

## EFFECTUL NANOPARTICULELOR ÎN BAZA FIERULUI ASUPRA PROCESULUI DE CREȘTERE A PLANTELOR DE SOIA ÎN SOLUL POLUAT CU POLUANȚI ORGANICI PERSISTENȚI

Todiraș Vasile, *doctor în științe agricole, conferențiar cercetător*, Corcimarui Serghei, *doctor în științe biologice, conferențiar cercetător*, Prisacari Svetlana, Lungu Angela, *cercetători științifici, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, UTM*.

In the given material, the influence of iron-based nanoparticles on the growth processes of soybean plants on the background of soil polluted with persistent organic pollutants (POPs) was studied. A more pronounced effect was established when treating the soil with 25 mg/kg of zerovalent nanoiron (NFZV) in different variants with and without bacteriization of seeds with *Rhizobium japonicum* RD2 compared to the Control. Root length increased up to 28.8%, plant height - up to 11.9%, and plant length - up to 14.2%. As a result, it was shown that NFZV, soybean plants and symbiotrophic bacteria of the genus *Rhizobium* is of interest for the development of nanobioremediation processes for soils polluted with POPs.

**Key words:** *zerovalent nanoiron, nanobioremediation, persistent organic pollutants (POPs), soil pollution, nodule bacteria, bacterization, stimulation, soybean.*

## INTRODUCERE

Intensitatea de utilizare a pesticidelor în agricultura Republicii Moldova este destul de înaltă, iar unele din ele acumulându-se cu timpul la depozitele de păstrare au devenit periculoase pentru mediul ambiant [1, 2, 3]. O îngrijorare destul de mare pentru mediul înconjurător o reprezintă fostele depozite de păstrare a pesticidelor, fiind într-un număr destul de mare pe teritoriul republicii, numărând în total la 1604 [4, 5]. Printre pesticidele destul de periculoase la aceste depozite într-o cantitate mare se află și erbicidul Trifluralina, care se folosea în cultura soii pentru combaterea buruienilor anuale și celor perene [6]. Însă, din cauza toxicității înalte din anul 2012 a fost interzis de a fi utilizat în Moldova [7]. Astfel respectiva problemă apărută necesită a fi studiată și rezolvată, iar ca rezultat al investigațiilor - elaborarea metodelor de detoxicare a solurilor poluate și remedierea lor.

În diverse țări pentru remedierea solurilor poluate sunt elaborate diverse tehnologii. Una din cele mai avantajoase se presupune a fi cele în baza nanoparticulelor de fier și bioremedierea [8, 9].

Pentru accelrarea proceselor de remediere și micșorării riscurilor ecologice ce țin de folosirea nanoparticulelor unii cercetători propun de a utiliza în comun ambele tehnologii (nano-biotehnologii).

Investigații de acest gen se efectuează și în *Laboratorul Microbiologia Solului* al *Institutului de Microbiologie și Biotehnologie*, fiind utilizate nanoparticulele în baza fierului, bacteriilor simbiotrofe și culturilor de mazărice, soiei și lucernei .

Reieșind din cele expuse **scopul** investigațiilor a fost de a studia efectul nanoparticulelor în baza fierului împreună cu bacteriile de nodozitate *Rhizobium japonicum* RD2 asupra diminuării efectului negativ al erbicidului trifluralina în solul poluat și influența lor asupra procesele de creștere și dezvoltare la soia.

## MATERIALE ȘI METODE

**Experiențele au fost efectuate în condiții de laborator în cutii Petri și în vase cu sol contaminat.**

Experiențele în cutii Petri au fost efectuate conform metodei propuse [10]. Plantele au fost crescute pe parcursul a 3 săptămâni în camera climatică cu iluminare de zi și temperatura de 22-26<sup>0</sup> C. Pentru fiecare varianta experimentală au fost prevăzute 3 repetări. În total au fost studiate următoarele variante: (1) „Martor”; (2) „RZ” – bacterizarea semințelor de soia cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2; (3) „TF” - tratarea solului cu trifluralina; (4) „TF+RZ+NP” - tratarea solului cu trifluralină și nanoparticule (magnetită și fier zerovalent în 2 concentrații) plus bacterizarea semințelor de soia cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2; (5) „TF+RZ+SF” - tratarea solului cu trifluralina și cu sulfat de fier (în 2 concentrații) plus bacterizarea semințelor cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2. Nanoparticulele și sulfatul de fier (II) au fost introduse (după tratarea solului cu trifluralină) în concentrațiile de 25 și 75 mg/kg sub forma de praf amestecat cu talc (concentrația talcului fiind 10 g/kg de sol).

Trifluralina a fost utilizată în concentrația de 20 mg/kg sub formă de soluție acetonică, diluată cu apă (concentrația acetonei care a nimerit în sol a fost de 0,6 ml/kg). În toate variantele, unde nu s-a folosit trifluralina, în sol a fost introdusă soluția apoasă de acetonă, în concentrația corespunzătoare

Nanoparticulele în baza fierului au fost obținute prin metoda coprecipitării în prezența polimerului poli-N-vinilpirolidonă, utilizat ca stabilizator. Nanomagnetita (17-25 nm) a fost obținută folosind sulfatul de fier (II) și clorura de fier (III). Nanofierul zerovalent („nanofier”, 4 nm) a fost obținut în urma reacției de reducere a clorurii de fier (III).

Influența nanoparticulelor a fost apreciată reieșind din 2 criterii: lungimea medie a plantei și lungimea totală a plantelor, crescute în cutiile Petri.

**Experiențele vegetaționale** au fost efectuate în condiții de laborator, în vase cu sol contaminat (500 g/vas), în 5 repetiții, în camera climatică cu respectarea factorilor de iluminare (de zi), temperatură, umiditate și ventilare. Solul contaminat cu POP (cu trifluralină și DDTs în concentrații, respectiv, de 30,0 și 2,0 mg/kg) a fost colectat din preajma fostului depozit de pesticide din com. Sângera (mun. Chișinău). Imediat după colectare, solul (în stare umedă) a fost curățat de rămășițele vegetale și pietre, cernut și ajustat la umiditatea de 21.4%.

Plantele au fost crescute până la faza formării păstărilor. În total au fost studiate următoarele variante: (1) „Martor”- sol poluat însemănat cu semințe de soia ne bacterizate; (2) „RZ” – sol poluat însemănat cu semințe de soia bacterizate cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2; (3) „NFZV” – sol poluat tratat cu NFZV (25 mg/kg) și însemănat cu semințe de soia; (4) „NFZV+RZ” – sol poluat tratat cu NFZV (25 mg/kg) și însemănat cu semințe de soia bacterizate cu *Rhizobium japonicum* RD2.

Influența nanoparticulelor a fost estimată în baza măsurării înălțimei medii a plantei, lungimei medii a rădăcinei și lungimei medii a plantelor (rădăcina+planta).

Bacterizarea semințelor de soia a fost efectuată în modul următor: tulpina *Rhizobium japonicum* RD2 a fost crescută pe mediul nutritiv solid cu conținut de făină de mazăre [11] timp de 7 zile în termostat la temperatura de 26-27<sup>0</sup> C, apoi 3 zile - în condiții de agitare în mediul lichid cu conținut de fiertură de mazăre la aceeași temperatură [11]. Bacterizarea s-a efectuat conform metodei aprobate [12], reieșind din numărul de celule ce revin la o semință (1mln de celule la 1 sămânță).

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Experiențele efectuate în condiții de laborator în cutii Petri au scos în evidență acțiunea negativă a trifluralinei în concentrația de 20 mg/kg sol asupra proceselor de creștere și dezvoltare a plantelor de soia. În dependență de scopul experienței lungimea medie a plantelor s-a micșorat 2,1-2,4, iar lungimea totală respectiv de 2,3-2,5 ori.

În variantele unde semințele au fost tratate cu bacteriile de nodozități *Rhizobium japonicum* RD2 datele obținute nu au arătat veridicitate în comparație cu martorul netratat. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Influența nanoparticulelor de magnetită și a fierului zerovalent asupra indicatorilor de creștere la soia în solul poluat cu trifluralină

№	Varianta*	Experimentul cu nanomagnetită		Experimentul cu nanofier zerovalent	
		1**	2	1	2
1	Martor	31,32±2,29	459,4±58,37	23,74±1,48	348,2±7,81
2	RZ	26,38±3,40	343,0±53,92	21,27±2,05	304,8±30,32
3	TF	13,13±2,32	183,8±18,65	11,46±2,05	151,2±16,55
4	TF+RZ+NP <sub>25</sub>	13,71±2,25	164,6±37,59	12,95±1,51	181,3±9,31
5	TF+RZ+NP <sub>75</sub>	14,51±2,16	188,6±31,05	11,40±1,90	148,2±26,17
6	TF+RZ+SF <sub>25</sub>	10,44±2,08	142,7±22,15	12,12±1,15	169,7±11,32
7	TF+RZ+SF <sub>75</sub>	11,86±2,72	158,1±26,13	12,63±1,09	185,2±37,37

\* „Martor” – creșterea semințelor în solul prelucrat cu talc (fără nanoparticule) și cu soluția apoasă a acetonei (fata trifluralina); „RZ” – bacterizarea semințelor cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2 și creșterea lor ulterioară în solul prelucrat ca în varianta „Martor”; „TF” – creșterea semințelor în solul prelucrat cu talc (fără nanoparticule) și cu trifluralina (20 mg/kg); „TF+RZ+NP<sub>25/75</sub>” - creșterea semințelor bacterizate (ca și în varianta „RZ”) în solul prelucrat cu trifluralina (ca în varianta „TF”), și apoi cu nanoparticulele în baza fierului (în concentrațiile de 25 și 75 mg/kg); „TF+RZ+SF<sub>25/75</sub>” – variantele analogice celor precedente, însă, cu introducerea în sol (în loc de nanoparticule) a sulfatului de fier (II) în concentrațiile de 25 și 75 mg/kg.

\*\* 1 și 2 - respectiv, lungimea medie și totală a plantelor de soia în diverse variante (± intervalul de încredere la P=0,95).

Utilizarea nanoparticulelor a avut o influență pozitivă asupra ambilor indici de creștere a plantelor. Mărirea efectelor a depins atât de forma chimică a nanoparticulelor, cât și de concentrația lor (fig. 1). Nanomagnetita a stimulat cel mai efectiv în concentrația de 75 mg/kg (+10,5%; și +2,6% față de martorul cu trifluralina, respectiv, după lungimea medie și totală a plantelor). Nanofierul zerovalent a fost cel mai eficient în concentrația de 25 mg/kg (respectiv, +13,0% și 19,9% fata de martorul cu trifluralina).

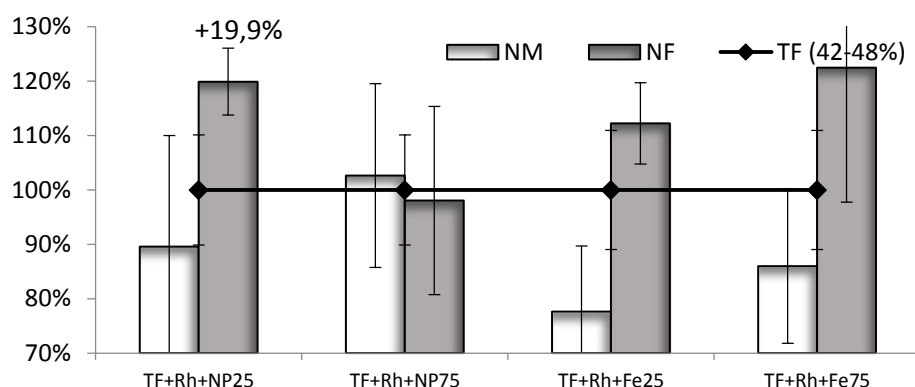


Figura 1. Lungimea totală a plantelor de soia, crescute în sol poluat artificial cu trifluralina (TF), apoi prelucrat cu nanoparticule (NP) de magnetita (NM), sau de fier zerovalent (NFZ), sau cu sulfat de fier bivalent (SF) în concentrații de 25 și 75 mg/kg. Diferențele statistice sunt arătate cu ajutorul intervalului de încredere ( $P=0,95$ ).

Tratarea solului cu sulfat de fier bivalent a avut efecte pozitive veridice (față de martorul cu trifluralina) doar în experiența cu nanofierul zerovalent și numai în concentrația de 75 mg/kg (respectiv, cu +10,2% și +22,5%).

În altă serie de experiențe s-a testat capacitatea nanoparticulelor de fier zerovalent, bacteriilor de nodozități *Rhizobium japonicum* RD2 asupra creșterii plantelor de soia în solul poluat cu POP (trifluralină și DDTs). Datele obținute sunt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2. Influența nanofierului zerovalent, bacteriilor de nodozități *Rhizobium japonicum* RD2 asupra indicilor de creștere la plantele de soia în solul poluat cu POP

Varianta *	Înălțimea medie a plantei		Lungimea medie a rădăcinii		Lungimea totală a plantei (răd.+planta)	
	cm, $M \pm m$	Adaos, %	cm, $M \pm m$	Adaos, %	cm, $M \pm m$	Adaos, %
Martor (sol poluat)	73,23±11,8	-	19,53± 1,68	-	92,76±12,6	-
RZ	84,53± 5,74	15,4	23,59± 2,82	20,8	108,12±7,45	16,6
NFZV	74,23±13,3	1,4	25,15± 3,69	28,8	99,38±14,12	7,1
NFZV+RZ	81,94± 6,59	11,9	24,00± 2,38	22,9	105,94±7,54	14,2

\*, „Martor” – sol poluat însemănat cu semințe de soia nebacterizate; „RZ” – sol poluat însemănat cu semințe de soia bacterizate cu tulpina *Rhizobium japonicum* RD2; „NFZV” – sol poluat tratat cu NFZV (25 mg/kg) și însemănat cu semințe de soia nebacterizate; „NFZV+RZ” – sol poluat tratat cu nanofier zerovalent (25 mg/kg) și însemănat cu semințe de soia bacterizate cu *Rhizobium japonicum* RD2. Analiza statistică este arătată cu ajutorul intervalului de încredere ( $P=0,95$ ).

Conform datelor obținute s-a stabilit, că cele mai eficiente proceduri de diminuare a solului contaminat cu POP (cu trifluralină și DDTs în concentrații, respectiv, de 30,0 și 2,0 mg/kg) au fost: 1) bacterizarea semințelor cu încorporarea lor în solul poluat și 2) tratarea solului poluat cu nanofier zerovalent plus bacterizarea semințelor. Tratarea solului numai cu nanofier zerovalent este mai puțin eficient.

Totodată, s-a stabilit, că bacterizarea semințelor cu *Rhizobium japonicum* RD2 a favorizat creșterea înălțimii plantelor – cu 15,4%, lungimea radacinilor – cu 20,8%, iar lungimea medie a plantelor (radacina+planta) a crescut – cu 16,6% față de martorul poluat cu trifluralina.

Tratarea solului poluat cu nanofier zerovalent și bacterizarea semințelor de asemenea a influențat pozitiv asupra indicilor de creștere cu respectiv 11,9%, 22,9 și 14,2%, iar tratarea solului contaminat numai cu particule de nanofier zerovalent a favorizat esențial creșterea rădăcinilor – cu 28,8% și mai puțin a acționat la alți indici (tab. 2).

Astfel, a fost demonstrată capacitatea nanoparticulelor în baza fierului de a diminua relativ toxicitatea solului poluat cu trifluralină față de plantele de soia. Rezultatele obținute demonstrează perspectiva viitoarelor

cercetări, mai detaliate în ceia ce privește studierea și realizarea potențialului nanobioremedierii în cazurile solurilor contaminate cu POP.

### CONCLUZII:

1. A fost confirmată capacitatea nanoparticulelor în baza fierului de a stimula creșterea plantelor de soia și de a asigura interacțiunea lor pozitivă cu *Rhizobium japonicum* RD2, în condițiile solului poluat cu POP (trifluralină, DDTs).
2. Efectul pozitiv pentru diminuarea solului poluat cu POP a fost obținut în cazul utilizării nanofierului zerovalent și tratării semintelor de soia cu *Rhizobium japonicum* RD2.
3. Efectul obținut de nanoparticule depinde de concentrația, componența lor chimică și de specia de plante.

### Bibliografie:

1. Pleșca, V.; Barbărasă, I.; Cupcea, L.; Marduhaeva, L. *Poluanți organici persistenți în Republica Moldova: probleme, abordări, soluții, realizări*. În: Mediul Ambient, 2008, nr. 5 (41), p. 16.
2. *State of the Environment in the Republic of Moldova, 2007-2010 (National Report – Synthesis)*. - Chisinau: „Nova Imprim” SRL, 2011. - 88 p.
3. *The Eliminators in Moldova. GEF/FAO project Capacity Building on Obsolete and POPs Pesticides in Eastern European, Caucasus and Central Asian Countries (EECCA)*. - Brochure, 2011. - 46 p.  
[https://obsoletepesticides.net/site/wpcontent/uploads/resources/reference/the\\_eliminator\\_in\\_moldova\\_english\\_.pdf](https://obsoletepesticides.net/site/wpcontent/uploads/resources/reference/the_eliminator_in_moldova_english_.pdf)
4. *Obsolete pesticides, 2012*. <https://obsoletepesticides.net/site/home/countries/moldova/>
5. *State of the Environment in the Republic of Moldova in 2003 (National Report)*. Chișinău: Inst. Naț. de Ecologie, 2004. - 130 p.
6. Tor, J., C. Xu, J. M. Stucki, M. Wander, G. K. Sims. *Trifluralin degradation under microbiologically induced nitrate and Fe(III) reducing conditions*. In: Environmental Science & Technology. 2000. 34, 3148-3152.
7. *Official Journal of the European Union*. 2007, L255/42-43.  
<https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:255:0042:0043:EN:PDF3>
8. Cecchin, I.; Reddy, K.R.; Thome, A.; Tessaro, E.F. *Nanobioremediation: Integration of nanoparticles and bioremediation for sustainable remediation of chlorinated organic contaminants in soils*. In: International Biodeterioration & Biodegradation. 2017. 119, 419-428.
9. Galdames, A.; Mendoza, A.; Orueta, M.; et al. *Development of new remediation technologies for contaminated soils based on the application of zero-valent iron nanoparticles and bioremediation with compost*. In: Resource-Efficient Technologies. - 2017. - 3. - P. 166-176.
10. Corcimar, S.; Prisacari, S.; Todiraș, V.; Guțul, T. *Influența nanoparticulelor în baza fierului asupra creșterii plantelor de mazărice (Vicia sativa) în solul poluat cu trifluralină*. În: Bul. AȘM. Științele vieții. 2019, 2 (338), p. 139-143.
11. Онофраш, Л.Ф.; Якимова, М.Ф.; Ковальжиу, А.И.; Волоскова, М.М. *Биопрепараты клубеньковых бактерий для активизации процесса фиксации атмосферного азота*. В: *Симбиотическая азотфиксация и пути ее повышения*. - Кишинев: «ШТИИЦ», 1992. - С. 121.
12. *Legecherie B*. In: Inform. techn. Cetiom. 1978, 62. - P. 11-15.