



UNIVERSITATEA „BABEȘ-BOLYAI”
CLUJ-NAPOCA



FACULTATEA DE ȘTIINȚA ȘI INGINERIA
MEDIULUI
ȘCOALA DOCTORALĂ ȘTIINȚA MEDIULUI

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**PERSPECTIVE PRIVIND REABILITAREA
DEPOZITELOR DE STERILE DE FLOTAȚIE PRIN
METODE BIOLOGICE – STUDIU DE CAZ:
IAZUL BOZÂNTA (MARAMUREȘ)**

Cuvinte cheie: iaz de decantare, steril de flotație, drenaj acid al rocilor, ape de mină, *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans*, fitotoxicitate, amendamente.

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT

Prof. univ. dr. CĂLIN BACIU

DOCTORAND

Oana-Corina JELEA

Cluj-Napoca

2024

CUPRINSUL REZUMATULUI

INTRODUCERE.....	5
Capitolul 1. DRENAJUL ACID AL ROCILOR – CAUZE ȘI EFECTE.....	9
Capitolul 2. BIODIVERSITATEA BACTERIILOR FIER- ȘI SULFOXIDANTE ÎN DEPOZITELE DE STERIL MINIER.....	11
Capitolul 3. CĂI DE TRANSFER ALE METALELOR GRELE ÎN PLANTE. FITOREMEDIEREA ȘI REVEGETAREA	14
3.1 Tipuri de fitoremediere.....	14
3.2 Remedierea și revegetarea zonelor poluate.....	15
Capitolul 4. EFECTELE DRENAJULUI ACID AL ROCILOR ASUPRA IAZULUI DE DECANTARE A STERILULUI DE FLOTAȚIE BOZÂNTA	18
4.1 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele iazului Bozânta.....	20
4.1.1 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele sectorului S ₄	20
4.1.2 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele sectorului S ₅	22
4.1.3 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe plaja lacului de decantare	22
4.2 Biodiversitatea bacteriilor fier- și sulfoxidante, producătoare de drenaj acid al rocilor, în sterilul din iazul Bozânta	22
4.2.1 Analizele fizice și chimice ale probelor de steril	23
4.2.2 Analizele microbiologice ale probelor de steril	27
Capitolul 5 STUDIUL EFECTELOR METALELOR GRELE ASUPRA PLANTELOR FOLOSITE ÎN LUCRĂRILE DE REVEGETARE	33
5.1 Teste de germinație. Evidențierea efectelor eluatului industrial asupra indicatorilor germinației.....	33
5.1.1 Principiul metodei	33
5.1.2 Materiale și metode	34
5.1.3 Rezultate și discuții	35
5.1.3.1 Determinarea facultății și a energiei germinative pentru specia de graminee <i>Lolium perenne</i> (iarba de gazon).....	35
5.1.3.2 Determinarea facultății și a energiei germinative pentru specia de graminee <i>Agrostis capillaris</i> (iarba câmpului).....	36
5.2 Teste de creștere. Evidențierea efectelor eluatului industrial asupra creșterii organelor vegetative ale plantelor.....	38
5.2.1 Principiul metodei	38
5.2.2 Materiale și metode	38
5.2.3 Rezultate și discuții	39
5.2.3.1 Evaluarea principalilor indici de calitate a semințelor privind capacitatea de creștere și dezvoltare la specia <i>Lolium perenne</i>	39

5.2.3.2	Evaluarea principalilor indici de calitate a semințelor privind capacitatea de creștere și dezvoltare la specia <i>Agrostis capillaris</i>	42
5.3	Teste de răsărire și creștere pe substraturi cu steril de iaz și amendamente	44
5.3.1	Principiul metodei	44
5.3.2	Materiale și metode	45
5.3.3	Rezultate și discuții	47
5.3.3.1	Determinarea răsăririi pe straturile experimentale pentru specia de graminee <i>Lolium perenne</i> (iarba de gazon)	47
5.3.3.2	Manifestarea fitotoxicității sterilului asupra plantelor de <i>Lolium perenne</i>	47
5.3.3.3	Determinarea răsăririi pe straturile experimentale pentru specia de graminee <i>Agrostis capillaris</i> (iarba câmpului)	49
5.3.3.4	Manifestarea fitotoxicității sterilului asupra plantelor de <i>Agrostis capillaris</i> ...	49
CONCLUZII	53
BIBLIOGRAFIE	56

CUPRINSUL TEZEI

INTRODUCERE	11
Capitolul 1. DRENAJUL ACID AL ROCILOR – CAUZE ȘI EFECTE	19
Capitolul 2. BIODIVERSITATEA BACTERIILOR FIER- ȘI SULFOXIDANTE ÎN DEPOZITELE DE STERIL MINIER	24
2.1 Bacteriile implicate în biosolubilizarea metalelor din sulfuri	24
2.2 Mecanismele proceselor de biooxidare bacteriană	31
2.2.1 Mecanismele oxidării bacteriene a fierului	32
2.2.2 Mecanismele oxidării bacteriene a sulfului	37
2.2.3 Mecanismele oxidării bacteriene a sulfurilor	38
Capitolul 3. CĂI DE TRANSFER ALE METALELOR GRELE ÎN PLANTE. FITOREMEDIEREA ȘI REVEGETAREA	47
3.1 Tipuri de fitoremediere	48
3.2 Remedierea și revegetarea zonelor poluate	52
Capitolul 4. EFECTELE DRENAJULUI ACID AL ROCILOR ASUPRA IAZULUI DE DECANTARE A STERILULUI DE FLOTAȚIE BOZÂNTA	63
4.1 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele iazului Bozânta	68
4.1.1 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele sectorului S ₄	70
4.1.2 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele sectorului S ₅	73
4.1.3 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe plaja lacului de decantare	80
4.1.4 Caracterizarea morfologică și cerințele ecologice ale speciilor ierboase din compoziția fitocenozelor instalate spontan pe iazul Bozânta	83
4.1.5 Caracterizarea morfologică și cerințele ecologice ale speciilor lemnoase din compoziția fitocenozelor instalate pe iazul Bozânta	86
4.1.6 Identificarea urmelor de animale sălbatice care se deplasează pe suprafața iazului Bozânta	87
4.2 Biodiversitatea bacteriilor fier- și sulfoxidante producătoare de drenaj acid al rocilor, în sterilul din iazul Bozânta	88
4.2.1 Analizele fizice și chimice ale probelor de steril	89
4.2.2 Analizele microbiologice ale probelor de steril	94
Capitolul 5. STUDIUL EFECTELOR METALELOR GRELE ASUPRA PLANTELOR FOLOSITE ÎN LUCRĂRILE DE REVEGETARE	106
5.1 Teste de germinație. Evidențierea efectelor eluatului industrial asupra indicatorilor germinației	106
5.1.1 Principiul metodei	106
5.1.2 Materiale și metode	109
5.1.3 Rezultate și discuții	114
5.1.3.1 Determinarea facultății și energiei germinative pentru specia de graminee <i>Lolium perenne</i> (iarba de gazon)	114
5.1.3.2 Determinarea facultății și energiei germinative pentru specia de graminee <i>Agrostis capillaris</i> (iarba câmpului)	116
5.2 Teste de creștere. Evidențierea efectelor eluatului industrial asupra creșterii organelor vegetative ale plantelor	120
5.2.1 Principiul metodei	120
5.2.2 Materiale și metode	121
5.2.3 Rezultate și discuții	121
5.2.3.1 Evaluarea principalilor indici de calitate a semințelor privind capacitatea de creștere și dezvoltare la specia <i>Lolium perenne</i>	121

5.2.3.2	Evaluarea principalilor indici de calitate a semințelor privind capacitatea de creștere și dezvoltare la specia <i>Agrostis capillaris</i>	126
5.3	Teste de răsărire și creștere pe substraturi cu steri de iaz și amendamente	131
5.3.1	Principiul metodei	131
5.3.2	Materiale și metode	131
5.3.3	Rezultate și discuții	137
5.3.3.1	Determinarea răsăririi pe streaturile experimentale pentru specia de graminee <i>Lolium perenne</i>	137
5.3.3.2	Manifestarea fitotoxicității sterilului asupra plantelor de <i>Lolium perenne</i> ..	138
5.3.3.3	Determinarea răsăririi pe straturile experimentale pentru specia de graminee <i>Agrostis capillaris</i> (iarba câmpului)	147
5.3.3.4	Manifestarea fitotoxicității sterilului asupra plantelor de <i>Agrostis capillaris</i>	148
5.4	Teste de germinație, răsărire și creștere pe substraturi cu steril din plaja iazului	156
5.4.1	Materiale, metode și condiții experimentale	156
5.4.2	Rezultate și discuții	158
	CONCLUZII	162
	BIBLIOGRAFIE.....	165

INTRODUCERE

Obiectul cercetării de față este iazul de decantare a sterilului de flotație (*eng.* tailings storage facility – TSFs) Bozânta (Maramureș), un iaz de câmp, fără sistem de impermeabilizare a bazei, așezat pe un strat de argilă nisipoasă cu permeabilitate relativ ridicată. În perioada funcționării, 1976–2006, pe iaz au fost depozitate 44,5 milioane tone de steril.

Suprafața iazului a fost împărțită, convențional, în 11 sectoare: pe S₁–S₄, a fost depus steril provenit de la Flotația Centrală, iar pe S₅–S₁₁, steril de la Uzina de Preparare Săsar. În terasa T₁, este depozitat steril din 1977; sterilul cel mai recent, din terasa T₄, datează din 2005–2006.

După finalizarea fiecărei terase au fost realizate plantații cu salcâm (*Robinia pseudoacacia*) sau salcâm roșu (*Robinia hispida*): a) pe sectorul S₄, cu steril provenit de la prelucrarea minereului complex Cu–Pb–Zn (T₁–T₂ – salcâm în gropi cu pământ de împrumut și acoperirea cu pământ a suprafețelor teraselor în scopul înierbării spontane; T₃ – salcâm în gropi cu pământ, fără acoperirea suprafețelor; T₄ – nu au fost executate plantări. b) pe sectorul S₅, cu steril provenit de la prelucrarea minereului Au–Ag, (T₁ – salcâm în gropi cu pământ, fără acoperirea suprafețelor; T₂ (zona vestică) – salcâm roșu în gropi cu pământ și acoperirea suprafețelor; T₂ (zona estică) – salcâm în gropi cu pământ, fără acoperirea suprafețelor; T₃ – salcâm în gropi de steril, fără pământ; T₄ – nu au fost executate plantări).

În anul 1995, pe terasa T₁ a sectorului S₅, au fost semnalate primele manifestări de uscare a salcânilor, în special a celor plantați pe T₁ și T₂. Și a fost împrăștiat calcar. Doar simpla împrăștiere de calcar pe suprafața iazului nu a avut efectul scontat.

În prezent se cunoaște că fenomenul de oxidare a fierului și a sulfului, conținute în sulfurile din rocile depozitate în iazurile de decantare (de exemplu, pirit) este biocatalizat de bacteriile fier- și sulfoxidante care trăiesc în mod natural în aceste materiale; la momentul plantării copacilor pe iazul Bozânta, 1975, trecuseră doar 30 de ani de când cercetătorii americani Temple & Colmer (1951a), în laboratoare, au izolat, descris și denumit microorganismul cu rol în drenajul miner acid (*eng.* acid mine drainage – AMD), sau drenajul acid al rocilor (*eng.* acid rock drainage – ARD): bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Sub influența materialelor alcaline, bacteriile fier- și sulfoxidante *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Bond și colab., 2000a), acidofile care trăiesc la un pH optim între 1,5 și 2,8, ar trebui să-și diminueze activitatea. Doar că, fenomenul de drenaj acid al rocilor nu este întreținut exclusiv de *A. ferrooxidans*: *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *Starkeya novella*, *Thiobacillus thioparus*, *Thiomonas intermedia*, *Acidianus brierleyi* sunt doar câteva dintre speciile bacteriene a căror asociere conduce la realizarea unei biodiversități a microflorei oxidative cu potențialul de a trăi în cele mai extreme medii.

În urma observațiilor realizate pe iazul Bozânta, în cadrul activităților pentru realizarea lucrării de licență „*Biodiversitatea bacteriilor fier- și sulfoxidante în Iazul de decantare a sterilului de flotație Bozânta - Maramureș*” (Facultatea de Biologie și Geologie, Specializarea Biologie, Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca), sub îndrumarea domnului Conf. dr. Vasile Muntean, în perioada 2013–2015, la peste 40 de ani de la plantarea primilor salcâmi pe iaz și la 20 de ani de la prima semnalare a uscării vegetației, am constatat amploarea fenomenului și am început cercetarea cauzelor: drenajul acid al rocilor, aflat într-un stadiu avansat de manifestare (Jelea, 2014; 2015).

După analiza consorțiilor bacteriilor oxidative instalate în sterilul din terasele iazului, după identificarea efectelor drenajului acid al rocilor asupra sterilului din iaz și a vegetației (plantată sau instalată în mod spontan), dar și a efectelor poluante exercitate asupra factorilor de mediu și a comunităților umane (Jelea, 2015), următoarea etapă trebuia să includă soluții.

Mai întâi au fost studiile realizate în laborator, cu soluții sintetice, pentru evidențierea efectelor metalelor grele asupra plantelor cunoscute ca bioacumulatori:

- Efectele fitotoxice ale plumbului asupra germinării semințelor și creșterii biomasei la *Lolium perenne L* și *Lactuca sativa var. capitata L* (Jelea et al., 2015);
- Efectele fitotoxice ale cuprului asupra germinării semințelor și creșterii biomasei la *Triticum aestivum L* și *Lactuca sativa L* (Jelea et al., 2016);
- Efectele fitotoxice ale cuprului asupra creșterii, morfologiei și anatomiei organelor vegetative ale plantelor de *Triticum aestivum L* (Jelea et al., 2017).

În perioada studiilor masterale, 2015-2017, Specializarea Gestiunea și Protecția Mediului din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Mediului, Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca, în cadrul cercetărilor pentru elaborarea lucrării de disertație “*Studiul efectelor metalelor grele conținute în sterilul de flotație din Iazul Bozânta asupra plantelor folosite în lucrările de revegetare*”, sub îndrumarea domnului Prof. dr. Călin Baciu și a doamnei Conf. dr. Dana Malschi, am trecut de la studiile realizate cu soluții sintetice monometalice, la o nouă etapă:

- Studiul efectelor metalelor grele asupra germinării semințelor și a creșterii organelor vegetative și a biomasei plantelor utilizate în lucrările de revegetare, folosind eluat industrial (soluția solului) obținut din steril prelevat din iazul Bozânta.

Cercetările au fost realizate cu soluții complexe, cu conținut de fier, cupru, plumb, zinc, cadmiu, nichel ș.a., obținute din sterilul din iaz.

Activitățile din teren, cu observațiile privind deteriorarea teraselor, starea plantelor de pe terase și din plaja iazului, activitățile de prelevare a probelor de steril, au reprezentat un prilej de aprofundare a cunoștințelor, dar și de conștientizare privind ritmul accelerat al transformărilor care decurg din dinamica proceselor de drenaj acid în sterilul depozitat pe terasele iazului.

Activitățile din laborator, cu pregătirea soluțiilor necesare experimentelor, urmărirea germinării semințelor și a efectelor asupra creșterii organelor vegetative, prelucrarea probelor de steril, analizele fizice, fizico-chimice, chimice, realizarea amestecurilor de steril cu amendamente, studiul creșterii plantelor pe amestecuri, interpretarea rezultatelor, au reprezentat o îmbogățire a cunoștințelor și o înțelegere la nivel superior a fenomenelor.

Teza de doctorat, intitulată “Perspective privind reabilitarea depozitelor de sterile de flotație prin metode biologice – Studiu de caz: Iazul Bozânta (Maramureș)” este o continuare firească a activităților începute în anul 2013.

Scopul cercetărilor a fost testarea unor specii de plante ierboase privind creșterea în condițiile oferite de sterilul de flotație din iazul Bozânta și elaborarea unor amestecuri cu amendamente în vederea realizării unui covor vegetal cu rol în creșterea stabilității suprafețelor, diminuarea spulberărilor de steril în zonele limitrofe, stoparea/diminuarea proceselor de drenaj acid al rocilor.

În primul capitol, *Drenajul acid al rocilor – cauze și efecte*, sunt descrise mecanismele degradării sterilului provenit în urma exploatării și prelucrării minereurilor de metale neferoase, în procesul de drenaj acid al rocilor, sub influența catalizatoare a bacteriilor fier- și sulfoxidante, cu formarea apelor acide de mină încărcate cu metale grele.

În capitolul al doilea, *Biodiversitatea bacteriilor fier- și sulfoxidante în depozitele de steril minier*, se prezintă evoluția cercetărilor privind bacteriile implicate în biosolubilizarea metalelor din sulfuri și mecanismele proceselor de biooxidare.

Capitolul al treilea, *Căi de transfer ale metalelor grele în plante. Fitoremedierea și revegetarea*, prezintă mecanismele de transfer al metalelor grele solubile, din sol/steril în plantă, transportul și acumularea lor în organele vegetative. Sunt prezentate speciile de plante eficiente în procesele de fitoextracție a metalelor și fitostabilizare, tipurile de amendamente ce pot fi folosite pentru reglarea pH-ului, sau reducerea mobilității metalelor grele din solurile poluate.

Capitolul al patrulea, *Efectele drenajului acid al rocilor asupra iazului de decantare a sterilului de flotație Bozânta*, prezintă observațiile din teren și rezultatele analizelor de laborator realizate pe parcursul ultimilor ani, în perioada 2020–2023, privind evoluția stării vegetației și a gradului de alterare a sterilului de pe terase și din plaja iazului.

Prin rezultatele analizelor de laborator, fizice, fizico-chimice, chimice și microbiologice, a fost pus în evidență stadiul diferit de manifestare a fenomenului de drenaj acid al rocilor în sterilul din terasele iazului și efectele asupra gradului de alterare a vegetației. A fost propus un model de estimare a stadiului și a evoluției procesului de drenaj acid al rocilor în sterilul din terasele iazului, pe baza proprietăților fizico-chimice, a speciilor bacteriene identificate și a raportului lor numeric.

Luând în considerare că terasele iazului se găsesc în etape diferite de manifestare a fenomenelor de drenaj acid al rocilor, au fost realizate cercetări pentru identificarea măsurilor adecvate de stopare/diminuare a fenomenelor degradative și aplicarea lor diferențiată pe terasele iazului, în funcție de gradul de alterare a rocilor, estimarea evoluției proceselor degradative și a consecințelor privind vegetația instalată. Aceste cercetări fac obiectul celui de-al cincilea capitol *Studiul efectelor metalelor grele asupra plantelor folosite în lucrările de revegetare.*

Au fost realizate două tipuri de teste:

- teste pentru evidențierea efectelor soluțiilor din iaz asupra indicatorilor germinației și a creșterii organelor vegetative ale plantelor;
- teste de răsărire și creștere pe substraturi cu steril de iaz și amendamente.

Pe sterilul provenit din terasele iazului plantele au fost testate în câte 11 variante de lucru, în vederea aplicării în teren a celor mai eficiente substraturi în funcție de condițiile particulare identificate pe terasele iazului.

Au fost testate plante ierboase din speciile: *Lolium perenne* L., *Agrostis capillaris* L. Sibth., *Sinapis alba* L. și *Trifolium pratense* L.

În urma analizelor privind creșterea plantelor pe substraturi au fost selectate amestecurile ce vor fi propuse pentru aplicare în teren, pentru fiecare terasă.

Contribuții cu caracter de noutate

- Elaborarea unei metodologii complexe, multidisciplinare, de cercetare a proceselor drenajului acid al rocilor în iazul de decantare a sterilului de flotație, a fost definitivă pentru obținerea rezultatelor și interpretarea la nivel superior a datelor obținute.

- O contribuție importantă este elaborarea unui model de estimare a stadiului și a evoluției procesului de drenaj acid al rocilor, pe baza proprietăților fizico-chimice ale probelor de steril, a speciilor bacteriene identificate, a raportului lor numeric și a relațiilor interspecifice în sterilul iazului de decantare. Modelul se bazează pe observațiile și rezultatele obținute pe parcursul celor 10 ani de cercetări și pe aprofundarea cunoștințelor privind mecanismele proceselor de drenaj acid al rocilor, în cadrul studiilor doctorale care au reprezentat o intensă perioadă de concentrare a atenției asupra detaliilor.

- Întregul proces de cercetare a fost elaborat în scopul realizării unor soluții de revegetare adecvate, care să fie aplicate diferențiat, în funcție de particularitățile sterilului din fiecare terasă a iazului.

- Prin modul de desfășurare a cercetărilor în această teză de doctorat se propune o nouă perspectivă privind abordarea într-un mod complex și complet a studiilor care se realizează pentru revegetarea depozitelor de steril de flotație.

DRENAJUL ACID AL ROCILOR – CAUZE ȘI EFECTE

Zăcămintele, acumulări naturale de elemente utile, care împreună cu rocile pe care le conțin formează minereuri, sunt distribuite neuniform la nivel planetar în scoarța terestră, atât din punct de vedere al tipurilor de mineralizații cât și al conținuturilor. Concentrațiile elementelor utile în minereurile de substanțe minerale nemetalifere pot varia de la 25% la 90%; în minereurile neferoase și rare elementele utile pot reprezenta între 0,3–0,6%, concentrațiile fiind mai ridicate pentru minereurile feroase (Lăzărescu, 1983).

Indiferent de tehnologia extractivă folosită pentru exploatarea zăcămintelor, în subteran (mină) sau la suprafață (carieră), pe lângă minereurile cu elemente utile în concentrații extractibile, rezultă și roci fără mineralizații sau cu concentrații sub nivelul tehnologic de extracție, considerate *steril minier*. Acestea nu intră în circuitul tehnologic de extracție și sunt depuse în apropierea minelor sau a carierelor, constituind așa-numitele *halde de steril minier*, depozite cu granulometria diferite, cu conținuturi variabile de elemente utile.

În industria metalelor neferoase extracția elementelor utile din minereuri presupune aplicarea unor operații de măcinare și de tratare chimică a materialului fin granulat, tehnologie cunoscută sub denumirea de *preparare prin flotație*; în urma prelucrării rezultă substanța minerală utilă și *sterilul de flotație* – deșeu al industriei extractive, care se depozitează în *iazuri de decantare a sterilului de flotație* (eng. tailings storage facility – TSF).

Deși numite *sterile*, în haldele miniere și în iazurile de decantare sunt stocate mii de tone de elemente minerale utile; de exemplu, în 1000 tone steril, provenit de la exploatarea unui minereu de metale neferoase cu conținut de 0,1% Cu (sub concentrația prelucrabilă, care este de peste 0,6%) este stocată o cantitate de o tonă de cupru.

Din perspectiva mineritului durabil, substanțele utile rămase în steril, nerecuperate în momentul producției, reprezintă potențiale resurse pentru viitoare reprocesări. În anul 1994, 2% din producția totală de cupru la nivel mondial a provenit din steril reprelucrat (Alcalde et al., 2018). În Chile, de la începutul anilor '90, au fost înființate companii miniere dedicate exclusiv reprocesării sterilului pentru recuperarea cuprului și molibdenului. Reprocesarea sterilului din depozitele vechi ar putea duce la o rată de producție mai mare decât prelucrarea minereurilor primare, deoarece tehnologiile clasice de recuperare au fost ineficiente (Edraki et al., 2014).

În depozitele de steril, halde și iazuri, provenite în urma exploatării și prelucrării minereurilor de metale neferoase, au fost observate fenomene naturale de alterare a rocilor.

Fenomenele naturale de oxidare a rocilor mediate bacterian sunt cunoscute sub diverse denumiri: biosolubilizarea minereurilor, bioleșiere, leșiere bacteriană (*eng.* bioleaching; *fr.* biolixiviation), drenaj acid al rocilor (*eng.* acid rock drainage – ARD), sau drenaj minier acid (*eng.* acid mine drainage – AMD) (Bond et al., 2000).

Drenajul acid al rocilor constă în oxidarea biocatalizată a fierului și a sulfului, conținute în sulfurile prezente în roci (ex.: pirit – FeS_2) cu formarea de fier trivalent (Fe^{3+}) și acid sulfuric (H_2SO_4); alte sulfuri (ex.: calcozin – Cu_2S ; covelin – CuS ; sfalerit – ZnS ; galenă – PbS ; arsenopirit – FeAsS etc.) eliberează în soluții ionii metalelor componente, cu formare de sulf elemental, S^0 , care apoi este oxidat la acid sulfuric (Zarnea, 1984; Muntean, 2009). Acidul sulfuric acționează asupra mineralelor oxidice conducând la solubilizarea metalelor conținute; soluțiile rezultate, cu pH acid și concentrații ridicate de metale sunt *ape acide de mină* (Bond et al., 2000).

Fenomenele de drenaj acid al rocilor conduc la o poluare multifactorială și sunt prezente în toate depozitele de steril minier și de flotație provenite în urma procesării minereurilor neferoase cât și în exploatările miniere active sau abandonate (Ighalo et al., 2022).

Din depozitele de steril, în care au loc procese de biosolubilizare a rocilor, exfiltrează soluții acide încărcate cu metale care ajung în apele de suprafață și în pânza freatică (Yuan et al., 2022). Culoarea exfiltrațiilor sugerează informații despre compoziția acestora: culoarea roșiatică indică prezența ionilor de fier feric, Fe^{3+} , culoarea verzuie prezența ionilor de Cu^{2+} , iar culoarea albăstruie prezența ionilor de fier feros, Fe^{2+} (Masindi et al., 2022).

Toxicitatea produsă de metalele grele depinde de concentrația și biodisponibilitatea lor în sol. În funcție de biodisponibilitatea metalelor grele/metalozilor din sol, acestea se pot clasifica în: ușor biodisponibile (Cd, Ni, Zn, As, Se, Cu); moderat biodisponibile (Co, Mn, Fe); mai puțin biodisponibile (Pb, Cr).

Solul contaminat și condițiile acide provoacă degradarea vegetației (Schippers et al., 2000; Jelea, 2015), și împiedică formarea unui covor vegetal, ceea ce amplifică fenomenele de eroziune (Moreno-Jiménez et al., 2016). Particulele fine de steril sunt dispersate cu ajutorul vântului contaminând culturile agricole (Zine et al., 2020). Metalele din solul contaminat afectează structura și buna funcționalitate a comunităților microbiene și indirect, cantitatea și calitatea producției (Kafle et al., 2022; Thomas et al., 2022).

Printre modalitățile de remediere ecologică a iazurilor de decantare, amintim remedierea artificială și restaurarea spontană. Remedierea ecologică artificială include refacerea vegetației (Merino–Martín et al., 2017; Song et al., 2022) și ameliorarea substratului (Song et al., 2022; Jelea & Baci, 2023). Restaurarea spontană descrie folosirea speciilor de plante instalate în mod natural pe suprafața haldelor miniere, adaptate compoziției substratului (Damian & Damian, 2006).

BIODIVERSITATEA BACTERIILOR FIER- ȘI SULFOXIDANTE ÎN DEPOZITELE DE STERIL MINIER

Colmer & Hinkle (1947) descriu rolul microorganismelor în drenajul minier acid, iar apoi izolează și descriu bacteriile cu rol în accelerarea proceselor de oxidare a fierului și sulfurii, împreună cu Temple (Colmer et al., 1950; Temple & Colmer, 1951a) și le denumesc *Thiobacillus ferrooxidans* (Temple & Colmer, 1951b).

Temple & Delchamps (1953) prezintă dovezi că *T. ferrooxidans*, în cărbunele bituminos, este un oxidant autotrof al disulfurii de fier (pirit), cu formare de sulfat feros, sulfat feric și sulf elemental, iar *T. thiooxidans* intervine în oxidarea sulfurii rezultat în urma oxidării piritei, cu formare de acid sulfuric.

Diferențele morfologice sau fiziologice, evidențiate în timp, au determinat confirmarea, reclasificarea sau redenumirea speciilor și reorganizarea genurilor: *T. novellus* (în *Starkeya novella*) (Kelly et al., 2000), *T. ferrooxidans* (în *Acidithiobacillus ferrooxidans*), *T. thiooxidans* (în *Acidithiobacillus thiooxidans*) (Bond et al., 2000).

Pe baza reevaluărilor, au fost recunoscute recent și alte specii în genul *Acidithiobacillus* și anume: *A. ferrivorans* (Hallberg et al., 2010), *A. ferridurans* (Hedrich & Johnson, 2013) și *A. ferriphilus* (Falagán & Johnson, 2016; Nuñez et al., 2017).

Speciile genului *Acidithiobacillus* sunt reprezentate de bacili flagelați, gram-negativi, cu lungimea de 1–2 μ și diametrul de 0,5–1 μ .

Cele mai multe specii ale genului cresc în medii lichide sau pe roci cu pH-ul cuprins între 0,5 și 5, optimul pentru dezvoltarea lor fiind sub 3,0, în timp ce altele, de exemplu *A. thiooxidans*, au un spectru de pH foarte larg în care pot fi active, de la puternic acid la neutru (Ko et al., 2013).

Dintre speciile genului *Acidithiobacillus*, *A. thiooxidans* și *A. ferrooxidans* sunt mezofile, cu temperaturi optime în jur de 28–30 °C (Falagán et al., 2019; Kelly & Wood, 2000).

Acidithiobacillus sp. sunt bacterii autotrofe, chimiosintetizante, sursa de energie fiind energia chimică rezultată din oxidarea diferitelor substanțe anorganice (Robertson & Kuenen, 2006; Rzhapishevska, 2008; Li et al., 2023), neavând capacitatea de a descompune substanțele organice, prezența acestora influențând negativ dezvoltarea lor. Sursa de carbon pentru sinteza substanțelor proprii este dioxidul de carbon din mediul lichid (Muntean, 2009).

Caracteristica esențială a genului *Acidithiobacillus* o reprezintă capacitatea de oxidare a sulfurii sau/și a fierului. Pe baza diferențelor de substraturi energetice, speciile din genul *Acidithiobacillus* pot fi împărțite în două grupe (Wang et al., 2019):

- grupa speciilor sulfoxidante *A. thiooxidans*, *A. caldus* și *A. albertensis*;

Capitolul 2. BIODIVERSITATEA BACTERIILOR FIER– ȘI SULFOXIDANTE ÎN DEPOZITELE DE STERIL MINIER

- grupa speciilor sulf- și fieroxidante, care include *A. ferrooxidans*, *A. ferrivorans*, *A. ferriphilus* și *A. ferridurans*.

Acidithiobacillus thiooxidans sunt bacterii sulfuroase nefilamentoase, chemolitoautotrofe, obligat aerobe (Yang et al., 2019).

A. thiooxidans oxidează sulfurul elemental, sulfitul, tiosulfatul și tetracionatul, având rol în solubilizarea metalelor prin producerea de acid sulfuric; nu oxidează sulfurile și nu pot oxida fierul (Rohwerder & Sand, 2003; Ko et al., 2013; Yang et al., 2019; Saavedra et al., 2020).

Trăiesc în medii cu spectru larg de pH, cuprins între 1 și 7, cu optim între 2 și 4 (Ko et al., 2013); sunt tolerante la aciditate foarte mare, până la pH 0,5 (Robertson & Kuenen, 2006). Domeniul optim de temperatură este 28–30 °C. Există și studii care indică o temperatură optimă de 37 °C (Ko et al., 2013).

Sunt răspândite în soluri și minereuri cu conținut de sulf și sulfuri minerale, în cărbunele piritos și în apele acide de mină sau sulfuroase.

Acidithiobacillus ferrooxidans sunt bacterii sulfuroase nepigmentate, nefilamentoase, chemolitoautotrofe, aerobe și nesporulate (Bosecker, 1997; Saavedra et al., 2020; Li et al., 2023).

Specia *A. ferrooxidans*, descrisă de Temple & Colmer încă din anul 1951, își asigură energia oxidând sulfurile naturale care conțin S^{2-} , sulfurul elemental (S^0) și alți compuși ai sulfurului, ca tiosulfatul ($S_2O_3^{2-}$) și tetracionatul ($S_4O_6^{2-}$), până la acid sulfuric și fierul feros (Fe^{2+}) la fier feric (Fe^{3+}) (Silverman & Lundgren, 1959; Valdés et al., 2008; Li et al., 2023).

Sunt bacterii acidofile, cu pH-ul optim între 2,0–2,5, dar suportă și valori mai scăzute (Rohwerder et al., 2003). Temperatura optimă de dezvoltare este între 25–35 °C (Smith et al., 1988; Nemati & Webb, 1997; Li, 2016).

În medii geochimice adverse, de exemplu pH >4, în lipsa unor surse de energie ușor disponibile (pirit) sau lipsă de oxigen, *A. ferrooxidans* poate supraviețui utilizând fierul feric ca acceptor alternativ de electroni la reducerea sulfurului în condiții anaerobe (Sugio et al., 1985; Pronk et al., 1992; Ohmura et al., 2002).

Sunt răspândite în apele de mină acide, în ape naturale sau industriale cu conținut de fier și sulf (Zarnea, 1994), în solurile și minereurile cu conținut de sulfuri, în minereurile de sulf și fier (Li et al., 2023) și în cele de cărbune piritos.

În același mediu de viață, sau în medii asemănătoare, trăiesc și alte genuri bacteriene cu rol în biosolubilizarea metalelor: *Starkeya* (Santer et al., 1959); *Thiomonas* (Milde et al., 1983); *Sulfolobus* (Pivovarova & Golovacheva, 1985); *Thiobacillus* (Karavaiko, 1985; Kelly & Wood, 2000); *Leptospirillum* (Hippe, 2000; Coram & Rawlings, 2002); *Acidiphilium* (Rohwerder & Sand, 2003), etc.

Leptospirillum ferrooxidans este o bacterie autotrofă, spiralată, cu flagel polar și mișcări vibratorii (Hutchins et al., 1986).

Oxidează aerob fierul feros, în calitate de unică sursă de energie, la temperaturi cuprinse între 28–30 °C și un pH cuprins între 1,5 și 3,0 (Gadd, 2009; Nicolova et al., 2017; Bleeze et al., 2018) și nu oxidează sulfurul sau sulfurile minerale. Poate produce oxidarea piritului și a calcopiritului dacă este cultivată împreună cu bacteriile sulfoxidante *Acidiphilium acidophilum* sau *A. thiooxidans* (Karavaiko, 1985).

Activitatea fieroxidantă a leptospirililor se accelerează la o temperatură de peste 40 °C și la aciditatea ridicată a mediului (pH-ul de 0,7–1,0), în condiții de aerare adecvată, sursă de energie (ioni feroși) și carbon (Rojas-Chapana & Tributsch, 2004). Dizolvarea piritei este mai rapidă în mediile în care se găsesc atât leptospirili cât și tiobacili fieroxidanți din genul *A. ferrooxidans* și continuă la valori acide ale pH-ului, inhibitoare pentru *A. ferrooxidans* (Hutchins et al., 1986).

Starkeya novella este un cocobacil gram-negativ, neflagelat, facultativ sulfoxidant, care are capacitatea de a trăi facultativ chemolitotrof (Santer et al., 1959), heterotrof sau metilotrof (Kelly et al., 2000; Kappler et al., 2012). Poate oxida, până la sulfat, sulfurile, sulfitul și tiosulfatul (Hein et al., 2023).

Intervalul de temperatură pentru creștere este cuprins între 10–37 °C, cu optimul între 25–30 °C și un interval de pH de la 5,7–9,0 cu un optim la pH 7,0 (Kelly et al., 2000). Cresc pe medii cu tiosulfat și tetracionat în condiții aerobe, dar nu pe sulf sau tiocianat (Kappler et al., 2012). Sărurile de amoniu, nitrații, ureea și glutamatul pot servi drept surse de azot. Au fost publicate mai multe studii care susțin creșterea heterotrofă pe substraturi care includ glucoză, formiat, metanol, oxalat (Kappler et al., 2012).

Trăiește la un pH optim între 4,5–7,0. Este o bacterie tolerantă față de acidități mari, constatându-se prezența ei în soluri cu pH 2,2, în minereuri și ape de mină, având activitate metabolică și la un pH mai mic de 0,6 (Müller, 1968).

Thiomonas intermedia este o bacterie gram-negativă, moderat acidofilă facultativ heterotrofă. Are capacitatea de a utiliza tetracionatul în condiții oxice și anoxice. Poate utiliza glucoza, extractul de drojdie și sulfatul din mediu (Wentzien & Sand, 1999; 2004).

CĂI DE TRANSFER ALE METALELOR GRELE ÎN PLANTE. FITOREMEDIEREA ȘI REVEGETAREA

Concentrațiile ridicate de metale grele din zonele de extracție a minereurilor metalifere reprezintă un risc pentru solurile, râurile, vegetația și populația din apropiere. Dacă metalele grele se găsesc în forme solubile, din sol sunt transferate în plantă. Concentrația în sol a metalelor și biodisponibilitatea lor depind de o serie de factori precum fracția granulometrică, conținutul în materie organică, capacitatea de schimb cationic, conținutul în nutrienți, structura și compoziția chimică a siturilor de schimb al metalelor în matricile organice și anorganice ale solului și afinitatea față de liganzii anionici din soluția solului (Kabata–Pendias & Pendias, 2001). Transferul depinde de caracterul chimic al metalului, tipul plantei, pH-ul și Eh-ul soluției solului, textura solului, regimul hidrologic, condițiile climatice, conținutul în argilă (Mihali et al., 2013).

Plantele preiau metalele din soluția solului sub formă ionică sau sub formă complexată de chelați. Mecanismele de preluare ale metalelor din sol sunt specifice. Plumbul și nichelul sunt absorbite la nivel radicular pe cale pasivă, iar cuprul, molibdenul și zincul pe cale activă. Metalele sunt translocate prin xilem la lăstari. Procesul de transport este urmat de metabolizare, detoxifiere și depozitarea metalelor. În organele aeriene metalele sunt acumulate în vacuole. Prin sechestrarea metalelor în vacuole este eliminat excesul de metal din citoplasmă celulei și se reduce implicarea lor în procesele fiziologice (Patra et al., 2021).

3.1 Tipuri de fitoremediere

Fitoremedierea include *fitoextracția*, *fitovolatilizarea*, *rizofiltrarea* și *fitostabilizarea*.

Fitoextracția descrie utilizarea plantelor pentru translocarea și acumularea de metale grele în organele vegetative. Această tehnică cuprinde mobilizarea contaminanților în rizosferă, absorbția cationilor metalici cu ajutorul rădăcinilor plantelor, formarea complexului metal-ligand, translocarea complexelor în frunze și în vacuolele acestora unde sunt stocate (Kafle et al., 2022).

Plantele utilizate pentru fitoextracție trebuie să aibă o creștere rapidă, producție mare de biomasă (>3 tone s.u/ha/an), să se recolteze ușor, să acumuleze concentrații mari de metal în biomasă (>1000 mg/kg biomasă), să ofere beneficii economice, sistemul radicular bine dezvoltat și să nu fie consumate de animalele erbivore (Kafle et al., 2022). După fitoextracție, metalele grele pot să rămână parțial în sol sau în rădăcinile plantelor.

Pentru fitoextracție se folosesc diferite specii de plante: *Brassica juncea* (pentru Pb), *Lactuca sativa* și *Lolium perenne* (pentru Ni, Co, Fe), *Nicotiana tabacum* (pentru Cd), *Salix sp.*

(pentru Cd), *Solanum nigrum* (pentru Cu, Zn, Cd), *Heliantus annuus* (pentru Cu, Zn, Pb, Hg, As, Cd, Ni) (Kafle et al., 2022).

Fitostabilizarea este denumită și inactivare *in-situ* sau *fitoimobilizare*. Pentru fitostabilizare se folosesc plante tolerante la metale grele. Succesul fitostabilizării depinde de capacitatea plantei de a tolera concentrațiile mari de metale grele din sol și valorile extreme ale pH-ului. Constantinescu et al. (2019), recomandă specia *Agrostis capillaris* pentru fitostabilizarea solurilor contaminate cu Cd, Cu și Zn.

Fitovolatilizarea presupune transformarea unor metale absorbite de plante și translocarea lor în lăstari într-o formă mai puțin toxică și volatilă. Prin fitovolatilizare contaminanții nu sunt eliminați în totalitate și sunt transformați într-o altă fază (Zulkernain et al., 2023).

Rizofiltrarea presupune un mecanism specific unor plante acvatice și terestre care favorizează precipitarea metalelor grele (Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Zn) la suprafața rădăcinii sau absorbția de către rădăcină a poluanților solubili existenți în soluția solului, care înconjoară zona rădăcinii (rizosfera). Rizofiltrarea este o metodă de tratare a apelor de suprafață și subterane care conțin metale la nivel de urme.

Principiul fitoremedierii se bazează pe capacitatea unor plante de a tolera în mod unic poluanții din mediu. În funcție de această capacitate, plantele sunt *acumulatori*, *hiperacumulatori*, *excluderi* sau *indicatori* (Burges et al., 2018).

Plantele *acumulatori* sunt indigene unui anumit tip de sol și sunt indicatori geobotanici ai depozitelor formate. Un acumulator preia activ metalele grele în biomasa lor supraterană, iar un hiperacumulator preia metale peste 1% din greutatea lor uscată (Baker & Brooks, 1989).

Plantele *hiperacumulatoare* sunt plante care atunci când sunt expuse la concentrații ridicate de metale grele, sunt capabile să le acumuleze în părțile aeriene fără simptome de fitotoxicitate (Suman et al., 2018).

Plantele *excluderi* tolerează metale grele și sunt capabile să supraviețuiască în soluri care conțin concentrații ridicate de metale grele. Aceste plante au un potențial redus de extracție a metalelor și sunt utilizate pentru prevenirea și/sau stabilizarea eroziunii solurilor poluate cu metale.

Plantele *indicatori* preiau suficient metal pentru a ajunge la echilibru cu concentrația lui din rizosferă (Lasat, 2000; Burgos et al., 2018).

3.2 Remedierea și revegetarea zonelor poluate

Plantele au fost folosite în ultimii ani ca mijloc de stabilizare sau de îndepărtare a metalelor grele din solurile contaminate. În sol, metalele grele pot fi a) asociate cu soluția solului (ioni de metal și complexe metalice solubile); b) adsorbite de constituenții anorganici ai solului la locurile

de schimb ionic; c) legate de materia organică din sol; d) precipitate sub formă de oxizi, hidroxizi sau carbonați; e) încorporate în structura mineralelor silicate (Lasat, 2000).

Pe termen scurt, plantele previn dispersarea particulelor de metale pe cale aeriană și prin apa de eroziune și reduc mobilitatea metalelor. Pe termen lung, plantele îmbunătățesc structura și calitatea solului contaminat (cresc conținutul de materie organică, de nutrienți și capacitatea de schimb cationic) și biodiversitatea solului (Arienzo et al., 2004). Plantele utilizate pentru remediere trebuie să dezvolte rezistență la boli, dăunători și la factorii de stres din mediu, să permită asocierea cu alte specii și să se adapteze condițiilor agroecologice.

Plantele ierboase sunt importante pentru remediere, datorită biomasei crescute și capacității de a crește uniform pe soluri mai puțin fertilizate și datorită potențialului în conservarea solului și controlul eroziunii. Familia Poaceae include 780 de genuri și 12000 de specii de plante. Poaceele (monocotiledonate) au o toleranță mare la poluanți comparativ cu dicotiledonatele.

În tabelul 3.1 sunt prezentate plantele ierboase perene utilizate pentru remediere.

Tabelul 0.1 Plantele ierboase perene care reprezintă resurse genetice potențiale pentru remediere (după Pandey & Maiti, 2020)

Denumire științifică	Denumire populară	Contaminanți	Bibliografie
<i>Agrostis alba</i>	iarba-câmpului	Ti, Ni, Mo, Cr, Cu, Sn	Elekes & Busuioc (2011)
<i>Agrostis tenuis</i>	iarba vântului	Cu, Cr, Sn	Houben & Sonnet (2015); Sharma et al. (2018)
<i>Cynodon dactylon</i>	iarba Bermudelor	Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sn	Maiti & Prasad (2017)
<i>Festuca arundinacea</i>	păiușul înalt	Ni, Pb, Cd, As	Sun et al. (2011)
<i>Festuca rubra</i>	păiuș roșu	Cd, Cu, Zn, Ni	Langella et al. (2014); Gołda & Korzeniowska (2016)
<i>Festuca pratensis</i>	păiuș de livadă	Cd	Soleimani et al. (2010 a, b)
<i>Poa pratensis</i>	schinduf	Cd, Ni, Pb	Huang et al. (2004); Mahmoudzadeh et al. (2016)
<i>Lolium perenne</i>	raigrasul peren	Cd, Pb, Cr, Cu, Sn	Gołda and Korzeniowska (2016); Cui et al. (2018)
<i>Stipa capillata</i>	năgară	Sn	Elekes & Busuioc (2011)
<i>Triticum aestivum</i>	grâu	Se, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Cr, As, Hg	Suchkova et al. (2010); Yasin et al. (2015)
<i>Vetiveria zizanioides</i>	Vetiver	As, Cd, Cr, Pb, Cu, Zn, Fe, Mn	Ghosh et al. (2015); Verma et al. (2014)

Pentru fitoremediere se pot utiliza monoculturi sau pluriculturi (compatibile). Frérot et al. (2006) au utilizat leguminoase în amestec cu specii ierboase. Leguminoasele cresc și supraviețuiesc în medii sărace în nutrienți, fiind importante deoarece furnizează azotul organic într-un sol în formare (cu ajutorul bacteriilor *Rhizobium*). Atunci când speciile de leguminoase sunt amestecate cu specii non-leguminoase, biomasa acestora din urmă crește (Goris, 2012) și astfel se pot crea comunități de plante stabile și persistente.

Speciile lemnoase (*Salix sp.*, *Populus sp.*) sunt utilizate pentru fitoextracție deoarece produc o cantitate mare de biomasă într-un timp relativ scurt. Biomasă lor supraterană este mare în comparație cu cea a plantelor ierboase hiperacumulatoare, din această cauză se acumulează o cantitate mare de metale grele în părțile aeriene. Metalele se pot îndepărta continuu de pe amplasament prin recoltarea biomasei frunzelor. Specii lemnoase prin sistemul radicular, adânc, reduc eroziunea solului și previn dispersia pulberilor (Suman et al., 2018).

Pentru decontaminarea unui sit (Lommel din Belgia cu conținut de Cd și Zn) s-au folosit specii de *Populus sp.* și *Salix sp.* Pe baza datelor înregistrate s-a stabilit că ar fi necesar între 12,5 până la 25 de ani, pentru restaurarea zonei contaminate cu un conținut de Cd de $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sol (Vangronsveld et al., 2009).

Fitomanagementul siturilor degradate încurajează selecția speciilor native, acestea pe termen lung, vor forma comunități de plante autosuținute. Specii native realizează revegetarea naturală a terenurilor degradate (Maiti, 2013). Studiarea plantelor native de pe sterilele miniere oferă informații despre gradul lor de toleranță. Pentru restaurarea depozitelor miniere Maiti (2013) și Gajić et al. (2016) au propus realizarea unei vegetații autosuținute cu amestecuri de plante ierboase, leguminoase și arbori.

Pentru solurile care conțin concentrații scăzute de metale se folosește tehnica fitoextracției, iar pentru haldele de steril minier și iazurile de decantare se recomandă fitostabilizarea. Tehnica de fitostabilizare urmărește limitarea mobilizării și a biodisponibilizării metalelor grele prin corectarea pH-ului și utilizarea amendamentelor (Neagoe & Iordache, 2021).

În ceea ce privește amendamentele organice care se pot utiliza, acestea pot fi: sol fertil îmbogățit cu materie organică; leguminoase mărunțite (Constantinescu et al., 2019); gunoi de grajd (Tejada et al., 2008); compost din industria alimentară (Tejada et al., 2008); produse din lemn (Hattab et al., 2015); compostul și nămolul de la epurarea apelor uzate (Neagoe & Iordache, 2021); compost din plante (Neagoe & Iordache, 2021). Amendamentele cu sol fertil și argilă sunt importante deoarece solul fertil contribuie la formarea unor comunități, iar argila permite absorbția metalelor grele pe suprafața ei, reducând mobilitatea lor din sol și preluarea de către plante (Neagoe & Iordache, 2021).

Experiențele realizate cu organo-zeoliți au demonstrat că aceștia rețin metalele în sol (Lee et al., 2019), cresc pH-ul solului (Prisa, 2020), îmbunătățesc calitatea solului (Damian et al., 2018; Damian et al., 2019; Lee et al., 2019) și cresc capacitatea de schimb cationic pentru NH_4^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} (Langella et al., 2000).

EFECTELE DRENAJULUI ACID AL ROCILOR ASUPRA IAZULUI DE DECANTARE A STERILULUI DE FLOTAȚIE BOZÂNTA

În apropierea orașului Baia Mare, la doar 4 km distanță, între satele Săsar și Bozânta Mare, la nord de confluența râurilor Săsar și Lăpuș (fig. 4.1) sunt cantonate milioane de tone de steril de flotație în iazurile de decantare Transgold, Săsar și Bozânta (Modoi et al., 2010; Jelea, 2014; 2015).

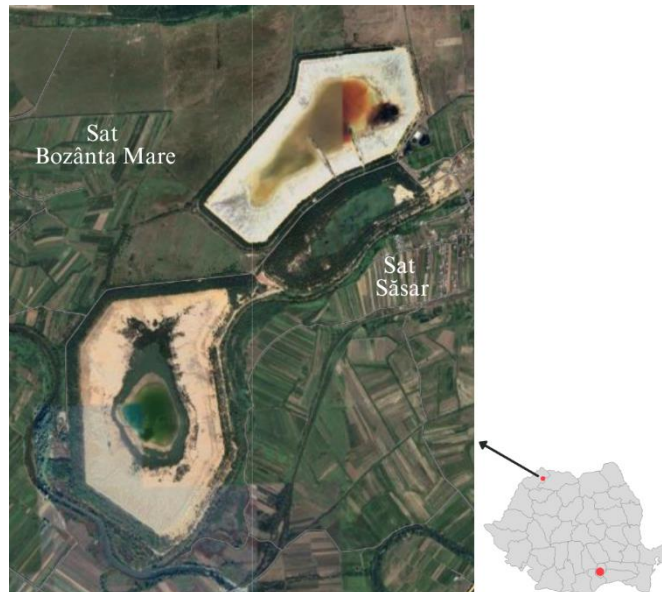


Fig. 0.1 Iazurile de decantare Bozânta, Săsar și Transgold (Google maps)



a



b

Fig. 0.2 a) Vedere asupra municipiului Baia Mare de pe iazul Bozânta;
b) Satul Bozânta Mare, vedere de pe iazul Bozânta

Iazul de decantare Bozânta a intrat în funcțiune începând cu anul 1976; în prezent este în conservare ca urmare a opririi exploatării minereurilor aurifere în anul 2001 și a celor complexe Cu–Pb–Zn, în anul 2007 (fig. 4.2).

Iazul, împreună cu anexele ocupă o suprafață de 120 ha; iazul propriu-zis ocupă o suprafață de 82 ha și a fost folosit concomitent pentru depozitarea sterilului provenit de la Uzina de Preparare Flotația Centrală (procesarea minereurilor complexe) și de la Uzina de Preparare Săsar (procesarea minereurilor auro-argentifere).

Suprafața iazului a fost împărțită, în funcție de tipul de steril depus, în 11 sectoare, pentru o monitorizare mai ușoară a activităților tehnologice:

- Sectoarele S_1 – S_4 sunt situate pe laturile N, NV, V și SV, conțin sterilul rezultat în urma prelucrării minereurilor complexe cu conținut de Cu, Pb și Zn, provenit de la Uzina de Preparare Flotația Centrală și a fost depus timp de 31 ani, în perioada 1976–2007;
- Sectoarele S_5 – S_{11} , sunt situate pe laturile S, SE și E și conțin steril rezultat în urma prelucrării prin cianurare a minereurilor aurifere extrase din Mina Săsar. Pe aceste sectoare a fost depus steril provenit de la Uzina de Preparare Flotația Săsar, timp de 25 ani, în perioada 1976–2001 și steril de la Uzina de Preparare Flotația Centrală, depus în perioada 2001–2007 pe terasa superioară T_4 , ca urmare a opririi activității de extracție și prelucrare a minereurilor aurifere din Mina Săsar.

Scopul cercetării

Scopul cercetării a fost caracterizarea efectelor fenomenelor de drenaj acid al rocilor pe terasele iazului de decantare și identificarea presiunilor exercitate asupra mediului înconjurător.

Metode de investigare

În perioada 14.09.2020-30.08.2023 au fost efectuate 11 campanii de teren în cadrul cărora au fost realizate următoarele activități:

- observații privind starea teraselor pe sectoarele iazului, transportul pluvial și eolian al sterilului către baza teraselor, formarea ravenelor, alunecările de teren, spulberările de steril, exfiltrațiile de soluții din iaz la suprafața teraselor;
- aprecierea în teren a gradului de alterare a sterilului s-a realizat pe baza aspectului probelor, după culoarea sterilului; cenușiu – nealterat sau un stadiu incipient de alterare, galben – oxidarea sulfurului și formarea de acid sulfuric, galben-roșcat – începutul proceselor de oxidare a fierului din pirit cu formare de fier feric, Fe^{3+} , roșu intens – oxidarea fierului foarte activă;
- observații privind efectele sterilului de flotație asupra cursurilor de apă, a terenurilor și vegetației din zonele limitrofe, scurgerea de steril și ape acide de mină în pârâu, mobilizarea eoliană a sterilului și transportul în zonele limitrofe (culturi agricole și localități);
- activități de identificare a speciilor de plante instalate spontan pe sectoarele iazului;

- observații privind starea vegetației pe sectoarele iazului, uscarea vegetației pe terasele afectate de biooxidarea sterilului;
- activități de identificare/determinare a faunei de mamifere sălbatice care se deplasează pe suprafața iazului;
- prelevarea probelor de steril în vederea realizării analizelor microbiologice și fizico-chimice;
- recoltarea probelor de steril pentru realizarea experimentelor de germinație și a celor de cultivare a speciilor de graminee;
- recoltarea plantelor pentru obținerea materialului semincer necesar experimentelor de revegetare.

4.1 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele iazului Bozânta

Deplasările în teren efectuate pentru identificarea speciilor vegetale și realizarea observațiilor privind starea plantelor, au fost realizate, pe parcursul celor 4 ani.

Inventarierea speciilor vegetale pe S₄ și S₅ s-a realizat aplicând metoda inventarului staționar iar pentru restul sectoarelor a fost aplicată metoda inventarului pe itinerar, (tab. 4.1).

Inventarierea floristică s-a realizat folosind diferite lucrări de specialitate (Clinovschi, 2005; Ciocârlan, 2009; Tomescu, 2020).

4.1.1 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele sectorului S₄

Pe terasele T₁ și T₂ de la baza sectorului S₄ a fost realizată în perioada 1976–1980 o plantație de salcâm (*Robinia pseudoacacia*) în gropi cu pământ vegetal de împrumut; suprafețele celor două terase au fost acoperite cu un strat de pământ de 5 cm.

Pe terasa T₃ plantarea salcânilor s-a realizat, de asemenea, în gropi cu pământ de împrumut, dar nu a mai fost depus stratul de pământ vegetal pe suprafața terasei.

Terasa T₄ nu a fost supusă nici unei intervenții de plantare sau de depunere de pământ.

Ca urmare a modului diferit de întreținere a teraselor din acest sector au fost observate stări diferite de evoluție a vegetației dar și a suprafețelor teraselor.

Terasa T₁

Pe lângă specia plantată, *Robinia pseudoacacia*, pe terasă au mai fost identificate 3 specii de plante lemnoase și 2 ierboase apărute spontan.

Terasa T₂

Pe terasa T₂, alături de specia dominantă, *Robinia pseudoacacia*, au fost identificate 6 specii lemnoase și 18 specii ierboase.

Capitolul 4. EFECTELE DRENAJULUI ACID AL ROCILOR
ASUPRA IAZULUI DE DECANTARE A STERILULUI DE FLOTAȚIE BOZÂNTA

Terasa T₃

Pe terasa T₃, a fost identificată specia plantată, Robinia pseudoacacia, și o specie de subarbust: mur de miriște (*Rubus caesius*) – subarbust.

Terasa T₄

Pe terasa T₄ au fost identificate exemplare de salcâm și o specie ierboasă, apărute spontan.

Tabelul 0.1 Speciile vegetale inventariate pe terasele iazului Bozânta, sectoarele S₄ și S₅

Nr. crt.	Denumirea științifică	Denumirea populară	S ₄				S ₅			
			T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
1	<i>Acer tataricum</i> L.	glădiș, arțar tăăresc	-	+	-	-	-	+	-	-
2	<i>Achillea millefolium</i> L.	coada șoricelului	-	+	-	-	-	+	-	-
3	<i>Agropyron repens</i> (L.)P.Beauv	pir târător	-	+	-	-	-	+	+	+
4	<i>Agrostis capillaris</i> L.	păiuș	-	-	-	-	-	+	-	-
5	<i>Alopecurus pratensis</i> L.	coada vulpii	-	-	-	-	-	-	+	-
6	<i>Amorpha fruticosa</i> L.	salcâm-mic	-	-	-	-	+	+	+	+
7	<i>Arctium lappa</i> L.	brusture, lipan	-	-	-	-	-	+	-	-
8	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	pelinariță	-	+	-	-	-	-	-	-
9	<i>Aspera spica-venti</i> (L.)P.Beauv	iarba-vântului	-	-	-	-	-	-	-	+
10	<i>Betula pendula</i> Roth	mesteacăn	-	-	-	-	+	-	-	-
11	<i>Centaurea cyanus</i> L.	vinețea, albăstriță	-	+	-	-	-	-	-	-
12	<i>Centaurea micranthos</i> L.	vinețele, albăstriță	-	-	-	-	-	+	+	-
13	<i>Chamaenerion angustifolium</i> L.	zburătoare, răskoage	-	+	-	-	-	-	-	-
14	<i>Chelidonium majus</i> L.	rostopască	-	+	-	-	-	-	-	-
15	<i>Chenopodium glaucum</i> L.	lobodă sălbatică	-	-	-	-	-	-	-	+
16	<i>Cirsium vulgare</i> (Savi.) Ten.	pălămidă	-	+	-	-	-	-	-	-
17	<i>Conium maculatum</i> L.	cucută	-	-	-	-	-	+	-	-
18	<i>Digitalis grandiflora</i> Mill.	degetărelul galben	-	-	-	-	-	+	-	-
19	<i>Echium vulgare</i> L.	iarba șarpelui	-	+	-	-	-	-	-	-
20	<i>Erigeron canadensis</i> L.	bătrâniș	-	+	-	-	-	+	-	-
21	<i>Fallopia japonica</i> Houtt.	iulișca	+	+	-	-	-	-	-	-
22	<i>Festuca pratensis</i> Huds.	păiuș de livadă	-	-	-	-	+	+	-	-
23	<i>Glyceria plicata</i> Fr.	mana apei subțire	-	+	-	-	-	+	-	-
24	<i>Humulus lupulus</i> L.	hamei	-	+	-	-	-	-	-	-
25	<i>Lolium perenne</i> L.	iarbă de gazon	-	-	-	-	-	+	-	-
26	<i>Phragmites communis</i> Trin.	stuf	-	-	-	+	-	+	-	-
27	<i>Plantago major</i> L.	pătăgîna mare	-	+	-	-	-	-	-	-
28	<i>Populus alba</i> L.	plop alb	-	-	-	-	+	-	-	-
29	<i>Populus nigra</i> L.	plopul american	-	+	-	-	+	-	-	-
30	<i>Prunus serotina</i> Ehrh.	cireș negru	+	+	-	-	-	-	-	-
31	<i>Quercus cerris</i> L.	cer	+	-	-	-	+	+	-	-
32	<i>Quercus robur</i> L.	stejar	-	+	-	-	+	-	-	-
33	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	salcâm	+	+	+	+	+	+	+	-
34	<i>Robinia hispida</i> L.	salcâm roșu	-	-	-	-	-	+	-	-
35	<i>Rosa canina</i> L.	măceș	+	+	-	-	-	-	-	-
36	<i>Rubus caesius</i> L.	mur de miriște	+	+	+	-	-	-	-	-
37	<i>Rumex acetosella</i> L.	măcriș mărunț	-	-	-	-	+	+	+	+
38	<i>Salix pentandra</i> L.	salcie	-	+	-	-	-	-	+	-
39	<i>Salvia nemorosa</i> L.	năduf	-	+	-	-	-	-	-	-
40	<i>Saponaria officinale</i> L.	săpunariță, odogaci	-	+	-	-	-	-	-	-
41	<i>Silene alba</i> Mill.	gușa porumbelului	-	+	-	-	-	+	-	-
42	<i>Trapogon orientalis</i> L.	barba caprei	-	+	-	-	-	-	-	-
43	<i>Urtica dioica</i> L.	urzica mare	+	-	-	-	-	-	-	-
44	<i>Verbascum nigrum</i> L.	luminița neagră	-	+	-	-	-	-	-	-

4.1.2 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe terasele sectorului S₅

Terasele sectorului S₅ au fost tratate diferit din punct de vedere tehnic, în ceea ce privește modul de plantare a salcânilor: pe terasa T₁, cu vechimea cea mai mare a sterilului, depus în perioada 1975-1980, au fost plantați salcâmi (*Robinia pseudoacacia*) în gropi cu pământ vegetal de împrumut, fără o acoperire a suprafeței terasei în scopul înierbării; pe terasa T₂ s-a realizat, în anul 1985, plantarea unei specii arbustive de salcâm ornamental, salcâm roșu (*Robinia hispida*), în zona vestică a sectorului și de salcâm comun (*R. pseudoacacia*) în zona estică. Suprafața sectorului, în zona salcânilor ornamentali, a fost acoperită cu un strat subțire de pământ vegetal; pe terasa T₃ au fost plantați salcâmi din specia *R. pseudoacacia* direct în steril, fără pământ de împrumut, și nu au fost efectuate aplicări de pământ vegetal pe suprafața terasei; pe terasa superioară, T₄, nu au fost realizate plantări de vegetație.

Terasa T₁: Pe lângă *R. pseudoacacia*, pe această terasă au fost identificate cinci specii de arbori, o specie arbustivă și două specii de plante ierboase.

Terasa T₂: Pe terasa T₂, pe lângă cele două specii plantate, *R. pseudoacacia* și *R. hispida*, au fost identificate următoarele specii vegetale: două specii de arbori, un arbust și 14 specii de plante ierboase, toate pe taluzul zonei cu *R. hispida*.

Terasa T₃: Pe terasa T₃ au fost identificate două specii de arbuști și patru specii ierboase.

Terasa T₄: Pe terasa T₄ au fost identificate o specie de arbust și patru specii de plante ierboase.

4.1.3 Starea vegetației și gradul de alterare a sterilului pe plaja lacului de decantare

Oprirea deversării de steril ca urmare a trecerii în conservare a iazului Bozânta a determinat secarea lacului de decantare și retragerea spre centrul acestuia. Sterilul, care în perioada imersării a rămas nealterat, este supus acum unor intense fenomene de oxidare bacteriană. Pe suprafața fostului lac de decantare au fost identificate 6 specii arboricole, 4 specii arbustive și 30 de specii ierboase.

4.2 Biodiversitatea bacteriilor fier- și sulfoxidante, producătoare de drenaj acid al rocilor, în sterilul din iazul Bozânta

Pentru realizarea analizelor fizice, chimice și microbiologice necesare aprecierii gradului de oxidare a sterilului de flotație din iazul Bozânta au fost prelevate 55 de probe de steril (fig. 4.3): 40 de probe, reprezentând câte 5 probe medii de pe fiecare terasă a sectoarelor S₄ și S₅; 10 probe din coronamentul iazului, din perimetrul sectoarelor S₄ și S₅; 5 probe din plajă, în perimetrul sectorului S₅, la o distanță de coronament de 25 m în interiorul plajei.



Fig. 0.2 Steril cu grade diferite de alterare

a – steril pe coronamentul sectorului S₅; b - probe de steril din terasele sectorului S₅

4.2.1 Analizele fizice și chimice ale probelor de steril

Echipamentele folosite pentru realizarea analizelor fizico-chimice ale probelor au fost multimetrul digital HACH HQ40d și multiparametrul Palintest, iar analiza chimică a fost realizată cu ajutorul unui spectrometru cu absorbție atomică (AAS) – Perkin-Elmer 3110.

Sectorul S₄

Se observă că efectele proceselor de biooxidare sunt diferite, în funcție de vechimea sterilului, adâncimea de prelevare și modul de amenajare a suprafețelor teraselor (tab. 4.2-4.4).

Tabelul 0.2 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₄T₁

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₄ /T ₁	0-5	7,6	4,86	130,2	108,3	77,1	50,8
	5-10	6,2	5,17	111,0	92,8	66,6	44,6
	10-15	4,0	6,36	47,0	63,2	45,1	32,8
	15-20	3,5	6,30	46,7	66,2	47,0	34,3
	20-25	3,5	5,81	76,5	79,8	57,3	39,7

Tabelul 0.3 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₄T₂

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₄ /T ₂	0-5	1,3	5,09	115,1	110,5	78,7	51,5
	5-10	1,2	5,80	77,7	85,3	51,2	41,8
	10-15	2,0	6,80	22,5	69,7	49,6	35,5
	15-20	2,2	6,82	21,5	96,5	68,5	46,0
	20-25	3,8	7,19	2,9	119,5	85,0	55,2

Tabelul 0.4 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₄T₃

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₄ /T ₃	0-5	2,0	3,46	202,2	463,0	328,0	201,0
	5-10	5,3	4,62	140,0	201,0	143,0	88,5
	10-15	3,3	5,68	83,6	76,0	54,0	37,8
	15-20	2,9	5,88	72,7	77,2	55,0	38,5
	20-25	2,8	6,75	26,5	94,5	67,1	45,1

În terasele T₁ și T₂ sterilul are vechimea mai mare. Stratului de pământ aplicat pe suprafața teraselor T₁ și T₂ și biomasa vegetală provenită de la vegetație a avut efectul de diminuare a proceselor bacteriene oxidative, prin reducerea cantității de oxigen. În sterilul din terasele

neacoperite cu pământ, pH-ul a fost mai acid, 3,5–6,7 în T₃ și 2,5–3,1 în T₄, comparativ cu valorile din terasele acoperite cu pământ și biomasă vegetală, 4,8–6,4 în T₁ și 5,1–7,2 în T₂. Deși sterilul din terasa T₄ are vechimea cea mai mică, aici se manifestă cele mai evidente procese oxidative (tab. 4.5-4.6).

Tabelul 0.5 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₄T₄

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₄ /T ₄	0-5	1,5	3,10	222,1	1310,0	925,0	580,0
	5-10	3,0	2,56	249,9	1905,0	1,35	863,0
	10-15	4,4	2,66	244,5	1992,0	1,42	907,0
	15-20	6,5	2,68	243,8	1993,0	1,42	901,0
	20-25	7,8	2,67	244,1	1984,0	1,41	895,0

Tabelul 0.6 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₄C

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₄ /C*	0-5	4,2	3,50	200,5	163,2	116,0	72,9
	5-10	9,0	3,65	193,2	138,0	97,6	62,6
	10-15	10,0	3,78	185,5	132,5	93,5	60,2
	15-20	12,3	3,95	176,2	160,2	114,0	71,6
	20-25	11,1	3,62	194,0	159,7	110,0	70,9

S₄C* - coronament, sectorul S₄

Menținerea unui pH adecvat creșterii plantelor, între 5,0 și 7,2, a permis instalarea în terasa T₂ a sterilului din partea superioară a sectorului, pe coronament, unde umiditatea se menține mai ridicată decât în terase, procesele bacteriene de drenaj acid sunt foarte active, în toate probele valoarea pH-ului fiind între 3,5–3,9. Aici sunt mai evidente procesele de oxidare.

Sectorul S₅

Absența unui strat de pământ în acest sector, a condus la declanșarea fenomenelor de biooxidare a sterilului la scurt timp după depunerea pe iaz: primele semnalări ale uscării vegetației au fost făcute încă din anul 1992, la doar 7 ani de la plantarea (1985) celor două specii de salcâm, *Robinia hispida* și *Robinia pseudoacacia*, pe terasa T₂ și la 15 ani de la depunerea sterilului în iaz (tab. 4.7-4.12).

Tabelul 0.7 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₅T₁

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₅ /T ₁	0-5	1,8	4,13	166,0	77,4	55,2	37,7
	5-10	5,3	4,55	99,5	67,6	48,0	34,9
	10-15	6,1	5,07	127,5	127,1	90,6	56,9
	15-20	6,7	4,72	146,4	103,9	73,1	47,2
	20-25	6,5	4,36	139,0	86,0	61,8	42,4

În prezent, pH-ul sterilului din toate terasele acestui sector are valori sub limita pe care vegetația o poate tolera: 4,1–5,1 în T₁; 3,8–4,2 în T₂; 3,7–4,2 în T₃ și 2,2–3,9 în T₄.

Capitolul 4. EFECTELE DRENAJULUI ACID AL ROCILOR
ASUPRA IAZULUI DE DECANTARE A STERILULUI DE FLOTAȚIE BOZĂNTA

Pe coronament, umiditatea ridicată, 5,4–10,4%, întreține activitatea susținută de drenaj minier acid al rocilor de către bacteriile fier- și sulfoxidante.

Tabelul 0.8 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₅T₂

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₅ /T ₂	0-5	4,1	3,8	188,0	86,2	61,1	41,4
	5-10	5,2	3,83	191,0	98,4	70,0	45,5
	10-15	6,6	3,96	185,7	103,8	73,7	47,7
	15-20	7,1	4,15	174,5	113,4	80,5	51,6
	20-25	9,4	4,10	176,7	100	71,6	46,0

Tabelul 0.9 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₅T₃

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₅ /T ₃	0-5	4,3	3,5	204,0	130,4	92,7	59,0
	5-10	7,2	3,65	202,0	116,7	82,8	53,4
	10-15	7,6	3,69	195,0	105,1	75,0	49,0
	15-20	7,5	4,14	170,0	78,1	54,5	38,0
	20-25	7,7	4,24	166,0	63,7	45,2	32,5

Tabelul 0.10 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₅T₄

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₅ /T ₄	0-5	1,0	2,13	279,0	1480	1,66	665
	5-10	4,4	2,22	273,0	2,05	1,45	910
	10-15	5,1	2,74	243,4	1870	1,33	845
	15-20	6,6	2,63	250,0	2,03	1,44	887
	20-25	5,8	3,93	178,0	1610	1,14	724

Tabelul 0.11 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₅C

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₅ /C*	0-5	5,4	2,78	244,4	443	3,15	192
	5-10	8,3	2,85	240,0	1525	1,08	680
	10-15	8,6	2,91	234,4	1800	1,28	813
	15-20	9,5	2,88	234,0	1780	1,29	819
	20-25	10,4	2,75	244,0	1798	1,28	813

S₅/C* - coronament, sectorul S₅

Tabelul 0.12 Analiza fizico-chimică a probelor de steril, S₅P

Proba	Adâncime (cm)	Umiditate (%)	pH	Eh (mV)	Cond (μS/cm)	TSD (ppm)	Săruri (ppm)
S ₅ /L*	0-5	3,2	2,97	234,0	3	213	130
	5-10	6,4	2,75	246,0	424	300	184
	10-15	32,0	2,55	257,0	1730	1,22	779
	15-20	28,4	3,81	189,0	1531	1,09	680
	20-25	25,9	3,97	180,0	1452	1,03	647

S₅P* - plaja lacului, sector S₅

Fenomenele sunt la fel de intense și în plaja lacului, unde umiditatea în straturile cu adâncimea mai mare de 10 cm depășește 25%, asigurând condiții optime de viață bacteriilor.

Rezultatele analizelor chimice ale probelor medii de steril provenite de pe terasele T₂ ale sectoarelor S₄ și S₅ sunt prezentate în tabelele 4.13–4.16.

Capitolul 4. EFECTELE DRENAJULUI ACID AL ROCILOR
ASUPRA IAZULUI DE DECANTARE A STERILULUI DE FLOTAȚIE BOZĂNTA

Conținutul în fier și sulf în probele din ambele sectoare (în mare parte sub formă de pirit) indică potențialul încă destul de ridicat de a întreține procesele de drenaj acid. Rezerva de fier și sulf este chiar mai mare în sterilul de pe sectorul S₄, în timp ce o parte din fierul și sulful din sectorul S₅ a intrat deja în ciclul biogeochimic generat de acțiunea bacteriilor fier- și sulfoxidante.

Concentrațiile metalelor grele din soluții, în special cele din sterilul provenit din sectorul S₅, reprezintă un potențial fitotoxic care explică uscarea vegetației pe terasele T₁ și T₂ din acest sector, alături de pH-ul foarte acid.

Tabelul 0.13 Analiza chimică a probelor de steril, S₄T₂

Elemente analizate	Conținutul în metale grele și alte elemente (%)					
	Adâncimea de prelevare a probelor (cm)					
	0-5	5-10	10-15	15-20	20-25	0-25
Cu	0,18	0,15	0,11	0,10	0,08	0,14
Pb	0,11	0,10	0,09	0,09	0,10	0,10
Zn	0,81	0,72	0,48	0,53	0,42	0,65
Fe	6,89	5,04	5,20	5,34	5,87	6,07
S	1,68	1,55	1,66	1,33	1,56	1,57
Ca	1,06	0,89	0,65	0,76	1,23	0,79
Mg	0,74	0,66	0,67	0,63	0,69	0,64
SiO ₂	62,65	68,76	73,16	67,58	77,16	68,20

Tabelul 0.14 Analiza chimică a eluatului 1:5 din probele de steril, S₄T₂

Elemente analizate	Conținutul în metale grele și alte elemente (ppm)					
	Adâncimea de prelevare a probelor (cm)					
	0-5	5-10	10-15	15-20	20-25	0-25
Cu	1,42	1,12	0,78	0,43	<0,05	0,84
Pb	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Zn	0,06	0,06	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fe	0,146	0,068	0,06	0,06	0,06	0,092
SO ₄	784	686	720	1480	1440	882
CaO	58,2	66,82	128,4	164,4	208,6	98,48
Mg	12,6	14,6	18,4	17,0	16,5	16,12
pH	7,14	7,28	7,22	7,36	7,40	7,26
Eh (mV)	-4	-8	-7	-14	-18	-9

Tabelul 0.15 Analiza chimică a probelor de steril, S₅T₂

Elemente analizate	Conținutul în metale grele și alte elemente (%)					
	Adâncimea de prelevare a probelor (cm)					
	0-5	5-10	10-15	15-20	20-25	0-25
Cu	0,02	0,02	0,03	0,03	0,07	0,03
Pb	0,08	0,09	0,09	0,04	0,04	0,08
Zn	0,58	0,66	1,07	1,14	1,11	0,82
Fe	2,94	2,76	2,43	2,68	3,08	2,77
S	1,14	0,96	0,88	1,43	2,21	0,97
Ca	0,14	0,48	0,54	0,92	0,87	0,46
Mg	0,28	0,14	0,22	0,48	0,44	0,36
SiO ₂	74,82	75,05	75,49	74,44	75,63	75,18

Tabelul 0.16 Analiza chimică a eluatului 1:5 din probele de steril, S₅T₂

Elemente analizate	Conținutul în metale grele și alte elemente (ppm)					
	Adâncimea de prelevare a probelor (cm)					
	0-5	5-10	10-15	15-20	20-25	0-25
Cu	7,64	7,42	8,92	9,4	9,83	8,34
Pb	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Zn	52,46	76,20	96,43	104,68	167,3	78,45
Fe	1276,4	3870,0	676,4	573,6	29,61	1459,7
SO ₄	4800	1745	1972	1620	2960	2243
CaO	827,3	842,4	294,8	496,7	754,3	635,2
Mg	68,0	124,8	65,4	44,2	38,8	71,5
pH	3,16	2,92	3,8	4,23	4,56	3,84
Eh (mV)	+227	+238	+185	+179	+158	+183

4.2.2 Analizele microbiologice ale probelor de steril

Identificarea speciilor bacteriene, cunoașterea rolului lor în etapele proceselor de drenaj acid al rocilor și raportul lor numeric, sunt informații utile, necesare, alături de caracteristicile fizice și chimice ale materialelor supuse degradărilor, pentru evaluarea stadiului în care se găsește procesul, estimarea tendințelor de dezvoltare, dar și pentru cercetarea și aplicarea unor măsuri corespunzătoare pentru stoparea/diminuarea efectelor degradative. Caracterizarea microbiologică a probelor de steril a presupus izolarea și analiza numerică a speciilor fier- și sulfoxidante deja identificate pe iazul Bozânta în studiile anterioare (Jelea, 2014; Jelea, 2015; Jelea & Baciu, 2023): *Acidithiobacillus ferrooxidans*; *Leptospirillum ferrooxidans*; *Acidithiobacillus thiooxidans*; *Thiomonas intermedia* și *Starkeya novella*. Analiza numerică: prin metoda de determinare a numărului cel mai probabil – NCMP (eng. Most Probable Number – MPN), pe diluții până la 10^{-7} , cu însămânțarea în 3 eprubete în paralel. Pentru fiecare probă de steril au fost realizate însămânțări pentru identificarea și estimarea numerică a trei grupuri de bacterii: a) grupul bacteriilor fier- și sulfoxidante, care se analizează împreună cu bacteriile fieroxidante, reprezentat de speciile *A. ferrooxidans* (acidofilă, fier- și sulfoxidantă) și *L. ferrooxidans* (acidofilă, fieroxidantă); cele două specii se analizează pe același mediu nutritiv; b) bacteriile sulfoxidante, *A. thiooxidans* (pH 1–7, nu oxidează fierul, oxidează sulfurul elemental, tiosulfatul și tetracionatul până la acid sulfuric); c) grupul bacteriilor *T. intermedia* și *S. novella* (pH slab acid, facultativ heterotrofe); cele două specii se analizează împreună pe mediu cu tiosulfat. Pentru identificarea și estimarea cantitativă a bacteriilor din grupul *A. ferrooxidans* și *L. ferrooxidans*, a fost utilizat mediul Mackintosh (1978). Pentru identificarea și estimarea cantitativă a bacteriei sulfoxidantă *A. thiooxidans* a fost utilizat mediul Hutchinson (Hutchinson et al., 1965). Identificarea și estimarea cantitativă a grupului bacteriilor *T. intermedia* și *S. novella* s-a realizat utilizând mediul Marin și Rittenberg, modificat (1971).

În figura 4.4 sunt prezentate mediile nutritive după sterilizare.



Fig. 0.3 Mediile nutritive, după sterilizare și corectarea pH-ului



Fig. 0.4 Mediile nutritive inoculate, sector S4, terasele T₁₋₄

După însămânțare (fig. 4.5), cele 3 serii de câte 21 eprubete cu medii specifice fiecărui grup de bacterii (în total 61 eprubete pentru fiecare probă, 315 eprubete pentru fiecare punct de

probare, 3355 eprubete pentru probele provenite din terasele și plaja iazului), au fost incubate timp de 28 zile, în incubatoare cu temperatură constantă, la 28°C (fig. 4.6).

După cele 28 zile de incubare, s-a realizat identificarea prezenței bacteriilor în seriile de eprubete cu mediile însămânțate și notarea eprubetelor pozitive:

- identificarea prezenței grupului de bacterii fieroxidante *A. ferrooxidans* și *L. ferrooxidans* s-a realizat pe baza colorării mediului bacterian, de la galben-verzui la roșu-brun, ca rezultat al formării hidroxidului de fier $\text{Fe}(\text{OH})_3$ prin oxidarea sulfatului feros FeSO_4 (fig. 4.7);

- identificarea prezenței bacteriilor sulfoxidante *A. thiooxidans* s-a realizat pe baza scăderii pH-ului din mediu, de la 4,5 la $\text{pH} < 3,5$, condiționată de formarea acidului sulfuric, ca urmare a oxidării de către bacterii a sulfului adăugat în mediul bacterian; s-a măsurat pH-ul în fiecare eprubetă și au fost notate eprubetele pozitive, cu $\text{pH} < 3,5$;

- identificarea prezenței grupului de bacterii *T. intermedia* și *S. novella* s-a realizat pe baza creșterii acidității din mediu, de la 6,7 la $\text{pH} < 5,5$, condiționată de formarea acidului sulfuric prin oxidarea tiosulfatului de sodiu, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; s-a măsurat pH-ul în fiecare eprubetă și au fost notate eprubetele pozitive, cu $\text{pH} < 5,5$.

Interpretarea rezultatelor, pe baza eprubetelor notate ca fiind pozitive din seria celor 21 eprubete cu mediul nutritiv însămânțate din seria de diluții, este un calcul statistic realizat cu ajutorul tabelului McCrady (McCrady, 1915; Swaroop, 1938).

- Sectorul S₄

Pe terasa T₁ speciile *A. ferrooxidans* și *L. ferrooxidans*, au fost identificate în toate probele medii, de la 10³ bacterii/ g steril, la adâncimea 0–15 cm, la 36 bacterii/ g steril la 25 cm adâncime; numărul de bacterii în steril a scăzut odată cu creșterea valorii pH-ului (de la 4,8 la 6,4) și creșterea numerică a prezenței celorlalte specii, *T. intermedia* și *S. novella*, a căror densitate depășește 1,1x10⁹ bacterii/ g steril.

- Specia *A. thiooxidans*, cu spectru larg de pH, este premisa acidulării straturilor subiacente, prin activitatea intensă de transformare a sulfului în acid sulfuric, ceea ce va determina proliferarea speciilor fieroxidante *A. ferrooxidans* și *T. ferrooxidans* și diminuarea numerică a speciilor mai puțin acidofile, *T. intermedia* și *S. novella*. Stratul de pământ depus pe suprafața terasei la plantare și biomasa vegetală acumulată în timp au menținut la un nivel moderat factorii care reprezentau potențial fitotoxic pentru plante. Fenomenele de șiroire ale soluțiilor și de transport al sterilului de pe plaja iazului și de pe terasele superioare, exfiltrațiile de la baza iazului și de la nivelul terasei au deteriorat calitatea factorilor de mediu, astfel că există premisele accelerării proceselor microbiologice de drenaj acid, care vor conduce la creșterea fitotoxicității substratului din această terasă.



Fig. 0.5 Incubarea timp de 28 zile a eprubetelor cu mediile însămânțate



Fig. 0.6 Identificarea prezenței bacteriilor fier- și sulfoxidante

În **terasa T₂**, se observă stratul de steril colorat în galben, urmare a activităților oxidative intense de acidifiere, sub influența celor trei specii bacteriene sulfoxidante; pH-ul, încă în domeniul neutru și slab acid (5,0–7,2), la nivelul de adâncime al rădăcinilor plantelor ierboase permite acestora o bună creștere, fără manifestări vizibile ale unor presiuni fitotoxice; nivelul numeric al bacteriilor sulfoxidante și acidularea stratului superficial, 0–10 cm, este un semnal privind tendințele viitoare de accelerare a fenomenelor degradative.

Terasa T₃, plantația de salcâmi în gropi cu pământ de împrumut, dar fără strat de pământ acoperitor pe restul suprafeței, se găsește într-un stadiu asemănător cu cel din terasa T₂, din punct de vedere al valorilor numerice și proporțiile între speciile bacteriene instalate în steril; trebuie subliniat însă că pH-ul sterilului este cu un grad de aciditate mai scăzut iar aspectul suprafeței mult mai deteriorat comparativ cu terasa T₂. Pe această terasă, sterilul colorat în galben ca urmare a prezenței acidului sulfuric, stratul superficial în care au loc și activități de oxidare a piritei sub influența bacteriilor fier- și sulfoxidante este antrenat periodic de scurgerile de soluții de pe terasele superioare. Ca urmare a condițiilor neprielnice, speciile de plante ierboase deja au dispărut, în timp ce plantația de salcâm prezintă toată paleta de aspecte privind deteriorarea vegetației.

Condițiile de pe **terasa T₄** au permis instalarea fenomenelor de drenaj acid al rocilor într-un ritm care a condus la valori acide ale pH-ului, între 2,6-3; gradul de alterare a sterilului și manifestările erozionale pe terasa T₄ fiind un exemplu privind viteza de deteriorare a substratului sub influența proceselor de drenaj minier al rocilor.

În sterilul din această terasă, bacteriile sulfoxidante sunt prezente pe toată adâncimea studiată, în timp ce bacteriile fieroxidante au o activitate intensă de oxidare a fierului în partea superioară, mai oxigenată a coloanei de steril.

Pe **coronament, S₄C**, unde vechimea sterilului este de 15–17 ani, fenomenele de oxidare sunt foarte active sub influența în special a bacteriilor fier- și sulfoxidante din specia *A.*

ferrooxidans. Bacteriile sulfoxidante *A. thiooxidans* sunt active în stratul de la 20–25 cm adâncime, ceea ce semnifică înaintarea în adâncime a fenomenelor de drenaj acid al rocilor.

Deteriorarea stratului 20–25 cm va conduce la intensificarea fenomenelor de alunecare a stratelor de steril, între care iau naștere zone cu granulație mai mică și cu capacitate mare de a reține pelicule de apă.

Sectorul S₅

În **terasa T₁**, cu steril depus în perioada 1975–1980, fenomenele de drenaj acid al rocilor au fost vizibile încă din perioada 1992–1995: uscarea ramurilor la salcâmi; uscarea plantelor ierboase; colorarea în roșu a sterilului; fenomene erozionale, pluviale și eoliene.

La 30 de ani de la aceste observații, procesele de drenaj acid al rocilor sunt accelerate de numărul mare de bacterii: $>10^9$ /g steril *A. ferrooxidans* și *L. ferrooxidans*; 10^6 / g steril *A. thiooxidans* și 10^2 – 10^7 / g steril *T. intermedia* și *S. novella*. Acidularea sterilului, pH 4,1–5,1 a condus la distrugerea aproape în totalitate a exemplarelor de salcâm și a speciilor instalate spontan.

În urma proceselor chimice de oxidare, particulele de steril își schimbă granulometria, dimensiunile scad și procesele erozionale produse de apele pluviale sau de vânt sunt mult mai intense, ceea ce conduce la dislocări masive de material steril.

Ca urmare a depunerii unui strat de pământ în zona plantației de salcâm ornamental (*R. hispida*), **terasa T₂** a intrat mai târziu sub influența fenomenelor de drenaj acid.

Pe suprafața terasei T₂ s-au instalat numeroase specii vegetale ierboase și arboricole, cu rol în menținerea stabilității. Rezultatele obținute au evidențiat faptul că stratul de pământ a diminuat o perioadă viteza de instalare a proceselor de drenaj acid. Din probele analizate au fost izolate toate speciile bacteriene care contribuie la degradarea sterilului, în proporții care evidențiază accelerarea proceselor degradative: 10^2 – 10^3 / g de steril *A. ferrooxidans* și *L. ferrooxidans*; 10^4 / g de steril *A. thiooxidans* și 10^7 – 10^9 / g de steril *T. intermedia* și *S. novella*.

Pe **terasa T₃**, prezența celor trei grupuri fiziologice de bacterii este dominată de bacteriile tiosulfat oxidante, *T. intermedia* și *S. novella*, dar în număr mare sunt prezente și bacteriile sulfoxidante *A. thiooxidans* și cele fieroxidante *A. ferrooxidans* și *L. ferrooxidans*, pH-ul 3,5–4,2 fiind adecvat pentru activitatea tuturor speciilor prezente în steril.

Valorile acide ale pH-ului au condus la deteriorarea condițiilor pentru toate speciile vegetale, chiar și pentru cele considerate acidofile. Sterilul este foarte oxidat, iar suprafața terasei prezintă numeroase alunecări, ravene și exfiltrații.

terasa T₄, pe care nu au fost realizate lucrări de plantare sau de protecție cu strat de pământ, prezintă un grad ridicat a fenomenelor de drenaj acid al rocilor sub influența tuturor

grupurilor de bacterii, care se găsesc în număr foarte mare: $>10^9$ /g de steril *A. ferrooxidans* și *L. ferrooxidans*; 10^6 /g de steril *A. thiooxidans* și 10^8 /g de steril *T. intermedia* și *S. novella*.

Depunerea pe această terasă și pe coronament a unor materiale cu conținut ridicat de pirit, cu puțin timp înainte de trecerea în conservare a iazului, este cauza proceselor foarte active de drenaj acid, având drept consecință acidularea la nivelul de pH extrem acid, 2,1–3,9. Ca urmare a poziției acestor depuneri pe suprafața cea mai înaltă a iazului, sterilul acid este spulberat continuu pe distanțe mari, în zonele limitrofe locuite.

Aceeași situație este valabilă și pentru coronamentul iazului în zona sectorului cinci, S₅C, în a cărei componentă se găsesc depozitate materiale similare cu cele depozitate în terasa T₄.

Plaja lacului, S₅P, a fost realizată prin tehnica de transport și depunere a sterilului prin hidrociclonație: în lacul de decantare s-a depus fracția mai fină a sterilului, împreună cu apa de transport, în timp ce fracția mai groabă a fost depusă pe terase. Plaja lacului imersată în perioada de funcționare a iazului, este alcătuită din cele mai fine particule depozitate în iaz. Acestea oferă o suprafață mare de contact cu microorganismele fier- și sulfoxidante.

Prin înlăturarea stratului superficial de steril oxidat, se aduce la suprafață material nou cu conținut ridicat de pirit și alte sulfuri care intră în procesele degradative de drenaj acid; astfel noi suprafețe devin locul de acțiune a bacteriilor fier- și sulfoxidante.

Propun următorul model de estimare a stadiului și a evoluției procesului de drenaj acid al rocilor în sterilul din terasele iazului de decantare sub influența bacteriilor din speciile *A. ferrooxidans*; *L. ferrooxidans*; *A. thiooxidans*; *T. intermedia* și *S. novella*:

1. Deși în probele de steril au fost identificate, în permanență, toate cele trei grupuri de bacterii, analizând distribuția lor numerică în funcție de diversitatea condițiilor de mediu existente la un moment dat se consideră că există o succesiune de instalare a acestora, în care un grup fiziologic „pregătește” condițiile necesare unui alt grup fiziologic care continuă / amplifică acțiunea de drenaj acid al rocilor.
2. În sterilul neoxidat provenit de la procesarea minereurilor de metale nferoase, cu conținut de pirit și cu pH neutru, procesul de drenaj acid al rocilor a fost declanșat de acțiunea bacteriilor sulfoxidante *S. novella* și *T. intermedia*.
3. Capacitatea speciei *S. novella* de a trăi facultativ chemolitoautotrof și metilotrof, la valori ridicate de pH, îi oferă acesteia avantajul de a se instala printre primele într-un mediu puțin accesibil altor specii. Prin activitatea metabolică de degradare a unei game largi de compuși ai sulfului, cu formare de tiosulfat și sulfat, scade pH-ul din sterilul proaspăt, de la valori neutre 7,0–7,5, la slab acid, <6,5, până la acid, 4,5.
4. Scăderea pH-ului sub valoarea 6,5, prezența tiosulfatului și a sulfatului produse de *S. novella* sunt condiții care avantajează instalarea altei specii cu cerințe pentru un pH mai puțin acid,

cum este *T. intermedia*. Capacitatea acestei bacterii de a trăi facultativ heterotrof, folosind și substanțele organice din mediul de viață (de exemplu glucoza și alte substanțe care provin din degradarea biomasei vegetale), îi dă un mare avantaj pentru proliferarea pe terasele cu vegetație, unde accelerează evoluția fenomenelor de drenaj acid al sterilului.

5. Activitatea speciei *A. thiooxidans* se poate desfășura concomitent cu a speciilor tiooxidante într-un spectru larg de pH, de la neutru și slab alcalin 7–8, la extrem acid 1,0, condiția fiind prezența sulfurii elementale și a derivaților (sulfid, tiosulfat, tetratiolat) pe care îi oxidează până la acid sulfuric. Nu oxidează sulfurile și nici fierul din piritul existent în steril; producând însă acid sulfuric, solubilizează în mod indirect metalele și alte elemente din steril și scade valoarea pH-ului sub limita de supraviețuire a tiooxidantelor.
6. Valoarea <4 a pH-ului, ca urmare a activității speciei *A. thiooxidans*, a permis instalarea bacteriilor fier- și sulfoxidante *A. ferrooxidans*. Activitatea lor metabolică în steril este deosebit de complexă: oxidează sulfurii elementale S^0 , toate sulfurile cu S^{2-} (de exemplu piritul, prezent în cantități mari în sterilul depus în sectoarele S_5 – S_{11}) și compușii intermediari de degradare, până la acid sulfuric; oxidează fierul feros (Fe^{2+}) la fier feric (Fe^{3+}). Prin această activitate complexă are un impact deosebit în creșterea vitezei de derulare a proceselor de drenaj acid în sterilul din terase.
7. În urma activităților metabolice ale speciei *A. ferrooxidans*, prin oxidarea piritului, în mediu rezultă fier feros (Fe^{2+}), substratul necesar pentru activitatea de oxidare a speciei *L. ferrooxidans*. Deși spectrul de oxidare al leptospirilului este limitat doar la oxidarea fierului feros (Fe^{2+}) la fier feric (Fe^{3+}), el este avantajat de o creștere numerică și o activitate fieroxidantă accelerată la temperaturi de peste 30 °C, pe care sterilul din iazul de decantare le asigură o mare parte din an. Temperaturile ridicate diminuează însă activitatea fieroxidantă a speciei *A. ferrooxidans*. Împreună, aceste două specii, asigură o continuă oxidare a piritului și prelucrarea compușilor intermediari.
8. Activitatea metabolică de degradare a piritului de către specia *A. ferrooxidans* are drept rezultate și eliberarea sulfurii. La diminuarea numerică sau diminuarea activității metabolice a speciei *A. ferrooxidans*, continuarea oxidării piritului din steril are loc prin intermediul fierului feric (Fe^{3+}) asigurat de procesele oxidative produse de *L. ferrooxidans*; prin „mecanismul indirect”, de oxidare chimică a piritului; sulfurii iese din rețeaua cristalină, din forma S^{2-} , în mediu ca sulfurii elemental S^0 .
9. Sulfurii elemental, S^0 , se poate acumula în mediu sau poate fi oxidat de bacteriile sulfoxidante, *A. thiooxidans*, sau a celor din specia *A. ferrooxidans*, la reluarea activității, continuând procesele de drenaj acid.

Desigur, toate acestea se desfășoară într-o interrelație complexă, care condiționează dinamica proceselor de drenaj acid în sterilul din iazul de decantare.

STUDIUL EFECTELOR METALELOR GRELE ASUPRA PLANTELOR FOLOSITE ÎN LUCRĂRILE DE REVEGETARE

Scopul cercetării

Scopul cercetărilor a fost testarea unor specii de plante ierboase privind creșterea în condițiile oferite de sterilul de flotație din iazul Bozânta și elaborarea unor amestecuri cu amendamente în vederea realizării unui covor vegetal.

Activități experimentale

În vederea testării creșterii speciilor de plante în condițiile oferite de sterilul de flotație din terasele iazului de decantare au fost realizate teste de ecotoxicitate privind germinația semințelor și creșterea organelor vegetative ale plantelor. Experimentele s-au desfășurat în conformitate cu cerințele protocoalelor ISO 11269–1:2012 și ISO 11269–2:2012.

În cadrul cercetărilor au fost realizate următoarele tipuri de activități:

1. Evidențierea efectelor eluatului industrial asupra semințelor, prin realizarea testelor de germinație privind facultatea germinativă (FG), energia germinativă (EG) procentul de germinare (PG) și indicele de germinare (IG);
2. Evidențierea efectelor eluatului industrial asupra creșterii organelor vegetative ale plantelor (sistemul radicular și părțile aeriene): evaluarea lungimii medii ale radicelelor și tulpinilor; evidențierea toleranței la stres – indicele de toleranță la stres (IT%); evidențierea inhibării creșterii rădăcinilor (ICR%); biomasa uscată.
3. Studiul răsării și creșterii plantelor pe sterilul din iaz și pe steril în amestec cu amendamentele încorporate în vederea îmbunătățirii condițiilor de nutriție a plantelor.

5.1 Teste de germinație. Evidențierea efectelor eluatului industrial asupra indicatorilor germinației

5.1.1 Principiul metodei

Proba germinației constă în stabilirea energiei germinative (EG) și a facultății germinative (FG), asigurând semințelor condiții optime de umiditate, temperatură și aerare (Cenușă et al., 2015).

Luând în considerare timpul mai îndelungat necesar pentru germinarea semințelor și creșterea lentă a organelor vegetative la una dintre speciile testate (*Agrostis capillaris*) și în absența unor referințe din literatura de specialitate, în experimentele de față am stabilit pentru ambele specii de graminee 7 zile pentru energia germinativă (EG₇), respectiv 14 zile pentru facultatea

germinativă (FG₁₄), în acord cu experimentele realizate pe sterilul din plaja iazului Bozânta (Jelea & Baci, 2022). Procesul germinativ a fost monitorizat pe parcursul a 28 zile.

Indicele de germinare (IG) este un indicator calculat pe baza rezultatelor obținute după parcurgerea celor 14 zile specifice facultăților germinative pentru cele două specii de graminee.

5.1.2 Materiale și metode

Materialul biologic utilizat

Testele de germinație au fost realizate pentru două specii de plante erbacee monocotiledonate, din familia Poaceae: *Lolium perenne* și *Agrostis capillaris*, datorită următoarelor considerente: sunt plante perene, au rădăcină fasciculată, polenizarea este anemofilă.

Ambele specii se găsesc în lista plantelor terestre folosite pentru testarea vigorii vegetative la expunerea la produse chimice: *Lolium perenne* în Anexa 2 *List of species historically used in plant testing* și *Agrostis capillaris* în Anexa 3 *Potential species for plant toxicity testing*, din OECD Guidline for the testing of chemicals (OEC, 2006).

L. perenne L. (raigras, iarbă de gazon, zâzanie) este potrivită pentru plantarea pe solurile contaminate cu metale grele. Studiile au demonstrat că poate reabilita solurile contaminate cu Cd și Pb (Arienzo et. al., 2004). Nu este o plantă hiperacumulatoare de metale, însă este tolerantă pentru unele metale grele, rezistentă în condiții nefavorabile și permite acoperirea rapidă a solului în zonele în care este plantată (Casler & Undersander, 2018; Masotla et al., 2023).

În experimente au fost folosite semințe de *Lolium perenne* certificate, produse și distribuite de SC Everde SRL Satu Mare, lot EV0395-3SM01.

A. capillaris L., sinonim *A. tenuis* Sibth. (iarba câmpului) face parte din plantele native recomandate pentru revegetarea terenurilor contaminate cu metale grele (Wang & Delavar, 2023). Se întâlnește în pajiști care populează versanții slab sau moderat înclinați de pe soluri bine drenate, slab până la moderat aprovizionate cu substanțe nutritive și cu reacție slab acidă.

Semințele de *A. capillaris* folosite în experimente au fost obținute de la plante prelevate de pe iazul Bozânta.

Condiții experimentale

Experimentele de germinație au fost realizate în vase din ceramică tip Linhard.

Pentru fiecare specie de plantă au existat câte 3 repetiții: câte 3 loturi martor (control) și câte 3 loturi experimentale (test). Pentru fiecare lot au fost folosite câte 100 de semințe (fig. 5.1).

Experimentele s-au desfășurat la temperatură de 20±2°C, cu variații între perioadele de zi și noapte. Umiditatea relativă medie a fost între 55–65%. Fotoperioada a fost între 10–11 ore.

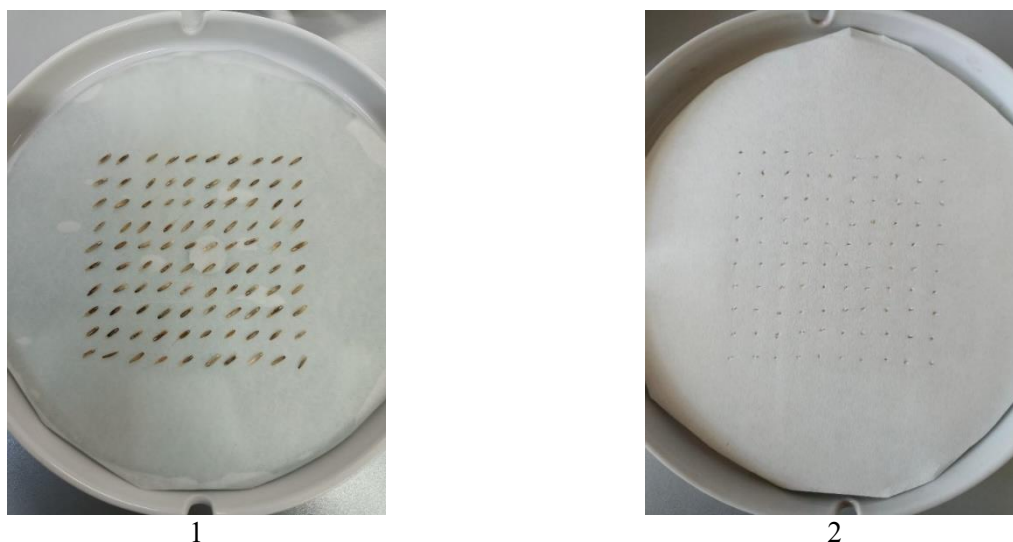


Fig. 0.1 Vasele de germinație Linhardt cu loturile de 100 semințe
1. *Lolium perenne*; 2. *Agrostis capillaris*

La umectarea semințelor din loturile martor a fost folosită apă oligominerală.

Semințele din loturile test au fost umectate cu un eluat industrial, obținut după metoda extrasului de sol din proba medie de steril recoltată de la adâncimea 0–20 cm din terasa T₂ a sectorului S₅. Compoziția chimică (mg/l) și parametri fizico-chimici ai eluatului industrial au fost următoarele: Cu – 8,34, Pb <0,1, Zn – 78,45, Fe^{Total} – 1459,7, Ca²⁺ – 635,2, Mg²⁺ – 71,5, Na⁺ – 1,25, SO₄⁻ – 2243, oxigen dizolvat – 11,5, Cl⁻ – 2,30, amoniu (NH₄⁺) – 10,6, nitrat (NO₃⁻) – 36,5, total solide dizolvate (TSD) – 174; saturație oxigen – 106%, potențial redox (mV) – 263,5, conductivitate (μS/cm) – 135,5, săruri – 52,3, pH – 3,8.

Dinamica germinației semințelor a fost urmărită zilnic, pe parcursul a 28 zile.

Pentru realizarea calculului privind indicatorii procesului germinativ au fost luate în considerare rezultatele obținute după 7, 14 și 28 zile.

5.1.3 Rezultate și discuții

5.1.3.1 Determinarea facultății și a energiei germinative pentru specia de graminee

Lolium perenne (iarba de gazon)

În figurile 5.2 și 5.3 sunt prezentate rezultatele obținute în experimentele martor și test. Valorile maxime pentru EG₇ au fost atinse după 6 zile, atât pentru varianta martor cât și pentru test, iar cele pentru FG₁₄, la 14, respectiv la 13 zile. Procentul de germinație la 28 zile, PG₂₈, a crescut ne semnificativ față de FG₁₄, atât pentru varianta martor cât și pentru varianta test.

În prezentarea grafică din figura 5.3, privind dinamica procesului de germinație, se observă că în cazul variantei martor, peste 50% dintre semințe au germinat în primele 3 zile, iar pentru varianta cu eluat industrial s-a ajuns la un procent asemănător o zi mai târziu.

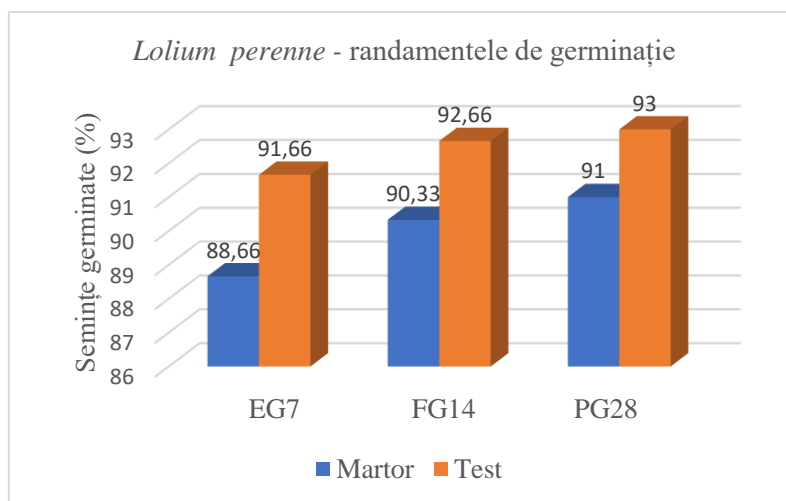


Fig. 0.2 Randamentele de germinație pentru *Lolium perenne*

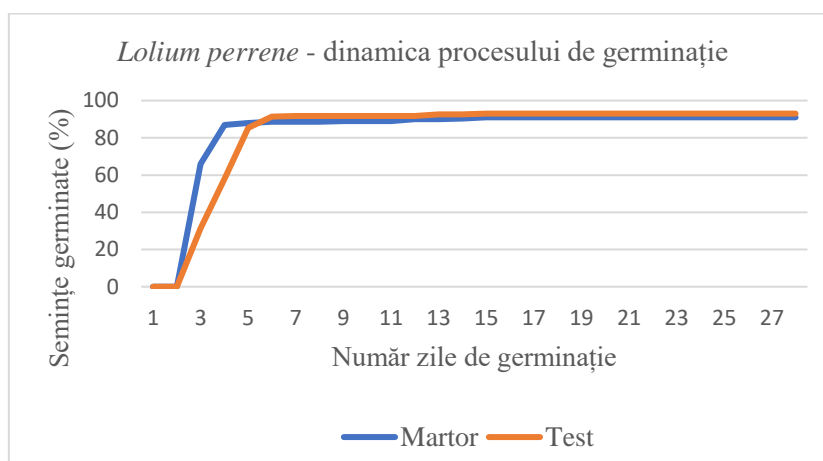


Fig. 0.3 Dinamica procesului de germinație pentru *Lolium perenne*

Diferențele între procentele de germinație în variantele martor și test au fost relativ mici, de 2-3%, dar pe tot parcursul celor 28 zile, în favoarea variantei test.

Indicele de germinare, IG_{14} cu valoarea 102,6%, indică o diferență ne semnificativă, între martor și test, ceea ce conduce la concluzia că, pentru *L. perenne*, prezența metalelor și pH-ul acid al eluatului industrial nu au avut efecte semnificative în procesul germinativ.

5.1.3.2 Determinarea facultății și a energiei germinative pentru specia de graminee

Agrostis capillaris (iarba câmpului)

Rezultatele obținute în experimentele martor și test la germinația semințelor de iarba câmpului sunt prezentate în figurile 5.4 și 5.5. Facultatea germinativă FG_{14} , după 14 zile, a fost de 27,33% pentru varianta martor și de 77% pentru test, ca urmare a germinării a 82, respectiv 231 semințe (fig. 5.4).

În toată perioada de monitorizare diferențele între procentele de germinație ale loturilor martor și test au fost semnificative: 10% pentru EG₇, 49,67% pentru FG₁₄ și 28,34% pentru PG₂₈, toate în favoarea variantei test, cu eluat industrial.

În ceea ce privește dinamica procesului de germinație (fig. 5.5), în cazul variantei martor procesul germinativ a început în ziua a patra, cu o zi în urma variantei test. În loturile test au germinat peste 50% din semințe după 10 zile, în timp ce în loturile martor au fost necesare 28 de zile pentru a ajunge la același procent.

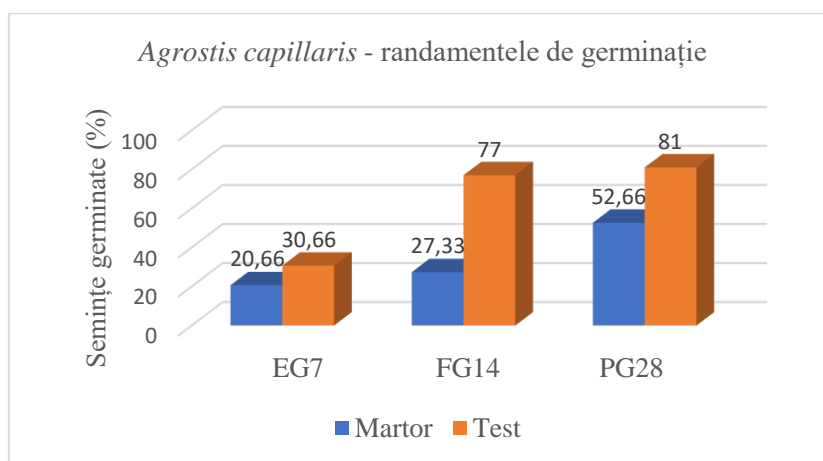


Fig. 0.4 Randamentele de germinație pentru *Agrostis capillaris*

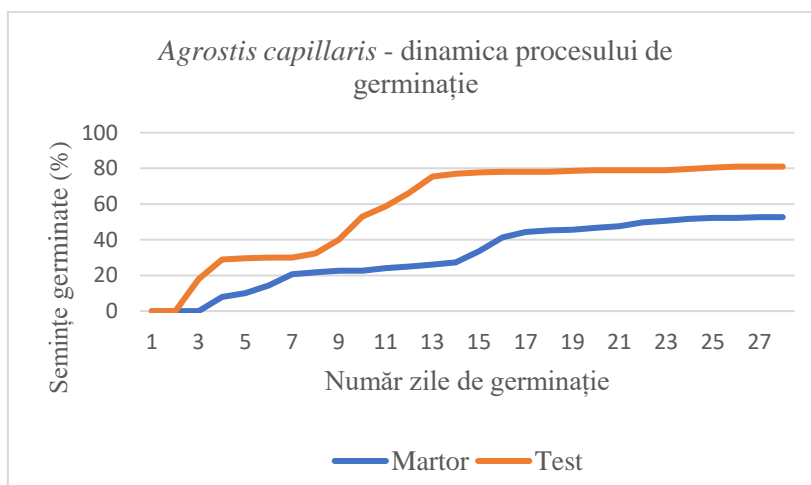


Fig. 0.5 Dinamica procesului de germinație pentru *Agrostis capillaris*

La finalul perioadei de monitorizare a fost observată o diferență semnificativă între procentul de germinație la 14 zile (27,33%), respectiv la 28 zile (52,66%) în cazul variantei martor, ceea ce semnifică o desfășurare încetinită a procesului germinativ, spre deosebire de varianta test unde creșterea pe parcursul perioadei 14-28 zile, a fost de la 77% la 81%, de doar 4%, majoritatea semințelor germinând în primele 14 zile.

Pentru *A. capillaris* s-a manifestat vizibil efectul inhibitor al pH-ului alcalin din apa oligominerală: în varianta martor procesul de germinare a fost întârziat cu două săptămâni, iar procentul de germinare la 28 de zile a fost mult inferior celui obținut în experimentele cu soluție acidă. Efectul pH-ului alcalin s-a manifestat prin dublarea numărului de zile necesare germinării numărului maxim de semințe în experimentul martor. De asemenea, numărul de semințe germinate la 14 zile a fost cu 49,67% mai mic, comparativ cu varianta test și s-a menținut la 28,34% la 28 zile.

Indicele de germinare, IG_{14} , a cărui valoare a fost de 281,7% pentru *A. capillaris*, arată că specie manifestă toleranță față de conținuturile de metale grele din eluatul industrial în perioada de germinație, dar a fost sensibilă la valorile alcaline ale pH-lui apei oligominerale.

Pentru semințele de *A. capillaris* recoltate de pe terasele iazului Bozânta, unde condițiile de pH sunt acide, eluatul industrial a avut un efect stimulator asupra germinării.

Rezultate justifică alegerea perioadelor de monitorizare pentru indicatorii germinației și necesitatea urmării proceselor pe o perioadă îndelungată de timp (de exemplu PG la 28 zile).

5.2 Teste de creștere. Evidențierea efectelor eluatului industrial asupra creșterii organelor vegetative ale plantelor

5.2.1 Principiul metodei

Testele de creștere ale organelor vegetative reprezintă indicatori de calitate a semințelor, de multe ori, mai sensibili decât cei ai germinației, efectele fitotoxice provocate de metalele grele manifestându-se mult mai vizibil (Barral & Paradelo, 2011). Se măsoară creșterea în lungime a radicelelor și a tulpinilor și se cântărește biomasa tulpinilor și, dacă este posibil, biomasa radicelelor. Estimarea statistică privind diferențele de creștere a organelor vegetative între variantele martor și test s-a realizat prin testul *t*-Student. Efectele fitotoxice asupra creșterii organelor vegetative au fost estimate cu indicele de toleranță la stres (IT%) și indicele de inhibare a creșterii rădăcinilor (ICR%). Indicele de toleranță la stres (IT%) este o măsură a capacității unei plante de a supraviețui în condiții de stres și este utilizat pentru evaluarea capacității organismelor de a tolera și de a acumula metale grele. Este un indicator al efectelor fitotoxice asupra creșterii rădăcinilor. Calculul indicelui de inhibare a creșterii rădăcinilor (ICR%) s-a realizat pe baza valorilor medii, în urma măsurătorilor realizate în loturile martor și test. Dacă $ICR\% > 0$, aceasta denotă un efect inhibitor, în timp ce un $ICR\% < 0$, înseamnă stimularea creșterii (Vaverková et al., 2020).

5.2.2 Materiale și metode

Pentru evidențierea efectelor eluatului industrial, au fost realizate măsurători ale lungimii organelor vegetative la 7, 14 și 28 zile, ale plantulelor din loturile martor și test.

A fost cântărită biomasa uscată a plantulelor în întregime (tulpini și radicele), la 28 zile. Materialul vegetal a fost adus la greutate constantă în etuvă, la temperatura de 105 °C.

5.2.3 Rezultate și discuții

5.2.3.1 Evaluarea principalilor indici de calitate a semințelor privind capacitatea de creștere și dezvoltare la specia *Lolium perenne*

În tabelele 5.1 și 5.2 sunt prezentate valorile medii și estimările statistice cu referire la lungimea organelor vegetative ale plantulelor de *L. perenne* la 7 zile.

Tabelul 0.1 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a radicelelor de *Lolium perenne* la 7 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 X ± Es*	Lotul 2 X ± Es*	Lotul 3 X ± Es*	Media (mm)
Martor (mm)	42,03 ± 1,43	39,21 ± 0,85	40,61 ± 1,14	40,61
Test (mm)	34,72 ± 0,94	30,44 ± 0,80	39,00 ± 1,08	34,72
p**	<0,001	<0,001	<0,001	Diferența: 5,9
D%***	-17,40	-22,37	-3,97	-14,5%

X ± Es* – valorile medii ± estimarea statistică; p** – semnificația statistică;
D%*** - diferența procentuală față de martor

Tabelul 0.2 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a tulpinilor de *Lolium perenne* la 7 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 X ± Es*	Lotul 2 X ± Es*	Lotul 3 X ± Es*	Media (mm)
Martor (mm)	47,09 ± 1,38	37,27 ± 2,44	46,47 ± 0,91	43,61
Test (mm)	31,80 ± 1,25	28,91 ± 1,01	35,00 ± 1,08	31,9
p**	<0,001	<0,001	<0,001	Diferența: 11,7
D%***	-22,47	-22,43	-24,68	-23,19%

Explicatia la tabelul 5.1

Creșterea organelor vegetative pe parcursul primelor 7 zile de la inițierea experimentelor s-a desfășurat mai lent în loturile de semințe din varianta test comparativ cu loturile martor.

În tabelele 5.3 și 5.4 sunt prezentate valorile medii și estimările statistice pentru creșterea organelor vegetative ale plantulelor de *L. perenne* la 14 zile de la începerea experimentelor.

Tabelul 0.3 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a radicelelor de *Lolium perenne* la 14 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 X ± Es*	Lotul 2 X ± Es*	Lotul 3 X ± Es*	Media (mm)
Martor (mm)	72,23 ± 2,17	73,86 ± 2,65	71,44 ± 2,33	72,51
Test (mm)	68,66 ± 1,89	69,90 ± 2,20	61,21 ± 2,46	66,59
p**	NS****	NS****	<0,001	Diferența: 5,9
D%***	-4,94	-5,36	-14,31	-8,2%

Explicatia la tabelul 5.1

În ceea ce privește lungimea radicelelor la 14 zile (tab. 5.3), diferențele față de martor au fost ne semnificative $-4,94\%$ (lotul 1), $-5,36\%$ (lotul 2) și semnificative $-14,31\%$ (lotul 3). Diferența între lungimea medie în loturile martor și test a fost de 5,9 mm.

Partea aeriană a plantulelor (tab. 5.4) din variantele test nu a depășit media de înălțime a martorului, în loturile 1 și 3: diferențele față de martor au fost de $-3,20\%$ (lotul 1) și $-14,37\%$ (lotul 3).

Tabelul 0.4 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a tulpinilor de *Lolium perenne* la 14 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	$98,10 \pm 2,50$	$95,95 \pm 2,59$	$101,08 \pm 2,12$	98,37
Test (mm)	$94,96 \pm 2,36$	$100,32 \pm 1,92$	$86,55 \pm 2,27$	93,94
p ^{**}	NS ^{****}	NS ^{****}	<0,001	Diferența: 4,4
D% ^{***}	-3,20	+4,45	-14,37	-4,4%

Explicația la tabelul 5.1

În tabelele 5.5 și 5.6 sunt prezentate valorile medii și estimările statistice obținute în urma prelucrării datelor privind creșterea organelor vegetative după 28 de zile.

Tabelul 0.5 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a radicelelor de *Lolium perenne* la 28 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	$78,08 \pm 2,44$	$79,71 \pm 2,01$	$80,15 \pm 2,64$	79,31
Test (mm)	$71,22 \pm 2,60$	$72,72 \pm 2,00$	$73,13 \pm 3,20$	72,35
p ^{**}	<0,04	<0,04	<0,001	Diferența: 6,96
D% ^{***}	-8,78	-8,76	-8,75	-8,77%

Explicația la tabelul 5.1

Tabelul 0.6 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a tulpinilor de *Lolium perenne* la 28 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	$104,34 \pm 3,02$	$108,81 \pm 2,52$	$102,84 \pm 2,78$	105,33
Test (mm)	$107,38 \pm 2,32$	$111,19 \pm 1,20$	$104,89 \pm 1,12$	107,82
p ^{**}	NS ^{****}	NS ^{****}	NS ^{****}	Diferența: -2,49
D% ^{***}	+2,91	+2,18	+1,99	+2,36%

Explicația la tabelul 5.1

În variantele test, rezultatele obținute au fost următoarele: $71,22 \pm 2,60$ mm (lotul 1; $p < 0,04$), $72,72 \pm 2,00$ mm (lotul 2; $p < 0,04$), $73,13 \pm 3,20$ mm (lotul 3; $p < 0,001$).

În ceea ce privește tulpina, diferențele procentuale față de martor au fost superioare în loturile test cu următoarele valori: 2,91% (lotul 1); 2,18% (lotul 2) și 1,99% (lotul 3).

Indicele de toleranță la stres (IT%) pentru specia *L. perenne*, a fost calculat pentru creșterea radicelelor la 7 zile (85,49%), 14 zile (91,85%) și 28 zile (91,22%). Toleranța la stresul produs de elementele fitotoxice solubile, sau de alți factori (de exemplu, pH-ul) este cu atât mai mică, cu cât

valoarea este mai apropiată de 100%. Din valorile indicelui de toleranță (IT%) se observă că elementele fitotoxice ale eluatului industrial a avut un impact scăzut asupra încetinirii creșterii rădăcelor și s-a manifestat în special în primele 7 zile de la montarea experimentelor.

ICR% are valori mai mari decât 0 (7 zile - 14,5%; 14 zile – 8,16%; 28 zile – 8,77%), ceea ce indică efectul inhibitor asupra rădăcinii, manifestat mai ales în primele zile de germinare.

Pentru biomasa uscată a plantelor a fost calculată la 28 zile (fig. 5.6). Diferența dintre biomasele uscate este de 14,33% în detrimentul lotului test, deși media lungimii tulpinilor în loturile test a depășit la 28 zile media lungimii loturilor martor.

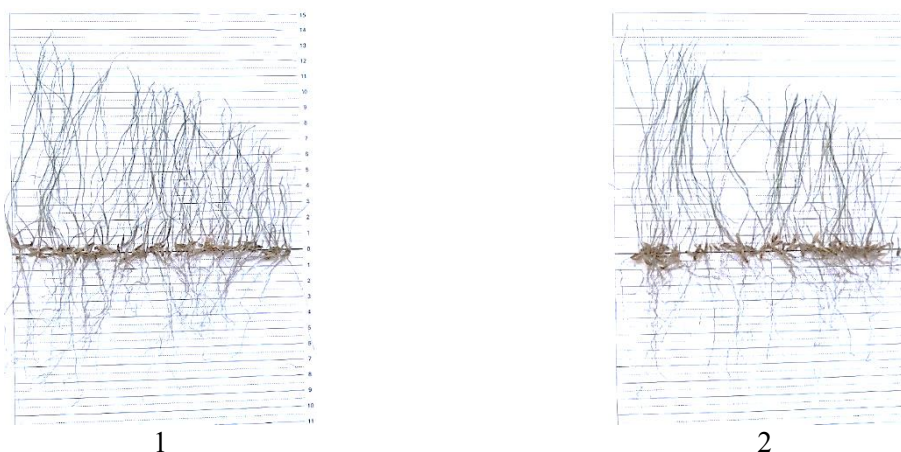


Fig. 0.6 *Lolium perenne*, biomasa uscată: 1 – martor; 2 – test

Analizând efectele eluatului industrial asupra germinării semințelor și creșterii organelor vegetative la specia de graminee *L. perenne* se pot afirma următoarele:

- în loturile test procentele de germinație au fost superioare celor din loturile martor;
- procentul și viteza mai mică de germinare în loturile martor au putut fi influențate de pH-ul alcalin 7,9, al apei oligominerale;
- în ceea ce privește creșterea organelor vegetative, influența eluatului s-a observat în special la începutul perioadei de monitorizare;
- diminuarea diferențelor de creștere, începând cu a doua săptămână, la nivelul rădăcinilor a avut efect și asupra creșterii tulpinilor, diferențele între creșterile la plantele martor și test scăzând semnificativ;
- biomasa uscată în variantele test a fost diminuată în raport cu martorul.

După unii autori (Masotla et al., 2023), creșterea mai lentă a rădăcelor în prezența metalelor grele se datorează reducerii celulelor meristemice de la nivelul rădăcinii și absorbției reduse a nutrienților și a apei.

5.2.3.2 Evaluarea principalilor indici de calitate a semințelor privind capacitatea de creștere și dezvoltare la specia *Agrostis capillaris*

În tabelele 5.7 și 5.8 sunt prezentate valorile medii și estimările statistice cu referire la creșterea organelor vegetative ale plantulelor de *A. capillaris* la 7 zile. Eluatul industrial a stimulat în variantele test, în primele 7 zile, creșterea în lungime a organelor vegetative, ca urmare a unui proces de adaptare la aciditatea mediului.

Tabelul 0.7 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a radicelelor de *Agrostis capillaris* la 7 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	2,53 ± 0,38	2,22 ± 0,28	2,16 ± 0,23	2,30
Test (mm)	2,42 ± 0,20	3,36 ± 0,31	3,54 ± 0,35	3,10
p ^{**}	NS	<0,02	<0,001	Diferența: -0,8
D% ^{***}	-4,35	+52,25	+63,88	+34,78%

Explicația la tabelul 5.1

Tabelul 0.8 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a tulpinilor de *Agrostis capillaris* la 7 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	2,90 ± 0,46	3,42 ± 0,54	3,23 ± 0,49	3,18
Test (mm)	4,48 ± 0,48	6,25 ± 0,66	6,62 ± 0,71	5,78
p ^{**}	<0,001	<0,01	<0,001	Diferența: -2,6
D% ^{***}	+54,48	+82,74	+104,95	+81,76%

Explicația la tabelul 5.1

În tabelele 5.9 și 5.10 sunt prezentate valorile medii și estimările statistice ale creșterilor organelor vegetative (rădăcină, tulpină) pentru specia *A. capillaris* la 14 zile.

Măsurătorile realizate la 14 zile de la începerea experimentului au relevat menținerea tendinței radicelelor din loturile test de a depăși în creștere lungimea radicelelor din loturile martor: diferența mediilor lungimilor loturilor a fost de 0,51 mm, diferența procentuală fiind de 13,67%.

Tabelul 0.9 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a radicelelor de *Agrostis capillaris* la 14 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	3,58 ± 0,27	3,72 ± 0,07	3,89 ± 0,45	3,73
Test (mm)	4,84 ± 0,34	3,90 ± 0,20	4,00 ± 0,10	4,24
p ^{**}	<0,01	<0,01	<0,001	Diferența: -0,51
D% ^{***}	+35,19	+4,83	+2,82	+13,67%

Explicația la tabelul 5.1

Tabelul 0.10 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a tulpinii de *Agrostis capillaris* la 14 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	12,10 ± 0,40	12,00 ± 0,20	11,50 ± 0,20	11,86
Test (mm)	15,74 ± 0,55	15,33 ± 0,69	14,73 ± 1,03	15,26
p ^{**}	<0,001	<0,001	<0,001	Diferența: -3,4
D% ^{***}	+23,13	+21,73	+22,04	+22,3%

Explicația la tabelul 5.1

În privința rezultatelor privind creșterile medii ale tulpinilor s-a observat o diferență a ratei de creștere a tulpinilor în loturile test cu 22,3% față de martor; diferența între mediile loturilor a fost de 3,4 mm în favoarea loturilor test.

În tabelul 5.11 sunt prezentate măsurătorile obținute după 28 de zile pentru creșterea în lungime a radicelelor, iar în tabelul 5.12 sunt prezentate valorile pentru tulpini.

Tabelul 0.11 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a radicelelor de *Agrostis capillaris* la 28 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	4,97 ± 0,29	4,20 ± 0,50	4,30 ± 0,29	4,49
Test (mm)	5,28 ± 0,88	4,65 ± 0,50	4,87 ± 0,40	4,93
p ^{**}	<0,01	<0,01	<0,01	Diferența: -0,44
D% ^{***}	+24,82	+9,68	+11,71	+5,4%

Explicația la tabelul 5.1

Tabelul 0.12 Influența eluatului industrial asupra creșterii în lungime a tulpinii de *Agrostis capillaris* la 28 zile

Varianta experimentală	Lotul 1 $X \pm Es^*$	Lotul 2 $X \pm Es^*$	Lotul 3 $X \pm Es^*$	Media (mm)
Martor (mm)	16,92 ± 1,31	17,18 ± 0,19	17,96 ± 0,60	17,35
Test (mm)	18,92 ± 0,41	19,18 ± 0,10	19,96 ± 0,20	19,35
p ^{**}	<0,25	<0,25	<0,25	Diferența: -2,0
D% ^{***}	+11,82	+11,64	+11,13	+11,53

Explicația la tabelul 5.1

Pe tot parcursul celor trei săptămâni media lungimii radicelelor în loturile test a fost superioară mediei loturilor martor, diferența cea mai mare fiind înregistrată în prima săptămână. În ceea ce privește dinamica creșterii tulpinilor s-a observat o diferență de creștere semnificativă în favoarea loturilor test pe tot parcursul experimentului.

Analizând valorile obținute în urma calculării toleranței la stres (IT%), pe baza creșterii rădăcinilor, se observă că efectele eluatului industrial au fost vizibile pe toată durata experimentului (7 zile – 134,78%; 14 zile – 113,67%; 28 zile – 109,8%), acesta determinând o creștere a mediei lungimilor în loturile test față de loturile martor.

Rezultatele calculelor pentru aprecierea efectelor eluatului industrial asupra creșterii rădăcinilor (ICR%), indică efectul stimulator pe care acesta l-a avut în perioada primelor 14 zile (7 zile - -34,78%; 14 zile - -13,67%). La finalul experimentului, valoarea mai mare de 0 a mediei rădăcinilor indică efectul inhibitor al apei oligominerale asupra creșterii rădăcinilor în loturile test (fig. 5.7).

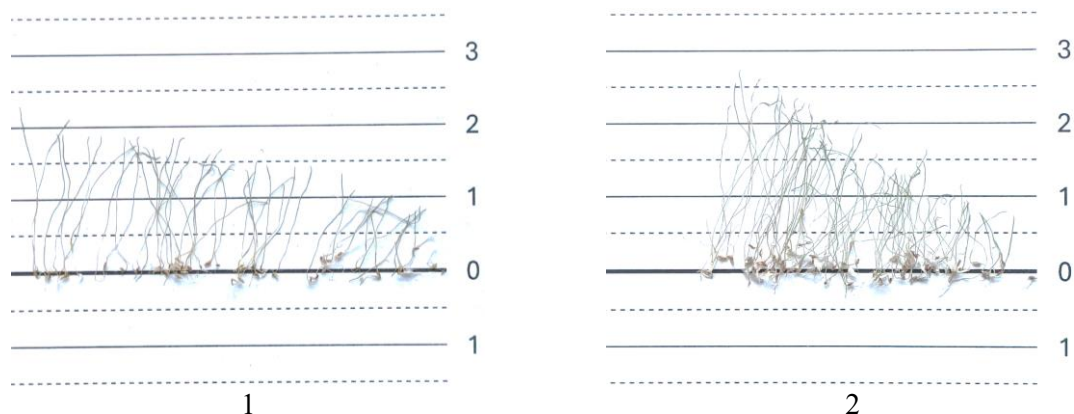


Fig. 0.7 *Agrostis capillaris*, biomasa uscată: 1 – martor; 2 – test

Din rezultatele obținute pentru germinarea semințelor și creșterea organelor vegetative la specia *A. capillaris*, reies următoarele:

- eluatul industrial nu a avut efecte inhibitorii în ceea ce privește germinarea semințelor;
- toleranța speciei față de metale grele și preferința pentru pH-ul acid, explică randamentele mai mici de germinație a semințelor în probele martor, cu apă oligominerală și pH alcalin, față de loturile test, cu eluat industrial cu conținut de metale grele și cu pH acid;
- corelând rezultatele randamentelor de germinație cu cele privind creșterile în lungime ale radicelelor și tulpinilor, la specia *A. capillaris* se observă că eluatul industrial nu a avut efecte inhibitorii asupra acestor procese;
- efectele inhibitorii ale pH-ului alcalin au fost evidente și în ceea ce privește creșterea mai lentă a organelor vegetative în probele martor cu apă oligominerală;
- biomasa uscată în varianta test a fost mai crescută în raport cu martorul.

5.3 Teste de răsărire și creștere pe substraturi cu steril de iaz și amendamente

5.3.1 Principiul metodei

Testele au fost realizate în acord cu recomandările OECD (elaborate în anul 1984 și revizuite în 2006) și ISO 11269-2:2012(E). Semințele au fost semănate în vase de vegetație, amplasate în condiții standard pentru germinarea semințelor și creșterea plantelor. S-au monitorizat zilele necesare răsăririi plantelor.

5.3.2 Materiale și metode

Materialul biologic utilizat

Pentru testele de creștere pe substraturi au fost utilizate semințe de *L. perenne* și *A. capillaris* din aceleași loturi folosite pentru testele de germinație.

Condiții și variante experimentale

Experimentele au constat în testarea răsării și creșterii plantelor pe substraturi reprezentate de sterilul de flotație din iazul Bozânta și amestecuri ale acestuia cu pământ fertil și amendamente necesare îmbunătățirii calităților fizice și nutritive.

Amestecurile folosite în testele de răsărire și creștere a plantelor au fost realizate din următoarele materiale: pământ fertil (P); steril de flotație (St); material organo-zeolitic (Oz); zeolit (Z); zeolit îmbogățit cu Ca și Mg (Z_{CaMg}); dolomit cu Ca și Mg (D).

- a) Pământul fertil (P) folosit în experimente a fost un pământ universal de flori.
- b) Sterilul de flotație (St) a fost reprezentat de proba medie, recoltată de la 0-20 cm din terasa 2, T₂, a sectorului 5, S₅, iazul Bozânta (pH – 3,8).
- c) Materialul organo-zeolitic (Oz) a fost obținut după metoda Leggo (2004). Amestecul are la origine tuf vulcanic de Bârsana (Maramureș). Materialul organo-zeolitic a fost utilizat de Damian și colaboratorii (2013 și de Jelea & Baci (2023).
- d) Zeolitul (Z), supliment natural pentru plante (pH – 6,43).
- e) Zeolitul îmbogățit cu CaCO₃ și MgCO₃ (Z_{CaMg}) (pH – 7,4).
- f) Dolomitul (D), rocă sedimentară cu conținut de carbonat dublu de calciu și magneziu. (pH – 7,23). Este utilizată ca sursă de calciu și magneziu și pentru reglarea pH-ului.

Variantele experimentale, cu raportul între componente și parametrii extrasului apos 1:5, sunt prezentate în tabelul 5.13 și figurile 5.8 și 5.9.

La bază, în fiecare vas a fost așezat un strat de dren cu înălțimea de 3 cm, alcătuit din nisip cu granulație <2 mm (fig. 5.10a). În variantele 1 și 2 straturile de însămânțare au fost alcătuite din pământ fertil (P), respectiv sterilul de flotație (St), cu înălțimea de 10 cm. Variantele test 3–11 au fost organizate încât să simuleze aplicarea lor în teren, pe suprafața teraselor.

În aceste variante, straturile de amestecuri, cu înălțimea de 3,5 cm, realizate pentru testele de germinație a semințelor și creștere a plantelor, au fost așezate peste două substraturi de steril:

- substrat de steril neoxidat (St_{No}), probă medie recoltată de la adâncimea 30–40 cm din terasa 2, T₂, a sectorului 5, S₅ (pH – 6,56),-cu înălțimea de 4,5 cm (fig. 5.10b);
- substrat de steril oxidat (St_{Ox}), probă medie recoltată de la adâncimea 20–30 cm din terasa 2, T₂, a sectorului 5, S₅ (pH – 3,02), cu înălțimea de 2 cm (fig. 5.10c).

Tabelul 0.13 Compoziția variantelor experimentale

Variante	Compoziția variantelor experimentale (%)						Parametrii extrasului apos 1:5			
	P	St	Oz	Z	Z _{CaMg}	D	pH mV	Cond. μS/cm	TSD ppm	Săruri ppm
1 P	100						7,27	160	1,13	714
2 St		100					3,8	135,5	174	52,3
3 StP	15	85					6,54	1262	895	558
4 StOz		85	15				6,9	785	559	343
5 StPOz	15	70	15				7,12	1414	1,0	628
6 StZ		85		15			4,5	143,7	102	63,3
7 StPZ	15	70		15			6,19	589	418	226
8 StZ _{CaMg}		85			15		7,87	665	472	288
9 StPZ _{CaMg}	15	70			15		7,79	820	581	357
10 StD		85				15	8,02	797	566	347
11 StPD	15	70				15	7,72	922	662	409

Amestecurile pregătite pentru însămânțare au fost umectate și lăsate în repaus timp de 48 ore. La umectarea amestecurilor a fost folosită apă distilată cu pH – 6,0.

Pentru fiecare variantă de substraturi au fost semănate câte 100 semințe ale celor două specii de graminee. Experimentele s-au desfășurat într-un interval de temperatură de 20±2°C, cu variații între perioadele de zi și noapte. Fotoperioadă a fost cuprinsă între 11–12 ore. Umiditatea a fost menținută între 50–60%.



Fig. 0.8 Materialele folosite în amestecuri:
a) P; b) St; c) Oz; d) Z; e) Z_{CaMg}; f) D



Fig. 0.91 Variante experimentale:
1 P; 2 St; 3 StP; 4 StOz; 5 StPOz;
6 StZ; 7 StPZ; 8 StZ_{CaMg};
9 StPZ_{CaMg}; 10 StD; 11 StPD



Fig. 0.10 Substraturile de nisip și steril:
a) Nisip; b) St_{No};
c) St_{Ox}

Au fost realizate observații privind dinamica răsării plantelor la 7, 14, 28 și 35 zile.

Cinci caractere ale creșterii plantelor au fost considerate manifestări ale efectelor fitotoxicității sterilului asupra plantelor: îngălbenirea frunzelor, uscarea frunzelor, limbul frunzelor mai îngust și tulpinile mai subțiri comparativ cu organele vegetative ale plantelor crescute în varianta cu pământ, colorarea în roșu-brun a tecii frunzei de la baza tulpinii.

Măsurarea lungimii tulpinilor și a rădăcinilor și analiza biomasei uscate s-a realizat la finalul experimentului, la 35 zile de la însămânțare.

5.3.3 Rezultate și discuții

5.3.3.1 Determinarea răsării pe straturile experimentale pentru specia de graminee

Lolium perenne (iarba de gazon)

Tabelul 5.14 prezintă numărul de plante răsărite pe parcursul desfășurării experimentului.

Tabelul 0.1 Numărul de plante răsărite pe parcursul derulării experimentului pentru specia de graminee *Lolium perenne* (iarba de gazon)

Variante	Număr plante răsărite			
	Zile	7	14	28
1 P	81	81	91	91
2 St	63	71	85	85
3 StP	77	82	91	91
4 StOz	68	69	91	91
5 StPOz	75	82	92	92
6 StZ	72	75	84	84
7 StPZ	84	84	87	87
8 StZ _{CaMg}	81	84	91	91
9 StPZ _{CaMg}	79	83	94	94
10 StD	90	91	95	95
11 StPD	85	87	94	94

5.3.3.2 Manifestarea fitotoxicității sterilului asupra plantelor de *Lolium perenne*

Observațiile privind manifestările fitotoxicității sterilului asupra creșterii plantelor, realizate la 28 zile de la însămânțare, sunt prezentate în tabelul 5.15.

Tabelul 0.15 Observații privind starea plantelor de *Lolium perenne* (iarba de gazon) la 28 zile de la plantare

Observații \ Variante	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	P	St	StP	StOz	StPOz	StZ	StPZ	StZ _{CaMg}	StPZ _{CaMg}	StD	StPD
Frunze verzi	X		X	X	X		X		X		X
Frunze îngălbenite		X				X		X		X	
Frunze uscate		X				X					
Limbul viguros	X		X	X	X		X		X		X
Limbul mai îngust		X				X		X		X	
Limbul mai lat				X	X						
Tulpini viguroase	X		X	X	X		X		X		X
Tulpini mai subțiri		X				X		X		X	
Tulpini mai groase				X	X						
Tecile verzi	X										
Tecile roșu-brun		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Fitotoxicitate	-	5	1	1	1	5	1	4	1	4	1

După 35 zile de derulare a experimentului plantele au fost recuperate din vasele de vegetație și au fost măsurate lungimile rădăcinilor și ale tulpinilor (tab. 5.16).

Comparând modul de creștere a rădăcinilor s-a observat că în varianta cu pământ (1 P), rădăcinile au crescut pe toată înălțimea substratului, în timp ce în varianta test cu material organo-zeolitic (4 StOz) rădăcinile au crescut în stratul reprezentat de amestecul sterilului cu amendamentul și în stratul de sterilul oxidat (StO_x). Diferența evidentă este în modul de dezvoltare

a rădăcinilor, sub formă de fascicule lungi și subțiri, slab ramificate, în varianta martor cu pământ (1 P) și mai scurte, dar foarte groase și ramificate, în varianta test cu material organo-zeolitic.

Tabelul 0.2 Lungimile medii ale rădăcinilor și tulpinilor, IT și ICR, la *L. perenne* (iarba de gazon) la 35 zile de la plantare

Varianta experimentală	Media lungimii rădăcinilor (mm)	Media lungimii tulpinilor (mm)	Indicele de toleranță la stres (IT%)	Indicele de inhibare a creșterii (ICR%)
1 P	130	250,23	-	-
2 St	3,71	61,0	2,85	97,14
3 StP	87,91	230,84	67,62	32,37
4 StOz	51,84	250,51	38,87	60,12
5 StPOz	75,41	238,6	68,0	41,99
6 StZ	24,2	124,39	18,77	81,38
7 StPZ	103,64	232,75	79,74	20,25
8 StZ _{CaMg}	120,14	174,06	92,41	7,58
9 StPZ _{CaMg}	108,53	226,75	83,48	16,51
10 StD	117,6	168,4	90,46	9,53
11 StPD	72,48	221,74	55,75	44,24

Tabelul 5.17 prezintă valorile obținute pentru greutatea uscată a rădăcinilor și tulpinilor. Greutatea uscată a tulpinilor a fost superioară celei din varianta martor în toate variantele test cu steril, amendamente și pământ și mai mică în variantele în care amestecurile au fost reprezentate doar din steril și amendamente, cu excepția variantei cu material organo-zeolitic.

Comparând cu valorile obținute pentru mediile lungimilor se observă că greutatea medie a tulpinilor este în corespondență directă cu acestea.

Tabelul 0.3 Greutățile uscate ale rădăcinilor și tulpinilor la *Lolium perenne* (iarba de gazon) la 35 zile de la plantare

Varianta experimentală	Greutatea uscată (g)			
	Pentru plantele răsărite		Recalculat, pentru 100 plante	
	Rădăcini	Tulpini	Rădăcini	Tulpini
1 P	0,316	0,920	0,347	1,01
2 St	0,105	0,134	0,123	0,154
3 StP	0,386	0,999	0,424	1,097
4 StOz	0,360	1,830	0,395	2,011
5 StPOz	0,296	1,824	0,321	1,982
6 StZ	0,245	0,416	0,291	0,495
7 StPZ	0,580	1,073	0,666	1,233
8 StZ _{CaMg}	0,835	0,485	0,917	0,533
9 StPZ _{CaMg}	0,781	1,042	0,830	1,108
10 StD	0,753	0,434	0,792	0,457
11 StPD	0,377	0,928	0,401	0,987

Raportat la varianta martor, greutatea uscată a rădăcinilor a fost superioară în variantele test, cu excepția variantelor cu steril 2 St, steril și zeolit 6 StZ și steril, pământ și material organo-zeolitic 5 StPOz.

5.3.3.3 Determinarea răsăririi pe straturile experimentale pentru specia de graminee

Agrostis capillaris (iarba câmpului)

În tabelul 5.18 se prezintă numărul de plante răsărite pe parcursul desfășurării experimentului.

După 35 zile, la finalul experimentului, cele mai mari procente de răsărire, 23% și 24% au fost obținute în variantele cu zeolitul cu conținut de calciu și magneziu, 8 StZ_{CaMg} și 9 StPZ_{CaMg}, variante în care pH-ul substraturilor a fost slab alcalin, 7,9; procentul cel mai mic de răsărire, 7%, a fost obținut în varianta 6 StZ, în care pH-ul substratului a fost acid, 4,5.

Din numărul total de plante răsărite pentru fiecare variantă până la finalizarea experimentului, în șase dintre variante au răsărit peste 70% din plante în primele 7 zile, peste 85% în 8 variante, după 14 zile și 100% în variantele 2–11, după 28 zile.

Tabelul 0.4 Numărul de plante răsărite pe parcursul derulării experimentului pentru specia de graminee *Agrostis capillaris* (iarba câmpului)

Variante	Număr plante răsărite				
	Zile	7	14	28	35
1 P		10	11	12	13
2 St		5	8	12	12
3 StP		9	15	16	16
4 StOz		3	10	18	18
5 StPOz		5	12	13	13
6 StZ		4	4	7	7
7 StPZ		15	18	19	19
8 StZ _{CaMg}		21	23	23	23
9 StPZ _{CaMg}		21	22	24	24
10 StD		10	14	14	14
11 StPD		12	16	16	16

5.3.3.4 Manifestarea fitotoxicității sterilului asupra plantelor de *Agrostis capillaris*

Observațiile privind manifestările fitotoxicității sterilului asupra creșterii plantelor de *Agrostis capillaris*, realizate la 28 zile de la însămânțare, sunt prezentate în tabelul 5.19.

După 35 zile s-au măsurat lungimile rădăcinilor și ale tulpinilor (tab. 5.20). Concluzia este că dimensiunile de maxim 40–42 mm ale rădăcinilor în variantele test în care nu s-au manifestat fenomene de inhibare a creșterii au fost determinate de ritmul lent de creștere a plantelor, nu de fenomene directe de inhibare exercitate de stratul subiacent.

Deoarece în toate variantele numărul de plante răsărite a fost sub 25% și dimensiunile organelor vegetative au fost foarte reduse, am considerat că valorile obținute pentru biomasa uscată nu sunt semnificative și pot introduce un grad mare de eroare; în consecință valorile obținute pentru biomasa uscată nu au fost luate în considerare.

Tabelul 0.5 Observații privind starea plantelor de *Agrostis capillaris* (iarba câmpului) la 28 zile de la plantare

Observații \ Variante	1 P	2 St	3 StP	4 StOz	5 StPOz	6 StZ	7 StPZ	8 StZ _{CaMg}	9 StPZ _{CaMg}	10 StD	11 StPD
Frunze verzi	X		X								
Frunze îngălbenite		X		X	X	X	X	X	X	X	X
Frunze uscate		X		X	X	X	X	X	X	X	X
Tulpini verzi	X		X								
Tulpini scurte		X		X	X	X				X	X
Tulpini lungi	X		X				X	X	X		
Tulpini uscate		X		X	X	X	X	X	X	X	X
Fitotoxicitate	-	4	0	4	4	4	3	3	3	4	4

Tabelul 0.6 Lungimile medii ale rădăcinilor și tulpinilor, IT și ICR, la *Agrostis capillaris* (iarba câmpului) la 35 zile de la plantare

Varianta experimentală	Media lungimii rădăcinilor (mm)	Media lungimii tulpinilor (mm)	Indicele de toleranță la stres (IT%)	Indicele de inhibare a creșterii (ICR%)
1 P	26,08	42,5	-	-
2 St	0,16	16,5	0,61	99,39
3 StP	32,28	42,0	123,77	-23,77
4 StOz	6,55	23,77	25,11	74,88
5 StPOz	5,5	13,91	21,1	78,91
6 StZ	0,4	13,8	1,53	98,46
7 StPZ	24,57	43,43	94,21	5,79
8 StZ _{CaMg}	13,4	34,0	51,38	48,62
9 StPZ _{CaMg}	24,52	39,26	94,02	5,98
10 StD	9,14	27,57	35,05	64,95
11 StPD	9,66	25,44	37,04	62,96

În urma analizei rezultatelor, au fost enunțate principalele caracteristici ale variantelor de substraturi și efectele acestora asupra plantelor.

1. Strat de pământ vegetal

Pământul așezat pe suprafața sterilului poate fi un strat de cultivare favorabile germinării, creșterii și dezvoltării plantelor. Varianta are însă următoarele dezavantaje: - acumularea și concentrarea într-o perioadă scurtă de timp a metalelor grele care ajung în stratul de pământ fertil prin ascensiune capilară, va determina creșterea nivelului de fitotoxicitate; - acidularea stratului de pământ fertil de către soluțiile din stratul oxidat subiacent; - fenomenele de eroziune și transport al stratului de sol la baza iazului de către apele pluviale în perioadele necesare executării lucrărilor de amenajare și însămânțare a substratului; - necesitatea unui volum mare de pământ fertil, ceea ce implică aspecte privind disponibilitatea acestuia, dar și cheltuieli de transport și de punere în operă.

2. Încorporarea pământului vegetal în sterilul de pe suprafețele teraselor iazului

Pământul încorporat în stratul de steril va avea următoarele efecte favorabile: ajustarea pH-ului substratului în domeniul slab acid sau neutru; îmbunătățirea granulometriei substratului; îmbunătățirea drenajului/circulației soluțiilor prin substrat; reținerea eficientă a apei pluviale și menținerea unei

rezerve de umiditate în substrat; îmbunătățirea cantitativă și calitativă în substanțe nutritive; reducerea conținutului de oxigen în soluțiile care vor percola către stratul de steril subiacent.

3. Încorporarea amendamentelor în stratul de steril

Încorporarea diferitelor amendamente în steril va conduce la modificări fizice și chimice: modificarea pH-ului în funcție de conținutul de substanțe alcaline și raportul de amestec cu sterilul; îmbunătățirea substratului cu substanțele specifice, conținute în amendamentul aplicat; modificarea proprietăților granulometrice în funcție de fracțiile granulometrice ale amendamentului.

4. Încorporarea în steril a amestecurilor de pământ și amendamente

Încorporarea în steril a amestecurilor de pământ și amendamente reunește efectele favorabile pe care materialele le au asupra îmbunătățirii calităților fizice, chimice și nutritive.

Pe terasele T₄, care nu au fost înnierbate, din toate sectoarele, S₁–S₁₁ cât și pe alte terase fără vegetație, conform proiectului de închidere/ecologizare sunt prevăzute straturi de impermeabilizare, saltele antierozionale și strat de pământ vegetal care se va înnierba; proiectul prevede pentru restul teraselor cu vegetație acoperirea suprafețelor cu pământ.

Luând în considerare transformările din ultimii 15 ani, propunem următoarele soluții:

- 1) Pentru terasele T₃ din sectorul S₄, dar și din restul sectoarelor S₁–S₃, se propune folosirea amendamentelor cu dolomit și pământ, 11 StPD și înnierbarea cu *L. perenne*. Suprafața acestor terase este lipsită de vegetație ierboasă, de sol sau material organic ca urmare a fenomenelor de antrenare spre aval de către apele pluviale, apele de șiroire și a spulberărilor de steril de pe terasa superioară. După acoperirea terasei superioare, T₄, vor înceta deversările și spulberările de steril; o mare parte din biomasa va rămâne pe loc; pământul și biomasa vegetală vor diminua aportul de oxigen în steril diminuând activitatea bacteriilor aerobe chemolitotrofe fier- și sulfoxidante; arborii cu coroanele nedevelopate vor permite accesul luminii pentru instalarea covorului vegetal.
- 2) Pentru terasele T₂ din sectoarele S₁–S₄, cu vegetație și pH 5,1–6,8, se propune încorporarea de amendamente cu zeolit, 7 StPZ, care va menține pH-ul suprafeței în limitele actuale. Suprafața terasei este populată cu aproape 20 specii de plante ierboase și 6 specii de arbori, arbuști, subarbuști, care produc o cantitate apreciabilă de biomasă vegetală. Amendamentele cu zeolit, vor avea un efect benefic, de lungă durată asupra compoziției soluțiilor din substraturi. Creșterea cantității de biomasă, consumul oxigenului și conținutul de substanțe organice vor avea un efect inhibitor asupra dezvoltării bacteriilor, ceea ce va diminua procesele de drenaj acid al rocilor.
- 3) Terasa T₁, cu steril la început de oxidare, cu un drenaj acid mai avansat decât pe terasa T₂, pH-ul mai acid, 4,8–6,4, are un număr redus de specii ierboase, dar datorită exfiltrațiilor puternice, una

dintre specii a invadat suprafața pe arii extinse: iulișca (*Fallopia japonica*). Terasa este umbroasă datorită salcânilor și a exemplarelor de cer (*Quercus cerris*). Pe această terasă, cu biomasă care acoperă bine suprafața terasei se propune încorporarea de pământ și zeolit cu calciu și magneziu, 9 StPZ_{CaMg}. Amendamentul va îmbunătăți pH-ul, va aduce un surplus de magneziu, necesar proceselor de fotosinteză. Înierbarea cu *L. perenne* nu este absolut necesară.

- 4) Pentru terasele T₃ din sectoarele S₅–S₁₁, abordările privind modul de acoperire se va face diferit. În sectoarele S₅ și S₆, parțial și în S₇, vegetația este distrusă aproape în totalitate. Spre deosebire de terasele T₃ din sectoarele S₁–S₄, unde pH-ul era extrem acid în primii 10 cm, în aceste terase pH-ul este 3,5–4,2 pe toată adâncimea în care pot ajunge rădăcinile plantelor ierboase. Numărul de bacterii fier- și sulfoxidante depășesc valoarea 10⁶/ g steril. Procesele de drenaj acid al rocilor sunt foarte intense și posibilitatea diminuării lor prin încorporarea de amendamente este mai puțin sigură; de aceea se propune acoperirea, împreună cu terasa T₄ cu straturile de impermeabilizare.
- 5) Situația din punct de vedere al acidității sterilului în terasa T₂ din sectorul S₅ nu diferă cu mult de aceea din terasa T₃, dar pH-ul este mai ridicat iar procesele bacteriene de drenaj acid al rocilor, atât fieroxidantele cât și sulfoxidantele sunt cu un ordin de mărime mai puține. Pe această terasă și pe cele din sectoarele S₆ și parțial S₇, se va încorpora dolomit și pământ, 11 StPD și se va semăna *L. perenne*.
- 6) Deși în terasa T₁ a sectorului S₅ încă mai supraviețuiesc arborii bătrâni plantați sau instalați spontan, procesele active ale drenajului acid din stratul superficial au înlăturat vegetația ierboasă. Pe această terasă se propune încorporarea de pământ și zeolit cu calciu și magneziu, 9 StPZ_{CaMg}. Având în vedere suprafața foarte însoțită, datorită numărului mic de copaci rămași, se propune înierbarea cu *L. perenne*, în cultură mixtă cu *A. capillaris*.
- 7) În lungul drumului tehnic se va depune strat de pământ pentru consolidarea covorului vegetal deja existent, reprezentat de pâlcuri de graminee din specia *A. capillaris*.
- 8) *A. capillaris* a apărut spontan în zonele umede, în calea apelor de șiroire care se scurg de pe iaz. Sub forma unui covor vegetal sau a unor pâlcuri are un rol important în reținerea unei părți din particulele fine de steril și diminuarea volumului de poluanți solizi care ajung în apă. Procesele erozionale reprezentate de spulberările provocate de vânt sau cele cu antrenare de steril și umiditatea scăzută împiedică dezvoltarea plantelor.
- 9) *L. perenne* va realiza un covor vegetal pe suprafețele în pantă ale iazului. Procesele erozionale, reprezentate de transportul sterilului de către apele pluviale, vor fi diminuate ca urmare a prezenței organelor vegetative aeriene și a rădăcinilor puternic ramificate.

CONCLUZII

Obiectul cercetării, iazul de decantare a sterilului de flotație Bozânta, amplasat la nord de confluența râurilor Săsar și Lăpuș, în apropierea municipiului Baia Mare și a localităților Săsar, Recea, Lăpușel și Bozânta Mare, reprezintă o sursă majoră de poluare pentru zonele limitrofe.

Ca urmare a activităților din teren au fost constatate următoarele:

- sterilul, material cu granulație submilimetrică, pH acid și conținut de metale grele, este antrenat de vânt, din plaja iazului și de pe terasele lipsite de vegetație, pe terenurile cu destinație agricolă sau păstorit, dar și în zonele locuite aflate la mică distanță;

- apele acide, cu metalele grele conținute, scurse de pe plaja și din terasele iazului, ajung în cele două râuri, trecând peste șanțul de gardă și drumul tehnic;

- de pe terasele superioare au avut loc masive alunecări ale sterilului la baza iazului și în afara perimetrului acestuia;

- suprafața teraselor este brăzdată de ravene care pot depăși 200 cm;

- există zone în care digul de contur este deteriorat;

- degradarea până la dispariție a plantațiilor sau a vegetației spontane de pe terasele iazului;

- fenomenele erozionale, eoliene și pluviale, sunt amplificate de procesele de drenaj acid al rocilor.

Toate aceste transformări pot avea consecințe în ceea ce privește stabilitatea și siguranța iazului și pun în pericol sănătatea locuitorilor din zonele adiacente.

Cercetările realizate pentru stabilirea cauzelor degradării vegetației, evaluarea stadiului și constatarea efectelor proceselor de drenaj acid al rocilor au condus la următoarele observații:

- procesele de drenaj acid al rocilor sunt prezente, în stadii diferite, în sterilul din toate terasele și în plaja iazului;

- proveniența sterilului, vechimea de depozitare, prezența/absența vegetației și modul de plantare a speciilor arboricole au fost factori determinanți în ceea ce privește dinamica proceselor de drenaj acid al rocilor;

- activitatea metabolică bacteriană, fier- și sulfoxidantă a condus la scăderea pH-ului, formarea de soluții acide cu conținut de metale grele în forme asimilabile de către plante, având drept consecințe alterarea condițiilor de viață și uscarea parțială sau totală a vegetației.

În urma analizei rezultatelor am propus un model original de evaluare a stadiului și de estimare a evoluției procesului de drenaj acid al rocilor, pe baza proprietăților fizico-chimice, a speciilor bacteriene fier- și sulfoxidante identificate și a raportului lor numeric în sterilul din terasele iazului. Aplicarea metodelor de lucru și a modelului de evaluare și estimare propus, poate

deveni un instrument util pentru culegerea și compararea datelor, având în vedere perioadele de timp, uneori îndelungate, între realizarea proiectelor de închidere/ecologizare și punerea în operă a lucrărilor - în cazul iazului Bozânta au trecut deja 14 ani.

Rezultatele cercetărilor realizate în perioada studiilor doctorale arată că situația descrisă în proiectul de închidere/ecologizare privind starea vegetației pe terasele sectoarelor s-a modificat profund: de exemplu, pe terasele pe care proiectul specifică „*se consideră că vegetația este bine dezvoltată, se păstrează și va fi completată cu puieti*”, în prezent se remarcă procese foarte active de drenaj acid al rocilor și uscarea parțială sau totală a plantelor.

Au fost realizate cercetări pentru identificarea măsurilor adecvate de stopare/diminuare a fenomenelor degradative, în vederea aplicării lor diferențiat pe terasele iazului, în funcție de gradul de alterare a rocilor, estimarea evoluției proceselor microbiologice și a consecințelor asupra vegetației instalate.

Rezultatele testelor, realizate pentru speciile de graminee *L. perenne* și *A. capillaris*, privind efectele soluțiilor din iaz cu pH acid și conținut de metale grele, asupra indicatorilor germinăției și ai creșterii organelor vegetative au evidențiat că cele două specii ierboase sunt adecvate condițiilor oferite de soluțiile din iaz: ambele plante au avut procente de germinăție și creștere superioare probelor martor.

În urma testării creșterii plantelor pe substraturile de steril cu amendamente, realizate în vederea aplicării unui covor vegetal cu rol în stoparea/diminuarea proceselor de drenaj acid al rocilor, creșterea stabilității suprafețelor și diminuarea spulberărilor de steril, au fost selectate amestecurile ce vor fi propuse pentru aplicarea în teren, pentru fiecare terasă, în mod specific, în funcție de stadiul proceselor de drenaj acid al rocilor.

Contribuțiile cu caracter de noutate

Modul de organizare și realizare a cercetărilor în această teză de doctorat propune o perspectivă nouă privind abordarea într-un mod complex și complet a studiilor care se realizează pentru stoparea/diminuarea proceselor de drenaj acid al rocilor și revegetarea depozitelor de steril minier. Practic a fost elaborată o metodologie multidisciplinară de cercetare a proceselor drenajului acid al rocilor în iazul de decantare a sterilului de flotație.

A fost elaborat un model original de evaluare a stadiului și de estimare a evoluției procesului de drenaj acid al rocilor, pe baza proprietăților fizico-chimice, a speciilor bacteriene fier- și sulfoxidante identificate și a raportului lor numeric în sterilul din terasele iazului.

Pentru revegetarea suprafețelor au fost testate diferențiat variante de aplicare în funcție de particularitățile specifice fiecărei terase a iazului.

LUCRĂRI PUBLICATE

Jelea, S.G., Jelea, O.C., Mihalescu, L., Vosgan, Z., 2017, The influence of copper sulphate on growth, morphology and on anatomy of vegetative organs of *Triticum aestivum* L. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca, Agriculture 74(2), 140-141. <http://journals.usamvcluj.ro/index.php/agriculture/article/view/12778/10414>.

Jelea, O.C., Baci, C., 2023, Effects of heavy metals, contained in flotation tailings, on plants used in revegetation. Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences 18(1), 89-103. DOI:10.26471/cjees/2023/018/243.

BIBLIOGRAFIE

- Alcalde, J., Kelm, U., Vergara, D., 2018, Historical assessment of metal recovery potential from old mine tailings: a study case for porphyry copper tailings. Chile. Miner. Eng. 127, 334–338. doi.org/10.1016/j.mineng.2018.04.022.
- Arienzo, M., Adamo, P., Cozzolino, V., 2004, The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. The Science of the Total Environment 319, 13–25.
- Baker, A.J.M., Brooks, R.R., 1989, Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1, 81-126.
- Barral, M.T., Paradelo, R., 2011, A review on the Use of Phytotoxicity as a Compost Quality Indicator. Dynamic Soil, Dynamic Plant 5 (Special Issue 2), 36-44.
- Bleeze, B., Zhao, J., Harmer, S.L., 2018, Selective Attachment of *Leptospirillum ferrooxidans* for Separation of Chalcopyrite and Pyrite through Bio-Flotation. Minerals 8(86), 1-16.
- Bond, P.L., Druschel, G.K., Banfield, J.F., 2000, Comparison of acid mine drainage microbial communities in physically and geochemically distinct ecosystems. Applied and Environmental Microbiology 66(11), 4962-4971.
- Bosecker, K., 1997, Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. An official journal of the Federation of European Microbiological Societies, Microbiology Reviews 20, 591-604.
- Burges, A., Alkorta, I., Epelde, L., Garbisu, C., 2018, From phytoremediation of soil contaminants to phytomanagement of ecosystem services in metal contaminated sites. Int. J. Phytoremediat. 20 (4), 384–397. Doi: 10.1080/15226514.2017.1365340.
- Cenușă, R., Leberciuc, E., Teodosiu, M., 2015, Germination of Norway spruce seeds on substrates with different levels of toxicity: a case study for the Călimani dump, Bucovina Forestieră, 15(2), 155-165.
- Ciocărlan, V., 2009, Flora ilustrată a României, ed a III-a, Pteridophyta și Spermatophyta, Ed. Ceres, București, 1141 p.
- Clinovschi, F., 2005, Dendrologie, Ed. Universității Suceava, Suceava, 299 p.
- Colmer, A.R., Hinkle, M.E., 1947, The role of microorganisms in acid mine drainage; a preliminary report. Science 106(2751), 253-256.
- Colmer, A.R., Temple, K.L., Hinkle, M.E., 1950, An iron-oxidizing bacterium from the acid drainage of some bituminous coal mines. Journal of Bacteriology 59, 317-328.
- Constantinescu, P., Neagoe, A., Nicoara, A., Grawunder, A., Ion, S., Onete, M., Iordache, V., 2019, Implications of spatial heterogeneity of tailing material and time scale of vegetation growth processes for the design of phytostabilisation. Sci. Total Environ. 692, 1057–1069. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.299.
- Coram, N.J., Rawlings, D.E., 2002, Molecular relationship between two groups of the genus *Leptospirillum* and the finding that *Leptospirillum ferriphilum* sp. nov. dominates South African commercial biooxidation tanks that operate at 40 degrees C. Applied and Environmental Microbiology 68 (2), 838-845.
- Damian, F., Damian, Gh., 2006, Geochemical characterization of some old mine waste dumps from Baia Mare area and their influence on the natural vegetation. Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences 1(2), 63-72.
- Damian, F., Jelea, S.G., Lăcătușu, R., Mihali, C., 2019. The treatment of soil polluted with heavy metals using the *Sinapis alba* L. and organo zeolitic amendment. Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences 14 (2), 409 – 422. Doi:10.26471/cjees/2019/014/090.
- Damian, Gh., Andrăș, P., Damian, F., Turisová, I., Iepure, Gh., 2018. The role of organo-zeolitic material in supporting phytoremediation of a copper mining waste dump. International Journal of Phytoremediation 20(13), 1307-1316. Doi: 10.1080/15226514.2018.1474440.
- Diercks, M., Sand, W., Bock, E., 1991, Microbial corrosion of concrete. Experientia 47(6), 514-516.
- Edraki, M., Baumgartl, T., Manlapig, E., Bradshaw D., Franks, D.M., Chris, J., Moran, C.J., 2014, Designing mine tailings for better environmental, social and economic outcomes: a review of alternative approaches. Journal of Cleaner Production 84, 411-420. Doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.04.079.
- Falagan, C., Johnson, D.B., 2016, *Acidithiobacillus ferriphilus* sp. nov., a facultatively anaerobic iron- and sulfur-metabolizing extreme acidophile. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 66, 206-211.
- Falagán, F., Moya-Beltrán, A., Castro, M., Quatrini, R., Johnson, D.B., 2019, *Acidithiobacillus sulfuriphilus* sp. nov.: an extremely acidophilic sulfur-oxidizing chemolithotroph isolated from a neutral pH environment. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 69(9), 2907-2913.
- Frérot H., Lefèvre C., Gruber W., Collin C., Dos Santos A., Escarre J., 2006, Specific interactions between local metallophilous plants improve the phytostabilization of mine soils. Plant Soil 282, 53-65.
- Gadd, G.M., 2009, Encyclopedia of Microbiology, Third Edition, Academic Press, 1277 p.

- Gajić, G., Djurdjević, L., Kostić, O., Jarić, S.Ž., Mitrović, M., Pavlović, P., 2018, Ecological potential of plants for phytoremediation and ecorestoration of fly ash deposits and mine wastes. Review article. *Environ. Sci.* 13, Sec. Environmental Toxicology, 6. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00124>.
- Gajić, G., Djurdjević, L., Kostić, O., Jarić, S., Mitrović, M., Stevanović, B., Pavlović, P., 2016, Assessment of the phytoremediation potential and an adaptive response of *Festuca rubra* L. Sown on fly ash deposits: native grass has a pivotal role in ecorestoration management. *Ecol. Eng.* 93, 250-261. Doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.05.021.
- Goris, K., 2012, The potential of phytostabilization on environmental and human risk reduction in mine waste areas. Master thesis Universiteit Utrecht, 31 p.
- Hallberg, K.B., González-Toril, E., Johnson, D.B., 2010, *Acidithiobacillus ferrivorans*, sp. nov.; facultatively anaerobic, psychrotolerant iron-, and sulfur-oxidizing acidophiles isolated from metal mine-impacted environments. *Extremophiles* 14(1), 9-19.
- Hedrich, S., Johnson, D.B., 2013, *Acidithiobacillus ferridurans*, sp. nov., an acidophilic iron-, sulfur- and hydrogen-metabolizing chemolithotrophic gammaproteobacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63, 4018-4025.
- Hein, G., Mahandra, H., Ghahreman, A., 2023, A developing novel alternative bio-oxidation approach to treat low-grade refractory sulfide ores at circumneutral pH. *Frontiers in Sustainable Resource Management, Sec. Sustainable Materials* 2, 1-15.
- Hippe, H., 2000, *Leptospirillum* gen. nov. (ex Markosyan 1972), nom. rev., including *Leptospirillum ferrooxidans* sp. nov. (ex Markosyan 1972), nom. rev. and *Leptospirillum thermoferrooxidans* sp. nov. (Golovacheva et al. 1992). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50, 501-503.
- Hutchins, S.R., Davidson, M.S., Brierley, J.A., Brierley, C.L., 1986, Microorganisms in reclamation of metals. *Annual Review of Microbiology* 40, 311-336.
- Hutchinson, M., Jonstone, K.J., White, D., 1965, The taxonomy of certain thiobacilli. *J. Gen. Microbiol.* 4: 357-366.
- Ighalo, J.O., Kurniawanc, S.B., Iwuozord, K.O., Aniagora, C.O., Ajalaf, O.J., Obaa, S.N. Iwuchukwua, F.U., Ahmadih, S., Igwegbea, C.A., 2022, A review of treatment technologies for the mitigation of the toxic environmental effects of acid mine drainage (AMD). *Process Safety and Environmental Protection* 157, 37-58. Doi.org/10.1016/j.psep.2021.11.008
- ISO 11269-1:2012. Soil quality — Determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth. Edition 2.
- ISO 11269-2:2012. Soil quality — Determination of the effects of pollutants on soil flora Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants Edition 3.
- Jelea, O.C., 2014, Drenajul acid al rocilor și efectele poluante asupra mediului. *BIO-MED* 6, 19-29. <http://www.ospn.ro/wp-content/uploads/2015/03/BioME-6.pdf>.
- Jelea, O.C., 2015, The effects of acid mine drainage upon vegetation in the Bozanta tailings pond (Maramureș County), *Studia Universitatis Babeș-Bolyai Ambientum LX*, 1-2, 57-70. <http://studia.ubbcluj.ro/download/pdf/973.pdf>.
- Jelea, O.C., Baci, C., 2023, Effects of heavy metals, contained in flotation tailings, on plants used in revegetation. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences* 18(1), 89-103. DOI:10.26471/cjees/2023/018/243.
- Jelea, S.G., Jelea, O.C., Mihalescu, L., Vosgan, Z., 2017, The influence of copper sulphate on growth, morphology and on anatomy of vegetative organs of *Triticum aestivum* L. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca, Agriculture* 74(2), 140-141. <http://journals.usamvcluj.ro/index.php/agriculture/article/view/12778/10414>.
- Jelea, S.G., Jelea, M., Vosgan, Z., Mihalescu, L., Jelea, O.C., 2016, Copper toxicity on *Triticum aestivum* L and *Lactuca sativa* L: effects on germination and growth. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca, Agriculture* 73(2), 253-261. <http://journals.usamvcluj.ro/index.php/agriculture/article/view/12413/10105>.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 2001, Trace elements in soils and plants. 3rd Edition, Ed. CRC Press, Boca Raton, 403 p.
- Kafle, A., Timilsina, A., Gautam, A., Adhikari, K., Bhattarai, A., Aryal, N., 2022, Phytoremediation: Mechanisms, plant selection and enhancement by natural and synthetic agents. *Environmental Advances* 8 100203. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100203>.
- Kappler, U., Friedrich, C.G., Truper, H., Dahl, C., 2012, Evidence for two pathways of thiosulfate oxidation in *Starkeya novella* (formerly *Thiobacillus novellus*). *Archives of Microbiology* 175(2), 102-111.
- Karavaiko, G.I., 1985, Microbiological processes for the leaching of metals from ores. Edited by Prof. A. E. Torma. Centre of International Projects, GKNT, Moscow, 69 p.
- Kefeni, K.K., Msagati, T.A.M., Mamba, B.B., 2017, Acid mine drainage: Prevention, treatment options, and resource recovery: A review. *Journal of Cleaner Production* 151, 10, 475-493. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.03.082>.

- Kelly, D.P., McDonald, I.R., Wood, A.P., 2000, Proposal for the reclassification of *Thiobacillus novellus* as *Starkeya novella* gen. nov., comb. nov., in the alpha-subclass of the Proteobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 5, 1797-1802.
- Ko, M.-S., Park, H.-S., Kim, K.-W., Lee, J.-U., 2013, The role of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in arsenic bioleaching from soil. *Environmental Geochemistry and Health* 35(6), 727–733.
- Langella, A., Pansini, M., Cappelletti, P., Gennaro, de B., Gennaro, de M., Colella, C., 2000, NH⁴⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺ and Pb²⁺ exchange for Na⁺ in a sedimentary clinoptilolite, North Sardinia, Italy. *Microporous and Mesoporous Materials* 37 (30), 337-343. Doi:10.1016/S1387-1811(99)00276-0.
- Lasat, M., 2000. The Use of Plants for the Removal of Toxic Metals from Contaminated Soil. *American Association for the Advancement of Science Environmental Science and Engineering Fellow*, 33 p.
- Lăzărescu I., 1983, Protecția mediului înconjurător și industria minieră. Ed. Scrisul Românesc, Craiova, 232 p.
- Lee, D.S., Lim, S.S., Park, H.J., Yang, H.I., Park, S.I., Kwak, J.H., Choi, W.J., 2019, Fly ash and zeolite decrease metal uptake but do not improve rice growth in paddy soils contaminated with Cu and Zn. *Environ. Intern.* 129, 551-564. Doi: 10.1016/j.envint.2019.04.032.
- Li, W., Feng, Q., Li, Z., 2023, Isolation and Characterization of A Novel Iron–Sulfur Oxidizing Bacterium *Acidithiobacillus Ferrooxidans* YQ-N3 and its Applicability in Coal Biodesulfurization. *Minerals* 13(1), 95.
- Li, X., 2016, Engineering and Characterization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* for Biotechnological Applications. Thesis Doctoral, Columbia University, 253 p.
- Mackintosh, M.E., 1978, Nitrogen fixation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Gen. Microbiol.* 105: 215-218.
- Maiti, S.K., 2013, *Ecorestoration of the Coalmine Degraded Lands*. New Delhi: Springer, 361 p. Doi: 10.1007/978-81-322-0851-8.
- Masindi, V., Foteinis, S., Renforth, P., Ndiritu, J., Maree, J.P., Tekere, M., Chatzisyneon, E., 2022, Challenges and avenues for acid mine drainage treatment, beneficiation, and valorisation in circular economy: A review. *Ecological Engineering* 183, 106740. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2022.106740>.
- Masotla, M.K.L.; Melato, F.A.; Mokgalaka-Fleischmann, N.S., 2023, Extraction Potential of *Lolium perenne* L. (Perennial Rye Grass) for Metals in Landfill Soil: Its Tolerance and Defense Strategies. *Minerals* 2023, 13, 873.
- Matin, A., Rittenberg, S.C. 1971. Enzymes of carbohydrate metabolism in *Thiobacillus* species. *J. Bacteriol.* 107, 179-186.
- McCrary, M.H., 1915, The Numerical Interpretation of Fermentation-Tube Results. *J. Infect. Dis.* 17(1), 183-212.
- Merino-Martín, L., Commander, L., Mao Z., Stevens, J. C., Miller, B.P., Golos, P. J., Ellery Mayence, C., Dixon, K., 2017, Overcoming topsoil deficits in restoration of semiarid lands: Designing hydrologically favourable soil covers for seedling emergence. *Ecological Engineering* 105, 102-117. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.04.033>.
- Mihali, C., Oprea, G., Michnea, A., Jelea, S.G., Jelea, M., Man, C., Șenilă M., Grigor, L., 2013, Assessment of heavy metals content and pollution level in soil and plants in Baia Mare area, NW Romania. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences* 8(2), 143-152.
- Milde, K., Sand, W., Wolff, W., Bock, E., 1983, Thiobacilli of the corroded concrete walls of the Hamburg sewer system. *Journal of General Microbiology* 129, 1327e1333.
- Modoi, O.C, Ozunu, Al., Stezar, I.C., 2010, Risk Associated to Soil Pollution in the Proximity of Tailing Facilities in the Western Area of Baia Mare. *ProEnvironment*, 3, 352-358.
- Moreno-Jiménez, E., Sepúlveda, R., Elvira, E., Beesley, L., 2016, Efficiency of organic and mineral based amendments to reduce metal mobility and uptake (*Lolium perenne*) from a pyrite-waste contaminated soil. *Journal of Geochemical Exploration* 174, 1-7.
- Müller G., 1968, *Biologia solului*. Editura Agro Silvică București, 995 p.
- Muntean, V., 2009, *Microbiologie generală*, Presa Universitară Clujeană, 332 p.
- Neagoe, A., Iordache, V., 2021, Ghid de remediere a zonelor poluate cu elemente toxice. Centrul de Cercetare pentru Servicii Ecologice (CESEC) - „Dan Manoleli” Facultatea de Biologie, Universitatea din București, Ediția 1, 224 p.
- Nemati, M., Webb, C., 1997, A kinetic model for biological oxidation of ferrous iron by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnology and bioengineering* 53(5), 478-486.
- Nicolova, M., Spasova, I., Georgiev, P., Groudev, S., 2017, Microbial removal of toxic metals from a heavily polluted soil. *Journal of Geochemical Exploration* 182, 242-246.
- Núñez, H., Moya-Beltrán, A., Covarrubias, P.C., Issotta, F., Cárdenas, J.P., González, M., Atavales, J., Acuña, L.G., Johnson, D.B., Quatrini, R., 2017, Molecular Systematics of the Genus *Acidithiobacillus*: Insights into the Phylogenetic Structure and Diversification of the Taxon. *Frontiers in Microbiology* 8, 30.
- OECD, 2006, *Guidelines for the Testing of Chemicals. Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test*, 208, Adopted: 19 July 2006.

- Ohmura, N., Sasaki, K., Matsumoto, N., Saiki, H., 2002, Anaerobic respiration using Fe^{3+} , S^0 , and H_2 in the chemolithoautotrophic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Bacteriology* 184(8), 2081-2087.
- Pandey, V.C., Maiti, D., 2020, Perennial grasses in phytoremediation-challenges and opportunities. In: Pandey V.C., Singh D.P., *Phytoremediation Potential of Perennial Grasses*, Elsevier, 392 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817732-7.00001-8>.
- Pandey, V.C., Singh, D.P., 2020, *Phytoremediation potential of perennial grasses*. 1st Edition, Ed Elsevier, 392 p.
- Patra, D.K., Acharya, S., Pradhan, C., Patra, H.K., 2021, Poaceae plants as potential phytoremediators of heavy metals and eco-restoration in contaminated mining sites. *Environmental Technology & Innovation* 21, 101293.
- Pivovarova, T.A., Golovacheva, R.S., 1985, Microorganisms important for hydrometallurgy: cytology, physiology and biochemistry. *Biogeotechnology of metals*. Edited by G.I. Karavaiko and S.N. Groudev. Centre of International Projects, GKNT, Moscow, 27-55.
- Prisa, D., 2020, Particle films: chabazitic zeolites with added microorganisms in the protection and growth of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* L.). *GSC Advanced Research and Reviews* 04(02), 001-008.
- Pronk, J.T., de Bruyn, J.C., Bos, P., Kuenen, J.G., 1992, Anaerobic growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 2227-2230.
- Robertson, L.A., Kuenen, J.G., 2006, The Genus *Thiobacillus*. *The Prokaryotes* 812-827.
- Rohwerder, T., Gehrke, T., Kinzler, K., Sand, W., 2003, Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamental sulfide oxidation. *Applied Microbiology Biotechnology* 63, 239-248.
- Rohwerder, T., Sand, W., 2003, The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* and *Acidiphilium* spp. *Microbiology* 149(7), 1699-1710.
- Rojas-Chapana, J.A., Tributsch, H., 2004, Interfacial activity and leaching patterns of *Leptospirillum ferrooxidans* on pyrite. *FEMS Microbiology Ecology* 47(1), 19-29.
- Rzhepishevska, O.I., 2008, *Physiology and Genetics of Acidithiobacillus species: Applications for Biomining*. Umeå University, 73 p.
- Saavedra, A., Aguirre, P., Gentina, J.C., 2020, Biooxidation of Iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the Presence of D-Galactose: Understanding Its Influence on the Production of EPS and Cell Tolerance to High Concentrations of Iron. *Frontiers in Microbiology, Sec. Microbiological Chemistry and Geomicrobiology* 11:759.
- Santer, M., Boyer, J., Santer, U., 1959, *Thiobacillus novellus*: I. Growth on organic and inorganic media. *Journal of Bacteriology* 78, 197-202.
- Schippers A., Jozsa P.G., Sand W., Kovacs Z.M., Jelea M., 2000, Microbiological Pyrite Oxidation in a Mine Tailings Heap and Its Relevance to the Death of Vegetation. *Geomicrobiology Journal*, 17(2), 151-162. <https://doi.org/10.1080/01490450050023827>
- Silverman, M.P., Lundgren, D.G., 1959, Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans* (I. An Improved Medium and a Harvesting Procedure for Securing High Cell Yields). *Journal of Bacteriology* 77(5), 642-647.
- Smith, J.R., Luthy, R.G., Middleton, A.C., 1988, Microbial ferrous iron oxidation in acidic solution. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 60(4), 518-530.
- Song, L., Qian, J., Zhang, F., Kong, X., Li H., Luan, S., Zhang, Q., Kang, Z., Han, Z., Zhaoji, Zhang, Z., 2022, An ecological remediation model combining optimal substrate amelioration and native hyperaccumulator colonization in non-ferrous metal tailings pond. *Journal of Environmental Management* 322, 116141. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116141>.
- Sugio, T., Domatsu, C., Munakata, O., Tano, T., Imai, K., 1985, Role of a ferric ion-reducing system in sulfur oxidation of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Applied and Environmental Microbiology* 49, 1401-146.
- Suman, J., Uhlik, O., Viktorova, J., Macek T., 2018, Phytoextraction of heavy metals: A promising tool for clean-up of polluted environment? *Front. Plant Sci.* 9, 1476. Doi: 10.3389/fpls.2018.01476.
- Swaroop, S., 1938, Numerical Estimation of *B. coli* by Dilution Method. *Ind. J. Med. Res.* 26:353.
- Tejada, M., Gonzalez, J.L., García-Martínez, A.M., Parrado, J. 2008, Application of a green manure and green manure composted with beet vinasse on soil restoration: Effects on soil properties. *Exploring Horizons in Biotechnology: A Global Venture* 99, 4949-4957.
- Temple, K.L., Colmer, A.R., 1951a, The formation of acid mine drainage. *Mining Engineering*, 3, 1090-1092.
- Temple, K.L., Colmer A.R., 1951b, The autotrophic oxidation of iron by new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Bacteriology* 62(5), 605-611.
- Temple, K.L., Delchamps, E.W., 1953, Autotrophic bacteria and the formation of acid in bituminous coal mines. *Applied Microbiology* 1, 255-258.
- Thomas, G., Sheridan, C., Holm ,P.E., 2022, Critical review of phytoremediation for acid mine drainage impacted environments. *Science of the Total Environment* 811, 152230. Doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152230.

- Tomescu, C.V., 2020, Taxonomie vegetală. Ed. Univ. „Ștefan cel Mare” Suceava, Suceava, 201 p.
- Valdés, J., Pedroso, I., Quatrini, R., Dodson, R.J., Tettelin, H., Blake, R., Eisen, J.A., Holmes, D.S., 2008, *Acidithiobacillus ferrooxidans* metabolism: from genome sequence to industrial applications. *BMC Genomics* 9, 597.
- Vangronsveld, J., Herzig, R., Weyens, N., Boulet, J., Adriaensen, K., Ruttens, A., Thewys, T., Vassilev, A., Meers, E., Nehnevajova, E., van der Lelie, D., Mench, M., 2009, Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 765-794. Doi: 10.1007/s11356-009-0213-6.
- Vaverková, M.D., Paleologos, E.K., Winkler, J., 2020, Municipal solid waste landfill: Evidence of the effect of applied landfill management on vegetation composition. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*, 20 (9), 1402–1411.
- Wang, J., Delavar, M.A., 2023, Techno-economic analysis of phytoremediation: A strategic rethinking. *Science of The Total Environment* 902, 165949, ISSN 0048-9697. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165949>.
- Wang, R., Lin, J-Q., Liu, X-M., Pang, X., Zhang, C-J., Yang, C-L., Gao, X-Y., Lin, C-M., Li, Y-Q., Li, Y., Lin, J-Q., Chen, L-X., 2019, Sulfur Oxidation in the Acidophilic Autotrophic *Acidithiobacillus spp.* *Frontiers in Microbiology* 9(3290), 1-20.
- Vaverková, M.D., Paleologos, E.K., Winkler, J., Municipal solid waste landfill: Evidence of the effect of applied landfill management on vegetation composition. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*, 20 (9), 1402–1411.
- Wentzien, S., Sand, W., 1999, Polythionate metabolism in *Thiomonas intermedia* K12. *Biohydrometallurgy and the Environment toward the Mining of the 21st Century, Pt. A. Process Metallurgy* 9, 787-797.
- Wentzien, S., Sand, W., 2004, Tetrathionate Disproportionation by *Thiomonas intermedia* K12. *Engineering in Life Sciences* 4(1), 25-30.
- Yang, L., Zhao, D., Yang, J., Wang, W., Chen, P., Zhang S., 2019, *Acidithiobacillus thiooxidans* and its potential application. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103(19), 7819–7833.
- Yuan, J.; Ding, Z.; Bi, Y.; Li, J.; Wen, S.; Bai, S., 2022. Resource Utilization of Acid Mine Drainage (AMD): A Review. *Water*, 14, 2385. <https://doi.org/10.3390/w14152385>
- Zarnea, G., 1984, *Tratat de microbiologie generală*, 2, Ed. Academiei, București, 474 p.
- Zine, H., Midhat L., Hakkouc, R., Adnani, M.El, Ouhammoua, A., 2020, Guidelines for a phytomanagement plan by the phytostabilization of mining wastes. *Scientific African* 10, e00654. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00654>.
- Zulkernain, N. H., Uvarajan, T., Ng, C.C., 2023, Roles and significance of chelating agents for potentially toxic elements (PTEs) phytoremediation in soil: A review. *Journal of Environmental Management* 1, 341: 117926. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117926>.