

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Titlul teză: CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA TEHNOLOGIEI DE CULTURĂ ASUPRA UNOR PROCESE FIZIOLOGICE LA TRIFOIUL ALB (*TRIFOLIUM REPENS* L)

Structura propriu-zisă a tezei:

Rezumatul (română și engleză)

Introducere

Partea de stadiu actual al cunoașterii:

Partea de cercetări proprii:

Concluzii generale și recomandări

Elemente de originalitate

Părți adiționale:

Lista de abrevieri

Lista lucrărilor publicate ca rezultat al cercetărilor

Bibliografia

Elemente tabelare și grafice

Tabele: 74

Grafice: 52

Surse bibliografice 121

Raport antiplagiat / coeficient de similitudine:

Introducere

În vederea evaluării variației de creștere sezonală a trifoiului alb (*Trifolium repens* L.), în condițiile sistemului de pășunat cu ovinele a fost amplasat un dispozitiv experimental bifactorial, în cadrul Stațiunii de Cercetare-Dezvoltare pentru Creșterea Ovinelor și Caprinelor Caransebeș, având ca obiect principal determinarea celor mai bune variante din punct de vedere al producției de fitomasă și a calității acesteia, dar și impactul sistemului de utilizare și modului de semănat asupra dezvoltării vegetative a trifoiului alb. Pentru atingerea obiectivului principal s-a urmărit atingerea următoarelor obiective specifice:

- Analiza influenței modului de pășunat și a modului de cultivare a trifoiului alb a producției de substanță uscată;
- Analize pentru evidențierea relațiilor de natură ecofiziologică referitoare la capacitatea de fixare biologică a azotului atmosferic și evidențierea relației modului de semănat și modul de exploatare asupra cantității de azot fixat biologic.
- Analiza influenței modului de pășunat și a modului de cultivare a trifoiului alb a calității nutritive a furajului obținut;
- Analiza modului de corelare a parametrilor calitativi între ei și cu producția de substanță uscată;
- Identificarea unor elemente ale creșterii și dezvoltării stolonilor la trifoiul alb cultivat la două densități diferite și elemente de corelare a acestor caractere între ele.

Importanța și actualitatea temei

Importanța temei ” Cercetări privind influența tehnologiei de cultură asupra unor procese fiziologice la trifoiul alb (*Trifolium repens* L)” constă în faptul că informațiile de acest tip prezintă foarte mare importanță pentru amelioratori, deoarece există puține informații în literatura de specialitate, mai ales în ceea ce privește dezvoltarea stolonilor în diferite condiții de cultură, informațiile noi în acest sens fiind foarte importante și utile pentru cei din domeniu deoarece productivitatea, calitatea furajului, dar și perenitatea acestei plante în cultură sunt foarte importante din punct de vedere practic.

În prezent există o cerere tot mai mare de alimente mai sănătoase, mai bogate și echilibrate nutritiv, dar pe lângă aceste aspecte calitative și cantitative, tot mai mare interes este și pentru modul în care acestea au fost obținute, respectiv prin aplicarea de tehnologii prietenoase cu mediul.

Toate aceste premise ale cererii determină necesitatea îmbunătățirii valorii nutritive a produselor agricole, atât a celor de origine vegetală cât și a celor de origine animală, optimizarea tehnologiilor de producție, crearea de noi soiuri adaptate noilor tehnologii etc.

La obținerea produselor de origine animală este crucială relația între sol – plantă – animal. Astfel, producția trebuie să se obțină prin respectarea consumatorului final, dar și a mediului ambiant. De aceea, siguranța și calitatea produselor alimentare este în strânsă legătură cu siguranța și calitatea furajelor folosite în nutriția animalelor.

Elementele de productivitate și cele de calitate ale plantelor furajere sunt influențate de comportamentul fiziologic al plantelor în diferite condiții de cultivare și exploatare.

Motivația alegerii temei

Prezenta temă de doctorat a fost aleasă în concordanță cu cerințele noi în domeniul producerii furajelor și utilizării prietenoase cu mediul a acestora. O motivație principală a fost stabilirea unor variante optime de cultură și exploatare a unor variante furajere perene de trifoi alb și raigras peren cultivate singure și în amestec care să aibă o producție bună din punct de vedere cantitativ și calitativ. Un aspect important al cultivării leguminoaselor, precum este și trifoiul alb constă în fixarea biologică a azotului, această capacitate fiind de foarte mare interes, fiind investigată în lucrare atât în amestec raigrasul peren cât și în cultură pură. De asemenea, regenerarea trifoiului alb cultivat singur și în amestec a fost considerată un element important deoarece culturile perene care au o bună regenerare vegetativă sunt importante pentru obținerea de furaje cu inputuri mici, regenerarea vegetativă fiind investigată din prisma caracteristicilor stolonilor.

Partea I: STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Capitolul 1. ASPECTE GENERALE PRIVIND BIOLOGIA ȘI ECOLOGIA TRIFOIULUI ALB (*TRIFOLIUM REPENS* L.)

În primul capitol au fost prezentate informații din literatura de specialitate care fac referire numeroaselor aspecte legate de trifoiul alb, precum originea și taxonomia, morfologia, răspândirea speciei, genetica și ameliorarea, obiective ale ameliorării trifoiului alb în țara noastră, particularități fiziologice ale trifoiului alb și simbioza acestei specii cu bacteriile din specia *Rhizobium trifolii*.

Capitolul 2. ASPECTE PRIVIND CULTIVAREA TRIFOIULUI ALB (*TRIFOLIUM REPENS* L.)

În acest capitol din partea referitoare la stadiul actual al cunoașterii se face referire la caracteristicile utilizării trifoiului alb pentru furaj, aspecte legate de compoziția chimică a biomasei obținute din trifoi alb, precum și aspecte privitoare la cultura trifoiului alb în amestec cu raigrasul peren.

Trifoiul alb crește și se dezvoltă sub forma unor sisteme de tulpini repente, respectiv târâtoare, iar diseminarea vegetativă se face cu ajutorul stolonilor, care se găsesc la suprafața solului și se fixează de sol cu rădăcini adventive care se formează la nivelul fiecărui nod. Acest mod de creștere permite o toleranță excelentă a trifoiului alb la pășunat. Animalele consumă doar frunzele și florile plantei, distrugerea plantelor fiind minimă și favorizând regenerarea acestora în timp util, pentru următorul ciclu de pășunat sau cosit. Trifoiul alb are capacitatea bună de regenerare, astfel umple golurile de pe pășune, care altfel ar fi ocupate cu specii de buruieni.

Clarificarea modului în care mediul și plantele interacționează în amestecurile graminee-leguminoase poate aduce contribuții la dezvoltarea gestionării pășunilor situate în zone cu factori limitativi în general pentru dezvoltarea plantelor. Astfel, stolonii și rădăcinile sunt considerate principalele organe de depozitare a azotului în timpul iernii.

Partea a II-a: CERCETĂRI PROPRII

Partea de cercetări proprii este structurată pe capitole care fac referire la modul de organizare al cercetărilor, materiale și metode de cercetare și rezultate proprii.

Capitolul 3. MATERIAL ȘI METODE DE STUDIU

În vederea evaluării variației de creștere sezonală a trifoiului alb (*Trifolium repens* L.), în condițiile sistemului de pășunat cu ovinele, cercetările au fost amplasate în cadrul Stațiunii de Cercetare Dezvoltare pentru Creșterea Ovinelor și Caprinelor Caransebeș (SCDCOC Caransebeș), pe un sol de tip luvisol albic, pseudogleic, slab acid, moderat aprovizionat în fosfor și potasiu. Speciile și soiurile de graminee și leguminoase de pajști, luate în studiu au fost alese în funcție de zonarea lor ecologică, rezistență la pășunat, perenitate. Pentru semănat s-au folosit următoarele soiuri: *Trifolium repens* L. – soiul Rivendel, *Lolium perenne* L. – soiul Mathilde.

Pentru a răspunde obiectivelor cercetărilor propuse, s-a aplicat o schemă de semănat, în care s-au folosit semințe de *Trifolium repens* și *Lolium perenne*, în cultură pură și în combinație, la diferite distanțe între rânduri: 12,5 și 25 cm, cuplate cu recoltarea prin cosiri repetate și pășunat cu 2 UVM, adică 12 oi și 4 UVM - 25 de oi.

Câmpul experimental a cuprins 18 variante, formate din șase repetiții cu câte trei modalități de evaluare, rezultând 54 de parcele experimentale.

Pentru stabilirea compoziției chimice a producției de furaj a variantelor experimentale analizate au fost analizate probe în laboratorul Disciplinei Nutriția și Alimentația Animalelor de la Facultatea de Bioingineria Resurselor Animaliere din cadrul Universității de Științe Vieții "Regele Mihai I" din Timișoara, după cum urmează:

- substanța uscată (SU %) – prin metoda gravimetrică, respectiv uscarea masei verzi la etuvă la 105⁰C până când masa probei este constantă la două cântăriri succesive;

- proteina brută (PB %) – s-a determinat prin metoda Kjeldahl, respectiv mineralizarea în bloc și distilarea cu aburi;

- grăsimea brută (GB %) – s-a determinat prin metoda Soxhlet de extracție cu solvent organic;

- Celuloza (%) – a fost determinată prin filtrare intermediară;

- Cenușa (%) – s-a determinat prin metoda gravimetrică a rezidului rămas după arderea probei în cuptorul de calcinare;

- azot (N%) – $SEN\% N = 100 - (PB\% + Cenușă\% + CB\% + GB\% + U\%)$;

- substanțe extractive neazotate (SEN) - $SEN\% SU = SU - (PB\% + Cenușă\% + CB\% + GB\%)$.

Determinarea capacității de fitomasă în funcție de structura variantelor experimentale a avut în vedere următoarele aspecte:

- producția de fitomasă s-a determinat în masă verde și substanță uscată (pe cicluri de producție și la fiecare cosire), în fiecare an de vegetație;

- din fiecare parcelă experimentală s-au prelevat probe de masă verde pentru diverse analize de laborator.

Analiza varianței (ANOVA) bifactorială a urmărit influența modului de pășunat (Factorul A), influența modului de cultivare a trifoiului alb (Factorul B) și efectul cumulat al celor doi factori (A*B) asupra SU, PB, GB, cenușă, N și SEN.

Valorificarea prin pășunat a variantelor a_2 și a_3 , din dispozitivul experimental, s-a realizat cu ovinele din rasa Țurcană, calculându-se la fiecare ciclu de pășunat numărul de animale, în funcție de încărcătură propusă ($a_2 = 2$ UVM/ha, $a_3 = 4$ UVM/ha) și de producția de fitomasă existentă, înainte de începerea pășunatului s-a determinat, prin cântărire, producția de fitomasă.

Producțiile de fitomasă furajeră au fost interpretate statistic prin folosirea analizei variantei, în două moduri: de tip bifactorial ($3 \times 6 \times 3$) și de tip trifactorial ($2 \times 3 \times 6 \times 3$).

În vederea cuantificării cantității de N fixat (NFB), la cultura pură și în amestec a trifoiului alb s-a folosit metoda diferenței de azot (Dragomir, 2012) ce estimează cantitatea de N fixat din diferența față de o plantă neleguminoasă (în cazul de față *Lolium perenne*).

În cazul cercetărilor efectuate asupra stolonilor de trifoi alb factorul experimental luat în considerare a fost distanța dintre rânduri la însămânțare cu două graduări (V1 - 12,5 și V2 - 25 cm). Observațiile au fost efectuate în trei repetiții. Caracteristicile evaluate pentru *Trifolium repens* au fost: lungimea stolonilor pe plantă (cm), numărul de noduri per plantă și distanța dintre două noduri per plantă (cm).

Capitolul 4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

4.1. Determinarea producției de fitomasă, a fixării biologice a azotului și a calității fitomasei furajere

Influența factorilor experimentali asupra producției de fitomasă:

- Pășunatul cu 4 UVM/ha a determinat scăderea distinct semnificativă a producției de SU;
- O producție diferită semnificativă în comparație cu varianta în care trifoiul alb a fost cultivat în cultură pură la o distanță de 12,5 cm între rânduri a fost obținută la varianta cultivată la 25 cm între rânduri, raportat la media anilor de vegetație;

- În ceea ce privește impactul modului de pășunat, acesta nu a avut impact semnificativ asupra producției de fitomasă;

- Anul de vegetație are contribuția cea mai mare asupra producției de fitomasă în comparație cu ceilalți factori experimentali, sau cu interacțiunea acestora.

Influența factorilor experimentali asupra capacității de fixare biologică a azotului (NFB) la trifoiul alb (*Trifolium repens* L)

- Scăderea cantității de NFB la varianta pășunată cu 4 UVM/ha în primul an de vegetație, este datorată efectului depresiv al pășunatului.

- Cantitățile de NFB au crescut de 2-3 ori față de primul an de vegetație, ca urmare a creșterii producției de fitomasă și a ponderii trifoiului alb în amestecurile cu *Lolium perenne*;

- În variantele cu folosire prin cosire, cantitatea de Nfixat a înregistrat valori cuprinse între 118-428 kg/ha/an, cu o medie generală de 236 kg/ha/an;

- Folosirea prin pășunatul direct cu animalele, cu o încărcătură moderată de 2UVM/ha, a influențat pozitiv capacitatea de fixare a N₂, cu valori cuprinse între 142 - 453 kg/ha/an și o medie generală a tuturor determinărilor de 253 kg/ha/an, mai mare cu 7,2% (17 kg/ha/an) față de varianta folosită prin cosire;

- La varianta folosită prin pășunat, cu o încărcătură dublă, de 4 UVM/ha, s-a constatat o scădere a cantității de NFB, atât față de varianta folosită prin cosire, cât și la varianta folosită prin pășunat cu 2 UVM/ha. Astfel, în varianta pășunată cu 4 UVM/ha cantitatea medie de NFB a fost de 229 kg/ha/an mai mică față de varianta cosită cu 7 kg/ha/an (3%) și cu 29 kg/ha/an (9,5%) față de varianta pășunată cu 2 UVM/ha.

- Totalitatea datelor obținute și calculate demonstrează că modul de valorificare a fitomasei de trifoi alb, semănat în cultură pură sau în amestec, la distanțe variabilele între rânduri (12,5 cm, 25 cm), are cea mai mare importanță asupra capacității de fixare biologică a azotului atmosferic. Din acest punct de vedere, rezultatele medii obținute evidențiază că față de modul de valorificare prin cosire repetată, la varianta pășunată cu 2 UVM/ha s-a obținut o cantitate diurnă cu 37,1% mai mare, iar la varianta pășunată cu 4 UVM/ha aceasta a fost cu 23,2% mai mare.

Influența factorilor experimentali a trifoiului alb asupra calității fitomasei

- Factorii experimentali analizați și interacțiunea dintre aceștia la modul de pășunat nu au influențat semnificativ din punct de vedere statistic conținutul de proteină brută al furajului;

- Modul de cultivare a avut impact semnificativ și a influențat creșterea conținutului de GB din furaj în primul an de vegetație;

- Studiul interacțiunii factorilor a evidențiat o creștere distinct semnificativă a conținutului de GB în primul an de vegetație, la varianta a₃ b₃ (amestec *Trifolium repens* 40% + *Lolium perenne* 60% și pășunat cu 4 UVM/ha), de 3,66% și o creștere maximă de 3,62% dar ne semnificativă, în anul al doilea, la aceeași variantă de cultivare dar pășunată cu 2 UVM/ha;

- Influența interacțiunii factorilor studiați arată o creștere a conținutului de CB, dar ne semnificativă, la toate variantele de *Trifolium repens* semănat în amestec cu *Lolium perenne*, față de varianta martor cu *Trifolium repens* în cultură pură;

- În variantele cultivate cu trifoi alb, în cultură pură sau în amestec, în cei doi ani de vegetație, conținutul de cenușă este mai mare în comparație cu *Lolium perenne* semănat în cultură pură. Valorile obținute comparate cu varianta b₁ (*Trifolium repens*, cultură pură, 12,5 cm), în cei doi ani de vegetație, arată că diferențele dintre acestea sunt ne semnificative;

- Trifoiul alb semănat în cultură pură sau amestec cu *Lolium perenne* are un conținut de Nt mai mare cu 30 - 60% față de conținutul de Nt din plantele de *Lolium perenne*, în cultură pură. În variantele cu amestec prezența trifoiului alb în structura floristică nu compensează în totalitate diferența dintre conținutul de Nt al trifoiului alb și cel al raigrasului peren, semănat în cultură pură;

- Studiul interacțiunilor factorilor experimentali evidențiază importanța cultivării trifoiului alb în amestec cu gramineele de pășiști, în cazul cercetărilor efectuate cu *Lolium perenne*, ca urmare a creșterii conținutului de SEN din fitomasa rezultată;

Corelații între caracterele calitative ale furajului:

- Cea mai corelația a fost identificată între conținutul de azot și proteina brută;
- Corelații semnificative pozitive identificate au fost între conținutul de celuloză brută și cel de substanță uscată, între SEN și grăsimea brută, între conținutul de cenușă și cel de proteină brută, între SEN și producția de SU, între conținutul de cenușă și PB și între conținutul de azot și cel de cenușă;
- Corelații negative au fost determinate între SEN și proteina brută și SEN cu azotul total, fapt ce arată că odată cu creșterea conținutului de SEN are loc scăderea conținutului de proteină brută și cel de azot.
- Corelații negative au mai fost identificate între conținutul de SEN și cel de celuloză, între PB și SU, între conținutul de azot și cel de SU, între conținutul de azot și cel de celuloză și între conținutul de celuloză și cel de PB.

4.2 Impactul distanței dintre rânduri la semănat asupra dezvoltării stolonilor la specia *Trifolium repens*

- Modul de semănat la specia *Trifolium repens* la 12,5 sau 25 cm între rânduri nu a influențat caracteristicile morfologice ale stolonilor precum: numărul de noduri, lungimea stolonului și distanța dintre noduri;
- Odată cu creșterea numărului de noduri scade distanța dintre ele și invers, acestea fiind puternic corelate negativ;
- La cuantificarea gradului de influență asupra variabilei dependente, prin intermediul corelațiilor multiple, s-a constatat că lungimea stolonilor este influențată cel mai mult de distanța dintre noduri (0,336), urmată de numărul de noduri (0,3), dar și de către distanța dintre rânduri (varianta) (0,187), dar de către aceasta din urmă într-o măsură mai mică.

Partea III. CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Capacitatea de pășunat a avut un impact puternic asupra producției de substanță uscată, astfel că la încărcătura cea mai mare aceasta a scăzut semnificativ, de aceea se recomandă pășunatul cu încărcătură moderată de animale.

Același efect negativ al pășunatului cu încărcătură mare a fost identificat și în cazul cantității de azot biologic fixat, care a scăzut odată cu creșterea încărcăturii de animale.

Conținutul de proteină brută nu a fost influențat semnificativ de modul de utilizare al pășiștii și nici de modul de cultivare, în schimb interacțiunea dintre acești factori experimentali a avut impact semnificativ asupra creșterii conținutului de grăsime brută din furaj în primul an experimental. În general calitatea furajului a fost influențată de interacțiunea factorilor experimentali, fiind evidențiate variantele de amestec dintre trifoiul alb și raigrasul peren, care au dat furaj de calitate superioară.

S-a observat că modul de semănat are un impact redus asupra caracterelor analizate ale stolonilor trifoiului alb, ceea ce recomandă specia a fi cultivată atât în amestec cât și în cultură pură.

Trifoiul alb este și va fi mereu o componentă de bază a pășunilor din zona temperată, în ultimii ani fiind tot mai evidentă importanța acestei specii, care datorită acestui fapt este tot mai cerută pe piață de către fermierii care urmăresc îmbunătățirea aspectelor legate de mediu din fermă și bunăstarea animalelor.

De asemenea, importanța cunoașterii trăsăturilor și a comportamentului în diferite condiții tehnologice de cultură a trifoiului alb sunt necesare pentru a ajuta la o selecție mai eficientă a genotipurilor care intră în programele de ameliorare.

Costurile tot mai ridicate cu fertilizării de sinteză determină de asemenea creșterea interesului fermierilor pentru leguminoase, care sunt o cale de a reduce inclusiv levigarea îngrășămintelor de sinteză, care afectează calitatea apelor.

PARTEA IV. ELEMENTE DE ORIGINALITATE

Gradul de noutate și originalitate al acestei teze constă în modul de abordare al cercetărilor, mai ales prin variantele experimentale alese și a factorilor experimentali analizați.

Astfel, a fost investigat impactul tehnologiei de cultură a trifoiului alb și a modului de exploatare asupra producției de fitomasă și a calității furajului. Aceiași factori au fost investigați și în ceea ce privește impactul lor asupra fixării biologice a azotului.

De asemenea, s-au investigat aspecte ale dezvoltării stolonilor în funcție de modul de semănat al culturii și modul de exploatare, aceștia fiind foarte importanți la trifoiul alb (*Trifolium repens*) pentru formarea producției de biomasă, dar și pentru propagarea și regenerarea pe cale vegetativă a unei pajiști semănate care are în componență această specie.

ABSTRACT OF PHD THESIS

Thesis title: RESEARCHES REGARDING THE INFLUENCE OF CULTIVATION TECHNOLOGY ON SOME PHYSIOLOGICAL PROCESSES IN WHITE CLOVER (*TRIFOLIUM REPENS* L.)

The structure of the thesis:

Summary (Romanian and English)

Introduction

Part of the current state of the art:

Part of own research:

General conclusions and recommendations

Elements of originality

Additional parts:

List of abbreviations

List of papers published as a result of research

References

Tabular and graphical elements

Tables: 74

Graphics: 52

Bibliographic sources: 121

Anti-plagiarism ratio / similarity coefficient:

Introduction

In order to evaluate the seasonal growth variation of white clover (*Trifolium repens* L.), under the conditions of the sheep grazing system, a bifactorial experimental field plot was placed in the Caransebeş Sheep and Goat Research and Development Station, with the main objective the determining of the best variants in terms of phytomass production and its quality, but also the impact of the system of use and the way of cultivation on the vegetative development of white clover. In order to achieve the main objective, the following specific objectives were pursued:

- Analysis of the influence of grazing and white clover cultivation mode on the dry matter production;
- Analyses to highlight the relationships of the eco-physiological relationships regarding the biological fixation capacity of atmospheric nitrogen and highlight the relationship between the cultivation method and the exploitation method on the amount of biologically fixed nitrogen.
- Analysis of the influence of the way of grazing and the way of cultivation of white clover on the nutritional quality of the fodder obtained;
- Analysis of the correlation of qualitative parameters with each other and with dry matter yield;
- Identification of some elements of the growth and development of white clover stolons grown at two different densities and elements of correlation of these features between them.

The importance and novelty of the topic

The importance of the topic of the thesis entitled "Research on the influence of the cultivation technology on some physiological processes in white clover (*Trifolium repens* L)" lies in the fact that this type of information has great importance for breeders, because there is little information in the specialized literature, especially regarding the development of stolons in different cultivation conditions, the new information in this sense being very important and useful for those in the field because the productivity, the quality of the fodder, but also the perenniality of this plant in culture are very important from a practical point of view.

Currently there is a growing demand for healthier, richer and nutritionally balanced foods, but in addition to these qualitative and quantitative aspects, there is also an increasing interest in how they were obtained, namely through the application of environmentally friendly technologies.

All these demand premises determine the need to improve the nutritional value of agricultural products, both those of plant and animal origin, the optimization of production technologies, the creation of new varieties adapted to the new technologies, etc.

When obtaining products of animal origin, the relationship between soil - plant - animal is crucial. Thus, production must be obtained by respecting the final consumer, but also the environment. That is why the safety and quality of food products is closely related to the safety and quality of feed used in animal nutrition.

Productivity and quality elements of forage plants are influenced by the physiological behaviour of the plants under different conditions of cultivation and exploitation.

The motivation for chosen topic

This PhD thesis was chosen in accordance with the new requirements in the field of feed production and their environmentally friendly use. A main motivation was to establish optimal variants of cultivation and exploitation of perennial fodder variants of white clover and perennial ryegrass grown alone and in mixture that have a good production from a quantitative and qualitative point of view. An important aspect of the cultivation of the leguminous species, such as white clover, consists in the biological fixation of nitrogen, this capacity being of great interest, being investigated in the work both in the mixture with perennial ryegrass and in pure stands too. Also, the regeneration of white clover grown alone and in mixture was considered an important element because perennial crops that have good vegetative regeneration are important for obtaining forage with low inputs, vegetative regeneration being investigated from the perspective of stolon features.

Part I: THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

Chapter 1. GENERAL ASPECTS REGARDING THE BIOLOGY AND ECOLOGY OF WHITE CLOVER (*TRIFOLIUM REPENS* L.)

In the first chapter, information was presented from the specialized literature that refers to many aspects related to white clover, such as the origin and taxonomy, morphology, spread of the species, genetics and inbreeding, objectives of the inbreeding of white clover in our country, physiological peculiarities of white clover and the symbiosis of this species with bacteria from the species *Rhizobium trifolii*.

Chapter 2. ASPECTS REGARDING THE CULTIVATION OF WHITE CLOVER (*TRIFOLIUM REPENS* L.)

In this chapter from the part related to the current state of the art, reference is made to the characteristics of the use of white clover for fodder, aspects related to the chemical composition of the biomass obtained from white clover, as well as aspects regarding the cultivation mode of white clover mixed with perennial ryegrass.

White clover grows and develops in the form of creeping stems, and vegetative dispersal is done with the help of stolons, which are found on the surface of the soil and are fixed to the soil with adventitious roots that form at each node. This mode of growth allows excellent tolerance of white clover to grazing. The animals consume only the leaves and flowers of the plant, the destruction of the plants being minimal and favouring their regeneration in good time, for the next grazing or mowing cycle. White clover has a good capacity for regeneration, so it fills the gaps in the pasture, which would otherwise be occupied by weed species.

Elucidation of how the environment and plants interact in grass-legume mixtures can contribute to the development of management of pastures located in areas with generally limiting factors for plant development. Thus, stolons and roots are considered the main nitrogen storage organs of white clover during the winter.

Part II: OWN RESEARCH

The part of own research is structured on chapters that refer to the way of organization of research, research materials and methods and own results.

Chapter 3. MATERIAL AND STUDY METHODS

In order to evaluate the seasonal growth variation of white clover (*Trifolium repens* L.), under the conditions of the sheep grazing system, the researches were located within the Research and Development Station for the Breeding of Sheep and Goats Caransebeş (SCDCOC Caransebeş), on a soil albic luvisoil type, pseudogleic, weakly acid, moderately supplied in phosphorus and potassium. The species and varieties of meadow grasses and legumes, taken in the research, were chosen according to their ecological zoning, resistance to grazing, perenniality. The following varieties were used for sowing: *Trifolium repens* L. – Rivendel variety, *Lolium perenne* L. – Mathilde variety.

In order to meet the objectives of the proposed research, a sowing scheme was applied, in which *Trifolium repens* and *Lolium perenne* seeds were used, in pure culture and in combination, at different distances between the rows: 12.5 and 25 cm, coupled with harvesting by repeated mowing and grazing with 2 LU (Livestock Unit), i.e. 12 sheep and 4 LU - 25 sheep.

The experimental field included 18 variants, consisting of six repetitions with three assessment methods each, resulting in 72 experimental plots.

In order to determine the chemical composition of the fodder production of the analysed experimental variants, samples were analysed in the laboratory of the Animal Nutrition and Food Discipline at the Faculty of Bioengineering of Animal Resources from the "King Mihai I" University of Life Sciences in Timisoara, as follows:

- dry matter (DM %) – by the gravimetric method, respectively drying the green mass in the oven at 105 °C until the mass of the sample is constant after two successive weighing;
- crude protein (CP %) – was determined by the Kjeldahl method, respectively block mineralization and steam distillation;
- crude fat (%) – was determined by the Soxhlet method of extraction with an organic solvent;

- Cellulose (%) – was determined by intermediate filtration;
- Ash (%) – was determined by the gravimetric method of the residue left after burning the sample in the calcination furnace;
- nitrogen (N%) – $NFE\% N = 100 - (CP\% + Ash\% + Cellulose\% + fat\% + U\%)$;
- non-nitrogenous extractive substances (NFE) - $NFE\% DM = DM - (CP\% + Ash\% + Cellulose\% + fat\%)$.

The determination of phytomass capacity according to the structure of the experimental variants took into account the following aspects:

- phytomass production was determined in green mass and dry matter (on production cycles and at each mowing), in each year of vegetation;
- samples of green mass were taken from each experimental plot for various laboratory analyses.

Bifactorial analysis of variance (ANOVA) looked at the influence of grazing mode (Factor A), the influence of white clover cultivation mode (Factor B) and the cumulative effect of the two factors (A*B) on DM, CP, fat, ash, N and NFE.

The exploitation by grazing of variants a_2 and a_3 , from the experimental field, was carried out with sheep from the Țurcană breed, calculating the number of animals at each grazing cycle, depending on the proposed load ($a_2 = 2$ UVM/ha, $a_3 = 4$ UVM /ha) and the existing phytomass production, before the beginning of grazing, the phytomass production was determined by weighing.

Forage phytomass productions were statistically interpreted by using analysis of variance, in two ways: bifactorial ($3 \times 6 \times 3$) and trifactorial ($2 \times 3 \times 6 \times 3$).

In order to quantify the amount of fixed N (NFB), the nitrogen difference method (Dragomir, 2012) was used for the pure and mixed culture of white clover, which estimates the amount of fixed N from the difference compared to a non-leguminous plant (in this case *Lolium perenniale*).

In the case of research carried out on white clover stolons, the experimental factor taken into account was the distance between the rows at sowing with two graduations (V1 - 12.5 and V2 - 25 cm). Observations were performed in three repetitions. The characteristics evaluated for *Trifolium repens* were: length of stolons per plant (cm), number of nodes per plant and distance between two nodes per plant (cm).

Chapter 4. RESULTS AND DISCUSSIONS

4.1. Determination of phytomass production, biological nitrogen fixation and forage phytomass quality

The influence of experimental factors on phytomass production:

- Grazing with 4 UVM/ha determined a distinctly significant decrease in DM production;
- a significantly different production compared to the variant in which the white clover was cultivated in pure stand at a distance of 12.5 cm between the rows was obtained in the variant cultivated at 25 cm between the rows, compared to the average of the years of vegetation;
- Regarding the impact of the grazing method, it did not have a significant impact on phytomass production;
- the vegetation year has the biggest contribution on phytomass production compared to the other experimental factors, or their interaction.

The influence of experimental factors on the capacity of biological nitrogen fixation (NFB) in white clover (*Trifolium repens* L)

- The decrease in the quantity of NFB in the variant grazed with NFB in the variant grazed with 4 LU/ha in the first year of vegetation, is due to the depressive effect of grazing.
- The amounts of NFB increased 2-3 times compared to the first year of vegetation, as a result of the increase in phytomass production and the weight of white clover in mixtures with *Lolium perenne*;
- In the variants with use by mowing, the amount of Nfixed recorded values between 118-428 kg/ha/year, with a general average of 236 kg/ha/year;
- Use through direct grazing with animals, with a moderate load of 2 LU/ha, positively influenced the N₂ fixation capacity, with values between 142 - 453 kg/ha/year and a general average of all determinations of 253 kg/ha /year, higher by 7.2% (17 kg/ha/year) compared to the variant used by mowing;
- In the variant used by grazing, with a double load of 4 LU/ha, a decrease in the amount of NFB was found, both compared to the variant used by mowing, and in the variant used by grazing with 2 LU/ha. Thus, in the grazed variant with 4 LU/ha the average amount of NFB was 229 kg/ha/year lower compared to the mowed variant by 7 kg/ha/year (3%) and by 29 kg/ha/year (9.5%) compared to the grazed variant with 2 LU/ha.
- The totality of the obtained and calculated data demonstrates that the method of exploiting the phytomass of white clover, sown in pure stand or in a mixture, at variable distances between rows (12.5 cm, 25 cm), has the greatest importance on the biological fixation capacity of atmospheric nitrogen. From this point of view, the average results obtained highlight that compared to the method of capitalization by repeated mowing, in the grazed version with 2 LU/ha, a daily amount was obtained by 37.1% higher, and in the grazed version with 4 LU/ha this was 23.2% higher.

The influence of experimental factors on whiteness on phytomass quality

- The experimental factors analysed and the interaction between them and the mode of grazing did not statistically significantly influence the crude protein content of the forage;
- the way of cultivation had a significant impact and influenced the increase of fat content in the feed in the first year of vegetation;
- The study of the interaction of the factors revealed a distinctly significant increase in fat content in the first year of vegetation, in the a₃b₃ variant (mixture of *Trifolium repens* 40% + *Lolium perenne* 60% and grazed with 4 LU/ha), of 3.66% and a maximum increase of 3.62% but insignificant, in the second year, with the same cultivation variant but grazed with 2 LU/ha;
- The influence of the interaction of the studied factors shows an increase in cellulose content, but not significant, in all variants of *Trifolium repens* sown in a mixture with *Lolium perenne*, compared to the control variant with *Trifolium repens* in pure stand;
- In the variants cultivated with white clover, in pure stand or in mixture, in the two years of vegetation, the ash content is higher compared to *Lolium perenne* sown in pure culture. The values obtained compared with variant b₁ (*Trifolium repens*, pure stand, 12.5 cm), in the two years of vegetation, show that the differences between them are insignificant;
- White clover sown in pure culture or mixed with *Lolium perenne* has a 30-60% higher Nt content compared to the Nt content of *Lolium perenne* plants in pure stand. In the mixed variants, the presence of white

clover in the floristic structure does not completely compensate for the difference between the Nt content of white clover and that of perennial ryegrass, sown in pure stand;

- The study of the interactions of the experimental factors highlights the importance of cultivating white clover mixed with pasture grasses, in the case of research carried out with *Lolium perenne*, as a result of the increase in the NFE content of the resulting phytomass.

Correlations between the qualitative features of the forage:

- the most correlation was identified between nitrogen content and crude protein;

- significant positive correlations were identified between crude cellulose and dry matter content, between NFE and crude fat, between ash content and crude protein, between NFE and DM production, between ash content and CP and between nitrogen and ash;

- negative correlations were determined between NFE and crude protein and NFE with total nitrogen, which shows that with the increase in NFE content, there is a decrease in crude protein and nitrogen content.

- negative correlations were also identified between the content of NFE and that of cellulose, between CP and DM, between the content of nitrogen and that of DM, between the content of nitrogen and that of cellulose and between the content of cellulose and that of CP.

4.2 The impact of row spacing at sowing on stolon development in the species *Trifolium repens*

- the method of sowing in the species *Trifolium repens* at 12.5 or 25 cm between rows did not influence the morphological characteristics of the stolons such as: the number of nodes, the length of the stolon and the distance between nodes;

- with the increase in the number of nodes, the distance between them decreases and vice versa, they being strongly negatively correlated;

- when quantifying the degree of influence on the dependent variable, through multiple correlations, it was found that the length of the stolons is most influenced by the distance between nodes (0.336), followed by the number of nodes (0.3), but also by the distance between rows (variance) (0.187), but by the latter to a lesser extent.

Part III. GENERAL CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

The grazing capacity had a strong impact on the production of dry matter, so that at the highest load it decreased significantly, therefore grazing with a moderate load of animals is recommended.

The same negative effect of high-load grazing was also identified for the amount of biologically fixed nitrogen, which decreased with increasing animal load.

The crude protein content was not significantly influenced by the way of using the pasture nor by the way of cultivation, instead the interaction between these experimental factors had a significant impact on the increase of the crude fat content of the forage in the first experimental year. In general, the quality of the fodder was influenced by the interaction of the experimental factors, the variants of the mixture between white clover and perennial ryegrass being highlighted, which gave higher quality fodder.

It was observed that the method of sowing has little impact on the analysed features of white clover stolons, which recommends the species to be cultivated both in mixture and in pure stands.

White clover is and will always be a basic component of pastures in the temperate zone, in recent years the importance of this species has become more and more evident, which due to this fact is increasingly demanded on the market by farmers who aim to improve the environmental aspects of the farm and animal welfare.

Also, the importance of knowing the traits and behaviour in different technological conditions of white clover cultivation mode are necessary to help in a more effective selection of the genotypes entering the breeding programs.

The increasingly high costs of synthetic fertilizers are also increasing farmers' interest in legumes, which are a way to reduce the leaching of synthetic fertilizers, which affects water quality.

Part IV. ELEMENTS OF ORIGINALITY

The degree of novelty and originality of this thesis lies in the approach to the research, especially through the experimental variants chosen and the experimental factors analysed.

Thus, the impact of white clover cultivation technology and exploitation mode on phytomass production and forage quality was investigated. The same factors were investigated regarding their impact on the nitrogen biological fixation.

Also, aspects of the development of stolons were investigated depending on the method of sowing the crop and the method of exploitation, these being very important in white clover (*Trifolium repens*) for the formation of biomass production, but also for vegetative propagation and regeneration of a sown meadow containing this species.