

**UNIVERSITATEA TEHNICĂ  
"GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI**



**ȘCOALA DOCTORALĂ**

**FACULTATEA DE INGINERIE CHIMICĂ  
ȘI PROTECȚIA MEDIULUI "Cristofor Simionescu"**

**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI  
UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME  
PENTRU BIOREMEDIEREA MEDIULUI  
POLUAT CU METALE GRELE  
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**Prof. univ. emerit dr. ing. MARIA GAVRILESCU**

**Doctorand:**

**Ing. MARIANA MINUȚ**

**IAȘI, 2023**

**UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI**  
**RECTORATUL**

Către

---

---

Vă facem cunoscut că, în ziua de **12.07.2023** la ora **12<sup>00</sup>** în Sala de Consiliu a Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului "Cristofor Simionescu", din Iași va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată:

**"EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU  
BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE"**

elaborată de domnișoara inginer **MINUȚ Mariana** în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

- |   |                        |
|---|------------------------|
| 1. Prof.univ.dr.ing. <b>MĂLUȚAN Teodor</b> ,<br>Universitatea Tehnică, "Gheorghe Asachi" din Iași                       | președinte             |
| 2. Prof.univ. emerit dr.ing. <b>GAVRILESCU Maria</b> ,<br>Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași              | conducător de doctorat |
| 3. Prof.univ.dr.ing. <b>STOLERU Vasile</b> ,<br>Universitatea pentru Științele Vieții "Ion Ionescu de la Brad" din Iași | referent oficial       |
| 4. Prof.univ.dr.habil.biol. <b>NICOARĂ Mircea Nicușor</b><br>Universitatea "Alexandru Ioan Cuza" din Iași               | referent oficial       |
| 5. Prof.univ.dr.habil.chim. <b>BULGARIU Laura</b> ,<br>Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași                 | referent oficial       |

Cu această ocazie vă invităm să participați la susținerea publică a tezei de doctorat.

RECTOR,

Prof.univ.dr.ing. **DAN CAȘCAVAL**



Secretar universitate,

Ing. Cristina Nagiț

## **MULȚUMIRI**

*Doresc să adresez mulțumiri și aprecieri profunde celor care m-au îndrumat și mi-au acordat sprijinul pe tot parcursul elaborării tezei de doctorat.*

*În primul rând adresez cele mai calde și alese mulțumiri conducătorului de doctorat, doamnei Prof.univ.dr.ing. Maria Gavrilescu pentru sprijinul, încurajarea și îndrumarea oferită pe parcursul întregii etape de realizare a doctoratului. De asemenea îi sunt profund recunoscătoare pentru oportunitatea de a activa în diferite proiecte de cercetare, în cadrul cărora, alături de echipa de cercetare, am dobândit o reală experiență în realizarea și conducerea experimentelor la nivel de laborator.*

*Deosebită considerație și mulțumiri adresez membrilor comisiei de îndrumare, Prof.univ.dr.habil.chim. Laura Bulgariu pentru discuțiile fructuoase și supravegherea permanentă și competentă oferită în etapa de analiză a probelor prin spectrometrie de absorbție atomică, doamnei Conf.univ.dr.biol. Mariana Diaconu pentru îndrumarea și sprijinul necondiționat oferit în realizarea tezei, mai ales în timpul experimentelor de laborator, doamnei Sef lucr.dr.ing. Petronela Cozma pentru încurajările, discuțiile interesante și la obiect de care am avut parte pe parcursul elaborării și realizării tezei.*

*Mulțumesc distinșilor referenți din Comisia de evaluare și susținere a tezei de doctorat prezidată de domnul Prof.univ.dr.ing. Teodor Măluțan, doamnei Prof.univ.dr.habil.chim. Laura Bulgariu, Universitatea Tehnică “Gheorghe Asachi” din Iași, domnului Prof.univ.dr.ing. Vasile Stoleru, Universitatea pentru Științele Vieții “Ion Ionescu de la Brad” din Iași, domnului Prof.univ.dr.habil.biolog Mircea Nicoară, de la Universitatea “Alexandru Ioan Cuza” din Iași.*

*Mulțumiri domnului Prof.univ.dr.ing. Gerard Jităreanu, Rectorul Universității pentru Științele Vieții “Ion Ionescu de la Brad” din Iași pentru posibilitatea pe care mi-a oferit-o de a realiza o parte din experimente la sera didactică din cadrul fermei Adamachi.*

*Îi mulțumesc în mod special domnișoarei mentor Dr.ing. Mihaela Roșca pentru îndrumare, discuțiile fructuoase, ajutor, sfaturi, încurajări, încredere și prietenia acordată! Fără sprijinul necondiționat și extraordinar acordat de domnișoara Dr.ing. Mihaela Roșca, finalizarea acestui studiu ar fi fost mult mai dificilă! Îi voi rămâne veșnic profund recunoscătoare!*

*Recunoștință tuturor cadrelor didactice din cadrul Departamentului Ingineria și Managementul Mediului al Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului “Cristofor Simionescu” care au contribuit la dezvoltarea mea profesională de-a lungul anilor. Mulțumiri și colegilor mei din cadrul laboratorului de Ingineria Proceselor Chimice și Biologice din Departamentul Ingineria și Managementul Mediului pentru tot sprijinul și colaborarea.*

*Mulțumesc în mod special părinților, fraților și bunicilor mei pentru sprijinul, încrederea, încurajările și ajutorul necondiționat oferit de-a lungul vieții!*

*Mulțumesc profund partenerului meu de viață, Răzvan care mi-a oferit putere, curaj, sprijin necondiționat și care a crezut în mine când nici eu nu mai credeam!*

*Mulțumesc Bunului Dumnezeu care mi-a oferit sănătate, putere, ocrotire și înțelepciune în elaborarea și finalizarea tezei de doctorat și am putut merge “DOAR ÎNAINTE”!*

***Dedic cu toată iubirea această teză de doctorat familiei mele!***

***Iași, Iulie, 2023***

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPITOLUL 1.</b>	
<b>STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PRIVIND BIOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE UTILIZÂND PLANTE, MICROORGANISME ȘI INTERACȚIUNILE DINTRE ACESTEA .....</b>	<b>21</b>
<b>1.1. Poluarea solului cu metale grele.....</b>	<b>21</b>
1.1.1. Aspecte generale ale poluării solului cu metale grele: Impact, surse și comportament în mediu.....	21
1.1.2. Poluarea solului cu nichel.....	24
1.1.2.1. Explorarea generală a poluării solului cu nichel: impact, surse și consecințe.....	24
1.1.2.2. Efectele nichelului asupra mediului și sănătății umane.....	26
1.1.3. Poluarea solului cu cadmiu.....	27
1.1.3.1. Cadmiul în sol: surse și provocarea poluării.....	27
1.1.3.2. Efectele cadmiului asupra mediului și sănătății umane.....	29
<b>1.2. Metode de eliminare a metalelor grele din sol.....</b>	<b>31</b>
1.2.1. Metode fizico-chimice.....	31
1.2.2. Metode biologice.....	34
1.2.2.1. Abordări biologice în bioremedierea solului.....	34
1.2.2.2. Fitoremedierea .....	35
<b>1.3. Utilizarea plantelor în bioremedierea solurilor poluate cu metale grele.....</b>	<b>37</b>
1.3.1. Comportamentul plantelor în prezența metalelor grele.....	37
1.3.2. Mecanisme implicate în procesul de fitoremediere.....	43
1.3.3. Factorii care influențează procesul de fitoremediere.....	46
1.3.3.1. Caracteristicile speciilor de plante.....	47
1.3.3.2. Caracteristicile solului.....	48
1.3.3.3. Factorii de mediu.....	50
1.3.3.4. Zona radiculară.....	51
1.3.3.5. Prezența agenților de chelare.....	51
1.3.3.6. Caracteristicile metalelor.....	52
1.3.4. Specii de plante cu potențial de îndepărtare a metalelor grele din sol.....	52
<b>1.4. Utilizarea microorganismelor în bioremedierea solurilor poluate cu metale grele.....</b>	<b>58</b>
1.4.1. Interacțiunea microorganismelor cu metalele grele: implicații și comportament.....	58
1.4.2. Fitoremedierea asistată de microorganisme .....	61
1.4.3. Mecanismele implicate în stimularea creșterii plantelor de către bacteriile care promovează creșterea plantelor (PGPB).....	62
1.4.3.1. Explorarea mecanismelor prin care bacteriile PGPB promovează creșterea și dezvoltarea plantelor.....	62
1.4.3.2. Mecanisme directe implicate în stimularea creșterii plantelor de către PGPB.....	63
1.4.3.3. Mecanisme indirecte implicate în stimularea creșterii plantelor de către PGPB....	65
1.4.4. Specii de microorganisme implicate în creșterea plantelor în prezența metalelor grele..	66
<b>CONCLUZII .....</b>	<b>68</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>70</b>

<b>CAPITOLUL 2.</b>	
<b>METODOLOGII UTILIZATE ÎN STUDIILE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>87</b>
<b>2.1. Scopul și importanța cercetării .....</b>	<b>87</b>
<b>2.2. Speciile de plante utilizate în studiile experimentale.....</b>	<b>88</b>
2.2.1. Descrierea speciilor de plante utilizate în studiu.....	88
2.2.1.1. Muștarul alb ( <i>Sinapis alba</i> L.).....	89
2.2.1.2. Rapița ( <i>Brassica napus</i> L.).....	89
2.2.1.3. Știrul ( <i>Amaranthus retroflexus</i> L.).....	90
2.2.2. Pregătirea și sterilizarea semințelor plantelor utilizate în experimente.....	90
<b>2.3. Speciile de microorganisme utilizate în studiile experimentale.....</b>	<b>91</b>
2.3.1. Descrierea speciilor de microorganisme utilizate în studiu.....	91
2.3.2. Izolarea bacteriilor <i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> și <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	92
<b>2.4. Prepararea și analiza soluțiilor apoase ale ionilor de nichel și cadmiu.....</b>	<b>93</b>
2.4.1. Prepararea soluțiilor de lucru utilizate în experimente și analiza soluțiilor de nichel și cadmiu.....	93
<b>2.5. Metodologia experimentală aplicată pentru determinarea fitotoxicității metalelor asupra plantulelor de <i>Sinapis alba</i> L., <i>Brassica napus</i> L. și <i>Amaranthus retroflexus</i> L. în mediu lichid.....</b>	<b>95</b>
<b>2.6. Metodologia experimentală utilizată pentru determinarea ecotoxicității metalelor asupra microorganismelor <i>Azotobacter chroococcum</i>, <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Pseudomonas fluorescens</i> în mediu lichid.....</b>	<b>96</b>
<b>2.7. Indicatori utilizați privind determinarea efectelor toxice ale ionilor metalici asupra microorganismelor și cuantificarea rezultatelor procesului.....</b>	<b>98</b>
2.7.1. Determinarea gradului de dezvoltare celulară.....	98
2.7.2. Determinarea activității enzimatice .....	99
2.7.3. Indicatori cantitativi pentru reținerea ionilor de nichel și cadmiu.....	103
<b>2.8. Metodologia experimentală utilizată pentru determinarea capacității plantelor de muștar alb, rapiță și știr de a tolera toxicitatea ionilor de nichel și cadmiu din solul poluat</b>	<b>104</b>
2.8.1. Pregătirea solului în vederea contaminării acestuia cu ionii metalici.....	104
2.8.2. Procedeele experimentale aplicate în vederea determinării capacității plantelor de muștar alb, rapiță și știr de a tolera toxicitatea ionilor de nichel și cadmiu din solul poluat.....	105
<b>2.9. Metodologia experimentală aplicată pentru analiza și evaluarea interacțiunilor sinergice plante-microorganisme-sol poluat.....</b>	<b>109</b>
2.9.1. Protocolul experimental.....	109
2.9.2. Determinarea activității superoxidului în jurul rădăcinilor plantelor.....	111
<b>2.10. Metodologie experimentală pentru determinarea conținutului de pigmenți fotosintetici.....</b>	<b>112</b>
<b>2.11. Metodologie experimentală pentru determinarea conținutului de siderofori.....</b>	<b>113</b>
<b>2.12. Metodologie experimentală pentru determinarea conținutului de metal în plantă și sol.</b>	<b>115</b>
<b>2.13. Indicatori utilizați ca măsură a toleranței plantelor pentru toxicitatea ionilor metalici și pentru evaluarea performanțelor fitoremedierii.....</b>	<b>118</b>
2.13.1. Indicatori ai toleranței plantelor pentru toxicitatea metalelor.....	118

2.13.2. Indicatori pentru evaluarea performanțelor fitoremedierii.....	119
<b>2.14. Analiza statistică și de regresie a rezultatelor obținute.....</b>	<b>121</b>
<b>CONCLUZII .....</b>	<b>125</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>126</b>
<b>CAPITOLUL 3.</b>	
<b>STUDII PRIVIND POTENȚIALUL PLANTELOR <i>Sinapis alba</i> L., <i>Brassica napus</i> L. și <i>Amaranthus retroflexus</i> L. DE A TOLERA ȘI BIOACUMULA IONII DE NICHEL.....</b>	<b>133</b>
<b>3.1. Scopul și importanța cercetării .....</b>	<b>133</b>
<b>3.2. Efectele ionilor de nichel asupra creșterii și dezvoltării plantulelor de <i>Sinapis alba</i> L., <i>Brassica napus</i> L. și <i>Amaranthus retroflexus</i> L. în mediul lichid.....</b>	<b>135</b>
3.2.1. Gradul de germinare al semințelor (GD, %).....	135
3.2.2. Creșterea relativă a lungimilor radiculelor și hipocotilelor plantulelor (rata de alungire, elongation rate, E <sub>r</sub> %).....	138
3.2.3. Cantitatea de biomasă uscată.....	142
<b>3.3. Efectele ionilor de nichel din solul poluat asupra creșterii și dezvoltării plantelor de <i>Sinapis alba</i> L., <i>Brassica napus</i> L. și <i>Amaranthus retroflexus</i> L.....</b>	<b>143</b>
3.3.1. Efectele ionilor de nichel asupra dezvoltării plantei de muștar alb.....	144
3.3.2. Efectele ionilor de nichel asupra dezvoltării plantei de rapiță.....	147
3.3.3. Efectele ionilor de nichel asupra dezvoltării plantei de știr.....	151
<b>3.4. Efectele ionilor de nichel asupra pigmentilor fotosintetici din plantele de muștar alb, rapiță și știr din solul poluat.....</b>	<b>155</b>
<b>3.5. Efectele ionilor de nichel asupra producției de siderofori din zona rizosferică a plantele de rapiță și știr.....</b>	<b>157</b>
<b>3.6. Determinarea eficienței procesului de fitoremediere.....</b>	<b>160</b>
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>169</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>173</b>
<b>CAPITOLUL 4.</b>	
<b>STUDII PRIVIND POTENȚIALUL PLANTELOR <i>Sinapis alba</i> L., <i>Brassica napus</i> L. ȘI <i>Amaranthus retroflexus</i> L. DE A TOLERA ȘI BIOACUMULA IONII DE CADMIU.....</b>	<b>181</b>
<b>4.1. Scopul și importanța cercetării.....</b>	<b>181</b>
<b>4.2. Efectele ionilor de cadmiu asupra creșterii și dezvoltării plantulelor de <i>Sinapis alba</i> L., <i>Brassica napus</i> L. și <i>Amaranthus retroflexus</i> L. în mediul lichid.....</b>	<b>182</b>
4.2.1. Gradul de germinare al semințelor (GD, %).....	183
4.2.2. Creșterea relativă a lungimilor radiculelor și hipocotilelor plantulelor (rata de alungire, elongation rate, E <sub>r</sub> , %).....	186
4.2.3. Cantitatea de biomasă uscată.....	190
<b>4.3. Efectele ionilor de cadmiu din solul poluat asupra creșterii și dezvoltării plantelor de <i>Sinapis alba</i> L., <i>Brassica napus</i> L. și <i>Amaranthus retroflexus</i> L.....</b>	<b>191</b>
4.3.1. Efectele ionilor de cadmiu asupra dezvoltării plantei de muștar alb.....	191
4.3.2. Efectele ionilor de cadmiu asupra dezvoltării plantei de rapiță.....	194

4.3.3. Efectele ionilor de cadmiu asupra dezvoltării plantei de știr.....	197
<b>4.4. Efectele ionilor de cadmiu asupra pigmentilor fotosintetici din plantele de muștar, rapiță și știr în sol poluat.....</b>	<b>199</b>
<b>4.5. Efectele ionilor de cadmiu asupra producerii de siderofori din zona rizosferică a plantelor de muștar și rapiță.....</b>	<b>202</b>
<b>4.6. Determinarea eficienței procesului de fitoremediere.....</b>	<b>204</b>
<b>4.7. Efectele cumulative a ionilor de nichel și cadmiu asupra creșterii și dezvoltării muștarului alb în sol.....</b>	<b>212</b>
4.7.1. Efectele cumulative a ionilor de nichel și cadmiu asupra parametrilor morfologici.....	213
4.7.2. Efectele cumulative a ionilor de nichel și cadmiu asupra conținutului de pigmenți fotosintetici.....	219
4.7.3. Efectele cumulative a ionilor de nichel și cadmiu asupra acumulării cadmiului și nichelului în plantele de muștar .....	221
<b>CONCLUZII .....</b>	<b>227</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>231</b>
<b>CAPITOLUL 5.</b>	
<b>POTENȚIALUL MICROORGANISMELOR <i>Azotobacter chroococcum</i>, <i>Bacillus subtilis</i> ȘI <i>Pseudomonas fluorescens</i> DE A TOLERA ȘI REȚINE IONII DE NICHEL ȘI CADMIU ÎN MEDIUL LICHID .....</b>	<b>237</b>
<b>5.1. Scopul și importanța cercetării .....</b>	<b>237</b>
<b>5.2. Efectele ionilor de nichel asupra microorganismelor <i>Azotobacter chroococcum</i>, <i>Bacillus subtilis</i> și <i>Pseudomonas fluorescens</i>.....</b>	<b>238</b>
5.2.1. Efectele asupra activității enzimatice.....	238
5.2.2. Efectele asupra gradului de dezvoltare celulară (DO <sub>600</sub> ).....	243
<b>5.3. Efectele ionilor de cadmiu asupra microorganismelor <i>Azotobacter chroococcum</i>, <i>Bacillus subtilis</i> și <i>Pseudomonas fluorescens</i>.....</b>	<b>244</b>
5.3.1. Efectele asupra activității enzimatice.....	245
5.3.2. Efectele asupra gradului de dezvoltare celulară (DO <sub>600</sub> ).....	250
<b>5.4. Reținerea ionilor de Cd<sup>2+</sup> și Ni<sup>2+</sup> din soluții apoase de către biomasa viabilă a microorganismelor.....</b>	<b>252</b>
<b>CONCLUZII .....</b>	<b>254</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>255</b>
<b>CAPITOLUL 6.</b>	
<b>STUDIUL INTERACȚIUNILOR DINTRE PLANTE ȘI MICROORGANISME ÎNTR-UN SOL POLUAT CU IONII DE NICHEL.....</b>	<b>259</b>
<b>6.1. Scopul și importanța cercetării.....</b>	<b>259</b>
<b>6.2. Efectele bacteriilor <i>Azotobacter chroococcum</i>, <i>Bacillus subtilis</i> și <i>Pseudomonas fluorescens</i> asupra creșterii și dezvoltării plantelor de <i>Sinapis alba</i> L. și <i>Amaranthus retroflexus</i> L. în solul poluat cu ionii de nichel.....</b>	<b>261</b>
6.2.1. Efectele bacteriilor asupra creșterii și dezvoltării plantelor de muștar alb, rapiță și știr..	261

*Rezumatul tezei de doctorat:*  
**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU  
BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE**

---

6.2.2. Efectele bacteriilor asupra creșterii și dezvoltării plantei de muștar alb în solul poluat cu ionii de nichel.....	267
6.2.3. Efectele bacteriilor asupra creșterii și dezvoltării plantei de știr în solul poluat cu ionii de nichel.....	276
<b>6.3. Efectele bacteriilor <i>Azotobacter chroococcum</i>, <i>Bacillus subtilis</i> și <i>Pseudomonas fluorescens</i> asupra pigmentilor fotosintetici ai plantelor <i>Sinapis alba</i> L. și <i>Amaranthus retroflexus</i> L. în solul poluat cu ionii de nichel.....</b>	<b>282</b>
<b>6.4. Efectele ionilor de nichel asupra producerii de siderofori din zona rizosferică a plantelor de muștar.....</b>	<b>286</b>
<b>6.5. Determinarea activității superoxid în jurul rădăcinilor plantelor.....</b>	<b>289</b>
<b>6.6. Determinarea eficienței procesului de fitoremediere.....</b>	<b>291</b>
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>306</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>310</b>
<b>CONCLUZII GENERALE.....</b>	<b>317</b>
<b>ANEXA 1. LISTA FIGURILOR.....</b>	<b>I</b>
<b>ANEXA 2. LISTA TABELELOR.....</b>	<b>VII</b>
<b>ANEXA 3. ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ.....</b>	<b>XI</b>

*În rezumatul tezei de doctorat se prezintă o parte din rezultatele cercetărilor experimentale proprii, concluziile generale și bibliografie selectivă. La redactarea rezumatului s-au păstrat aceleași notații pentru capitole, paragrafe, figuri, tabele și ecuații utilizate în textul tezei de doctorat.*



*“A înțelege natura înseamnă a înțelege viitorul, dar a face ceva pentru salvarea naturii atât de amenințată azi înseamnă a contribui la fericirea omenirii” Eugen Pora*

## **INTRODUCERE**

Ca resursă naturală, solul reprezintă un pilon de bază care asigură susținerea existenței organismelor vii, terenuri pentru agricultură și spații pentru comunități umane și animale. Se estimează că jumătate din suprafața Pământului este ocupată de terenuri cultivate, pășuni, alte culturi permanente (Diaconu și colab., 2020; Hou și colab., 2020; Gavrilescu, 2022). De-a lungul timpului însă, solul a fost afectat drastic de fenomenul poluării. Poluarea solului se poate produce ca urmare a unor fenomene naturale (eroziune, furtuni, erupții vulcanice, alunecări de teren), dar într-o mai mică măsură comparativ cu cea generată de activitățile antropogene. Ca urmare a acestor activități au fost eliberați în mediu numeroși compuși care, ca o consecință a proprietăților lor, afectează ireversibil calitatea mediului înconjurător, generând impacturi negative asupra vieții terestre și acvatice (Hlihor și colab., 2009; Nadeem și colab., 2014).

Numărul terenurilor poluate este în continuă creștere la nivel mondial, existând peste 10 milioane de situri poluate, din care mai mult de 50% cu metale grele (Haroon și colab., 2022; Nuralykyzy și colab., 2021).

Dintre metalele grele, **nichelul** și **cadmiul** reprezintă poluanți ce trebuie eliminați cu precădere din mediu, în principal din cauza efectelor toxice ireversibile comune cu ale altor metale grele toxice asupra sănătății umane, plantelor, animalelor și microorganismelor precum și a persistenței, bioacumulării și a caracterului nebiodegradabil (Eskandari și Amraie, 2016; Qiao și colab., 2020). Agenția Internațională pentru Cercetarea Cancerului (IARC) a clasificat cadmiul și compușii cadmiului precum și compușii ai nichelului ca aparținând grupei I - cancerigenă (există suficiente dovezi pentru carcinogenitate la om). Unele aliaje de nichel sunt incluse în grupa 2B (posibil cancerigen pentru om) (IARC, 2023; Roșca și colab., 2021). De asemenea, Agenția Statelor Unite pentru Substanțe Toxice și Registrul Bolilor (ATSDR), clasifică cadmiul și nichelul pe locul șapte și, respectiv, cincizeci și șapte în lista de priorități a efectelor toxice și cancerigene (ATSDR, 2023).

**Cadmiul**, odată absorbit în corpul uman se acumulează în ficat, rinichi, oase și țesuturi musculare, generând riscuri extrem de grave pentru sănătatea umană (Nuralykyzy și colab., 2021). Cadmiul este un metal tranzițional, neesențial pentru plante. Acesta poate fi absorbit din sol de către plante și acumulat în diferite părți ale acestora, putându-se implica și în lanțurile alimentare (Roșca și colab., 2021). Prezența cadmiului în sol poate afecta negativ creșterea plantelor în sensul că poate încetini procesul de germinare a semințelor și poate afecta dezvoltarea plantulelor. Pe măsură ce plantele continuă să crească, cadmiul poate afecta dezvoltarea rădăcinilor. Aceasta poate duce la un sistem radicular mai puțin dezvoltat, ceea ce reduce capacitatea plantei de a absorbi nutrienții și apa din sol. Acest lucru poate provoca deficiențe nutriționale și stres hidric, care se traduc în creșterea lentă sau chiar în moartea plantelor (Gavrilescu și colab., 2019; Haider și colab., 2021; Khalid și colab., 2017).

**Nichelul** este un micronutrient necesar creșterii și dezvoltării plantelor însă, în exces produce efecte negative asupra acestora cum ar fi reducerea fotosintezei, afectarea germinării, creșterii rădăcinilor și a tulpinilor, cloroză, necroză (Bortolini și colab., 2022; Eskandari și Amraie, 2016). Nichelul poate perturba procesele metabolice ale plantelor, cum ar fi absorbția și translocarea nutrienților. Acest lucru poate duce la

deficiențe nutriționale, cum ar fi deficiența de fier sau de magneziu, și poate afecta sinteza proteinelor și a altor compuși esențiali pentru creșterea plantelor. Ca și în cazul cadmiului, nichelul poate genera specii reactive de oxigen în celulele plantelor, provocând stres oxidative care poate duce la deteriorarea țesuturilor plantelor, la afectarea membranei celulare și la reducerea activității enzimatică. Consumul de plante care conțin concentrații ridicate de nichel poate avea efecte dăunătoare asupra sănătății umane. Dintre efectele negative asupra sănătății umane se regăsesc diferite tipuri de alergii, bolile cardiovasculare și renale, afecțiunile pulmonare, cancer (Das și colab., 2018; Genchi și colab., 2020).

În acest context, eliminarea poluanților din sol și, în general, remedierea mediului devine o prioritate fundamentală în scopul asigurării calității mediului înconjurător și, implicit, a sănătății umane, dar și pentru o mai bună conservare a resurselor pentru generațiile viitoare.

**Bioremedierea** utilizează organisme vii, cum ar fi bacterii, ciuperci și plante, pentru a elimina și a transforma poluanții din mediu. Această abordare prezintă numeroase avantaje față de procesele fizico-chimice. Organismele vii utilizate în bioremediere pot adapta procesul de degradare sau reținere a poluanților în funcție de condițiile specifice ale mediului. Ele pot mobiliza/imobiliza, metaboliza sau transforma direct poluanții în substanțe nepericuloase sau mai puțin toxice. Această capacitate adaptabilă face ca bioremedierea să fie eficientă într-o gamă largă de medii și poluanți.

**Fitoremedierea** presupune utilizarea plantelor capabile să extragă și să acumuleze diferiți poluanți în țesuturile acestora. În funcție de comportamentul plantelor în prezența metalelor, au fost identificate mai multe mecanisme implicate în decontaminare cum ar fi fitostabilizarea, fitoextracția, fitofiltrarea, fitovolatilizarea. Aceste mecanisme depind în mare măsură de speciile de plante utilizate, concentrația și tipul de metale grele din sol, condițiile de sol și climatice, precum și gestionarea corespunzătoare a procesului de fitoremediere (Yan și colab., 2020). Dintre aceste mecanisme, fitoextracția și fitostabilizarea sunt cele mai întâlnite mecanisme în decontaminarea solurilor poluate cu metale (Magdziak și colab., 2014; Zoya, 2016).

Speciile de plante utilizate în procesul de fitoremediere au o serie de caracteristici specifice, precum: creștere rapidă, sistem radicular ramificat, producerea de biomasă în cantități ridicate, toleranță ridicată la concentrații mari de metale și capacitate mare de acumulare a ionilor metalici (Yadav și colab., 2018). Dintre cele mai utilizate familii de plante utilizate în fitoremediere se regăsesc *Brassicaceae*, *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Poaceae*, *Fabaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cyperaceae*, *Cannaceae* (Gavrilescu, 2022; Khoramnejadian și Saeb, 2015; Minuț și colab., 2021, 2023; Reeves și colab., 2019).

Fitoremedierea reprezintă o metodă sustenabilă și fezabilă din punct de vedere economic, social și de mediu de a trata solurile poluate cu metale grele având în vedere capacitatea naturală a unor plante de a absorbi ionii metalici în țesuturile acestora. Utilizarea plantelor pentru a remedia solurile contaminate poate fi mai rentabilă în comparație cu alte metode de remediere chimică sau fizică. Este o alternativă mai accesibilă economic, în special pentru zonele cu resurse limitate. Simultan cu îndepărtarea metalelor, fitoremedierea îmbunătățește calitatea fizică, chimică și biologică a solurilor comparativ cu metodele tradiționale unde proprietățile solului sunt modificate drastic (Cristaldi și colab., 2017; Yan și colab., 2020). De asemenea, riscul de dispersare a metalelor și de intrare a acestora în lanțul alimentar prin consumul de plante de către animale este redus prin stabilizarea metalelor în rădăcini (Lancíková și colab., 2020; Yan și colab., 2020). Un alt avantaj important constă în posibilitatea integrării fitoremedierii cu producția de bioenergie din biomasa obținută urmată de o recuperare a metalelor cu valoare economică ridicată (Kanwar și colab., 2020; Saxena și colab., 2020).

Având în vedere argumentele prezentate, am dezvoltat un punct de vedere propriu în ceea ce privește fitoremedierea solurilor poluate cu metale grele, care a condus la formularea scopului principal al tezei de doctorat și la identificarea obiectivelor specifice.

Teza de doctorat intitulată **“EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE”** are ca obiectiv principal eliminarea ionilor metalelor grele  $\text{Ni}^{2+}$  și  $\text{Cd}^{2+}$  din soluri poluate prin fitoremediere, utilizând muștarul alb (*Sinapis alba* L.), rapița (*Brassica napus* L.) și știrul (*Amaranthus retroflexus* L.) ca plante acumulative, fie individual, fie în asociere sinergică cu microorganismele *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* în vederea îmbunătățirii eficienței procesului de fitoremediere.

Pentru realizarea obiectivului principal al tezei au fost formulate și realizate următoarele obiective specifice:

1. Efectuarea unei analize obiective și critice a stadiului actual al cercetării privind bioremedierea solurilor poluate cu ionii metalelor grele  $\text{Ni}^{2+}$  și  $\text{Cd}^{2+}$ .
2. Selecția și caracterizarea plantelor cu potențial de fitoremediere a solurilor poluate cu ioni metalici.
3. Selecția și caracterizarea microorganismelor pentru utilizarea în fitoremediere.
4. Stabilirea protocoalelor experimentale, a metodelor de analiză și de prelucrare a datelor experimentale.
5. Evaluarea efectelor fitotoxice ale ionilor metalici asupra germinării semințelor plantelor selectate și dezvoltarea plantulelor într-un mediu lichid, prin efectuarea unor teste de fitotoxicitate.
6. Evaluarea efectelor ecotoxice ale ionilor metalici pentru microorganismele selectate în mediul lichid, prin efectuarea unor teste de toleranță ecotoxică.
7. Investigarea creșterii și dezvoltării plantelor *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. și *Amaranthus retroflexus* L. în soluri poluate cu diferite concentrații de ioni de  $\text{Ni}^{2+}$  și  $\text{Cd}^{2+}$ , în vederea evaluării capacității acestora de fitoremediere a solurilor poluate cu ionii metalelor grele selectate.
8. Investigarea posibilităților de intensificare a procesului de fitoremediere prin exploatarea sinergiei dintre plantele și microorganismele selectate.
9. Modelarea empirică a rezultatelor obținute.
10. Formularea de concluzii și recomandări pentru dezvoltarea și aplicarea procesului de fitoremediere a solurilor poluate cu ionii metalici studiați, cu potențial de transpunere la scară largă.

**În teza de doctorat sunt prezentate și interpretate rezultatele obținute în urma atingerii obiectivului principal și a obiectivelor specifice și a efectuării programului experimental. Teza este structurată în două părți principale și cuprinde șase capitole, care includ 107 figuri, 53 tabele, precum și bibliografie, concluzii generale și anexe.**

Prima parte a tezei de doctorat (Capitolul 1) prezintă stadiul actual al cercetărilor privind fitoremedierea solurilor poluate cu ionii de nichel și cadmiu prin utilizarea plantelor și a microorganismelor.

Partea a doua a lucrării conține rezultate originale obținute în urma elaborării și realizării unui program experimental amplu în acord cu obiectivele propuse și cuprinde 5 capitole. În această parte se prezintă contribuțiile originale privind fitoremedierea solurilor poluate cu ionii metalici de  $\text{Ni}^{2+}$  și  $\text{Cd}^{2+}$  prin exploatarea capacității plantelor *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. și *Amaranthus retroflexus* L. de a tolera (atât în mediul lichid cât și în sol) și bioacumula ionii metalici din solul poluat. De asemenea este prezentat potențialul microorganismelor *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* de a tolera ionii de nichel și cadmiu în mediul lichid și de a se implica în sinergismul cu plantele selectate în vederea creșterii eficienței procesului de fitoremediere.

În Fig. II este reprezentată schematic planul experimental care a stat la baza elaborării prezentei teze de doctorat, în vederea îndeplinirii obiectivului principal și a obiectivelor specifice.

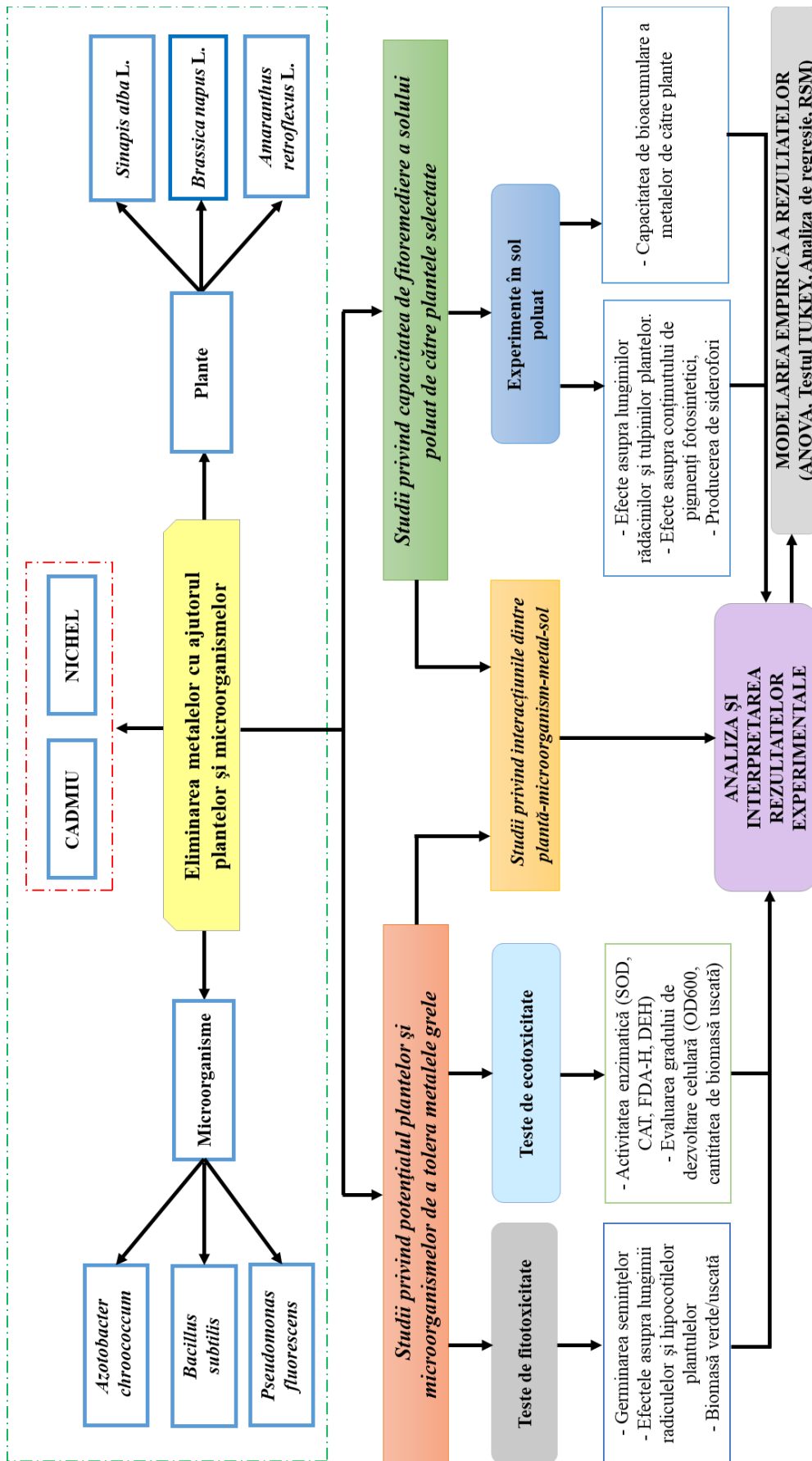


Fig. II. Metodologia experimentală utilizată în vederea îndeplinirii obiectivelor tezei de doctorat

**Rezultatele din teza de doctorat pot contribui semnificativ la înțelegerea profundă a procesului de fitoremediere, a interacțiunilor dintre plante, microorganismele și metale, oferind o bază științifică pentru implementarea pe scară largă a acestui proces. De asemenea, aceste cercetări aduc noi dovezi cu privire la comportamentul și toleranța plantelor în prezența ionilor metalici, precum și la potențialul de fitoremediere al muștarului, rapiței și știrului. În plus, studiul interacțiunilor dintre plantele și cele 3 microorganisme selectate oferă o fundamentare științifică solidă pentru importanța intensificării fitoremedierii prin exploatarea sinergismului plante-microorganismele.**

Activitatea de cercetare în vederea realizării tezei de doctorat a început în data de 1 octombrie 2018 în cadrul Universității Tehnice “Gheorghe Asachi” din Iași, în Laboratorul de Ingineria Proceselor Chimice și Biologice al Departamentului Ingineria și Managementul Mediului din cadrul Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului “Cristofor Simionescu”. O parte din experimente au fost realizate la Universitatea pentru Științele Vieții “Ion Ionescu de la Brad” din Iași în sera didactică din ferma Adamachi.

**Teza de doctorat a fost elaborată sub conducerea științifică a doamnei Prof.univ. emerit dr.ing. Maria Gavrilescu de la Universitatea Tehnică “Gheorghe Asachi” din Iași, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului “Cristofor Simionescu”, Departamentul Ingineria și Managementul Mediului.**

## **CAPITOLUL 1.**

### **STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PRIVIND BIOREMEDIEREA SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE UTILIZÂND PLANTE, MICROORGANISME ȘI INTERACȚIUNILE DINTRE ACESTEA**

#### **1.1. Poluarea solului cu metale grele**

##### *1.1.2. Poluarea solului cu nichel*

###### *1.1.2.1. Explorarea generală a poluării solului cu nichel: impact, surse și consecințe*

Nichelul este unul dintre metalele grele larg răspândite în mediu, fiind o componentă naturală a solului și reprezintă cel de-al 24 cel mai abundent element, cu o concentrație de aproximativ 0,008% în scoarța terestră (Roșca și colab., 2019). Anual, între 150 000 de tone și 180 000 de tone de nichel ajung în mediu atât din surse naturale cât și antropice, inclusiv arderea de combustibili fosili și utilizarea compușilor cu nichel și a aliajelor acestora (Shahzad și colab., 2018). Concentrațiile de nichel în solurile agricole pot varia în intervalul de aproximativ 3-1000 mg Ni/kg, cu excepția zonelor adiacente rafinăriilor metalice unde concentrația poate atinge 24000 mg Ni/kg și nămolurile uscate unde poate ajunge la 53000 mgNi /kg (Bhalerao și colab., 2015). În general, concentrația de nichel în soluri variază între 0,2 mg/kg și 450 mg/kg, existând regiuni în care concentrația ionilor de nichel depășește chiar valoarea maximă raportată la nivel global (Roșca și colab., 2019).

##### *1.1.3. Poluarea solului cu cadmiu*

###### *1.1.3.1. Cadmiul în sol: surse și provocarea poluării*

Cadmiul este distribuit pe scară largă în scoarța terestră la o concentrație medie de aproximativ 0,1 mg/kg, iar cel mai mare nivel de compuși ai cadmiului din mediu se acumulează în rocile sedimentare (Tchounwou și colab., 2014).

Cadmiul intră în solurile agricole în principal prin intermediul îngrășămintelor fosfatice (0,1-170 mg/kg), a reziduurilor provenite de la animale (0,3-0,8 mg/kg), a nămolului provenit de la epurare (2-1500 mg/kg) și a compostului din deșeurile casnice și a deșeurilor solide municipale (0,26-11,7 mg/kg) (Birke și colab., 2016).

## **1.2. Metode de eliminare a metalelor grele din sol**

### *1.2.2. Metode biologice*

#### *1.2.2.1. Abordări biologice în bioremedierea solului*

Pentru remedierea solului poluat cu metale grele, o abordare ecologică eficientă este bioremedierea. Această metodă se bazează pe utilizarea microorganismelor, cum ar fi bacterii și ciuperci, dar și pe implicarea plantelor terestre și acvatice, care au capacitatea de a îndepărta poluanții prin intermediul sistemului lor radicular, translocându-i și acumulându-i în rădăcini, tulpini și frunze. Bioremedierea, prin intermediul fitoremedierii și utilizarea microorganismelor, oferă o soluție sustenabilă și prietenoasă cu mediul pentru curățarea solurilor poluate cu metale grele. Aceasta poate fi implementată în diverse medii, de la terenurile agricole și industriale până la zonele de coastă și ecosistemele acvatice, având potențialul de a restabili calitatea solului și de a proteja mediul înconjurător (Cristaldi și colab., 2017; Gavrilescu, 2022).

#### *1.2.2.2. Fitoremedierea*

Fitoremedierea este o abordare ecologică și o metodă durabilă pentru curățarea solului în comparație cu tehnicile convenționale de remediere a solului (Ashraf și colab., 2019; Cristaldi și colab., 2017; Kanwar și colab., 2020). Spre deosebire de tratamentele fizice și chimice care modifică ireversibil proprietățile solului, fitoremedierea îmbunătățește în general proprietățile fizice, chimice și biologice ale solurilor poluate (Arora și Khosla, 2021; Kanwar și colab., 2020; Yan și colab., 2020).

## **1.3. Utilizarea plantelor în bioremedierea solurilor poluate cu metale grele**

### *1.3.1. Comportamentul plantelor în prezența metalelor grele*

Plantele pot manifesta un comportament diferit în prezența poluanților. Efectele cele mai evidente ale compușilor toxici asupra plantelor constau în inhibarea germinării semințelor și în inhibarea creșterii rădăcinilor și tulpinilor. Deși multe plante nu sunt hiperacumulatoare din cauza impactului negativ asupra activităților celulare, există numeroase specii care prezintă o toleranță ridicată la diferiți poluanți (Alaboudi și colab., 2018).

Indicatori care oferă informații importante legate de capacitatea plantelor de a tolera toxicitatea poluanților sunt: gradul de germinare al semințelor (GD%) și indicele de germinare (IG), creșterea relativă a rădăcinilor/tulpinilor sau indicele de toleranță (Er, %), indicele de inhibare a lungimii rădăcinilor și tulpinilor (EI, %), creșterea relativă a biomasei (Br, %) ca procent din proba martor (EPA, 2012). De asemenea, un indicator fiziologic în vederea măsurării stresului metalic din plante sunt **pigmenții fotosintetici**. Conținutul de clorofilă din plante este strâns legat de fotosinteză și starea nutrițională și este un indicator important care reflectă creșterea plantelor (Zhang și colab., 2020).

**Sideroforii** reprezintă un alt grup de indicatori biochimici utilizați în cercetarea plantelor. Aceștia sunt molecule cu greutate moleculară mică, sintetizate și secretați de bacterii, care au capacitatea de a lega fierul feric din mediul înconjurător (Ahmed și Holmström, 2014; Himpel și Mobley, 2019).

### *1.3.3. Factorii care influențează procesul de fitoremediere*

Procesul de fitoremediere este influențat de o multitudine de factori cum ar fi: proprietățile chimice ale ionului metalic precum și concentrația acestuia, proprietățile specifice ale solului, speciile de plante utilizate, factorii de mediu (Kanwar și colab., 2020; Lorestani și colab., 2012).

### *1.3.4. Specii de plante cu potențial de îndepărtare a metalelor grele din sol*

**Plantele non-acumulatoare (excluderi)** limitează translocarea metalelor în interiorul celulelor plantelor și mențin niveluri relativ scăzute de metal în tulpini. În acest fel, țesuturile foliare, în special celulele fotosintetice active din punct de vedere metabolic, sunt protejate de efectele negative cauzate de metalele grele. În ciuda acestui fapt, excluderi pot conține totuși cantități mari de metale în rădăcini. Concentrația de metale din părțile aeriene este menținută la un nivel scăzut ( $BAC \ll 1$ ) și este constantă pe o gamă largă de concentrații de metale din sol (Chandra și colab., 2017).

**Plantele indicatoare** acumulează metale grele atât în rădăcini, cât și în părțile aeriene. Nivelurile de metale din țesuturile lor reflectă, în general, nivelurile de metale din solul poluat. Plantele indicatoare pot furniza informații directe sau indirecte cu privire la impactul poluanților asupra mediului. La plantele indicatoare, raportul dintre concentrația de metale din plantă și cea din sol este apropiată de valoarea 1 ( $BAC \sim 1$ ) (Chandra și colab., 2017).

**Plantele acumulatoare** acumulează metale în tulpini, frunze, flori în concentrații care depășesc cu mult pe cele prezente în sol. La plantele acumulatoare, raportul dintre concentrația de metale din tulpini și concentrația de metale din sol este  $>1$  ( $BAC > 1$ ) (Chandra și colab., 2017).

**Plantele hiperacumulatoare** sunt în mod natural capabile să acumuleze metale în țesuturile acestora cu câteva ordine de mărime mai mari decât nivelurile tolerate de alte specii (de 10-500 de ori mai mult) fără a dezvolta simptome de toxicitate (Ashraf și colab., 2019; Mahar și colab., 2016; Pantola și Alam, 2014; Yanqun și colab., 2005).

## **1.4. Utilizarea microorganismelor în bioremedierea solurilor poluate cu metale grele**

### *1.4.2. Fitoremedierea asistată de microorganismele*

Eficiența fitoextracției poate fi îmbunătățită prin asocierea cu bacterii care promovează creșterea plantelor tolerante la metale grele. Astfel, fitoremedierea asistată de microorganismele devine o abordare eficientă pentru restabilirea biodiversității, productivității, fertilității și stabilității terenurilor poluate (Juwarkar, 2012; Jnawali și colab., 2015). În toate părțile plantelor se găsesc diferite tipuri de bacterii, care pot avea efecte benefice, dăunătoare sau neutre pentru plante, majoritatea fiind dezvoltate în rizosferă. Bacteriile benefice pentru plante sunt numite bacterii care promovează creșterea plantelor (PGPB) (Glick, 2014; Nadeem și colab., 2014).

### *1.4.3. Mecanismele implicate în stimularea creșterii plantelor de către bacteriile PGPB*

#### *1.4.3.1. Explorarea mecanismelor prin care bacteriile PGPB promovează creșterea și dezvoltarea plantelor*

Între bacteriile benefice și rădăcinile plantelor se formează legături simbiotice care sunt benefice atât pentru plantă, dar și pentru microorganismele care se dezvoltă pe suprafața, în jurul sau în interiorul rădăcinilor. Există două căi majore prin care PGPB pot facilita creșterea și dezvoltarea plantelor care include mecanisme directe și indirecte (Goswami și colab., 2016; Nadeem și colab., 2014). Între mecanismele directe generate de bacteriile care promovează creșterea plantelor (PGPB) se regăsesc: *solubilizarea fosforului, producția de siderofori și fixarea azotului*. De asemenea, PGPB contribuie la *suprimarea agenților patogeni* ai plantelor prin mecanisme indirecte, cum ar fi producerea de compuși antibacterieni și enzime litice care degradează pereții celulari ai agenților patogeni fungici.

#### *1.4.4. Specii de microorganisme implicate în creșterea plantelor în prezența metalelor grele*

Bacteriile care promovează creșterea plantelor și care prezintă rezistență la metale grele aparțin genurilor *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Rhizobium*, *Kluyvera*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pantoea Serratia*, *Rhizobium*, *Strenotrophomonas*, astfel acestea cresc toleranța diferitelor specii de plante aflate sub stres metalic (Diaconu și colab., 2020; Mindlin și colab., 2016; Manoj și colab., 2020; Pramanik și colab., 2018; Wani și colab., 2019).

## **CAPITOLUL 2. METODOLOGII UTILIZATE ÎN STUDIILE EXPERIMENTALE**

### **2.1. Scopul și importanța cercetării**

Scopul acestui capitol este de a prezenta protocoalele experimentale și metodele de investigare aplicate pentru realizarea părții experimentale în vederea îndeplinirii obiectivelor tezei de doctorat (conform Fig. II). În acest capitol sunt descrise următoarele aspecte:

- materialele necesare în vederea realizării testelor de fitotoxicitate, ecotoxicitate, precum și cele pentru montarea experimentelor în sol, a determinării pigmentilor fotosintetici, a sideroforilor și cele pentru realizarea digestiei umede a plantelor și solului;
- prepararea și analiza soluțiilor apoase ale ionilor de nichel și cadmiu utilizate la testele de fitotoxicitate și ecotoxicitate precum și prepararea soluțiilor de lucru în sol și analiza soluțiilor de nichel și cadmiu;
- izolarea microorganismelor utilizate în studiu;
- metodologia experimentală pentru determinarea fitotoxicității ionilor metalici asupra plantulelor în mediul lichid;
- metodologia experimentală pentru determinarea ecotoxicității ionilor metalici asupra microorganismelor în mediul lichid;
- metodologia experimentală în vederea determinării capacității plantelor de muștar, rapiță și știr de a tolera ionii de nichel și cadmiu din solul poluat;
- metodologia experimentală pentru determinarea conținutului de pigmenti fotosintetici;
- metodologia experimentală pentru determinarea conținutului de metal în plante și sol;
- metodologia experimentală pentru determinarea conținutului de siderofori;
- metodologia experimentală pentru evaluarea interacțiunilor dintre plante-microorganisme-metal-sol;
- metodologia experimentală pentru determinarea activității ionului superoxid în jurul rădăcinilor plantelor;
- evaluarea indicatorilor privind capacitatea de tolerare a toxicității metalelor de către plante și a performanțelor fitoremedierii;
- evaluarea indicatorilor privind toxicitatea metalelor asupra microorganismelor;
- analiza statistică a datelor experimentale.

### **2.2. Speciile de plante utilizate în studiile experimentale**

#### *2.2.1. Descrierea speciilor de plante utilizate în studiu*

##### *2.2.1.1. Muștarul alb (*Sinapis alba* L.)*

Această plantă aparține familiei *Brassicaceae* și este una dintre cele mai vechi specii de muștar cultivată la nivel european (Axinte și colab., 2006; Matraszek și colab., 2017). Aceasta este o plantă anuală,



erbacee de zi, cu o perioadă de vegetație scurtă de până la 90 de zile, rezistentă la temperaturi ridicate, cu creștere rapidă care preferă solurile mijlocii, bogate în nutrienți, cu un nivel ridicat de azot, humus și calciu, cu textură luto-nisipoasă, permeabile, dar poate fi cultivat și în alte tipuri de soluri, însă nu se pretează pe soluri foarte umede, argiloase, acide și nisipoase (PFAF, 2022).

#### 2.2.1.2. Rapița (*Brassica napus* L.)

O altă plantă cu potențial pentru fitoremedierea solurilor poluate cu metale grele este **rapița** (*Brassica napus* L.). Aceasta aparține familiei *Brassicaceae* și este considerată una dintre cele mai mari surse de ulei (conține 40% - 45% ulei în sămânță) din lume (Mourato și colab., 2015).

Rapița este o plantă erbacee sau bienală cu o perioadă de vegetație cuprinsă între 270 - 300 de zile, cu rădăcină pivotantă, profundă (60 cm - 100 cm adâncime), tulpină înaltă (100 cm - 150 cm), ramificată, frunzele sunt alterne și cerate (Axinte și colab., 2006).

#### 2.2.1.3. Știrul (*Amaranthus retroflexus* L.)

*Amaranthus retroflexus* L. (știrul) este o plantă comună, anuală și face parte din familia *Amaranthaceae*. Aceasta poate crește aproape în orice loc, preferă solul umed, dar poate tolera și seceta. Știrul este larg răspândit în lume, existând în peste 70 de țări. De asemenea este tolerantă la diferite tipuri de soluri, dar preferă solurile îmbogățite cu nutrienți, în special cele cu niveluri ridicate de azot și cu un pH cuprins între 4,2 până la 9,1, însă crește mai rar în solurile acide (Weller și colab., 2021). Știrul poate fi folosit pentru decontaminarea solului poluat cu metale grele cum ar fi, Cr, Cd, Cu și Ni (Khoramnejadian și Saeb., 2015).

### 2.3. Speciile de microorganisme utilizate în studiile experimentale

#### 2.3.1. Descrierea speciilor de microorganisme utilizate în studiu

Specia bacteriană *Azotobacter chroococcum* face parte din grupul bacteriilor gram negative, însă cercetătorii au descoperit că pot fi și gram pozitive (Bisset și Hale, 1956; Bisset și colab., 1957). Aceste bacterii sunt cunoscute ca bacterii fixatoare de azot și care ajută la creșterea plantelor și productivității agricole (Banerjee și colab., 2014), la sintetizarea substanțelor necesare creșterii plantelor cum ar fi auxinele, gibbereline, sideroforii și la solubilizarea fosforului (Prajapati și colab., 2008).

*Bacillus subtilis* este o bacterie gram-pozitivă care se găsește în apă, aer, sol, poate supraviețui în medii cu pH scăzut și temperaturi ridicate, fiind una dintre numeroasele tipuri de bacterii care au fost cercetate pe larg de mai mulți cercetători (Al-Gheethi și colab., 2017; Hashem și colab., 2019; Muis, 2006). Aceasta controlează creșterea anumitor bacterii și funghi dăunătoare.

*Pseudomonas fluorescens* este o bacterie gram-negativă, aerobă, în formă de tijă care, în anumite condiții, produce un pigment fluorescent solubil, verzui, de unde provine și denumirea de *fluorescens*. Această specie prezintă abilități de colonizare a rădăcinilor și capacitatea de a produce o gamă largă de metaboliți antifungici (Sharma și colab., 2006).

### 2.7. Indicatorii utilizați pentru determinarea efectelor toxice ale ionilor metalici asupra microorganismelor și cuantificarea rezultatelor procesului

Efectele toxice ale ionilor metalici de nichel și cadmiu asupra microorganismelor considerate în planul experimental s-au evaluat atât pe parcursul perioadei de cultivare (în condiții dinamice), cât și la finalul perioadei de dezvoltare, prin *evaluarea gradului de dezvoltare celulară și activitatea enzimatică*. Determinările activității enzimactice, a densității optice s-au efectuat în cadrul laboratorului de

microbiologie al Departamentului Ingineria și Managementul Mediului, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului “Cristofor Simionescu” din Iași.

### 2.7.3. Indicatori cantitativi pentru reținere a ionilor de nichel și cadmiu

Un indicator important este *capacitatea de reținere*, care măsoară cantitatea totală de ioni de nichel și, respectiv cadmiu reținuți de materialul sau sistemul utilizat. Aceasta poate fi exprimată în diferite unități, cum ar fi miligramul de metal reținut pe unitatea de masă sau de volum a materialului adsorbant (ecuația 2.13). Unul alt indicator utilizat este eficiența de reținere, care reprezintă proporția de ioni de nichel și, respectiv cadmiu eliminați din soluție în urma procesului (ecuația 2.14). Această eficiență poate fi exprimată ca procent din concentrația inițială a ionilor de metale grele în soluție. Cu cât eficiența de reținere este mai mare, cu atât procesul este considerat mai performant în eliminarea metalelor grele.

• **Capacitate de reținere** (*uptake capacity - q, mg/g*) reprezintă cantitatea de ion metalic reținut pe unitatea de masă de biomasă (Li și colab., 2018a) ecuația (2.13):

$$q = \frac{(C_0 - C) \times V}{m} \quad (2.13)$$

• **Eficiența de reținere** (*removal efficiency, R%*), fracția de ion metalic îndepărtată sub formă de procente (Li și colab., 2018), ecuația (2.14):

$$R\% = \frac{(C_0 - C)}{C_0} \times 100 \quad (2.14)$$

unde:  $C_0$ ,  $C$  - concentrația inițială și, respectiv concentrația finală a ionului metalic în mediul lichid (mg/L);  $m$  – cantitatea de biomasă (g);  $V$  - volumul soluției apoase (L).

## 2.8. Metodologia experimentală utilizată pentru determinarea capacității plantelor de muștar alb, rapiță și știr de a tolera toxicitatea ionilor de nichel și cadmiu din solul poluat

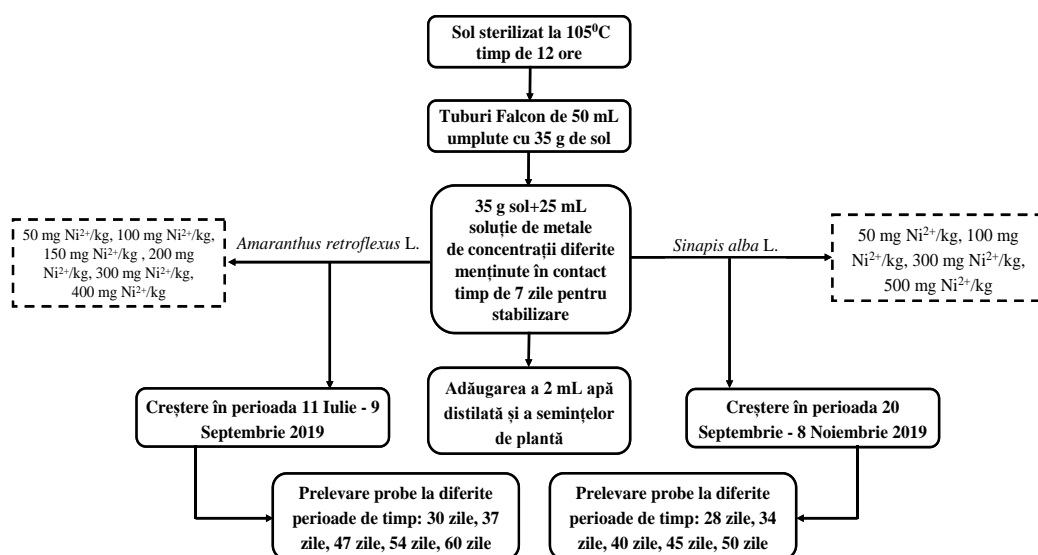
Pentru determinarea capacității plantelor de muștar alb (*Sinapis alba* L.), rapiță (*Brassica napus* L.) și știr (*Amaranthus retroflexus* L.) de a tolera toxicitatea ionilor de nichel și cadmiu din solul poluat, s-a utilizat o metodologie experimentală specifică. Această metodologie a fost concepută pentru a evalua răspunsul plantelor la prezența metalelor grele în sol și pentru a determina gradul lor de toleranță la aceste substanțe toxice.

Pașii principali ai metodologiei experimentale utilizate: (i) selectarea plantelor și pregătirea semințelor; (ii) prepararea solului poluat; (iii) germinarea și creșterea plantelor; (iv) monitorizarea și evaluarea plantelor; (v) analiza datelor și interpretarea rezultatelor.

### 2.8.2. Procedeele experimentale aplicate în vederea determinării capacității plantelor de muștar alb, rapiță și știr de a tolera toxicitatea ionilor de nichel și cadmiu din solul poluat

#### a) desfășurarea experimentelor la nivel de laborator

În scopul evaluării efectelor ionilor metalici din sol asupra dezvoltării plantelor de **muștar alb și știr**, experimentele au fost efectuate în triplicat în tuburi Falcon de 50 mL, umplute cu 35 grame de sol uscat sterilizat, 25 mL soluții de diferite concentrații de ioni de nichel și 2 semințe de plantă. După răsărire, o singură plantă a fost păstrată pentru analiză (Fig. 2.6).



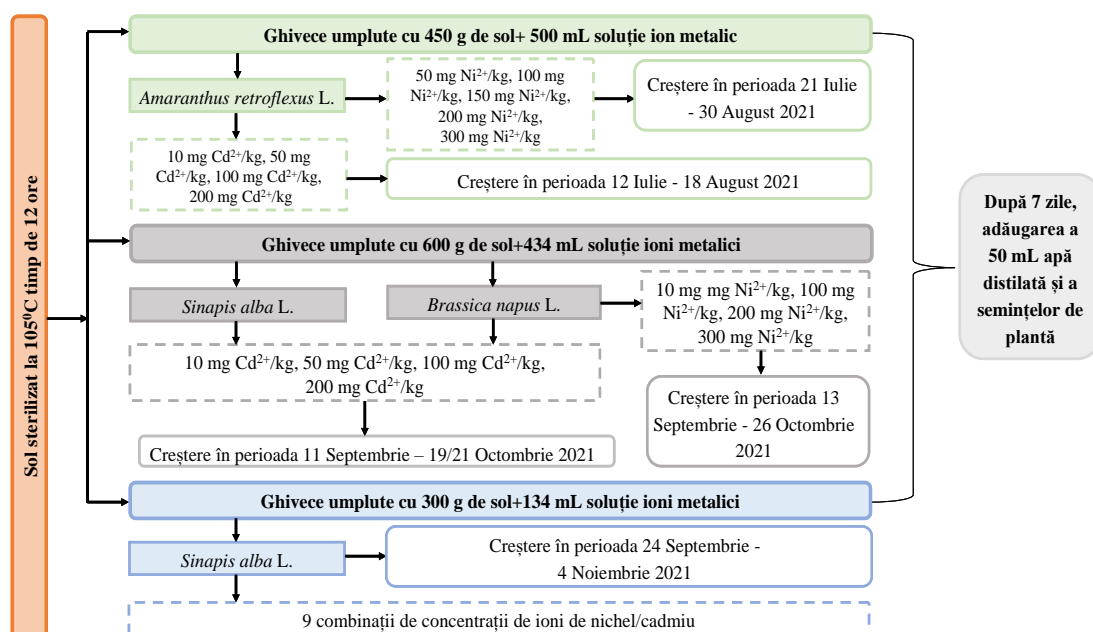
**Fig. 2.6.** Protocol experimental în vederea determinării capacității plantelor de muștar alb și stir de a tolera ionii de nichel dintr-un sol poluat

*b) desfășurarea experimentelor în condiții de seră*

O serie de experimente au fost realizate în condiții de seră la Universitatea pentru Științele Vieții “Ion Ionescu de la Brad” din Iași, toate experimentele realizându-se în triplicat în ghivece de polipropilenă, în care s-au cultivat **muștarul alb, rapița și știrul**, în soluri poluate (Fig. 2.7):

- cu cadmiu,
- cu nichel,

- cu ambii ioni simultan – cadmiu și nichel. Experimentele au fost realizate conform Programului Central Compus (Central Composite Design-CCD), în total rezultând 9 combinații între concentrațiile ionilor de nichel și cadmiu (Fig. 2.7).



**Fig. 2.7.** Protocol experimental în vederea determinării capacității plantelor de muștar alb, rapiță și stir de a tolera ionii de nichel și cadmiu dintr-un sol poluat

## 2.9. Metodologia experimentală aplicată pentru analiza și evaluarea interacțiunilor sinergice plante-microorganism-sol poluat

### 2.9.1. Protocolul experimental

În vederea analizei și evaluării interacțiunilor dintre plante și microorganism, într-o primă etapă au fost efectuate câteva experimente preliminare pentru a determina solul optim pentru utilizare în experimente, și anume **solul steril și solul nesteril**. Prin urmare, plantele au fost cultivate atât în sol steril și sol nesteril, în prezența microorganismelor *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* în absența ionilor de nichel.

Investigarea interacțiunilor plante-microorganism-poluant-sol au fost studiate prin realizarea a două seturi de experimente în condiții de seră, care au vizat cultivarea atât a muștarului alb și a știrului pe solul poluat cu ionii metalelor grele luate în studiu. Plantele de muștar alb și știr au fost cultivate atât în prezența cât și absența microorganismelor în perioada 19 Septembrie - 27 octombrie 2021 (muștarul alb), respectiv 19 Septembrie - 9 Noiembrie 2021 (știrul). Protocolul experimental este descris în Fig. 2.10.

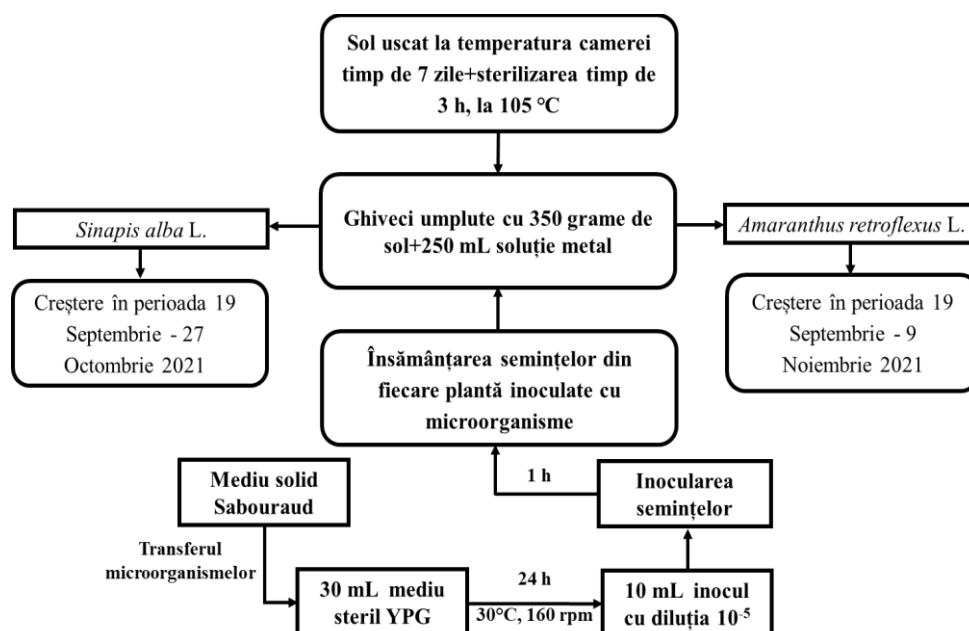


Fig. 2.10. Protocol experimental aplicat pentru studiul interacțiunilor dintre plante – microorganism - sol - poluant

## 2.10. Metodologie experimentală pentru determinarea conținutului de pigmenți fotosintetici

Extracția pigmenților fotosintetici s-a efectuat utilizând ca solvent fie *alcoolul etilic*, fie *acetonă*, rezultatele finale nefiind perturbate de tipul de solvent folosit pentru extracție. Ambele metode sunt omologate. În cazul folosirii alcoolului etilic ca solvent de extracție în scopul determinării conținutului de clorofilă a, b și carotenoizi s-a colectat biomasă verde (100 - 200 mg). Aceasta a fost mojarată și apoi s-au adăugat 15 mL alcool etilic 96% pentru extracția pigmenților. Probele au fost lăsate timp de 48h la frigider la temperatura de 4°C, după care s-au filtrat cu filtre din PTFE cu dimensiunea porilor de 0,45 μm și s-au analizat spectrophotometric (Lichtenthaler, 1987). Extracția pigmenților fotosintetici cu acetonă s-a realizat conform protocolului descris în Current Protocols in Food Analytical Chemistry (Lichtenthaler și Buchmann, 2001).

## **2.11. Metodologie experimentală pentru determinarea conținutului de siderofori**

Determinarea sideroforilor sintetizați de bacteriile care colonizează rădăcinile plantelor se poate realiza atât din punct de vedere cantitativ cât și calitativ. Determinările conținutului de siderofori s-a efectuat în cadrul Laboratorului de microbiologie al Departamentului Ingineria și Managementul Mediului, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului “Cristofor Simionescu” din Iași.

Pentru determinarea sideroforilor au fost necesare următoarele substanțe (Louden și colab., 2011):

- Soluția 1: Crom azurool S (CAS) preparat prin dizolvarea a 0,06 g CAS în 50 mL apă distilată;

- Soluția 2: 0,0027 g FeCl<sub>3</sub>.6 H<sub>2</sub>O dizolvat în 10 mL de HCl 10 mM;

- Soluția 3: Bromură de hexadeciltrimetilamoniu (HDTMA) preparată prin dizolvarea a 0,073 g HDTMA în 40 mL apă distilată.

Soluția 1 a fost amestecată cu 10 mL din soluția 2 și apoi cu soluția 3. Amestecul de culoare albastră rezultat s-a sterilizat prin autoclavare la 121°C, timp de 20 minute.

## **2.12. Metodologie experimentală pentru determinarea conținutului de metal în plantă și sol**

În scopul determinării conținutului ionilor metalici din biomasa uscată și, respectiv sol, probele au fost mineralizate în mediu acid cu HNO<sub>3</sub> și HCl în raport 3:1 (An, 2004; Siaka și colab., 1998). Determinările conținutului de metale grele din biomasa și, respectiv sol s-au efectuat în cadrul Laboratorului de chimie analitică al Departamentului Ingineria și Managementul Mediului, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului “Cristofor Simionescu” din Iași.

## **2.13. Indicatori utilizați ca măsură a toleranței plantelor pentru toxicitatea ionilor metalici și pentru evaluarea performanțelor fitoremedierii**

### *2.13.1. Indicatori ai toleranței plantelor pentru toxicitatea metalelor*

- **Gradul de germinare (GD, %)**

Reprezintă raportul dintre numărul semințelor germinate în proba care conține ionul metalic și numărul de semințe germinate în proba martor (Luo și colab., 2018; Visioli și colab., 2014) (ecuația 2.23):

$$GD \% = \frac{\text{numar seminte germinate în proba test}}{\text{numar seminte germinate în proba martor}} \times 100 \quad (2.23)$$

- **Creșterea relativă a rădăcinilor/tulpinilor (sau indicele de toleranță), (Er, %)**

În vederea evaluării efectelor fitotoxice s-au măsurat lungimile rădăcinilor și tulpinilor plantelor supuse diferitelor concentrații de ioni metalici. Apoi s-a calculat indicele de toleranță sau indicele de creștere relativă în lungime a rădăcinilor și tulpinilor raportând lungimile rădăcinilor/tulpinilor probelor cu metal la lungimile rădăcinilor/tulpinilor probei martor (Gaur și colab., 2017; Sainger și colab., 2014) (ecuația 2.24):

$$Er(\%) = \frac{L_{medie}}{L_{martor}} \times 100 \quad (2.24)$$

unde:  $L_{martor}$  - lungimea medie rădăcinilor/tulpinilor a probei cu metal (mm);  $L_{medie}$  - lungimea medie a rădăcinilor/tulpinilor probei martor (mm).

- **Creșterea relativă a biomasei ( $Br$ , %) ca procent din proba martor**

Indicatorul creșterea relativă a biomasei ( $Br$  %) ca procent din proba martor reprezintă cantitatea de biomasă obținută (verde sau uscată) raportată la proba martor (ecuația 2.25):

$$Br (\%) = \frac{\text{Biomasa proba test}}{\text{Biomasa proba martor}} \times 100 \quad (2.25)$$

unde: *biomasa proba test* – cantitatea de biomasă uscată/verde a probei cu metal (mg); *biomasa proba martor* – cantitatea de biomasă uscată/verde a probei martor (mg).

### 2.13.2. Indicatori pentru evaluarea performanțelor fitoremedierii

Indicatorii pentru evaluarea performanțelor fitoremedierii reprezintă parametri și măsurători utilizate pentru a evalua eficiența și succesul tehnologiei de fitoremediere în tratarea și reducerea poluării solului, în acest caz. Acești indicatori oferă informații obiective despre capacitatea plantelor (și microorganismelor asociate) să extragă, acumuleze poluanții prezenți în sol. Indicatorii pe care noi i-am calculat pentru a evalua performanța fitoremedierii sunt: factorul de bioconcentrare (BCF), (coeficientul) factorul de bioacumulare (BAC) și factorul de translocare (TF) (Roșca și colab., 2021; Sajad și colab., 2022; Zand și Mühlhing, 2022).

- **Factorul de bioconcentrare (BCF)** oferă informații despre acumularea de metal din sol de către rădăcinile plantelor (ecuația 2.26):

$$BCF = \frac{C_{\text{metal radacini}}}{C_{\text{metal sol}}} \quad (2.26)$$

unde:  $C_{\text{metal rădăcini}}$  - concentrația metalului în rădăcini;  $C_{\text{metal sol}}$  - concentrația inițială a metalului în sol. O valoare mai  $\geq 1$  indică faptul că planta este un stabilizator, valoarea  $BCF \leq 1$  fiind considerată ca fiind un fitostabilizator inferior (Nirola și colab., 2015).

- **Factorul de bioacumulare (BAC)** reprezintă raportul dintre concentrația metalului determinată în partea aeriană a plantei (tulpini cu frunze) și concentrația acestuia determinată în sol la momentul  $t=0$  și se calculează cu (ecuația 2.27):

$$BAC = \frac{C_{\text{tulpini+frunze}}}{C_{\text{metal sol}}} \quad (2.27)$$

unde:  $BAC$  - factorul de bioacumulare,  $C_{\text{tulpini cu frunze}}$  - concentrația metalului din tulpina cu frunze (mg/kg plantă),  $C_{\text{metal în sol}}$  - concentrația metalului în sol, exprimat în mg/kg sol. O valoare  $> 1$  indică faptul că planta este fitoextractoare, iar  $\leq 1$  potrivită pentru fitostabilizare (Nirola și colab., 2015).

- **Factorul de translocare (TF)** indică translocarea metalelor din rădăcinile plantelor în tulpini cu frunze sau capacitatea/eficiența plantei de a transfera metalul în părțile aeriene și se calculează cu (ecuația 2.28):

$$TF = \frac{C_{\text{tulpini}}}{C_{\text{radacini}}} \quad (2.28)$$

unde:  $TF$  - factorul de translocare,  $C_{\text{tulpini}}$  - concentrația metalului din tulpină sau frunză, și  $C_{\text{rădăcini}}$  - concentrația metalului din rădăcină, exprimate în mg/kg. O valoare mai mică de  $\leq 1$  este ideală pentru

fitostabilizare și indică un transfer inefficient de metale în părțile aeriene, sugerând că plante acumulează mai mult metale în rădăcini decât în tulpini cu frunze, iar >1 este un bun candidat pentru fitoextracție (fitoabsorbție) (Nirola și colab., 2015; Usman și colab., 2019).

#### **2.14. Analiza statistică și de regresie a rezultatelor obținute**

În cadrul tezei s-a aplicat analiza de varianță cu un factor (one-way ANOVA) cu scopul de a obține cât mai multe informații privind influența pe care o exercită ionii de nichel și, respectiv cadmiu asupra creșterii și dezvoltării plantelor selecționate, dar și asupra acumulării acestora de către plante, astfel încât să se poată face recomandări pertinente în vederea utilizării ulterioare a acestor plante în fitoremedierea solurilor contaminate.

Pentru compararea mediilor eșantioanelor s-a utilizat testul Tukey, care este cel mai utilizat procedeu de comparație multiplă, denumit și *testul diferenței semnificative oneste*. În mod obișnuit, testul Tukey este utilizat după ce analiza varianței a arătat că există o diferență semnificativă (Haynes, 2013). În analiza datelor experimentale, nivelul de semnificație  $\alpha$  a fost stabilit ca fiind 0,05.

În vederea estimării **conținutului ionului metalic în rădăcinile și tulpinile/frunzele plantelor** în funcție de **variația concentrației ionului metalic în sol**, datele obținute de la determinarea conținutului de metal în plantă au fost supuse analizei de regresie.

Pentru evaluarea efectelor individuale și combinate ale ionilor de nichel și, respectiv cadmiu asupra dezvoltării plantelor și acumulării acestor ioni de către muștar, s-au realizat o serie de experimente conform programului experimental central compus (CCD), iar rezultatele obținute au fost analizate și modelate utilizând analiza factorială urmată de metodologia suprafeței de răspuns (RSM).

Influența individuală, dar și cumulată a concentrației în sol a ionilor de Ni și Cd asupra creșterii și dezvoltării plantelor, precum și asupra capacității de acumulare a acestor ioni de către muștar, a fost, de asemenea, evidențiată prin reprezentarea grafică a unor rezultate ale analizei de regresie, care permit observarea modului în care modelele aplicate sunt în concordanță cu rezultatele experimentale. În acest sens au fost alese pentru reprezentare:

- diagrama Pareto a efectelor standardizate;
- reprezentarea grafică normală a efectelor standardizate;
- reprezentarea grafică prin linii de contur și suprafața de răspuns (3D).

### **CAPITOLUL 3.**

#### **STUDII PRIVIND POTENȚIALUL PLANTELOR**

*Sinapis alba L., Brassica napus L. ȘI Amaranthus retroflexus L.*

#### **DE A TOLERA ȘI BIOACUMULA IONII DE NICHEL**

##### **3.1. Scopul și importanța cercetării**

Studiile privind potențialul plantelor *Sinapis alba L.*, *Brassica napus L.* și *Amaranthus retroflexus L.* de a tolera și bioacumula ionii de nichel reprezintă o componentă esențială în domeniul fitoremedierii. Acest capitol are ca scop să evidențieze importanța și relevanța acestor studii, precum și să ofere o perspectivă asupra potențialului acestor plante în abordarea poluării cu nichel. Unul dintre principalele motive pentru realizarea acestor studii este faptul că nichelul este un metal greu toxic care poate fi eliberat în mediu prin diverse activități umane, cum ar fi industria, mineritul sau agricultura intensivă. Nichelul poate fi prezent în soluri și apele de suprafață în concentrații ridicate, având un impact negativ asupra

ecosistemelor și sănătății umane. Prin urmare, identificarea și utilizarea plantelor cu capacitatea de a tolera și acumula nichelul devine crucială în gestionarea și remedierea acestor zone poluate.

În acest context, în vederea îndeplinirii obiectivului principal al tezei, și anume utilizarea unor plante în procesul de eliminare al nichelului din sol prin fitoremediere, s-a elaborat un program experimental cu următoarele componente:

- studiul fitotoxicității ionilor de nichel pentru speciile de muștar, rapiță și știr la diferite concentrații (31 mgNi/L - 320 mgNi/L) în vederea stabilirii **toleranței plantulelor față de toxicitatea metalului în mediul lichid**. Fitotoxicitatea a fost evaluată prin determinarea gradului de germinare al semințelor, creșterea în lungime a radiculelor și hipocotilelor plantulelor și conținutul de biomasă uscată.
- determinarea capacității plantelor de muștar, rapiță și știr **de a tolera toxicitatea ionilor de nichel** în sol poluat artificial cu diferite concentrații de metal (32 mgNi/kg - 535 mgNi/kg). Experimentele au vizat identificarea *efectelor morfologice* (creșterea în lungime a rădăcinilor și tulpinilor plantelor, numărul de frunze, lățimea și lungimea frunzelor a 3-a și a 4-a, cantitatea de biomasă), *efectelor fiziologice* (pigmenții fotosintetici) și *efectelor biochimice* (producerea de siderofori) induse de variația concentrației ionilor de Ni<sup>2+</sup> în sol, precum și în determinarea capacității de **bioacumulare a acestor ioni** în țesuturile plantelor.

În vederea evaluării amplitudinii efectelor induse de variația ionilor de nichel asupra ratei de germinare, a lungimii radiclei/hipocotilelor sau a rădăcinei/tulpinii, precum și a biomasei uscate a fost aplicată analiza varianței (ANOVA) unidirecțională, iar mediile aferente fiecărei concentrație au fost analizate cu testul Tukey. Datele au fost analizate statistic la nivelul de semnificație  $\alpha$  de 0,05 cu ajutorul softului Minitab 17. Atât analiza ANOVA cât și analiza de regresie pot oferi informații esențiale despre relațiile și diferențele dintre speciile de plante și variabilele de mediu în ceea ce privește toleranța și bioacumularea nichelului. Aceste analize pot furniza date cantitative și concluzii statistice care să sprijine deciziile și strategiile de fitoremediere, selecția și utilizarea optimă a plantelor în managementul poluării cu nichel, precum și în cercetarea și dezvoltarea de soluții sustenabile și ecologice pentru combaterea poluării mediului.

### **3.2. Efectele ionilor de nichel asupra creșterii și dezvoltării plantulelor de *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. și *Amaranthus retroflexus* L. în mediu lichid**

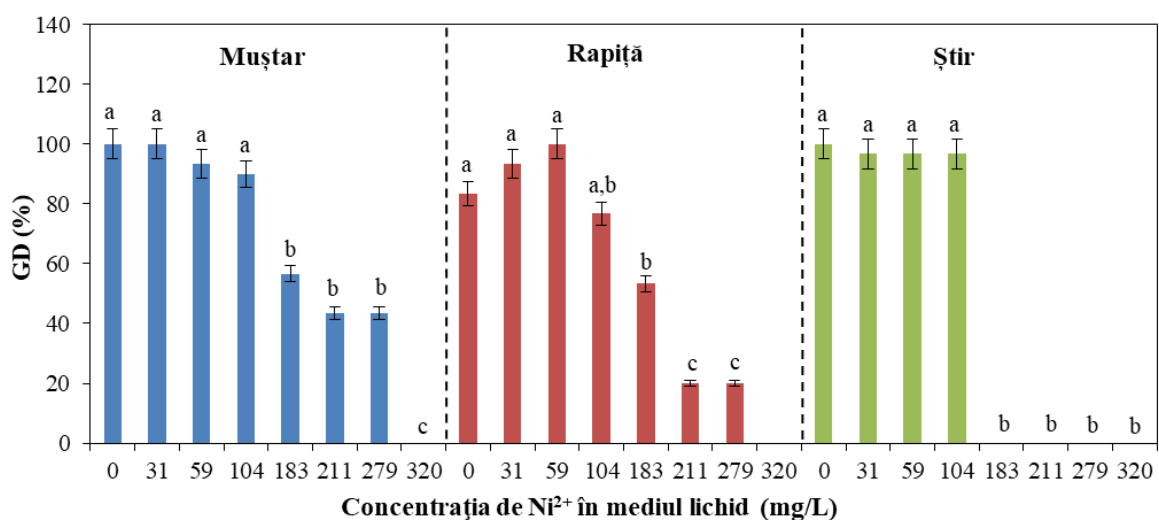
#### *3.2.1. Gradul de germinare al semințelor*

Conform datelor prezentate în Fig. 3.1 **gradul de germinare al semințelor de muștar** a scăzut odată cu creșterea concentrației ionului metalic în soluție, astfel că la cea mai mică concentrație (31 mgNi/L), s-a înregistrat un grad de germinare de 100%, pe când la cea mai mare concentrație (320 mgNi/L), germinarea semințelor a fost afectată în totalitate. **În cazul semințelor de rapiță**, s-a constatat că ionii de Ni<sup>2+</sup> în concentrații de până la 59 mgNi/L au stimulat germinarea, astfel că gradul de germinare a fost de 100% comparativ cu proba martor. La cele mai mari concentrații ale Ni<sup>2+</sup> luate în lucru, gradul de germinare a fost de 53,33% (concentrația de 183 mgNi/L), respectiv 20% (279 mgNi/L), iar la cea mai mare concentrație, germinarea semințelor a fost afectată în totalitate, ca și în cazul muștarului.

Pentru domeniul de concentrații 31 mgNi/L - 104 mgNi/L, **germinarea semințelor de știr** a fost de 96,67%, iar pentru domeniul de concentrații 183 mgNi/L - 320 mgNi/L, germinarea a fost afectată în totalitate.

Pentru a determina mediile individuale care sunt semnificativ diferite de mediile aferente celorlalte niveluri al concentrației ionilor de Ni<sup>2+</sup> s-a utilizat testul Tukey. Pe baza acestor rezultate se poate afirma că **până la concentrația de aproximativ 104 mgNi/L germinarea semințelor de muștar, rapiță și știr nu este afectată semnificativ de ionii de nichel.**



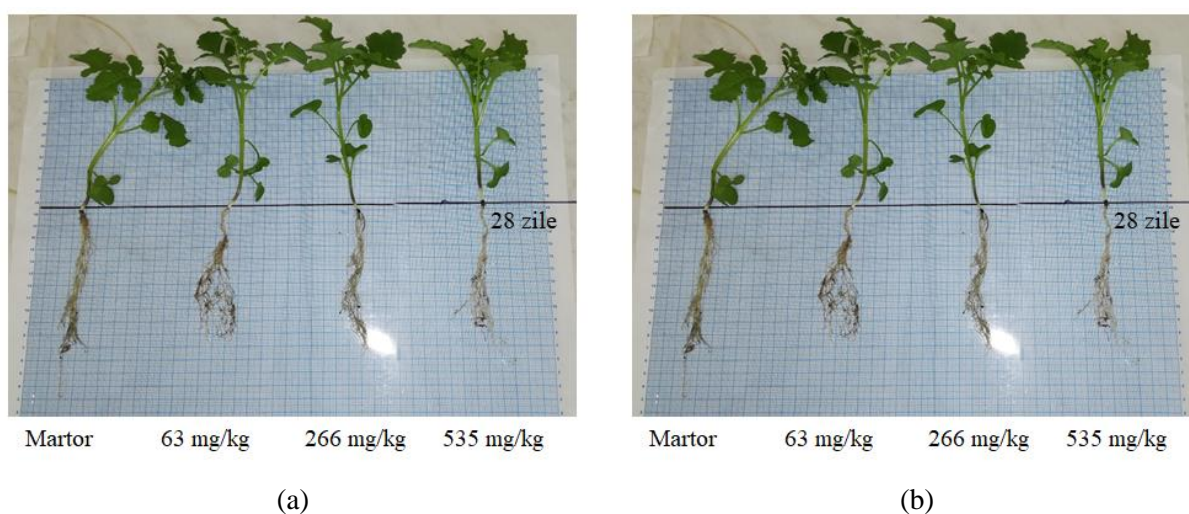


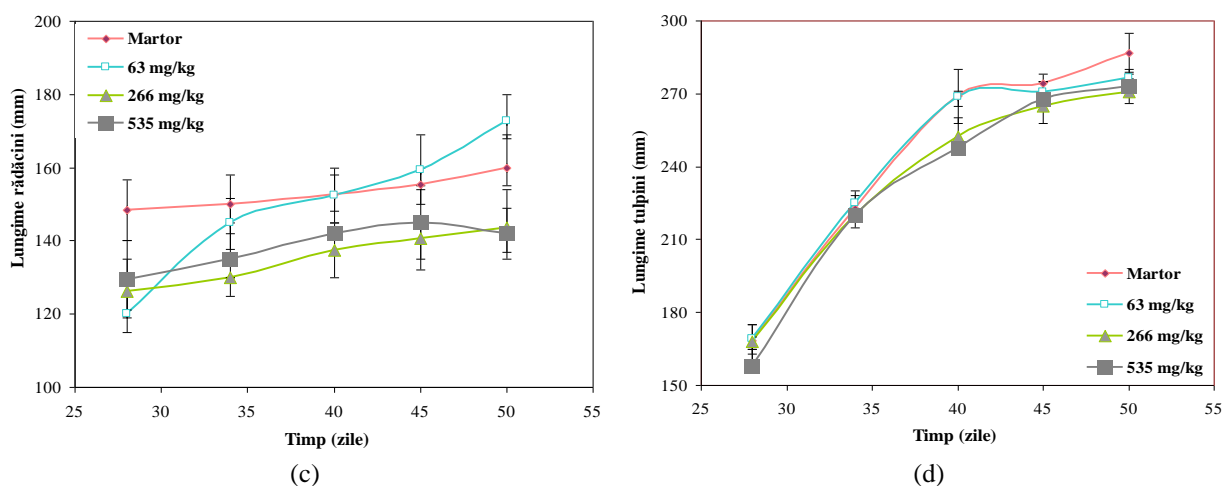
**Fig. 3.1.** Gradul de germinare al semințelor de muștar, rapiță și știr în prezența ionilor de nichel (Valorile medii urmate de aceeași literă nu sunt semnificativ diferite la nivelul  $p < 0,05$  conform testului Tukey)

### 3.3. Efectele ionilor de nichel din solul poluat asupra creșterii și dezvoltării plantelor de *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. și *Amaranthus retroflexus* L.

#### 3.3.1. Efectele ionilor de nichel asupra dezvoltării plantei de muștar alb

Fig. 3.5(a) și (b) prezintă aspectul vizual al plantelor după cele 28 de zile, respectiv, 50 de zile de creștere, iar Fig. 3.5(c) și (d) prezintă lungimile medii ale plantelor în prezența ionilor de nichel după 28 de zile, 34 de zile, 40 de zile, 45 de zile și 50 de zile. Astfel, după cele 28 de zile de creștere s-a putut observa faptul că între martor și plantele crescute în prezența ionilor de nichel nu au fost diferențe semnificative, observându-se doar o ușoară reducere a lungimii rădăcinilor. Odată cu trecerea timpului însă, diferențele au devenit mai semnificative, astfel că după cele 50 zile, s-a observat o reducere a lungimii rădăcinilor și tulpinilor.





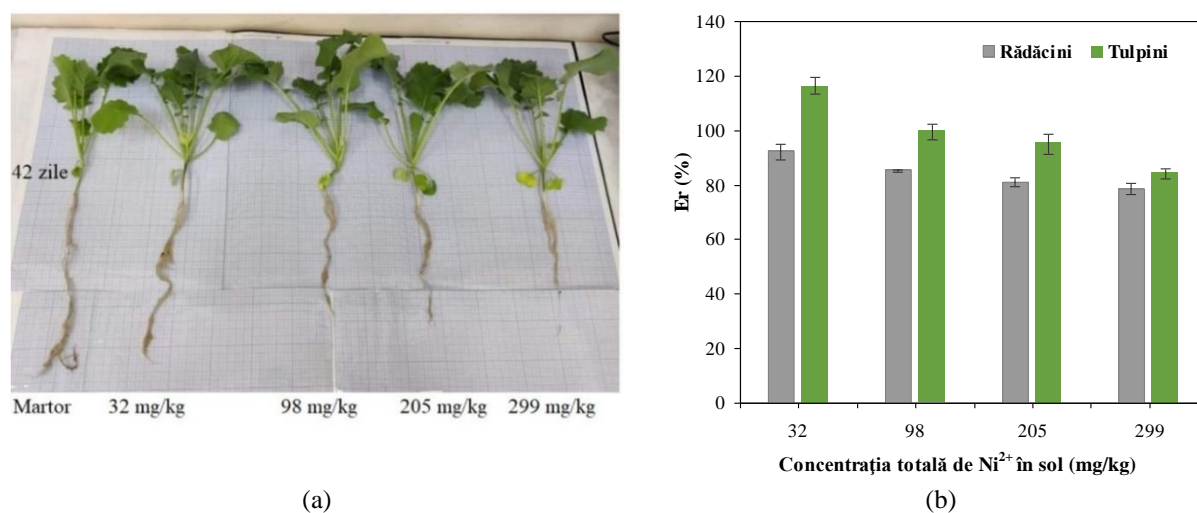
**Fig. 3.5.** Creșterea muștarului în prezența ionilor de nichel:

(a) aspectul vizual după 28 zile; (b) aspectul vizual după 50 zile și variația în timp a (c) lungimilor rădăcinilor și (d) lungimilor tulpinilor

### 3.3.2. Efectele ionilor de nichel asupra dezvoltării plantei de rapiță

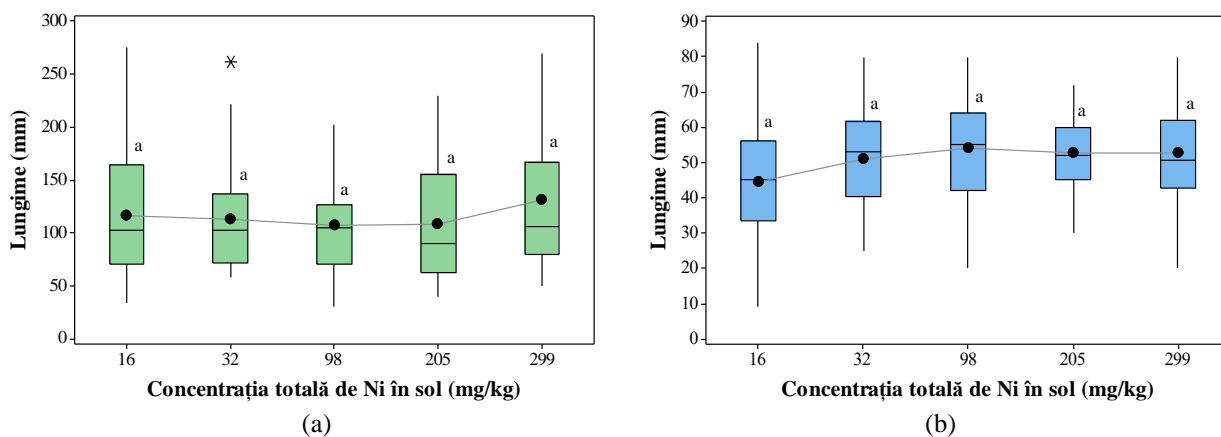
În vederea analizei toleranței plantei *Brassica napus* L. față de ionii de nichel din sol, s-au efectuat teste de creștere a plantei în sol la concentrația reală a ionului metalic în sol cuprinsă între 32 mgNi/kg și 299 mgNi/kg. În Fig. 3.7a este prezentat aspectul vizual al plantelor de rapiță după 42 de zile de creștere în solul poluat cu ioni de nichel. Conform fotografiei, nu s-au observat reduceri semnificative ale tulpinilor plantelor de rapiță, însă în cazul rădăcinilor s-a observat o reducere a lungimii precum și a densității rădăcinilor pentru intervalul de concentrații 98 mgNi/kg - 299 mgNi/kg.

În Fig. 3.7b este reprezentat indicele de toleranță al rădăcinilor și tulpinilor plantelor de rapiță. Conform graficului, valorile indicelui de toleranță au fost cuprinse între 78,51% și 92,41% pentru rădăcini, iar în cazul tulpinilor, la concentrația de 32 mgNi/kg s-a observat o stimulare a tulpinilor cu 14,70%. La celelalte concentrații, s-a observat o scădere a indicelui de toleranță (de exemplu: la concentrația de 299 mgNi/kg, acesta a fost de 78,51% pentru rădăcini, iar în cazul tulpinilor de 84,70%).



**Fig. 3.7.** Creșterea plantei de rapiță în prezența ionilor de nichel după 42 zile: (a) aspectul vizual al plantei; (b) indicele de toleranță

Compararea mediilor lungimilor rădăcinilor și tulpinilor plantelor de rapiță crescute în sol contaminat cu ioni de Ni<sup>2+</sup> prin aplicarea testului Tukey a arătat că între mediile aferente fiecărei concentrații nu sunt diferențe semnificative (Fig. 3.8). Astfel se poate afirma că variația concentrației ionilor de Ni<sup>2+</sup> în intervalul 16 - 299 mgNi/kg nu afectează semnificativ creșterea în lungime a rădăcinilor și tulpinilor plantelor rapiței.

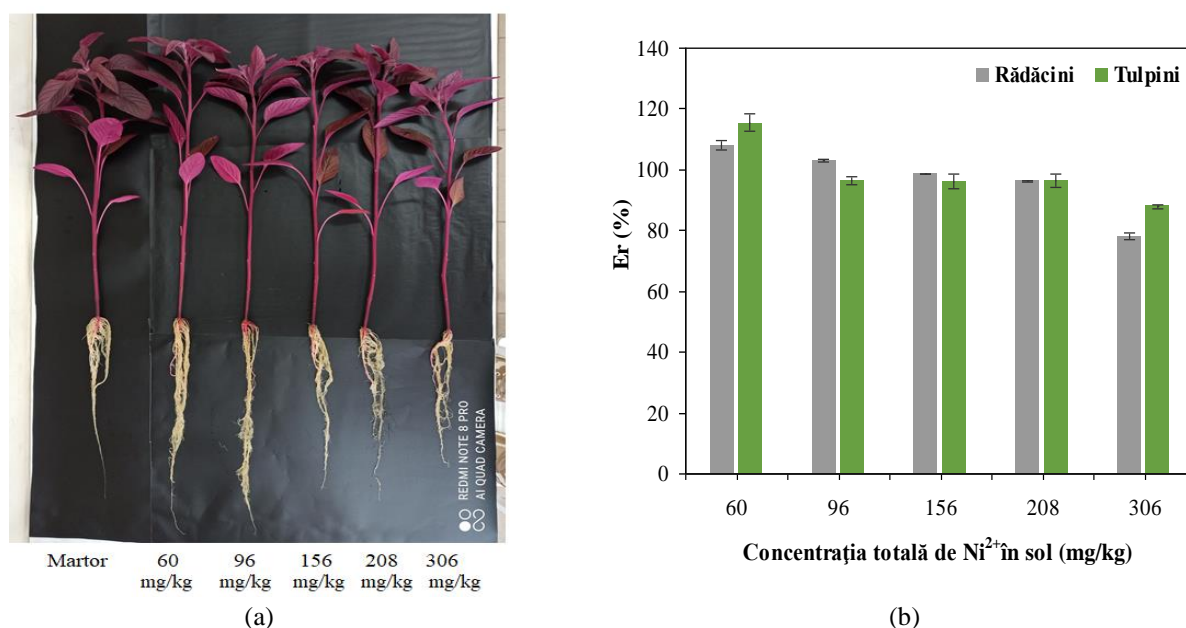


**Fig. 3.8.** Reprezentarea grafică de tipul box-plot a lungimii (a) rădăcinii și (b) tulpinei rapiței în prezența ionilor de nichel după 42 zile de creștere în sol (Valorile medii urmate de aceeași literă nu sunt semnificativ diferite la nivelul  $p < 0,05$  conform testului Tukey; \*valori aberante)

### 3.3.3. Efectele ionilor de nichel asupra dezvoltării plantei de știr

Din datele prezentate în Fig. 3.10(a) și (b) se observă că plantele de știr nu au fost afectate semnificativ de prezența ionilor de nichel, observându-se o ușoară stimulare (de până la 8%) la concentrațiile 60 mgNi/kg și 96 mgNi/kg pentru rădăcini, acestea fiind de asemenea și mai dense.

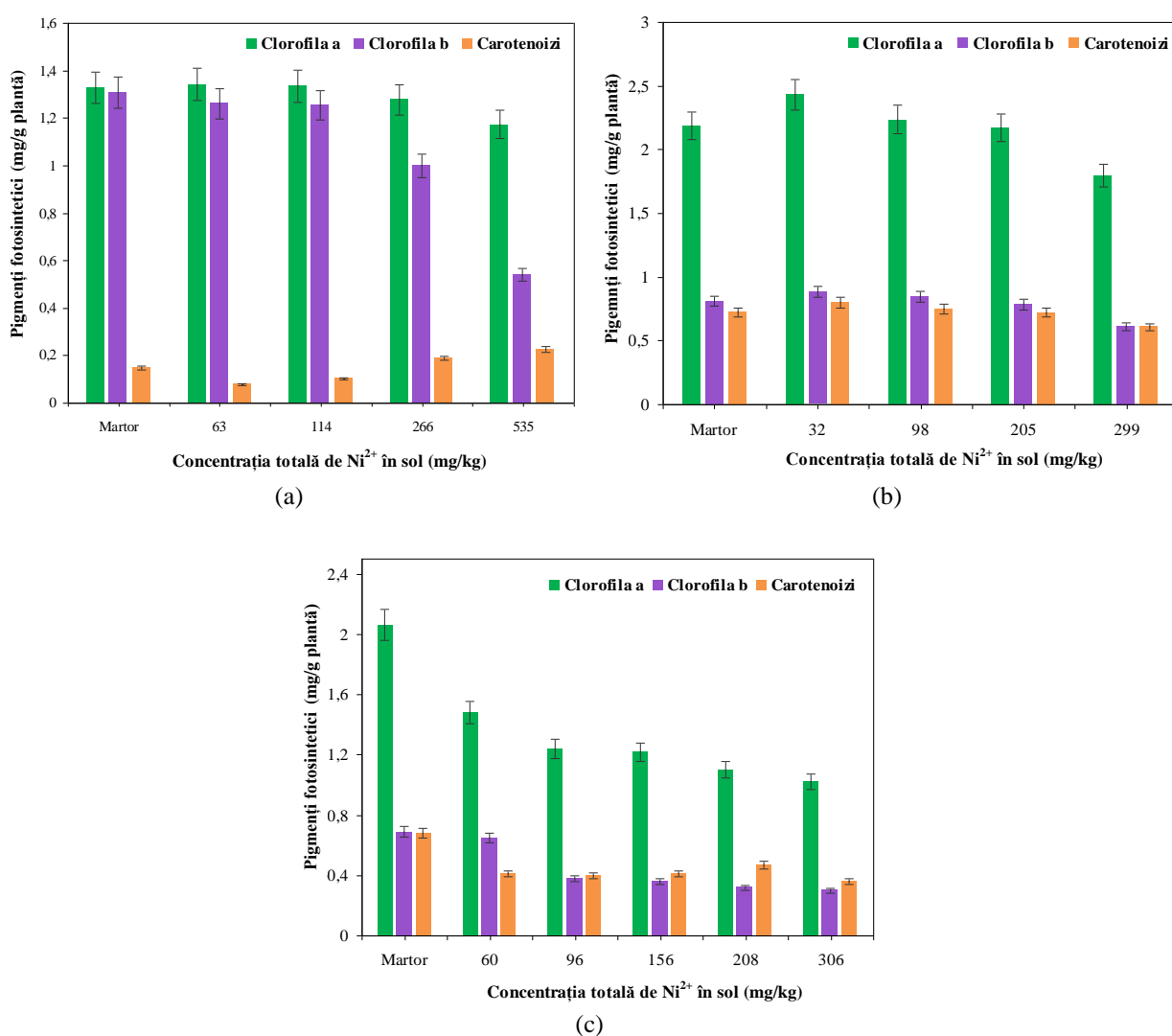
Pentru domeniul de concentrații cuprins între 156 mgNi/kg - 306 mgNi/kg s-a observat o ușoară reducere a lungimilor rădăcinilor, indicele de toleranță fiind cuprins între 78,10% - 98,54%.



**Fig. 3.10.** Creșterea știrului în prezența ionilor de nichel: (a) aspectul vizual al știrului după 40 de zile; (b) indicii de toleranță și (c) creșterea relativă a biomasei uscate

### 3.4. Efectele ionilor de nichel asupra pigmentilor fotosintetici din plantele de muștar alb, rapiță și știr din solul poluat

Conform rezultatelor prezentate în Fig. 3.12a s-a observat că ionii de nichel au avut o influență benefică asupra conținutului de clorofilă *a* la muștar până la concentrația de 114 mgNi/kg (de exemplu, clorofila *a* a fost stimulată cu 1,1% la 63 mgNi/kg, respectiv 0,47% la concentrația de 114 mgNi/kg). La valori mai mari ale concentrației de nichel în sol, de exemplu la 266 mgNi/kg și 535 mgNi/kg, s-a observat o scădere cu 3,77% și respectiv 11,65% a conținutului de clorofilă *a* comparativ cu proba martor. De asemenea, clorofila *b* a scăzut cu 23,75% și respectiv, 58,75% în același interval de concentrații. În ceea ce privește rezultatele privind conținutul de carotenoizi s-a constatat o creștere la concentrațiile de 266 mgNi/kg și 535 mgNi/kg de până la 33%.



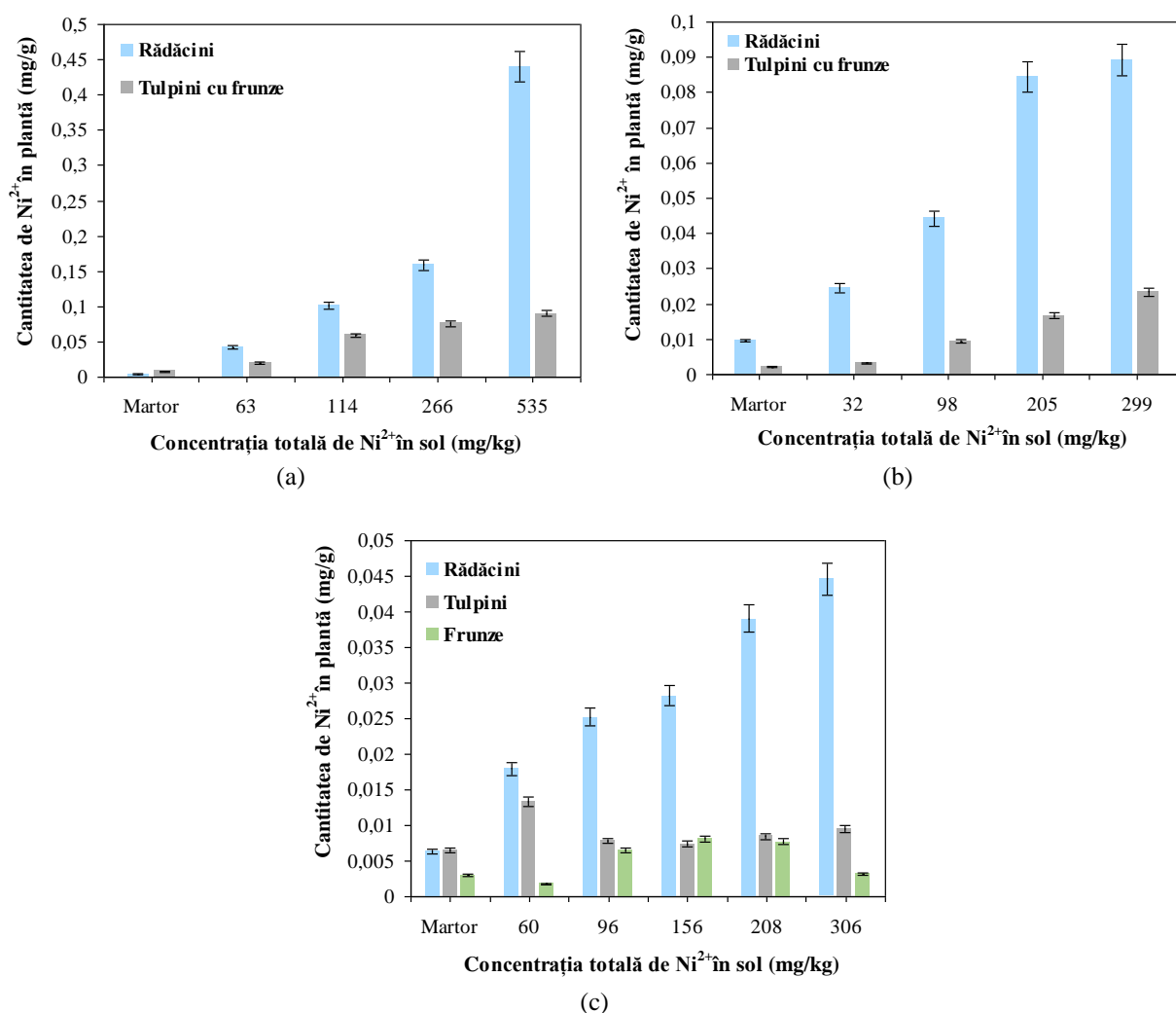
**Fig. 3.12.** Efectele ionilor de nichel asupra conținutului de clorofilă *a*, clorofila *b* și carotenoizi în plantele de: (a) muștar; (b) rapiță; (c) știr

În cazul plantelor de rapiță s-a constatat o creștere a conținutului de pigmenți fotosintetici până la concentrația de 98 mgNi/kg între 2,25% și 11,22% (clorofila *a*), 4,57% - 8,77% (clorofila *b*), 3,49% - 10,64% (carotenoizi), iar la celelalte concentrații o scădere de până la 17,89% (clorofila *a*), 24,66% (clorofila *b*), și 16,16% (carotenoizi) comparativ cu proba martor (Fig. 3.12b).

În ceea ce privește plantele de știr, pentru domeniul de concentrații studiat, conținutul de clorofilă *a* a scăzut cu 28,15% comparativ cu proba martor la concentrația de 60 mg/kg, iar la cea mai mare concentrație s-a obținut o scădere de 50,48%. De asemenea, conținutul de clorofila *b* a scăzut între 5,79%-56,52%, iar carotenoizii cu 39,70% - 47,05% comparativ cu martorul (Fig. 3.12c).

### 3.6. Determinarea eficienței procesului de fitoremediere

Cantitatea de Ni<sup>2+</sup> acumulată în părțile plantelor de muștar, rapiță și știr este reprezentat în Figs. 3.15a-c. Conform rezultatelor, aceasta a variat în funcție de tipul de plantă și a crescut odată cu creșterea nivelului de nichel din sol, aspect observat și în alte studii de literatură (Khoramnejadian și Saeb, 2015; Sainger și colab., 2014; Sajad și colab., 2020).



**Fig. 3.15.** Conținutul de nichel în țesuturile plantelor de: (a) muștar; (b) rapiță; (c) știr

Rezultatele experimentelor a arătat faptul că, conținutul de nichel în cele 3 plante a fost:

- în **rădăcinile muștarului** conținutul de nichel a fost între 0,004 mg/g de plantă și 0,440 mg/g de plantă, în timp ce în tulpini cu frunze a variat între 0,007 mg/g de plantă și 0,090 mg/g de plantă;
- în **rădăcinile rapiței**, acesta a variat de la 0,009 mg/g de plantă la 0,089 mg/g de plantă, în timp ce în **tulpini cu frunze** a variat de la 0,002 mg/g de plantă la 0,023 mg/g de plantă;

*Rezumatul tezei de doctorat:*  
**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU  
 BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE**

- în **rădăcinile știrului** a fost între 0,006 mg/g de plantă și 0,044 mg/g de plantă, în **tulpini** a fost între 0,006 mg/g de plantă la 0,013 mg/g de plantă, iar în cazul **frunzelor** a fost între 0,001 mg/g de plantă la 0,008 mg/g de plantă. Pe baza cantităților de metale acumulate în părțile plantelor s-a calculat factorul de translocare (TF), factorul de bioacumulare (BAC) și factorul de bioconcentrare (BCF) (Drozdova și colab., 2019; Roșca și colab., 2021).

În Tabelul 3.10. sunt prezentate valorile factorilor de translocare, bioconcentrare și bioacumulare calculați cu ajutorul ecuațiilor (2.26-2.28), iar pe baza tabelului 2.7 (capitolul 2), s-au făcut interpretările factorilor. Conform calculelor efectuate valorile factorilor de bioconcentrare au fost între 0,251 și 0,823 (muștar), 0,298 - 0,764 (rapiță) și 0,145-0,392 (știr). Factorii de translocare au fost între 0,205 - 1,949 (muștar), 0,133 - 0,262 (rapiță), respectiv 0,07 - 1,040 (știr). În cazul muștarului s-a constatat faptul că factorii de bioconcentrare au fost între 0,1 - 0,5 (potențial fitostabilizator), și respectiv 0,5 - 1,0 (parțial fitostabilizator). Valorile factorilor de bioacumulare au fost sub 1, însă s-au aflat majoritatea între 0,1 - 1 însemnând un nivel mediu de acumulare în tulpini cu frunze, iar la martor translocarea nichelului în tulpini și frunze a fost peste 1.

**Tabelul 3.10.** Factorii de bioconcentrare (BCF), bioacumulare (BAC) și translocare (TF) ale plantelor de muștar, rapiță și știr

<i>Muștar+Ni<sup>2+</sup></i>							
<i>Concentrația totală în sol (mgNi/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>		<i>TF</i>		<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	0,251	0,490		1,949		Potențial de fitostabilizare	Excluder
63	0,671	0,317		0,473		Fitostabilizare parțială	Excluder
114	0,893	0,517		0,578		Fitostabilizare parțială	Excluder
266	0,596	0,284		0,478		Fitostabilizare parțială	Excluder
535	0,823	0,168		0,205		Fitostabilizare parțială	Excluder
<i>Rapiță+Ni<sup>2+</sup></i>							
<i>Concentrația totală în sol (mgNi/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>		<i>TF</i>		<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	0,598	0,129		0,216		Fitostabilizare parțială	Excluder
32	0,764	0,102		0,133		Fitostabilizare parțială	Excluder
98	0,453	0,096		0,212		Potențial de fitostabilizare	Excluder
205	0,411	0,080		0,196		Potențial de fitostabilizare	Excluder
299	0,298	0,078		0,262		Potențial de fitostabilizare	Excluder
<i>Știr+Ni<sup>2+</sup></i>							
<i>Concentrația totală în sol (mgNi/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini</i>	<i>BAC frunze</i>	<i>TF tulpini</i>	<i>TF frunze</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	0,392	0,408	0,186	1,040	0,47	Potențial de fitostabilizare	Excluder
60	0,298	0,221	0,029	0,741	0,09	Potențial de fitostabilizare	Excluder
96	0,263	0,081	0,068	0,311	0,26	Potențial de fitostabilizare	Excluder
156	0,180	0,047	0,051	0,263	0,28	Potențial de fitostabilizare	Excluder
208	0,187	0,040	0,037	0,21	0,019	Potențial de fitostabilizare	Excluder
306	0,145	0,031	0,010	0,212	0,07	Fitostabilizare potențială	Excluder

## CAPITOLUL 4.

### STUDII PRIVIND POTENȚIALUL PLANTELOR *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. ȘI *Amaranthus retroflexus* L. DE A TOLERA ȘI BIOACUMULA IONII DE CADMIU

#### 4.1. Scopul și importanța cercetării

Scopul acestui capitol este de a investiga potențialul plantelor *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. și *Amaranthus retroflexus* L. de a tolera și bioacumula ionii de cadmiu. Cadmiul este un metal toxic care este prezent în soluri și apele de suprafață datorită activităților antropice, cum ar fi industriile miniere, metalurgice și chimice. Acest metal este un contaminant serios și poate provoca efecte nocive asupra mediului și sănătății umane. Prin urmare, este important să se identifice plantele care pot supraviețui în medii contaminate cu cadmiu și să acumuleze acest metal în cantități mai mari, ceea ce ar putea contribui la remedierea solurilor poluate.

În vederea îndeplinirii obiectivului principal al tezei, care constă în utilizarea plantelor pentru eliminarea cadmiului din sol, au fost realizate o serie de experimente. Acestea au implicat următoarele etape:

- Studiul fitotoxicității ionilor de cadmiu pentru speciile de muștar, rapiță și știr în mediu lichid: S-au realizat experimente pentru a evalua toleranța plantelor la diferite concentrații de cadmiu (între 26 mg/L și 305 mg/L). Fitotoxicitatea a fost evaluată prin măsurarea gradului de germinare a semințelor, creșterea în lungime a radiculelor și hipocotilelor plantelor, precum și conținutul de biomasă uscată.
- Determinarea capacității plantelor de muștar, rapiță și știr de a tolera ionii de cadmiu în sol poluat artificial: Experimentele au avut ca scop identificarea efectelor morfologice, fiziologice și biochimice induse de variația concentrației ionilor de cadmiu în sol. Parametrii evaluați au inclus creșterea în lungime a rădăcinilor și tulpinilor plantelor, numărul de frunze, dimensiunile frunzelor, cantitatea de biomasă, conținutul de pigmenți fotosintetici și producția de siderofori. De asemenea, s-a urmărit determinarea capacității de bioacumulare a ionilor de cadmiu în țesuturile plantelor.

Pentru evaluarea efectelor variației ionilor de cadmiu asupra ratelor de germinare, lungimii radiculelor/hipocotilelor și a biomasei uscate, s-a utilizat analiza varianței (ANOVA) unidirecțională, iar mediile aferente fiecărei concentrații au fost comparate folosind testul Tukey. Datele au fost testate la nivelul de semnificație  $\alpha$  de 0,05.

Pentru a evalua efectele individuale și combinate ale ionilor de cadmiu și nichel asupra dezvoltării și acumulării acestor metale în plantele de muștar, s-au realizat experimente conform unui program experimental central compus (CCD). Rezultatele obținute au fost analizate și modelate utilizând analiza factorială și metoda suprafeței de răspuns (RSM).

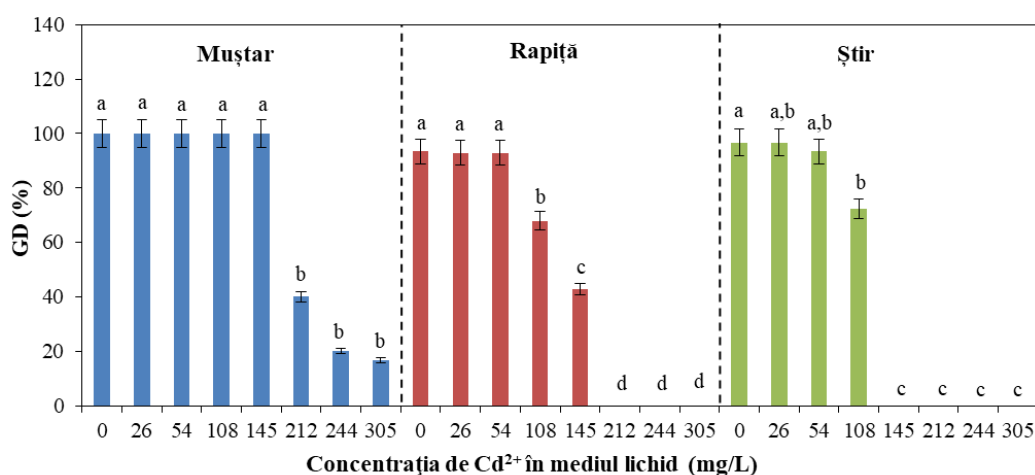
Astfel, prin aceste experimente s-a urmărit obținerea unor informații relevante cu privire la toleranța și capacitatea de bioacumulare a plantelor studiate în ceea ce privește ionii de cadmiu, precum și influența interacțiunii acestora cu nichelul. Aceste cunoștințe pot avea aplicații practice în remedierea solurilor contaminate cu cadmiu și în gestionarea poluării mediului înconjurător.

## 4.2. Efectele ionilor de cadmiu asupra creșterii și dezvoltării plantelor de *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. și *Amaranthus retroflexus* L. în mediul lichid

### 4.2.1. Gradul de germinare a semințelor

Conform datelor prezentate în Fig. 4.1, **gradul de germinare al semințelor de muștar** în prezența ionilor de cadmiu a fost afectat la concentrațiile cele mai ridicate: la concentrația de 305 mg/L procentul de germinare a fost de doar 16,66%. **Gradul de germinare al semințelor de rapiță** a scăzut odată cu creșterea concentrației astfel încât, la cea mai mică concentrație, de 26 mg/L, procentul a fost de 92,85%, iar pentru domeniul de concentrații 212 mg/L - 305 mg/L, germinarea semințelor a fost afectată în totalitate (Fig. 4.1). În ceea ce privește **germinarea semințelor de știr**, pentru domeniul de concentrații 26 mg/L-104 mg/L gradul de germinare a fost cuprins între 72,22% - 96,66%, iar pentru domeniul de concentrații 145 mg/L - 305 mg/L, germinarea a fost afectată în totalitate.

Mediile aferente fiecărui nivel al concentrației de Cd<sup>2+</sup> au fost comparate utilizând testul Tukey la un nivel de semnificație  $p < 0,05$ . Rezultatele acestui test, prezentate în Fig. 4.1 prin literele deasupra barelor, indică diferențe semnificative între gradul de germinație al grupului martor și cel asociat fiecărui nivel al concentrației de ioni Cd<sup>2+</sup> în mediul lichid. Aceste diferențe semnificative au fost observate la concentrații mai mari de 145 mg/L pentru muștar și 54 mg/L pentru rapiță și știr.



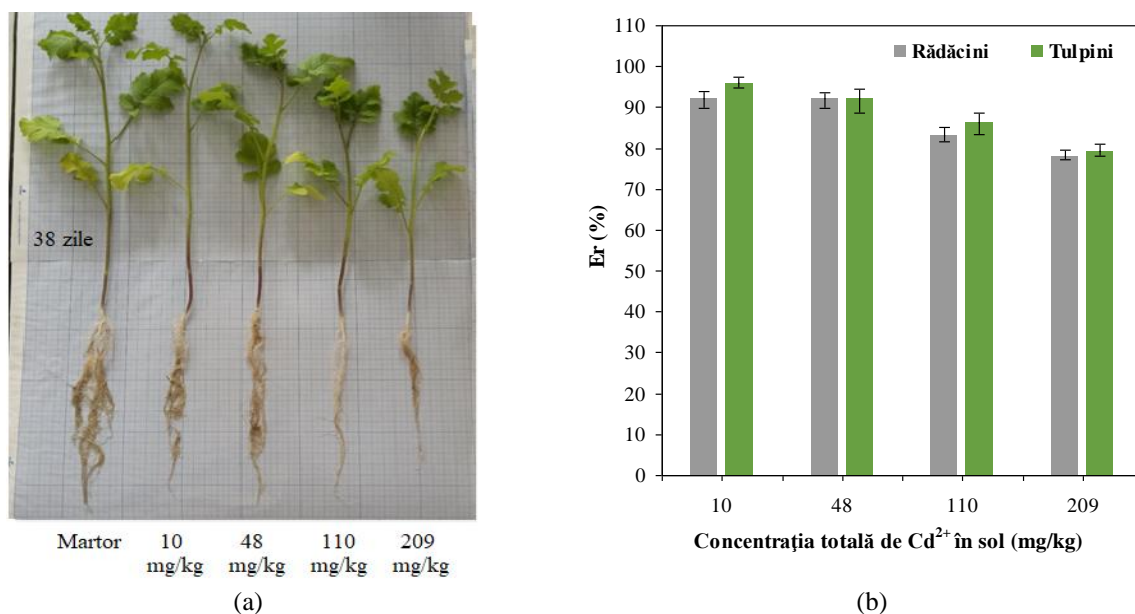
**Fig. 4.1.** Gradul de germinare al semințelor de muștar, rapiță și știr în prezența ionilor de cadmiu (Valorile medii urmate de aceeași literă nu sunt semnificativ diferite la nivelul  $p < 0,05$ , conform testului Tukey)

## 4.3. Efectele ionilor de cadmiu asupra creșterii și dezvoltării plantelor *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. și *Amaranthus retroflexus* L. din solul poluat

### 4.3.1. Efectele ionilor de cadmiu asupra dezvoltării plantei de muștar alb

În Fig. 4.5a este reprezentat aspectul vizual al plantelor de muștar după 38 de zile în contact cu ionii de cadmiu din solul în care a fost cultivate. Conform fotografiei, în cazul tulpinilor s-a observat o ușoară reducere a lungimii acestora, iar în cazul rădăcinilor, acestea au fost mai subțiri și mai puțin ramificate la cele mai mari concentrații. În Fig. 4.5b este reprezentat indicele de toleranță calculat pentru rădăcinile și tulpinile plantelor de muștar. Conform graficului, valorile indicelui de toleranță au fost cuprinse între 78,09% și 92,29% pentru rădăcini, iar în cazul tulpinilor, indicele de toleranță a fost între 79,38% și 96,07%.



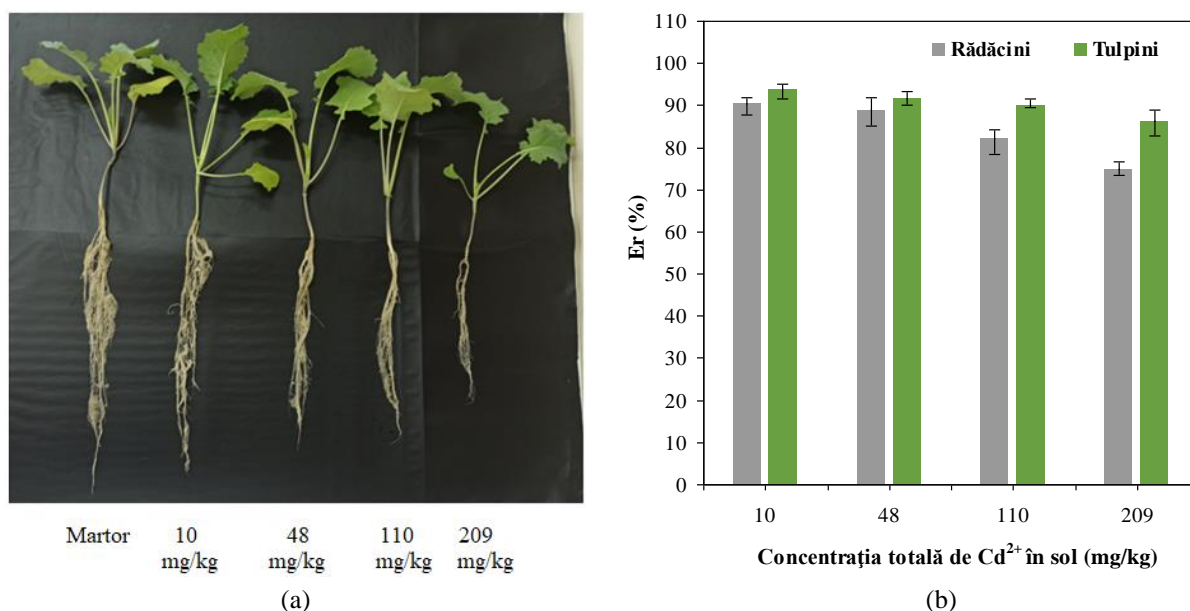


**Fig. 4.5.** Creșterea muștarului în prezența ionilor de cadmiu după 38 de zile: (a) aspectul vizual al plantei; (b) indicele de toleranță

#### 4.3.2. Efectele ionilor de cadmiu asupra dezvoltării plantei de rapiță

În Fig. 4.7a este reprezentat aspectul vizual al plantelor de rapiță după 40 de zile în contact cu ionii de cadmiu. Conform pozei, atât în cazul rădăcinilor cât și al tulpinilor, odată cu creșterea concentrației, plantele au fost mai subțiri și mai puțin ramificate comparativ cu martorul.

De asemenea, în cazul rădăcinilor indicele de toleranță a fost cuprins între 74,77% - 90,49%, iar la tulpini a fost între 86,17% și 93,90%, (Fig. 4.7b).

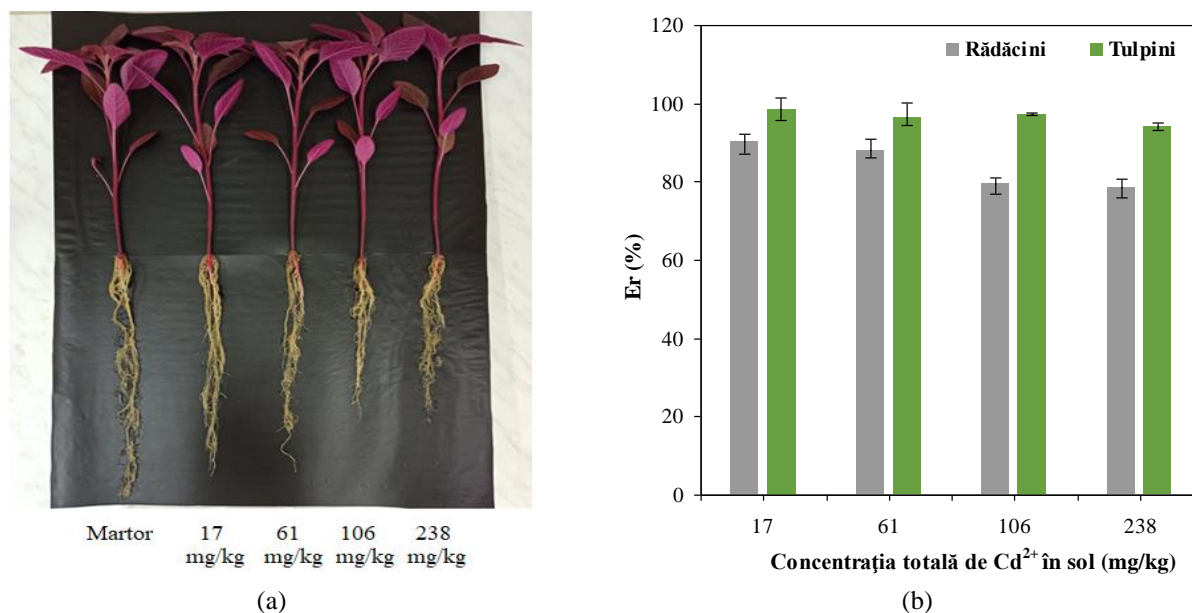


**Fig. 4.7.** Creșterea rapiței în prezența ionilor de cadmiu după 40 zile (a) aspectul vizual al plantei; (b) indicele de toleranță și (c) creșterea relativă a biomasei uscate

#### 4.3.3. Efectele ionilor de cadmiu asupra dezvoltării plantei de știr

În vederea stabilirii toleranței plantei *Amaranthus retroflexus* L. față de ionii de cadmiu din sol, concentrațiile reale ale ionului metalic în sol au fost cuprinse între 17 mg/kg și 238 mg/kg. În Fig. 4.8a este reprezentat aspectul vizual al plantelor de știr după 36 de zile în contact cu ionii de cadmiu. Conform pozei, plantele de știr în prezența ionilor de cadmiu nu par a fi afectate semnificativ, doar în cazul rădăcinilor se observă o reducere a lungimilor acestora la concentrațiile 106 mg/kg și 238 mg/kg. În Fig. 4.8b este reprezentat indicele de toleranță al rădăcinilor și tulpinilor plantelor de știr. Conform graficului, valorile indicelui de toleranță au fost cuprinse între 78,62% și 90,30% pentru rădăcini, iar în cazul tulpinilor a fost între 94,12% și 98,74%.

Din punct de vedere statistic în intervalul 1-238 mg/kg ionii de cadmiu în sol nu induc diferențe semnificative asupra lungimii rădăcinilor și tulpinilor plantelor de știr, dar nici în cazul biomasei uscate. Valorile parametrului statistic  $p$  sunt mult mai mari decât nivelul de semnificație  $\alpha = 0,05$ , iar cele ale parametrului  $F$  sunt mult mai mici decât  $F_{critic}$  aferent fiecărui set de date experimentale (Tabelul 4.7).



**Fig. 4.8.** Creșterea plantei de știr în prezența ionilor de cadmiu după 36 de zile: (a) aspectul vizual al plantei; (b) indicele de toleranță și (c) creșterea relativă a biomasei uscate

**Tabelul 4.7.** Rezultatele ANOVA aplicată datelor obținute de la măsurarea lungimii rădăcinilor și tulpinilor și a biomasei uscate a plantelor de știr în sol contaminat cu cadmiu

Parametru	Partea componentă	$DF_{nom.}$	$DF_{denom.}$	$F_{critic}$	Valoarea $F$	Valoarea $p$	$STDEV.P$
Lungimi	Rădăcini	4	70	2,503	0,42	0,796	48,993
	Tulpini	4	70	2,503	0,51	0,731	35,999
Biomasă	Rădăcini	4	10	3,478	0,49	0,743	0,124
	Tulpini+frunze	4	10	3,478	1,43	0,292	0,376

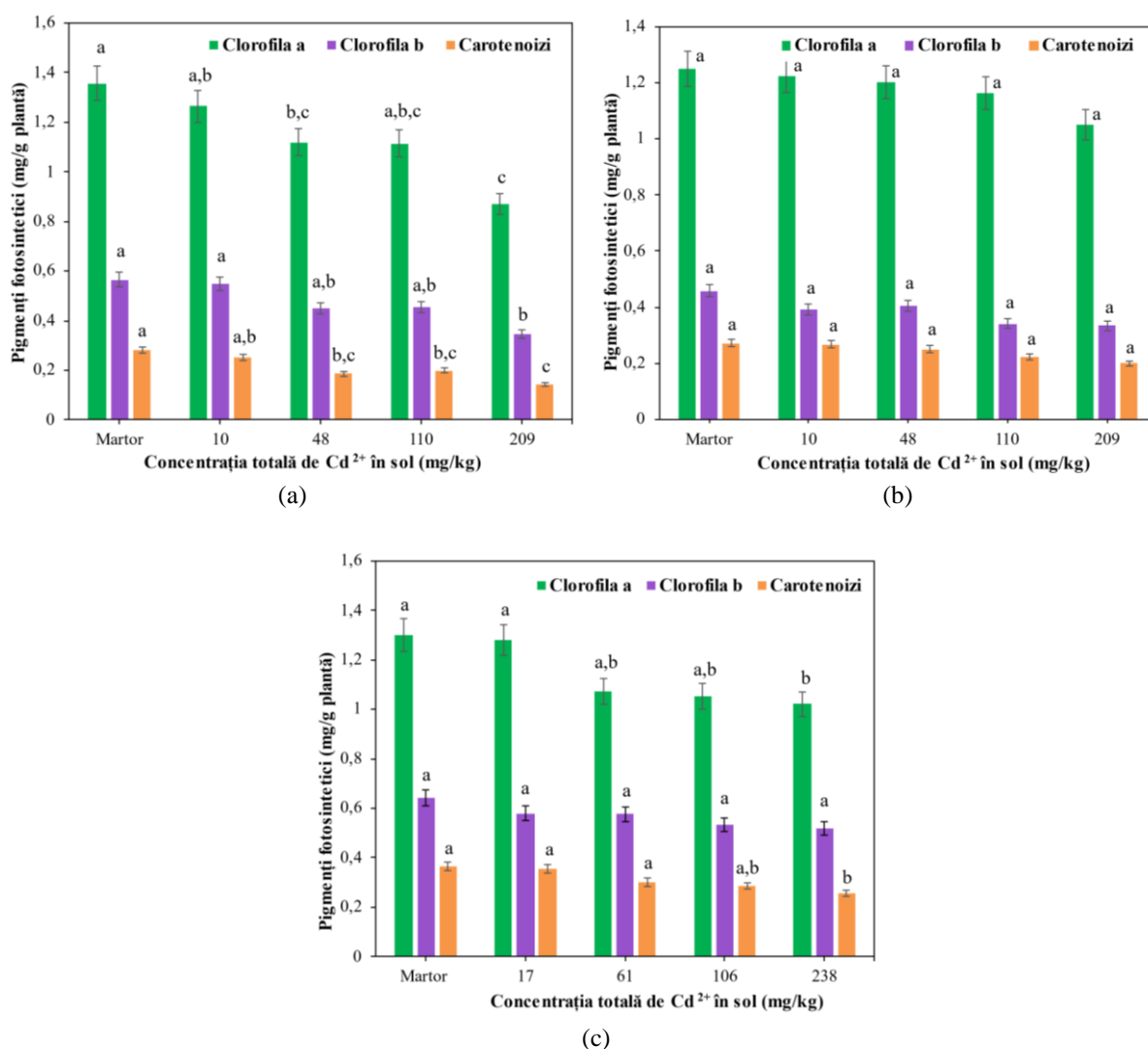
$DF_{nom.}$  = gradul de libertate ale numărătorului;  $DF_{denom.}$  = gradul de libertate ale numitorului;  $STDEV.P$  = Abatererea standard

Aceste valori indică faptul că toate mediile aferente fiecărui nivel al concentrației sunt egale. Mai mult, aplicarea testului Tukey a arătat că nu există medii individuale diferite pentru intervalul 1 - 238 mg/kg a concentrației ionului de Cd în sol, pentru fiecare set de date experimentale (lungime rădăcini și tulpini, respectiv biomasă uscată rădăcini și tulpini).

#### 4.4. Efectele ionilor de cadmiu asupra pigmenților fotosintetici din plantele de muștar alb, rapiță și știr cultivate în sol poluat

În vederea evidențierii efectele concentrațiilor de cadmiu în sol asupra muștarului, rapiței și știrului în Figs. 4.9a-c sunt prezentate conținutul de pigmenți fotosintetici în plante.

Conform rezultatelor prezentate în Fig. 4.9a în cazul muștarului, s-a observat faptul că clorofila *a* fost inhibată între 6,89% și 35,94%, iar clorofila *b* între 3,17% și 39,15%. De asemenea, a fost constatată o reducere și a conținutului de carotenoizi la concentrațiile testate cuprinsă între 10% - 49%. În cazul plantelor de rapiță, conținutul de clorofilă *a* a fost redus cu până la 15,94%, clorofila *b* cu până la 27,06%, iar în cazul carotenoizilor reducerea a fost până la 26,61% comparativ cu proba martor (Fig. 4.9b). Pentru plantele de știr, s-a constatat la cea mai mică concentrație o reducere a clorofilei *a* cu 1,47%, a clorofilei *b* cu 9,74%, iar a carotenoizilor cu 2,15%, pe când la concentrația cea mai mare reducerea fost de 21,44% (clorofila *a*), 19,29% (clorofila *b*) și 30,13% (carotenoizi) comparativ cu martorul (Fig. 4.9c).



**Fig. 4.9.** Efectele ionilor de cadmiu asupra conținutului de clorofila *a*, clorofila *b* și carotenoizi în plantele de: (a) muștar; (b) rapiță; (c) știr (valorile medii urmate de aceeași literă nu sunt semnificativ diferite la nivelul  $p < 0,05$  conform testului Tukey)

#### 4.6. Determinarea eficienței procesului de fitoremediere

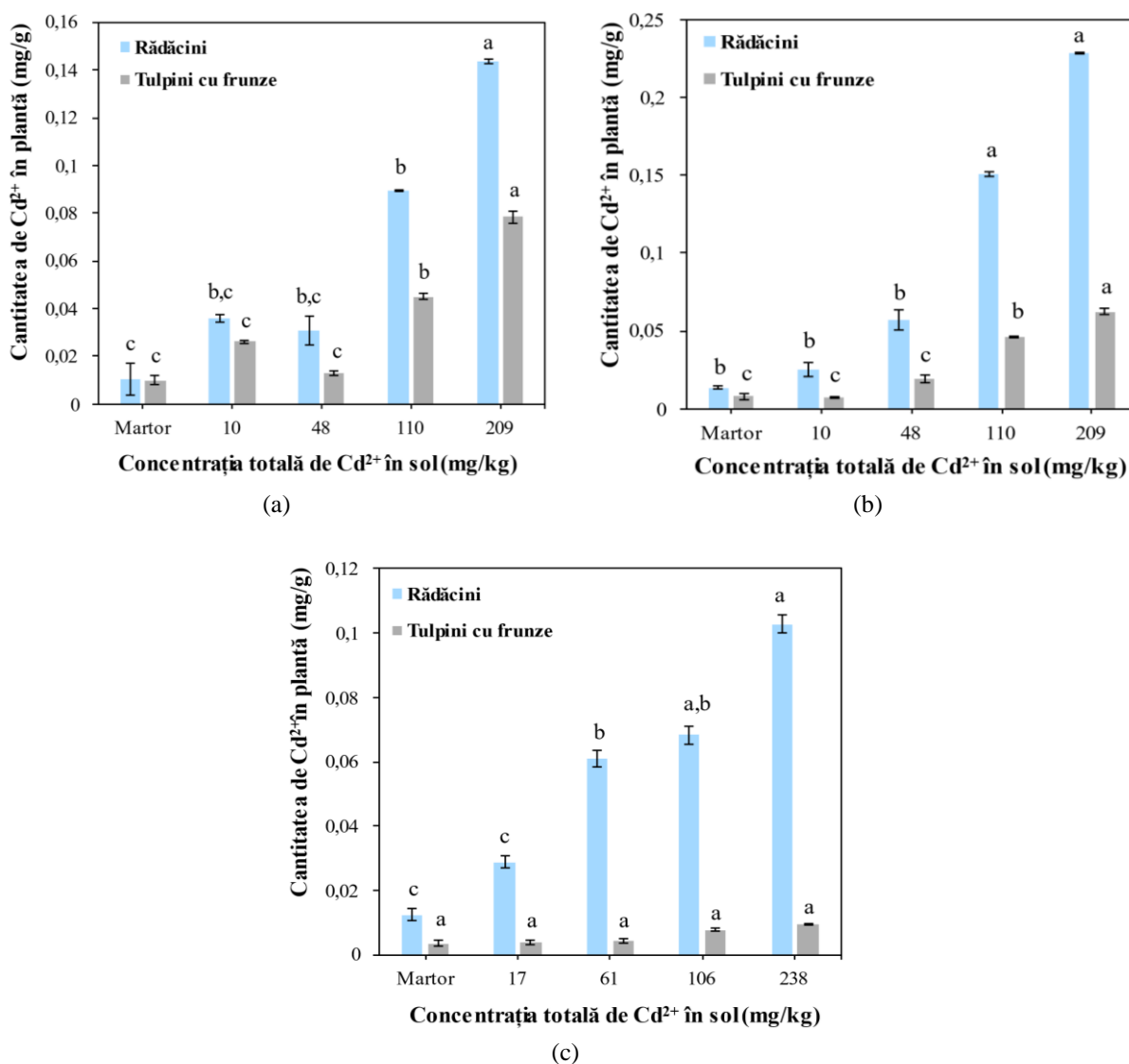
În urma digestiei biomasei uscate a plantelor și analizei probelor cu conținut de metal prin spectrometrie de absorbție atomică, s-au determinat cantitățile de metal din rădăcini și tulpini cu frunze. În Figs. 4.12a-c este reprezentată cantitatea de cadmiu din rădăcinile și tulpinile cu frunze ale muștarului, rapiței și știrului.

Astfel conținutul de cadmiu în rădăcini a fost:

- între 0,010 mg/g de plantă și 0,143 mg/g de plantă (muștar);
- între 0,013 mg/g de plantă și 0,228 mg/g de plantă (rapiță);
- între 0,012 mg/g de plantă și 0,102 mg/g de plantă (știr).

Conținutul de cadmiu în tulpini cu frunze a fost:

- între 0,009 și 0,078 mg/g de plantă (muștar);
- între 0,007 și 0,062 mg/g de plantă (rapiță);
- între 0,003 și 0,009 mg/g de plantă (știr).



**Fig. 4.12.** Conținutul de cadmiu în țesuturile plantelor: (a) muștar; (b) rapiță; (c) știr (Valorile medii urmate de aceeași literă nu sunt semnificativ diferite la nivelul  $p < 0,05$  conform testului Tukey)

*Rezumatul tezei de doctorat:*  
**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU  
 BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE**

Conform rezultatelor obținute, cantitățile de cadmiu din rădăcini sunt mai mari față de cantitățile din tulpini, pentru toate cele 3 plante. Acumularea de cadmiu în plante depinde de diverși factori cum ar fi, concentrațiile de Cd în sol, microorganismele din rizosferă, pH-ul solului, conținutul de materie organică, capacitatea de schimb de cationi, potențialul redox și conținutul de argilă, speciile de plante utilizate, morfologia rădăcinii, timpul de expunere, concentrațiile ionilor metalici, condițiile de creștere (An, 2004; Golda și Korzeniowska, 2016; Rizwan și colab., 2018).

În Tabelul 4.10 sunt prezentate valorile factorilor de translocare, bioconcentrare și bioacumulare calculate cu ajutorul ecuațiilor (2.26 - 2.28), iar pe baza Tabelului 2.7 (Capitolul 2), s-au făcut interpretările factorilor. Conform calculelor efectuate valorile factorilor de bioconcentrare au fost între 0,686 și 10,125 (muștar), 1,091 - 13,310 (rapiță) și 0,431-11,950 (știr). Factorii de translocare au fost între 0,423 - 0,939 (muștar), 0,273 - 0,576 (rapiță), respectiv 0,091 - 0,287 (știr).

**Tabelul 4.10.** Factorii de bioconcentrare (BCF), bioacumulare (BAC) și translocare (TF) pentru plantele de muștar, rapiță și știr

<i>Muștar+Cd<sup>2+</sup></i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	10,125	9,510	0,939	Fitoextracție	Acumulator
10	3,712	2,708	0,729	Fitoextracție	Acumulator
48	0,639	0,270	0,423	Fitostabilizare parțială	Excluder
110	0,816	0,410	0,502	Fitostabilizare parțială	Excluder
209	0,686	0,375	0,547	Fitostabilizare parțială	Excluder
<i>Rapiță+Cd<sup>2+</sup></i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	13,310	7,680	0,576	Fitoextracție	Acumulator
10	2,626	0,771	0,293	Fitostabilizare	Excluder
48	1,185	0,398	0,335	Fitostabilizare	Excluder
110	1,371	0,423	0,308	Fitostabilizare	Excluder
209	1,091	0,298	0,273	Fitostabilizare	Excluder
<i>Știr+Cd<sup>2+</sup></i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF tulpini cu frunze</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	11,950	3,436	0,287	Fitoextracție	Acumulator
17	1,747	0,234	0,134	Fitostabilizare	Excluder
61	1,003	0,071	0,071	Fitostabilizare	Excluder
106	0,647	0,073	0,113	Fitostabilizare parțială	Excluder
238	0,431	0,039	0,091	Potențial de fitostabilizare	Excluder

#### 4.7. Efectele cumulative a ionilor de nichel și cadmiu asupra creșterii și dezvoltării muștarului alb în sol

Poluarea solului cu metale grele nu este adesea cauzată de un singur metal, ci de o varietate de metale grele. Astfel studiile de literatură au arătat că mecanismul de acțiune a poluării combinate este

*Rezumatul tezei de doctorat:*  
**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU  
 BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE**

extrem de complex și de obicei legate de specia și concentrația metalelor grele. Mai mult, interacțiunea dintre două sau mai multe metale grele s-a manifestat ca efect sinergic, aditiv sau antagonist. În prezent, studiile privind chimia solului și fitoremedierea solurilor poluate cu metale grele se concentrează în principal pe un singur metal și doar câteva studii asupra efectului interacțiunii dintre diferite metale asupra eficienței fitoremedierii (Zhang și colab., 2019).

*4.7.3. Efectele cumulative a ionilor de nichel și cadmiu asupra acumulării cadmiului și nichelului în plantele de muștar*

Absorbția/acumularea unui metal poate fi antagonistă sau sinergică cu un alt metal și depinde de disponibilitatea și/sau interacțiunea altor ioni, astfel literatura de specialitate raportează un proces competitiv între metale în ceea ce privește preluarea lor de către plante și translocarea acestora în părțile superioare (Vasile și colab., 2021; Wei și colab., 2005).

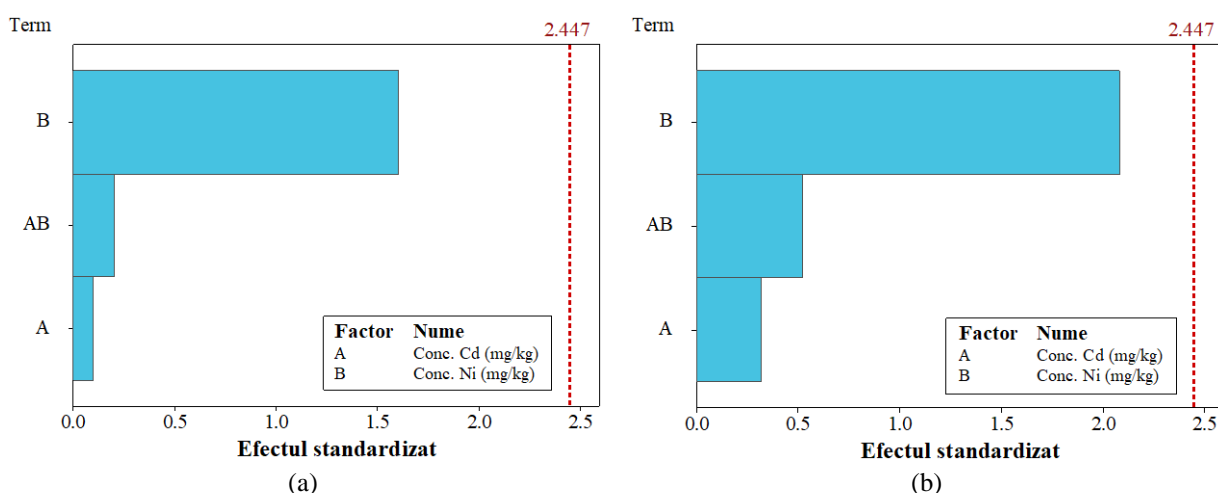
Rezultatele experimentale au arătat că pentru plantele de muștar cantitatea de nichel în rădăcini a fost între 0,055 mg/g de plantă până la 0,172 mg/g de plantă, iar în tulpini cu frunze între 0,023 mg/g de plantă până la 0,067 mg/g de plantă. În ceea ce privește acumularea de cadmiu în rădăcini, acestea a fost între 0,005 mg/g de plantă până la 0,120 mg/g de plantă, iar în tulpini cu frunze a variat între 0,0007 mg/g de plantă până la 0,112 mg/g de plantă (Tabelul 4.17).

**Tabelul 4.17.** Conținutul de nichel și cadmiu în plantele de muștar conform programului central compus

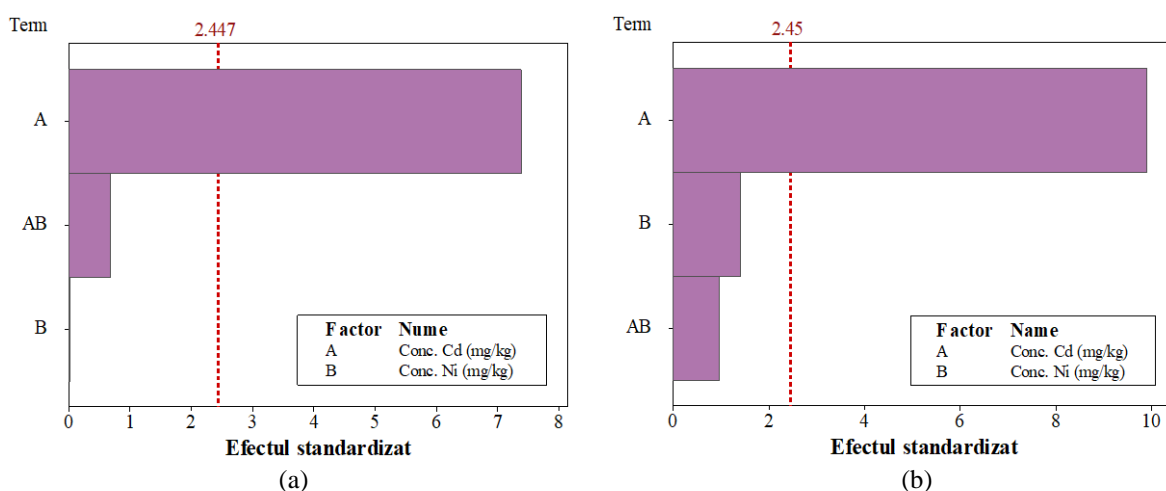
<i>Combi-nații</i>	<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>		<i>Rădăcini (mg/g plantă)</i>		<i>Tulpini cu frunze (mg/g plantă)</i>	
	$Cd^{2+}$	$Ni^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Ni^{2+}$	$Cd^{2+}$	$Ni^{2+}$
Martor	1	16	0,024	0,136	0,0007	0,052
Combi-nația 1	58	270	0,120	0,074	0,067	0,025
Combi-nația 2	33	16	0,075	0,131	0,029	0,054
Combi-nația 3	33	183	0,089	0,055	0,056	0,023
Combi-nația 4	1	183	0,005	0,053	0,009	0,024
Combi-nația 5	8	76	0,024	0,164	0,010	0,067
Combi-nația 6	33	325	0,008	0,084	0,042	0,028
Combi-nația 7	8	270	0,012	0,068	0,0002	0,028
Combi-nația 8	115	183	0,402	0,076	0,112	0,024
Combi-nația 9	58	76	0,114	0,172	0,050	0,067

Pentru o mai bună evidențiere a influenței individuală și combinată a concentrației ionilor de Cd și Ni în sol asupra conținutului de Ni în părțile plantei de muștar, s-a utilizat diagrama Pareto care arată valoarea efectului standardizat aferent fiecărui factor și a combinației dintre aceștia (Fig. 4.21).

Conform acestei diagrame cea mai mare influență o exercită concentrația ionului de Ni, dar din punct de vedere statistic influența exercitată nu este una semnificativă. Conform diagramei Pareto (Fig. 4.22) cea mai mare influență o exercită concentrația ionului de Cd, aceasta fiind semnificativă din punct de vedere statistic.



**Fig. 4.21.** Diagrama Pareto a efectelor standardizate a concentrației totale a ionilor de Ni și Cd în sol asupra conținutului de Ni în (a) rădăcinile și (b) tulpinile cu frunze a plantei de muștar



**Fig. 4.22.** Diagrama Pareto a efectelor standardizate a concentrației totale a ionilor de Ni și Cd în sol asupra conținutului de Cd în (a) rădăcinile și (b) tulpinile cu frunze a plantei de muștar

## CAPITOLUL 5. POTENȚIALUL MICROORGANISMELOR *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* ȘI *Pseudomonas fluorescens* DE A TOLERA ȘI REȚINE IONII DE NICHEL ȘI CADMIU ÎN MEDIUL LICHID

### 5.1. Scopul și importanța cercetării

Scopul acestei cercetări constă în evaluarea potențialul microorganismelor *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* de a tolera și reține ionii de nichel și cadmiu din mediul lichid. Prin înțelegerea mecanismelor implicate în toleranța și retenția acestor metale de către bacterii, se pot dezvolta strategii mai eficiente și sustenabile de remediere a mediilor contaminate.

În acest context, în vederea utilizării microorganismelor selectate în scopul îmbunătățirii procesul de fitoremediere, s-au realizat experimente în medii de cultură lichide (teste de ecotoxicitate) pe

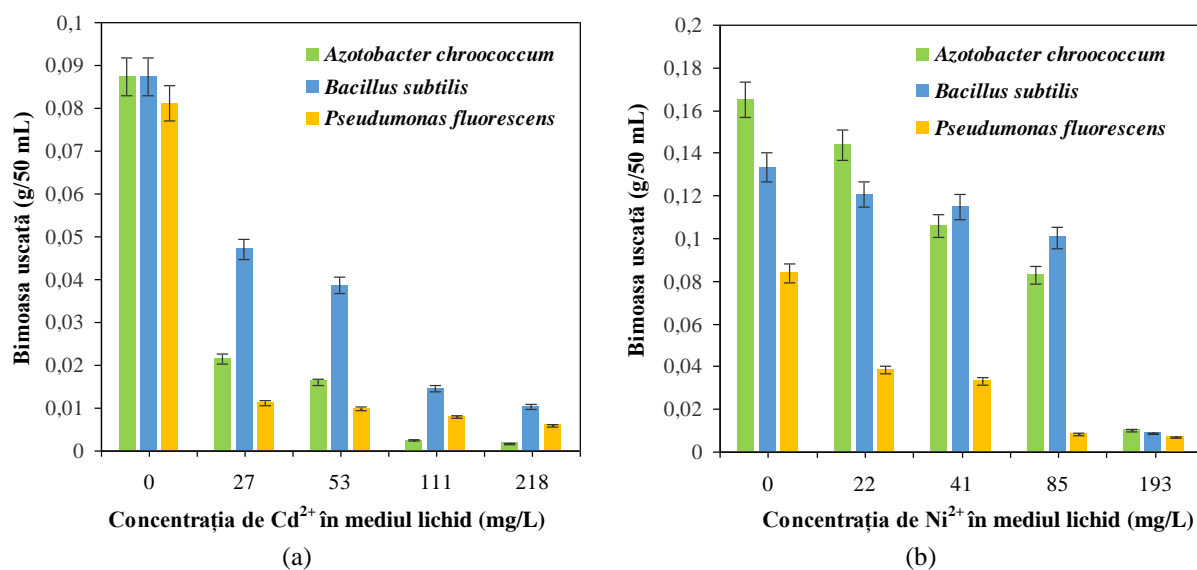
*Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* la diferite concentrații de nichel (22 mg/L - 193 mg/L) și de cadmiu (27 mg/L - 218 mg/L).

Efectele ionilor metalici asupra microorganismelor s-au evaluat atât pe parcursul *perioadei de cultivare* (în dinamică), cât și la *finalul perioadei de dezvoltare* prin *activitatea enzimatică* și *gradul de dezvoltare celulară* (care reflectă efectul toxic al metalului adăugat în mediul de creștere și s-a cuantificat prin determinarea biomasei uscate la finalul procesului, iar pentru analiza în dinamică s-a determinat prin densitatea optică). De asemenea, s-a determinat și capacitatea de reținere a ionilor metalici de către biomasa viabilă a microorganismelor precum și eficiența de reținere a acestora.

#### 5.4. Reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ și $Ni^{2+}$ din soluții apoase de către biomasa viabilă a microorganismelor

Rezultatele privind capacitatea de îndepărtare a ionilor de nichel și cadmiu sunt prezentate în Tabelul 5.1. În cazul reținerii ionilor de cadmiu cea mai mare capacitate de reținere per unitatea de masă de biomasă uscată a avut-o bacteria *Pseudomonas fluorescens* ( $q=181,02$  mg/g), urmată de *Azotobacter chroococcum* ( $q=161,34$  mg/g), și *Bacillus subtilis* ( $q=14,74$  mg/g) la concentrația de 218 mg/L, iar în cazul ionilor de nichel *Bacillus subtilis* a prezentat cea mai mare capacitate de reținere ( $q=288,10$  mg/g), urmată *Pseudomonas fluorescens* ( $q=201,83$  mg/g) și *Azotobacter chroococcum* ( $q=138,39$  mg/g) la concentrația de 193 mg/L.

De asemenea, odată cu creșterea concentrației ionilor metalici în soluție, atât cantitatea de biomasă cât și eficiența procesului a scăzut la toate cele 3 microorganisme (Tabelul 5.1., Fig. 5.11) lucru constatat și în studiile din literatură (Arivalagan și colab., 2014; Oves și colab., 2013).



**Fig. 5.11.** Cantitatea de biomasă uscată a microorganismelor în prezența (a) ionilor de cadmiu și (b) ionilor de nichel la final de proces (\*pentru *B.subtilis* la concentrația de 111 mg Cd<sup>2+</sup>/L și 218 mg Cd<sup>2+</sup>/L este biomasa inoculului)

Conform Fig. 5.11a biomasă a fost inhibată de către ionii de cadmiu între 75,46% - 98,13% (*Azotobacter chroococcum*), 46,23% - 88,13% (*Bacillus subtilis*), 86,14% - 92,77% (*Pseudomonas fluorescens*), iar la ionii de nichel, scăderea biomasei a fost între 12,94% - 93,94% (*Azotobacter chroococcum*), 9,53% - 93,53% (*Bacillus subtilis*), 54,07% - 91,73% (*Pseudomonas fluorescens*) comparativ cu martorul (Fig. 5.11b).



*Rezumatul tezei de doctorat:*  
**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU  
 BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE**

**Tabelul 5.1.** Capacitatea microorganismelor de a reține ionii de nichel și cadmiu de către biomasa viabilă a bacteriilor în mediul lichid

<i>Microorganismele</i>	<i>Capacitatea de reținere (mg/g)</i>							
	<i>Concentrația ionilor de Cd<sup>2+</sup>(mg/L)</i>				<i>Concentrația ionilor de Ni<sup>2+</sup>(mg/L)</i>			
	<i>27</i>	<i>53</i>	<i>111</i>	<i>218</i>	<i>22</i>	<i>41</i>	<i>85</i>	<i>193</i>
<i>Azotobacter chroococcum</i>	6,59	12,69	94,76	161,34	1,95	4,28	9,65	138,39
<i>Bacillus subtilis</i>	5,70	12,95	13,88	14,74	4,49	6,04	10,93	288,10
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	12,16	26,54	68,23	181,02	7,82	16,46	78,89	201,83
	<i>Eficiența de reținere (%)</i>							
<i>Azotobacter chroococcum</i>	10,35	7,67	4,09	2,40	25,00	22,32	18,95	14,35
<i>Bacillus subtilis</i>	19,65	18,80	3,62	1,39	48,28	34,12	26,00	25,74
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10,02	9,82	9,75	9,72	26,83	26,70	15,25	14,48

Eficiența cea mai mare în cazul ionilor de nichel a fost obținută de bacteria *Bacillus subtilis* de 48,28% la concentrația de 22 mg/L, respectiv în cazul ionilor de cadmiu de 19,65% la concentrația de 27 mg/L. Acest lucru se poate explica prin faptul că la concentrații mici sunt suficiente situri de legare ale ionilor metalici de peretele celular al microorganismelor, ceea ce a dus la o eficiență ridicată a eliminării (Li și colab., 2018b).

## CAPITOLUL 6.

### STUDIUL INTERACȚIUNILOR DINTRE PLANTE ȘI MICROORGANISME ÎNTR-UN SOL POLUAT CU IONII DE NICHEL

#### 6.1. Scopul și importanța cercetării

Studiul interacțiunilor dintre plante și microorganisme într-un sol poluat cu ioni de nichel reprezintă un subiect de cercetare extrem de important și relevant în contextul problemei globale a poluării solului cu metale grele. Scopul acestei cercetări este de a înțelege mecanismele moleculare și fiziologice implicate în aceste interacțiuni și de a evalua potențialul acestora în fitoremedierea solurilor contaminate.

Bacteriile care promovează creșterea plantelor (Plant Growth Promoting Bacteria - PGPB) pot stimula creșterea și dezvoltarea plantelor fie direct prin producerea fitohormonilor, fixarea azotului, solubilizarea fosforului, producerea de siderofori, fie indirect prin producerea de enzime litice și compuși antibacterieni în vederea protejării plantelor împotriva agenților patogeni (Minuț și colab., 2020; Tirry și colab., 2018).

În acest context, în vederea îndeplinirii obiectivului principal al tezei de doctorat și anume de a studia interacțiunile dintre plante și microorganisme în vederea îmbunătățirii procesului de fitoremediere a unui sol poluat cu ionii de nichel, speciile *A. chroococcum*, *B. subtilis* și *P. fluorescens* au fost izolate din zona rizosferică a plantelor de fasole (*Phaseolus vulgaris*) și utilizate ca bacterii favorizante de creștere a plantelor selecționate. Astfel au fost realizate o serie de experimente:

- experimente în sol steril și nesteril a plantelor inoculate cu *A. chroococcum*, *B. subtilis* și *P. fluorescens* și neinoculate crescute în absența metalelor în vederea alegerii tipului de sol ulterior;

- experimente în sol steril poluat artificial cu ionii de nichel la diferite concentrații (36 mg/kg - 166 mg/kg). Aceste experimente au vizat efectele microorganismelor asupra creșterii și dezvoltării plantelor de *Sinapis alba* L. și *Amaranthus retroflexus* L. aflate sub stresul ionilor de nichel prin identificarea **efectelor morfologice** (creșterea în lungime a rădăcinilor și tulpinilor plantelor, numărul de frunze, lungimea și lățimea frunzelor a 3a și a 4a, cantitatea de biomasă uscată), **efectelor fiziologice** (pigmenții fotosintetici), **efectelor biochimice** (producerea de siderofori), precum și **bioacumularea ionilor de nichel** în țesuturile plantelor inoculate și neinoculate.

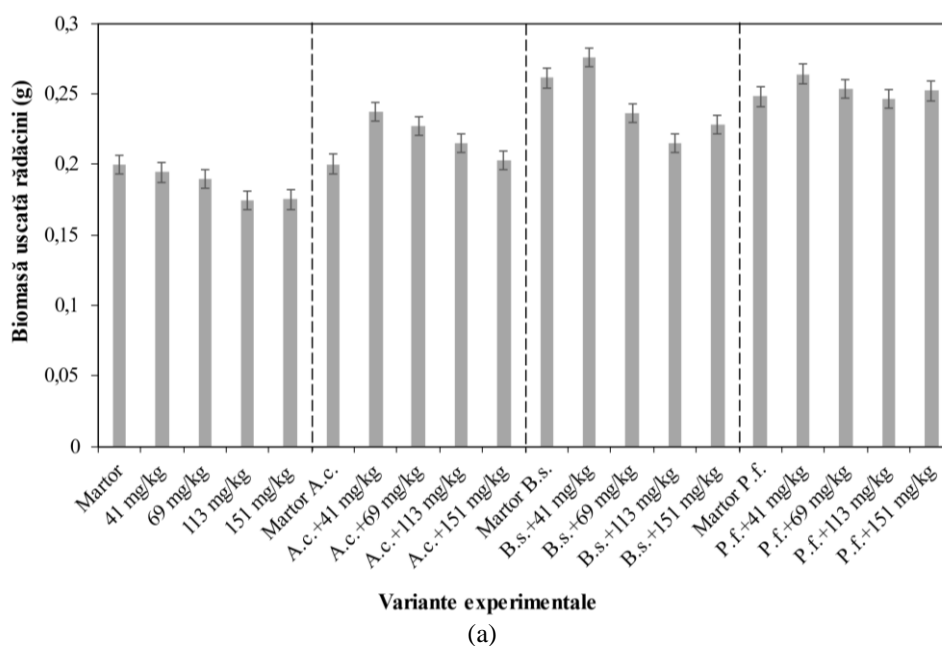
În vederea evaluării amplitudinii efectelor induse de speciile *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* și variația concentrației ionilor de Ni în sol asupra lungimii rădăcinii, tulpinii precum și a biomasei uscate uscate a fost aplicată analiza varianței (ANOVA) unidirecțională, iar mediile aferente fiecărei concentrații au fost comparate cu testul Tukey. Datele au fost testate la nivelul de semnificație  $\alpha$  de 0,05.

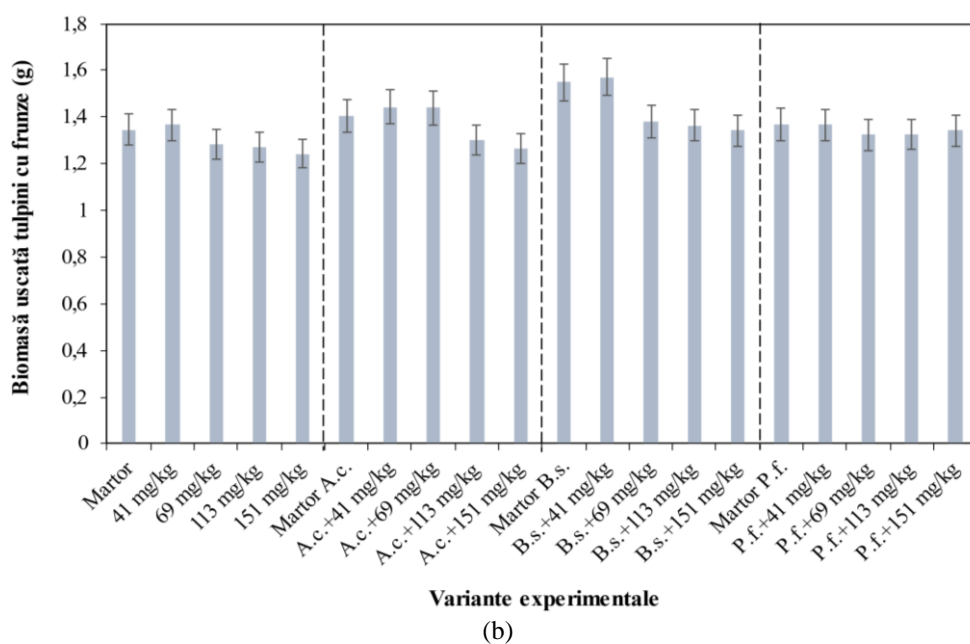
## **6.2. Efectele bacteriilor *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* asupra creșterii și dezvoltării plantelor în solul poluat cu ionii de nichel**

### *6.2.2. Efectele bacteriilor asupra creșterii și dezvoltării plantei de muștar alb în solul poluat cu ionii de nichel*

De asemenea, muștarul a fost crescut și în condiții de seră timp de 38 de zile, iar concentrațiile reale de nichel în sol au fost cuprinse între 41 mg/kg - 151 mg/kg. În Fig. 6.10 este reprezentată cantitatea de biomasă uscată a plantelor inoculate și neinoculate cultivate în prezența ionilor de nichel. Conform rezultatelor, s-a constatat faptul că prezența microorganismelor a condus la creșterea cantității de biomasă obținută față de probele poluate neinoculate.

Pentru probele martor, biomasă uscată a rădăcinilor și tulpinilor cu frunze a fost mai mare față de proba martor neinoculată cu 0,17%, respectiv 4,27% pentru specia *A. chroococcum*, 30,71%, respectiv 14,99% pentru specia *B. subtilis* și 24,71%, respectiv 1,60% pentru specia *P. fluorescens*.





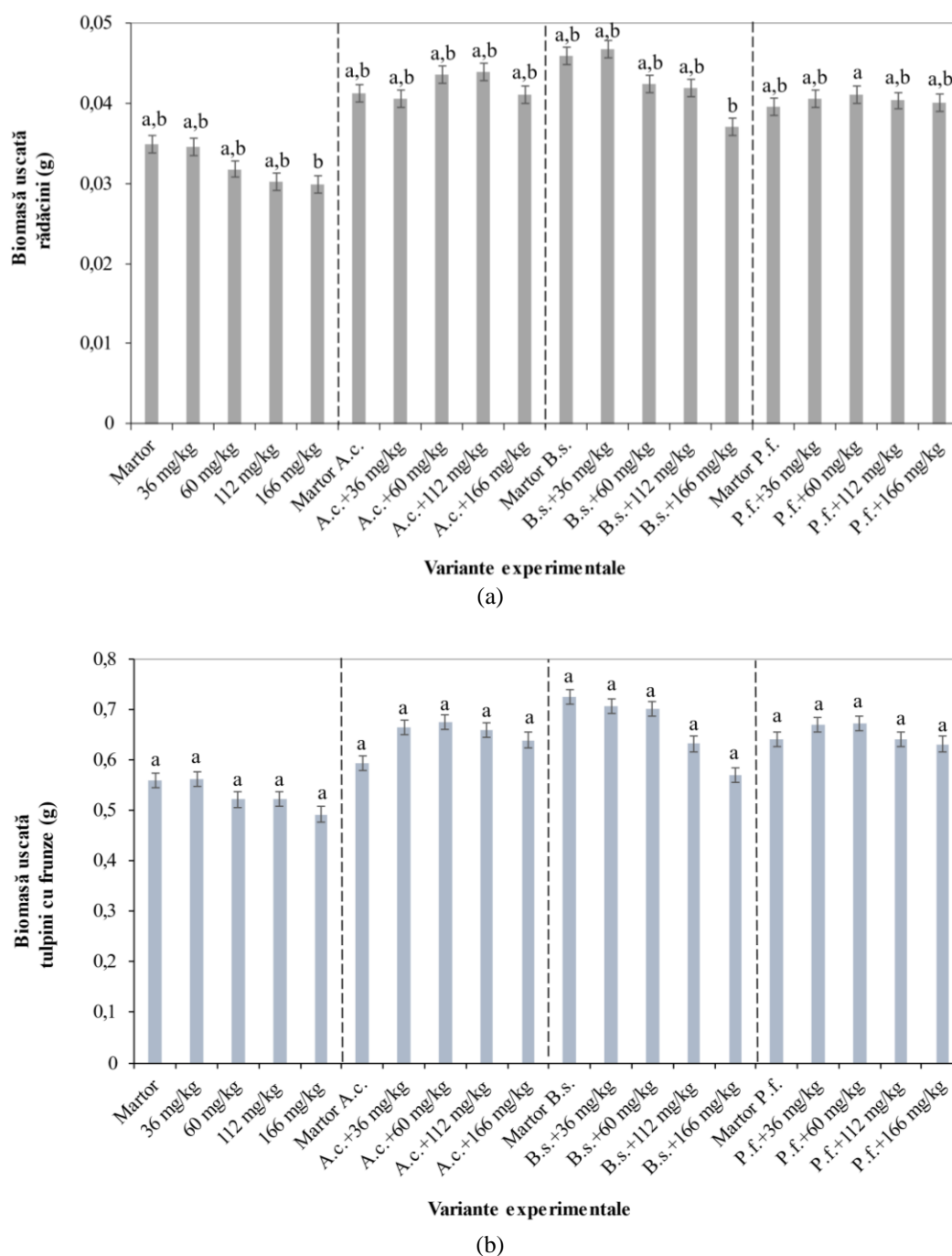
**Fig. 6.10.** Cantitatea de biomasă uscată a muștarului crescut în prezența și absența microorganismelor: (a) rădăcini; (b) tulpini cu frunze

În cazul plantelor inoculate cu *A. chroococcum* și poluate cu diferite concentrații de nichel (41 mg/kg - 151 mg/kg) cantitatea de biomasă uscată a fost mai multă de la 15,96% până la 23,41% comparativ cu probele neinoculate în cazul rădăcinilor, iar în cazul tulpinilor cu frunze biomasă a fost mai mare de la 2,03% până la 12,28%. În privința probelor în care a fost prezentă bacteria *P. fluorescens*, cantitatea de biomasă a fost mai mare de la 35,94% până la 43,97% (rădăcini), 3,37% - 7,98% (tulpini cu frunze). Pentru bacteria *B. subtilis*, cantitatea de biomasă a fost mai mare cu 23,52% până la 41,91% (rădăcini), iar în cazul tulpinilor cu frunze între 7,14% și 14,95% comparativ cu probele neinoculate.

### 6.2.3. Efectele bacteriilor asupra creșterii și dezvoltării plantei de știr în solul poluat cu ionii de nichel

Efectele PGPB-urilor asupra creșterii plantelor au fost determinate și prin cântărirea biomasei plantelor (Garcia-Lemos și colab., 2020). În Fig. 6.13a-b este reprezentată cantitatea de biomasă uscată a plantelor inoculate și neinoculate cultivate în prezența ionilor de nichel.

Conform rezultatelor, s-a constatat faptul că prezența microorganismelor a condus la creșterea cantității de biomasă obținută față de probele poluate neinoculate. La probele martor, biomasă uscată a rădăcinilor și tulpinilor cu frunze a fost mai mare față de proba martor neinoculată cu 18,08%, respectiv 5,93% la specia *A. chroococcum*, 31,57%, respectiv 29,38% la specia *B. subtilis* și 13,22%, respectiv 14,51% la specia *P. fluorescens*. În cazul plantelor inoculate cu *A. chroococcum* și poluate cu diferite concentrații de nichel (36 mg/kg - 166 mg/kg), cantitatea de biomasă uscată a fost mai mare de la 17,46% până la 45,29% comparativ cu probele neinoculate în cazul rădăcinilor, iar în cazul tulpinilor cu frunze biomasă a fost mai mare cu 17,92% până la 29,91%. În privința probelor în care a fost prezentă bacteria *B. subtilis*, cantitatea de biomasă a fost mai mare de la 24,17% până la 38,52% (rădăcini), 15,71% - 34,52% (tulpini cu frunze). Bacteria *P. fluorescens* a prezentat cea mai mare influență benefică asupra biomasei uscate atât a rădăcinilor cât și a tulpinilor cu frunze, astfel cantitatea de biomasă a fost mai mare cu 17,65% până la 34,20% (rădăcini), iar în cazul tulpinilor cu frunze între 19,05% și 28,98% comparativ cu probele neinoculate.

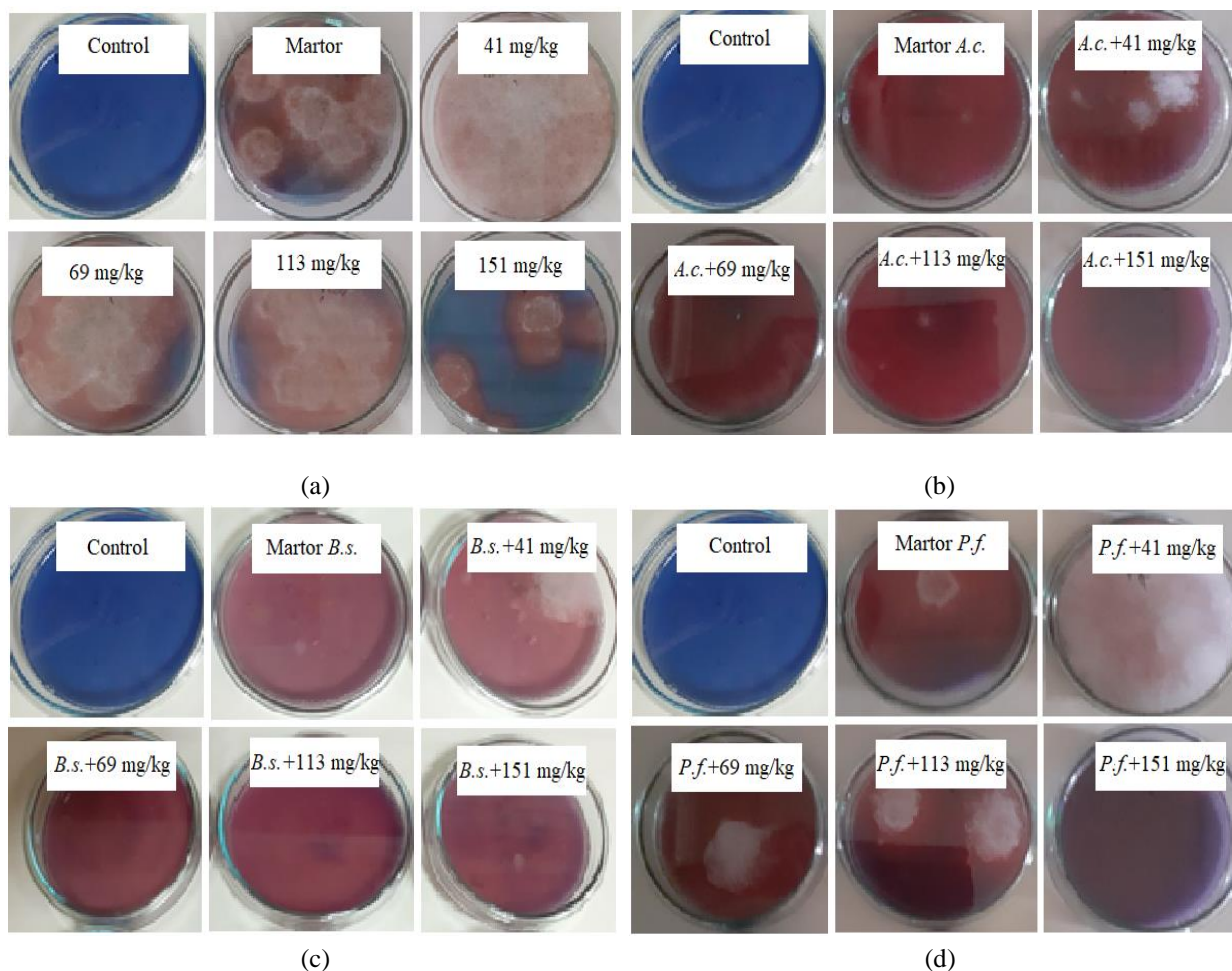


**Fig. 6.13.** Cantitatea de biomasă uscată a știrului crescut în prezența și absența microorganismelor: (a) rădăcini; (b) tulpini cu frunze (Valorile medii urmate de aceeași literă nu sunt semnificativ diferite la nivelul  $p < 0,05$  conform testului Tukey)

Aplicarea testului Tukey datelor experimentale a evidențiat că diferențe semnificative între mediile variantelor experimentale au fost doar în cazul biomasei uscate a rădăcinilor. S-a constatat că mediile aferente variantelor 166 mg/kg Ni și 166 mg/kg Ni + *B. subtilis* au fost semnificativ diferite față de media variantei experimentale 60 mg/kg Ni + *P. fluorescens*.

#### **6.4. Efectele ionilor de nichel asupra producerii de siderofori din zona rizosferică a plantelor de muștar**

În Fig. 6.16 sunt prezentate fotografiile realizate privind sinteza de siderofori din soluțiile de sol din rizosfera plantelor de muștar neinoculate și inoculate cu cele 3 bacterii din punct de vedere calitativ. Conform pozelor se poate observa faptul că în prezența bacteriilor cu *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* prezența sideroforilor este în număr mai mare comparativ cu plantele neinoculate lucru confirmat de culoarea roz.

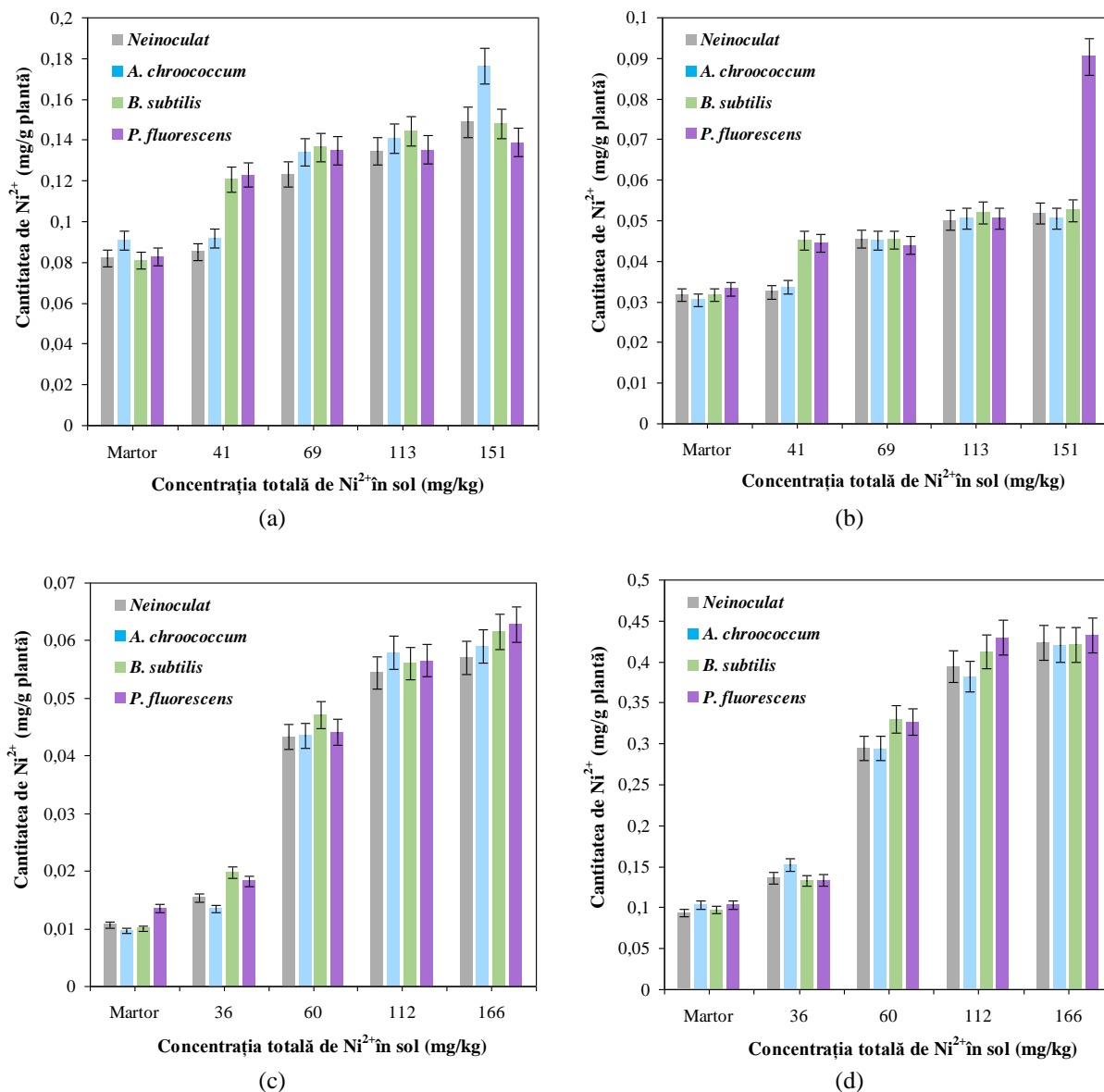


**Fig. 6.16.** Determinarea calitativă a sideroforilor din soluții de sol din rizosfera plantelor de muștar cultivate în prezența ionilor de nichel (a) plantele neinoculate; (b) plantele inoculate cu *Azotobacter chroococcum*; (c) plantele inoculate cu *Bacillus subtilis*; (d) plantele inoculate cu *Pseudomonas fluorescens*

#### **6.6. Determinarea eficienței procesului de fitoremediere**

Cantitatea de  $\text{Ni}^{2+}$  acumulată în părțile plantelor de muștar și știr este reprezentat în Figs. 6.20a-d, astfel aceasta a crescut odată cu creșterea concentrației de nichel în sol. Conform rezultatelor pentru **plantele de muștar**, la probele martor, cantitatea de nichel în rădăcini a fost mai mare cu 10,33% (rădăcinile plantelor inoculate cu *A. chroococcum*), respectiv 0,77% și 4,67% pentru rădăcinile și tulpinile cu frunze ale plantelor inoculate cu *P. fluorescens*, comparativ cu proba martor neinoculată. Pentru probele poluate artificial inoculate cu cele 3 bacterii comparativ cu probele poluate artificial neinoculate s-a observat:

- în prezența bacteriei *A. chroococcum*, cantitatea de nichel din rădăcini a fost mai mare cu până la 18,52%, iar la tulpini cu frunze până la 3,76%;
- în prezența bacteriei *B. subtilis*, cantitatea de nichel din rădăcini a fost mai mare până la 41,67%, iar la tulpini cu frunze până la 39,37%;
- în prezența bacteriei *P. fluorescens*, cantitatea de nichel din rădăcini a fost mai mare până la 44,44%, iar la tulpini cu frunze până la 74,60%.



**Fig. 6.20.** Conținutul de nichel în țesuturile plantelor de muștar neinoculate și inoculate (a) rădăcini; (b) tulpini cu frunze și în țesuturile plantelor de știr neinoculate și inoculate (c) rădăcini (d) tulpini cu frunze

De asemenea, pentru **plantele de știr**, la probele martor, cantitatea de nichel în rădăcini a fost mai mare cu 10,86% (rădăcinile plantelor inoculate cu *A. chroococcum*), 4,50% (rădăcinile plantelor inoculate cu *B. subtilis*), respectiv 10,92% și 27,54% la rădăcinile și tulpinile cu frunze ale plantelor inoculate cu *P. fluorescens*, comparativ cu proba martor neinoculată.

Pentru probele poluate artificial cu cele 3 bacterii comparativ cu probele poluate artificial neinoculate s-a observat:

*Rezumatul tezei de doctorat:*  
**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU  
 BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE**

- în prezența bacteriei *A. chroococcum*, cantitatea de nichel din rădăcini a fost mai mare până la 11,95%, iar la tulpini cu frunze până la 6,37%;
- în prezența bacteriei *B. subtilis*, cantitatea de nichel din rădăcini a fost mai mare până la 11,90%, iar la tulpini cu frunze până la 28,67%;
- în prezența bacteriei *P. fluorescens*, cantitatea de nichel din rădăcini a fost mai mare cu până la 10,61%, iar la tulpini cu frunze până la 19,45%.

Determinările concentrației ionilor de nichel în țesuturile plantelor și în sol au fost utilizate pentru a calcula factorul de translocare (TF), factorul de bioconcentrare (BCF), și factorul de bioacumulare (BAC) (Ma și colab., 2015). În Tabelele 6.6 și 6.7. sunt prezentate valorile factorilor de translocare, bioconcentrare și bioacumulare calculate cu ajutorul ecuațiilor (2.26-2.28), iar pe baza Tabelului 2.7 (Capitolul 2), s-au făcut interpretările valorilor factorilor obținuți.

**Tabelul 6.6.** Factorii de bioconcentrare (BCF), bioacumulare (BAC) și translocare (TF) ale plantelor de muștar crescute în prezența și absența microorganismelor

<i>Muștar+Ni<sup>2+</sup></i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	5,121	1,976	0,385	Fitoextracție	Acumulator
41	2,064	0,784	0,380	Fitostabilizare	Excluder
69	1,778	0,654	0,368	Fitostabilizare	Excluder
113	1,188	0,442	0,372	Fitostabilizare	Excluder
151	0,986	0,343	0,347	Fitostabilizare parțială	Excluder
<i>Ni<sup>2+</sup>+ Muștar+ A. chroococcum</i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	5,650	1,899	0,336	Fitoextracție	Acumulator
41	2,222	0,814	0,366	Fitostabilizare	Excluder
69	1,934	0,649	0,335	Fitostabilizare	Excluder
113	1,244	0,447	0,359	Fitostabilizare	Excluder
151	1,168	0,334	0,286	Fitostabilizare	Excluder
<i>Ni<sup>2+</sup>+ Muștar+ B. subtilis</i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	5,044	1,974	0,391	Fitoextracție	Acumulator
41	2,924	1,093	0,374	Fitoextracție	Acumulator
69	1,966	0,652	0,331	Fitostabilizare	Excluder
113	1,277	0,459	0,359	Fitostabilizare	Excluder
151	0,979	0,347	0,354	Fitostabilizare parțială	Excluder
<i>Ni<sup>2+</sup>+ Muștar+ P. fluorescens</i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	5,160	2,068	0,400	Fitoextracție	Acumulator
41	2,981	1,078	0,361	Fitoextracție	Acumulator
69	1,943	0,632	0,325	Fitostabilizare	Excluder
113	1,196	0,446	0,373	Fitostabilizare	Excluder
151	0,920	0,599	0,650	Fitostabilizare parțială	Excluder

*Rezumatul tezei de doctorat:*  
**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU  
 BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE**

**Tabelul 6.7.** Factorii de bioconcentrare (BCF), bioacumulare (BAC) și translocare (TF) ale plantelor de știr crescute în prezența și absența microorganismelor

<i>Știr+Ni<sup>2+</sup></i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	5,804	0,661	0,114	Fitostabilizare	Excluder
36	3,743	0,421	0,112	Fitostabilizare	Excluder
60	4,937	0,725	0,146	Fitostabilizare	Excluder
112	3,521	0,485	0,137	Fitostabilizare	Excluder
166	2,548	0,343	0,134	Fitostabilizare	Excluder
<i>Ni<sup>2+</sup>+Știr+ A. chroococcum</i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	6,434	0,599	0,093	Fitostabilizare	Excluder
36	4,190	0,370	0,088	Fitostabilizare	Excluder
60	4,928	0,726	0,147	Fitostabilizare	Excluder
112	3,410	0,516	0,151	Fitostabilizare	Excluder
166	2,530	0,354	0,140	Fitostabilizare	Excluder
<i>Ni<sup>2+</sup>+Știr+ B. subtilis</i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	6,065	0,626	0,103	Fitostabilizare	Excluder
36	3,643	0,542	0,148	Fitostabilizare	Excluder
60	5,525	0,787	0,142	Fitostabilizare	Excluder
112	3,679	0,500	0,136	Fitostabilizare	Excluder
166	2,533	0,370	0,146	Fitostabilizare	Excluder
<i>Ni<sup>2+</sup>+Știr+ P. fluorescens</i>					
<i>Concentrația totală în sol (mg/kg)</i>	<i>BCF</i>	<i>BAC tulpini cu frunze</i>	<i>TF</i>	<i>Principalul mecanism</i>	<i>Clasificarea plantelor</i>
Martor	6,438	0,844	0,131	Fitostabilizare	Excluder
36	3,670	0,503	0,137	Fitostabilizare	Excluder
60	5,461	0,737	0,135	Fitostabilizare	Excluder
112	3,835	0,505	0,131	Fitostabilizare	Excluder
166	2,602	0,378	0,145	Fitostabilizare	Excluder

## CONCLUZII GENERALE

Pentru exploatarea și stabilirea potențialului plantelor pentru fitoremediere a fost necesară realizarea de experimente la nivel de laborator în vederea colectării de date, stabilirea condițiilor optime, și modelării rezultatelor în vederea transpunerii la scară largă.

Prezenta teză de doctorat intitulată “**EXPLOATAREA POTENȚIALULUI UNOR PLANTE ȘI MICROORGANISME PENTRU BIOREMEDIEREA MEDIULUI POLUAT CU METALE GRELE**” are ca obiectiv principal eliminarea ionilor metalelor grele Ni<sup>2+</sup> și Cd<sup>2+</sup> din soluri poluate prin fitoremediere, utilizând muștarul alb (*Sinapis alba* L.), rapița (*Brassica napus* L.) și știrul



(*Amaranthus retroflexus* L.) ca plante acumulative, fie individual, fie în asociere sinergică cu microorganismele *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* în vederea îmbunătățirii eficienței procesului de fitoremediere.

▪ **În final**, având în vedere toate cele prezentate se poate concluziona faptul că cele 3 plante prezintă o toleranță moderată la concentrațiile mai mari spre ridicată la concentrațiile mai mici atât din punct de vedere morfologic, fiziologic și biochimic în prezența ionilor de  $Ni^{2+}$  și  $Cd^{2+}$ . De asemenea:

- **Muștarul** este o plantă acumulative de cadmiu până la concentrația de 10 mg/kg și fitostabilizatoare la celelalte concentrații precum și în cazul ionilor de nichel.
- **Rapița** este fitostabilizatoare pentru nichel la concentrațiile cele mai mici și prezintă un potențial ridicat de fitostabilizare la concentrațiile cele mai mari, acumulative de cadmiu la concentrația de 1 mg/kg și fitostabilizatoare la celelalte concentrații.
- **Știrul** este acumulative de cadmiu la concentrația de 1 mg/kg și fitostabilizatoare la celelalte concentrații și prezintă un potențial ridicat de fitostabilizare pentru ionii de nichel.

▪ **În cazul experimentelor privind studiul interacțiunilor dintre plante și microorganisme** rezultatele au arătat o îmbunătățire considerabilă a plantelor inoculate din punct de vedere morfologic, fiziologic și biochimic. Mai mult, în privința potențialului de fitoremediere, cantitățile de ioni de nichel au fost mai mari în rădăcinile și tulpinile cu frunze ale muștarului și știrului în prezența celor 3 bacterii comparativ cu probele neinoculate, iar indicatorii utilizați pentru stabilirea potențialului de fitoremediere au arătat în cazul muștarului că la variantele experimentale  $Ni^{2+} + Muștar + Pseudomonas fluorescens$  și  $Ni^{2+} + Muștar + Bacillus subtilis$  până la concentrația de 41 mg/kg Ni în sol, muștarul este o plantă acumulative.

▪ **Din punct de vedere statistic**, variația ionilor metalici în sol nu are în general efecte semnificative asupra parametrilor morfologici și fiziologici, dar are efect semnificativ asupra capacității de acumulare a acestora în părțile plantelor (rădăcini, tulpini cu frunze). Analiza de regresie aplicată datelor experimentale a arătat că în general relația dintre concentrația ionilor de nichel sau de cadmiu în sol și conținutul lor în plantă este o relație matematică de ordin I (liniară). Experimentele realizate după programul central compus au arătat că nichelul în combinație cu cadmiul în domeniul de variație al ionilor de Ni între 16 și 325 mg/kg și cel al ionilor de Cd între 1 și 115 mg/kg nu prezintă efecte semnificative asupra parametrilor morfologici ai muștarului. Modelarea datelor experimentale prin Metodologia Suprafeței de Răspuns a arătat că muștarul alb sub acțiunea cumulativă a celor doi ioni are capacitatea de a acumula mai mult ioni de cadmiu decât cei de nichel.

**Rezultatele obținute în teza de doctorat constituie baza științifică pentru evaluarea fezabilității tehnice și a protecției mediului prin procesul de fitoremediere a solurilor poluate cu ionii de  $Ni^{2+}$  și  $Cd^{2+}$  utilizând plantele *Sinapis alba* L., *Brassica napus* L. și *Amaranthus retroflexus* L. și a bacteriilor benefice din sol *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens* în vederea îmbunătățirii procesului de fitoremediere.**

**Cercetarea realizată în teza de doctorat aduce o serie de elemente originale precum:**

✓ realizarea de experimente pe soluri contaminate artificial cu ionii de  $Ni^{2+}$  și  $Cd^{2+}$  în vederea identificării potențialului plantelor de muștar, rapiță și știr pentru fitoremediere în condițiile de mediu din România;

✓ aplicarea metodei de fitoremediere la nivel de laborator prin realizarea unor variante experimentale multiple și utilizarea microorganismelor *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* și

*Pseudomonas fluorescens* în vederea îmbunătățirii creșterii și dezvoltării plantelor precum și creșterii absorbției ionilor metalici în țesuturile plantelor;

✓ analiza performanțelor plantelor utilizate în studiile experimentale prin determinarea efectelor din punct de vedere morfologic, fiziologic, biochimic;

✓ analiza potențialul plantelor de a fi utilizate ca plante hiperacumulatoare, acumulatoare, indicatoare sau non-acumulatoare;

✓ rezultatele experimentale oferă o bază științifică solidă privind capacitatea, comportamentul și potențialul de fitoremediere a muștarului, rapiței și știrului în prezența ionilor de Ni<sup>2+</sup> și Cd<sup>2+</sup> la nivelul României în vederea transpunerii la scară largă (experimente în câmp deschis);

✓ studiul interacțiunilor dintre plante și cele trei bacterii oferă o mai bună înțelegere a eficienței bacteriilor asupra fitoremedierii precum și importanța alegerii bacteriilor potrivite în vederea creșterii plantelor, protejării împotriva toxicității metalelor precum și creșterii conținutului de metal în țesuturile plantelor;

✓ modelarea empirică a rezultatelor experimentale prin utilizarea diferitelor metode de analiză statistică.

**În urma realizării prezentei teze de doctorat se conturează următoarele direcții de cercetare viitoare:**

- studiul efectelor potențiale ale fitoremedierii prin cicluri repetate pe același sol poluat în vederea stabilirii unei mai bune corelații între eliminarea metalelor grele din sol și concentrația ionilor metalici în diferite părți ale plantelor;
- efectuarea de studii experimentale în câmp care vizează monitorizarea și urmărirea plantelor până la maturitate precum și a efectelor ionilor metalici și a factorilor limitativi în timpul procesului de fitoremediere;
- realizarea de acțiuni de informare pentru publicul larg privind impactul metalelor grele asupra sănătății umane și exploatarea siturilor poluate cu diferiți ioni metalici precum și soluțiile privind păstrarea și conservarea unui sol sănătos și nepoluat.

**Eliminarea biomasei plantelor recoltate cu conținut de metale grele** se poate realiza prin mai multe metode cum ar fi **incinerarea, gazeificarea, piroliza, compactarea și compostarea**. Incinerarea biomasei reprezintă cea mai utilizată metodă astfel cenușa rezultată poate fi depozitată în condiții controlate, fie poate fi prelucrată în vederea recuperării metalelor grele cu interes comercial ridicat (fitomining).

## **BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ**

- Ahmed E., Holmström S.J.M., (2014), Siderophores in environmental research: roles and applications, *Microbial Biotechnology*, **7**, 196-208.
- Al-Gheethi A., Mohamed R., Noman E., Ismail N., Kadir O.A., (2017), Removal of heavy metal ions from aqueous solutions using *Bacillus subtilis* biomass pre-treated by supercritical carbon dioxide, *CLEAN - Soil, Air, Water*, **45**, 1700356, <https://doi.org/10.1002/clen.201700356>.
- An Y.J., (2004), Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants, *Environmental Pollution*, **127**, 21-26.
- Arivalagan P., Singaraj D., Haridass V., Kaliannan T.,(2018), Removal of cadmium from aqueous solution by batch studies using *Bacillus cereus*, *Ecological Engineering*, **71**, 728-735

- Arora V., Khosla B., (2021), *Conventional and Contemporary Techniques for Removal of Heavy Metals from Soil*, doi: 10.5772/intechopen.98569.
- Ashraf S., Ali Q., Zahira Z.A., Ashraf S., Asghara H.N., (2019), Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **174**, 714-727.
- ATSDR, (2023), ATSDR's Substance Priority List, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Online la: <https://www.atsdr.cdc.gov/SPL/#2022spl>.
- Axinte M., Borcean I., Roman G.V., Muntean M.S., (2006), *Fitotehnie*, Ediția a IV-A, Editura "Ion Ionescu de la Brad", Iasi.
- Banerjee A., Supakar S., Banerjee R., (2014), Melanin from the nitrogen-fixing *Bacterium Azotobacter chroococcum*: A spectroscopic characterization, *PLoS ONE*, **9**, 84574, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084574>.
- Bhalerao S.A., Amit S., Sharma A.S., Anukthi C., Poojari A.C., (2015), Toxicity of nickel in plants, *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, **3**, 345-355.
- Birke M., Reimann C., Oorts K., Rauch U., Demetriades A., Dinelli E., Ladenberger A., Halamić J., Gosar M., Jähne-Klingberg F., (2016), Use of GEMAS data for risk assessment of cadmium in European agricultural and grazing land soil under the REACH Regulation, *Applied Geochemistry*, **74**, 109-121.
- Bisset K.A., Baird-Parker A.C., Hale C.M.F., Jeynes M.H, Lawrence J.C., (1957), The production of gram-positive variants by *Azotobacter chroococcum* free, <https://doi.org/10.1099/00221287-16-3-572>.
- Bisset K.A., Hale C.M., (1956), A comparison of the staining reactions of the cell walls of *Azotobacter chroococcum* and those of gram-positive and gram-negative bacteria, *The Journal of General Microbiology*, **15**, 423-427.
- Bortolini G.A., Baron D., (2022), Phytoremediation of toxic heavy metals by *Brassica* plants: A biochemical and physiological approach, *Environmental Advances*, **8**, 100204, <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100204>.
- Chandra R., Dubey N.K., Kumar V., (2017), *Phytoremediation of Environmental Pollutants*. CRC Press, Boca Raton, doi:10.4324/9781315161549.
- Cristaldi A., Conti G.O., Jho E.H., Zuccarello P., Grasso A., Copat C., Ferrante M., (2017), Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review, *Environmental Technology & Innovation*, **8**, 309-326.
- Das K.K., Reddy R.C., Bagoji I.B., Das S., Bagali S., Mullur L., Khodnapur J.P., Biradar M.S., (2018), Primary concept of nickel toxicity—an overview, *Journal of Basic Clinic Physiology and Pharmacology*, <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2017-0171>.
- Diaconu M., (2016), *Metode și Teste Ecotoxicologice*, Editura Performantica, ISBN 978-606-685-417-7.
- Diaconu M., Vasile Pavel L., Hlihor R.-M., Rosca M., Fertu D.I., Lenz M., Corvini P.X, Gavrilescu M., (2020), Characterization of heavy metal toxicity in some plants and microorganisms - a preliminary approach for environmental bioremediation, *New Biotechnology*, doi:10.1016/j.nbt.2020.01.003.
- Drozdova I., Alekseeva-Popova N., Dorofeyev V., Jaume Bech J., Belyaeva A., Roca N., (2019), A comparative study of the accumulation of trace elements in *Brassicaceae* plant species with phytoremediation potential, *Applied Geochemistry*, **108**, 104377, <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.104377>.
- EPA, (2012), OCSPP 850-4230 Early seedling growth toxicity test, On line la: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/P100IRAB.txt?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=2011%20Thru%202015&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&UseQField=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&File=D%3A%5CZYFILES%5CINDEX%20DATA%5C11THRU15%5CTXT%5C00000010%5CP100IRAB.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&S>

- ortMethod=h%7C-  
&MaximumDocuments=1&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=hpfr&DefSeekPage=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page  
&MaximumPages=20&ZyEntry=1&slide.
- Eskandari H., Amraie A.A., (2016), Ability of some crops for phytoremediation of nickel and zinc heavy metals from contaminated soils, *Journal of Advances in Environment Health Research*, **4**, 234-239.
- Gaur N., Kukreja, A., Yadav M., Tiwari A., (2017), Assessment of phytoremediation ability of Coriander sativum for soil and water co-contaminated with lead and arsenic: a small-scale study, *3 Biotech*, **7**, 196-207.
- Garcia-Lemos A.M., Großkinsky D.K., Akhtar S.S., Nicolaisen M.H., Roitsch T., Ole Nybroe O., Veierskov B., (2020), Identification of root-associated bacteria that influence plant physiology, increase seed germination, or promote growth of the christmas tree species *Abies nordmanniana*, *Frontiers in Microbiology*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.566613>.
- Gavrilescu M., (2022), Enhancing phytoremediation of soils polluted with heavy metals, *Current Opinion in Biotechnology*, **74**, 21-31.
- Gavrilescu M., Diaconu M., Bulgariu L., Volf I., Catrinescu C., Smaranda C., Cozma P., Hlihor R.-M., Ghinea C., Apostol L.C., Comăniță E.-D., Roșca M., Vasilică S.I., (2019), *Explorarea și Exploatarea Abilităților Microorganismelor, Plantelor și a Interacțiunilor dintre acestea pentru Bioremedierea Mediului*, Editura Performantica, Iași.
- Genchi G., Carocci, A., Lauria G., Sinicropi M.S., Catalano A., (2020), Nickel: human health and environmental toxicology, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 679, <http://doi.org/10.3390/ijerph17030679>.
- Glick B.R., (2014), Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world, *Microbiological Research*, **169**, 30-39.
- Golda O., Korzeniowska J., (2016), Comparison of phytoremediation potential of three grass species in soil contaminated with cadmium, *Environmental Protection and Natural Resources*, **27**, 8-14.
- Goswami D., Thakker J.N., Dhandhukia P.C., (2016), Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review, *Cogent Food & Agriculture*, **2**, 1127500, doi:10.1080/23311932.2015.1127500.
- Haider F.U., Liqun C., Coulter J.A., Cheema S.A., Wu J., Zhang R., Wenjun M., Farooq M., (2021), Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **211**, 111887, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887>.
- Haroon B., Irshad M., Ebadi A.G., An P., (2022), *Soil Metal Contamination and its Mitigation*, In: *Sustainable Plant Nutrition under Contaminated Environments*, Mahmood Q. (Eds.), Springer, 17-40.
- Hou D., O'Connor D., Igalavithana A.D., Alessi D.S., Luo J., Tsang D.C.W., Sparks D.L., Yamauchi Y., Rinklebe J., Ok Y.S., (2020), Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability, *Nature Reviews Earth & Environment*, **1**, 366-381.
- Hashem A., Tabassum B., Fathi Abd\_Allah E., (2019), *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress, *Saudi Journal of Biological Sciences*, doi:10.1016/j.sjbs.2019.05.004.
- Haynes W., (2013), *Tukey's Test*, In: *Encyclopedia of Systems Biology*, Dubitzky W., Wolkenhauer O., Cho K.H., Yokota H. (Eds.), Springer, New York, 2303-2304, [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9863-7\\_1212](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9863-7_1212).
- Himpsl S.D., Mobley H.L.T., (2019), Siderophore Detection Using Chrome Azurol S and Cross-Feeding Assays, *Methods in Molecular Biology*, 97-108, doi: 10.1007/978-1-4939-9601-8\_10.

- Hlihor R.M., Apostol L.C., Smaranda C., Pavel L.V., Căliman F.A., Robu B.M., Gavrilesco M., (2009), Bioavailability processes for contaminants in soils and their use in risk assessment, *Environmental Engineering and Management Journal*, **8**, 1199-1206.
- IARC, (2023), Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–125, International Agency for Research on Cancer, On line la: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>.
- Jnawali A.D., Ojha R.B., Marahatta S., (2015), Role of *Azotobacter* in soil fertility and sustainability-A review, *Advances in Plants & Agriculture Research*, **2**, 250-253.
- Juwarakar A.A., (2012), Microbe-assisted phytoremediation for restoration of biodiversity of degraded lands: a sustainable solution, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, **82**, 313-318.
- Kanwar V.S., Sharma A., Srivastav A.L., Rani L., (2020), Phytoremediation of toxic metals present in soil and water environment: A critical review, *Environmental Science and Pollution Research*, doi:10.1007/s11356-020-10713-3.
- Khalid A.H., Jin H.J., (2013), Heavy metal resistance of bacteria and its impact on the production of antioxidant enzymes, *African Journal of Microbiology Research*, **7**, 2288-2296.
- Khoramnejadian S., Saeb K., (2015), Accumulation and translocation of heavy metals by *Amaranthus retroflexus*, *Journal of Earth, Environment and Health Sciences*, **1**, 58-60.
- Lancíková V., Tomka M., Žiarovská J., Gažo J., Hricová A., (2020), Morphological responses and gene expression of grain amaranth (*Amaranthus spp.*) growing under Cd, *Plants*, **9**, 572, doi:10.3390/plants9050572.
- Li K., DiLegge M.J., Minas I.S., Hamm A., Manter D., Vivanco J., (2019), Soil sterilization leads to recolonization of a healthier rhizosphere microbiome, *Rhizosphere*, **12**, 100176, <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100176>.
- Li X., Li D., Yan Z., Ao Y., (2018), Adsorption of cadmium by live and dead biomass of plant growth-promoting rhizobacteria, *RSC Advances*, **8**, 33523-33533.
- Li X., Li D., Yan Z., Ao Y., (2018), Adsorption of cadmium by live and dead biomass of plant growth-promoting rhizobacteria, **8**, *RSC Advances*, doi: 10.1039/c8ra06758a.
- Lorestani B., Cheraghi M., Yousefi N., (2012). The potential of phytoremediation using hyperaccumulator plants: A case study at a lead-zinc mine site, *International Journal of Phytoremediation*, **14**, 786-795.
- Lichtenthaler H.K., (1987), *Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes*, In: *Methods in Enzymology, Plant Cell Membranes*; vol. **148**, Elsevier-Academic Press: New York, USA.
- Lichtenthaler H.K., Buschmann C., (2001), *Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy*, In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons. Inc. Hoboken. NJ. USA, 431-438.
- Louden B.C., Haarmann D., Lynne A.M., (2011), Use of blue agar CAS assay for siderophore detection, *Journal of Microbiology & Biology Education*, **12**, 51-53.
- Luo Y., Liang J., Zeng G., Chen M., Mo, D., Li, G., Zhang D., (2018), Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects, *Waste Management*, **71**, 109-114
- Magdziak Z., Gąsecka M., Goliński P., Mleczek M., (2014), Phytoremediation and Environmental Factors, *Phytoremediation*, 45-55, doi: 10.1007/978-3-319-10395-2\_4.
- Mahar A., Wang P., Ali A., Awasthi M.K., Lahori A.H., Wang Q., Li R., Zhang Z., (2016), Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **126**, 111-121.
- Manoj S.R., Karthik C., Kadirvelu K., Arulselvi P.I., Shanmugasundaram T., Bruno B., Rajkumar M., (2020), Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review, *Journal of Environmental Management*, **254**, 1-14.

- Matraszek R., Hawrylak-Nowak B., Chwil M., Chwil S., Rudaś M., (2017), Effect of the interaction of nickel stress and sulphur supplementation on the content and accumulation of macronutrients in white mustard (*Sinapis alba* L.), *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, **20**, <https://doi.org/10.30825/5.ejpau.24.2017.20.2>.
- Mindlin S., Petrenko A., Kurakov A., Beletsky A., Mardanov A., Petrova M., (2016), Resistance of permafrost and modern *Acinetobacter lwoffii* strains to heavy metals and arsenic revealed by genome analysis, *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, **2016**, 3970831, doi: 10.1155/2016/3970831.
- Minuț M.**, Diaconu M., Roșca M., Cozma P., Bulgariu L., Gavrilescu M., (2023), Screening of *Azotobacter*, *Bacillus* and *Pseudomonas* species as Plant Growth-Promoting Bacteria, *Processes*, **11**, 80, doi: 10.3390/pr11010080.
- Minuț M.**, Roșca M., Cozma P., Diaconu M., Gavrilescu M., (2020), The beneficial role of some microorganism in soil phytoremediation and mitigation of health risk, *IEEE 2020 International Conference on e-Health and Bioengineering (EHB)*, 1-4, doi:10.1109/ehb50910.2020.9280178.
- Minuț M.**, Roșca M., Cozma P., Diaconu M., Gavrilescu M., (2021), Behavior of plants and microorganisms in the presence of inorganic pollutants, *Annals of the Academy of Romanian Scientists Series on Physics and Chemistry*, **6**, 1-16.
- Mourato M., Moreira I., Leitão I., Pinto F., Sales J., Martins L., (2015), Effect of heavy metals in plants of the genus *Brassica*, *International Journal of Molecular Sciences*, **16**, 17975-17998.
- Muis A., (2006), Biomass production and formulation of *Bacillus subtilis* for biological control, *Indonesian Journal of Agricultural Science*, **7**, 51-56.
- Nadeem S.M., Ahmad M., Zahir A.Z., Javaid A., Ahraf M., (2014), The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments, *Biotechnology Advances*, **32**, 429-448.
- Nirola R., Megharaj M., Palanisami T., Aryal R., Venkateswarlu K., Naidu R., (2015), Evaluation of metal uptake factors of native trees colonizing an abandoned copper mine – a quest for phytostabilization, *Journal of Sustainable Mining*, **14**, 115-123.
- Nuralykyzy B., Wang P., Deng X., An S., Huang Y., (2021), Heavy metal contents and assessment of soil contamination in different land-use types in the Qaidam Basin, *Sustainability*, **13**, 12020, <https://doi.org/10.3390/su132112020>.
- Oves M., Khan M.S., Zaidi A., (2013), Biosorption of heavy metals by *Bacillus thuringiensis* strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil, *Saudi Journal of Biological Sciences* **20**, 121-129.
- Pantola R.C., Alam A., (2014), Potential of Brassicaceae burnett (Mustard family; Angiosperms) in Phytoremediation of Heavy Metals, *International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences*, **2**, 120-138.
- PFAF, (2022), *Sinapis alba* L., Plants for a future, On line la: <https://pfaf.org/user/plant.aspx?LatinName=Sinapis+alba#:~:text=Cultivation%20details&text=It%20is%20not%20suited%20to,4.5%20to%208.2%5B269%5D>.
- Prajapati K., Yami K.D., Singh A., (2008), Plant Growth Promotional Effect of *Azotobacter chroococcum*, *Piriformospora indica* and Vermicompost on Rice Plant, *Nepal Journal of Science and Technology*, **9** 85-90.
- Pramanik K., Mitra S., Sarkar A., Soren T., Maiti T.K., (2018), Characterization of a Cd<sup>2+</sup>-resistant plant growth promoting rhizobacterium (*Enterobacter sp.*) and its effects on rice seedling growth promotion under Cd<sup>2+</sup>-stress *in vitro*, *Agriculture and Natural Resources*, **52**, 215-221.

- Qiao D., Lu H., Zhang X., (2020), Change in phytoextraction of Cd by rapeseed (*Brassica napus* L.) with application rate of organic acids and the impact of Cd migration from bulk soil to the rhizosphere, *Environmental Pollution*, **267**, 115452, <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115452>.
- Reeves R.D., Baker A.J.M., Jaffre T., Erskine P.D., Echevarri G., van der Ent A., (2017), A global database for plants that hyperaccumulate metal and metalloid trace elements, *New Phytologist*, **218**, 407-411.
- Rizwan M., Ali S., Zia ur Rehman M., Rinklebe J., Tsang D.C.W., Bashir A., Maqbool A., Tack F.M.G., Ok Y.S., (2018), Cadmium phytoremediation potential of *Brassica* crop species: A review, *Science of the Total Environment*, **631-632**, 1171-1191.
- Roșca M., Cozma P., Minut M., Asiminicesei D.M., Smaranda C., Diaconu M., Gavrilescu M., (2019), Ecological risk assessment of nickel in soil and the effects on the *Brassica napus* growth, *E-Health and Bioengineering Conference (EHB)*, doi:10.1109/ehb47216.2019.897002.
- Roșca M., Cozma P., Minut M., Hlihor R.-M., Betianu C., Diaconu M., Gavrilescu M., (2021), New evidence of model crop *Brassica napus* L. in soil clean-up: Comparison of tolerance and accumulation of lead and cadmium, *Plants*, **10**, 2051, <https://doi.org/10.3390/plants10102051>.
- Sainger M., Sharma A., Baudh K., Sainger P.A., Singh R.P., (2014), Remediation of nickel-contaminated soil by *Brassica juncea* L. cv. T-59 and effect of the metal on some metabolic aspects of the plant, *Bioremediation Journal*, **18**, 100-110.
- Sajad M.A., Khan M.S., Bahadur S., Shuaib M., Naeem A., Zaman W., Hazrat A., Nickel phytoremediation potential of some plant species of the Lower Dir, (2020), Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan, *Limnological Review*, **20**, 13-22.
- Saxena G., Purchase D., Mulla S.I., Saratale G.D., Bharagava R.N., (2020), *Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Sites: Eco-environmental Concerns, Field Studies, Sustainability Issues, and Future Prospects*, In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, de Voogt P. (Eds.), vol. 249, Springer International Publishing, Cham., pp. 71–131, doi:10.1007/398\_2019\_24.
- Sharma S., Sundaram C.S., Luthra P.M., Singh Y., Sirdeshmukh R., Gade W.N., (2006). Role of proteins in resistance mechanism of *Pseudomonas fluorescens* against heavy metal induced stress with proteomics approach, *Journal of Biotechnology*, **126**, 374-382.
- Siaka M., Owens C.M., Birch G.F., (1998), Evaluation of some digestion methods for the determination of heavy metals in sediment samples by flame-AAS, *Analytical Letters*, **31**, 703-718.
- Tirry N., Tahri Joutey N., Sayel H., Kouchou A., Bahafid W., Asri M., El Ghachtouli N., (2018), Screening of plant growth promoting traits in heavy metals resistant bacteria: Prospects in phytoremediation, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, doi:10.1016/j.jgeb.2018.06.004.
- Tchounwou P.B., Yedjou C.G., Patlolla A.K., Sutton D.J., (2014), *Heavy Metals Toxicity and the Environment*, In: *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, vol. 101, Luch A. (Ed.), Springer Basel Ag., 133-164.
- Usman K., Al-Ghouti M.A., Abu-Dieyeh M.H., (2019), The assessment of cadmium, chromium, copper, and nickel tolerance and bioaccumulation by shrub plant *Tetraena qataranse*, *Scientific Reports*, **9**, 5658, doi: 10.1038/s41598-019-42029-9.
- Vasile G.-G., Tenea A.-G., Dinu C., Iordache A.M.M., Gheorghe S., Mureseanu M., Pascu L.F., (2021), Bioavailability, accumulation and distribution of toxic metals (As, Cd, Ni and Pb) and their impact on *Sinapis alba* plant nutrient metabolism, *International Journal of Environmental Research*, **18**, 12947, <https://doi.org/10.3390/ijerph182412947>.
- Visioli G., Conti F.D., Gardi C., Menta C., (2014), Germination and root elongation bioassays in six different plant species for testing Ni contamination in soil, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **92**, 490-496.

- Wani S.P., Gopalakrishnan S., (2019), *Plant Growth-Promoting Microbes for Sustainable Agriculture*, In: *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for Sustainable Agriculture*, Sayyed R., Reddy M., Antonius S. (Eds.) Springer, Singapore, [https://doi.org/10.1007/978-981-13-6790-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-6790-8_2).
- Wei S., Zhou Q., Wang X., Zhang K. Guo G., Ma L., (2005), A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L., *Chinese Science Bulletin*, **50**, 33-38.
- Weller S., Florentine S., Javaid M.M., Welgama A., Chadha A., Chauhan B.S., Turville C., (2021), *Amaranthus retroflexus* L. (redroot pigweed): effects of elevated CO<sub>2</sub> and soil moisture on growth and biomass and the effect of radiant heat on seed germination, *Agronomy*, **11**, 728, <https://doi.org/10.3390/agronomy11040728>.
- Yadav K.K., Akhtar M.S., Panwar J., (2014), *Rhizospheric Plant-Microbe Interactions: Key Factors to Soil Fertility and Plant Nutrition* In: *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*, Kumar A.N. (Ed.), Springer, New Delhi, 127-145.
- Yan A., Wang Y., Swee Ngim T., Yusof M., Lokman M., Subhadip G., Zhong C., (2020), Phytoremediation: A promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land, *Frontiers in Plant Science*, **11**, 1-14.
- Yanqun Z., Yuan L., Jianjun C., Haiyan C., LI Q., Schwartz C., (2005), Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead-zinc mining area in Yunnan, China, *Environment International*, **31**, 755-762.
- Zand D.A., Mühling K.H., (2022), Phytoremediation capability and copper uptake of maize (*Zea mays* L.) in copper contaminated soils, *Pollutants*, **2**, 53-65.
- Zhang J., Yang N., Geng Y., Zhou J., Lei J., (2019), Effects of the combined pollution of cadmium, lead and zinc on the phytoextraction efficiency of ryegrass (*Lolium perenne* L.), **9**, *RSC Advances*, doi: 10.1039/C9RA01986C.
- Zhang W., Zhao Y., Xu Z., Huang H., Zhou J., Yang G., (2020), Morphological and physiological changes of *Broussonetia papyrifera* Seedlings in cadmium contaminated soil, *Plants*, **9**, 1698, <https://doi.org/10.3390/plants9121698>.
- Zoya G., (2016), *Plant Metal Interaction*, In: *Phytoextraction*, 385-409, doi:10.1016/B978-0-12-803158-2.00015-1.

## ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ

Activitatea de cercetare științifică desfășurată pe parcursul doctoratului s-a concretizat în:

- publicarea a 3 articole în reviste incluse în Web of Science cu factor de impact;
- publicarea a 14 articole în volume ale conferințelor incluse în Web of Science (ISI) Proceedings;
- publicarea a 5 articole în reviste incluse în baze de date internaționale;
- participarea la 3 conferințe naționale (cu 6 lucrări) și 11 internaționale (cu 55 lucrări);

### Lista lucrărilor publicate (Selecție)

#### *Articole în reviste incluse în Web of Science cu factor de impact*

1. **Mariana Minuț**, Mariana Diaconu, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Laura Bulgariu, Maria Gavrilescu, (2023), Screening of *Azotobacter*, *Bacillus* and *Pseudomonas* species for plant growth-promoting bacteria, *Processes*, **11**, 80, doi: 10.3390/pr11010080 (**IF=3.352, Q2**), (**zona galbenă**).
2. Mihaela Roșca, Petronela Cozma, **Mariana Minuț**, Raluca-Maria Hlihor, Camelia Betianu, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), New evidence of model crop *Brassica napus* L. in soil clean-up: comparison of tolerance and accumulation of lead and cadmium, *Plants*, **10**, 2051, <https://doi.org/10.3390/plants10102051> (**IF=3.935, Q1**), (**zona roșie**).



3. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Raluca-Maria Hlihor, Petronela Cozma, Maria Gavrilescu, (2020), Modelling of Health Risk Associated with the Intake of Pesticides from Romanian Fruits and Vegetables, *Sustainability*, **12**, 10035, <https://doi.org/10.3390/su122310035> (**IF=2.576, Q2**), (zona galbenă).

**Articole publicate în volume ale conferințelor incluse în Web of Science (ISI) Proceedings**

1. **Mariana Minuț**, Petronela Cozma, Mihaela Roșca, Ionela Cătălina Vasilachi, Raluca Maria Hlihor, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), Recovery of valuable heavy metals from polluted soil using phytomining process - A new challenge for earning secondary raw materials and health risk reduction, *2021 International Conference on e-Health and Bioengineering (EHB)*, Iași 1-4, doi: 10.1109/EHB52898.2021.9657624, WOS:000802227900085.
2. Petronela Cozma, Raluca-Maria Hlihor, Mihaela Roșca, **Mariana Minuț**, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), Coupling phytoremediation with plant biomass valorisation and metal recovery: An overview, *2021 International Conference on e-Health and Bioengineering (EHB)*, 1-4, Iași, doi: 10.1109/EHB52898.2021.9657551, WOS:000802227900016.
3. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2020), The beneficial role of some microorganism in soil phytoremediation and mitigation of health risk, *2020 IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering – (EHB)*, 1-4, Iași, doi: 10.1109/EHB50910.2020.9280178, WOS:000646194100053.
4. Camelia Smaranda, Mihaela Roșca, **Mariana Minuț**, Diana Elena Comanita-Ungureanu, Petronela Cozma, Cezar Catrineacu, Maria Gavrilescu, (2020), Studies on physiological response of sinapis alba plants to organochlorinated pesticide toxicity, *2020 International Conference on E-Health and Bioengineering – (EHB)*, 1-4, Iași, doi: 10.1109/EHB50910.2020.9280260, WOS:000646194100129.
5. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Cezar Catrinescu, Maria Gavrilescu, (2019), Ecological and human health risks generated by organic UV filters, *2019 E-Health and Bioengineering Conference (EHB)*, 1-4, Iași, doi: 10.1109/EHB47216.2019.8970019, WOS:000558648300149.
6. Mihaela Roșca, Petronela Cozma, **Mariana Minuț**, Dana Mihaela Asiminicesei, Camelia Smaranda, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2019), Ecological risk assessment of nickel in soil and the effects on the *Brassica napus* growth, *2019 E-Health and Bioengineering Conference (EHB)*, 1-4, Iasi, doi: 10.1109/EHB47216.2019.8970022, WOS:000558648300152.

**Articole în reviste incluse în baze de date internaționale**

1. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Maria Gavrilescu, (2022), Identification of impacts and human health risks produced by the presence of pesticides in the environment I. Pesticides behaviour in the environment, *Annals of the Academy of Romanian Scientists - Series on Physics and Chemistry*, **7**, 83-119, doi:10.56082/annalsarsciphyschem.2022.2.83.
2. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), Behavior of plants and microorganisms in the presence of inorganic pollutants, *Annals of the Academy of Romanian Scientists - Series on Physics and Chemistry*, **6**, 1-16, doi:10.56082/annalsarsciphyschem.2021.2.7.
3. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Maria Gavrilescu, (2019), Potential of plants for the bioremediation of soils contaminated with persistent pollutants, *ECOTERRA*, **16**, 17-28.

**Lista lucrărilor comunicate la manifestări științifice (prezentări orale și postere)**

**Conferințe și simpozioane naționale – 6 participări**

1. **Minuț Mariana**, Roșca Mihaela, Diaconu Mariana, Petronela Cozma, Maria Gavrilescu (2020), Studiul sinergismului plante-microorganisme în procesul de fitoremediere, *Aplicații ale Chimiei în Nanostiințe și Ingineria Biomaterialelor - Conferință științifică*- 16-17 iulie 2020, **Prezentare orală.**
2. Maria Gavrilescu, Mihaela Roșca, **Mariana Minuț**, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, (2020), Studiu privind capacitatea unor plante de a tolera toxicitatea metalelor grele din sol, *Conferința Națională Științifică Academia Oamenilor de Știință Din România*, 28 Mai – 07 iunie 2020, **Prezentare orală.**
3. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Camelia Smaranda, Cezar Catrinescu, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2019), The behavior of plants in the presence of organic UV filters, *Conferința Școlii Doctorale – TUIASI*, 22-23 Mai, 2019, Iași, România, **Prezentare orală.**

**Conferințe și simpozioane internaționale - 55 participări**

1. Mihaela David, **Mariana Minuț**, Petronela Cozma, Mihaela Roșca, Ionela-Catalina Vasilachi, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2022), Studies on the behavior of *Amaranthus retroflexus* L. growing on agricultural soil polluted with nickel ions, *6th International Conference on Chemical Engineering, Romania*, Iași, October 5 – 7, 2022, **Poster.**
2. **Mariana Minuț**, Petronela Cozma, Mihaela Roșca, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2022), Behaviour of *Medicago sativa* L. (alfalfa) in the presence of cobalt ions: A preliminary approach, *17th International Conference of Constructive Design and Technological Optimization in Machine Building*, 25-27 May 2022, **Poster.**
3. Petronela Cozma, **Mariana Minuț**, Maria Paiu, Raluca-Maria Hlihor, Mihaela Rosca, Maria Gavrilescu, (2022), Effects of metals stress on the development and grow of *Sinapis alba* (white mustard) in urban soils, *17th International Conference of Constructive Design and Technological Optimization in Machine Building*, 25-27 May 2022, **Poster.**
4. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2022), Studies on the behavior of *Brassica napus* L. cultivated on cadmium polluted soil, *5th International Conference of the Doctoral School*, May 18 - 20, 2022, Iași, România, **Prezentare orală.**
5. **Mariana Minuț**, Petronela Cozma, Mihaela Roșca, Maria Paiu, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), Germination and growth of *Sinapis alba* L. in the presence of cobalt ions, *International Scientific Conference on Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering, NanoBioMat 2021*, 25-27 November 2021, Online Conference, **Poster.**
6. **Mariana Minuț**, Petronela Cozma, Mihaela Roșca, Ionela Cătălina Vasilachi, Raluca Maria Hlihor, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), Recovery of valuable heavy metals from polluted soil using phytomining process - a new challenge for earning secondary raw materials and health risk reduction, *IEEE International Conference on e-Health and Bioengineering, EHB 2021 - 9-th Edition*, 18-19 November 2021, Iași - WEB CONFERENCE – Romania, **Poster.**
7. **Minuț Mariana**, Roșca Mihaela, Cozma Petronela, Smaranda Camelia, Diaconu Mariana, Gavrilescu Maria, (2021), Behavior of *Sinapis alba* L. growth in soil polluted with nickel, *11th International Conference on Environmental Engineering and Management (ICEEM11), Environmental Engineering for a Clean and Healthy Planet*, September 8 – 10, 2021 Muttenz, Switzerland, **Poster.**
8. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), Studies on the capacity of different microorganisms to promote plants growth applied for phytoremediation of heavy metals contaminated soils, *4th International Conference of the Doctoral*

*School, „Gheorghe Asachi” Technical University of Iasi, 19-21 May 2021, Iași, Romania, **Prezentare orală.***

9. **Minuț Mariana**, Roșca Mihaela, Cozma Petronela, Diaconu Mariana, Gavrilescu Maria, (2021), Efectele sinergismului plante-microorganisme privind fitoremedierea solurilor poluate cu metale grele, *Simpozionul Științific Național cu participare internațională: Biotehnologii Moderne – Soluții pentru Provocările Lumii Contemporane*, 20-21 Mai, 2021, Chișinău, Republica Moldova (On line), **Prezentare orală.**
10. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), Nickel toxicity for *Sinapis alba* L. plant and its phytoremediation potential for metal recovery, *International Scientific Conference of “Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering”*, 25-26 June 2021, Bucharest, Romania, (On line), **Prezentare orală.**
11. **Mariana Minuț**, Petronela Cozma, Mihaela Roșca, Ionela Cătălina Vasilachi, Dana Mihaela Asiminicesei, Raluca Maria-Hlihor, Maria Apostol, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2021), Phytomining of heavy metals from contaminated soils: a green technology, *The 16th International Conference Constructive and Technological Design Optimization in the Machines Building Field, OPROTEH-2021*, 25-27 May, Bacău, Romania (On line), **Poster.**
12. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Mariana Diaconu, Petronela Cozma, Maria Gavrilescu, (2020), Using bacteria to enhance the phytoremediation process applied to soils polluted with inorganic pollutants, *International Symposium of Chemical Engineering and Materials (SICHEM 2020)*, 17-18 Septembrie 2020, Universitatea Politehnică din București, România, **Poster.**
13. **Mariana Minuț**, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2020), The Beneficial Role of Some Microorganism in Soil Phytoremediation and Mitigation of Health Risk, *International Conference on e-Health and Bioengineering, EHB 2020 - 8-th Edition*, 29-30 October 2020, Iasi - WEB CONFERENCE – Romania, **Poster.**
14. **Minuț Mariana**, Roșca Mihaela, Cozma Petronela, Diaconu Mariana, Gavrilescu Maria, (2020), Role of bacteria in phytoremediation of soils polluted with inorganic pollutants: a preliminary approach, “*Life sciences today for tomorrow*”, *International Congress*, 22-23 Octombrie 2020, Iași, Romania, **Poster.**
15. Mariana Diaconu, Mihaela Roșca, Petronela Cozma, **Mariana Minuț**, Camelia Smaranda, Raluca-Maria Hlihor, Maria Gavrilescu, (2020), Toxicity and Microbial Bioremediation of Chromium Contaminated Effluents, *International Conference on e-Health and Bioengineering, EHB 2020 - 8-th Edition*, 29-30 October 2020, Iasi - WEB CONFERENCE – Romania, **Poster.**
16. Mihaela Roșca, Petronela Cozma, **Mariana Minuț**, Dana Mihaela Asiminicesei, Camelia Smaranda, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, (2019), Ecological risk assessment of nickel in soil and the effects on the *Brassica napus* growth, *E-Health and Bioengineering Conference (EHB)*, 21-23 Noiembrie 2019, Iași, România, **Poster.**

#### ***Membru în proiecte naționale***

1. **PN III 269 PED/2020 - Integrarea Bioremedierii Mediului cu Valorificarea Biomasei si Recuperarea unor Materii Prime Critice prin Phytomining**, Director de proiect: Prof.univ. emerit dr.ing. Maria Gavrilescu

#### ***Cerere de brevet de invenție***

1. Gavrilescu Maria, Cozma Petronela, Mariana Diaconu, Ungureanu-Comăniță Elena-Diana, **Minuț Mariana**, Vasilachi Ionela-Cătălina, Paiu Maria, Hlihor Raluca-Maria, Bulgariu Laura, Apostol Maria, Simion Isabela-Maria, (2022), Procedeu integrat de recuperare prin phytomining a unor metale critice din soluri poluate, Cerere de brevet de invenție A/2022/00399/11.07.2022.