

## REZUMAT

**Titlul tezei:** Bioremedierea siturilor industriale contaminate cu metale grele

**Student-doctorand:** Bizo Maria Lucia

### Cuprins:

Abrevieri.....	3
Summary.....	4
Zusammenfassung.....	7
Rezumat.....	10
1 Introducere.....	13
1.1 Situri industriale – prezentare generală.....	13
1.2 Metale grele.....	16
1.3 Ectomicorize.....	17
1.4 Ecosisteme utilizate în remediarea ecologică.....	21
1.5 Obiectivele studiului.....	23
2 Materiale și metode.....	24
2.1 Situl investigat și prelevarea probelor.....	24
2.2 Analiza chimică a probelor de sol.....	25
2.3 Experimente de laborator.....	28
2.4 Investigarea microscopică a rădăcinilor micorizate.....	30
2.5 Absorbția metalelor grele în biomasă.....	31
2.6 Microscopie electronică de baleiaj (SEM).....	31
2.7 Microscopie electronică de transmisie (TEM).....	32
3 Rezultate.....	33

3.1	Evaluarea riscului de mediu în situl investigat.....	33
3.2	Efectele generate de metale grele asupra culturilor de laborator.....	37
3.3	Analizarea sistemului de bioremediere.....	45
3.3.1	Investigarea rădăcinilor scurte.....	46
3.3.2	Acumularea metalelor în sistemul de bioremediere.....	48
3.3.3	Distribuția metalelor în sistemul de bioremediere.....	49
3.3.4	Identificarea precipitatelor de plumb.....	51
4	Discuții.....	53
4.1	Potențialul de biomineralizare.....	53
4.2	Formarea clor-piromorfitului.....	55
4.3	Forme minerale ale plumbului în sistemul de bioremediere.....	58
4.4	Mecanisme care permit asocierile ECM în procesul de bioremediere.....	61
4.4.1	Transportul plumbului la nivelul rădăcinii .....	62
4.4.2	Transportul plumbului în părțile aeriene ale plantei.....	67
4.5	Rolul ecologic al simbiozelor ECM în procesul de bioremediere.....	69
4.5.1	Strategii de reîmpădurire.....	69
4.5.2	Implicații derivate în industria verde.....	70
4.5.3	Perspectivă de bioremediere a solurilor contaminate cu metale grele .....	71
5	Bibliografie.....	74
6	Mulțumiri.....	88
7	Declarație de originalitate a tezei.....	90
8	Curriculum vitae.....	91
9	Lista publicațiilor.....	93

**Cuvinte cheie:** bioremediere, contaminare, metale grele, micorize, piromorfit

## Rezumat

Metalele se regăsesc între componentele naturale ale scoarței terestre, o parte dintre acestea fiind catalogate elemente esențiale vieții. Activitățile desfășurate de oameni au generat dezechilibre în distribuția și forma chimică a acestor metale în mediul natural, astfel declanșând un grad ridicat de toxicitate în ecosistemele expuse la surse de poluare antropică. Dezvoltarea unor tehnologii ecologice pentru decontaminarea solurilor este un deziderat pentru controlul poluării mediului. Siturile industriale contaminate cu metale grele reprezintă o categorie specială ce întâmpină dificultăți aparte în procesele de decontaminare, deoarece comportamentul biogeochimic al metalelor este direct influențat de caracteristicile solului regăsit în situl poluat. Metalele grele sunt considerate poluanți periculoși persistenti de interes ecologic, a căror toxicitate depinde de forma chimică a metalului. Astfel, pentru estimarea efectelor ecotoxicologice care pot fi generate de contaminarea cu metale grele este necesară determinarea biodisponibilității metalelor prezente în siturile industriale supuse investigațiilor.

Cu privire la această problemă de mediu, o zonă de studiu a fost aleasă în partea de nord-vest a României. Probe de sol au fost prelevate de pe suprafața unui teren aflat în apropierea unei instalații metalurgice neferoase și o analiză chimică a fost desfășurată pentru evaluarea riscurilor de mediu asociate conținutului de metale grele. Rezultatele anchetei au evidențiat concentrații îngrijorătoare în fracțiile biodisponibile și au indicat conținuturi ridicate de metale în sol, adesea înregistrând depășiri ale pragurilor de alertă și intervenție. De asemenea, contaminarea cu metale grele a determinat o degradare semnificativă a parametrilor de calitate ai solului, astfel fiind preconizate dezechilibre ale funcțiilor aferente solului. Având în vedere că regenerarea naturală a mediului necesită perioade îndelungate de timp, iar metodele convenționale de decontaminare presupun costuri financiare ridicate, prezentul studiu a avut ca obiectiv crearea unui sistem de bioremediere care să susțină dezvoltarea unui ecosistem de sine stătător pentru condițiile regăsite în zona de studiu.

Ectomicorizele (ECM) realizate între organisme rezistente la concentrații ridicate de metale ar putea contribui la refacerea vegetației în siturile industriale contaminate, deoarece simbioza organismelor contribuie la îmbunătățirea calității solului. Deficitul de apă și nutrienți din sol poate fi depășit de fungii de ectomicorize care sunt capabili să colonizeze rădăcinile plantelor inclusiv în condiții de mediu nefavorabile, iar planta gazdă va asigura în schimb necesarul de carbohidrați pentru dezvoltarea fungilor. Pentru a anticipa șansele unor astfel de organisme de a se dezvolta în condițiile sitului aflat sub investigație, un experiment biologic a fost creat. Rolul acestuia a fost de a analiza, prin expunere la diferite nivele de concentrații de metale grele, modul în care poate fi afectată evoluția pinului (*Pinus sylvestris*) ce se dezvoltă în prezența fungilor de ectomicorize *Paxillus involutus* și *Pisolithus tinctorius*. Alegerea organismelor a avut în vedere capacitatea atribuită acestora de a se dezvolta în situri contaminate cu metale grele și faptul că sunt parteneri de simbioză ce se regăsesc în mod natural în mediul înconjurător. Scopul principal al experimentului a fost de a investiga posibilele strategii de apărare împotriva metalelor grele implicate de către partenerii unei simbioze ectomicorizice. Diferite stadii de dezvoltare au fost observate în funcție de variația concentrațiilor de metale, iar modificările fiziologice au fost atribuite efectului indus de prezența metalelor grele.

Bioremedierea mediilor poluate cu metale grele reprezintă o decontaminare ecologică a suprafețelor afectate. Strategiile de decontaminare abordate inițial se bazează pe extragerea metalelor din sol prin intermediul speciilor de plante hiperacumulatoare, care sunt caracterizate de abilități de fitoextracție ale unor cantități ridicate de metale grele. Depozitarea biomasei rezultate în urma utilizării hiperacumulatorilor a reprezentat o problemă dificil de gestionat, motiv pentru care modificarea formei chimice a metalelor în forme mai puțin mobile ale acestora este considerată o alternativă utilă. Scopul acestei strategii de remediere este de a diminua toxicitatea metalelor prin reducerea mobilității și a biodisponibilității acestora în sol, obiectiv ce poate fi realizat prin fitostabilizare cu ajutorul speciilor de plante rezistente la metale grele. Aceste plante asigură o restricționare a transportului de metale la nivelul rizosferei și blochează o mare parte a transferului de metale de la nivelul rădăcinii în părțile aeriene ale plantei.

Răsaduri de pin colonizate de fungi de micorize au fost supuse unor investigații pentru evaluarea conținutului de plumb acumulat de acestea și pentru stabilirea modului de distribuție a acestui metal în țesuturile plantei. Prin intermediul microscopiei electronice au fost determinate acumulări de metal pe suprafața rădăcinii colonizate, astfel fiind emise premisele unor strategii de imobilizare a metalelor prin adsorbție pe suprafața rădăcinii, urmate de procese de precipitare a metalului. Acumulări ale plumbului au fost determinate și în interiorul rădăcinii și al acelor de pin, cele din urmă fiind prezente într-un număr mai restrâns și având dimensiuni reduse comparativ cu cele de la nivelul rădăcinii. Aceste diferențe au fost atribuite mecanismelor de fitostabilizare implicate de pin, care se presupune că au generat o reducere a transportului de plumb înspre părțile aeriene ale plantei. Pentru a obține informații referitoare la compoziția chimică a acumulărilor de metal a fost realizată o analiză microelementală, a căror rezultate au condus la ipoteza biomineralizării plumbului ca acțiune a mecanismelor implicate de plantă în apărarea împotriva metalelor grele.

Potențialul de biomineralizare a fost analizat din perspectiva proceselor de bioreducere, biosorbție și bioacumulare ce pot fi utilizate de organismele analizate. Formarea biomineralelor a fost investigată prin metode de difracție electronică care au determinat existența unor acumulări piromorfite în țesuturile plantei. Aceste structuri minerale au fost încorporate extracelular în peretele celular, localizare care presupune posibile procese de mineralizare în perioada de dezvoltare a peretelui celular. Acest studiu prezintă prima dovadă a transformării plumbului în piromorfit în urma mineralizării induse biologic ca mecanism de apărare al răsadurilor de pin cultivate în prezența plumbului. Având în vedere că mineralele de la nivelul rădăcinii prezintă o morfologie distinctă de cea a mineralelor de la nivelul acelor de pin, existența diferitelor mecanisme de detoxifiere și toleranță la metale grele a fost analizată. O cale de transport ipotetică a fost descrisă pentru deplasarea ionilor de plumb de-a lungul structurii biologice a plantei micorizate, urmărind ruta de transport a apei și posibilele mecanisme inter- sau intracelulare specifice care ar fi putut fi implicate de prezența plumbului. Având în vedere că sistemul de bioremediere propus și-a demonstrat eficiența preconizată, beneficiile ecologice implicate de ectomicorize în strategiile de revegetalizare și reîmpădurire a siturilor industriale poluate cu metale grele au fost evidențiate.