

UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE INTEGRATIVĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

Rezumat

Conducător științific:

Prof. Dr. Manuela BANCIU

Doctorand:

Dana Emanuela TIODAR

(căs. LUSHNYKOV)

Cluj-Napoca,

2025

UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE INTEGRATIVĂ

**Descifrarea impactului de durată al solurilor contaminate cu mercur asupra
diversității vegetale și a comunităților microbiene rizosferice**

Conducător științific:

Prof. Dr. Manuela BANCIU

Doctorand:

Dana Emanuela TIODAR
(căs. LUSHNYKOV)

Cluj-Napoca,

2025

Cuprins

PREFAȚĂ	1
LISTA ABREVIERILOR	3
SCHIȚA TEZEI	8
CAPITOLUL I	11
Introducere generală	11
1. Mercurul - o introducere	12
2. Adaptarea plantelor la stresul cauzat de Hg, absorbție și detoxifiere	15
3. Stadiul actual al cercetării și necesitatea fitoremedierii	19
3.1. Fitoextracția	19
3.2. Fitostabilizarea	33
3.3. Fitovolatilizarea	35
4. Fitoremedierea asistată de microorganisme –bacterii și fungi	36
5. Bibliografie	43
SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI	63
CAPITOLUL II	65
Plantele ca și colonizatori ai unui sit contaminat cu mercur: metale grele și bacterii asociate rizosferei	65
Rezumat	66
1. Introducere	66
2. Materiale și Metode	69
2. 1 Zona de studiu și colectarea probelor	69
2.2 Studiul fitosociologic și recoltarea eșantioanelor	71
2.3 Analiza conținutului de metale	71
2.4 Biodiversitatea microbiană și analiza funcțională predictivă a microorganismelor din solul asociat rizosferei speciei vegetale dominante	72
2.5 PCR pentru gena <i>merA</i>	73
2.6 Analiza datelor și statistică	73
3. Rezultate	74
3.1 Distribuția speciilor vegetale	74
3.2 Concentrațiile de metale în sistemul sol-plantă	75

3.2.1 Mercur	75
3.2.2 Plumb	76
3.2.3 Cupru	76
3.2.4 Zinc	76
3.2.5 Mangan	79
3.3 Relația dintre concentrațiile de metal din sol și plante	79
3.4 Analiza interacțiunilor dintre plante și sol	82
3.5 Biodiversitatea bacteriană din rizosfera plantei <i>Diplotaxis muralis</i>	83
3.6 Diversitatea funcțională a bacteriilor din rizosfera plantei <i>D. muralis</i>	85
4. Discuții	87
5. Concluzii	93
6. Mulțumiri	94
7. Bibliografie	94
CAPITOLUL III	104
Impactul contaminării cronice cu mercur asupra microbiotei asociată rizosferei speciei <i>Lotus tenuis</i> : un traseu spre reziliență prin relații inter-regn de facilitare	101
Rezumat	104
1. Introducere	105
2. Materiale and Metode	109
2.1. Descrierea sitului	109
2.2. Recoltarea probelor	110
2.3. Determinarea concentrațiilor de metale	111
2.4. Analize pedologice	112
2.5. Extracția ADN-ului și secvențierea genelor 16S rRNA și ITS	112
2.6. PCR pentru gena bacteriană <i>merA</i>	113
2.7. Procesarea datelor de secvențiere	113
2.8. Analize statistice	114
3. Rezultate	115
3.1. Parametri edafici	116
3.2. Structura comunităților microbiene	117
3.3. Microbiota asociată rizosferei și profilul de acumulare a Hg în plante	123

3.4. Clasificarea fungilor în ghilde ecologice	125
4. Discuții	126
5. Concluzii	138
6. Mulțumiri	139
7. Bibliografie	140
CAPITOLUL IV	158
Concluzii generale și originalitatea rezultatelor	158
1. Concluzii	159
2. Originalitatea și noutatea rezultatelor	161
3. Perspective viitoare	162
ANEXE CAPITOLUL II	164
ESM 1	164
ESM 2	164
ANEXE CAPITOLUL III	165
LISTA PUBLICAȚIILOR INCLUSE ÎN TEZĂ	166
PARTICIPĂRI LA CONFERINȚE INTERNAȚIONALE	167
STAGII DE FORMARE PROFESIONALĂ	168
IMPLICARE ÎN PROIECTE DE CERCETARE	169
MULȚUMIRI	170

Cuvinte cheie:

mercur, contaminare, fitoremediere, fitoremediere asistată de microorganisme, *Lotus tenuis*, *Diplotaxis muralis*, *Pseudomonas*, *Mesorhizobium*, *Streptomyces*

Rezumat:

Capitolul I. Introducere generală

Mercurul (Hg) este un metal greu cu un grad ridicat de toxicitate, care contribuie semnificativ la poluarea persistentă a mediului. Se află pe locul al treilea în Lista Prioritară a Substanțelor de risc elaborată de ATSDR (ATSDR, 2022), ca urmare a capacității sale de bioacumulare și biomagnificare. Se estimează că la nivel global există peste 3000 de situri contaminate cu Hg, rezultate în urma diverselor activități industriale (Kocman et al., 2013). În ceea ce privește plantele, mercurul are efecte toxice pronunțate, perturbând metabolismul celular prin legarea de grupări tiol din proteine, înlocuirea cationilor esențiali în molecule precum clorofila și generarea de specii reactive de oxigen (SRO) (Natasha et al., 2020; Safari et al., 2019). Cu toate acestea, anumite specii vegetale au demonstrat o toleranță notabilă la solurile contaminate cu Hg, soluri în care plantele sensibile nu se pot dezvolta. Strategiile de apărare ale acestor plante includ: imobilizarea Hg în rizosferă prin intermediul substanțelor secretate de rădăcini, limitarea absorbției în rădăcini, sechestrarea internă a Hg, reducerea translocării către părțile aeriene, precum și chelatarea ionului de mercur prin intermediul fitochelatinelor – macromolecule derivate din glutatation – care facilitează compartimentarea vacuolară cu ajutorul transportatorilor de tip ABC (Sun et al., 2021; Montiel-Rozas et al., 2016; Carrasco-Gil et al., 2013; J. Park et al., 2012). Plantele care dețin aceste mecanisme stau la baza soluțiilor ecologice pentru restaurarea terenurilor contaminate.

Această abordare, cunoscută sub denumirea de fitoremediere, utilizează plante tolerante pentru a reabilita solurile afectate, conservând în același timp fertilitatea și structura acestora, și reprezintă o alternativă economică și ecologică la metodele de decontaminare de tip fizico-chimic (Mench et al., 2009). Tipurile de fitoremediere sunt diverse și depind de mecanismele plantei: fitoextracția se bazează pe capacitatea plantelor de a acumula Hg și de a-l transloca spre organele ce pot fi recoltate, fitostabilizarea implică limitarea biodisponibilității metalului prin chelatare și sechestrare rizosferică, iar fitovolatilizarea presupune transformarea ionului Hg^{2+} în forma volatilă Hg^0 , eliminată apoi în atmosferă (Tiodar et al., 2021; Tangahu et al., 2011). Căutarea unei plante cu trăsături de (hiper)acumulator eficient de Hg – care să combine o capacitate mare de translocare cu o biomasă stabilă și ridicată – este în desfășurare. Studiarea vegetației autohtone din zonele contaminate cu Hg oferă indicii valoroase pentru identificarea unor candidați promițători pentru fitoremediere.

Dezvoltarea plantelor în sol depinde de disponibilitatea nutrienților, precum și de prezența microbiotei rizosferice, care participă activ la schimbul de apă și nutrienți cu sistemul radicular al plantei (Park et al., 2022; Rozmoš et al., 2022; Lehmann et al., 2020; Saccá et al., 2017). Numeroase microorganisme prezintă o rezistență remarcabilă la stresul pe termen lung generat de Hg datorită mecanismelor dezvoltate pentru a-i atenua toxicitatea, contribuind astfel și la decontaminarea solului (González et al., 2022; Chang et al., 2020; Agarwal et al., 2019). Printre aceste mecanisme se numără biosorbția și chelatarea intracelulară (Alcántara et al., 2017; Say et al., 2003), iar fungii pot utiliza suplimentar legarea Hg de compuși pe bază de seleniu sau compartimentarea Hg în vacuole (Kavčič et al., 2019; Gueldry et al., 2003). Un mecanism-cheie întâlnit la bacterii este reprezentat de operonul *mer*, ce include gena *merA*, codificând enzima mercur-reductază (MerA), responsabilă de reducerea Hg^{2+} la forma sa elementară, mai puțin toxică, Hg^0 (Mathema et al., 2011; Barkay et al., 1992). Fungii, adesea mai rezistenți decât bacteriile, pot recurge la volatilizarea Hg, însă căile metabolice implicate rămân parțial elucidate (Chang et al., 2020; Pietro-Souza et al., 2020), unele studii transcriptomice sugerând implicarea homologilor *merA* și a mecanismelor antioxidante (Chang et al., 2021). Prin urmare, microorganismele joacă un rol esențial în stimularea creșterii plantelor și în detoxifierea solurilor contaminate.

Fitoremedierea poate fi astfel îmbunătățită semnificativ prin inocularea cu microorganisme compatibile, mai ales în soluri sărace în parteneri microbieni nativi (Szada-Borzyszkowska et al., 2024). Deși puține, unele studii de fitoremediere asistată de microorganisme realizate în condiții controlate – în special în ghivece – au raportat rezultate promițătoare (Sommer et al., 2025; Szada-Borzyszkowska et al., 2024; Guo et al., 2023; Putra et al., 2022; González-Chávez et al., 2019; Phanthavongsa et al., 2017). Până în prezent, nu au fost realizate experimente de fitoremediere asistată de microorganismele în teren, pentru contaminări cu Hg. Totuși, experiența acumulată în remedierea altor metale grele aduce perspective utile. De exemplu, într-un experiment de fitostabilizare cu plop inoculat cu micorize, s-au obținut reduceri semnificative ale concentrațiilor de Cu, Pb, Zn și Cr în frunze, după un an și jumătate de la plantare pe un teren de 1 ha (Phanthavongsa et al., 2017). Într-un alt studiu, feriga hiperacumulatoare de arsen, *Pteris vittata*, a prezentat o acumulare superioară de As^{5+} în urma inoculării cu o tulpină de *Pseudomonas vancoverensis*, atingând o concentrație de 19,56 mg As kg^{-1} în frunze pe un teren contaminat cu 11 mg As kg^{-1} în sol, după 5 luni (Yang et al., 2020).

În concluzite, continuarea cercetărilor pentru optimizarea fitoremedierii asistate de microorganisme este necesară pentru a eficientiza procesul de decontaminare a solurilor. Identificarea, caracterizarea și testarea unor specii vegetale și microbiene tolerante la Hg reprezintă un pas esențial pentru dezvoltarea acestui tip de remediere bazat pe mecanisme naturale.

Scopul tezei

Această teză urmărește identificarea parteneriatelor plante-microorganisme stabile, cu potențial de utilizare în viitoare intervenții de fitoremediere asistată a solurilor contaminate cu Hg. Prin investigarea condițiilor de mediu dintr-un sit local contaminat cu Hg, această cercetare își propune să înțeleagă comportamentul plantelor în funcție de gradul de contaminare, distribuția acestora în teren și presiunea de selecție care a modelat comunitățile microbiene adaptate la stresul cu Hg.

De aceea, acest studiu urmărește trei obiective principale:

1. evaluarea nivelurilor de contaminare cu Hg și alte elemente toxice în situl contaminat investigat;
2. identificarea speciilor vegetale pioniere tolerante la Hg prin analiza distribuției populațiilor vegetale, determinarea modelelor de acumulare a metalelor și corelarea trăsăturilor acestora cu strategiile potențiale de fitoremediere (fitostabilizare sau fitoextracție);
3. caracterizarea comunităților bacteriene și fungice din rizosfera celor mai promițătoare specii vegetale, în special a leguminoasei *Lotus tenuis*, în vederea identificării taxonilor microbieni relevanți pentru toleranța la Hg.

Rezultatele acestei cercetări vor contribui la elaborarea unor consorții microbiene adaptate, care să susțină viitoarele inițiative de fitoremediere în teren.

Capitolul II. Plantele ca și colonizatori ai unui sit contaminat cu mercur: metale grele și bacterii asociate rizosferei

O evaluare a metalelor grele în sol a fost realizată într-un sit contaminat cu Hg din România, evidențiind niveluri ridicate de Hg, Pb, Cu, Zn și Mn. Mercurul a prezentat cel mai mare risc ecologic, cu o concentrație mediană de 962 mg kg⁻¹ în solul de suprafață, depășind pragul național de intervenție pentru astfel de situri cu mai mult de două ordine de mărime.

Moștenirea industrială a sitului și contaminarea de fond au limitat biodiversitatea vegetală, studiul fitosociologic indicând o acoperire vegetală redusă, dominată de erbacee (*Diplotaxis muralis* și *Lotus tenuis*) și graminee (*Calamagrostis epigejos*).

Spectroscopia portabilă cu fluorescență de raze X (XRF) a confirmat acumulări semnificative de metale în țesuturile plantelor, în special la nivelul rădăcinilor. Analiza statistică multivariată de redundanță (RDA) a evidențiat o asociere între *L. tenuis* și *D. muralis* și concentrațiile de Hg din sol, subliniind adaptabilitatea acestora la condiții extreme de contaminare. *Lotus tenuis* a prezentat cele mai mari niveluri de acumulare a Hg, cu 10.869 mg kg⁻¹ (substanță uscată) în rădăcini și 1.070 mg kg⁻¹ în organele supraterane, urmată de *D. muralis* (6.049 mg kg⁻¹ în rădăcini, 1.204 mg kg⁻¹ în organele supraterane). Având în vedere tiparele de acumulare, ambele specii pot fi utilizate drept bioindicatori ai poluării cu Hg. De asemenea, abundența lor și capacitatea de a coloniza substraturi profund contaminate sugerează un potențial ridicat pentru fitostabilizare în terenuri industriale degradate.

Pentru a caracteriza mai în detaliu interacțiunile plantă–microorganism, comunitățile procariote din rizosfera speciei *D. muralis* au fost analizate prin secvențierea ampliconilor genei 16S rRNA și inferență funcțională pe baza algoritmului PICRUST2. Cele mai abundente încrengături bacteriene au fost Pseudomonadota, Actinomycetota și Acidobacteriota. În ciuda creșterii concentrațiilor de Hg, diversitatea alfa bacteriană a rămas stabilă, probabil datorită prezenței larg răspândite a genei *merA* în 83% din comunități, așa cum a fost demonstrat prin PCR-ul realizat pe ADN-ul total extras din sol. În mod remarcabil, comunitățile *merA*-pozitive au prezentat o abundență inferată crescută a transportatorilor ABC, sugerând mecanisme suplimentare de rezistență la metale. Încrengătura *Actinomycetota* a fost semnificativ îmbogățită, prezentând o abundență relativă medie de 12 ori mai mare în comunitățile *merA*-pozitive comparativ cu cele fără *merA*. În ansamblu, concentrațiile de metale grele din rizosferă au explicat 35% din variabilitatea distribuției plantelor și modului în care acestea au acumulat metalele din sol. Cele mai mari capacități de colonizare și imobilizare a Hg-ului au fost observate la *Diplotaxis muralis* și *Lotus tenuis*, evidențiind astfel potențialul lor ridicat pentru strategiile de fitoremediere. Este necesară o identificare suplimentară a speciilor bacteriene cheie pentru a optimiza abordările de remediere asistată de microorganism.

Capitolul III. Impactul contaminării cronice cu mercur asupra microbiotei asociată rizosferei speciei *Lotus tenuis*: un traseu spre reziliență prin relații inter-regn de facilitare

Contaminarea pe termen lung cu Hg exercită o presiune selectivă asupra comunităților microbiene prezente în solul de la rizosfera plantelor, însă schimbările compoziționale ale comunităților și mecanismele de reziliență rămân încă insuficient înțelese. Conform ipotezei gradientului de stres, interacțiunile competitive scad în favoarea interacțiunilor de facilitare pe măsură ce stresul ecologic crește. Acest studiu a investigat comunitățile bacteriene și fungice asociate solului din rizosfera plantei *Lotus tenuis* și solului preluat de la sit în afara rizosferei de-a lungul unui gradient de contaminare cu Hg (40–1,964 mg kg⁻¹) și le-a comparat cu comunitățile de control dintr-un sit necontaminat pentru a evalua răspunsurile microbiene la stresul cauzat de Hg.

Secvențierea ampliconilor genei 16S rRNA a revelat comunități microbiene cu structuri distincte comparând comunitățile provenite din solurile contaminate cu cele din solul control. Totuși, diversitatea alfa a rămas stabilă de-a lungul gradientului de Hg, sugerând adaptarea microbiană și reziliența la stres. *Mesorhizobium*, simbiotul fixator de azot al *L. tenuis*, a fost prezent în toate condițiile de mediu, în timp ce *Pseudomonas* a fost de patru ori mai abundent în solurile contaminate și de două ori mai abundent în solurile de la rizosferă comparativ cu solurile din afara rizosferei, indicând rezistența sa la Hg și rolul său potențial ca simbiot non-rizobial, ce facilitează eficiența formării nodozităților la nivelul rădăcinilor plantelor. Analiza funcțională a ADN-ului din sol pentru gena *merA* a evidențiat absența acesteia în solurile de control, dar prezența sa în 85% din probele solului de rizosferă contaminate cu Hg, indicând adaptarea bacteriană printr-un proces activ de detoxifiere. Modificările observate în comunitățile fungice au reflectat, de asemenea, adaptarea acestora la stresul cauzat de Hg. Glomerales, un ordin bogat în ciuperci micorizante, a înregistrat o creștere de trei ori în solurile de la rizosferă contaminate cu Hg, subliniind rolul lor crucial în achiziția de apă și nutrienți pentru plante în condiții extreme.

Analiza abundenței diferențiale, utilizând algoritmul ANCOM-BC2, a identificat mai multe unități taxonomice bacteriene abundente în solurile de la rizosferă contaminate cu Hg, inclusiv *Streptomyces*, un agent de biocontrol cu potențial de promovare a creșterii plantelor,

Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium și *Shinella*, două specii rizobiale promotori ai creșterii plantelor, precum și *Nocardioidea* și *Skermanella*, care pot conferi rezistență la metale și ariditate, respectiv. Printre fungii mai abundente în solurile rizosferice contaminate cu Hg s-au numărat endofite (*Darksidea* și *Acrocalymma paeoniae*) care pot îmbunătăți toleranța plantelor la stres, fungi care promovează creșterea plantelor (*Mortierella alpina* și *Chaetosphaeronema*), precum și speciile patogene (*Aspergillus terreus* și *A. flavus*) și cele care prezintă activitate de suprimare a agenților patogeni (*Humicola* și *Vishniacozyma*). De asemenea, *Septoglomus*, *Dioszegia* și *Articulospora* au fost asociate cu plantele care au acumulat cele mai mari cantități de Hg în organelle supraterane, evidențiind contribuțiile posibile ale fungilor la absorbția și toleranța la Hg.

Aceste rezultate contribuie la o înțelegere mai profundă a rezilienței microbiotei din solul de la rizosferă în condițiile expunerii cronice la Hg și oferă candidați microbieni promițători pentru dezvoltarea strategiilor de fitoremediere asistată de microorganisme.

Capitolul IV: Concluzii generale și originalitatea rezultatelor

IV.1. Concluzii

La nivel global, degradarea solurilor reprezintă o problemă tot mai acută, alimentată de practici industriale și agricole nesustenabile, cu implicații majore asupra biodiversității, securității alimentare, calității resurselor de apă și reglării climatice. Dintre poluanții solului, mercurul se remarcă prin persistența ridicată, toxicitatea severă și capacitatea de bioamplificare, ceea ce impune implementarea urgentă a unor strategii eficiente de remediere. Fitoremedierea, metoda ce valorifică plantele pentru stabilizarea și detoxifierea contaminanților, se conturează drept o soluție promițătoare — mai ales atunci când este susținută de o microbiotă tolerantă la Hg prezentă în solul de la rizosfera plantei, capabilă să favorizeze supraviețuirea plantelor și imobilizarea metalelor.

Această teză de doctorat a urmărit identificarea unor strategii eficiente de fitoremediere pentru un sit contaminat cu Hg, prin atingerea a trei obiective principale: (1) evaluarea nivelului de poluare a solului, (2) identificarea speciilor vegetale tolerante la Hg și (3) caracterizarea comunităților microbiene asociate solului de la rizosfera acestor specii.

Evaluarea sitului a evidențiat mercurul ca principal contaminant, concentrațiile din solul de la rizosfera plantelor depășind pragurile naționale de intervenție cu peste două ordine de

mărime. Vegetația era rară, însă *Diplotaxis muralis* și *Lotus tenuis* s-au remarcat ca specii dominante, *L. tenuis* acumulând cele mai ridicate concentrații de Hg atât în rădăcini (10.869 mg kg⁻¹ substanță uscată), cât și în organele supraterrane (1.070 mg kg⁻¹ substanță uscată). Analiza comunităților microbiene din rizosfera speciei *D. muralis* a evidențiat o diversitate alfa stabilă de-a lungul gradientului de Hg, probabil datorită prezenței larg răspândite a genei *merA*, sugerând o adaptare microbiană pe termen lung. Încręgăturile bacteriene dominante au fost *Pseudomonadota*, *Actinomycetota* și *Acidobacteriota*, iar *L. tenuis* și *D. muralis* au demonstrat un potențial important de fitostabilizare prin imobilizarea Hg-ului la nivelul rădăcinilor (Capitolul II).

Analiza detaliată a solului de la rizosfera speciei *Lotus tenuis* a evidențiat modificări semnificative ale comunităților microbiene ca răspuns la contaminarea cu Hg, în comparație cu solurile necontaminate. Capacitatea acestei specii de a forma simbioze fixatoare de azot o recomandă drept o plantă pionieră valoroasă pentru ecosistemele contaminate cu mercur. În ciuda unui gradient larg de contaminare (40–1976 mg kg⁻¹), diversitatea alfa a comunităților microbiene a rămas stabilă, susținând ipoteza conform căreia expunerea cronică la Hg favorizează selecția unor comunități rezistente. În acord cu ipoteza gradientului de stres, este probabil ca interacțiunile dintre microorganisme să fi evoluat spre forme de facilitare reciprocă, contribuind astfel la menținerea diversității și stabilității funcționale. Analiza diferențială a abundenței a identificat bacterii potențial rezistente la Hg (precum *Streptomyces*, *Allorhizobium*-*Neorhizobium*-*Pararhizobium*-*Rhizobium*, *Shinella*, *Nocardioidea*) și fungi (*Darksidea*, *Mortierella alpina*, *Vishniacozyma*), asociate solurilor contaminate din rizosfera plantelor, cu potențial de a susține sănătatea plantelor și de a contribui la atenuarea stresului (Capitolul III).

Această cercetare subliniază importanța sinergiei dintre toleranța plantelor și reziliența microbiotei din solul de la rizosfera plantelor în condiții de contaminare cu mercur, oferind o bază solidă pentru dezvoltarea strategiilor de fitoremediere asistată de microorganisme. Identificarea microorganismelor cu valoare funcțională, asociate cu specii vegetale tolerante la Hg, reprezintă un instrument esențial pentru intervenții eficiente de remediere. Rezultatele obținute sprijină utilizarea bioaugmentării cu microorganisme autohtone, adaptate la condițiile locale, pentru a favoriza stabilizarea metalelor și instalarea plantelor native în ecosisteme contaminate cu Hg.

IV.2. Originalitatea lucrării

Această teză aduce contribuții originale în domeniul fitoremedierii prin identificarea unor specii vegetale autohtone promițătoare, tolerate la Hg, alături de caracterizarea microorganismelor din solul de la rizosfera asociată acestora. Lucrarea reprezintă prima evaluare cuprinzătoare a florei și a comunităților microbiene din solul de la rizosferă din sitului contaminat cu Hg din perimetrul fostei platforme industriale Chimica Turda, oferind o imagine taxonomică detaliată și integrată a diversității bacteriene și fungice.

Speciile *Diplotaxis muralis* și *Lotus tenuis* au fost identificate drept specii pioniere autohtone, tolerante la Hg, cu un potențial semnificativ de fitostabilizare, capabile să supraviețuiască în soluri intens contaminate și să acumuleze Hg la nivelul rădăcinilor. Microbiota din solul asociat rizosferei acestor plante a prezentat mecanisme de rezistență, sugerând implicarea microorganismelor în procesele de detoxifiere a mercurului.

Această cercetare scoate în evidență și complexitatea interacțiunilor dintre regnuri diferite în cadrul microorganismelor din sol, care facilitează supraviețuirea plantelor în medii contaminate cu Hg. Studiul a explorat reziliența comunităților microbiene de-a lungul unui gradient extins de contaminare, evidențiind bacterii și fungi cu rezistență la Hg care contribuie, probabil, la stabilitatea ecosistemului pe termen lung. Spre deosebire de studiile anterioare, adesea limitate la niveluri moderate de contaminare și seturi de date restrânse, această lucrare oferă o perspectivă de ansamblu asupra proceselor de adaptare microbiană în condiții extreme. De asemenea, identificarea speciilor de bacterii și fungi asociate cu zonele de contaminare severă reprezintă o resursă valoroasă pentru dezvoltarea de consorții microbiene optimizate, cu aplicații directe în fitoremedierea asistată de microorganisme.

În ansamblu, această teză oferă perspective valoroase pentru aplicarea remedierii *in situ*, propunând o abordare integrativă de tip sistem plantă-microorganisme, bazată pe asocierea plantelor tolerante la Hg cu parteneri bacterieni și fungici funcțional benefici pentru a crește eficiența procesului de fitoremediere.

IV.3. Perspective

Această lucrare fundamentează direcții viitoare de cercetare privind implementarea strategiilor de fitoremediere centrate pe *D. muralis* și *L. tenuis*. Experimente în condiții controlate de seră sunt necesare pentru a evalua toleranța acestor specii la diferite concentrații de

Hg în sol, folosind fie soluri contaminate din teren, fie soluri suplimentate cu Hg. Totodată, teste de inoculare a solului ar trebui să investigheze potențialul de remediere a bacteriilor și fungilor promițători, atât individual, cât și în consorții, pentru a elabora strategii eficiente de fitoremediere asistată de microorganisme.

Experimentele de teren în situl contaminat sunt esențiale pentru cuantificarea eficienței fitostabilizării prin măsurarea imobilizării Hg în rădăcini și a potențialului de bioacumulare. Studii suplimentare ar trebui să se concentreze pe izolarea și caracterizarea microorganismelor identificate, pentru a valida în condiții *in vitro* proprietățile de promovare a creșterii plantelor și rezistența la Hg. Analize genomice și transcriptomice ale tulpinilor extrem de tolerante ar putea evidenția mecanismele celulare implicate în adaptarea la stresul generat de Hg. Alternativ, metagenomica și metatranscriptomica aplicate pe probe din teren pot dezvălui căile funcționale utilizate de comunitățile microbiene în condiții de contaminare cronică.

Din perspectivă fundamentală, înțelegerea mecanismelor implicate în absorbția și toleranța mercurului în plante este crucială, întrucât determinanții genetici implicați în acumularea Hg în țesuturile vegetale sunt încă necunoscuți. Identificarea acestor căi moleculare ar putea deschide noi direcții pentru dezvoltarea unor strategii de inginerie genetică, fie în scopul obținerii unor specii hiperacumulatoare, fie pentru crearea unor culturi sigure, adaptate solurilor contaminate cu Hg.

În concluzie, această lucrare oferă un punct de plecare pentru două direcții majore de cercetare: studii fundamentale privind mecanismele de toleranță la Hg în plante și microorganisme, și cercetări aplicate care susțin dezvoltarea unor strategii eficiente de remediere a solurilor contaminate cu Hg, prin interacțiuni plantă–microorganisme.

Diseminarea rezultatelor

Lista publicațiilor incluse în capitole

Chapter I

Tiodar[†], E. D., Văcar[†], C. L., & Podar, D. (2021). Phytoremediation and microorganisms-assisted phytoremediation of mercury-contaminated soils: challenges and perspectives. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 2435. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052435>, IF 4.614 (2021).

([†])These authors share equal contribution.

Chapter II

Tiodar, E. D., Chiriac, C. M., Pošćić, F., Văcar, C. L., Balázs, Z. R., Coman, C., Weindorf, D. C., Banciu, M., Krämer, U., Podar, D. (2024). Plant colonizers of a mercury contaminated site: trace metals and associated rhizosphere bacteria. *Plant and Soil*, 502(1), 373–396. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06552-7>, IF 4.9 (2022).

Chapter III

Tiodar, E. D., Văcar, C. L., Grimm, M. C., Ganea, I. V., Balázs, Z. R., Abrudan, A. M., Timár, C., Tanțău, I., Banciu, M., Angel, R., Podar, D. (2025). Impact of Long-Term Mercury Contamination on the Rhizosphere Microbiota of *Lotus tenuis*: A Pathway to Resilience via Interkingdom Facilitation. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2025.04.07.647525>

Bibliografie selectivă

Agarwal, M., Rathore, R. S., Jagoe, C., & Chauhan, A. (2019). Multiple lines of evidences reveal mechanisms underpinning mercury resistance and volatilization by *Stenotrophomonas* sp. MA5 isolated from the Savannah river site (SRS), USA. *Cells*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/cells8040309>

Alcántara, C., Jadán-Piedra, C., Vélez, D., Devesa, V., Zúñiga, M., & Monedero, V. (2017). Characterization of the binding capacity of mercurial species in *Lactobacillus* strains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(15), 5107–5113. <https://doi.org/10.1002/JSFA.8388>

ATSDR. (2022). *Substance Priority List Agency for Toxic Substances and Disease Registry Division of Toxicology and Human Health Sciences*. <https://www.atsdr.cdc.gov/programs/substance-priority-list.html> [accessed on 28.03.2022]

Barkay, T., Turner, R., Saouter, E., & Horn, J. (1992). Mercury biotransformations and their potential for remediation of mercury contamination. *Biodegradation*, 3(2–3), 147–159. <https://doi.org/10.1007/BF00129080>

Carrasco-Gil, S., Siebner, H., Leduc, D. L., Webb, S. M., Millán, R., Andrews, J. C., & Hernández, L. E. (2013). Mercury localization and speciation in plants grown hydroponically or in a natural environment. *Environmental Science and Technology*, 47(7), 3082–3090. <https://doi.org/10.1021/es303310t>

Chang, J., Shi, Y., Si, G., Yang, Q., Dong, J., & Chen, J. (2020). The bioremediation potentials and mercury(II)-resistant mechanisms of a novel fungus *Penicillium* spp. DC-F11 isolated from contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 396. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122638>

Chang, J., Si, G., Dong, J., Yang, Q., Shi, Y., Chen, Y., Zhou, K., & Chen, J. (2021). Transcriptomic analyses reveal the pathways associated with the volatilization and resistance of mercury(II) in the fungus *Lecythophora* sp. DC-F1. *Science of the Total Environment*, 752. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142172>

González, D., Robas, M., Fernández, V., Bárcena, M., Probanza, A., & Jiménez, P. A. (2022). Comparative Metagenomic Study of Rhizospheric and Bulk Mercury-Contaminated Soils in the Mining District of Almadén. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.797444>

González-Chávez, M. del C. A., Carrillo-González, R., Cuellar-Sánchez, A., Delgado-Alvarado, A., Suárez-Espinosa, J., Ríos-Leal, E., Solís-Domínguez, F. A., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2019). Phytoremediation assisted by mycorrhizal fungi of a Mexican defunct lead-acid battery recycling site. *Science of The Total Environment*, 650, 3134–3144. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.031>

Gueldry, O., Lazard, M., Delort, F., Dauplais, M., Grigoras, I., Blanquet, S., & Plateau, P. (2003). Ycf1p-dependent Hg(II) detoxification in *Saccharomyces cerevisiae*. *European Journal of Biochemistry*, 270(11), 2486–2496. <https://doi.org/10.1046/J.1432-1033.2003.03620.X>

Guo, Y., Sommer, N., Martin, K., & Rasche, F. (2023). *Rhizophagus irregularis* improves Hg tolerance of *Medicago truncatula* by upregulating the Zn transporter genes ZIP2 and ZIP6. *Mycorrhiza*, 33(1–2), 23–32. <https://doi.org/10.1007/s00572-022-01100-6>

Kavčič, A., Mikuš, K., Debeljak, M., Elteren, J. T. van, Arčon, I., Kodre, A., Kump, P., Karydas, A. G., Migliori, A., Czyżycki, M., & Vogel-Mikuš, K. (2019). Localization, ligand environment, bioavailability and toxicity of mercury in *Boletus* spp. And *Scutiger pes-caprae* mushrooms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 184, 109623. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109623>

Kocman, D., Horvat, M., Pirrone, N., & Cinnirella, S. (2013). Contribution of contaminated sites to the global mercury budget. *Environmental Research*, 125, 160–170. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2012.12.011>

Lehmann, J., Bossio, D. A., Kögel-Knabner, I., & Rillig, M. C. (2020). The concept and future prospects of soil health. *Nature Reviews Earth & Environment*, 1(10), 544–553. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0080-8>

Mathema, V. B., Balkrishna, C. T., & Sillanpää, M. (2011). Bacterial mer operon-mediated detoxification of mercurial compounds: A short review. *Arch Microbiol*, 193, 837–844. <https://doi.org/10.1007/s00203-011-0751-4>

Mench, M., Schwitzguébel, J. P., Schroeder, P., Bert, V., Gawronski, S., & Gupta, S. (2009). Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: Contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. In *Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 16, Issue 7, pp. 876–900). <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0252-z>

Montiel-Rozas, M. M., Madejón, E., & Madejón, P. (2016). Effect of heavy metals and organic matter on root exudates (low molecular weight organic acids) of herbaceous species: An assessment in sand and soil conditions under different levels of contamination. *Environmental Pollution*, 216, 273–281. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2016.05.080>

Natasha, Shahid, M., Khalid, S., Bibi, I., Bundschuh, J., Niazi, N. K., & Dumat, C. (2020). A critical review of mercury speciation, bioavailability, toxicity and detoxification in soil-plant environment: Ecotoxicology and health risk assessment. *Science of the Total Environment*, 711, 134749. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134749>

Park, J., Song, W. Y., Ko, D., Eom, Y., Hansen, T. H., Schiller, M., Lee, T. G., Martinoia, E., & Lee, Y. (2012). The phytochelatin transporters AtABCC1 and AtABCC2 mediate tolerance to cadmium and mercury. *Plant Journal*, 69(2), 278–288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04789.x>

Park, Y., Solhtalab, M., Thongsomboon, W., & Aristilde, L. (2022). Strategies of organic phosphorus recycling by soil bacteria: Acquisition, metabolism, and regulation. *Environmental Microbiology Reports*, 14(1), 3–24. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13040>

Phanthavongsa, P., Chalot, M., Papin, A., Lacercat-Didier, L., Roy, S., Blaudez, D., & Bert, V. (2017). Effect of mycorrhizal inoculation on metal accumulation by poplar leaves at phytomanaged sites. *Environmental and Experimental Botany*, 143, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.08.012>

Pietro-Souza, W., Pereira, F. de C., Mello, I. S., Stachack, F. F. F., Terezo, A. J., Cunha, C. N. da, White, J. F., Li, H., & Soares, M. A. (2020). Mercury resistance and bioremediation mediated by endophytic fungi. *Chemosphere*, 240. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124874>

Putra, B., Warly, L., Evitayani, & Utama, B. P. (2022). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on nutrients and heavy metals uptake by *Pennisetum purpureum* cv Mott in phytoremediation of gold mine tailings. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 10(1), 3795–3802. <https://doi.org/10.15243/jdmlm.2022.101.3795>

Rozmoš, M., Bukovská, P., Hršelová, H., Kotianová, M., Dudáš, M., Gančarčíková, K., & Jansa, J. (2022). Organic nitrogen utilisation by an arbuscular mycorrhizal fungus is mediated by specific soil bacteria and a protist. *The ISME Journal*, 16(3), 676–685. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01112-8>

Saccá, M. L., Caracciolo, A. B., Lenola, M. D., & Grenni, P. (2017). Ecosystem Services Provided By Soil Microorganisms. In *Soil Biological Communities and Ecosystem Resilience* (pp. 9–24). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63336-7_2

Safari, F., Akramian, M., Salehi-Arjmand, H., & Khadivi, A. (2019). Physiological and molecular mechanisms underlying salicylic acid-mitigated mercury toxicity in lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 183, 109542. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109542>

Say, R., Yilmaz, N., & Denizli, A. (2003). Biosorption of Cadmium, Lead, Mercury, and Arsenic Ions by the Fungus *Penicillium purpurogenum*. *Separation Science and Technology*, 38(9), 2039–2053. <https://doi.org/10.1081/SS-120020133>

Sommer, N., Guo, Y., Rasche, F., Hagemann, M. H., & Zörb, C. (2025). The potential of four legume trees for mercury phytoremediation and the role of arbuscular mycorrhizal fungi [preprint]. <https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-5336359/V1>

Sun, X., Li, P., & Zheng, G. (2021). Cellular and subcellular distribution and factors influencing the accumulation of atmospheric Hg in *Tillandsia usneoides* leaves. *Journal of Hazardous Materials*, 414, 125529. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2021.125529>

Szada-Borzyszkowska, A., Krzyżak, J., Rusinowski, S., Sitko, K., & Pogrzeba, M. (2024). Toxic effect of mercury on arbuscular mycorrhizal fungi colonisation and physiological status of

three seed-based *Miscanthus* hybrids. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 83, 127391. <https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2024.127391>

Tangahu, B. V., Abdullah, S. R. S., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., & Mukhlisin, M. (2011). A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/939161>

Tiodar, E. D., Văcar, C. L., & Podar, D. (2021). Phytoremediation and microorganisms-assisted phytoremediation of mercury-contaminated soils: Challenges and perspectives. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 1–38. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052435>

Yang, C., Ho, Y. N., Inoue, C., & Chien, M. F. (2020). Long-term effectiveness of microbe-assisted arsenic phytoremediation by *Pteris vittata* in field trials. *Science of The Total Environment*, 740, 140137. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140137>