

CZU: 577.1:[633.34 + 631.453]

DOI: <http://doi.org/10.5281/zenodo.4431651>

## INFLUENȚA NANOFIERULUI ZEROVALENT ASUPRA CREȘTERII PLANTELOR DE SOIA ȘI FORMĂRII SISTEMULUI RIZOBIO-RADICULAR ÎN CONDIȚIILE SOLULUI CONTAMINAT CU POLUANȚI ORGANICI PERSISTENȚI

Serghei CORCIMARU, Vasile TODIRAȘ, Svetlana PRISACARI,  
Angela LUNGU, Leonid ONOFRAȘ, Tatiana GUȚUL\*

*Institutul de Microbiologie și Biotehnologie*

\**Institutul de Inginerie Electronică și Nanotehnologii „D.Ghițu”*

A fost studiată influența nanofierului zerovalent (NFZV) asupra creșterii și dezvoltării plantelor de soia în condițiile solului contaminat cu poluanți organici persistenți (POP). Tratarea solului cu 25 mg/kg de NFZV în diferite subvariante cu și fără bacterizarea semințelor cu *Rhizobium japonicum RD2* a stimulat schimbări pozitive semnificative față de Martor. Lungimea rădăcinii s-a mărit cu 22,9-28,8%, iar masa uscată a părții aeriene a plantei – cu 21,7-31,5%. S-a observat că după ultimul parametru tratarea solului cu NFZV în comun cu bacterizarea semințelor au avut efecte semnificativ pozitive și față de subvariante cu NFZV (+8,0%) și bacterizarea (+12,3%). NFZV a stimulat și formarea sistemului rizobio-radicular – numărul de nodozități a crescut de 2,7-14,0 ori. Ca rezultat, a fost demonstrat că NFZV, plantele leguminoase și bacteriile simbiotrofe din genul *Rhizobium* prezintă interes pentru cercetările în scopul elaborării procedurilor de nanobioremediere a solurilor poluate cu POP.

**Cuvinte-cheie:** nanofier zerovalent (NFZV), nanobioremedierea solurilor, poluanți organici persistenți (POP), poluarea solului, soia, bacterii de nodozități, nodozități.

### THE INFLUENCE OF NANOSCALE ZEROVALENT IRON ON THE GROWTH OF SOYA PLANTS AND FORMATION OF RHIZOBIAL SYMBIOSIS IN SOILS CONTAMINATED WITH PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS

The purpose of this work was to study the influence of nanoscale zerovalent iron (NZVI) on the growth of soya in soil contaminated with persistent organic pollutants (POPs). Soil treatment with 25 mg/kg of NZVI resulted in soya growth stimulation in different sub-variants with and without preliminary seed bacterization with *Rhizobium japonicum RD2*: the root length and the dry mass of the aerial part of plants were respectively 22.9-28.8% and 21.7-31.5% higher than in the control variant. Also, according to the latter parameter, soil treatment with NZVI in combination with seed bacterisation produced the results that were statistically higher than in the sub-variants with NZVI treatment only (+8.0%), and with seed bacterisation only (+12.3%). NZVI stimulated the rhizobial symbiosis by increasing the number of root nodules by 2.7-14.0 times. As a result, NZVI, soya and symbiotrophic bacteria of the genus *Rhizobium* were found to possess a promising potential for nanobioremediation of soils contaminated with POPs.

**Keywords:** nanoscale zerovalent iron (NZVI), soil nanobioremediation, persistent organic pollutants (POPs), soil pollution, rhizobia, legume nodules.

#### Introducere

În Republica Moldova, poluarea solurilor cu substanțe nocive, îndeosebi în apropierea fostelor depozite de pesticide, este o problema acută [1-4]. În total există cel puțin 1604 zone potențial contaminate cu poluanți organici persistenți (POP) [4,5]. Pesticidele periculoase abandonate și depozitele devastate au un impact negativ asupra mediului ambiant [5-6].

Existența ariilor poluate impune necesitatea elaborării măsurilor pentru decontaminarea (remediarea) lor. La momentul dat deja sunt elaborate diferite tehnologii pentru remediarea fizică, chimică și biologică a solurilor poluate. Printre cele mai avantajoase sunt tehnologiile cu utilizarea nanoparticulelor în baza fierului (nanoremedierea) și bioremedierea [7-12]. Însă, utilizarea lor cu succes până în prezent este limitată din cauza unor probleme nerezolvate. În special, nanotehnologiile sunt relativ costisitoare și pot fi nocive pentru mediul ambiant. Pe de altă parte, bioremedierea necesită relativ mult timp, mai ales când solul este supracontaminat cu poluanți toxici [13,14]. În legătura cu cele expuse, recent a fost propusă o nouă abordare – nanobioremediere [15,16], care presupune utilizarea nanoparticulelor nu doar și nu atât pentru distrugerea POP în

sol, cât pentru stimularea proceselor de remediere biologică a lor. Se presupune că utilizarea în comun a nano- și biotehnologiilor poate accelera esențial ritmurile decontaminării și poate micșora riscurile ecologice ce țin de folosirea nanoparticulelor [8,10-12,17]. Cercetările în acest domeniu se află încă în faza incipientă și la momentul dat foarte puțin este cunoscut despre posibilitățile reale ale nanobioremedierii [13]. Totodată, rezultatele deja obținute sunt destul de promițătoare. De exemplu, a fost demonstrat că tratarea semințelor cu nanoparticule în baza fierului poate spori semnificativ rezistența plantelor agricole față de factorii negativi ai mediului și, ca rezultat, recolta [11]. În lucrarea noastră precedentă a fost demonstrat că tratarea solului poluat cu trifluralină a avut efecte pozitive veridice asupra creșterii plantelor de mazărice. Mărimea efectelor (până la +63,4% față de martorul cu trifluralină) a depins atât de forma chimică a nanoparticulelor, cât și de concentrația lor [18].

Reieșind din cele expuse, obiectivul nostru a fost de a testa posibilitatea utilizării nanoparticulelor în baza fierului zerovalent asupra creșterii plantelor de soia și interacțiunii ultimelor cu bacteriile aozotfixatoare din genul *Rhizobium* în condițiile solului poluat cu poluanți organici persistenți (POP).

### Metode și materiale

Nanoparticule de fier zerovalent (NFZV, 4 nm) au fost obținute prin metoda coprecipitării (reacția de reducere a clorurii de Fe(III)) în prezența polimerului poli-N-vinilpirolidonă, utilizat ca stabilizator. NFZV a fost introdus în solul poluat sub formă de praf amestecat cu talc (concentrația NFZV și a talcului fiind, respectiv, de 25 mg/kg și de 10 g/kg de sol).

Solul contaminat cu POP (cu trifluralină și cu DDTs în concentrații, respectiv, de 30,0 mg/kg și de 2,0 mg/kg) a fost colectat din preajma fostului depozit de pesticide din com. Sângera (mun. Chișinău). Imediat după colectare, solul (în stare umedă) a fost curățat de rămășițele vegetale și pietre, cernut și ajustat la umiditatea de 21,4%.

Experimentele vegetaționale au fost efectuate în condiții de laborator, în vase cu sol contaminat (500 g/vas), în 5 repetiții, în climocameră cu respectarea factorilor de iluminare (de zi), umiditate (60-80%), ventilare și temperatură (24-26°C). Plantele au fost crescute până la faza formării păstăilor. În total au fost studiate următoarele variante: (1) „Martor” – sol poluat plantat cu semințe de soia nebacterizate; (2) „RZ” – sol poluat plantat cu semințe de soia bacterizate cu tulpina *Rhizobium japonicum RD2*; (3) „NFZV” – sol poluat tratat cu NFZV (25 mg/kg) și plantat cu semințe de soia; (4) „NFZV+RZ” – sol poluat tratat cu NFZV (25 mg/kg) și plantat cu semințe de soia bacterizate cu *Rhizobium japonicum RD2*.

Influența nanoparticulelor a fost estimată în baza măsurării capacității germinative a semințelor, lungimii medii și a masei uscate a plantelor, a numărului de nodozități formate pe rădăcini.

Bacterizarea semințelor de soia a fost efectuată în modul următor: tulpina *Rhizobium japonicum RD2* a fost crescută pe mediul nutritiv agarizat solid cu pulbere din plantule de mazăre timp de 14 zile în termostat la temperatura de 28°C, apoi timp de 3 zile – în condiții de agitare în mediul lichid cu fiertură din mazăre la aceeași temperatură [19]. Bacterizarea s-a efectuat reieșind din calculul: 1 mil. de celule la 1 sămânță [20].

### Rezultate și discuții

Conform rezultatelor obținute (*a se vedea* Tabelul), tratarea solului cu NFZV, precum și bacterizarea semințelor cu *Rhizobium japonicum RD2* nu au avut efecte negative asupra plantelor de soia în condițiile studiate. Mai mult decât atât, în comparație cu varianta „Martor”, tratarea solului cu NFZV (varianta „NFZV”) a sporit statistic semnificativ lungimea rădăcinii (+28,8%) și masa uscată a părții aeriene a plantelor (+21,7%), iar bacterizarea (varianta „RZ”) a sporit semnificativ masa uscată a părții aeriene a plantelor (+17,1%) și numărul nodozităților pe o rădăcină (de 12,2 ori).

**Tabel**

**Impactul NFZV și al bacterizării cu *Rhizobium japonicum RD2* asupra dezvoltării plantei de soia în solul poluat cu POP**

Nr. crt.	Varianta*	Capacitatea germinativă a semințelor (%)	Lungimea medie (cm)		Masa uscată medie (g)		Numărul	
			planta	rădăcina	planta	rădăcina	păstăilor	nodozităților
1	Martor	91,4±3,8	73,23±11,28	19,53±1,68	2,81±0,13	1,49±0,15	0,67±0,53	0,40±0,32
2	RZ	85,7±6,4	84,53±5,74	23,59±2,82	3,30±0,15	1,64±0,15	1,53±0,71	4,87±2,52

3	NFZV	97,1±2,6	74,23±13,30	25,15±3,69	3,43±0,13	1,44±0,15	0,67±0,49	1,07±1,69
4	NFZV+RZ	91,4±5,8	81,94±6,59	24,00±2,38	3,70±0,12	1,60±0,16	1,40±0,85	5,60±2,92

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

Cele mai multe efecte veridice au fost observate în varianta cu utilizarea în comun a NFZV și a bacteriilor de nodozități („NFZV+RZ”), unde lungimea rădăcinii a crescut cu 22,9%, masa uscată a părții aeriene – cu 31,5% și numărul de nodozități – de 14,0 ori. Varianta „NFZV+RZ” după parametrul masa uscată a părții aeriene a plantei a depășit statistic nu doar martorul absolut, ci și variantele „RZ” și „NFZV” (cu 12,3% și 8,0%, respectiv). Aceste rezultate au demonstrat că NFZV posedă un potențial semnificativ de stimulare a dezvoltării plantelor de soia și a formării sistemului rizobio-radicular în condițiile solului poluat cu POP. Ținând cont de faptul că stimularea activității biologice în soluri poluate cu POP este ținta-cheie în cadrul procedeelelor de nanobioremediere, efectele observate sunt o dovadă că NFZV (în combinație cu plante leguminoase și bacteriile simbiotrofe din genul *Rhizobium*) are un potențial promițător pentru nanobioremedierea solurilor poluate cu POP.

### Concluzii

1. Nanofierul zerovalent poate stimula semnificativ dezvoltarea plantelor de soia și formarea sistemului rizobio-radicular în condițiile solului contaminat cu POP.

2. În cele mai bune cazuri, tratarea solului cu NFZV a contribuit la sporirea semnificativă a masei uscate a părții aeriene a plantei până la 31,5%, a lungimii rădăcinii – până la 28,8% și a numărului de nodozități – de 14,0 ori.

3. NFZV, plantele leguminoase și bacteriile simbiotrofe din genul *Rhizobium* prezintă interes pentru cercetările cu scopul elaborării procedeelelor efective de nanobioremediere a solurilor poluate cu POP.

### Referințe:

1. State of the Environment in the Republic of Moldova in 2003 (National Report). Chișinău: Institutul Național de Ecologie, 2004. 130 p.
2. THERON, J., WALKER, J.A., CLOETE, T.E. Nanotechnology and Water Treatment: Applications and Emerging Opportunities. In: *Critical Reviews in Microbiology*, 2008 no.34(1), p.43- 69.
3. VILLA, R., PUPO, N. Oxidation of p, p 2-DDT in highly and long-term contaminated soil using Fenton reaction in a slurry system. In: *Science of the Total Environment*, 2006, no.371(1-3), p.11-18.
4. ZHANG, W. Nanoscale iron particles for environmental remediation: An overview. In: *Journal of Nanoparticle Research*, 2003, no.5(3-4), p.323-332.
5. MULLER, N., NOWACK, B. *Nano zero valent iron – The solution for water and soilre mediation?* Observatory NANO focus report, 2010.
6. OBERDÖRSTER, G., STONE, V., DONALDSON, K. Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. In: *Nanotoxicology*, 2007, no.1, p.1–25.
7. Children’s health and environment in the Republic of Moldova. The Fifth Ministerial Conference on Environment and Health “Protecting children’s health in a changing environment”, Parma, Italy, 10-12 March, 2010. Chisinau, 2010. 63 p.
8. The Eliminators in Moldova. GEF/FAO project Capacity Building on Obsolete and POPs Pesticides in Eastern European, Caucasus and Central Asian Countries (EECCA). Brochure, 2011. 46 p.  
[https://obsoletepesticides.net/site/wp-content/uploads/resources/reference/the\\_eliminator\\_in\\_moldova\\_english\\_.pdf](https://obsoletepesticides.net/site/wp-content/uploads/resources/reference/the_eliminator_in_moldova_english_.pdf)
9. PHILLIPS, T.M., SEECH, A.G., LEE, H., TREVORS, J.T. Biodegradation of hexachlorocyclohexane (HCH) by microorganisms. In: *Biodegradation*, 2005, no.16, p.363–392.
10. ЯНИН, Е.П. Ремедиация территорий, загрязненных химическими элементами: общие подходы, правовые аспекты, основные способы (зарубежный опыт). В: *Проблемы окружающей среды и природных ресурсов*, 2014, №3, с.3–105.
11. CECCHIN, I., REDDY, K.R., THOME A., TESSARO, E.F. Nanobioremediation: Integration of nanoparticles and bioremediation for sustainable remediation of chlorinated organic contaminants in soils. In: *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, no.119, p.419-428.

12. GALDAMES, A., MENDOZA, A., ORUETA M., et al. Development of new remediation technologies for contaminated soils based on the application of zero-valent iron nanoparticles and bioremediation with compost. In: *Resource-Efficient Technologies*, 2017, no.3, p.166-176.
13. BOGDEVICH, O., CADOCINICOV, O. Elimination of acute risks from obsolete pesticides in Moldova: phytoremediation experiment at a former pesticide storehouse. Application of Phytotechnologies for Cleanup of Industrial, Agricultural and Wastewater Contamination. Springer, NATO book series C. In: *Environmental Security*, 2009, p.61-87.
14. КАУШ, М.Н. *Симбиотическая азотфиксация и пути её повышения*. Кишинёв: ШТИИЦА, 1992. 113 с.
15. Republic of Moldova. National Implementation Plan for the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Ministry of Ecology and Natural Resources. 2004. *World Bank*. Chisinau: Știința. 80 p. <http://chm.pops.int/Portals/0/download.aspx?d=UNEP-POPS-NIP-Moldova-1.English.pdf>
16. *Obsolete pesticides*, 2012. <https://obsoletepesticides.net/site/home/countries/moldova/>
17. ОНОФРАШ, Л.Ф., ЯКИМОВА, М.Ф., КОВАЛЬЖИУ, А.И., ВОЛОСКОВА, М.М. Биопрепараты клубеньковых бактерий для активизации процесса фиксации атмосферного азота. В: *Симбиотическая азотфиксация и пути её повышения*. Кишинев: ШТИИЦА, 1992, с.121.
18. State of the Environment in the Republic of Moldova, 2007-2010 (National Report – Synthesis). Chisinau, “Nova Imprim” SRL, 2011. 88 p.
19. CORCIMARU, S., PRISACARI, S., TODIRAȘ, V., GUȚUL, T. Influența nanoparticulelor în baza fierului asupra creșterii plantelor de mazărice (*Vicia sativa*) în solul poluat cu trifluralină. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*, 2019, no.2 (338), p.139-143.
20. СТАРОСТИНА, Л. Экологические проблемы сельскохозяйственного использования земли. В: *АgroXXI*, 2013, <https://www.agroxxi.ru/zhurnal-agromir-xxi/stati-rasteniievodstvo/yekologicheskie-problemy-selskohozjaistvennogo-ispolzovaniya-zemli.html>.

**Date despre autori:**

**Serghei CORCIMARU**, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie.

**E-mail:** sergheicorcimaru@hotmail.com

**Vasile TODIRAȘ**, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie.

**Svetlana PRISACARI**, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie.

**Angela LUNGU**, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie.

**Leonid ONOFRAȘ**, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie.

**Tatiana GUȚUL**, Institutul de Inginerie Electronică și Nanotehnologii „D.Ghițu”.

*Prezentat la 15.08.2020*