În ceea ce privește analiza pe adâncimi, se constată că numărul bacteriilor este mai mare în stratul de la 5-15 cm în comparație cu numărul bacteriilor din stratul de la 20-40 cm.

Valorile cele mai mari s-au înregistrat, așa cum era de așteptat, în cazul solului martor pentru toate tipurile de bacterii, indiferent de an și de adâncimea studiată, deoarece solul martor nu a fost afectat de lucrări de exploatare miniere. Diferența mare dintre numărul acestora înregistrat la varianta martor și ce s-a găsit la celelalte variante de sol tehnogen, indică faptul că solul de la Rovinari are încă un potențial microbiologic relativ scăzut, care prin metode agrochimice și agrotehnice corespunzătoare poate evolua spre un sol agricol fertil.

9.2. Stabilirea indicatorului bacterian al calității solului (IBCS)

Potențialul biologic al probelor de sol s-a apreciat prin determinarea indicatorului bacteriologic al calității solului. Pe baza indicatorului bacterian al calității solului, care s-a determinat pentru prima dată la un sol tehnogen, se poate aprecia că acesta reprezintă un parametru important ce caracterizează populația bacteriană a solului, fiind mai bine urmărită bioremedierea acestuia comparativ cu solul martor.

Pentru estimarea calității solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj, pentru stabilirea IBCS am utilizat cele 7 grupe ecofiziologice de bacterii.

Pe baza valorilor absolute ale numărului de bacterii (raportate la 10 g sol) s-a calculat apoi indicatorul bacterian al calității solului (IBCS) după următoarea formulă:

$$IBCS = \frac{1}{n} \sum \log_{10} N$$

unde:

n=numărul grupelor fiziologice

N=numărul bacteriilor din fiecare grup fiziologic (Muntean, 1995-1996).

Analiza anuală arată o creștere generală a valorilor IBCS de la anul 2002 la anul 2006 ceea ce sugerează evoluția solului tehnogen spre un sol fertil.

Analiza sezonieră arată că valorile IBCS ating valori mari primăvara și toamna, valorile înregistrând o scădere ușoară vara. În cursul iernii în toți anii se observă de asemenea o scădere ușoară a valorilor IBCS.

În ceea ce privește analiza pe adâncimi, se constată că valorile IBCS sunt mai mari la adâncimea de 5-15 cm în comparație cu valorile IBCS de la adâncimea de 20-40 cm.

Valorile cele mai mari ale IBCS se înregistrează în cazul solului martor pentru toate sezoanele și adâncimile, sol martor care nu a fost afectat de lucrări de exploatare miniere. De asemenea valorile IBCS înregistrează o ușoară creștere de la anul 2002 la anul 2006 în cazul solului martor.

Valorile IBCS suferă modificări atât în funcție de locul de prelevare a probelor cât și în funcție de sezon.

Datele obținute sugerează că indicatorul bacterian al calității solului este un parametru important ce caracterizează bogăția populației microbiene a solului, înregistrându-se diferențe marcante între varianta martor și variantele solului tehnogen.

Fig.6 Variația sezonieră a indicatorului bacterian al calității solului (IBCS) tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2002 la adâncimea de 20-40 cm

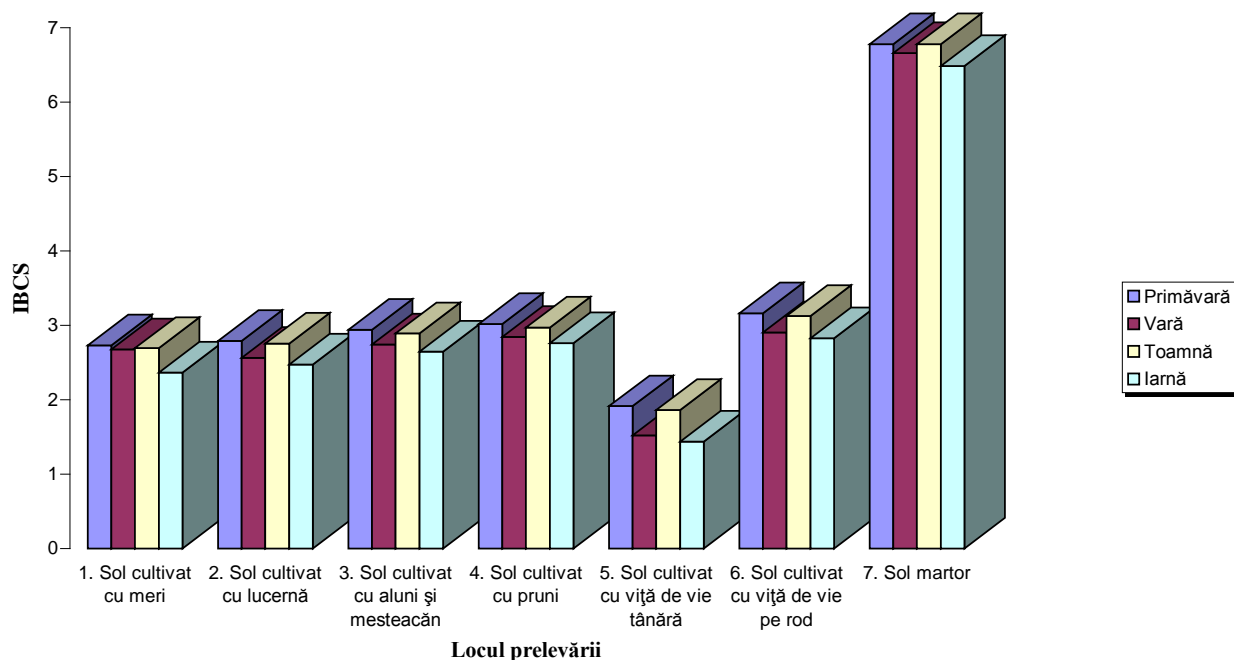
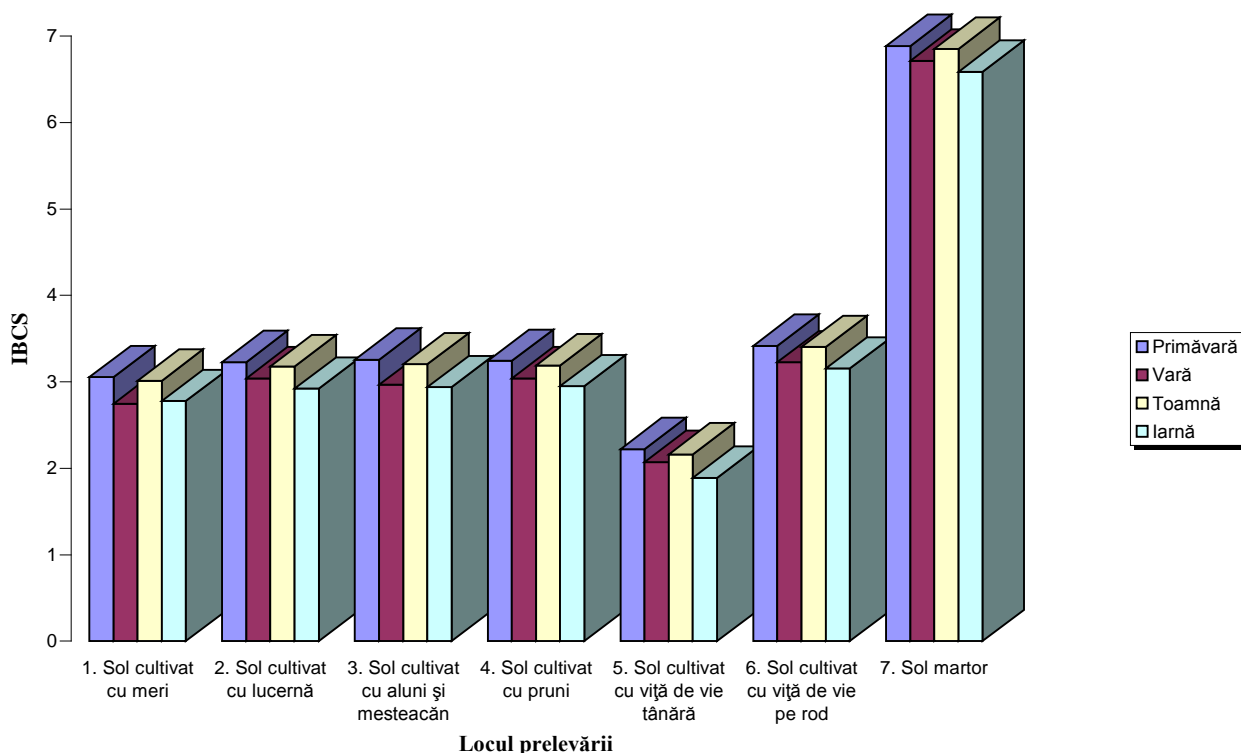


Fig.14 Variația sezonieră a indicatorului bacterian al calității solului (IBCS) tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2006 la adâncimea de 20-40 cm



9.3. Analiza activității enzimice a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj

9.3.1. Activitatea enzimatică cantitativă

9.3.1.1. Activitatea fosfatazică

Activitatea fosfatazică a fost detectată în toate probele de sol analizate. În ansamblu, activitatea fosfatazică a fost mai intensă în anul 2006, comparativ cu anii 2002-2005, înregistrând valori numerice crescute. Din punct de vedere sezonier s-a constatat faptul că activitatea fosfatazică a prezentat oscilații, valori maxime înregistrându-se primăvara, uneori toamna. Valoarea maximă înregistrată primăvara este datorată aplicării îngrășămintelor naturale, iar valorile mari înregistrate uneori toamna se datorează acumulării resturilor organice, la sfârșitul perioadei de vegetație. Este explicabil, întrucât activitatea biologică este mult mai intensă în timpul sezonului cald. Activitatea fosfatazică înregistrează valori mai mici vara și valori relativ scăzute iarna în toți anii. Activitatea fosfatazică a înregistrat valori maxime în cazul solului martor, sol neafectat de exploatarea minieră. Activitatea fosfatazică a

fost mai intensă la solul recoltat de la adâncimea de 5-15 cm, comparativ cu adâncimea de 20-40 cm.

Fig. 15 Evoluția activității fosfatazice a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2002 pe soluri de la adâncimea de 5-15 cm

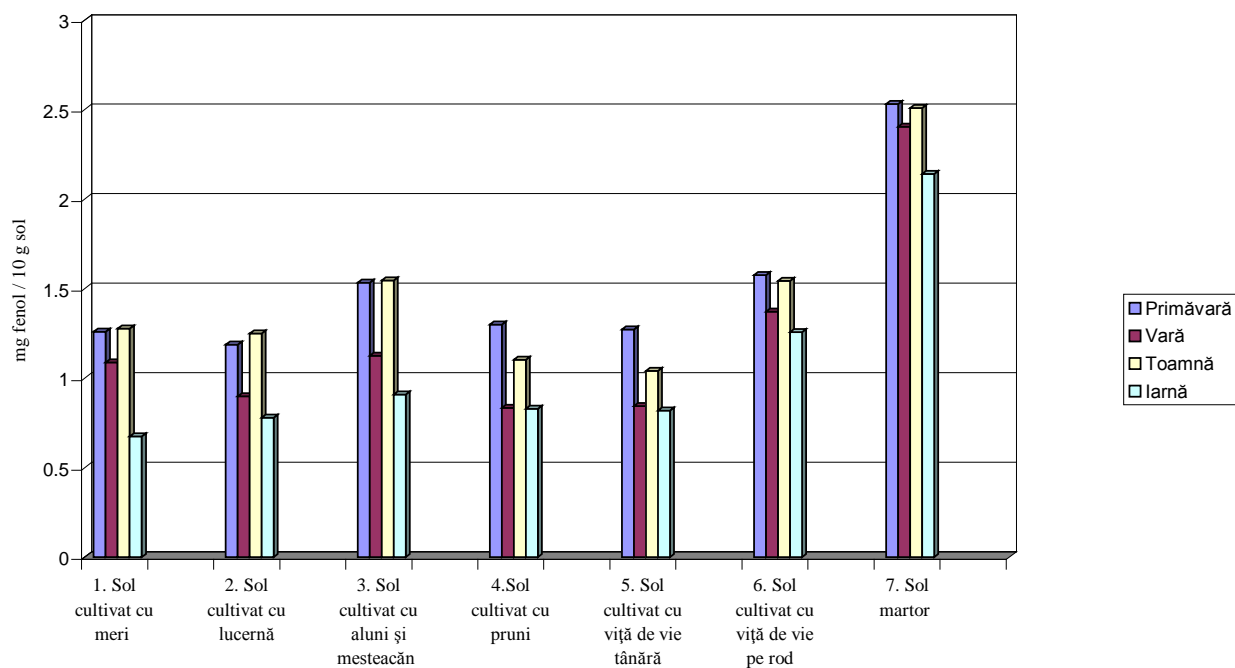
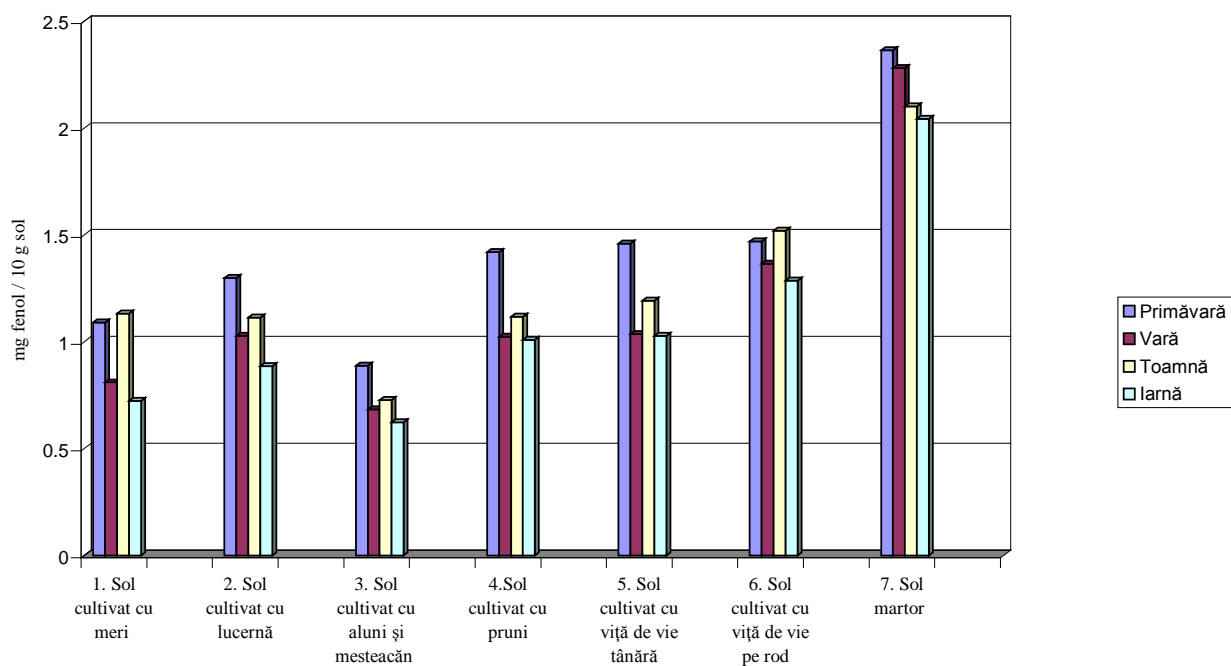


Fig.24 Evoluția activității fosfatazice a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2006 pe soluri de la adâncimea de 20-40 cm



9.3.1.2. Activitatea catalazică și activitatea catalitică neenzimatică

În ansamblu, activitățile catalazică și catalitică neenzimatică au fost mai intense în anul 2006, comparativ cu anii 2002-2005, înregistrând valori numerice crescute. Pe ansamblu, activitatea de scindare neenzimatică a H_2O_2 este scăzută, dar mai intensă decât activitatea catalazică. Valorile mai mari ale activității catalitice neenzimatică pot fi datorate prezenței în sol a substanțelor puternic reduse (sulfiți, oxizi de fier). Din punct de vedere sezonier s-a constatat faptul că atât activitatea catalazică cât și cea catalitică neenzimatică au prezentat oscilații, valori maxime înregistrându-se în general primăvara, rar toamna, atât în anii 2002, 2003 cât și în anii 2004, 2005, 2006. Activitatea catalazică și cea catalitică neenzimatică înregistrează valori mai mici vara și valori relativ scăzute iarna în anii 2002-2006. S-a constatat faptul că activitatea catalazică a fost mai intensă în cazul solului martor comparativ cu celelalte variante experimentale în toți anii de studiu. Aceeași situație se prezintă și pentru activitatea catalitică neenzimatică. Valori maxime pentru cele două activități s-au înregistrat la solul recoltat de la adâncimea de 5-15 cm în toți anii studiați.

Fig. 25 Evoluția activității catalazice a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2002 pe soluri de la adâncimea de 5-15 cm

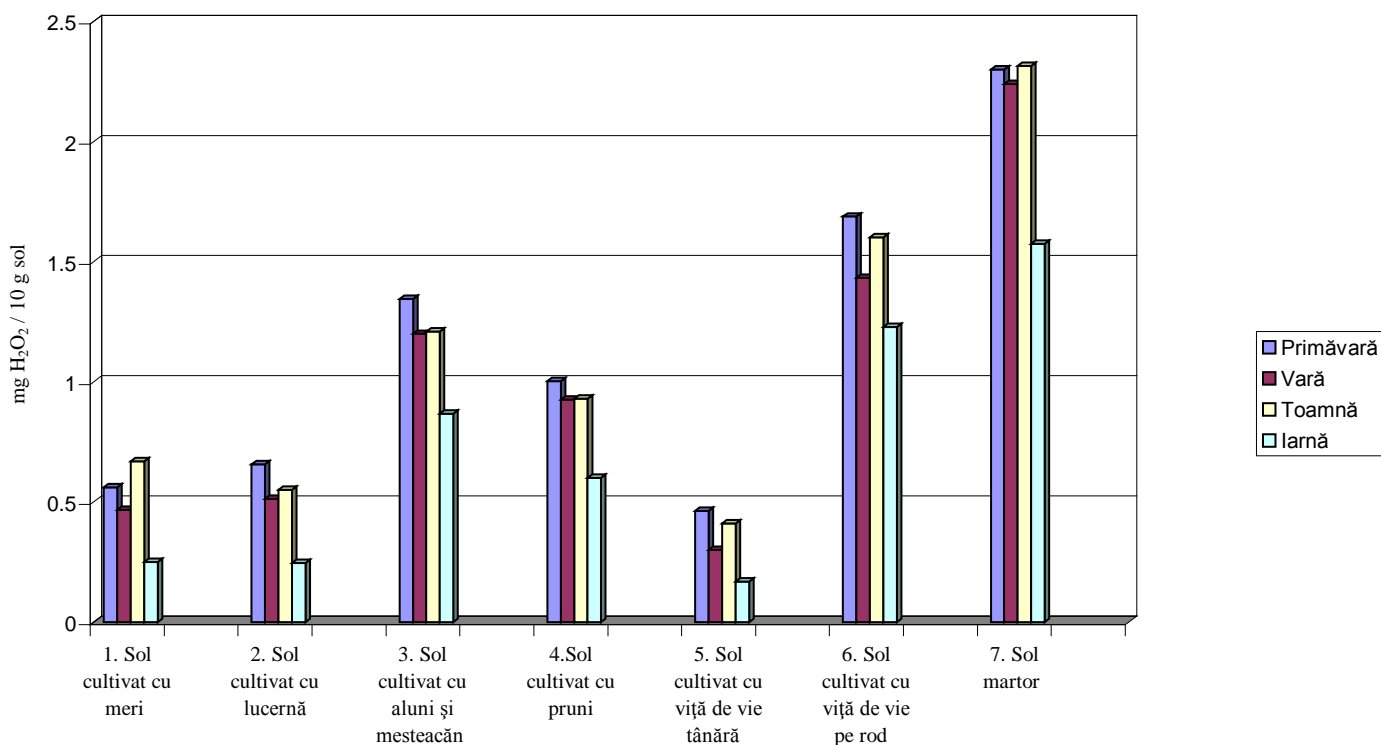
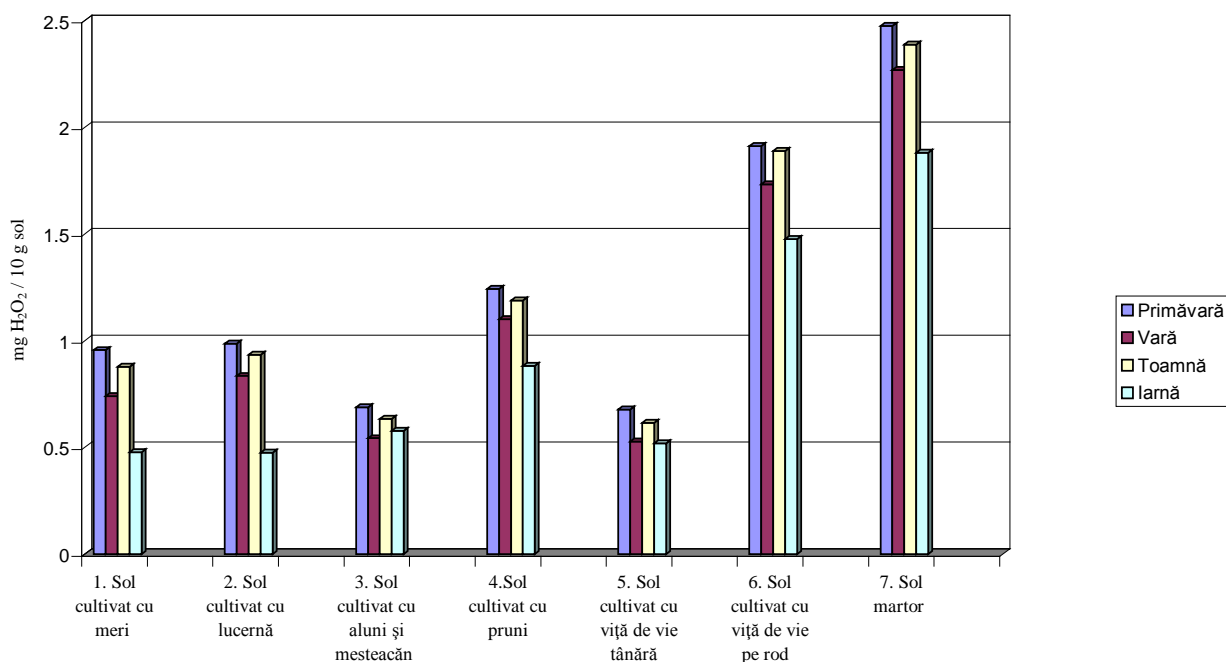


Fig.44 Evoluția activității catalitice neenzimatică a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2006 pe soluri de la adâncimea de 20-40 cm



9.3.1.3. Activitatea dehidrogenazică actuală și potențială

În ansamblu, atât activitatea dehidrogenazică actuală cât și cea potențială a fost mai intensă în anul 2006, comparativ cu anii 2002-2005, înregistrând valori numerice crescute, atât la minime cât și la maxime. Pe ansamblu, activitatea dehidrogenazică potențială este mai intensă decât cea actuală. Acest fapt reflectă acțiunea stimulatorie a sursei de carbon ușor asimilabil asupra sintezei de enzime de către microorganismele. Diferențele nu sunt foarte mari, ceea ce înseamnă că și în lipsa unui aport suplimentar de nutrienți, respectiv de donatori de hidrogen, în solurile analizate există o activitate respiratorie microbială destul de intensă (Muntean și colab., 2001). Valorile ridicate ale activității dehidrogenazice demonstrează existența unui potențial microbial ridicat în solul tehnogen de la Rovinari. Din punct de vedere sezonier s-a constatat faptul că atât activitatea dehidrogenazică actuală, cât și cea potențială au prezentat oscilații, valori maxime înregistrându-se în general, toamna, rar primăvara, în toți anii de studiu. Activitatea dehidrogenazică actuală cât și cea potențială înregistrează valori mai mici vara și valori relativ scăzute iarna în toți anii. Activitatea dehidrogenazică actuală a fost mai intensă în cazul solului martor comparativ cu celelalte variante experimentale în toți anii. Aceeași situație se prezintă și pentru activitatea dehidrogenazică potențială. Valori maxime pentru cele două activități s-au înregistrat la solul recoltat de la adâncimea de 5-15 cm, de asemenea în toți anii.

Fig.58 Evoluția activității dehidrogenazice actuale a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2006 pe soluri de la adâncimea de 20-40 cm

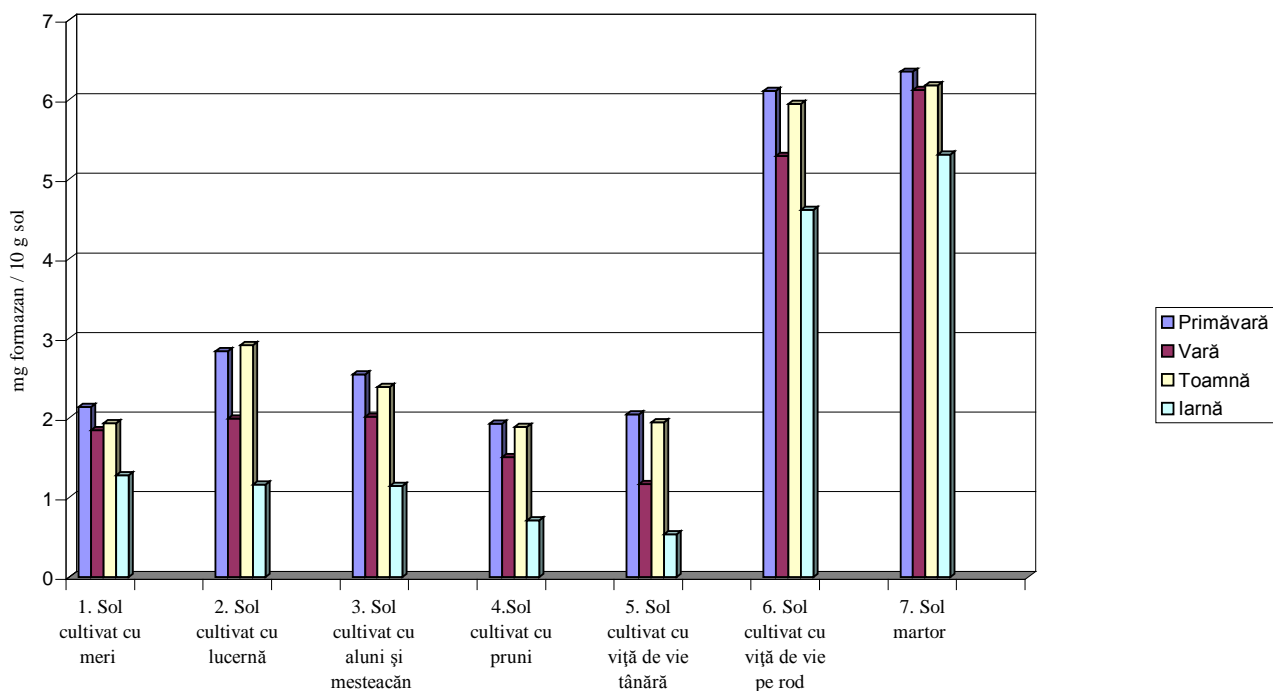
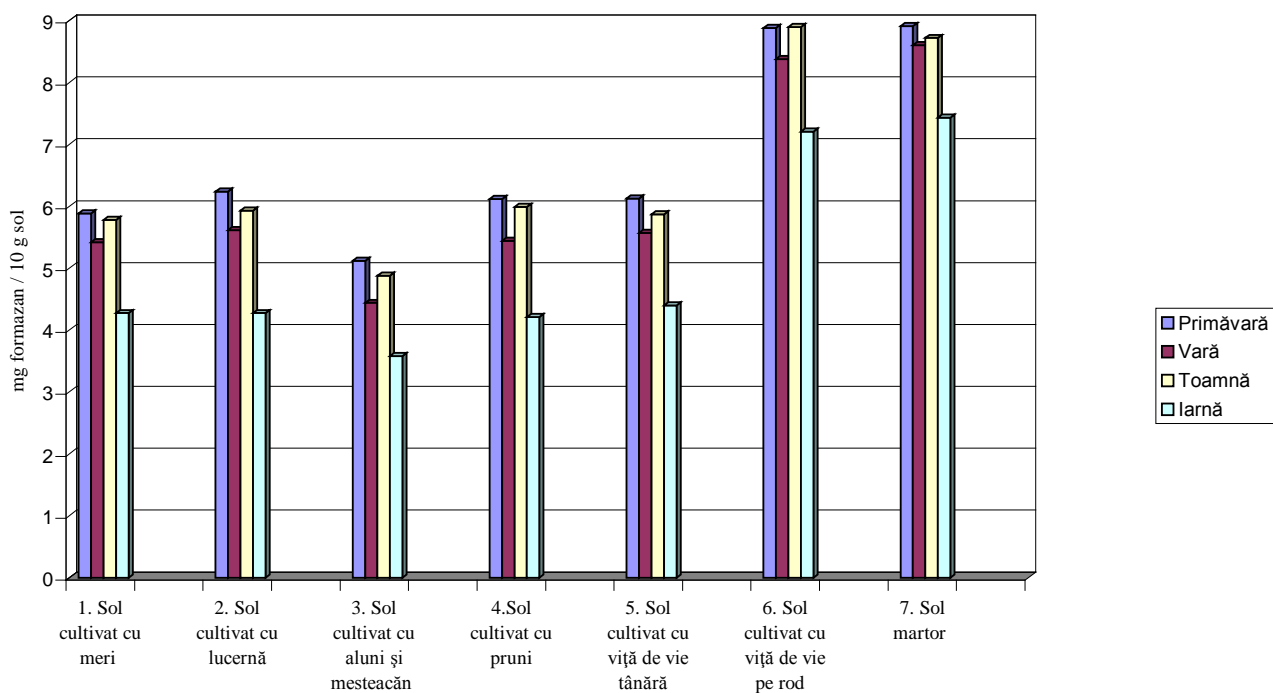


Fig.64 Evoluția activității dehidrogenazice potențiale a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2006 pe soluri de la adâncimea de 20-40 cm



9.3.1.4. Activitatea ureazică

Activitatea ureazică a fost mai intensă în anul 2006, comparativ cu anii 2002-2005, înregistrând valori numerice crescute. Din punct de vedere sezonier s-a constatat faptul că activitatea ureazică a prezentat oscilații, valori maxime înregistrându-se primăvara, uneori toamna în toți anii de studiu. Valoarea maximă înregistrată primăvara este datorată aplicării îngrășămintelor naturale, iar valorile mari înregistrate uneori toamna se datorează acumulării resturilor organice, la sfârșitul perioadei de vegetație. Activitatea ureazică înregistrează valori mai mici vara și valori relativ scăzute iarna în anii 2002-2006. Este explicabil, deoarece activitatea biologică este foarte scăzută iarna. În anii 2002-2006 activitatea ureazică a înregistrat valori maxime în cazul solului martor, sol neafectat de exploatarea minieră. Activitatea ureazică a fost mai intensă la solul recoltat de la adâncimea de 5-15 cm, comparativ cu adâncimea de 20-40 cm de asemenea în toți anii studiați.

Fig.69 Evoluția activității ureazice a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2004 pe soluri de la adâncimea de 5-15 cm

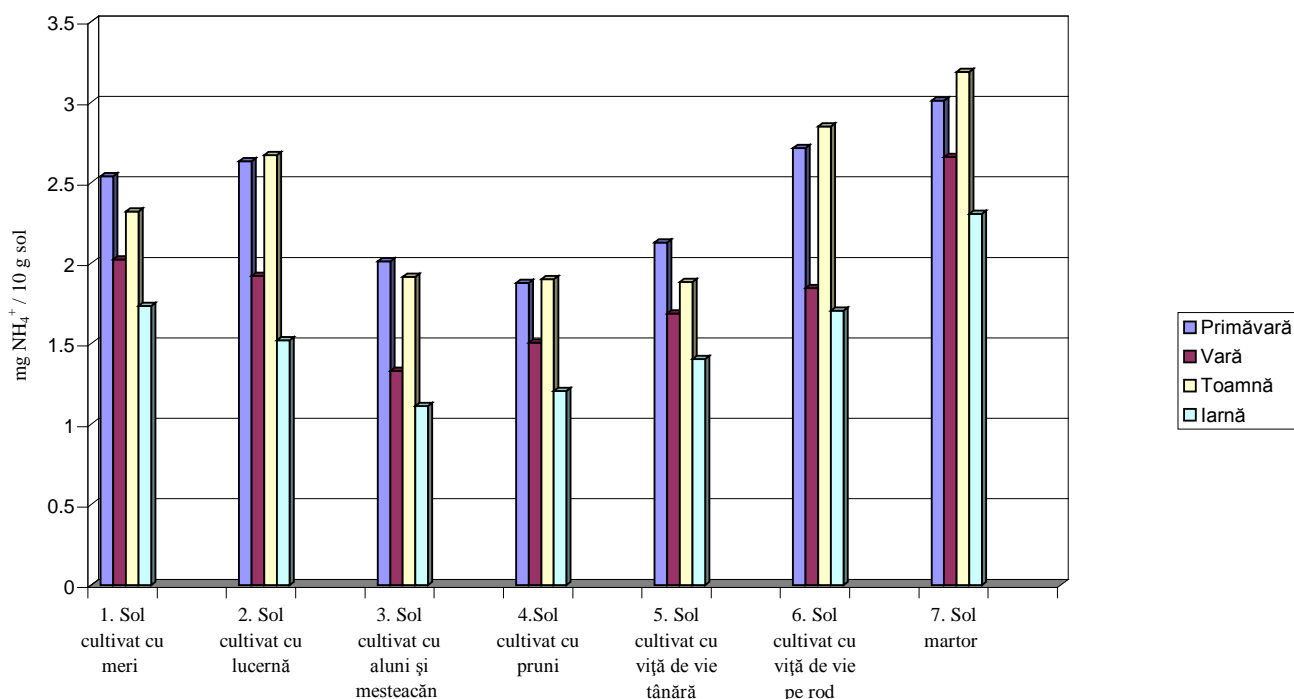
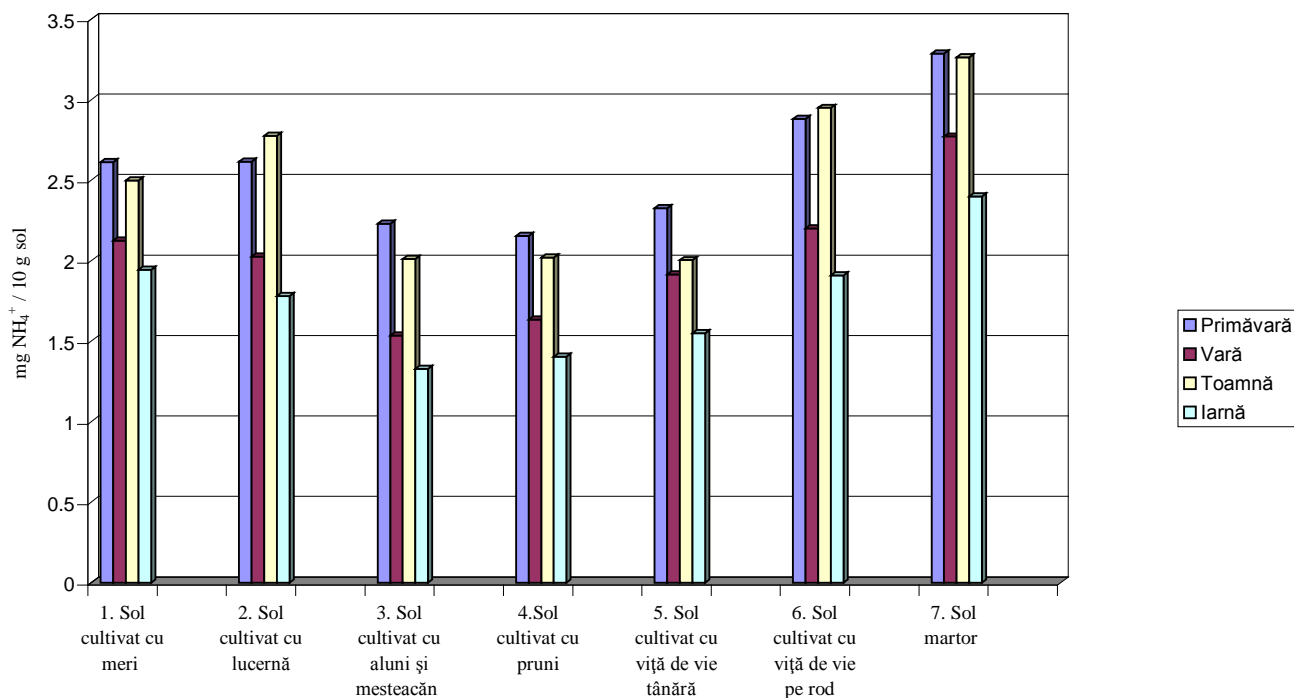


Fig.70 Evoluția activității ureazice a solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2005 pe soluri de la adâncimea de 5-15 cm



9.3.1.5. Indicatorul enzimatic al calității solului (IECS)

Deoarece pentru solurile tehnogene de la Rovinari-județul Gorj nu s-au efectuat astfel de cercetări, ne-am propus să urmărim valorile indicatorului enzimatic al calității solului tehnogen de la Rovinari, în vederea aprecierii calității solului.

Calitatea solului tehnogen studiat din punct de vedere enzimologic este caracterizată de intensitatea activităților enzimactice definită de valorile indicatorului enzimatic al calității.

Cu cât indicatorul enzimatic este mai mare, cu atât mai mare este potențialul enzimatic al solului tehnogen. Indicatorul enzimatic al calității solului (IECS) oferă o imagine de ansamblu asupra potențialului enzimatic al acestuia, fiind calculat pe baza unei formule de calcul elaborată de Muntean și colaboratorii în 1996:

$$IECS = 1/n \sum V_r(i)/V_{max}(i)$$

unde:

IECS=indicatorul enzimatic al calității solului

n=numărul activităților

$V_r(i)$ =valoarea reală individuală

$V_{max}(i)$ =valoarea teoretică maximă individuală.

Teoretic, indicatorul enzimatic poate avea valori între 0 (când nu există activitate în probele studiate) și 1 (când toate valorile individuale reale sunt egale cu maxime individuale teoretice a tuturor activităților).

Valori maxime ale indicatorului enzimatic al calității solului s-au înregistrat primăvara și vara, valori mai scăzute vara și reduse iarna. Se observă o creștere semnificativă a valorii indicatorului enzimatic al calității solului de la anul 2002 la 2006.

Fig. 76 Variația sezonieră a indicatorului enzimatic al calității solului (IECS) din solul tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2002 la adâncimea de 20-40 cm

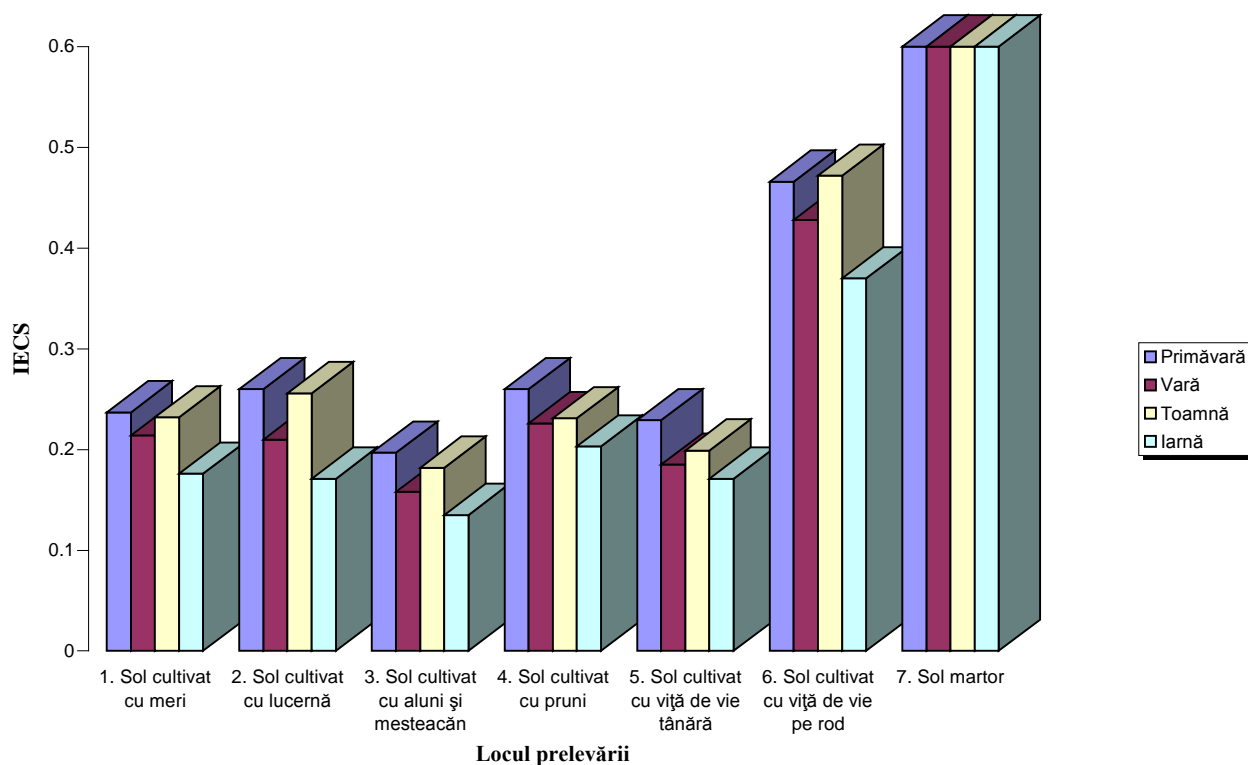
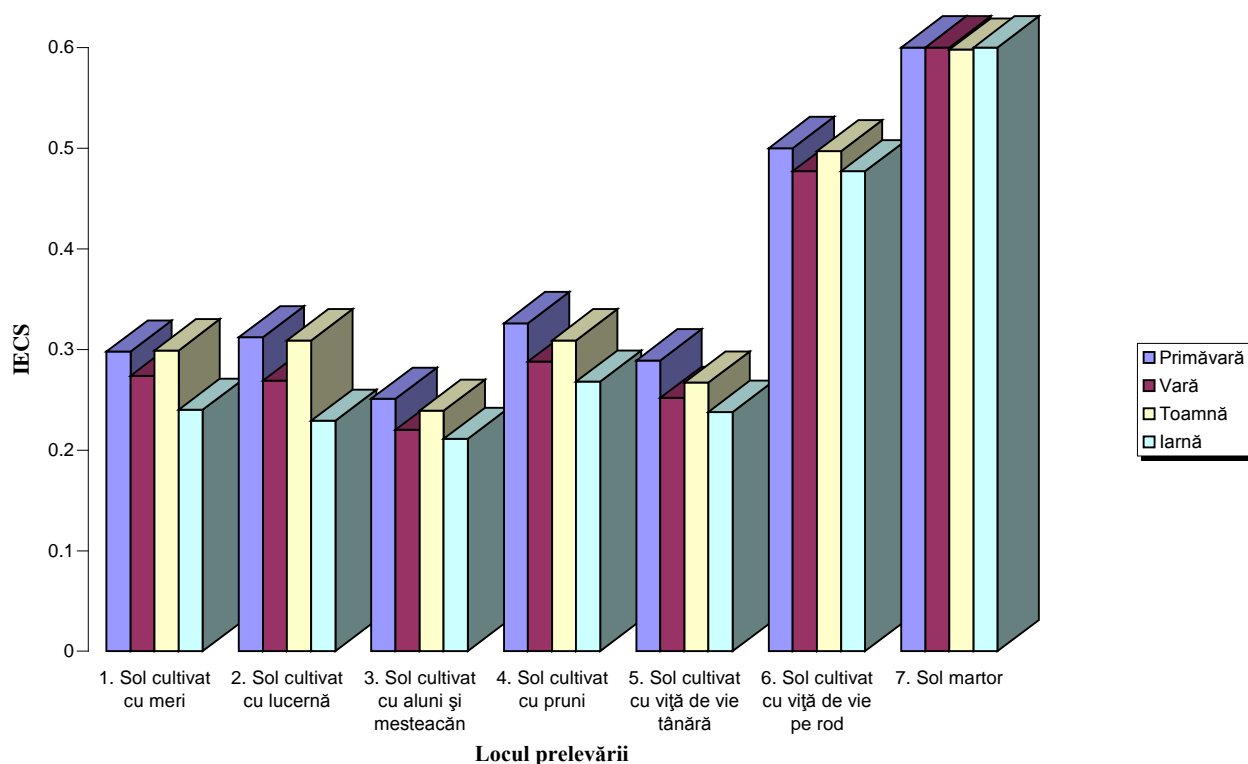


Fig.84 Variația sezonieră a indicatorului enzimatic al calității solului (IECS) din solul tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2006 la adâncimea de 20-40 cm



9.3.2. Activitatea enzimatică calitativă

În cele șapte variante de sol tehnogen au fost determinate calitativ 5 activități poliazice: amilazică (AA), dextranazică (AD), levanazică (AL), celulazică (AC) și inulinazică (AI). Producții hidrolitici reducători se evidențiază prin metoda de cromatografie pe hârtie. Cu cât este mai intens spotul produșilor hidrolitici, cu atât este mai mare activitatea poliazelor. În cursul examinării se compară spoturile de la probele experimentale cu cele de la probele mator. Intensitatea analizelor enzimologice stabilită pe baza spoturilor de culoare a fost marcată cu semne de “+”.

Activitățile enzimelor determinate calitativ (poliaze) au fost slab reprezentate. S-a observat faptul că intensitatea cea mai mare a activităților s-a înregistrat primăvara, urmată de toamnă. Intensitatea activităților este mai scăzută vara, iar iarna unele activități sunt inexistente (AL, AC, AI). Totodată s-a constatat o variație a intensității activității enzimatică în funcție de adâncime, intensitatea maximă înregistrându-se la adâncimea de 5-15 cm.

Tabel 64. Evoluția activităților enzimactice calitative (poliaze) ale solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2002 la adâncimea de 5-15 cm

Perioada prelevării	Activitatea enzimatică	Sol cultivat cu meri	Sol cultivat cu lucernă	Sol cultivat cu aluni și mesteacăn	Sol cultivat cu pruni	Sol cultivat cu viță de vie tânără	Sol cultivat cu viță de vie pe rod	Sol martor
Primăvara	AA	+++	++	++	++	++	++	-
	AD	+	++	+	+/-	+/-	+	+
	AL	+/-	-	-	+/-	-	+	+
	AC	-	-	-	-	-	+/-	+
	AI	++	+	+	+	+	++	+
Vara	AA	+	++	+	+/-	+/-	++	-
	AD	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+	+
	AL	+/-	-	-	-	-	+/-	-
	AC	-	-	-	-	-	+/-	+
	AI	+	+/-	+/-	+	+/-	+	+
Toamna	AA	+++	+	+	+	+	++	-
	AD	+	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-
	AL	-	-	-	+/-	-	+	-
	AC	-	+/-	-	-	-	+/-	+/-
	AI	+	++	+	+	+	++	+/-
Iarna	AA	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	-
	AD	+/-	-	-	-	-	+/-	+/-
	AL	-	-	-	-	-	-	-
	AC	-	-	-	-	-	-	+/-
	AI	-	-	-	-	-	+/-	-

Tabel 72. Evoluția activităților enzimactice calitative (poliaze) ale solului tehnogen de la Rovinari-județul Gorj în anul 2006 la adâncimea de 5-15 cm

Perioada prelevării	Activitatea enzimatică	Sol cultivat cu meri	Sol cultivat cu lucernă	Sol cultivat cu aluni și mesteacăn	Sol cultivat cu pruni	Sol cultivat cu viță de vie tânără	Sol cultivat cu viță de vie pe rod	Sol martor
Primăvara	AA	+++++	+++	++	+++	++	+++	-
	AD	+	+	+	++	+	+	+
	AL	-	+/-	-	+/-	-	+	+
	AC	-	+/-	-	+/-	-	+/-	+
	AI	+++	++	++	+++	++	+++++	+
Vara	AA	++	++	++	++	+	++	-
	AD	+	+	+	+	+	+	+
	AL	-	-	-	-	-	+/-	+
	AC	-	-	-	-	-	+/-	+
	AI	++	+	+	+	+	+++	+
Toamna	AA	+++	+++	++	++	++	+++	-
	AD	+	++	+	++	+	+	+
	AL	-	-	-	+/-	-	+	+
	AC	-	+/-	-	-	-	+/-	+
	AI	+++	++	++	++	++	+++++	+
Iarna	AA	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	-
	AD	-	+/-	-	-	-	+/-	+/-
	AL	-	-	-	-	-	-	+/-
	AC	-	-	-	-	-	-	+/-
	AI	-	-	-	-	-	+/-	-

CONCLUZII

1. În variantele experimentale ale solului tehnogen din zona Rovinari-județul Gorj, sol rezultat în urma exploatării de suprafață a lignitului și supus recultivării biologice, am urmărit interacțiunile microorganisme-sol-plante. Au fost analizate probe de sol, recoltate sezonier, din șapte variante experimentale: I – sol cultivat cu pomi fructiferi (meri); II – sol cultivat cu lucernă; III – sol cultivat cu aluni și mesteacăn; IV – sol cultivat cu pomi fructiferi (pruni); V – sol cultivat cu viță-de-vie tânără; VI – sol cultivat cu viță-de-vie pe rod (peste 20 de ani); VII – sol martor (de pajiște) dintr-o zonă învecinată neafectată de exploatările miniere.

2. Analizând valorile obținute se poate constata că bacteriile din cele șapte grupe (heterotrofe aerobe, amonificatoare, denitrificatoare, desulfocatoare, fier-reducătoare, levanosintetizante, levanolitice) s-au putut evidenția din aproape toate variantele experimentale studiate, ceea ce dovedește că microbiota solului este complexă și că în acest sol tehnogen de la Rovinari potențialul microbiologic este în curs de restabilire, de evoluție spre cel al solului martor (neafectat de exploatările miniere).

3. Bacteriile din solul tehnogen de la Rovinari-județul Gorj au prezentat o fluctuație evidentă a densității numerice în funcție de natura plantelor cultivate, sezon, adâncime și locul de prelevare.

4. Prezența bacteriilor în număr mare la varianta solului martor se explică prin faptul că solul martor provine dintr-o zonă de pajiște, neafectată de exploatările miniere unde activitatea biologică este intensă. Cel mai bine reprezentate au fost bacteriile heterotrofe aerobe pentru toate variantele studiate, aceste bacterii fiind responsabile de mineralizarea substanțelor organice și sunt influențate de cantitatea resturilor vegetale introduse în sol, respectiv de fertilizarea organică cu gunoi de grajd.

5. Pentru toate variantele de sol studiate se constată o creștere numerică a bacteriilor în sezonul de primăvară și toamnă, numărul lor fiind mai mic vara și având valori reduse iarna.

6. Valorile cele mai mari ale indicatorului bacterian al calității solului (IBCS) se înregistrează în cazul solului martor pentru toate sezoanele și adâncimile, sol martor care nu a fost afectat de lucrări de exploatare miniere.

7. Pentru stabilirea indicatorului enzimatic al calității solului (IECS) s-au determinat 6 activități enzimatic, la probe de sol colectate sezonier. Activitățile enzimatic determinate au

fost: activitatea fosfatazică, dehidrogenazică actuală și potențială, catalazică, catalitică neenzimatică și ureazică.

8. Activitățile enzimatic cantitative (activitatea fosfatazică, dehidrogenazică actuală și potențială, catalazică, catalitică neenzimatică și ureazică) au fost decelate în toate probele de sol, înregistrându-se o creștere a valorilor de la anul 2002 la 2006.

9. Valorile absolute ale acestor activități enzimatic cantitative prezintă variații în funcție de locul prelevării, sezon și adâncimea prelevării. Activitățile au înregistrat valori maxime în cazul solului martor, sol neafectat de exploatarea miniere. Din punct de vedere sezonier s-a constatat că valori maxime s-au înregistrat primăvara, uneori toamna. Activitățile au fost mai intense la solul recoltat de la adâncimea de 5-15 cm, comparativ cu adâncimea de 20-40 cm.

10. Valori maxime ale indicatorului enzimatic al calității solului s-au înregistrat primăvara și vara, valori mai scăzute vara și reduse iarna. Se observă o creștere semnificativă a valorii indicatorului enzimatic al calității solului de la anul 2002 la 2006.

11. Activitatea enzimatică calitativă a poliazelor (amilazică, dextranazică, levanazică, celulazică și inulinazică) crește complexitatea aprecierii potențialului enzimatic general al solului tehnogen de la Rovinari. Activitățile amilazică, dextranazică, inulinazică au fost bine reprezentate, iar activitățile levanazică și celulazică au fost slab reprezentate, chiar nedecelabile iarna. Intensitatea activităților a fost mai mare în special primăvara și toamna.

12. Potențialul enzimatic al calității solului a permis diferențierea dintre solul tehnogen și solul martor (neafectat de lucrările miniere), putându-se aprecia că solul tehnogen evoluează spre un sol agricol, în urma măsurilor agrochimice și a celor agrotehnice utilizate.

13. Solul este o sursă de energie de neînlocuit pentru viață iar viteza de degradare a solurilor prin activitățile industriale este mai mare decât viteza de restabilire a echilibrului natural. De aici rezultă necesitatea stringentă a recuperării terenurilor degradate, care să conducă la refacerea echilibrului ecologic, la crearea în zonele afectate de exploatarea la zi a cărbunelui de noi landșafturi, echilibrate ecologic, care să corespundă cerințelor societății.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- ALLEN O.N., 1957, *Experiments in soil Bacteriology*, Third Ed., Burgess, Publ. Co., Minneapolis, Minesotta, p. 31.
- ATLAS R. M., 2004, *Handbook of Microbiological Media*, 3rd edition, CRC Press, New York.
- BLAGA GH., FILIPOV F., RUSU I., UDRESCU S., VASILE D., 2005, *Pedologie*, Ed. Academic Pres, Cluj-Napoca.
- COLIȚĂ I., 1977, *Recultivarea terenurilor degradate prin activitatea minieră în România*, Mine, Petrol, Gaze, nr. 8, p. 361 – 365.
- CRISTEA V., HODIȘAN I., POP I., BECHIȘ E., GROZA G., GĂLAN P., 1990, *Reconstrucția ecologică a haldelor de steril minier*, Contribuții Botanice, Univ. Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca, p. 33 – 37.
- CRISTEA V., KISS S., PAȘCA D., DRĂGAN-BULARDA M., CRIȘAN R., MUNTEAN V., 1995, *Dynamics of the vegetation and evolution of the enzymatic potential of technogenic soils submitted to biological recultivation*, Colloq. Phytosociol. (Camerino), **24**, 169 – 180.
- DRĂGAN-BULARDA M., 1974, *Studii asupra unor polizaharidaze și transferaze din sol (Teză de doctorat)*, Univ. „ Babeș-Bolyai”, Cluj-Napoca, p. 15-26, 144-155.
- DRĂGAN-BULARDA M., KISS S., PAȘCA D., OLAR – GHERGHEL V., 1983, *Contribuții la studierea activității enzimatică a solurilor tehnogene*, Lucr. Conf. Naț. Știința Solului (Brăila, 1982), Publ. Soc. Naț. Rom. Știința Solului, București, No. 21B, 109 – 117.
- DRĂGAN-BULARDA M., KISS S., 1986, *Microbiologia solului*, Univ. Babeș-Bolyai, Cluj, p. 6, 65, 66, 70, 72 – 74, 76, 78 – 82, 86, 88, 93, 94, 98, 103 – 110, 113 – 115, 124, 129, 154 – 162.
- DRĂGAN-BULARDA M., BLAGA G., KISS S., PAȘCA D., GHERASIM V., VULCAN R., 1987, *Effect of long-term fertilization on the enzyme activities in a technogenic soil resulted from the recultivation of iron strip mine spoils*, Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Biol., **32** (2), 47 – 52.

- DRĂGAN-BULARDA M., PAȘCU M., 1997, *Studii asupra unor polizaharidaze din sol*, Lucr. Conf. Naț. Știința Solului (București, 1997), Publ. Soc. Naț. Rom. Știința Solului, București, No. 29B, 9 – 16.
- DRĂGAN-BULARDA M., 2000, *Microbiologie generală – lucrări practice*, Univ. Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca, p. 70, 175-192, 218-232.
- HUIDU E., 2000, *Monografia mineritului din Oltenia*, Vol. I, Ed. Fundației „Constantin Brâncuși”, Târgu-Jiu, p. 52 – 60; 103 – 110.
- HUIDU E., JESCU I., 1987, *Cartea minerului din exploatările la zi*, Ed. Tehnică, București, p. 313-328.
- KISS S., DRĂGAN-BULARDA M., PAȘCA D., 1985, *Enzymological study of the evolution of technogenic soils*, *Evol. Adapt. (Cluj)*, **2**, 159 – 186.
- KISS S., DRĂGAN-BULARDA M., PAȘCA D., 1989 a, *Enzymology of the recultivation of technogenic soils*, *Adv. Agron. (San Diego)*, **42**, 229 – 278.
- KISS S., ȘTEFANIC G., PAȘCA D., DRĂGAN-BULARDA M., ZBOROVSKI E., CRIȘAN R., 1991, *Enzimologia mediului înconjurător*, Vol. 1, Ed. Ceres, București, p. 7 – 274.
- KISS S., DRĂGAN-BULARDA M., PAȘCA D., 1993, *Enzimologia mediului înconjurător*, Vol. 2, Ed. Ceres, București, p. 7 – 83.
- MUNTEAN V., 1995-1996, *Bacterial indicator of mud quality*, *Contribuții Botanice*, Univ. Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca, p. 73-76.
- MUNTEANU N., 1998, *Posibilități de recultivare a haldelor de steril din zona Rovinari cu viță de vie*, Teză de doctorat, Institutul Agronomic Craiova, p. 1 – 34, 56-67.
- VĂLEANU I., HÂNCU M., 1990, *Elemente de statistică generală*, Ed. Litera, București.
- WIGFULL S. D., HARRIS J. A., BIRCH P., 1987, *The activity of micro-organisms in landfill soils*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **40**, 230 – 231.
- ZARNEA G., 1984, *Tratat de microbiologie generală, vol. II*, Ed. Acad. Rom., București, p.31, 241
- ZARNEA G., 1994, *Tratat de microbiologie generală. Vol. V. Bazele teoretice ale ecologiei microorganismelor. Microorganismele și mediile lor naturale*, Ed. Acad. Rom., București, p. 238 – 242.