



UNIVERSITATEA „VASILE  
ALECSANDRI” DIN BACĂU  
FACULTATEA DE INGINERIE  
PROGRAMUL DE STUDII DOCTORALE  
INGINERIA MEDIULUI



## REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

CERCETĂRI PRIVIND TESTAREA TOLERANȚEI LA METALE  
GRELE (CUPRU ȘI CADMIU) A RĂSADURILOR DE ARDEI GRAS  
(*CAPSICUM ANNUUM* L.), SOIUL DARIANA BAC ȘI VARZĂ  
(*BRASSICA OLERACEA* L.), SOIUL SILVIANA

**Conducător Științific:**

**Prof. univ. dr. ing. Dr.h.c. Valentin NEDEFF**

**Membru corespondent al**

**ASAS „Gh. Ionescu Sîșești” București**

**Doctorand:**

**Biolog Gabriel-Alin IOSOB**

**BACĂU 2020**



ROMÂNIA

MINISTERUL EDUCAȚIEI ȘI CERCETĂRII

UNIVERSITATEA „VASILE ALECSANDRI” DIN BACĂU

Calea Mărășești, Nr. 157, Bacău, 600115

Tel. +40-234-542411, fax +40-234-545753

www.ub.ro; e-mail:rector@ub.ro



## REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

CERCETĂRI PRIVIND TESTAREA TOLERANȚEI LA METALE  
GRELE (CUPRU ȘI CADMIU) A RĂSADURILOR DE ARDEI GRAS  
(*CAPSICUM ANNUUM* L.), SOIUL DARIANA BAC ȘI VARZĂ  
(*BRASSICA OLERACEA* L.), SOIUL SILVIANA

BACĂU 2020

## MULȚUMIRI

Acum, la finalul stagiului doctoral, adresez respectuoase mulțumiri și deosebită recunoștință domnului profesor univ. dr. ing. Dr.h.c. Valentin NEDEFF, **coordonator științific** al acestei lucrări, pentru încredere, pentru profesionalismul și atitudinea riguroasă cu care s-a implicat în coordonarea activității de cercetare și în elaborarea acestei teze de doctorat.

Mulțumesc distinșilor **membri ai comisiei de evaluare**, pentru acceptul de a evalua această teză de doctorat și pentru disponibilitatea de a participa la susținerea publică.

Doresc să adresez mulțumiri speciale doamnei conf. univ. dr. Maria PRISECARU, cea care m-a introdus în lumea cercetării științifice, m-a sprijinit în mod constant din primul an de facultate, pe toată perioada studiilor doctorale și de la care am mereu lucruri interesante de învățat.

În continuare, doresc să îmi exprim gratitudinea față de doamna dr. biolog Tina-Oana CRISTEA, Cercetător Științific gradul 1, pentru ajutorul oferit pe toată perioada derulării experimentelor, pentru sfaturile acordate și sprijinul științific. Mulțumesc domnișoarei dr. ing. Maria CĂLIN, Cercetător Științific gradul 1, pentru sfaturile constructive. De asemenea mulțumesc colegilor de la **Stațiunea de Cercetare – Dezvoltare pentru Legumicultură Bacău**, în special domnului director dr. ing. Marian Petre BREZEANU, Cercetător Științific gradul 1, pentru ajutorul profesional, răbdarea și colaborarea științifică.

Mulțumesc profesorilor mei din toate ciclurile de învățământ pentru dărnicia cu care au împărțit din cunoștințele lor, cunoștințe care au clădit în mine dragostea și respectul pentru știință.

Și nu în ultimul rând le mulțumesc părinților, surorii mele, bunicilor și prietenilor pentru înțelegerea și sprijinul moral pe care mi le-au oferit în această perioadă.

Vă mulțumesc,

Drd. Gabriel-Alin IOSOB

## CUPRINS

	Pagină T/R
MULȚUMIRI .....	1/1
CUPRINS .....	2/2
JUSTIFICAREA TEMEI, SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI DE	
DOCTORAT.....	17/5
Scopul cercetării.....	19/6
Obiectivele acestei teze de doctorat.....	19/6
Obiective principale .....	19/6
Obiective secundare .....	20/7
INTRODUCERE.....	21/8
CAPITOLUL I	
1.STADIUL ACTUAL PRIVIND POLUAREA SOLULUI ȘI PROBLEMATICA	
CONTAMINĂRII PLANTELOR LEGUMICOLE CU METALE GRELE.....24/9	
1.1.    Metale grele - noțiuni generale .....	24/9
1.2.    Surse de metale grele în ecosistemele terestre .....	26/9
1.2.1.    Surse naturale .....	27/9
1.2.2.    Originea antropică a metalelor grele .....	28/9
1.2.3.    Metale esențiale și metale toxice din sol.....	30/9
1.2.4.    Mobilitatea și biodisponibilitatea metalelor grele din sol.....	31/9
1.3.    Poluarea solului cu metale grele .....	34/9
1.3.1.    Poluarea solului cu metale grele la nivel global .....	34/9
1.3.2.    Poluarea solului cu metale grele la nivel național .....	37/9
1.4.    Tehnologii de bioremediere a solurilor contaminate cu metale grele ..	38/10
1.5.    Contaminarea solului și implicațiile asupra creșterii și dezvoltării	
plantelor de cultură.....	41/10
1.6.    Bioacumularea metalelor grele în plantele de cultură .....	42/10
1.7.    Efectul metalelor grele asupra organismului uman .....	45/11
1.8.    Legislația privind contaminarea cu metale grele în agricultură și industria	
alimentară.....	47/11
1.9.    Concluzii privind stadiul actual al poluării solului și problema	
contaminării plantelor legumicole cu metale grele .....	50/12
CAPITOLUL II	
2.DESCRIEREA CARACTERELOR BIOLOGICE ALE SPECIILOR FOLOSITE	
ÎN TESTELE DE TOXICITATE ȘI A CERINȚELOR ECOLOGICE.....52/13	
2.1. <i>Capsicum annum</i> L.....	52/13
2.1.1.    Aspecte privind cultivarea și importanța economică a speciei .....	56/13
2.1.2.    Descrierea și Biologia speciei .....	58/14
2.1.3.    Stadiul actual al cercetărilor care vizează efectul metalelor grele la	
ardei.....	60/14
2.2. <i>Brassica oleracea</i> L.....	62/15
2.2.1.    Aspecte privind cultivarea și importanța economică a speciei .....	65/15
2.2.2.    Descrierea și Biologia speciei .....	67/15

2.2.3. Stadiul actual al cercetărilor care vizează efectul metalelor grele la varză.....	68 /16
2.3. Concluzii privind importanța plantelor legumicole luate în studiu .....	70/17

### CAPITOLUL III

3.MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE.....	73/18
3.1. Cadrul general experimental.....	73/18
3.2. Materialul biologic folosit în experimentele privind influența metalelor grele Cu și Cd.....	76/20
3.2.1. Proveniența materialului biologic .....	76/20
3.2.1. Variante experimentale .....	76/20
3.3. Caracterizarea substratului de sol pentru răsad .....	78/20
3.4. Concentrațiile de metale grele și variantele experimentale utilizate....	80/20
3.4.1. Variante experimentale pentru Cu .....	81/20
3.4.2. Variante experimentale pentru Cd .....	81/20
3.4.3. Varianta martor și varianta experimentală pentru Cu+Cd .....	82/20
3.5. Metode de lucru utilizate .....	82/21
3.5.1. Metoda specifică studiului ecotoxicității.....	83/21
3.5.1.1. Principiul testului.....	83/21
3.5.2. Metode și tehnici de evaluare a capacității germinative a semințelor pe hârtie de filtru în vase Petri .....	84/21
3.5.2.1. Protocolul de lucru utilizat .....	85/21
3.5.3. Metode citogenetice.....	89/22
3.5.4. Metode și tehnici de evaluare a capacității germinative a semințelor semănate pe substrat de sol.....	98/23
3.5.4.1. Protocolul de lucru utilizat .....	99/23
3.5.5. Metode de evaluare a principalilor indici calitativi privind capacitatea de creștere și dezvoltare a răsadurilor .....	100/24
3.5.6. Metoda de analiză a pigmentilor clorofilieni din materialul vegetal.....	102/24
3.5.6.1. Metoda de extragere și cuantificare a clorofililor și carotenoidelor.....	103/24
3.5.7. Metoda de lucru pentru determinarea conținutului de metale grele din probele vegetale.....	104/25
3.5.7.1. Dezagregare cu acid azotic.....	105/25

### CAPITOLUL IV

4.INFLUENȚA METALELOR GRELE (CD ȘI CU) ASUPRA PLANTELOR DE ARDEI GRAS ( <i>CAPSICUM ANNUUM L.</i> ).....	110/26
4.1. Influența metalelor grele asupra capacității germinative la semințele de ardei gras .....	110/26
4.1.1. Influența metalelor grele asupra ratei de germinație a semințelor de ardei gras pe hârtie de filtru .....	110/26
4.1.1.1. Influența Cd .....	111/26
4.1.1.2. Influența Cu .....	117/29
4.1.1.3. Influența Cd + Cu .....	122/32
4.1.2. Influența metalelor grele asupra germinației semințelor de ardei gras pe substrat de sol.....	122/32
4.1.2.1. Influența Cd .....	123/32

4.1.2.2.	Influența Cu .....	128/34
4.1.2.3.	Influența Cd+Cu .....	132/36
4.1.3.	Comparație între germinația semințelor de ardei gras pe substratul de sol și hârtie de filtru .....	136/39
4.1.3.1.	Influența Cd .....	136/39
4.1.3.2.	Influența Cu .....	140/42
4.2.	Aspecte citogenetice privind influența metalelor grele (Cu și Cd) asupra indicelui mitotic și aberațiilor cromozomiale la ardeiul gras .....	144/44
4.2.1.	Influența metalelor grele studiate asupra fazelor de diviziune ....	145/44
4.3.	Influența metalelor grele asupra indicilor de calitate .....	152/46
4.4.	Analiza pigmentilor clorofilieni din masa verde a răsadului .....	159/49
4.5.	Analiza metalelor grele din plantă .....	164/51
4.6.	Concluzii cu privire la comportamentul speciei <i>Capsicum annuum</i> L. la tratamentele cu metale grele .....	166/52

## CAPITOLUL V

5.INFLUENȚA METALELOR GRELE (CD ȘI CU) ASUPRA PLANTELOR DE VARZĂ ( <i>BRASSICA OLERACEA L.</i> ).....	169/54
5.1. Influența metalelor grele asupra capacității germinative la semințele de varză pe hârtie de filtru .....	169/54
5.1.1. Influența metalelor grele asupra ratei de germinație a semințelor pe hârtie de filtru la varză .....	169/54
5.1.1.1. Influența Cd .....	170/54
5.1.1.2. Influența Cu .....	175/57
5.1.1.3. Influența Cd+Cu .....	179/59
5.1.2. Influența metalelor grele asupra germinației semințelor de varză pe substrat de sol.....	179/59
5.1.2.1. Influența Cd .....	179/59
5.1.2.2. Influența Cu .....	184/62
5.1.2.3. Influența Cd+Cu .....	188/64
5.1.3. Comparație între germinația semințelor de varză pe substratul de sol și hârtie de filtru .....	192/66
5.1.3.1. Influența Cd .....	193/66
5.1.3.2. Influența Cu .....	197/69
5.2. Aspecte citogenetice asupra indicelui mitotic și aberațiilor cromozomiale la varză.....	201/71
5.2.1. Influența metalelor grele studiate asupra fazelor de diviziune ....	202/71
5.3. Influența metalelor grele asupra indicilor de calitate .....	209/72
5.4. Analiza pigmentilor clorofilieni din masa verde a răsadului de varză.....	217/75
5.5. Analiza metalelor grele din plantă .....	221/77
5.6. Concluzii cu privire la comportamentul speciei <i>Brassica oleracea</i> L. la tratamentele cu metale grele .....	223/78
CONCLUZII GENERALE.....	225/80
BIBLIOGRAFIE.....	239/96

## JUSTIFICAREA TEMEI, SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI DE DOCTORAT

Dintre poluanți, asupra tuturor organismelor vii, metalele grele au un potențial toxic recunoscut. Fiecare dintre aceste metale sunt periculoase dacă valoarea lor depășește o anumită concentrație. Animalele, în special erbivorele, preiau aceste elemente din plantele cu care se hrănesc sau direct din solul pe care îl ingeră atunci când pasc. Iar oamenii, sunt expuși acțiunii metalelor grele prin alimentație, dar și ocupațional. Plantele sunt foarte sensibile la modificările ce pot apărea în mediu: de exemplu contaminarea cu Pb, inactivează enzime precum dehidrogenaza sau ureaza, provoacă limitarea absorbției apei și inhibă creșterea plantelor, Zn reduce activitatea biologică din sol, modifică proprietățile fizico-chimice ale acestuia, acționează asupra microorganismelor dereglând procesul de transformare a materiei organice din sol și încetinește procesele fiziologice, Cd prezent în unele îngrășăminte fosfatice, produce blocarea proceselor microbiologice [1, 2]

În această cercetare ne propunem investigarea efectelor metalelor grele, Cu și Cd, asupra răsadurilor de ardei gras (*Capsicum annuum* L.) și varză (*Brassica oleracea* L.) prin:

- testarea capacității germinative a semințelor (rata de germinație, indicele de toleranță la stres, rata medie de germinație, coeficientul vitezei de germinație, indicele ratei de germinație, indicele de germinație Timson);
- studii de citogenetică pentru determinarea efectului metalelor grele asupra ciclului celular și asupra restructurărilor și aberațiilor cromozomiale;
- măsurători privind creșterea răsadurilor și înregistrarea principalilor indici de calitate agrofitehnici (lungimea tulpinii, lungimea rădăcinii, numărul de frunze pe plantă, masa plantei și substanța uscată);
- investigarea principalelor procese fiziologice la nivelul răsadurilor de ardei gras și varză, în principal a pigmentilor clorofilieni;
- determinări spectrofotometrice cantitative pentru depistarea acumulării de Cu și Cd în țesuturile plantelor.

Acest studiu este important din perspectiva cunoașterii și evidențierii efectelor metalelor grele asupra unor genotipuri de legume autohtone, create și dezvoltate de Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Legumicultură din Bacău.

### **Scopul cercetării**

Scopul acestei teze de doctorat îl reprezintă influența metalelor grele Cu și Cd asupra principalilor parametri de creștere și dezvoltare a plantelor de ardei gras și varză. Valorile de referință care au stat la baza stabilirii variantelor experimentale testate în cadrul prezentului studiu sunt reprezentate de valorile normale, valorile pragului de alertă și valorile pragului de intervenție pentru Cu și Cd, extrase din ORDINUL nr. 756 ce privește reglementări asupra poluării mediului.

S-a urmărit evidențierea efectelor ecotoxicologice, prin experiențe de laborator, asupra semințelor și răsadurilor de ardei gras (*Capsicum annum L.*), soiul Dariana Bac și varză (*Brassica oleracea L.*), soiul Silviana. Soiuri create de Stațiunea de Cercetare – Dezvoltare pentru Legumicultură Bacău, plante de interes economic pentru România și zona de Nord-Est.

### **Obiectivele acestei teze de doctorat**

Având în vedere că metalele grele nu sunt biodegradabile, pot persista perioade lungi în sol și de asemenea pot fi preluate de plante pentru ca mai târziu să ajungă în părțile comestibile ale acestora și în dieta umană, autorul își propune să îndeplinească obiectivele menționate mai jos:

### **Obiective principale**

- Cercetări privind influența expunerii la diferite doze de Cu și Cd, atât pe hârtie de filtru cât și pe sol, asupra capacității germinative a semințelor;
- Stabilirea impactului dozelor de Cu și Cd asupra ciclului celular (indicele mitotic și apariția unor aberații cromozomiale);



- Determinarea influenței dozelor de Cu și Cd asupra principalilor parametri de creștere și dezvoltare a răsadului;
- Cuantificarea efectului dozelor de Cu și Cd asupra pigmentilor asimilatori din frunzele plantelor;
- Determinarea cantitativă a Cu și Cd din țesuturile plantelor.

### Obiective secundare

- Realizarea stadiului actual al cercetării prin sintetizarea informațiilor existente în literatura de specialitate;
- Familiarizarea cu legislația în vigoare referitoare la domeniul contaminării produselor vegetale;
- Evaluarea efectelor expunerii la substanța chimică de testare asupra germinării semințelor, indicelui mitotic, incidenței aberațiilor cromozomiale și a creșterii plantelor până în stadiul de răsad la ardei gras (*Capsicum annum L.*), soiul Dariana Bac și varză (*Brassica oleracea L.*), soiul Silviana;
- Evaluarea unor indicatori fiziologici și biochimici ai metabolismului plantelor de ardei gras și varză (conținutul pigmentilor fotosintetici din frunze);
- Studii morfogenetice asupra creșterii și dezvoltării plantelor de ardei gras și varză, prin determinarea unor date biometrice (mărirea rădăcinii, mărirea tulpinii, număr de frunze);
- Evaluarea capacității de absorbție a metalelor grele de către răsadurile ardei gras, soiul Dariana Bac și varză, soiul Silviana;
- Evaluarea gradului de toxicitate a metalelor prin acțiunea lor sinergică;
- Creșterea dirijată a răsadurilor de ardei gras și varză, în camere de vegetație, sub influența dozelor de Cu și Cd.

## INTRODUCERE

Fenomenul de poluare constituie contaminarea mediului înconjurător cu diverse materiale ce interferează cu sănătatea umană, calitatea vieții sau funcția naturală a ecosistemelor (adică a organismelor vii și mediul în care acestea trăiesc). Chiar dacă uneori poluarea mediului (apă, sol, aer) este rezultatul cauzelor naturale, mare parte a substanțelor poluante sunt cauzate de activitățile umane. „*Omul, după ce a atins un anumit grad de cultură, a scos la lumină o trăsătură care îl deosebește de toate celelalte viețuitoare; în timp ce toate speciile se adaptează mediului de viață, omul a încercat o performanță diferită: adaptarea mediului la particularitățile sale biologice, la cerințele vieții sociale*” [3]. Metalele grele ce s-au acumulat în sol sunt „moștenirea” dobândită la finalul unei ere a industriei. În special a industriei metalurgice. Deși se fac eforturi pentru stabilizarea acestor soluri, trebuie să recunoaștem faptul că acest domeniu reprezintă încă cea mai mare provocare din cauza diversității structurale, fizice, chimice și biologice întâlnite [4]. Contaminarea solurilor cu metale grele, cum ar fi: Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Ni și Zn, a reprezentat și reprezintă o amenințare gravă pentru ecosisteme, dar mai ales pentru sănătatea umană. Prin urmare, este necesar punerea în aplicare a măsurilor corespunzătoare de remediere a solului [5].

În prezent, poluarea cu metale grele a solului este una dintre cele mai importante probleme de mediu a țărilor industrializate [6]. Conform studiilor recente, există probabilitatea ca unele metale grele să intre în lanțul alimentar [7-9] datorită interacțiunii dintre plantă și metal care este una extrem de complexă și depinde de mulți factori exogeni [10]. Metalele grele pot afecta sănătatea umană, agricultura și ecosistemele forestiere [6] de aceea sunt printre cei mai nocivi poluanți. Ele pot fi toxice în anumite concentrații și au abilități de bioacumulare și persistență în mediu [11]. Expunerea pe termen lung poate duce la probleme de sănătate grave pentru om și animale, cum ar fi, disfuncționalități renale și hepatice, probleme ale tractului gastro-intestinal, și tulburări ale sistemului nervos central [6].

## CAPITOLUL I

### 1. STADIUL ACTUAL PRIVIND POLUAREA SOLULUI ȘI PROBLEMATICA CONTAMINĂRII PLANTELOR LEGUMICOLE CU METALE GRELE

#### 1.1. Metale grele - noțiuni generale

Termenul de “metal greu” are o gamă largă de sensuri, și nu există încă nici o definiție coerentă dată de către un organism de autoritate, cum ar fi Uniunea Internațională de Chimie Pură și Aplicată (IUPAC) în ultimii 60 de ani [12]. Dar în ultimele două decenii, acest termen a fost folosit de numeroase publicații și legislații pentru a indica un anumit grup de metale sau semimetale care produc efecte toxice pentru om, animale și plante.

#### 1.2. Surse de metale grele în ecosistemele terestre

Toate solurile conțin metale grele aflate în tabelul periodic, dar concentrațiile variază considerabil, iar unele pot fi sub limita de detecție pentru anumite proceduri analitice [13]. Ele nu sunt supuse degradării sau descompunerii bacteriilor și, prin urmare, sunt permanente și se acumulează în țesuturile organismelor, acest proces este numit bioacumulare [14]. De asemenea metalele grele pot proveni fie din surse naturale sau din surse antropice, însă daunele aduse unui mediu provin dintr-o combinație de factori naturali și antropogeni [15].

Cea mai importantă sursă naturală de metale grele este materialul geologic parental din rocă. Compoziția și concentrația metalelor grele depind însă de tipul de rocă și de condițiile din mediu, intemperiiile activând procesul. Materialele vegetale geologice au în general concentrații mari de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Sn, Hg și Pb [16].

#### 1.3. Poluarea solului cu metale grele

Acumularea metalelor grele în sol reprezintă o amenințare pentru bioecosistemele terestre, mai ales pentru că reduce calitatea solului [17]. Solul poate fi contaminat prin acumularea de metale grele și metaloizi prin emisiile provenite de la

extinderea rapidă a zonelor industriale și a haldelor de steril minier, benzină cu plumb, vopsele, prin împrăștierea îngrășămintelor și dejecțiilor animale, a nămolului de epurare, a pesticidelor, prin irigarea cu ape uzate, reziduuri de ardere a cărbunelui, scurgerile de produse petrochimice și depunerile atmosferice [18].

#### **1.4. Tehnologiile de bioremediere a solurilor contaminate cu metale grele**

Prima etapă a oricărui proces de bioremediere a solurilor poluate este evaluarea cât mai corectă a nivelului de poluare. Determinarea naturii poluanților și a cantității acestora, în vederea elaborării celor mai potrivite biotehnologii de remediere [19, 20].

#### **1.5. Contaminarea solului și implicațiile asupra creșterii și dezvoltării plantelor de cultură**

Numeroase studii au demonstrat că o concentrație a elementelor chimice ce în mod normal nu depășesc în sol limitele permise, poate provoca efecte dăunătoare asupra organismelor vii [21]. În ultimul deceniu, cercetările au arătat că stresul oxidativ indus de expunerea la metale grele este, probabil, principalul efect dăunător pentru plante și se crede că există o corelație între sistemul antioxidant și capacitatea de toleranță la stresul metalelor grele. În condiții de laborator se efectuează studii privind evaluarea riscului metalelor asupra plantelor și a efectelor genotoxice induse, cu aplicarea de contaminanți artificiali pe sol sau se efectuează cu soluri din zonele poluate. Majoritatea acestor studii sunt inițiate de către necesitatea unei evaluări eficiente a unui pericol genotoxic [21].

#### **1.6. Bioacumularea metalelor grele în plantele de cultură**

Datorită evoluției recente din domenii precum biochimia și biologia moleculară, au fost mai bine înțelese mecanismele și procesele implicate în interacțiunile dintre substanțele chimice și organisme. În cercetarea de mediu, indicatorii biologici pot fi definiți **ca o schimbare a răspunsului biologic legat de o**

**expunere sau efectul toxic al unui produs chimic sau substanță chimică din mediu** [22].

### 1.7. Efectul metalelor grele asupra organismului uman

Există metale care se găsesc în produsele alimentare și din punct de vedere nutrițional acestea se vor împărți în două categorii, după cum urmează [23-28]:

- **metale esențiale** - acestea au un rol fiziologic bine determinat iar lipsa sau insuficiența lor din alimentație pot duce după o perioadă de timp la dereglări ale proceselor metabolice și apariția unor boli carentiale. Metalele esențiale pentru buna funcționare a organismului uman sunt: Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, Co, Se [24, 28-30];
- **metale neesențiale** – de obicei sunt prezente în organismul uman în cantități foarte mici și sunt eliminate prin urină, sucuri digestive, bilă, celule descumate și alte căi, ele se comportă ca niște impurificatori chimici care traversează organismul uman fără a produce perturbări biochimice importante. Metalele neesențiale sunt: Pb, Hg, Al, Sn, Ar, Au, Ni, Cr și alte metale a căror prezență în alimente apare ca o *contaminare* [24, 28-30].

### 1.8. Legislația privind contaminarea cu metale grele în agricultură și industria alimentară

Contaminarea solului cu metale grele este un fenomen mondial cu care se confruntă atât țările dezvoltate, cât și țările în curs de dezvoltare [31]. Poluarea și distrugerea mediului induse de om ca urmare a creșterii economice rapide a devenit o problemă gravă cu efecte asupra sănătății oamenilor [32].

În 1982, **FAO** a adoptat *Carta Mondială a Solului*, iar **UNEP** a publicat *Politica mondială a solurilor*. Cu toate acestea, principiile și definițiile au oferit orientări utile guvernelor naționale care au urmărit acțiuni privind gestionarea durabilă a solului [33]. În ultimii ani, FAO și țările sale membre au înregistrat progrese semnificative în ceea ce privește sprijinirea strategiilor și politicilor de îmbunătățire a guvernantei globale și a resurselor solului [33].

### **1.9. Concluzii privind stadiul actual al poluării solului și problematica contaminării plantelor legumicole cu metale grele**

O bună cunoaștere a surselor naturale (geochimice) și antropice a metalelor grele și metaloizilor din sol, a relației lor cu solul și cu plantele, precum și posibilele probleme de toxicitate sau deficiențe asociate acestora este importantă pentru protecția mediului, a sănătății umane și a productivității agricole [34-36].

Unele metale grele au bio-importanță ca oligoelemente, efectele biotoxice ale multora dintre ele în biochimia vegetală, animală și umană sunt un factor de îngrijorare. Prin urmare, este necesară o înțelegere cât mai corectă a condițiilor, cum ar fi concentrațiile și stările de oxidare, care le fac dăunătoare și modul în care apare biotoxicitatea [1].

Efectul toxicității metalelor grele asupra creșterii plantelor variază în funcție de metalul greu implicat în proces. Numeroase studii au demonstrat că o concentrație a elementelor chimice ce în mod normal nu depășesc în sol limitele permise, poate provoca efecte dăunătoare asupra organismelor vii [21, 37]

În condiții de laborator se efectuează studii privind evaluarea riscului metalelor asupra plantelor și a efectelor genotoxice induse, cu aplicarea de contaminanți artificiali sau cu soluri din zonele poluate. Majoritatea acestor studii sunt inițiate de către necesitatea unei evaluări eficiente a unui pericol genotoxic [21].

Contaminarea solului cu metale grele este un fenomen mondial cu care se confruntă atât țările dezvoltate, cât și țările în curs de dezvoltare. Din punct de vedere legislativ FAO a adoptat *Carta Mondială a Solului* și UNEP a publicat *Politica mondială a solurilor*, oferind astfel sprijin util guvernelor naționale care au urmărit acțiuni privind gestionarea durabilă a solului. Totuși standardele stabilite în legislația internațională și națională cu privire la poluanții metalici ce pot provoca efecte dăunătoare la plante, animale și oameni [33].

## CAPITOLUL II

### 2. DESCRIEREA CARACTERELOR BIOLOGICE ALE SPECIILOR LUATE ÎN STUDIU ȘI A CERINȚELOR ECOLOGICE

#### 2.1. *Capsicum annuum* L.

**ARDEIUL** (*Capsicum annuum* L.), face parte din familia *Solanaceae*. O familie care cuprinde peste 90 de genuri și 2.500 de specii de plante cu flori, include legume importante din punct de vedere comercial cum sunt tomatele, cartofii și vinetele [38]. Ardeiul este o legumă aliment cultivată pentru fructele sale dulci sau iuți, care se consumă proaspete, preparate sau conservate [39]. *C. annuum*, este ardeiul cu cea mai mare variație în dimensiune, formă, și culoarea fructelor sale [40]. A atins chiar de la începuturi, în zonele de origine un înalt grad de înobilare, așa după cum o demonstrează marea varietate de forme cultivate descrise chiar de atunci. Ardeiul a pătruns în Europa prin Portugalia și Spania. A fost adus de conchistadorii spanioli din Brazilia, în anul 1494. S-a răspândit foarte repede în toată lumea, cu atât mai mult cu cât se pare că hrana picantă era "la modă" în acea vreme [41-43].

##### 2.1.1. Aspecte privind cultivarea și importanța economică a speciei

Ardeiul se cultivă pentru fructele sale, care au multiple întrebuințări în alimentația omului, atât în stare proaspătă, cât și preparată sau conservată. În funcție de gustul lor, fructele pot fi dulci sau iuți. Fructele de ardei dulci au culoare verde, roșie sau galbenă în stadii intermediare. Se pot consuma în stare proaspătă, sub formă de diferite salate crude sau coapte, simple sau asortate, cu brânză, pateuri etc., de asemenea, fructele proaspete se folosesc la prepararea ciorbelor, supelor sau diferitelor mâncăruri ori tocane. Un mod tradițional de preparare sunt ardeii umpluți [42, 44]. În mod deosebit, ardeiul gogoșar se consumă marinat, iar cel lung sub formă de murături. Compoziția chimică a ardeilor depinde de tipul de ardei, de gradul de maturitate, de condițiile de cultură, soi etc. [45-47].

### 2.1.2. Descrierea și Biologia speciei

Deși în țara de origine este o plantă perenă, ardeiul cultivat la noi este o plantă erbacee anuală, cu tendință de lemnificare în a doua perioadă de vegetație. Habitusul este mediu dezvoltat în formă de tufă globuloasă de până la 40-50 cm înălțime și 30-40 cm diametru. În seră, tulpina poate ajunge la 1,5-2,2 metri [47].

### 2.1.3. Stadiul actual al cercetărilor care vizează efectul metalelor grele la ardei

Metalul greu poate fi un factor de stres care declanșează răspunsuri fiziologice negative la plante. Studii recente au arătat că la concentrația scăzută de Cu în sol nu s-au observat diferențe în conținutul de Cu în lăstari și rădăcini la ardei [48]. Totuși studiile cu privire la efectul metalelor grele asupra ardeiului gras (*Capsicum annuum*) sunt foarte puține [49].

Ardeiul gras este o legumă consumată la nivel mondial, foarte bogată în carotenoizi, în special zeaxantină, un puternic antioxidant [49]. Pentru a evalua performanța de creștere a ardeiului gras (*Capsicum annuum* var. Nishat<sup>1</sup>) a fost utilizat un experiment de câmp în anul 2012 și 2013, în care au fost testate concentrații diferite de nămoluri reziduale singure și în combinație cu diferite doze recomandate de îngrășăminte. Rezultatele au dezvăluit faptul că utilizarea nămolurilor reziduale nu a avut niciun impact negativ asupra calității fructelor și există o opțiune pentru utilizarea sa în îmbunătățirea creșterii plantelor și a calității solului, ceea ce va ajuta la reducerea degradării mediului [50]. Un alt studiu a evaluat nivelurile de Cd, Mn, Cu, Pb, Ni și Zn disponibile în solul a cinci zone agricole comparativ cu solul pădurilor naturale adiacente, pentru a determina riscul de contaminare al plantelor. Rezultatele au arătat că solurile intens folosite pentru agricultură au un nivel de Mn, Cu și Zn crescut. Din analizele efectuate, ardeiul a prezentat cele mai ridicate niveluri de Pb și Ni, ceea ce sugerează că această specie acumulează mai mult Pb și Ni în comparație cu alte specii studiate [51].



## **2.2. *Brassica oleracea* L.**

Varza este originară din coasta Atlanticului din Europa unde crește sălbatic, provenind din specia sălbatică *Brassica oleracea* a fost cultivată de popoarele antice, în special de către greci și romani. La celelalte popoare din Europa s-a răspândit prin secolele IX-XII, la început în zona occidentală și apoi în cea orientală [45, 52, 53]. Formele de varză cunoscute în antichitate aveau o rozetă densă, dar fără căpățână. Forma actuală a verzei pentru căpățână a apărut ca o mutație când a fost adusă în regiunea Mediteranei de Est, prin secolul al XII-lea, urmată apoi de lucrări de selecție [42, 53, 54].

### **2.2.1. Aspecte privind cultivarea și importanța economică a speciei**

Cultura verzei de căpățână se amplasează pe terenuri nivelate, irigabile, cu soluri mijlocii sau mijlocii spre compacte, fertile (cu o cantitate de 3-4% humus), cu reacție neutră spre ușor alcalină. [42, 45, 46].

Varza este importantă și datorită proprietăților ei terapeutice, fapt consemnat în literatura de specialitate din cele mai vechi timpuri, fiind recomandată în tratarea plăgilor, ulcerului stomacal, având efect favorabil asupra digestiei. Sub aspect economic își justifică rentabilitatea prin realizarea de venituri substanțiale la hectar [42, 46].

### **2.2.2. Descrierea și Biologia speciei**

Varza este o plantă biennială, ierboasă, cu rădăcina și tulpina în primul an de vegetație scurtă și îngroșată. Pe ea sunt inserate frunzele din rozetă și cele care formează căpățână. În vârful tulpinii și la baza frunzelor se găsesc mugurii din care, în anul al doilea, se formează tulpinile florifere. Frunzele din rozetă sunt scurt sau lung pețiolate, cu limbul de forma diferită în funcție de soi (rotundă, obovată, lirată) și sunt acoperite cu un strat de pruină care la unele soiuri imprimă o culoare verde-albăstrui. Frunzele din interiorul căpățânii sunt etiolate, albe sau albe-gălbui și în ele se

depozitează substanțele de rezervă. Căpățâna este formată din 60-75 frunze și reprezintă 70-80% din masa plantei [42].

### **2.2.3. Stadiul actual al cercetărilor care vizează efectul metalelor grele la varză**

S-au făcut investigații cu privire la concentrațiile de metale grele din sol și legume și riscurile pe care le pot avea pentru sănătatea umană. Solurile din Pakistan, de exemplu, au fost analizate pentru Cd, Cu, Ni, Pb și Zn, iar concentrațiile de Cd, Cu și Zn au depășit limitele admise pentru probele de sol din legislația națională. Iar cele mai mari concentrații de Cu, Ni, Pb și Zn au fost determinate în părțile comestibile ale verzei, *Brassica oleracea* [55].

Studiul realizat de C. Rădulescu și colab. investighează acumularea formelor solubile de metale grele din sol în diferite părți comestibile ale speciei *Brassica oleracea* L. var. *capitata*. Zona cercetată este unul dintre satele vechi din sudul județului Dâmbovița, numit Puntea de Greci, cu activități tradiționale în agricultură și legumicultură. În această zonă se cultivă în special varză și cartofi. Iar sursele de poluare în zona de studiu pot fi traficul auto (adică autostrada A1 și alte drumuri naționale și județene), îngrășămintele și deșeurile menajere [56].

În lucrare au fost prezentate concentrațiile medii de metale grele din părțile comestibile ale speciei *Brassica oleracea* L.. Cu a depășit limita maxima admisă în toate probele analizate conform Ord. 975/1998 din legislația română și JECFA 2005 pentru legume proaspete sau congelate/legume frunze crude (5 mg/kg). Nivelurile cele mai ridicate au fost înregistrate pe frunzele interioare și exterioare, iar acest lucru se datorează aplicării îngrășămintelor foliare cu conținut ridicat de Cu. O mare concentrația a fost găsită și în tulpina interioară. Cât privește concentrațiile de Cd sunt mari în toate probele de varză. Totuși comparativ cu limita maximă admisă de Regulamentul Comisiei Europene 1881/2006 și Ord. 975/1998 din legislația română cele mai mari concentrații de Cd au fost în rădăcină [56].

### 2.3. Concluzii privind importanța plantelor legumicole luate în studiu

Ardeii are o importanță deosebită pentru valoarea sa economică mare care rezultă din faptul că asigură venituri mari pentru cultivatori prin valorificarea pe piețele interne și externe [42]. Conform statisticilor FAO, în lume au crescut atât suprafețele de ardei recoltate cât și producția totală. Însă, în România, producția totală de ardei a scăzut în ultimii ani [57].

Ardeii gras a fost luat în studiu deoarece literatura de specialitate cu privire la înțelegerea efectelor metalelor grele asupra germinației semințelor și dezvoltării răsadului de ardei sunt foarte puține [49]. Iar ciclul de vegetație al unei plante de ardei este, în medie, scurt. Germinația și răsărirea durează de la 10 până la 25 de zile, în funcție de temperatură, prima frunză adevărată apare după 7-10 zile de la răsărire, iar primii muguri floriferi se formează după 50-60 de zile [46].

Stadiul actual al cercetărilor care vizează efectul metalelor grele la varză, ne arată că în Pakistan cele mai mari concentrații de Cu, Ni, Pb și Zn au fost observate în părțile comestibile ale verzei [55]. Și legumele ce au fost colectate din fermele ce se află în vestul Keniei, au fost analizate pentru conținutul de metale grele iar rezultatele au arătat că valorile cu cele mai mari raporturi au fost înregistrate la Cu [58].

Varza alba de căpățână (*Brassica oleracea* L.) a fost luată în studiu, deoarece, această plantă este folosită în testele OCDE pentru substanțele chimice [59]. Este o plantă cu o perioadă foarte scurtă de germinație, la temperatura optimă (15-25°C) semințele germinează în 6-10 zile, la 10-12 zile de la răsărire, răsadurile se repică și la vârsta de 40-50 zile răsadurile pot fi plantate în câmp [60].

## CAPITOLUL III

### 3. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

#### 3.1. Cadrul general experimental

Pentru studiul toleranței la metale grele au fost utilizate semințe de **ardei gras** (*Capsicum annum* L. soiul Dariana Bac) și semințe de **varză** (*Brassica oleracea* soiul Silviana), soluții standard de **Cu** și **Cd**, camera de vegetație **Sanyo**, Microscop **Hund Wetzlar**, cameră foto **Canon PC 1200**, termobalanță **Kern MLB**, Centrifugă **Hettich Universal 320 R**, Spectrofotometru **Boeco Germany S 20**, Digestor cu Microunde **ETHOS 1**, balanță electronică **SARTORIUS** și Spectrofotometrul AAS **ZEEnit 700** pentru analiza metalelor grele din răsad. În cele ce urmează vor fi descrise materialele și metodele folosite pentru analiza probelor, după o anumită ordine cronologică și logică:

- materialul biologic (semințe de ardei și varză);
- pregătirea semințelor pentru germinație;
- pregătirea materialului de analiză pentru studiul diviziunii mitotice și a aberațiilor cromozomiale;
- pregătirea experimentului pentru germinație și răsărire pe substrat de sol;
- măsurătorile biometrice ale răsadurilor;
- analiza pigmentilor clorofilieni din materialul vegetal;
- analiza conținutului de metale grele din probele vegetale;
- analiza datelor obținute.

Experimentele de germinație a semințelor, analiza materialului pentru studiul diviziunii mitotice și aberațiilor cromozomiale dar și măsurătorile biometrice s-au realizat în cadrul **Laboratorului de Culturi "In Vitro" al Stațiunii de Cercetare Dezvoltare pentru Legumicultură Bacău**. Laboratorul este destinat cultivării "in vitro" și este organizat pe sistem clasic. Laboratorul poate deservi tuturor operațiunilor necesare desfășurării în condiții optime a activității de cercetare în domeniul biotehnologiilor vegetale.

Pentru experimentele de germinație în condiții optime a semințelor folosite în experimente s-a folosit camera de climatizare Sanyo unde temperatura este reglabilă și

stabilă. Regimul termic este de asemenea optim, în funcție de cerințele speciei cu care se lucrează. Umiditatea din camera de creștere a fost menținută în jurul intervalului de 70-100%, valori recomandate de literatura de specialitate, iar aerarea camerei de creștere s-a realizat cu ajutorul aerului condiționat, umidificat, evitându-se curenții prea mari de aer și oscilațiile termice.

Analiza pigmenților clorofilieni s-a realizat în cadrul laboratorului **Fiziologia Plantelor al Stațiunii de Cercetare Dezvoltare pentru Legumicultură Bacău**. Laboratorul este destinat analizelor ce privesc determinarea principalilor parametri fiziologici ai plantelor (respirație, transpirație, fotosinteză, etc.). S-a folosit Spectrofotometru BOECO Modelul S-20. Acest spectrofotometru acoperă lungimea de undă cuprinsă între 320 și 1000 nm, o lățime de bandă de 10 nm. Sistemul optic este instalat și izolat independent cu lentile, pentru a oferi o protecție maximă împotriva contaminării mediului. Când este combinat cu o structură rigidă, S-20 oferă un sistem cu încălzire rapidă, dispersie scăzută și fiabilitate ridicată. Au fost dezvoltate și sunt disponibile multe metodologii, de aceea trebuie utilizată lungimea de undă recomandată în protocolul de lucru. Lungimea de undă va oferi în mod normal valoarea maximă de absorbție. Poate fi selectată până la atingerea optimului. Trebuie menționat faptul că punctul de absorbție zero se va schimba odată cu lungimea de undă. De aceea calibrarea trebuie efectuată ori de câte ori este modificată lungimea de undă [61].

Determinarea metalelor din răsad a fost realizată în cadrul **Laboratorului de Analize Apă a Administrației Bazinală Siret**, cu care există protocoale de colaborare cu Universitatea "Vasile Alecsandri" din Bacău, la Spectrofotometrul ZEEnit 700. Un instrument compact cu 2 camere separate pentru probe, care, în combinație cu un autosampler sau accesorii potrivite se poate folosi în toate tehnicile de atomizare importante:

- tehnica cuptor de grafit pentru probe lichide;
- tehnica cuptor de grafit pentru probe solide;
- tehnica flacără staționară sau ca tehnică de injecție;
- tehnica hidruri și tehnica vaporilor reci;
- tehnica HydrEA, o tehnică ce cuplează tehnicile hidruri cu tehnica cuptor de grafit.

### **3.2. Materialul biologic folosit în experimentele privind influența metalelor grele Cu și Cd**

#### **3.2.1. Proveniența materialului biologic**

Materialul biologic a fost reprezentat de semințe de ardei (*Capsicum annuum* L.) soiul Dariana Bac și semințe de varză (*Brassica oleracea* L.) soiul Silvana. Soiurile utilizate în experimente sunt de proveniență autohtonă, certificate de Stațiunea de Cercetare – Dezvoltare pentru Legumicultură din Bacău și provin din lotul de producție al anului 2018.

#### **3.3. Caracterizarea substratului de sol pentru răsad**

Substrat de turbă (NOVARBO BY BIOLAN – For Professional Use) potrivit pentru utilizare ca substrat de creștere al plantelor, precum și în producția de răsaduri în ghivece. Substratul este liber de mucegai și alte microorganisme, furnizează o aerare și umiditate adecvată pentru germinația semințelor și este ușor de utilizat.

#### **3.4. Concentrațiile de metale grele și variantele experimentale utilizate**

A fost evaluat impactul ecotoxicologic al Cd și Cu asupra procesului de germinație, creștere și dezvoltare a plantelor. Pentru a sublinia impactul acestor metale grele au fost realizate 10 variante experimentale ( $V_1=20$  mg Cu;  $V_2=100$  mg Cu;  $V_3=250$  mg Cu;  $V_4=500$  mg Cu;  $V_5$ =Martor (apă distilată);  $V_6=1$  mg Cd;  $V_7=3$  mg Cd;  $V_8=5$  mg Cd;  $V_9=10$  mg Cd;  $V_{10}=500$  mg Cu+10 mg Cd) și pentru prima parte a experimentelor, semințele au fost puse în contact cu soluțiile de testare în vase Petri pe hârtie de filtru, iar pentru a doua parte a experimentului acestea au fost puse în contact cu solul tratat.

Fiecare metal a fost testat într-o serie de concentrații (tabelul 3.1) iar valorile au fost preluate din Anexa Ordinului nr. 756/3 noiembrie 1997 în ceea ce privește urmele elementelor chimice din sol.

**Tabel 3.1** Concentrațiile variantelor experimentale

Nr. crt.	Varianta	Metal	Concentrație mg/kg su
1	V1	Cu	20
2	V2	Cu	100
3	V3	Cu	250
4	V4	Cu	500
5	V5	Martor	Apă distilată
6	V6	Cd	1
7	V7	Cd	3
8	V8	Cd	5
9	V9	Cd	10
10	V10	Cu+Cd	500+10

### 3.5. Metode de lucru utilizate

#### 3.5.1. Metoda specifică studiului ecotoxicității

Pentru studiul ecotoxicității metalelor grele s-a utilizat ghidul de testare OECD nr. 208 cu privire la germinația semințelor plantelor terestre, deoarece această metodă de testare este actualizată și are ca obiect evaluarea potențialelor efecte ale substanțelor chimice asupra germinației și creșterii plantelor terestre. Această metodă însă nu acoperă și efectele cronice sau efectele asupra reproducerii (adică formarea semințelor, formarea florilor, maturarea fructelor) [59].

#### 3.5.2. Metode și tehnici de evaluare a capacității germinative a semințelor pe hârtie de filtru în vase Petri

În jumătatea inferioară a fiecărui vas Petri a fost așezată o bucată de hârtie de filtru pe care s-au pus 30 de semințe, lăsând spațiu în jurul lor. Pentru a le putea manipula s-a folosit penseta deoarece semințele sunt destul de mici. S-au acoperit cu o nouă hârtie de filtru apoi a fost adăugată soluția de testare cu pipeta (aproximativ 10 mL). Pentru fiecare specie au fost efectuate trei repetiții, fiind analizate 10 variante experimentale (martor și 9 concentrații). Varianta martor a fost umectată cu apă

distilată. Soluția de testare a fost picurată în cât mai multe locuri pentru a se umecta hârtia uniform. S-a acoperit vasul Petri cu jumătatea superioară unde a fost notat cu markerul varianta de testare și repetiția. Vasele au fost acoperite cu staniol și au fost puse randomizat în condiții controlate de temperatură (25°C) în camera de vegetație Sanyo. Verificarea semințelor s-a realizat zilnic sau la două zile. A fost urmărită germinația dar s-a asigurat și că hârtia de filtru nu este uscată la atingere. Dacă a fost nevoie, câteva picături din soluția de testare au fost adăugate pentru a se menține umiditatea. După germinația semințelor, staniolul a fost îndepărtat și plantulele au fost expuse unei fotoperioade de 16 ore lumină și 8 ore întuneric. Semințele au fost considerate germinate atunci când rădăcina a fost vizibilă.

### **3.5.3. Metode citogenetice**

Protocolul de lucru utilizat în investigațiile citogenetice a cuprins următoarele etape:

#### ***Prelevarea rădăcinilor***

Pentru evidențierea efectului diferitelor concentrații de metale grele asupra diviziunii celulare, rădăcinile de aproximativ 1-1,5 cm, au fost prelevate. Prelevarea a fost făcută dimineață deoarece în această perioadă procesele de diviziune celulară sunt intense.

#### ***Fixarea rădăcinilor***

Pentru această etapă s-a folosit fixatorul Farmer (alcool etilic și acid acetic glacial în proporție de 3:1). După colectarea rădăcinilor și plasarea acestora în fiole separate pentru fiecare variantă și repetiție, a fost adăugată o cantitate 3-4 mL de fixator, iar fiolele au fost introduse în frigider unde au fost ținute pentru o perioadă de aproximativ 24 de ore.

#### ***Hidroliza materialului vegetal***

Hidroliza, această etapă are ca scop macerarea substanțelor din țesuturi prin dizolvarea parțială a substanțelor pectice. De asemenea permite etalarea materialului



(dispunerea celulelor pe lamă într-un singur strat). Hidroliza s-a realizat cu acid clorhidric (HCl) 1N (82,5 mL HCl pur în 1.000 mL apă distilată). După înlăturarea fixatorului și trei clătiri scurte în apă de robinet, în fiolele ce conțin materialul biologic au fost adăugați 2-3 mL HCl 1N încălzit la 60°C. Apoi fiolele au fost introduse în termostat la temperatura de 60°C pentru 7 minute. Deși procedura se poate realiza și la temperatura camerei trebuie menționat faptul că hidroliză la cald reduce semnificativ timpul hidrolizei materialului vegetal.

### ***Colorarea***

După hidroliza materialului vegetal a fost îndepărtat HCl din fiole și a fost adăugată o cantitate de 2-3 mL de reactiv Carr. Ca urmare a reacțiilor chimice care se produc între grupele aldehide din ADN eliberate prin hidroliză și fucsina bazică, după 15-30 minute, regiunea meristematică din vârful rădăcinilor se colorează în roșu-violaceu. Pentru intensificarea colorării, rădăcinile au fost lăsate în reactiv aproximativ 24 de ore.

### ***Efectuarea preparatelor microscopice***

Preparatele microscopice au fost realizate prin tehnica „squash”.

### **3.5.4. Metode și tehnici de evaluare a capacității germinative a semințelor semănate pe substrat de sol**

Investigațiile au avut drept scop identificarea și evaluarea impactului unor concentrații de metale grele (Cu și Cd) în sol, asupra germinării, creșterii și dezvoltării răsadurilor de ardei gras (*Capsicum annuum* L.) și varză (*Brassica oleracea* L.). Conform protocolului OECD 208 privind testarea substanțelor chimice, germinația semințelor și creșterea plantelor terestre.

#### **3.5.4.1. Protocolul de lucru utilizat**

În fiecare ghiveci pentru răsaduri s-a adăugat substrat de turbă potrivit pentru producția răsadurilor în ghivece. Câte cinci semințe de ardei gras respectiv varză au fost puse în ghivece și au fost acoperite cu un alt strat subțire de turbă. Irigarea inițială

a fost realizată prin partea superioară astfel a fost asigurată stimularea germinației semințelor dar și aplicarea la suprafață a substanțelor de testare. Acest procedeu facilitează pătrunderea metalelor grele studiate în sol și reprezintă principala cale de acces a metalelor grele în natură. Vasele au fost puse în condiții adecvate care au favorizat germinația și creșterea plantelor. Condițiile de testare au fost apropiate de condițiile necesare pentru creșterea normală a speciilor de legume și au fost asigurate de camera de vegetație Sanyo: temperatură (25°C), fotoperioadă (16/8), umiditate (peste 70%). Varianta cu plantele de control și variantele cu solul tratat au fost ținute în condiții de mediu identice.

### **3.5.5. Metode de evaluare a principalilor indici calitativi privind capacitatea de creștere și dezvoltare a răsadurilor**

Datele biometrice determină variația principalilor indici calitativi privind capacitatea de creștere și dezvoltare a răsadurilor în funcție de diferitele concentrații de metale din sol. Astfel fiecare plantă din cele obținute au fost supuse unor măsurători biometrice: înălțimea plantei (cm); lungimea rădăcinii (cm), numărul de frunze pe plantă, masa plantei (g) (rădăcină + tulpină + frunze).

De asemenea a fost determinată și masa verde și uscată din plante. Determinarea conținutului de umiditate este importantă deoarece este o măsură a calității.

### **3.5.6. Metoda de analiză a pigmentilor clorofilieni din materialul vegetal**

În această cercetare evaluarea pigmentilor fotosintetici a fost realizată pe baza protocolului Lichtenthaler (1987) [62, 63].

S-a luat 100 mg materie vegetală proaspătă și s-a omogenizat în 80% (v/v) acetona. Proba a fost centrifugată timp de 10 min la 3.530 rpm în Centrifuga Hettich Universal 320 | 320 R. După colectarea supernatantului (SN), s-a înregistrat absorbția la 470, 647 și 663 nm la Spectrofotometru Boeco Germany S 20 și concentrațiile de Cla, Clb și Car au fost calculate.

### **3.5.7. Metoda de lucru pentru determinarea conținutului de metale grele din probele vegetale**

Principiul metodei constă din pătrunderea ionilor din soluția de analizat împreună cu gazul purtător în zona cu temperatură ridicată, respectiv flacăra, aceștia devenind atomi. În intervalul de temperatură 2.000 – 3.000 K, atomii sunt duși în starea energetică favorabilă absorbției, reducând la minimum emisia. Absorbția are loc atunci când energia radiației este egală cu diferența de energie a atomului în stare excitată și cea în care se găsește acesta în mod normal. Când atomul revine la starea cu energie mai mică, se emite spontan o parte din radiația absorbită, care este nesemnificativă pentru detector. Pentru absorbția atomică sunt importanți atomii aflați în stare fundamentală, neinfluențați semnificativ de variațiile mici de temperatură. În cazul absorbției atomice, importantă este populația de atomi aflată în stare fundamentală, care este mai puțin influențată de mici fluctuații de temperatură. Spectrele de absorbție sunt mai simple decât cele de emisie și pot fi rezolvate cu un monocromator mai puțin sofisticat.

#### **3.5.7.1. Dezagregare cu acid azotic**

Dezagregarea se realizează și în vase închise, în cuptorul cu microunde sub presiune.

*Determinarea conținutului în metale grele a materialului vegetal*

Această etapă necesită parcurgerea următorilor pași:

- uscarea probelor vegetale (această etapă a fost realizată la termobalanță, metodă descrisă la subcapitolul 3.5.5.) ;
- mineralizarea sau digestia acidă (a fost realizată la cuptorul cu microunde);
- spectrometria de absorbție atomică în flacăra (realizată la spectrofotometru ZEEmit 700).

## CAPITOLUL IV

### 4. INFLUENȚA METALELOR GRELE (CD ȘI CU) ASUPRA PLANTELOR DE ARDEI GRAS (*CAPSICUM ANNUUM L.*)

#### 4.1. Influența metalelor grele asupra capacității germinative la semințele de ardei gras

##### 4.1.1. Influența metalelor grele asupra ratei de germinație a semințelor de ardei gras pe hârtie de filtru

Investigațiile realizate au avut drept scop identificarea și evaluarea impactului pentru urmele de elemente chimice din solurile normale, sensibile și mai puțin sensibile pentru Cd și Cu la semințele de ardei gras (*Capsicum annum L.*).

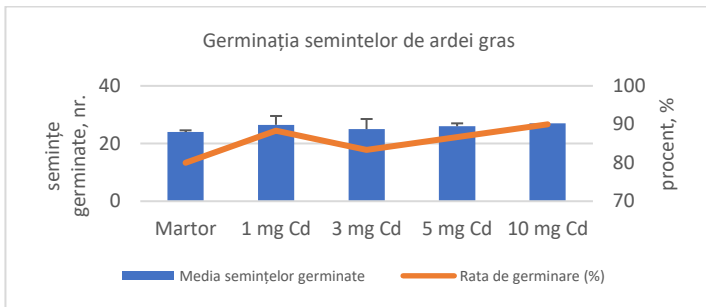
##### 4.1.1.1. Influența Cd

Analiza variantelor experimentale cu privire la media semințelor germinate și a ratei de germinație sunt prezente în figura 4.1. Observăm că toxicitatea Cd nu a avut un efect negativ cu privire la rata de germinație a semințelor de ardei gras. Creșterea concentrației nu a scăzut germinația semințelor față de varianta martor. Se observă chiar o ușoară creștere a mediei semințelor germinate. Notăm însă o ușoară scădere a ratei de germinație la varianta cu 3 mg Cd (83%) dar nu mai mică în comparație cu proba martor (80%). Cea mai mare rată de germinație a fost observată la varianta cu 10 mg Cd (90%).

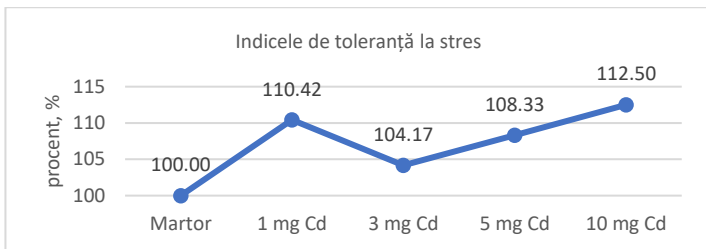
Aceeași constatare se remarcă și la indicele de toleranță la stres (figura 4.2). Semințele care au germinat pe varianta tratată cu 10 mg Cd arată o toleranță mare față de concentrația acestui metal greu. În raport cu varianta martor toate semințele de ardei gras de pe toate variantele tratate cu Cd tolerează stresul acestui metal.

Diferența timpului mediu de germinație a semințelor de ardei gras susține valorile medii ale semințelor germinate pe zile. Se observă în figura 4.3 că timpul de germinație al semințelor de pe variantele tratate cu Cd este semnificativ mai mic față de varianta martor. Cele mai mici valori sunt înregistrate la variantele tratate cu 10 mg Cd (5,11 zile) și la varianta tratată cu 1 mg Cd (5,72 zile). Observăm totuși o medie de

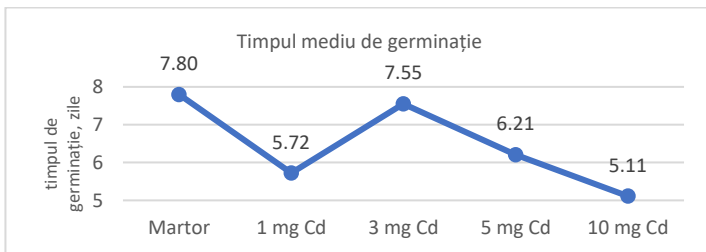
aproximativ 7,55 zile a timpului de germinație la varianta tratată cu 3 mg Cd, foarte aproape de semințele care au germinat pe varianta martor 7,80 zile.



**Figura 4.1** Reprezentarea grafică cu privire la media semințelor germinate și procentul de germinație a semințelor de ardei gras puse la germinat în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri



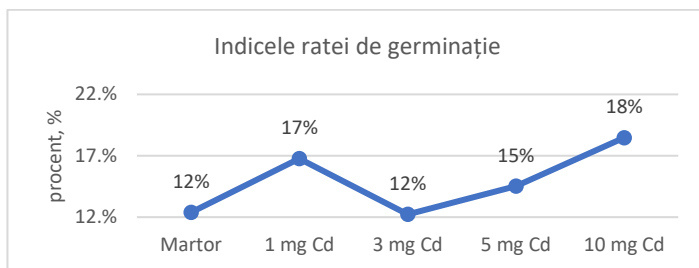
**Figura 4.2** Reprezentarea grafică cu privire la indicele de toleranță la stres a semințelor de ardei gras germinate în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri



**Figura 4.3** Reprezentarea grafică cu privire la timpul mediu de germinație la semințele ardei gras germinate în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri

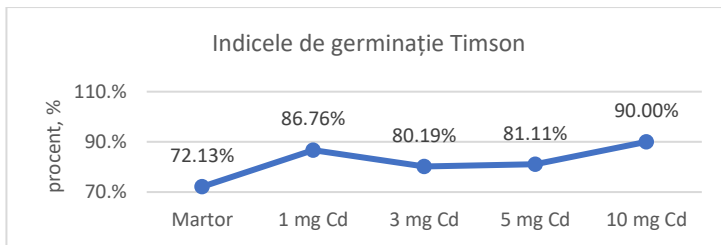
Indicele ratei de germinație indică procentul de semințe care au germinat în fiecare ziua a perioadei de observație. Cu cât procentul GRI este mai mare, mai rapid este germinația semințelor [64]. Astfel, din figura 4.4 observăm că cel mai mare procent al GRI este înregistrat pe varianta tratată cu 10 mg Cd (18%), ceea ce înseamnă că semințele de pe această variantă au germinație mai rapidă în comparație cu varianta martor și cu celelalte variante tratate. Din nou, pe baza valorilor rezultate de indicele ratei de germinație a semințelor de ardei gras, soiul Dariana Bac, putem spune că variantele experimentale aflate sub influența directă a concentrațiilor de Cd au fost în ordinea: 10 mg Cd > 1 mg Cd > 5 mg Cd > 3 mg Cd ≥ varianta martor

Varianta martor înregistrând cel mai mic indice, de doar 12% a semințelor ce au germinat în fiecare zi, valoare înregistrată și pe varianta tratată cu 3 mg Cd.



**Figura 4.4** Reprezentarea grafică cu privire la indicele ratei de germinație la semințele de ardei gras germinate în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri

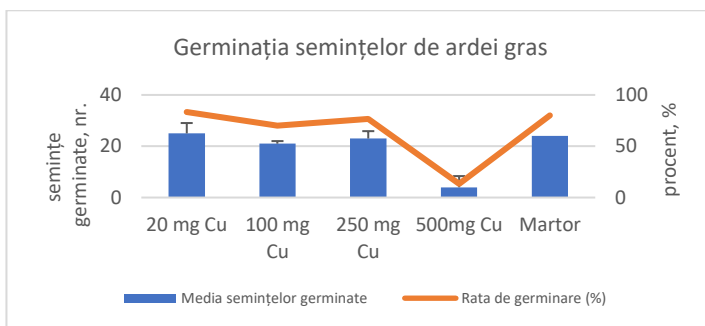
Indicele Timson a fost calculat, astfel, a fost reconfirmată viteza cu care au germinat semințele de ardei gras aflate sub influența concentrațiilor de Cd testate. Indicele a fost calculat pentru o perioadă de testare a germinării semințelor de 12 zile. Prin urmare, în figura 4.5 se observă că semințele de pe varianta tratată cu 10 mg Cd au o viteză de germinație foarte mare, deoarece au obținut un procent de 90%, urmat de semințele care au germinat pe varianta tratată cu 1 mg Cd cu un procent al germinației de 87%. Varianta martor are o viteză de germinație mai mică decât a variantelor tratate cu soluțiile de Cd, însumând un procent de 72%.



**Figura 4.5** Reprezentarea grafică cu privire la efectul Cd asupra indicelui Timson la semințele de ardei gras germinate în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri

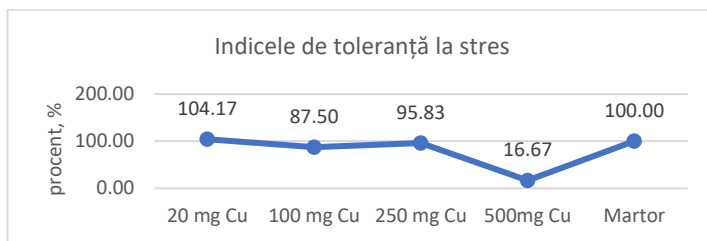
#### 4.1.1.2. Influența Cu

Rezultatele cu privire la media semințelor germinate și a ratei de germinatie a semințelor de ardei gras germinate în soluții cu diferite concentrații de Cu, sunt prezentate în figura 4.6. Se observă că toxicitatea Cu are un efect vizibil în ceea ce privește rata de germinatie și media semințelor germinate în comparație cu varianta martor. Creșterea concentrației de Cu scade rata de germinatie. Și se poate observa o scădere semnificativă a germinatiei semințelor de ardei la varianta tratată cu 500 mg Cu în comparație cu celelalte variante tratate și varianta martor. Totuși cea mai mare medie a semințelor germinate o are varianta tratată cu 20 mg Cu, însă diferența dintre această variantă și varianta martor este foarte mică.



**Figura 4.6** Reprezentarea grafică cu privire la media semințelor germinate și rata de germinatie a semințelor de ardei gras puse la germinat în soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

În figura 4.7 observăm reprezentarea grafică a indicilor de toleranță la stres a semințelor de ardei gras care au germinat pe variantele tratate cu soluție de Cu. Dacă semințele au o toleranță medie cu privire la primele 3 concentrații de Cu studiate (20, 100, 250 mg Cu) având o germinație aproximativ la fel ca și semințele care au germinat pe varianta martor, observăm o scădere bruscă a indicelui de toleranță la stres pe varianta tratată cu 500 mg Cu. Acest lucru demonstrează că semințele de ardei gras nu tolerează prea bine o concentrație atât de mare de metal.



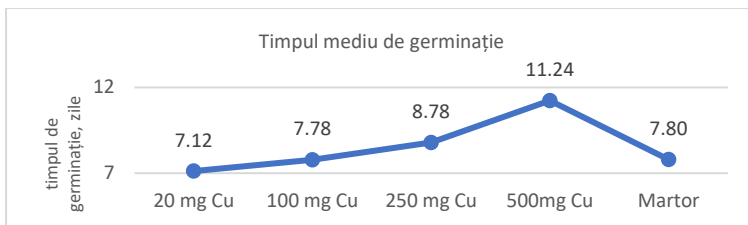
**Figura 4.7** Reprezentarea grafică cu privire la indicele de toleranță la stres a semințelor de ardei gras puse la germinat în soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

Așa cum putem observa în graficul din figura 4.8, media timpului de germinație a semințelor de ardei gras, este mai scăzut la variantele tratate cu soluții de Cu ce nu depășesc 100 mg Cu. În comparație, varianta martor și variantele tratate cu 20, respectiv 100 mg Cu au o medie a timpului de germinație a semințelor de șapte zile. Pentru semințele tratate cu 250 mg Cu este nevoie de aproximativ opt zile pentru ca acestea să germineze. Iar pentru semințele tratate cu 500 mg Cu este nevoie de aproximativ unsprezece zile pentru ca germinația să aibă loc.

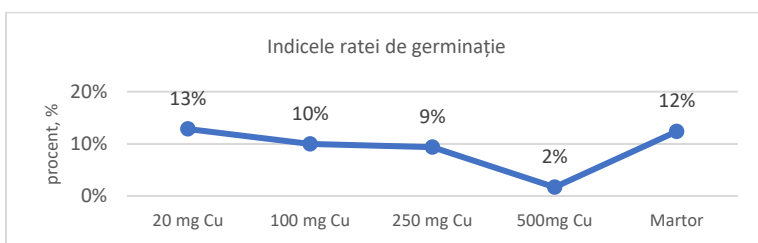
Datorită acestor rezultate putem afirma că o dată cu creșterea concentrației de Cu și timpul de germinație al semințelor de ardei gras crește.

Valorile indicelui de germinație sunt prezentate în graficul din figura 4.9. Acest indice ne arată ce procent din totalul semințelor puse la germinat au germinat în fiecare zi în care s-au făcut observații. Astfel, putem spune că semințele de ardei gras au o germinație foarte scăzută pe varianta tratată cu 500 mg Cu, de doar 2%. Iar valorile înregistrate la semințele de pe variantele tratate cu 20, 100, 250 mg Cu sunt apropiate de valoare variantei martor.



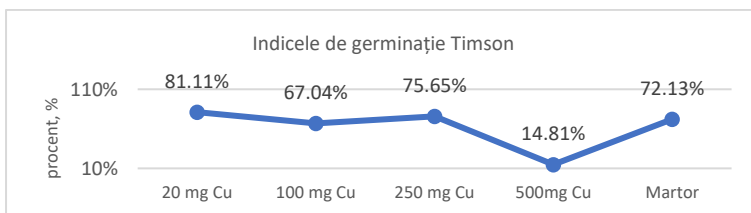


**Figura 4.8** Reprezentarea grafică cu privire la timpul mediu de germinație al semințelor de ardei gras în soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri



**Figura 4.9** Reprezentarea grafică cu privire la indicele ratei de germinație al semințele de ardei gras care au germinat în soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

În graficul din figura 4.10 este calculat indicele lui Timson la o perioadă de 12 zile de observații. Se poate vedea că semințele de ardei gras au o viteză de germinație bună deoarece procentele pe variantele tratate cu 20, 100, 250 mg Cu și varianta martor depășesc 67 % în comparație cu varianta tratată cu 500 mg Cu, unde semințele au o viteză de germinație măsurată prin indicele Timson de doar 14,81%.



**Figura 4.10** Reprezentarea grafică cu privire la efectul Cu măsurat prin indicele Timson la semințele de ardei gras care au germinat pe soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

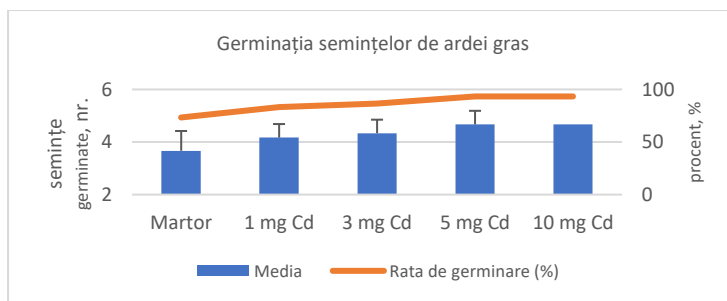
#### 4.1.1.3. Influența Cd + Cu

Pentru a se observa efectul sinergic dintre cele doua metale studiate, a fost testată o variantă în care s-a folosit concentrația maximă de Cu (500 mg) în combinație cu maximul concentrației de Cd (10 mg). În urma acestui experiment realizat în vase Petri pe hârtie de filtru s-a constatat că semințele de ardei gras nu au germinat.

#### 4.1.2. Influența metalelor grele asupra germinației semințelor de ardei gras pe substrat de sol

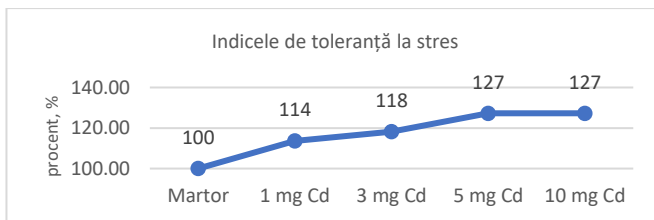
##### 4.1.2.1. Influența Cd

Germinația semințelor de ardei gras și rata de germinație a semințelor pe substratul de sol este descrisă în graficul din figura 4.11. Se observă că varianta martor are cea mai mică rată de germinație în comparație cu semințele care au germinat pe variantele tratate cu diferite concentrații de Cd. Varianta tratată cu 10 mg Cd și varianta tratată cu 5 mg Cd înregistrează o germinație a semințelor de ardei gras aproximativ egală. Însă, toate variantele analizate au avut o rată de germinație și o medie a semințelor germinate mai mare decât a variantei martor. Se observă și o creștere, atât a numărului de semințe germinate dar și a procentului de germinație o dată cu creșterea concentrației de Cd.



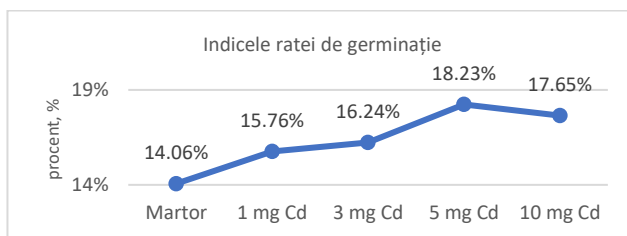
**Figura 4.11** Reprezentarea grafică privind media numărului de semințe germinate și rata de germinație a ardeiului gras pe substrat de sol tratat cu diferite concentrații de Cd

În graficul din figura 4.12 putem observa că semințele de ardei gras au o toleranță mare la stresul Cd-ului, toleranța cea mai mare fiind înregistrată la variantele tratate cu 5 respectiv 10 mg Cd. Procentul de toleranță crește o dată cu concentrațiile de Cd.



**Figura 4.12** Reprezentarea grafică privind indicele de toleranță la stresul Cd pentru semințele de ardei gras germinate pe substrat de sol tratat cu diferite concentrații de Cd

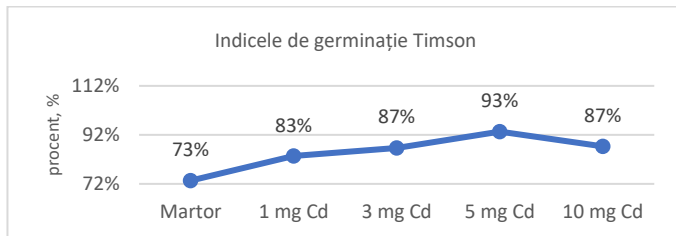
Indicele ratei de germinare prezintă procentul de semințe germinate în fiecare zi de observație. Prin urmare, în graficul din figura 4.13 observăm că cea mai mică valoare a ratei de germinare este la varianta martor și crește o dată cu concentrația din substratul de sol al Cd până la varianta tratată cu 5 mg Cd. Varianta tratată cu 5 mg Cd are cea mai mare valoare înregistrată, urmată de valoarea variantei tratate cu 10 mg Cd care scade cu aproximativ un procent.



**Figura 4.13** Reprezentarea grafică privind indicele ratei de germinare a semințelor de ardei gras pe substratul de sol tratat cu diferite concentrații de Cd

Indicele de germinare Timson reprezentat în graficul din figura 4.14, ne arată că semințele germinate pe varianta cu 5 mg Cd au cel mai mare procent. Astfel, dintre

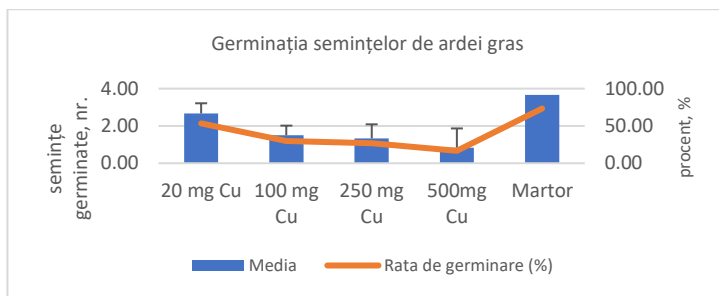
toate variantele experimentate, semințele de pe această variantă au o viteză de germinație mare în comparație cu celelalte variante tratate dar și cu varianta martor.



**Figura 4.14** Reprezentarea grafică a indicele de germinație Timson a semințelor de ardei gras soiul Dariana Bac pe substratul de sol tratat cu diferite concentrații de Cd

#### 4.1.2.2. Influența Cu

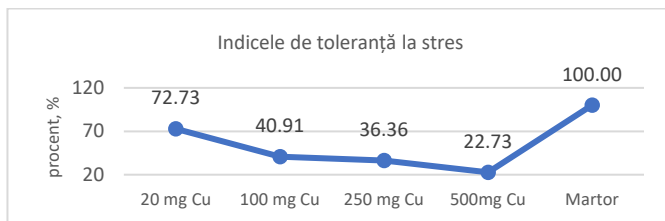
Cât privește rata de germinație și media semințelor de ardei gras germinate sub influența Cu pe substrat de sol, observăm în figura 4.15 că valorile scad o dată cu creșterea concentrației de Cu în comparație cu valoarea martorului. Cea mai mică valoare este înregistrată pe varianta tratată cu 500 mg Cu și crește o dată cu scăderea concentrației de Cu.



**Figura 4.15** Reprezentarea grafică a mediei semințelor de ardei gras și rata de germinație pe substratul de sol tratat cu diferite concentrații de Cu

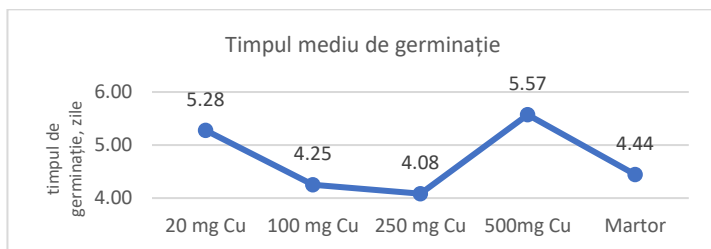
Semințele de ardei gras au o toleranță negativă la stresul Cu pe toate variantele testate și acest lucru îl observăm în graficul figurii 4.16. Cea mai mică valoare este

înregistrată la varianta tratată cu 500 mg Cu, urmată de variantele tratate cu 250, 100 și 20 mg Cu. Prin urmare soiul are o toleranță scăzută la stresul Cu.



**Figura 4.16** Reprezentarea grafică a indicelui de toleranță la stresul Cu a semințelor de ardei gras germinate pe substrat de sol

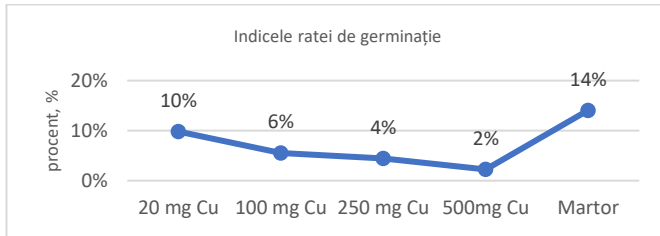
În graficul din figura 4.17 putem observa că semințele de ardei gras de pe solul tratat cu 250 mg Cu au cel mai mic timp de germinație, de doar patru zile, urmate fiind de semințele care au germinat pe solul tratat cu 100 mg Cu și de semințele de pe varianta martor. Ceea ce înseamnă că aceste semințe au avut cea mai rapidă germinație. Pe varianta tratată cu 500 mg Cu, semințele, au nevoie de aproximativ cinci zile pentru a germina, la fel și pe varianta tratată cu 20 mg Cu.



**Figura 4.17** Reprezentarea grafică a timpului mediu de germinație al semințelor de ardei gras înregistrat pe substratul de sol tratat cu diferite concentrații de Cu

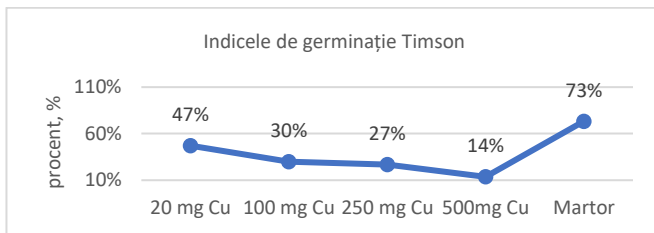
Se poate observa, din figura 4.18, că cel mai mare procent al semințelor care au germinat în fiecare zi de observație este înregistrat la varianta martor. Procentele înregistrate pe variantele tratate cu soluție de Cu nu depășesc 10%, acest procent este

înregistrat pe varianta tratată cu 20 mg Cu. Cel mai mic procent este înregistrat pe varianta tratată cu 500 mg Cu.



**Figura 4.18** Reprezentarea grafică a indicelui ratei de germinație a semințelor de ardei gras pe substratul de sol tratat cu diferite concentrații de Cu

Indicele de germinație Timson, reprezentat în graficul din figura 4.19, pentru variantele tratate cu diferite concentrații de Cu este foarte scăzută, nu depășește 50% pe nici una din variantele tratate în comparație cu varianta martor care obține un procent de 73%. Cel mai mic procent este înregistrat la varianta tratată cu 500 mg Cu.

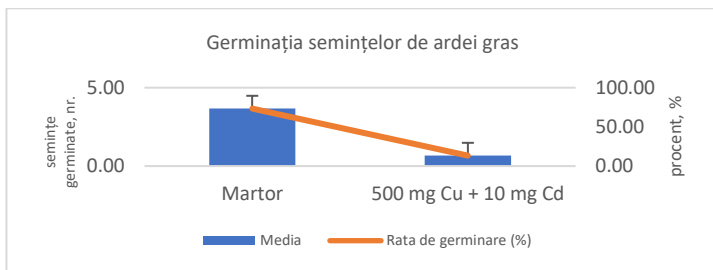


**Figura 4.19** Reprezentarea grafică a indicelui de germinație Timson la semințele de ardei gras germinate pe substratul de sol tratat cu diferite concentrații de Cu

#### 4.1.2.3. Influența Cu+Cd

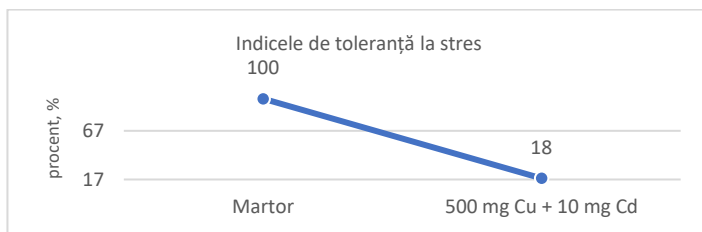
Semințele puse la germinat pe substrat de sol tratat cu varianta maximă de Cu (500 mg) și Cd (10 mg) au germinat, însă germinația semințelor de ardei gras a fost scăzută în comparație cu valorile înregistrate pe varianta martor.

Astfel, rata de germinație și media semințelor germinate a semințelor de ardei gras a fost foarte mică în comparație cu varianta de control. Se observă în graficul din figura 4.20 că nu a depășit 13,33 %.



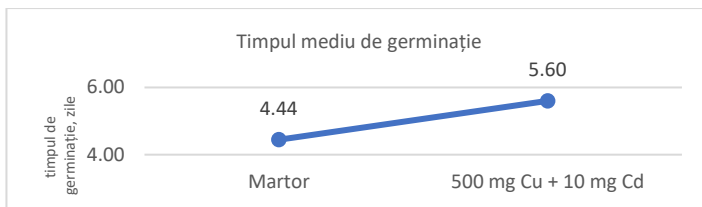
**Figura 4.20** Reprezentarea grafică a ratei de germinație a semințelor de ardei gras pe varianta cu sol tratat cu 500 mg Cu + 10 mg Cd

De asemenea indicii de toleranță la stres (figura 4.21) sunt de 18,18%, ceea ce demonstrează că tratamentul are un efect negativ pentru semințele de ardei gras. În plus această concluzie este susținută și de faptul că semințele puse la germinat pe aceeași variantă dar pe hârtie de filtru nu au germinat.



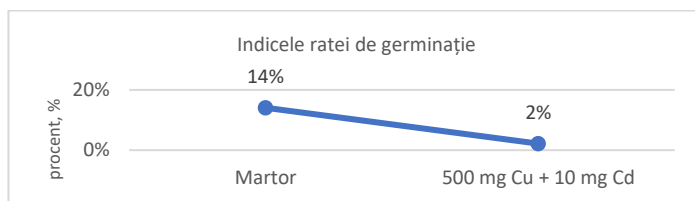
**Figura 4.21** Reprezentarea grafică a indicelui de toleranță la stres al semințelor de ardei gras pe varianta cu sol tratat cu 500 mg Cu + 10 mg Cd

Timpul mediu de germinație, măsurat în zile și prezentat în graficul din figura 4.22, pentru semințele de ardei gras ne arată că semințele de pe solul tratat cu 500 mg Cu + 10 mg Cd au nevoie de aproximativ cinci zile pentru a germina în comparație cu semințele de pe variantă martor care au germinat în patru zile.



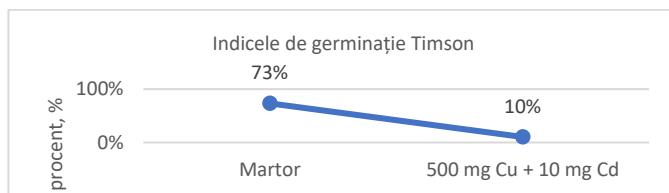
**Figura 4.22** Reprezentarea grafică a timpului mediu de germinație al semințelor de ardei gras germinate pe varianta cu sol tratat cu 500 mg Cu + 10 mg Cd

Indicele ratei de germinație reprezentat în graficul din figura 4.23 este mai mare la proba martor, astfel, mai multe semințe de ardei gras au germinat în fiecare zi de observație în comparație cu varianta tratată.



**Figura 4.23** Reprezentare grafică a indicelui de germinație al semințelor de ardei gras germinate pe varianta cu sol tratat cu 500 mg Cu + 10 mg Cd

De asemenea indicele de germinație Timson, reprezentat în graficul din figura 4.24, este mult mai mare la varianta martor în comparație cu varianta tratată, ceea ce înseamnă că semințele de ardei gras au o viteză mare de germinație fiind primele semințe care au germinat.



**Figura 4.24** Reprezentare grafică a indicelui de germinație Timson la semințele de ardei gras germinate pe varianta cu sol tratat cu 500 mg Cu + 10 mg Cd

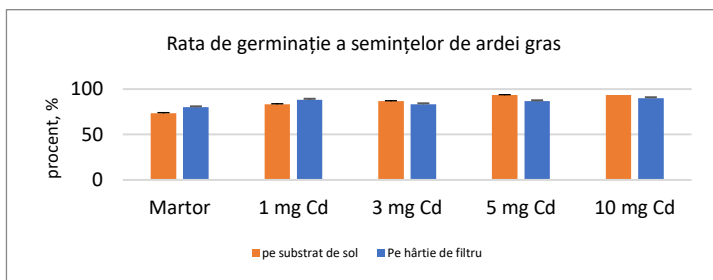


#### 4.1.3. Comparație între germinația semințelor de ardei gras pe substratul de sol și hârtie de filtru

S-au realizat comparații între semințele germinate pe substratul de sol și semințele germinate pe hârtie de filtru după cum urmează:

##### 4.1.3.1. Influența Cd

Pentru a compara rata de germinație a semințelor de ardei gras de pe substrat de sol și hârtie de filtru se observă, în graficul din figura 4.25, că diferențele sunt relativ mici la toate variantele tratate cu soluție de Cd. În principiu însă, variantele tratate cu 3, 5 și 10 mg Cd au un procent mai ridicat al semințelor germinate pe substrat de sol în comparație cu semințele germinate la aceleași concentrații pe hârtie de filtru.

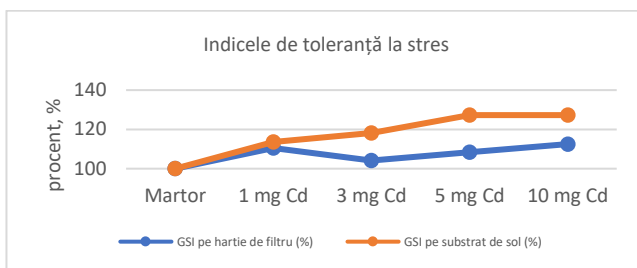


**Figura 4.25** Reprezentarea grafică privind comparația ratei de germinație a semințelor de ardei gras germinate pe substrat de sol și pe hârtie de filtru tratate cu diferite concentrații de Cd

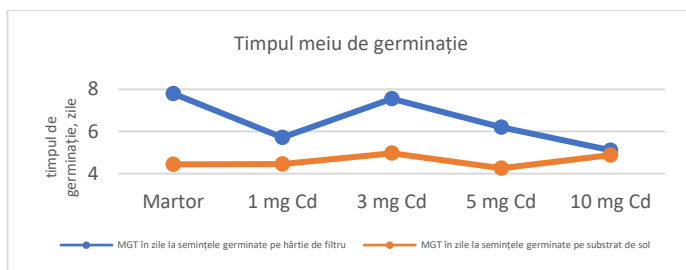
Indicele de toleranță la stresul Cd este mai mare la semințelor de ardei gras germinate pe substratul de sol în comparație cu semințele germinate pe hârtia de filtru și acest lucru se poate observa în graficul din figura 4.26. Acest lucru se poate datora contactului semințelor cu substanța de testare. Totuși semințele care au cea mai mare toleranță la stresul Cd rămân cele de pe varianta tratată cu 10 mg Cd.

Graficul din figura 4.27, reprezentând timpul mediu de germinație al semințelor de ardei gras și arată faptul că semințele care au germinat pe hârtia de filtru au avut nevoie de mai multe zile pentru a germina în comparație cu semințele de pe

substratul de sol, la toate variantele testate. Semințele de pe varianta martor au cea mai mare variație deoarece semințele puse pe sol au nevoie în medie de doar patru zile pentru a germina pe când cele de pe hârtia de filtru au nevoie în medie de șapte zile pentru a germina. Cea mai mică variație este înregistrată la varianta tratată cu 10 mg Cd. Pe această variantă semințele au germinat în aproximativ cinci zile atât pe sol cât și pe hârtia de filtru.



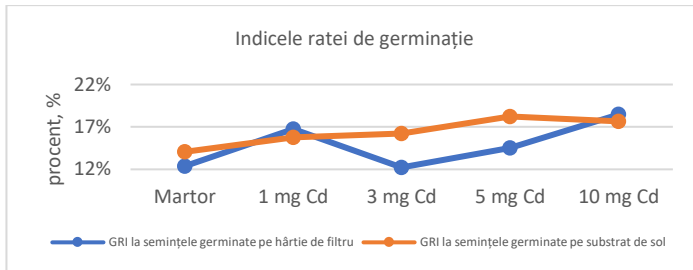
**Figura 4.26** Reprezentarea grafică a indicelui de toleranță la stresul Cd al semințelor de ardei gras germinate pe substrat de sol și hârtie de filtru



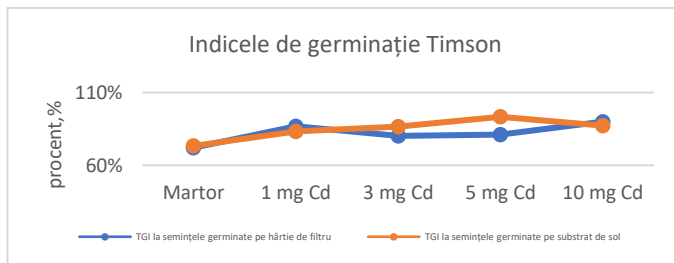
**Figura 4.27** Reprezentarea grafică a timpului mediu de germinație a semințelor de ardei gras germinate în soluții de Cd, de diferite concentrații, pe substrat de sol și hârtie de filtru

Se observă în graficul din figura 4.28 un procent mai mare al semințelor germinate pe substratul de sol în comparație cu semințele germinate pe hârtie de filtru. La variantele tratate cu 1 și 10 mg Cd procentul ratei de germinație este mai mare la semințele de pe hârtia de filtru în comparație cu semințele de pe substratul de sol.

Procentele indicelui de germinație Timson, din graficul reprezentat în figura 4.29, arată că viteza de germinație a semințelor de ardei gras nu diferă foarte mult la variantele martor și nici la cele tratate cu 1 și 10 mg Cd. Astfel semințele care au germinat pe substratul de sol și semințele de pe hârtia de filtru nu au diferențe mari în ceea ce privește timpul de germinație. Totuși diferențe mai mari apar la variantele tratate cu 3 și 5 mg Cd aici se observă că timpul de germinație reprezentat de indicele Timson este mai mare la semințele germinate pe substratul de sol. Ceea ce înseamnă că semințele de pe substratul de sol au germinat mai repede decât semințele de pe hârtia de filtru.



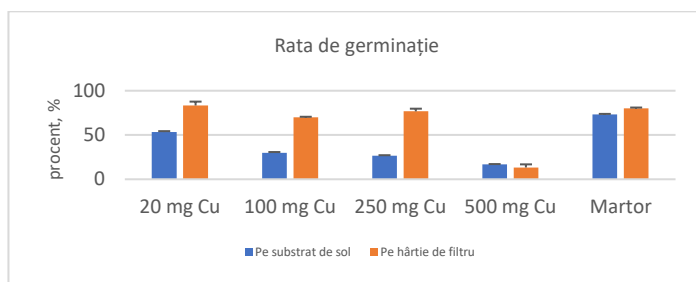
**Figura 4.28** Reprezentarea grafică a indicelui ratei de germinație a semințelor de ardei gras germinate în soluții de Cd în diferite concentrații pe substrat de sol și hârtie de filtru



**Figura 4.29** Reprezentarea grafică privind comparația indicelui de germinație Timson la semințele de ardei gras germinate în soluții de Cd în diferite concentrații pe substrat de sol și hârtie de filtru

#### 4.1.3.2. Influența Cu

Se observă o diferență mai mare privind rata de germinație a semințelor de ardei gras la variantele tratate cu soluție de Cu. Observăm în graficul din figura 4.30 că semințele au germinație mai mare pe hârtie de filtru decât semințele care au germinat pe substratul de sol. Varianta martor și varianta tratată cu 500 mg Cu au obținut un procent al ratei de germinație aproximativ egal, atât pe hârtie de filtru cât și pe substratul de sol.



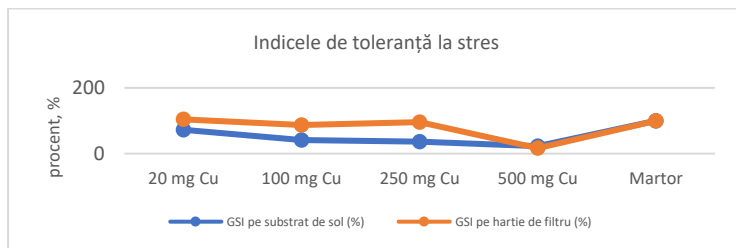
**Figura 4.30** Reprezentarea grafică a comparației ratei de germinație la semințele de ardei gras germinate în soluții de Cu în diferite concentrații pe substrat de sol și pe hârtie de filtru

Indicele de toleranță la stres este comparat în graficul din figura 4.31. Se observă un procent mai mare la semințele germinate pe hârtie de filtru decât la semințele germinate pe solul tratat cu soluție de Cu. Cât privește indicele de toleranță la stres pe varianta tratată cu 500 mg Cu și varianta martor nu se observă diferențe privind procentul de semințe germinate indiferent dacă au fost puse la germinat pe hârtie de filtru sau pe solul tratat.

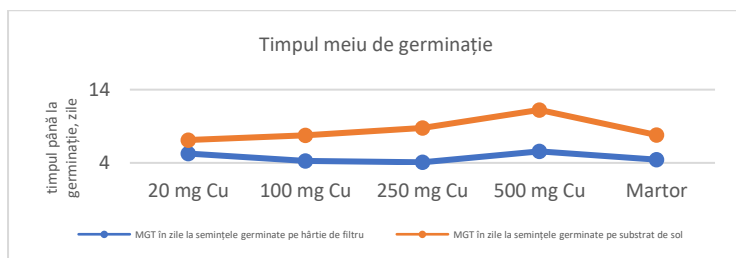
Media timpului de germinație, reprezentat grafic în figura 4.32, arată un timp de germinație al semințelor de ardei gras mai mic la semințele care au germinat pe hârtie de filtru în comparație cu semințele care au germinat pe substratul de sol.

Rata de germinație pe zi arată procentul de semințe care germinează în fiecare zi. Graficul din figura 4.33 prezintă indicele ratei de germinație al semințelor germinate pe substratul de sol ca fiind mai mare ca al semințelor germinate pe hârtie de filtru.

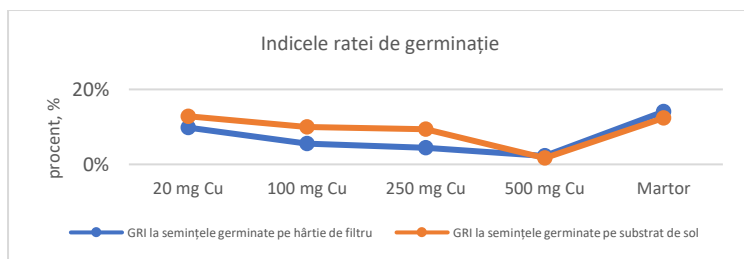
Ceea ce demonstrează că un număr mai mare de semințe au germinat pe substratul de sol în fiecare zi comparativ semințele de ardei gras germinate pe hârtia de filtru.



**Figura 4.31** Reprezentarea grafică a comparației privind indicele de toleranță la stres a semințelor de ardei gras germinate în soluții de Cu în diferite concentrații pe substrat de sol și pe hârtie de filtru

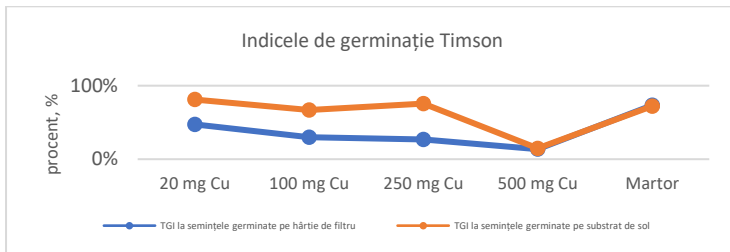


**Figura 4.32** Reprezentarea grafică a comparației timpului mediu de germinație al semințelor de ardei gras germinate în soluții de Cu în diferite concentrații pe substrat de sol și pe hârtie de filtru



**Figura 4.33** Reprezentarea grafică a comparației indicelui ratei de germinație la semințele de ardei gras germinate în soluții de Cu în diferite concentrații pe substrat de sol și pe hârtie de filtru

Viteza de germinație măsurată prin indicele Timson, arată o viteză mai mare a semințelor germinate pe substratul de sol în comparație cu semințele de pe hârtia de filtru și acest aspect este prezentat în graficul din figura 4.34.



**Figura 4.34** Reprezentarea grafică a comparației indicelui de germinație Timson la semințele de ardei gras germinate în soluții de Cu în diferite concentrații pe substrat de sol și pe hârtie de filtru

## 4.2. Aspecte citogenetice privind influența metalelor grele (Cu și Cd) asupra indicelui mitotic și aberațiilor cromozomiale la ardeii gras

După ce a fost calculată rata de germinație și s-au realizat observațiile necesare la semințele care au germinat pe hârtia de filtru, acestea au fost lăsate să se dezvolte până rădăcina plantulelor a ajuns la o lungime de lungime de aproximativ 1,5 cm pentru a putea fi analizate din punct de vedere citogenetic. Rădăcinile semințelor tratate cu 100, 250, 500 mg Cu s-au oprit din creștere după ce au ajuns la o lungime de circa 4 mm și au căpătat un aspect lax. Acestea s-au colectat, au fost fixate și colorate, însă rădăcinile nu prezintă vârful de creștere iar celulele văzute la microscop sunt moarte.

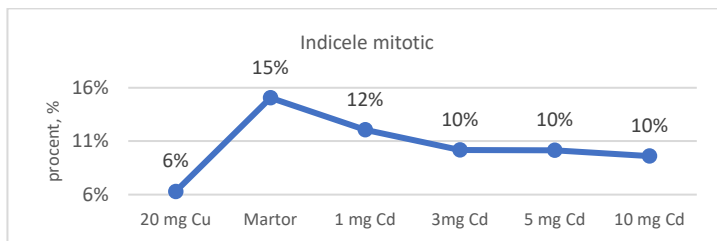
### 4.2.1. Influența metalelor grele studiate asupra fazelor de diviziune

Pentru calculul indicelui mitotic (IM) au fost analizate 30 câmpuri microscopice și aproximativ 5.000 pentru fiecare variantă testată. Rezultatele obținute au fost centralizate în tabelul 4.1. Se observă că toate variantele au celule în diviziune activă, iar varianta cu cel mai mare număr de celule aflate în diviziune se găsește la varianta martor urmată de varianta tratată cu 1 mg Cd.

**Tabel 4.1** Numărul total de celule analizate și numărul de celule în diviziune pentru fiecare variantă testată

Nr. Crt	Variante experimentale	Nr. total celule	Nr. total de celule în diviziune
1	20 mg Cu	5038	317
2	Martor	5014	755
3	1 mg Cd	5003	603
4	3mg Cd	5010	510
5	5 mg Cd	4845	492
6	10 mg Cd	5187	498

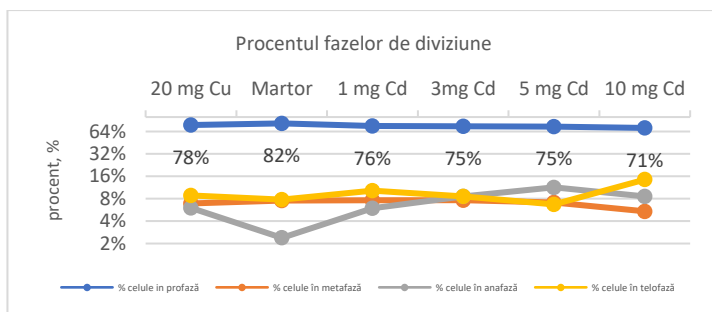
În privința indicelui mitotic, reprezentat în graficul din figura 4.35, se constată că ardeul gras înregistrează cea mai mare valoare la varianta martor (15%). Cea mai mică valoare este înregistrată la varianta tratată cu 20 mg Cu (6%). Pe variantele tratate cu Cd cea mai mare valoare a IM este înregistrată la 1 mg Cd (12%), restul tratamentelor testate având valoarea IM de 10%. Valorile IM obținute la soiul de ardeul gras studiat, indică faptul că o concentrație mică de Cd (1 mg) stimulează procesele de diviziune celulară mai mult ca în cazul celorlalte concentrații studiate (3, 5, 10 mg Cd). Totuși varianta martor înregistrează cel mai mare procent al IM (15%).



**Figura 4.35** Reprezentarea grafică a indicelui mitotic la ardeul gras exprimat în procente pentru fiecare variantă experimentală

Procentul fazelor de diviziune mitotică este înregistrat în graficul din figura 4.36. Se observă un procent al celulelor în profază, la toate variantele analizate, foarte

mare. Varianta martor înregistrează cel mai mare procent al celulelor în profază (82%) urmată de varianta tratată cu 20 mg Cu (78%). Cel mai mic procent al celulelor în profază pe variantele testate cu soluție de Cd este înregistrat la 10 mg Cd (71%) și cel mai mare a fost înregistrat la 1 mg Cd (76%).



**Figura 4.36** Reprezentarea grafică a procentelor fazelor de diviziune la ardeii gras

### 4.3. Influența metalelor grele asupra indicilor de calitate

După germinația semințelor puse în ghivecele cu turbă, udarea cu soluțiile de testare s-a realizat zilnic la nivelul solului iar după răsărire plantele au fost udate la doua zile și doar dacă a fost nevoie udarea s-a realizat mai des. După germinația și răsărirea tuturor semințelor de ardei gras (11 zile) s-au realizat observații cu privire la fitotoxicitatea vizuală și mortalitatea plantelor. Astfel s-a constatat că după 14 zile unele plante au început să se usuce și au murit în scurt timp în proporție de 100% pe varianta tratată cu 500 mg Cu ( $V_4$ ) (figura 4.37) dar și la varianta tratată cu 500 mg Cu + 10 mg Cd ( $V_{10}$ ) (figura 4.38). Plantele de pe varianta tratată cu 250 mg Cu ( $V_3$ ) (figura 4.39) au încetat din creștere și au început să se ofilească și să se usuce, iar la aproximativ 24 de zile au murit în proporție de 100%. Plantele de pe varianta tratată cu 100 mg Cu ( $V_2$ ) (figura 4.40) au avut o creștere foarte lentă în comparație cu plantele de pe variantele tratate cu Cd și varianta martor. Pe frunze, au apărut puncte de necroză și plantele au murit înainte de a se putea realiza măsurătorile biometrice.





**Figura 4.37** Aspectul plantelor de ardei gras răsărite pe solul tratat cu 500 mg Cu după 14 zile de la începerea experimentului



**Figura 4.38** Aspectul plantelor de ardei gras răsărite pe solul tratat cu 500 mg Cu + 10 mg Cd după 14 zile de la începerea experimentului



**Figura 4.39** Aspectul plantelor de ardei gras răsărite pe solul tratat cu 250 mg Cu la aproximativ 24 de zile de la răsărire

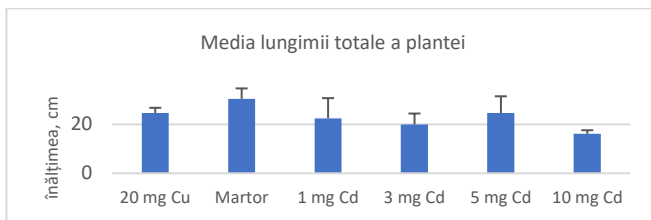


**Figura 4.40** Aspectul plantelor de ardei gras răsărite pe solul tratat cu 100 mg Cu la aproximativ 24 de zile de la răsărire

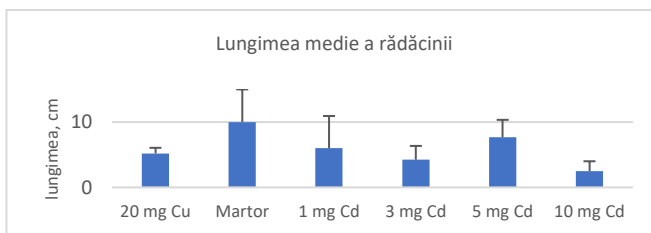
Se poate observa în figurile 4.41 și 4.42 că lungimea totală a plantei pare a fi influențată de tratamentele cu metale grele. Cea mai mare medie a lungimii răsadurilor este înregistrată la varianta martor care măsoară aproximativ 30 cm, urmată de varianta tratată cu 20 mg Cu și 5 mg Cd cu aproximativ 25 cm lungime. Cea mai mică valoare înregistrată, de doar 16 cm, a fost notată la varianta tratată cu 10 mg Cd. În urma observațiilor realizate și a analizei putem afirma că concentrațiile de metale grele studiate (Cu și Cd) influențează mărimea răsadului de ardei gras.

Lungimea medie a rădăcinii este și ea influențată de tratamentele cu metale grele. Se observă în figura 4.82 că varianta martor are cea mai mare medie a lungimii rădăcinii, aceasta măsoară aproximativ 10 cm în lungime. Toate variantele tratate cu metale grele au o lungime a rădăcinii mai mică decât a martorului. Se observă la plantele ce au crescut pe substrat de sol tratat cu diferite concentrații de Cd că cea mai mică medie a lungimii rădăcinii este înregistrată la varianta cu 10 mg Cd, lungimea

este de 2,5 cm, fiind de altfel și cea mai mică valoare înregistrată la toate variantele studiate. Iar cea mai mare valoare a fost înregistrată la varianta tratată cu 5 mg Cd și a măsurat 7,67 cm.

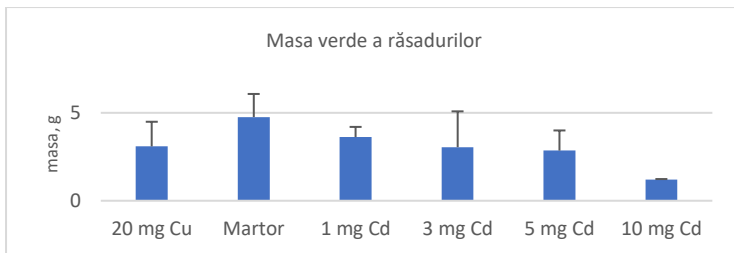


**Figura 4.41** Reprezentarea grafică a lungimii totale a răsadului de ardei gras



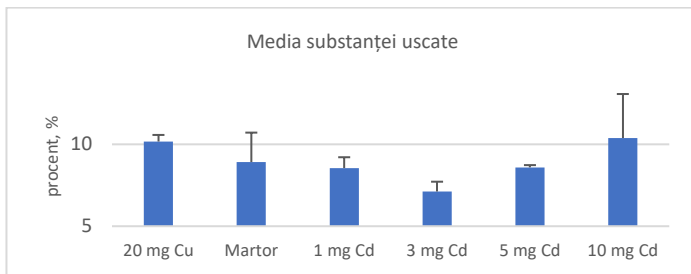
**Figura 4.42** Reprezentarea grafică a lungimii rădăcinii la răsadului de ardei gras

Determinarea substanței uscate a fost realizată cu ajutorul termobalanței electronice Kern. Se poate observa din figura 4.43 că cea mai mică medie a masei răsadurilor a fost înregistrată pe varianta tratată cu 10 mg Cd (1,20 g). Cea mai mare masă verde a fost înregistrată la varianta martor (4,76 g) urmată de varianta tratată cu 1 mg Cd (3,62 g). Varianta tratată cu 20 mg Cu are o greutate umedă de doar 3,9 g. Masa verde a răsadului nu prezintă o uniformitate, ea scade o dată cu creșterea concentrației la variantele tratate cu soluția de Cd.



**Figura 4.43** Masa verde a răsadului de ardei gras

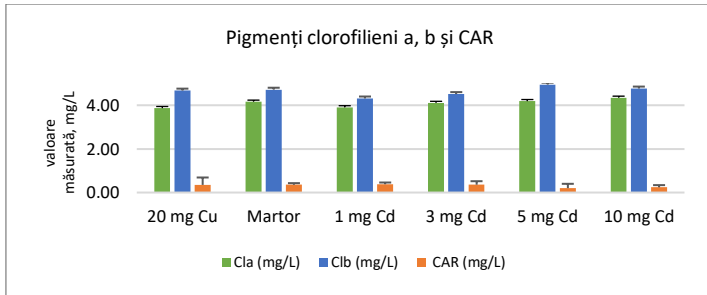
Răsadurile de ardei gras conțin substanță uscată în procente diferite. Observăm în figura 4.44 că răsadurile dezvoltate pe varianta cu 3 mg Cd înregistrează cea mai mică valoare (7,12%). Cel mai mare procent de substanță uscată este înregistrat la varianta cu 10 mg Cd (10,38%). Varianta tratată cu 20 mg Cu are o medie a substanței uscate mai mare (10,17%) decât a martorului (8,92%).



**Figura 4.44** Conținutul în substanță uscată a răsadurilor de ardei gras

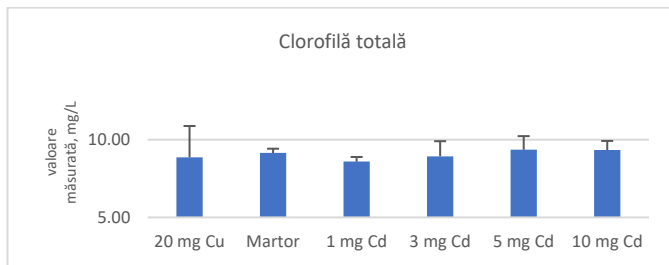
#### 4.4. Analiza pigmentilor clorofilieni din masa verde a răsadului

Nu putem spune că metalele grele studiate influențează creșterea cantității de pigmenti asimilatori și acest aspect îl putem observa în figura 4.45, cantitatea de *C<sub>1b</sub>* prezintă valori mai mari decât *C<sub>1a</sub>* a la toate concentrațiile studiate, inclusiv la varianta martor. Iar pigmentii carotenoizi se găsesc în concentrații reduse în frunzele răsadurilor de ardei gras.



**Figura 4.45** Cantitatea de pigmenți clorofilieni înregistrată în masa verde a răsadului de ardei gras

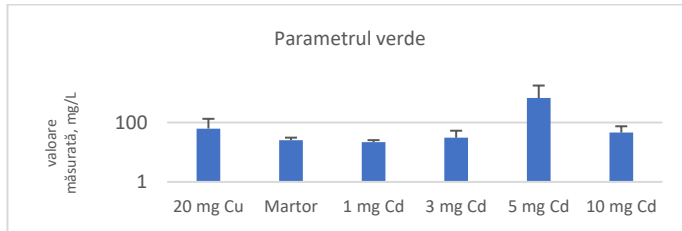
Concentrația totală a pigmenților asimilatori este prezentată în figura 4.46. Se constată la plantele de pe varianta tratată cu 1 mg Cd că valoarea măsurată este de 8,22 mg/L și reprezintă cea mai mică valoare, iar cea mai mare valoare măsurată, de 9,14 mg/L este înregistrată la plantele tratate cu 5 mg Cd. Plantele de pe varianta martor au înregistrat o concentrație totală de 8,88 mg/L. Iar răsadurile de pe varianta tratată cu 20 mg Cu au o valoare a clorofilei totale de 8,54 mg/L însă eroarea standard este destul de mare, ceea ce arată că au existat variații destul de mari privind conținutul de pigmenți clorofilieni din plantele ce s-au dezvoltat pe această variantă.



**Figura 4.46** Concentrația totală de pigmenți clorofilieni la răsadurile de ardei gras

Parametrul verde din plantă (figura 4.47) poate fi considerat un indicator al răspunsului plantei la stresul indus de acțiunea unui factor de mediu, în cazul acesta concentrațiile metalelor studiate. Valoarea cea mai mare este înregistrată la varianta

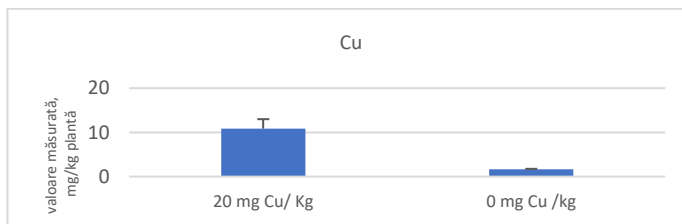
tratăată cu 5 mg Cd, această valoare este mai mare decât toate celelalte variante analizate, chiar mai mare și decât valoarea înregistrată la varianta martor.



**Figura 4.47** Parametrul verde al răsadurilor de ardei gras

#### 4.5. Analiza metalelor grele din plantă

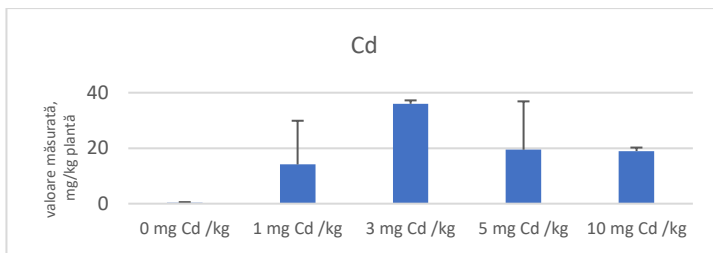
Se observă în figura 4.48 o cantitate mare de Cu absorbită de răsadurile de ardei gras. Peste 10 mg Cu pe kg plantă la varianta tratată cu 20 mg Cu în comparație cu varianta martor unde a fost înregistrată o cantitate de Cu de aproximativ 2 mg Cu pe kg plantă. Mecanismele de hiperacumulare și efectele toxice ale Cu în răsadurile de ardei gras nu sunt pe deplin înțelese, de aceea este nevoie de studii de laborator amănunțite cu privire la aceste aspecte.



**Figura 4.48** Reprezentarea grafică a Cu absorbit de răsadurile de ardei gras

Pentru Cd, rezultatele (figura 4.49) au arătat că aplicarea acestui metal greu în cantități diferite în sol a crescut de asemenea și cantitatea de Cd absorbită de răsadul de ardei gras, însă cantitatea de metal din plantă nu este direct proporțională cu cantitatea de metal din sol. Astfel plantele tratate cu 3 mg Cd au acumulat cea mai mare

cantitate de metal depășind 35 mg Cd pe kg plante. Cât privește cantitatea de Cd absorbită de răsadurile crescute pe solul contaminat cu 1 mg Cd și 5 mg Cd valoarea pe kg plante este mare însă și eroarea standard este destul de mare ceea ce ne arată că plantele au absorbit cantități diferite de Cd.



**Figura 4.49** Reprezentarea grafică a Cd absorbit de răsadurile de ardei gras

#### **4.6. Concluzii cu privire la comportamentul speciei *Capsicum annum* L. la tratamentele cu metale grele**

Contaminarea solului cu tratamentele pe bază de Cu și Cd duc la efecte de poluare ale solului dar și la efecte nedorite legate de germinația și creșterea răsadurilor de ardei gras așa cum au fost prezentate și verificate de experimentele realizate.

Pentru evidențierea efectelor metalelor grele (Cu și Cd) asupra semințelor de ardei gras puse la germinat, putem preciza că fiecare din concentrațiile testate au influențat atât pozitiv cât și negativ germinația și creșterea răsadului de ardei.

Valorile de referință, conform ORDINULUI nr. 756 din 3 noiembrie 1997 (\*actualizat\*) pentru Cd, au o influență pozitivă asupra semințelor de ardei gras germinate pe hârtie de filtru, cât și pe substratul de sol. Se constată că poluarea solului cu Cd, până la 10 mg Cd (valoarea maximă pentru pragului de alertă), poate stimula germinația semințelor de ardei gras. În comparație cu semințele care au germinat pe concentrațiile de Cu, cu valorile extrase din același ordin, se constată că o valoare mai mare sau egală cu 100 mg Cu în sol inhibă gemația semințelor de ardeiul gras.

Efectele citogenetice analizate pentru fiecare concentrație de metal în parte arată că tratamentele realizate, produc mortalitatea celulelor meristemice și a semințelor germinate, la o concentrație mai mare de 100 mg Cu. În cazul Cd există

celule în diviziune activă în toate probele analizate. Totuși tratamentele pe bază de Cu și Cd au evidențiat apariția unor aberații cromozomiale în celulele din apexul radicular la ardeul gras. Metafazele aberante au fost întâlnite la toate variantele analizate, iar cele mai multe anafaze aberante sunt cele cu punți. Un procent relativ mic al telofazelor aberante a fost înregistrat la varianta tratată cu 20 mg Cu, procentul cel mai mare îl au telofazele cu punți, aspect care nu este întâlnit și la variantele tratate cu Cd. Varianta martor, a înregistrat și ea aberații cromozomiale, însă mult mai puține ca la variantele tratate.

În urma rezultatelor analizelor cu privire la indicii de calitate, se observă că la tratamentele solului cu soluție de Cu, la o concentrație mai mare sau egală cu 100 mg, apare mortalitatea plantelor tinere de ardei.

Există diferențe cu privire la lungimea totală a răsadului de ardei. Astfel, contaminarea solului cu Cd poate influența creșterea plantei, acestea fiind mai mici în comparație cu răsadul crescut pe substratul de sol care nu a fost tratat (varianta martor). De asemenea s-a constatat că lungimea plantei influențează foarte puțin numărul de frunze pe plantă, diferență fiind doar la varianta tratată cu 10 mg Cd. Valorile obținute pentru determinarea substanței uscate au arătat că rásadurile dezvoltate pe substratul de sol tratat cu 10 mg Cd înregistrează cea mai mică masă verde dar cel mai mare procent al substanței uscate.

Tratamentele cu metale grele nu au influențat creșterea de pigmenți asimilatori în frunzele răsadului de ardei, iar clorofila totală nu prezintă variații mari la nici una din variantele analizate. Deși se poate remarca o ușoară creșterea a cantității de *Chl*, acest lucru nu este datorat tratamentelor cu soluție de Cu și Cd deoarece și varianta martor prezintă o ușoară creștere.

Factorii de acumulare a metalelor Cu și Cd în rásadurile de ardei gras, arată că plantele de ardei pot acumula cantități mari de metale din solul contaminat. Rezultatele au arătat că aplicarea acestor metale grele în cantități diferite în sol a crescut, de asemenea, și cantitatea de metal absorbit de rásadul de ardei gras, însă cantitatea de metal din plantă, nu este direct proporțională cu cantitatea de metal din sol.

## CAPITOLUL V

### 5. INFLUENȚA METALELOR GRELE (CD ȘI CU) ASUPRA PLANTELOR DE VARZĂ (*BRASSICA OLERACEA L.*)

#### 5.1. Influența metalelor grele asupra capacității germinative la semințele de varză pe hârtie de filtru

##### 5.1.1. Influența metalelor grele asupra ratei de germinație a semințelor pe hârtie de filtru la varză

Ca și în cazul ardeiului gras și investigațiile realizate la varză (*Brassica oleracea L.*) au avut drept scop identificarea și evaluarea impactului pentru urmele de elemente chimice din solurile **normale, sensibile și mai puțin sensibile** pentru Cd și Cu.

S-a evaluat impactul ecotoxicologic al metalelor grele asupra procesului de germinație, creștere și dezvoltare la specia de varză *Brassica oleracea L.*. Pentru a sublinia impactul acestor metalelor grele s-au folosit aceleași concentrații și număr de variante ca în cazul experimentelor realizate la ardeiul gras. Pentru prima parte a experimentelor, semințele de varză au fost puse în contact cu soluțiile de testare în vase Petri pe hârtie de filtru.

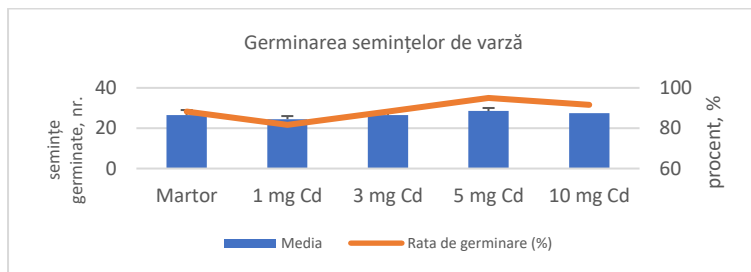
##### 5.1.1.1. Influența Cd

Din analiza variantelor experimentale cu privire la media semințelor germinate și a ratei de germinație, prezente în figura 5.1, se observă că toxicitatea Cd nu a avut un efect pozitiv cu privire la media semințelor de varză germinate. Se observă însă un procent al ratei de germinație mult mai scăzut la varianta tratată cu 1 mg Cd (81,67%) față de varianta martor (88,33%). Cea mai mare rată de germinație este înregistrată la varianta tratată cu 5 mg Cd (95%).

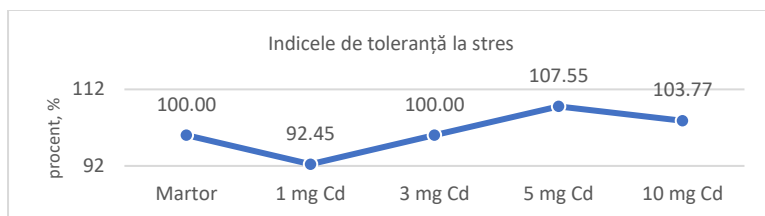
Semințele de varză au un indice de toleranță la stres ce a fost reprezentat grafic în figura 5.2. Astfel, stresul indus de concentrațiile de metale studiate variază. Semințele care au germinat pe varianta tratată cu 1 mg Cd are cea mai mică toleranță înregistrând o valoare procentuală de 92,4%. Varianta tratată cu 3 mg Cd a obținut un



indice de toleranță egal cu proba martor la care s-a făcut raportarea. Iar cel mai mare indice de toleranță la stresul Cd a fost obținut de semințele tratate cu 5 mg Cd.



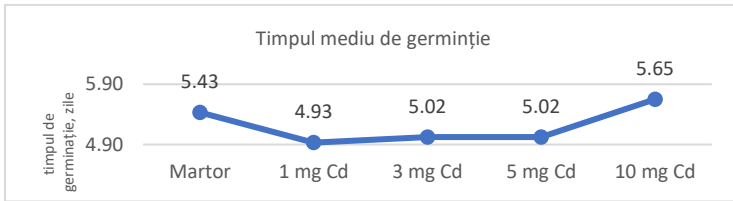
**Figura 5.1** Reprezentarea grafică cu privire la media semințelor germinate și procentul de germinare al semințelor de varză puse la germinat în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri



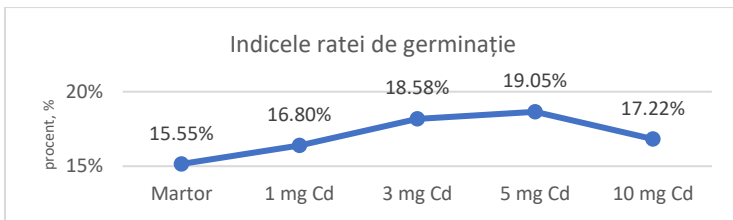
**Figura 5.2** Reprezentarea grafică a indicelui de toleranță la semințele de varză puse la germinat în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri

Timpului mediu de germinație este reprezentat în graficul din figura 5.3 și se observă că semințele au nevoie de aproximativ 5 zile pentru a germina. Totuși semințele de pe varianta tratată cu 1 mg Cd are cel mai scurt timp de germinație de doar 4,93 de zile iar semințele de pe varianta tratată cu 10 mg Cd are cea mai lungă perioadă de germinație de 5,65 zile. Semințele de pe varianta martor au obținut o medie de 5,43 zile pentru a germina.

În figura 5.4 în care este reprezentat indicele ratei de germinație pe zi, varianta martor a obținut cel mai mic indice al ratei de germinație, doar 15,55%. Prin urmare semințele au avut cea mai lentă germinație pe zi în comparație cu semințele ce au germinat pe soluțiile de Cd. Procentul de 19,05% a fost obținut de semințele ce au fost tratate cu 5 mg Cd, această valoare fiind cea mai mare.

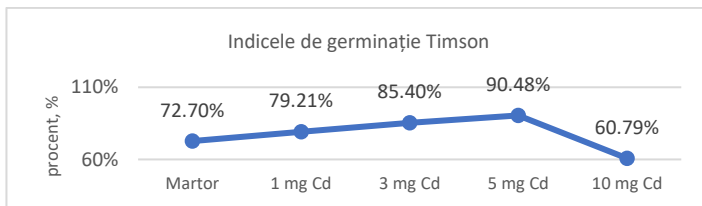


**Figura 5.3** Reprezentarea grafică a timpului mediu de germinție la semințele de varză puse la germinat în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri



**Figura 5.4** Reprezentarea grafică a indicelui ratei de germinție pe zi, la semințele de varză puse la germinat în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri

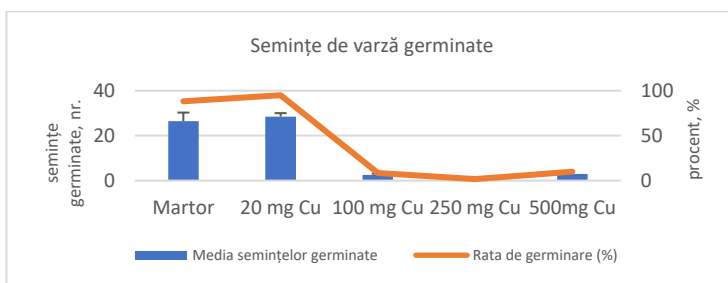
Reprezentat în graficul din figura 5.5, viteza cea mai mare de germinție, măsurată prin indicele Timson, a fost înregistrată la varianta tratată cu 5 mg Cd și are un procent de 90,48%. Cea mai mică valoare a fost înregistrată la varianta tratată cu 10 mg Cd și reprezintă un procent de 60,79%. Varianta martor a obținut un procent al indicelui Timson de 72,70%.



**Figura 5.5** Reprezentarea grafică a indicelui de germinție Timson la semințele de varză puse la germinat în soluții de Cd pe hârtie de filtru în vase Petri

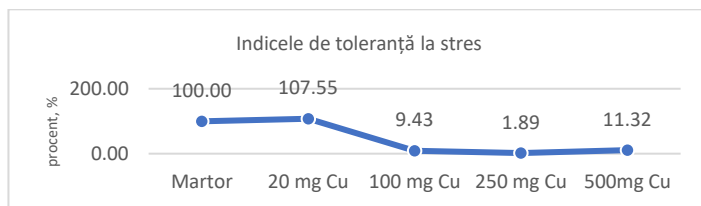
### 5.1.1.2. Influența Cu

Din figura 5.6 se observă o varietate mare în ceea ce privește numărul și procentul de germinație al semințelor de varză pe diferitele concentrații de Cu experimentate. Există o mică creștere a procentului de semințe germinate pe varianta tratată cu soluția de 20 mg Cu față de varianta martor. Însă variantele experimentale ce au fost tratate cu soluție de Cu mai mare sau egală cu 100 mg, au o medie a numărului de semințe germinate și o rată de germinație foarte mică.



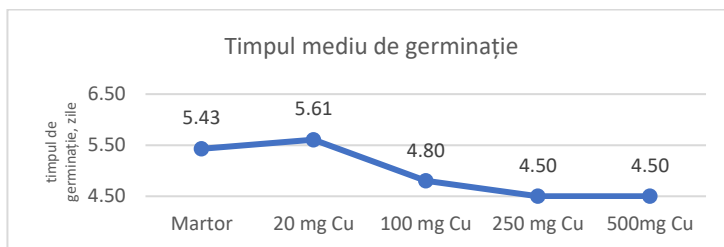
**Figura 5.6** Reprezentarea grafică cu privire la media semințelor germinate și procentul de germinație al semințelor de varză puse la germinat în soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

Se observă în graficul din figura 5.7 că semințele care au fost puse la germinat pe soluție cu o concentrație mai mare de 20 mg Cu au un indice de toleranță la stres foarte scăzut.



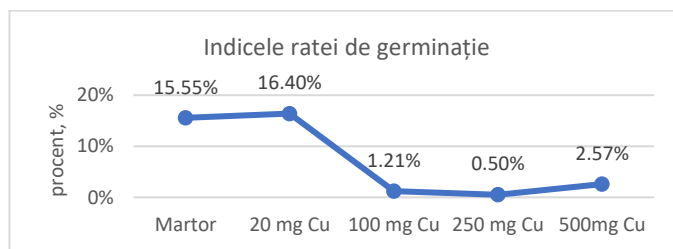
**Figura 5.7** Reprezentarea grafică cu privire la indicele de toleranță la stresul Cu pentru semințele de varză puse la germinat în soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

Rezultatul timpului mediu de germinație la semințele de varză este prezentat în graficul din figura 5.8. Semințele de varză de pe varianta martor au avut nevoie, în medie, de aproximativ 5 zile pentru a germina, iar semințele de pe varianta tratată cu 20 mg Cu au nevoie de mai mult timp pentru a avea loc procesul de germinație. Totuși diferența dintre cele două nu este foarte mare. Deși nici la variantele tratate cu 100, 250 și 500 mg Cu diferența timpului mediu de germinație nu este mare în comparație cu varianta martor, totuși semințele înregistrează un timp mai scurt de germinație.



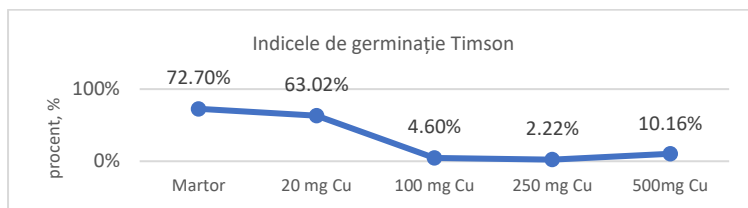
**Figura 5.8** Reprezentarea grafică cu privire la timpul mediu de germinație al semințelor de varză puse la germinat în soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

Indicele ratei de germinație prezentat în graficul din figura 5.9 a fost calculat pentru fiecare zi de observație și a înregistrat cea mai mare valoare a semințelor germinate pe varianta tratată cu 20 mg Cu, urmată de valoare variantei martor. Însă, diferența procentuală între cele două variante nu este mare. Celelalte trei variante experimentale au înregistrat un procent foarte mic al indicelui ratei de germinație.



**Figura 5.9** Reprezentarea grafică a indicelui ratei de germinație la semințele de varză care au germinat în fiecare zi pe variantele experimentale tratate cu soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

Indicele de germinație Timson, prezentat în graficul din figura 5.10, arată că procentul semințelor de pe varianta martor au o viteză a germinație de 73%. Varianta tratată cu 20 mg Cu prezintă un indice de germinație Timson de 63%. Indicii cel mai mic fiind înregistrat la varianta tratată cu 250 mg Cu, de doar 2 %. Astfel, conform indicelui de germinație Timson, putem afirma că semințele de pe varianta martor au germinat primele.



**Figura 5.10** Reprezentarea grafică a indicelui de germinație Timson la semințele de varză puse la germinat în soluții de Cu pe hârtie de filtru în vase Petri

#### 5.1.1.3. Influența Cu+Cd

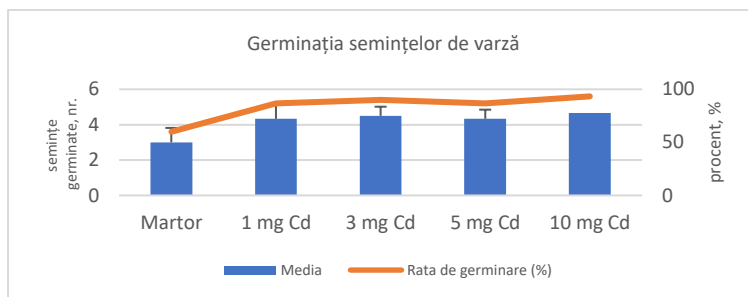
Pentru varianta testată în care s-a folosit concentrația maximă de Cu (500 mg) în combinație cu maximul concentrației de Cd (10 mg), pentru a se observa efectul sinergic dintre cele două metale studiate, nu a fost posibilă deoarece semințele de varză nu au germinat.

#### 5.1.2. Influența metalelor grele asupra germinației semințelor de varză pe substrat de sol

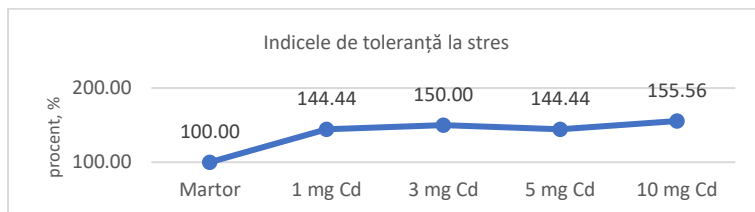
##### 5.1.2.1. Influența Cd

În graficul din figura 5.11 sunt prezentate rezultatele privind media numărului de semințe germinate și rata de germinație a semințelor de varză. Se observă că toate variantele tratate cu soluție de Cd au o rată de germinație a semințelor, dar și un număr de semințe mai mare față de varianta martor. Putem astfel afirma că toate concentrațiile de Cd testate au stimulat germinația semințelor de varză.

Se observă din graficul reprezentat în figura 5.12 că indicele de toleranță al semințelor de varză la tratamentele cu soluții de Cd este destul de mare. Semințele germinate pe solul tratat cu 10 mg Cd înregistrează cea mai mare toleranță cu un procent de 155,5%, urmat de semințele ce au germinat pe solul tratat cu 3 mg Cd (150%). Putem spune că semințele de varză au o toleranță la concentrații mari de Cd.

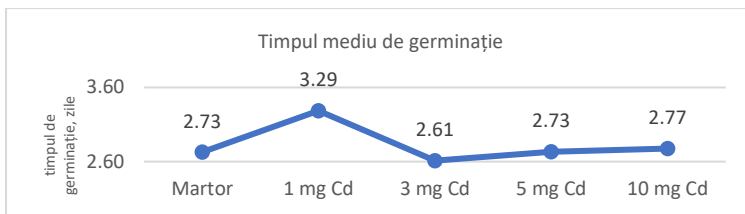


**Figura 5.11** Reprezentarea grafică cu privire la media semințelor germinate și procentul de germinație al semințelor de varză puse la germinat în soluții de Cd pe substrat de sol



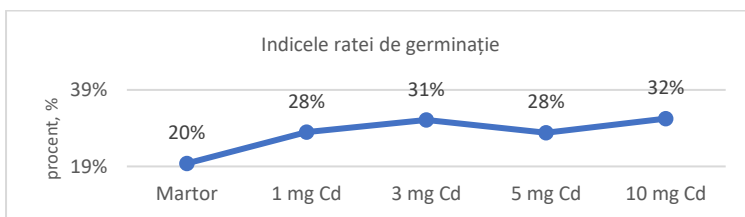
**Figura 5.12** Reprezentarea grafică cu privire la indicele de toleranță la stresul Cd pentru semințele de varză puse la germinat în soluții de Cd pe substrat de sol

În graficul din figura 5.13 timpul de germinație al semințelor de varză, măsurat în zile, este de aproximativ 3 zile la toate variantele tratate. Totuși semințele ce au germinat sub influența concentrației de 1 mg Cd are cea mai lungă perioadă de răsărire în comparație cu varianta martor dar și cu celelalte variante experimentale. Cea mai scurtă perioadă de germinație este înregistrată la varianta tratată cu 3 mg Cd.



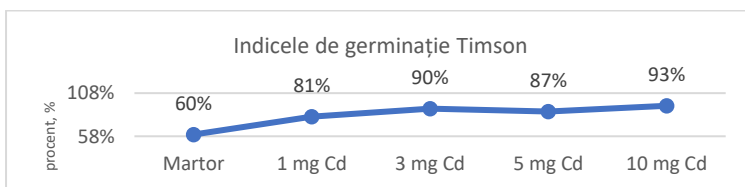
**Figura 5.13** Reprezentarea grafică cu privire la timpul mediu de germinație al semințelor de varză puse la germinat în soluții de Cd pe substratul de sol

Se observă în graficul 5.14 că procentul indicelui ratei de germinație, calculat pe zi, este cel mai mare la varianta tratată cu 10 mg Cd, iar cel mai mic procent este înregistrat la varianta martor.



**Figura 5.14** Reprezentarea grafică a indicelui ratei de germinație la semințele de varză care au germinat în fiecare zi pe variantele experimentale tratate cu soluții de Cd pe substratul de sol

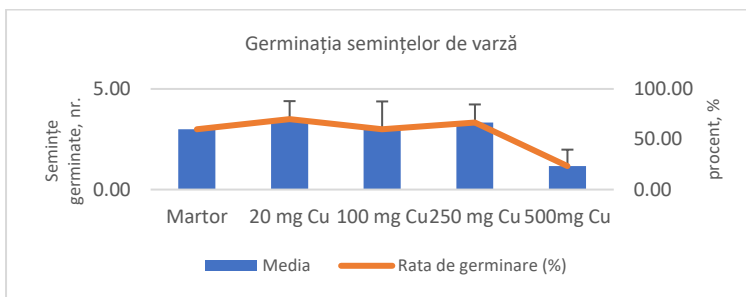
Indicele de germinație Timson (figura 5.15) confirmă faptul că viteza cea mai mare a semințelor de varză care au germinat pe substratul de sol sunt la varianta tratată cu 10 mg Cd, urmată de varianta tratată cu 3 mg Cd.



**Figura 5.15** Reprezentarea grafică a indicelui de germinație Timson la semințele de varză puse la germinat în soluții de Cd pe substratul de sol

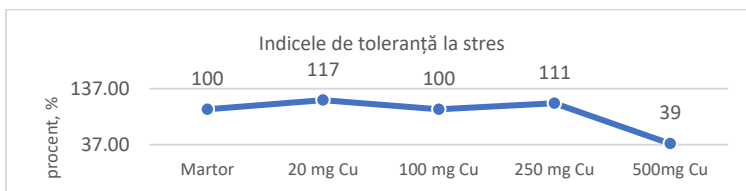
### 5.1.2.2. Influența Cu

Influența Cu asupra germinăției semințelor de varză pe substratul de sol este reprezentată grafic în figura 5.16. Se observă o rată de germinăție nu foarte diferită de varianta martor la concentrațiile de 20, 100 și 250 mg Cu. Varianta tratată cu 500 mg Cu înregistrează o rată de germinăție foarte mică în comparație cu celelalte variante studiate.



**Figura 5.16** Reprezentarea grafică cu privire la media semințelor germinate și procentul de germinăție al semințelor de varză puse la germinat în soluții de Cu pe substrat de sol

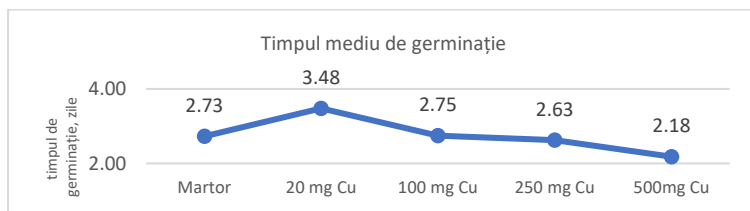
Indicele de toleranță la stres (figura 2.17) este foarte mic la varianta tratată cu 500 mg Cu, ceea ce arată o sensibilitate accentuată a semințelor de varză la această concentrație de Cu. Totuși semințele tratate pe variantele cu 20, 100, 250 mg Cu nu înregistrează un procent al indicelui foarte diferit de varianta martor.



**Figura 5.17** Reprezentarea grafică cu privire la indicele de toleranță la stresul Cu pentru semințele de varză puse la germinat în soluții de Cu pe substrat de sol



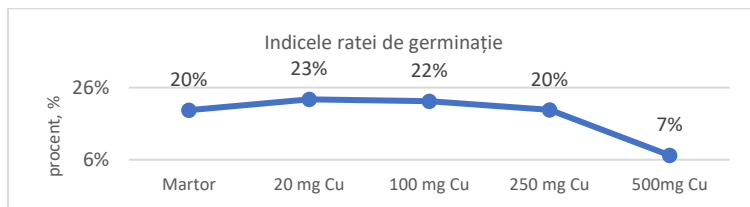
Timpul mediu de germinație înregistrat este de aproximativ două zile, după cum se poate observa și în graficul din figura 5.18, la toate variantele studiate. Totuși, un timp mai mare de germinație au avut nevoie semințele de pe varianta tratată cu 20 mg Cu în comparație cu semințele germinate pe varianta martor. Deși varianta tratată cu 500 mg Cu a înregistrat un număr foarte mic de semințe care au germinat, acestea au avut nevoie de un timp de germinație mult mai mic decât varianta tratată cu 20 mg Cu, fiind de altfel și varianta cu cel mai scurt timp de germinație.



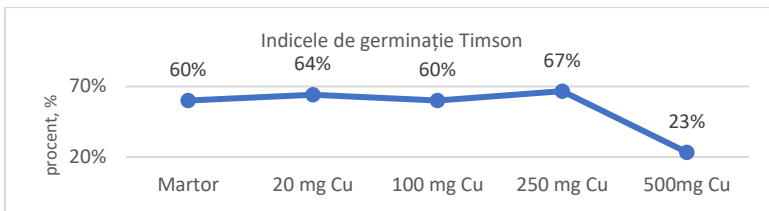
**Figura 5.18** Reprezentarea grafică cu privire la timpul mediu de germinație al semințelor de varză puse la germinat în soluții de Cu pe substrat de sol

Din graficul figurii 5.19, se observă că cel mai mic procent al indicelui ratei de germinație la semințele de varză este înregistrată la varianta tratată cu 500 mg Cu (7%).

În graficul din figura 5.20 se poate observa că semințele tratate cu 500 mg Cu înregistrează valoarea cea mai scăzută, de 23%, în comparație cu varianta martor și celelalte variante tratate cu soluție de Cu care au obținut valori de peste 60 %. Cea mai mare valoare fiind înregistrată la varianta tratată cu 250 mg Cu (67%).



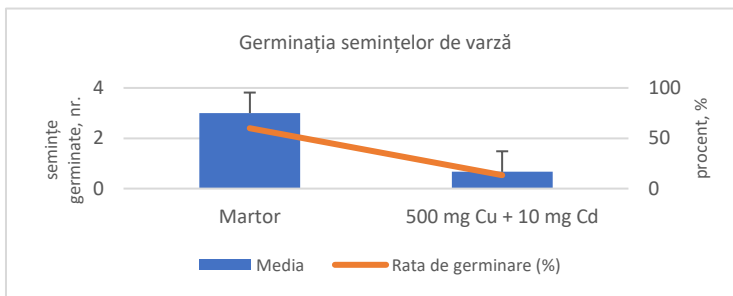
**Figura 5.19** Reprezentarea grafică a indicelui ratei de germinație la semințele de varză care au germinat în fiecare zi pe variantele experimentale tratate cu soluții de Cd pe substratul de sol



**Figura 5.20** Reprezentarea grafică a indicelui de germinație Timson la semințele de varză puse la germinat în soluții de Cu pe substratul de sol

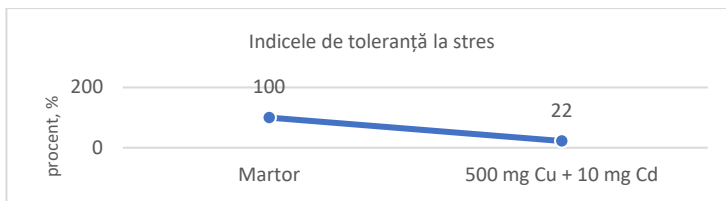
### 5.1.2.3. Influența Cu+Cd

Media semințelor germinate și rata de germinație a semințelor de varză pentru varianta V<sub>10</sub>, unde a fost testată influența Cu+Cd la concentrații maxime, sunt observate în graficul figurii 5.21. Diferența mare cu privire la semințele care au germinat pe varianta V<sub>10</sub> și semințele germinate pe varianta martor poate fi atribuită concentrației maxime de Cu și nu neapărat efectului sinergic dintre cele două metale studiate.



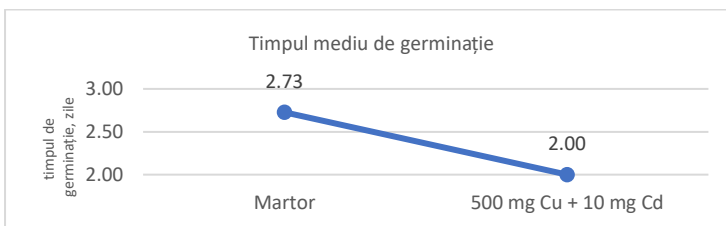
**Figura 5.21** Reprezentarea grafică cu privire la media semințelor germinate și procentul de germinație al semințelor de varză puse la germinat pe varianta tratată cu 500 Mg cu + 10 mg Cd

Indicele de toleranță la stres a semințelor de pe varianta tratată cu 500 Mg cu + 10 mg Cd este reprezentată grafic în figura 5.22 și se poate observa că semințele au înregistrat un procent foarte mic al indicelui de stres ceea ce înseamnă o toleranță scăzută la toxicitatea metalelor testate.



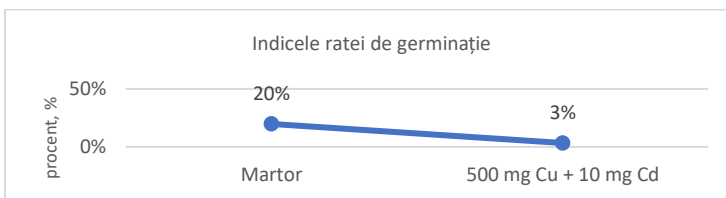
**Figura 5.22** Reprezentarea grafică cu privire la indicele de toleranță a semințelor de varză la stresul metalelor grele testate la varianta  $V_{10}$  (500 mg Cu + 10 mg Cd)

Timpu mediu de germinație este reprezentat în graficul din figura 5.23 și după cum se observă, diferența nu este mare între cele două variante, ambele având un timp de germinație a semințelor de aproximativ două zile.



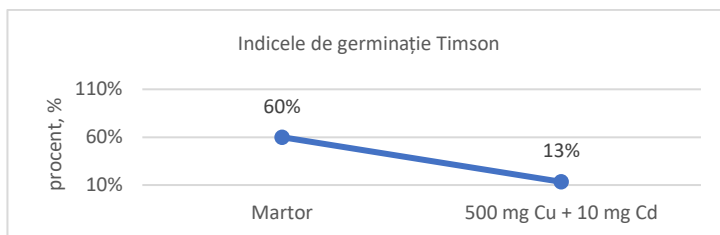
**Figura 5.23** Reprezentarea grafică cu privire la timpul mediu de germinație al semințelor de varză germinate pe varianta  $V_{10}$  (500 mg Cu + 10 mg Cd)

Indicele ratei de germinație este reprezentat în figura 5.24 și se observă că semințele de pe varianta tratată cu 500 mg Cu + 10 mg Cd înregistrează un procent foarte mic de semințe care au germinat, doar 3% în comparație cu 20% semințe germinate în fiecare zi la varianta martor.



**Figura 5.24** Reprezentarea grafică cu privire la indicele rate de germinație pe zi la semințele de varză germinate pe varianta  $V_{10}$  (500 mg Cu + 10 mg Cd)

Indicele de germinație Timson susține valorile celorlalți indici ce măsoară viteza de germinație, astfel se observă în figura 5.25 că varianta tratată cu 500 mg Cu + 10 mg Cd obține un procent foarte mic în comparație cu varianta martor. Ceea ce arată că semințele germinează mult mai greu pe varianta tratată în comparație cu semințele de pe varianta martor.

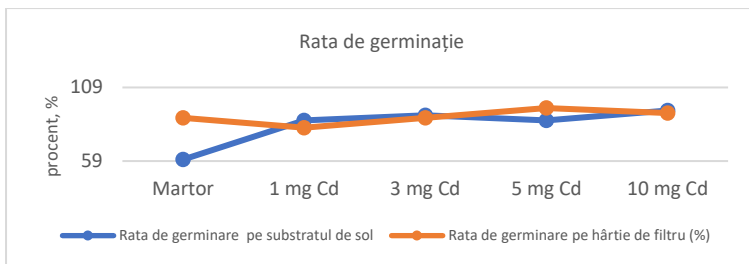


**Figura 5.25** Reprezentarea grafică cu privire la indicele de germinație Timson la semințele de varză germinate pe varianta  $V_{10}$  (500 mg Cu + 10 mg Cd)

### 5.1.3. Comparație între germinația semințelor de varză pe substratul de sol și hârtie de filtru

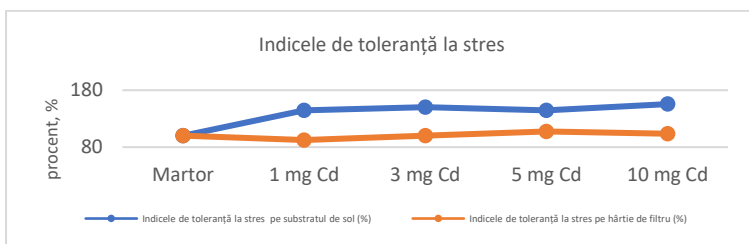
#### 5.1.3.1. Influența Cd

Există diferențe în ceea ce privește rata de germinație a semințelor de varză pe varianta martor. După cum se observă în figura 5.26, rata de germinație este mai mare la semințele germinate pe hârtie de filtru în comparație cu semințele germinate pe substratul de sol. Tratamentele cu Cd nu prezintă însă o rata de germinație prea diferită, valorile înregistrate fiind asemănătoare. Totuși trebuie menționat faptul că varianta tratată cu 5 mg Cd are o rată de germinație mai mare pe hârtie de filtru în comparație cu rata de germinație pe substratul de sol, dar nu la fel de mare ca în cazul variantei martor.



**Figura 5.26** Reprezentarea grafică privind comparația ratei de germinație a semințelor de varză germinate pe substrat de sol și pe hârtie de filtru și tratate cu diferite concentrații de Cd

Din graficul reprezentat în figura 5.27 se observă o toleranță mare la stresul Cd pentru semințele de varză care au germinat pe substratul de sol în comparație cu semințele germinate pe hârtie de filtru.



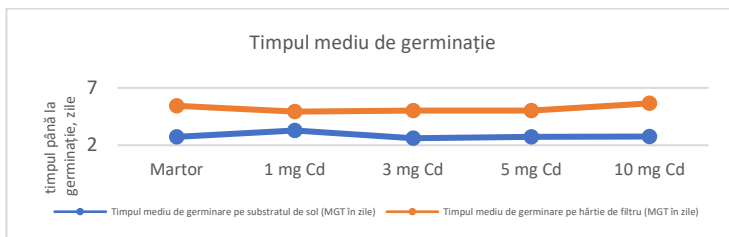
**Figura 5.27** Reprezentarea grafică privind comparația indicilor de toleranță la stresul Cd al semințelor de varză germinate pe substrat de sol și hârtie de filtru

Sub influența diferitelor concentrații de Cd, se poate observa în figura 5.28, că timpul de germinație al semințelor de varză care au germinat pe substratul de sol este mai mic în comparație cu perioada de timp necesară semințelor de pe hârtia de filtru pentru a germina.

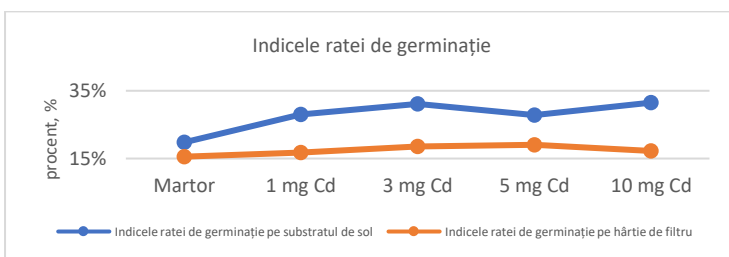
De asemenea se observă în graficul din figura 5.29 că semințele germinate pe substratul de sol obțin un procent mai mare de semințe care germinează în fiecare zi.

Rezultatele prezentate în graficul din figura 5.30 arată o diferență mică cu privire la valorile procentuale privind indicii de germinație Timson pentru variantele tratate cu 1, 3, 5 mg Cd. Diferențele valorilor exprimate în procente apar la varianta tratată cu 10 mg Cd fiind o diferență mare între semințele germinate pe substratul de

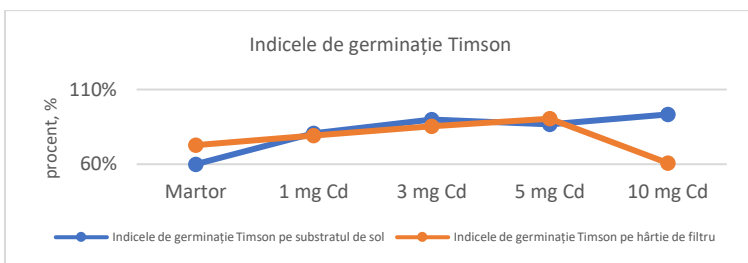
sol și cele care au germinat pe hârtia de filtru. Variantele martor prezintă și ele o diferență destul de mare comparând cele două valori ale indicelui Timson.



**Figura 5.28** Reprezentarea grafică privind comparația timpului mediu de germinare al semințelor de varză germinate în soluții de Cd, de diferite concentrații, pe substrat de sol și hârtie de filtru



**Figura 5.29** Reprezentarea grafică a comparației indicilor ratei de germinare a semințelor de varză germinate în soluții de Cd, de diferite concentrații, pe substrat de sol și hârtie de filtru



**Figura 5.30** Reprezentarea grafică a comparației indicilor Timson la semințele de varză germinate în soluții de Cd, de diferite concentrații, pe substrat de sol și hârtie de filtru

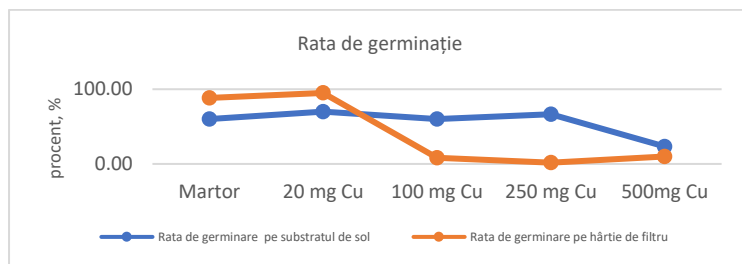
### 5.1.3.2. Influența Cu

Rata de germinație a semințelor de varză sub influența Cu este prezentată în graficul din figura 5.31 și înregistrează o valoare mai mare la semințele tratate cu 20 mg Cu pe hârtie de filtru în comparație cu semințele germinate pe substratul de sol la aceeași concentrație. Totuși, având în vedere celelalte concentrații de Cu analizate semințele germinate pe substratul de sol au o rata mult mai mare de germinație. Procentul variantei tratată cu 500 mg Cu rămâne scăzut atât pe substratul de sol cât și la semințele germinate pe hârtie de filtru.

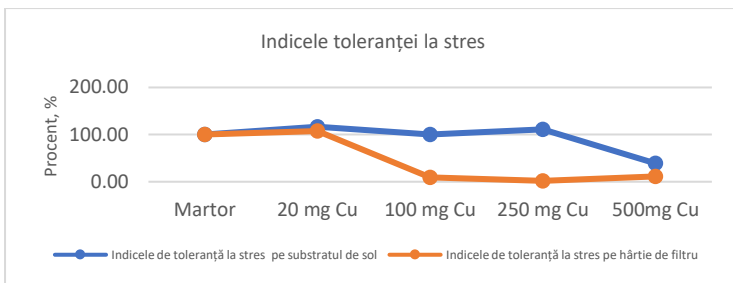
De asemenea în graficul din figura 5.32 se observă o toleranță mare a semințelor de varză la stresul Cu pe substratul de sol. În urma procentelor mici înregistrate la semințele de varză putem afirma că soiul de varză Silvana nu tolerează concentrații mari de Cu în sol.

Indicele ratei de germinație crește de la varianta martor la varianta tratată cu 20 mg Cu și apoi scade o dată cu creșterea concentrației de Cu. Se observă în graficul din figura 5.33 o scădere uniformă a procentului indicelui ratei de germinație la semințele de varză care au germinat pe substratul de sol și o scădere agresivă a valorii indicelui la semințele plasate la germinat pe hârtia de filtru.

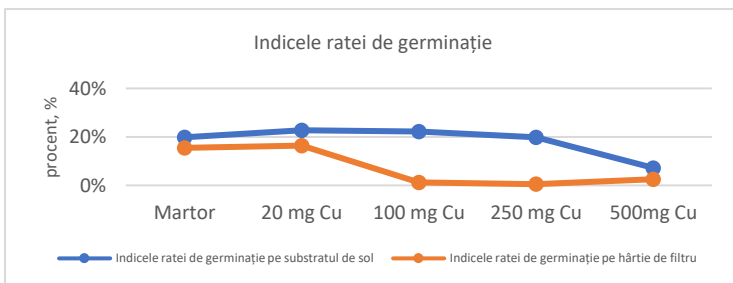
Procentajul înregistrat de indicele Timson (figura 5.34) la semințele tratate cu soluție de Cu este mai mare la cele care au germinat pe substratul de sol în comparație cu cele de pe hârtie de filtru.



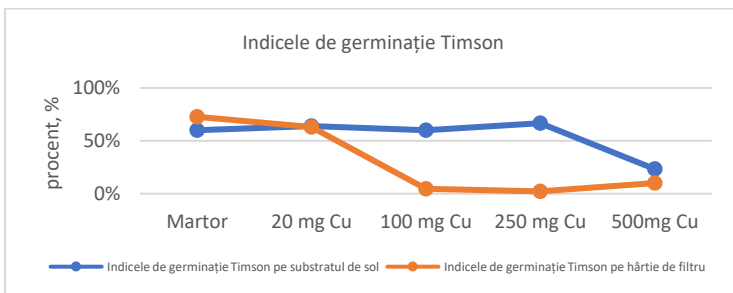
**Figura 5.31** Reprezentarea grafică privind comparația ratei de germinație a semințelor de varză germinate pe substrat de sol și pe hârtie de filtru și tratate cu diferite concentrații de Cu



**Figura 5.32** Reprezentarea grafică privind comparația indicilor de toleranță la stresul Cu al semințelor de varză germinate pe substrat de sol și hârtie de filtru



**Figura 5.33** Reprezentarea grafică a comparației indicilor ratei de germinare a semințelor de varză germinate în soluții de Cu, de diferite concentrații, pe substrat de sol și hârtie de filtru



**Figura 5.34** Reprezentarea grafică a comparației indicilor Timson la semințele de varză germinate în soluții de Cu, de diferite concentrații, pe substrat de sol și hârtie de filtru



## 5.2. Aspecte citogenetice asupra indicelui mitotic și aberațiilor cromozomiale la varză

Rădăcinile semințelor tratate cu 100, 250, 500 mg Cu nu au putut fi analizate, deoarece vârful de creștere al plantulelor s-a necrozat. S-a încercat totuși colectarea lor, după care au fost fixate și colorate, însă celulele văzute la microscop sunt moarte.

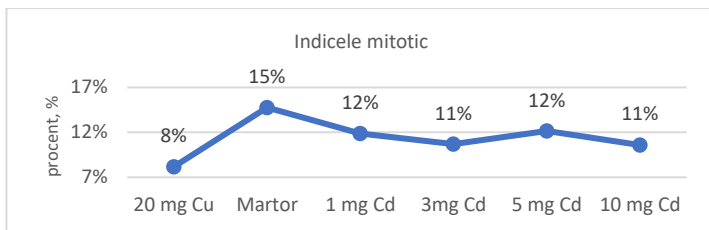
### 5.2.1. Influența metalelor grele studiate asupra fazelor de diviziune

Ca și în cazul ardeiului gras pentru calculul indicelui mitotic au fost analizate câte 10 câmpuri microscopice per repetiție. Pentru fiecare variantă testată au fost analizate 30 câmpuri microscopice și în jur de 5.000 de celule aflate în diferite faze de diviziune. Rezultatele obținute au fost centralizate în tabelul 5.1. Se observă că cele mai multe celule aflate în diviziune au fost înregistrate la varianta martor urmată de varianta tratată cu 5 mg Cd.

**Tabel 5.1** Numărul total de celule analizate și numărul de celule în diviziune pentru fiecare variantă testată

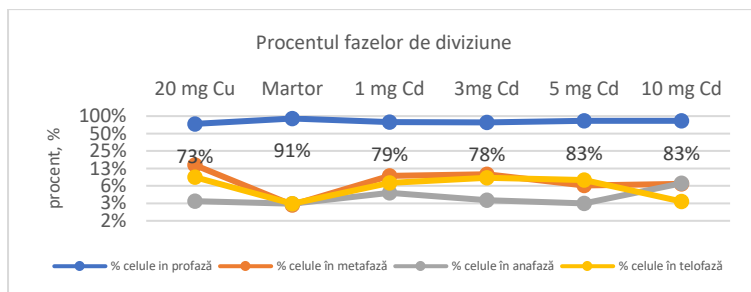
<i>Nr. Crt</i>	<i>Variante experimentale</i>	<i>Nr. total celule</i>	<i>Nr. total celule în diviziune</i>
1	20 mg Cu	5389	441
2	Martor	5059	747
3	1 mg Cd	5125	609
4	3mg Cd	5016	536
5	5 mg Cd	5304	644
6	10 mg Cd	5038	534

Indicele mitotic (IM) înregistrat la varză prezentat în graficul din figura 5.35, are cea mai mare valoare înregistrată la varianta martor (15%). Cel mai mic procent al IM este înregistrat la varianta tratată cu 20 mg Cu (8%). Variantele tratate cu Cd prezintă cea mai mare valoare a IM la concentrațiile cu 1 mg Cd (12%) și 5 mg Cd (12%). Varianta tratată cu 3 mg Cd și varianta cu 10 mg Cd a obținut un IM de 11 %.



**Figura 5.35** Reprezentarea grafică a indicelui mitotic la varză exprimat în procente pentru fiecare variantă experimentală

Procentul fazelor de diviziune mitotică este ilustrat în figura 5.36. Se observă că valoarea procentuală a celulelor în profază, la toate variantele analizate este foarte ridicat. Varianta martor înregistrează cel mai mare procent al celulelor în profază (91%) urmată de varianta tratată cu 5 mg Cd și 10 mg Cd cu un procent de 83%. Cel mai mic procent al celulelor în profază este înregistrat la varianta tratată cu 20 mg Cu 73%.



**Figura 5.36** Reprezentarea grafică a procentelor fazelor de diviziune la varză

### 5.3. Influența metalelor grele asupra indicilor de calitate

Cinci semințe de varză au fost plasate în ghivece cu turbă. Ghivecele au fost puse în condiții prielnice germinării în camera de creștere Sanyo. Udarea cu soluțiile de testare s-a realizat zilnic la nivelul solului iar după răsărire plantele au fost udate la doua zile și doar dacă a fost nevoie, udarea s-a realizat mai des. După germinație și răsărirea verzei s-au realizat observații cu privire la fitotoxicitatea vizuală și mortalitatea plantelor. S-a constatat că plantele de varză s-au uscat și au murit în

proporție de 100% pe varianta tratată cu 500 mg Cu ( $V_4$ ) dar și la varianta tratată cu 500 mg Cu + 10 mg Cd ( $V_{10}$ ) (figurile 5.76 și 5.77). Plantele de pe varianta tratată cu 250 mg Cu ( $V_3$ ) (figura 5.78) au avut o creștere lentă, au apărut puncte de necroză și au murit în proporție de 100% la aproximativ 25 de zile de la răsărire. Plantele de pe varianta tratată cu 100 mg Cu ( $V_2$ ) (figura 5.79) au avut o creștere lentă în comparație cu plantele de pe variantele tratate cu Cd și varianta martor iar pe frunze au apărut puncte de necroză. Totuși răsadul s-a dezvoltat și a putut fi analizat din punct de vedere al indicilor de calitate urmăriți în această lucrare.



**Figura 5.37** Aspectul plantelor de varză care au murit imediat după răsărire, varianta tratată cu 500 mg Cu



**Figura 5.38** Aspectul plantelor de varză care au murit imediat după răsărire, varianta tratată cu 500 mg Cu + 10 mg Cd



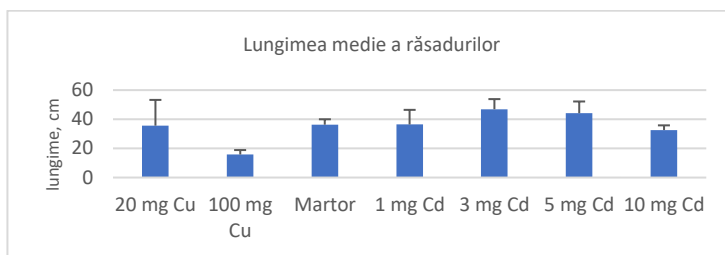
**Figura 5.39** Aspectul plantelor de varză răsărite pe solul tratat cu 250 mg Cu – necroză la nivelul primelor frunze și plantă moartă după răsărire



**Figura 5.40** Aspectul plantelor de varză răsărite pe solul tratat cu 100 mg Cu – necroză la nivelul primelor frunze

În graficul din figura 5.41 se poate observa că lungimea totală a plantei pare a fi influențată de tratamentele cu metale grele. Cea mai mare valoare a lungimii răsadurilor este înregistrată la varianta tratată cu 3 mg Cd, cu o medie de 46,87 cm,

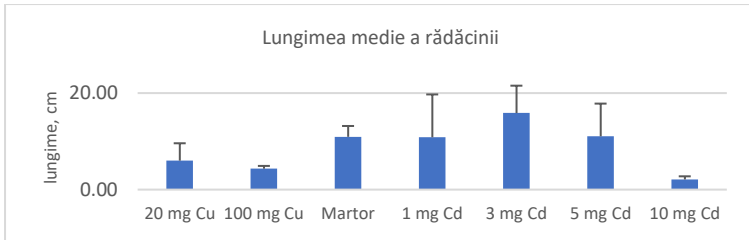
urmată de varianta tratată cu 5 mg Cd, cu o medie de 44,13 cm. Cea mai mică valoare măsurată a fost înregistrată pe varianta tratată cu 100 mg Cu, cu o medie de 15,80 cm. Varianta martor a înregistrat o lungime medie a răsadului de 36,27 cm. În urma observațiilor realizate și a analizei putem afirma că concentrațiile de metale grele studiate influențează mărimea răsadului de varză. În cazul Cu sticks cât concentrația este mai mare cu atât planta va fi mai mică.



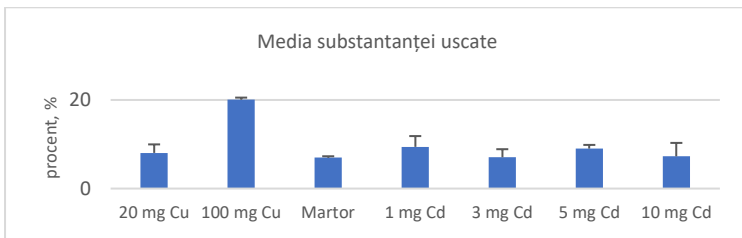
**Figura 5.41** Lungimea totală a răsadului de varză

Cât privește lungimea rădăcinii se observă în graficul din figura 5.42 că răsadurile de varză au cea mai lungă rădăcină măsurată la plantele tratate cu 3 mg Cd iar rădăcina cea mai mică a fost măsurată la răsadurile care s-au dezvoltat pe substratul de sol tratat cu 10 mg Cd. Plantele de pe varianta martor au avut o medie a lungimii rădăcinii de aproximativ 11 cm. Iar răsadurile tratate cu soluție de Cu au înregistrat o medie de 6 cm a rădăcinilor de pe varianta tratată cu 20 mg Cu și de 4 cm la varianta tratată cu 100 mg Cu. De altfel eroarea standard mare la variantele tratate cu 1, 3 și 5 mg Cd, se datorează unei variații mari în ceea ce privește lungimea rădăcinilor pentru fiecare plantă măsurată de pe aceeași variantă.

Conținutul în substanță uscată a răsadului de varză este prezentat în graficul din figura 5.43. Se observă că plantele dezvoltate pe varianta tratată cu 100 mg Cu au cel mai mare procent de substanță uscată, de 20,05%, urmată de varianta tratată cu 1 mg Cd (9,41%). Varianta martor are un procent al substanței uscate de 6,98%.



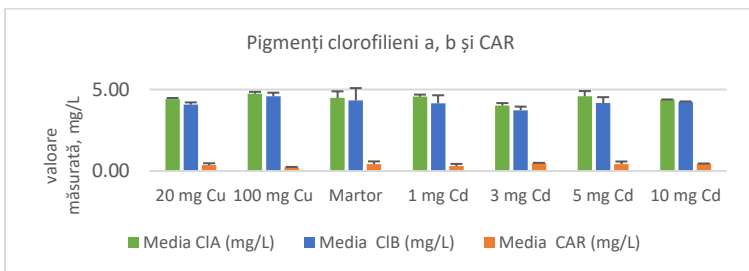
**Figura 5.42** Lungimea rădăcinii la răsăturile de varză, tratate cu diferite concentrații de Cu și Cd



**Figura 5.43** Conținutul în substanță uscată a răsăturilor de varză

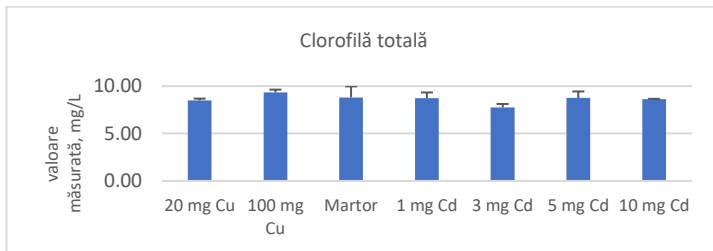
#### 5.4. Analiza pigmentilor clorofilieni din masa verde a răsăturii de varză

Nu putem spune că metalele grele studiate influențează creșterea cantității de pigmenti asimilatori (figura 5.44) deoarece aceștia prezintă diferențe foarte mici la toate concentrațiile studiate. *Clorofila a* are cea mai mare valoare, ceea ce înseamnă că procesele fiziologice sunt normale la toate variantele studiate.



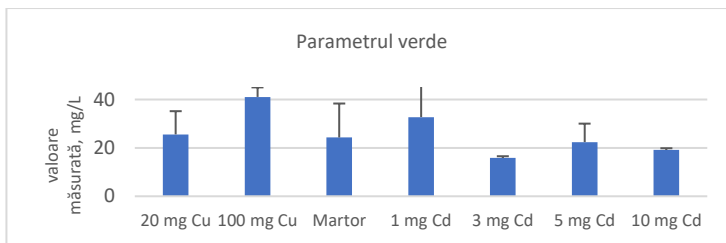
**Figura 5.44** Cantitatea de pigmenți clorofilieni înregistrată în masa verde a răsăturii de varză

Cantitatea totală a pigmentilor clorofilieni, ilustrați în graficul din figura 5.45 nu diferă foarte mult pe nici una din variantele testate. Cea mai mică cantitate de clorofilă fiind întâlnită la varianta tratată cu 3 mg Cd (7,74 mg/L) iar cea mai mare este înregistrată la varianta tratată cu 100 mg Cu (8,62 mg/L). Toate variantele testate au înregistrat valori apropiate de cele ale martorului.



**Figura 5.45** Concentrația totală de pigmenți clorofilieni la răsadurile de varză

Parametrul verde (figura 5.46) din plantă poate fi considerat un indicator al răspunsului plantei la stresul indus de acțiunea unui factor de mediu. Valoarea cea mai mare este înregistrată la varianta tratată cu 100 mg Cu, această valoare este mai mare decât la varianta martor. Și varianta tratată cu 1 mg Cd a obținut o valoare mare depășind-o pe cea a martorului.

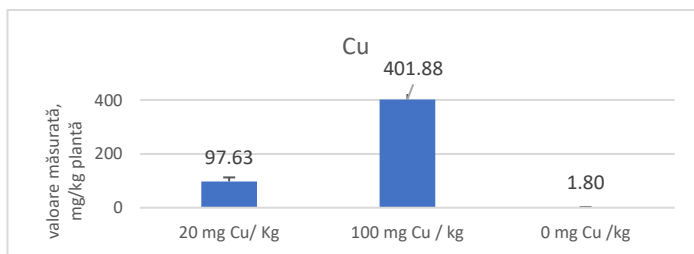


**Figura 5.46** Parametrul verde al răsadurilor de varză

### 5.5. Analiza metalelor grele din plantă

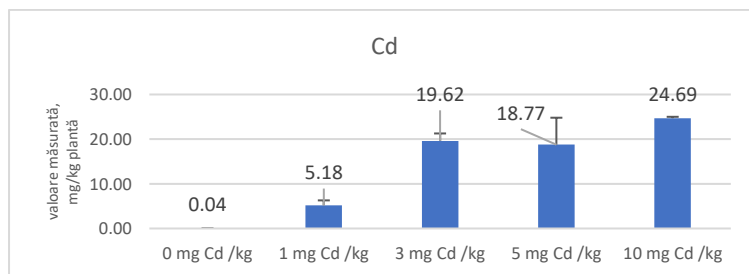
Se observă în graficul din figura 5.47 o cantitate mare de Cu absorbită de răsadurile de varză. La varianta tratată cu 100 mg Cu a fost înregistrată o valoare de

401 mg Cu/kg plantă, iar la varianta tratată cu 20 mg Cu s-a înregistrat o valoare de 97,63 mg Cu/kg plantă, în comparație cu varianta martor unde a fost înregistrată o cantitate de Cu de aproximativ 1,80 mg Cu/kg plantă. Se observă că răsadurile de varză sunt hiperacumulatoare de metale grele, iar o cantitate mare de Cu în sol influențează acumularea în plantă.



**Figura 5.47** Reprezentarea grafică a Cu absorbit de răsadurile de cantitate varză

Pentru Cd rezultatele sunt ilustrate în figura 5.48. Rezultatele au arătat că aplicarea acestui metal în cantități diferite în sol a crescut de asemenea și cantitatea de Cd absorbită de răsadul de varză în comparație cu martorul. Iar cantitatea de Cd absorbită de răsadul de varză a crescut o dată cu concentrația de Cd din sol. Astfel plantele tratate cu 10 mg Cd au acumulat cea mai mare cantitate de metal, depășind 24,69 mg Cd/kg plantă. Cantitatea cea mai mică de Cd absorbită a fost înregistrată la varianta tratată cu 1 mg Cd de 5,18 mg Cd/kg plantă. Varianta martor a obținut o valoare de 0,04 mg Cd/kg plantă.



**Figura 5.48** Reprezentarea grafică a Cd absorbit de răsadurile de varză

### **5.6. Concluzii cu privire la comportamentul speciei *Brassica oleracea* L. la tratamentele cu metale grele**

Contaminarea solului cu diferite tratamente pe baza de Cu și Cd duc la poluarea solului și au ca rezultat efecte nedorite asupra creșterii și dezvoltării răsadului de varză, așa cum au fost prezentate și verificate prin experimentele realizate.

Impactul ecotoxicologic al Cu și Cd asupra procesului de germinație, a semințelor de varză *Brassica oleracea* L. tratate cu valorile de referință pentru urmele de elemente chimice din sol conform ORDINULUI nr. 756 din 3 noiembrie 1997 (\*actualizat\*), putem afirma că tratamentele cu Cd au avut un efect de stimulare a germinației în comparație cu tratamentele soluției de Cu care au întârziat procesul.

De asemenea efectul concentrațiilor de metale grele prezintă efecte diferite în ceea ce privește germinația semințelor pe hârtie de filtru și substratul de sol. Se observă un procent mai mare al semințelor care au germinat pe hârtie de filtru în comparație cu semințele germinate pe substratul de sol în cazul Cd și un procent mai mare al semințelor germinate pe substratul de sol în comparație cu semințele germinate pe hârtia de filtru la variantele tratate cu o concentrație egală sau mai mare de 100 mg Cu.

Investigațiile citogenetice realizate pe meristemele radiculare la varză, sub influența diferitelor concentrații de Cd și Cu, arată că valoarea procentuală a celulelor în profază, la toate variantele analizate este foarte ridicat. În privința indicelui mitotic se poate constata că varianta martor a înregistrat valoarea cea mai mare comparativ cu variantele cu metale grele testate. De asemenea s-a evidențiat apariția unor aberații cromozomiale în celulele din apexul radicular, acestea au fost întâlnite la toate variantele analizate, totuși, varianta martor a înregistrat cele mai puține celule cu aberații cromozomiale. Acest fapt ne arată o influență a metalelor grele studiate (Cu și Cd) asupra frecvenței aberațiilor identificate în timpul diviziunii mitotice.

Testele realizate la nivel de plantă (răsad) au avut drept scop cuantificarea gradului de toxicitate acută la varză în stadiul de răsad. Astfel, după germinație și răsărirea verzei s-au realizat observații cu privire la fitotoxicitatea vizuală și mortalitatea plantelor. S-a constatat că răsăturile de varză au fost influențate de cantitatea de metale din sol deoarece varianta unde solul a fost tratat cu 500 mg Cu ( $V_4$ ) dar și la varianta tratată cu 500 mg Cu + 10 mg Cd ( $V_{10}$ ) plantele au murit în scurt timp după răsărire. Pe varianta tratată cu 250 mg Cu ( $V_3$ ) plantele au avut o creștere



lentă, iar după apariția punctelor de necroză au murit și acestea. Plantele de pe varianta tratată cu 100 mg Cu ( $V_2$ ), deși au avut o creștere lentă și pe frunze au apărut puncte de necroză, totuși răsadul nu a murit ca în cazul celorlalte variante.

Cât privește conținutul în substanță uscată a răsadului de varză, plantele dezvoltate pe varianta tratată cu 100 mg Cu au cel mai mare procent de substanță uscată, de 20,05%, în comparație cu varianta martor care are un procent al substanței uscate de 6,98%.

Rezultatele analizelor biochimice arată că metalele grele studiate (Cu și Cd) nu influențează creșterea cantității de pigmenți asimilatori, deoarece aceștia prezintă diferențe foarte mici ale valorilor măsurate, la toate concentrațiile studiate.

Rezultatele cu privire la factorul de acumulare a Cu și Cd în răsadurile de varză, au arătat că aplicarea metalelor în cantități diferite în sol a crescut și cantitatea de metale absorbite de țesuturile vegetale ale răsadului în comparație cu plantele analizate de pe varianta martor.

## CONCLUZII GENERALE

Cercetările teoretice și experimentale prezentate în cadrul acestei lucrări au avut drept scop testarea valorilor de referință pentru urmele elementelor chimice din sol urmărind efectul Cu și Cd asupra semințelor și răsadurilor de ardei gras (*Capsicum annuum* L.) și varză (*Brassica oleracea* L.). În urma acestor cercetări putem cunoaște modul în care speciile de legume și soiurile gestionează concentrație mai ridicate de metale toxice și potențialele modificări structurale și funcționale pe care aceste metale le pot induce plantei. Astfel vom putea înțelege mai bine riscul utilizării lor în agricultură, impactul metale grele asupra mediului și implicit a solului și efectul asupra plantelor legumicole de interes economic pentru România și zona de Nord-Est.

Analiza, în totalitate, a tezei de doctorat și a concluziilor desprinse la fiecare capitol, a dus la elaborarea următoarelor concluzii generale, organizate astfel:

### A. Cu privire la oportunitatea temei

1. Poluarea cu metale grele a solului este una dintre cele mai importante și răspândite probleme de mediu în toată lumea. Studiile recente susțin că sursele de poluare sunt irigarea cu ape uzate, mineritul, activități de topire și prelucrare a minereului [65, 66]. Prin urmare, problema ar trebui să aibă o prioritate ridicată pentru departamentele de mediu și guvern;
2. Toate solurile conțin metale grele aflate în tabelul periodic, dar concentrațiile variază considerabil, iar unele pot fi sub limita de detecție pentru anumite proceduri analitice [13]. Ele nu sunt supuse degradării sau descompunerii bacteriilor și, prin urmare, sunt permanente și se acumulează în țesuturile organismelor [14]. De asemenea metalele grele pot proveni fie din surse naturale sau din surse antropice, însă daunele aduse mediului provin dintr-o combinație de factori naturali și antropogeni [15];
3. Mobilitatea și bioacumularea metalelor grele în sol poate avea un impact important asupra mediului și ecosistemelor, deoarece, sunt dispersate în mediu prin intermediul efluenților industriali, deșeurilor organice,

transportului și prin generarea de energie electrică. Cu ajutorul vântului, ele pot fi duse în locuri îndepărtate față de sursă. În cele din urmă poluanții metalici sunt înlăturați din aer prin ploaie fiind aduși pe sol și în apele de suprafață. Un alt mijloc de dispersare este deplasarea apei de drenaj din bazinele care au fost contaminate cu deșeuri din unitățile miniere și din industrie [67];

4. Metalele grele pot afecta sănătatea umană, agricultura și ecosistemele forestiere de aceea sunt printre cei mai nocivi poluanți. Pot fi toxici în anumite concentrații și au abilități de bioacumulare și persistență atât în mediu cât și în organismele vegetale și animale. Expunerea pe termen lung poate duce la probleme de sănătate grave pentru om și animale, cum ar fi, disfuncționalități renale și hepatice, probleme ale tractului gastro-intestinal, și tulburări ale sistemului nervos central [24, 28, 68, 69];
5. Țările europene au o serie de abordări pentru a defini nivelurile de risc asociate cu diferite concentrații de metale grele în sol. În România există un regulament privind poluarea solului și este vorba despre Ordinul nr. 756 ce privește reglementări asupra poluării mediului [70];
6. Datorită progresului științifico-tehnic din domenii precum biochimia și biologia moleculară, au putut fi mai bine înțelese mecanismele și procesele implicate în interacțiunile dintre substanțele chimice și organisme. În cercetarea de mediu, indicatorii biologici pot fi definiți ca o schimbare a răspunsului biologic legat de o expunere sau efectul toxic al unui produs chimic sau substanță chimică din mediu [22];

## **B. Cu privire la speciile biologice luate în studiu**

1. În urma studiilor realizate asupra bibliografiei de specialitate, s-a constatat că legumele luate în studiu, datorită importanței lor economice, alimentare și proprietăților terapeutice, aceste plante prezintă importanță deosebită în studiile de mediu, având un grad

ridicat de predicție al efectelor negative pentru mediu și sănătatea umană;

2. Din punct de vedere al selecției speciilor biologice testate, acestea au îndeplinit următoarele condiții pentru testele de ecotoxicologie:
  - Speciile au semințe uniforme, care sunt ușor disponibile și produc o germinație bună, fiabilă și uniformă, precum și o creștere uniformă a răsadurilor;
  - Plantele se pot supune testării în laborator și poate oferi rezultate fiabile și reproductibile în cadrul tuturor instalațiilor de testare;
  - Sensibilitatea speciilor testate este în concordanță cu răspunsurile plantelor găsite în mediile cu metale grele testate;
  - Au mai fost utilizate în teste de toxicitate și au indicat o sensibilitate mare la diferiți factori de stres;
  - Sunt compatibile cu condițiile de creștere în laborator și spații protejate;
  - Îndeplinesc criteriile de validitate ale testului OECD 208;
3. Metalele grele pot fi un factor de stres care declanșează răspunsuri fiziologice negative la plante. La ardei de exemplu, studii recente au arătat că la o concentrația scăzută de Cu în sol nu se observă diferențe în conținutul de Cu din lăstari și rădăcini [48]. Totuși studiile cu privire la efectul metalelor grele asupra ardeiului gras (*Capsicum annuum L.*) sunt foarte puține [49];
4. La varză (*Brassica oleracea L.*) cele mai mari concentrații de Cu, Ni, Pb și Zn au fost găsite în părțile comestibile [55];

5. Testele de ecotoxicitate realizate pe speciile biologice luate în studiu au o importanță deosebită în studiile de mediu, având un grad ridicat de predicție al efectelor negative pentru mediu și sănătatea umană rezultate din supra-aplicarea pesticidelor, ierbicidelor, îngrășămintelor chimice și naturale (gunoi de grajd și nămol) la care se adăugă irigarea cu ape uzate și mulcirea;

### **C. Cu privire la verificarea experimentală a teoriilor abordate**

1. Pentru studierea proceselor de germinație a semințelor și creșterea plantelor, s-a urmărit realizarea unor condiții experimentale optime pentru a se putea evalua efectele în urma expunerii la substanța de testat aplicată pe suprafața solului;
2. Atât pentru documentare, cât și pentru realizarea unor experimente de ecotoxicologie, a fost efectuat un stagiu de mobilitate, pe o perioadă de trei luni, la Universitatea din Porto și Centrul interdisciplinar CIMAR de Cercetare Marină și Ambientală, din Portugalia;
3. O altă parte din documentare, dar și realizarea experimentelor, s-a făcut în Laboratorul de Culturi "In Vitro" și Laboratorul de Fiziologia Plantelor al Stațiunii de Cercetare Dezvoltare pentru Legumicultură Bacău;
4. Determinarea metalelor a fost realizată în cadrul Laboratorului de Analize Apă a Administrației Bazinală Siret, cu care există protocoale de colaborare cu Universitatea "Vasile Alecsandri" din Bacău;
5. Au fost aleși cei mai reprezentativi contaminanți, din grupa metalelor grele, pentru sol, deoarece s-a urmărit evaluarea efectelor toxice ale Cu și Cd asupra creșterii și dezvoltării unor soiuri de legume de interes economic pentru zona Nord-Est și pentru Bacău;

6. Rezultatele au fost analizate și reprezentate grafic, rezultând concluzii cu privire la influența metalelor grele (Cu și Cd) asupra procesului de germinație și creștere a plantelor.

#### **D. Cu privire la caracterul original al lucrării**

1. Pentru determinarea influenței metalelor grele (Cu și Cd) asupra plantelor, a fost elaborat un cadru experimental, în condiții optime, preluate din literatura de specialitate, pentru germinația semințelor și creșterea răsadului;
2. Pentru evidențierea efectelor diferitelor concentrații de Cu și Cd s-au urmărit aspecte asupra capacității germinative la semințe, influența la nivel celular prin analiza indicelui mitotic, influența asupra indicilor de calitate al răsadurilor, influența asupra conținutului de pigmenți clorofilieni și cantitatea de metale grele acumulate în răsad;
3. În urma procesului de germinație, sub influența diferitelor concentrații de metale grele, se constată că toate concentrațiile de Cd testate, cresc procentul de germinație al semințelor în comparație cu martorul. La concentrațiile testate pentru Cu se observă o scăderea ratei de germinație dar și o mortalitate ridicată la concentrația egală sau mai mare de 100 mg Cu;
4. Evaluarea citogenetică oferă informații cu privire la efectele metalelor grele studiate asupra celulelor aflate în diviziune mitotică. Astfel, se constată, atât la plantele tratate cu Cd cât și cele tratate cu Cu o creștere a procentului de aberații cromozomiale la celulele aflate în diviziune mitotică în comparație cu varianta martor;
5. S-a făcut o evaluare a indicilor de calitate și s-a observat o creștere a lungimii răsadurilor la variantele tratate cu Cd, pentru răsadurile de varză, cele mai mari plante fiind măsurate la varianta tratată cu 3 mg

Cd. Cea mai mare medie a lungimii plantelor de ardei a fost înregistrată la varianta martor urmată de variantele tratate cu 20 mg Cu și 5 mg Cd. Acest set de experimente au fost analizate și din punct de vedere al substanței uscate și se constată că majoritatea plantelor au un procent mare al substanței uscate la variantele testate cu mai mult de 20 mg Cu.

6. În urma experimentelor cu privire la cantitatea de pigmenți asimilatori în masa verde a răsadului, putem afirma că nici una din concentrațiile de metale studiate nu a avut un impact major asupra cantității de clorofilă comparând rezultatele cu cele ale martorului.
7. Prin studiul factorilor de acumulare putem afirma că soiurile de plante legumicole studiate sunt plante care acumulează metale (Cu și Cd), deoarece cantitatea de metal din biomasa lor recoltabilă depășesc cu mult nivelurile de metal din solul contaminat în laborator;

#### **E. Cu privire la căile de dezvoltare ulterioară a cercetării**

1. Ținând cont că poluarea cu metale grele este o problemă reală, cu efecte grave asupra mediului dar și a sănătății umane, este necesar să se studieze în continuare efectele acestor elemente chimice, pentru a se evidenția fenomenul de bioacumulare al metalelor grele în speciile vegetale de interes economic (legume), care pot ajunge cu ușurință în lanțul alimentar;
2. Analiza efectelor toxice și pentru alte tipuri de contaminați, la diferite concentrații, asupra unor plante de interes economic cum ar fi tomatele (*Solanum lycopersicon*), castraveții (*Cucumis sativus*), salata (*Lactuca sativa*) etc.;

3. Atât datele teoretice cât și datele experimentale, utilizate și obținute în această teză de doctorat, pot fi un material util în abordarea altor teme din domeniul ingineriei mediului și ecotoxicologie.

## F. Valorificarea cercetărilor realizate

### I. Articole publicate în reviste ISI

1. **Gabriel-Alin IOSOB**, Valentin NEDEFF, Ion SANDU, Maria PRISECARU, Tina Oana CRISTEA, 2019, *Study of Phytotoxic Effects of Cu<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> on Seed Germination and Chlorophyll Pigments Content to the Bell Pepper*, Revista de Chimie, Bucharest, Vol. 70, No. 4, p. 1416-1419, [https://www.revistadechimie.ro/article\\_ro.asp?ID=7140](https://www.revistadechimie.ro/article_ro.asp?ID=7140)
2. **Gabriel-Alin IOSOB**, Maria PRISECARU, Florian PRISECARU, Iuliana-Mihaela LAZAR, 2019, *Natural remediation of the main effluents of Trotus river affected by heavy metals pollution, Environmental Engineering and Management Journal*, Vol. 18, No. 8, p. 1773-1779, <http://www.eemj.eu/index.php/EEMJ/article/view/3934>
3. **Gabriel-Alin IOSOB**, Valentin NEDEFF, Ion SANDU, Tina Oana CRISTEA, Maria PRISECARU, Ioan Gabriel SANDU, 2019, *The Effect of Heavy Metals (Copper and Cadmium) on the Germination of Bell Pepper Seeds (Capsicum annuum L. var. Dariana Bac)*, Revista de Chimie, Bucharest, Vol. 70, No. 9, p. 3262-3266, [https://www.revistadechimie.ro/article\\_ro.asp?ID=7567](https://www.revistadechimie.ro/article_ro.asp?ID=7567)

### II. Articole publicate în reviste indexate în baze de date internaționale

1. **Gabriel-Alin Iosob**, Valentin Nedeff, Maria Prisecaru, Tina Oana Cristea, 2019, *Extraction and estimation of chlorophyll content in cabbage seedling leaves (Brassica oleracea L. Silviana variety) grown in soil contaminated with different concentrations of Cadmium and Copper*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 1, p. 66-70, Print ISSN: 1224-919X



- el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201901&vol=28&aid=5036>;
2. Ana Maria Nechita, Nelly-Lili Finaru, Crina-Andreea Antal, Tina Oana Cristea, Creola Brezeanu, **Gabriel-Alin Iosob**, 2019, *Study on the fruit morphology and agronomic characteristics of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties with determinated and undetermined growth*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 1, p. 84-89, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201901&vol=28&aid=5039>;
  3. Maria Prisecaru, Daniela Tiță, Florian Prisecaru, Ionuț Stoica, **Alin Gabriel Iosob**, Tina Oana Cristea, 2019, *Imunoenzymatic investigations in viral infectionshepatic B and C*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 2, p. 35-42, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201902&vol=28&aid=5058>;
  4. Maria Prisecaru, Daniela Tiță, Roibu Lilia, Ionuț Stoica, **Alin Gabriel Iosob**, Maria Călin, Tina Oana Cristea, Florian Prisecaru, 2019, *Imunoenzymatic researchin pancreatic diseases*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 2, p. 15-21, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201902&vol=28&aid=5054>;
  5. Maria Prisecaru, Luiza Andrei, Ionuț Stoica, Maria Călin, Tina Oana Cristea, **Alin Gabriel Iosob**, Florian Prisecaru, 2019, *An indirect method of risk assessment of children's cancer*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 2, p. 47-53, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201902&vol=28&aid=5060>;

6. Maria Prisecaru, Adriana Popescu, Ionuț Stoica, Daniela Tiță, **Alin Gabriel Iosob**, Maria Călin, Tina Oana Cristea, 2019, *Variations of some myocardial citolization enzymes in acute myocardial infarct*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 2, p. 66-76, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201902&vol=28&aid=5063>;
7. Maria Prisecaru, Daniela Tiță, Olga Cravăț, Ionuț Stoica, **Alin Gabriel Iosob**, Florian Prisecaru, Maria Călin, Tina Oana Cristea, 2019, *Useful biomarkers in cardiopathy diagnosis*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 2, p. 89-94, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201902&vol=28&aid=5066>;
8. Maria Călin, Tina Oana Cristea, Silvica Ambăruș, Creola Brezeanu, Petre Marian Brezeanu, **Gabriel Alin Iosob**, Petru Sebastian Muscalu, Maria Prisecaru, 2019, *Study of tomato pests in organic agriculture*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 2, p. 43-46, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201902&vol=28&aid=5059>;
9. Maria Călin, Tina Oana Cristea, Silvica Ambăruș, Creola Brezeanu, Brezeanu Petre Marian, Nelly-Lili Fanaru, Ana Maria Nechita, Crina Andreea Antal, **Gabriel Alin Iosob**, Sebastian Petru Muscalu, Maria Prisecaru, 2019, *Study of the bacterial leaf spot of pepper – Xanthomonas vesicatoria doidge in organic agriculture*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 2, p. 77-80, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201902&vol=28&aid=5064>;
10. Maria Calin, Tina Oana Cristea, Silvica Ambăruș, Creola Brezeanu, Petre Marian Brezeanu, **Gabriel Alin Iosob**, Petre Sebastian Muscalu, Maria Prisecaru, 2019, *REVIEW - Study of Solanaceae and Cucurbitaceae*

- diseases*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 1, p. 141-153, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201901&vol=28&aid=5030>;
11. Sebastian-Petru Muscalu, Neculai Munteanu, Petre Marian Brezeanu, **Gabriel-Alin Iosob**, 2019, *The study of the influence of some organic products on the germination of cucumber seeds*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 1, p. 34-37, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201901&vol=28&aid=5030>;
12. Tina Oana Cristea, Maria Calin, Silvia Ambarus, Creola Brezeanu, Petre Marian Brezeanu, **Gabriel-Alin Iosob**, Nelly Fânaru, Ana Maria Nechita, Maria Prisecaru, 2019, *Cytogenetic response of exogenous addition of silver nitrate in culture media designed for mass propagation of Allium cepa plants*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 1, p. 90-93, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201901&vol=28&aid=5040>;
13. Tina Oana Cristea, Maria Calin, **Gabriel -Alin Iosob**, Nelly Fânaru, Ana Maria Nechita, Maria Prisecaru, 2019, *Morphogenetic studies concerning the main haploid pathways "in vitro" at Brassica oleracea var. Italica L.*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 28, Nr. 1, p. 129-131, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201901&vol=28&aid=5047>;
14. **Gabriel Alin Iosob**, Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, Tina Oana Cristea, 2018 - *Study of caffeine and nicotine effect on mitotic division in wheat (Triticum aestivum L.)*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 27, Nr. 1, p. 95-103, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater; <http://pubs.ub.ro/dwnl.php?id=SCSB201801V27S01A0014>

15. **Gabriel Alin Iosob**, Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, 2018, *Observation on growth in captivity of amphibian species from Salamandridae family - Salamandra facil sub-species salamandra (Linnaeus,1758)*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 27, Nr. 2, p. 80-87, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater;  
<http://pubs.ub.ro/dwnl.php?id=SCSB201802V27S01A0014>
16. Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, **Gabriel Alin Iosob**, Maria Călin, 2018 - *The study of composition in soluble sugars at haploid gametoclones with gynogenetic origin*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 27, Nr. 1, p. 120-123, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater;  
<http://pubs.ub.ro/dwnl.php?id=SCSB201801V27S01A0018>
17. Maria Prisecaru, Cocuța Barabaș, Ionuț Stoica, **Gabriel Alin Iosob**, 2018 - *Study of variability of serial parathormone on patients dialized*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 27, Nr. 2, p. 27-33, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater;  
<http://pubs.ub.ro/dwnl.php?id=SCSB201802V27S01A0005>
18. Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, **Gabriel Alin Iosob**, 2018 - *Study on infection with rabic virus in wild and domestic animals*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 27, Nr. 2, p. 68-72, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater;  
<http://pubs.ub.ro/dwnl.php?id=SCSB201802V27S01A0011>
19. Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, Denisa Hanganu, **Gabriel Alin Iosob**, 2018 - *Involving thyroidian hormones in human pathology*, „Scientific Studies and Research. Biology”, Vol. 27, Nr. 2, p. 94-100, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater;  
<http://pubs.ub.ro/dwnl.php?id=SCSB201802V27S01A0016>
20. Florian Prisecaru, **Alin Gabriel Iosob**, 2017, *Considerations on the evolution of ecological status of the Ciobanus and Uz rivers*, „Scientific Studies and Research. Biology” 26/1, p. 35-43, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201701&vol=26&aid=465>

21. Florian Prisecaru, **Alin Gabriel Iosob**, 2017, *Monitoring of cadmium (Cd) in Trotuș hydrographic basin*, „Scientific Studies and Research. Biology” 26/1, p. 44-46, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201701&vol=26&aid=4660>;
22. Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, **Alin Gabriel Iosob**, Roxana Voicu, 2017, *Observations concerning the incidence of different cancer forms in the Bacău county population*, „Scientific Studies and Research. Biology” 26/2, p. 24-31, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201702&vol=26&aid=4663>;
23. Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, **Alin Gabriel Iosob**, Roxana Voicu, 2017, *Observations on some aspects of human masculine infertility*, „Scientific Studies and Research. Biology” 26/2, p. 32-35, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201702&vol=26&aid=4664>;
24. Maria Prisecaru, Daniela Nicuță, Ionuț Stoica, **Alin Gabriel Iosob**, Nicoleta Neșu, 2017, *Study on leukemic incidence and the relevance of the values of hematological parameters in diagnosis*, „Scientific Studies and Research. Biology”, 26/2, p. 43-48, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201702&vol=26&aid=4666>;
25. Maria Prisecaru, Tina Oana Cristea, Ionuț Stoica, **Alin Gabriel Iosob**, Florian Prisecaru, Lenuța Rusăscu, Maria Călin, 2017, *Risks in the consumption of drinking water polluted with nitrates*, „Scientific Studies and Research. Biology” 26/2, p. 58-66, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater,  
<http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201702&vol=26&aid=4668>;

26. **Alin Gabriel Iosob**, Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, Lidia Comănescu, 2017, *Observations on normal and pathological cytology of the urinary sediment*, „Scientific Studies and Research. Biology”, 26/2, p. 75-83, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201702&vol=26&aid=4670>;
27. Maria Prisecaru, Ovidia Moglan, Ionuț Stoica, **Alin Iosob**, 2016, *Studies on parasitic infections and infestations in children*, „Scientific Studies and Research. Biology”, 25/2, p. 64-70, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201602&vol=25&aid=4597>;
28. Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, **Alin Iosob**, Tina Oana Cristea, 2016, *Comparative study in men and women of variation biochemical indicators with diagnostic value in hypertension*, „Scientific Studies and Research. Biology” 25/2, p. 23-30, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201602&vol=25&aid=4591>;
29. Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, **Alin Iosob**, Tina Oana Cristea, 2016, *Comparative study in men and women of variation biochemical indicators with diagnostic value in hypertension*, „Scientific Studies and Research. Biology” 25/2, p. 23-30, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201602&vol=25&aid=4591>;
30. **Gabriel-Alin Iosob**, Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, 2016, *Contributions concerning the current status of amphibian species in Roman town and its surroundings*, „Scientific Studies and Research. Biology”, 25/2 41-50, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201602&vol=25&aid=4594>;

31. **Gabriel-Alin Iosob**, Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, Maria Călin, Tina Oana Cristea, 2016, *Biological remediation of soil polluted with oil products: an overview of available technologies*, „Scientific Studies and Research. Biology” 25/2, 89-101, Print ISSN: 1224-919X el ISSN: 2457-5178, Ed. Alma Mater, <http://pubs.ub.ro/?pg=revues&rev=scsb&num=201602&vol=25&aid=4601>;

### III. Articole susținute la conferințe și publicate în volumele conferințelor

#### Conferințe internaționale în străinătate:

1. **Gabriel-Alin IOSOB**, Maria PRISECARU, Florin PRISECARU, Iuliana-Mihaela LAZĂR, 2017, *Natural remediation of the main affluents of Trotuș river affected by heavy metals pollution*, The International Conference on Environmental Engineering and Management, ICEEM09, Bologna, oral presentation;

#### Conferințe internaționale în țară:

1. **Gabriel-Alin IOSOB**, Maria PRISECARU, Ionuț STOICA, Iuliana Mihaela LAZĂR, 2018, *A Swot Analysis on the Effects of Heavy Metal Contaminated Wastewater Use in Irrigation of Vegetable Crops*, ELSEDIMA International Conference – 17 – 19 May 2018, Cluj-Napoca, Romania, Poster;
2. **Gabriel-Alin IOSOB**, Maria PRISECARU, Ionuț STOICA, Ioana ȘTEFĂNESCU, 2016, *A swot analysis related to in-situ and ex-situ bioremediation of soil contaminated with heavy metals*, International Conference. Environmental Legislation, Safety Engineering and Disaster Management ELSEDIMA 2016, Cluj, poster;

#### Sesiuni de comunicări științifice

1. **Alin-Gabriel Iosob**, Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, 2017, *The need to conserve the crested and common newt [Triturus cristatus (Laurenti, 1768) and Lissotriton vulgaris (Linnaeus, 1758)], from Gâdiniți forest area, in Neamț county*, Sesiunea de Comunicări Științifice Ecologia și Protecția Ecosistemelor Ediția a XII-a, EPE Bacău, poster
2. **Gabriel-Alin Iosob**, Maria Prisecaru, Iuliana-Mihaela Lazar, 2015, *Microorganismele utilizate în bioremedierea solurilor poluate cu produse petroliere*, Sesiunea de Comunicări Științifice Ecologia și Protecția Ecosistemelor Ediția a XI-a, EPE Bacău, oral presentation

#### **IV. Participare cursuri/seminarii/module de studiu/module de cercetare**

1. Participare la cursul de formare G2P-SOL Advanced Training School, 29.04-02.05.2019, Universitatea și Centru de Cercetare din Wageningen (WUR-DLO), Wageningen, Olanda,

#### **V. Contracte de cercetare**

1. PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0659 – 2018-2020 - *Innovative technologies to reduce the negative impact of climate change in legume cultures*, (membru în echipă);

#### **VI. Burse de studii doctorale și stagii de pregătire**

1. 05.Mai.2016 - 01.August.2016: realizarea unui stagiului ERASMUS+ de pregătire la Universitatea din Porto și Centrul interdisciplinar CIMAR de cercetare marină și ambientală, Portugalia, Titlul stagiului: *Cercetare privind bioremedierea solurilor contaminate cu metale grele*;



## VII. Referate prezentate

1.	Stadiul actual al cunoștințelor privind poluarea solurilor cu metale grele și problematica contaminării produselor agricole vegetale cu metale grele
2.	Metode de investigare și protocoalele de lucru specifice pentru studiul ecotoxicității solului poluat cu metale grele în sistemul agroecobiologic al unor specii legumicole de interes economic ( <i>Capsicum annuum</i> , <i>Lactuca sativa</i> , <i>Allium cepa</i> )
3.	Rezultate preliminare privind ecotoxicologia solului contaminat cu metale grele asupra unor plante de interes economic

## VIII. Examine susținute

1.	Managementul proiectelor de cercetare științifică
2.	Modelare fizică și principii privind achiziția și prelucrarea datelor experimentale
3.	Modelare matematică și principii privind simularea numerică
4.	Noțiuni și norme de legislație a drepturilor de proprietate intelectuală și de etică în cercetare
<b>Proiect de cercetare științifică:</b> <ol style="list-style-type: none"> <li><i>Cercetări ecotoxicologice a solurilor contaminate cu metale grele (Cu, Ni) datorate activităților antropice (prezentare Bacău 2016)</i></li> </ol>	

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- [1] J. O. Duruibe, M. O. C. Ogwuegbu, and J. N. Ekwurugwu, "Heavy metal pollution and human biotoxic effects," *International Journal of physical sciences*, vol. 2, no. 5, pp. 112-118, 2007.
- [2] N. W. Lepp, *Effect of heavy metal pollution on plants: metals in the environment*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [3] I. Puia, V. Soran, and I. Rotar, *Agroecologie, ecologism, ecologizare*. Cluj-Napoca: Genesis, 1998.
- [4] K. A. Hietala and T. M. Roane, "Microbial Remediation of Metals in Soils," in *Advances in Applied Bioremediation*, vol. 17no. Soil biology): Springer, 2009, pp. 201-220.
- [5] K. Vaxevanidou, N. Papassiopi, and I. J. C. Paspaliaris, "Removal of heavy metals and arsenic from contaminated soils using bioremediation and chelant extraction techniques," vol. 70, no. 8, pp. 1329-1337, 2008.
- [6] R. Narendrula-Kotha, G. Theriault, M. Mehes-Smith, K. Kalubi, and K. Nkongolo, "Metal Toxicity and Resistance in Plants and Microorganisms in Terrestrial Ecosystems," *Rev Environ Contam Toxicol*, vol. 249, pp. 1-27, 2020.
- [7] M. Shahid *et al.*, "Ecotoxicology of Heavy Metal(loid)-Enriched Particulate Matter: Foliar Accumulation by Plants and Health Impacts," *Rev Environ Contam Toxicol*, Jan 3 2019.
- [8] R. Khanam *et al.*, "Metal(loid)s (As, Hg, Se, Pb and Cd) in paddy soil: Bioavailability and potential risk to human health," *Sci Total Environ*, vol. 699, p. 134330, Jan 10 2020.
- [9] P. Zeng *et al.*, "Phytoextraction potential of *Pteris vittata* L. co-planted with woody species for As, Cd, Pb and Zn in contaminated soil," *Sci Total Environ*, vol. 650, no. Pt 1, pp. 594-603, Feb 10 2019.
- [10] M. N. V. Prasad and K. Strzalka, M. N. V. Prasad and K. Strzalka, Eds. *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. Springer Science+Business Media Dordrecht, 2002, p. 433.
- [11] P. Wang *et al.*, "Apportionment of sources of heavy metals to agricultural soils using isotope fingerprints and multivariate statistical analyses," *Environ Pollut*, vol. 249, pp. 208-216, Jun 2019.
- [12] J. H. Duffus, "" Heavy metals" a meaningless term?(IUPAC Technical Report)," *Pure and applied chemistry*, vol. 74, no. 5, pp. 793-807, 2002.
- [13] B. J. Alloway, "Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability," *Environmental Pollution*, vol. 22, pp. 11-50, 2013.
- [14] A. Mitra, "Heavy Metal Status in the Lower Gangetic Delta," 2019, pp. 113-156.
- [15] E. Siegel, *Environmental Geochemistry of Potentially Toxic Metals*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2002.
- [16] P. C. Nagajyoti, K. D. Lee, and T. V. M. Sreekanth, "Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review," *Environmental Chemistry Letters*, vol. 8, no. 3, pp. 199-216, 2010.

- [17] M. S. Askari, P. Alamdari, S. Chahardoli, and A. Afshari, "Quantification of heavy metal pollution for environmental assessment of soil condition," *Environ Monit Assess*, vol. 192, no. 3, p. 162, Feb 4 2020.
- [18] R. A. Wuana and F. O. Okieimen, "Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation," vol. 2011, 2011.
- [19] M. Butnariu and A. Butu, "Microbial Nanobionics: Application of Nanobiosensors in Microbial Growth and Diagnostics," in *Microbial Nanobionics*: Springer, 2019, pp. 193-227.
- [20] H. Eijsackers, A. Reinecke, S. Reinecke, and M. Maboeta, "Heavy Metal Threats to Plants and Soil Life in Southern Africa: Present Knowledge and Consequences for Ecological Risk Assessment," in *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 249*, P. de Voogt, Ed. Cham: Springer International Publishing, 2020, pp. 29-70.
- [21] R. Šiukštė *et al.*, "Response of Tradescantia plants to oxidative stress induced by heavy metal pollution of soils from industrial areas," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 26, no. 1, pp. 44-61, 2019/01/01 2019.
- [22] C. Fossi and C. Leonzio, *Nondestructive biomarkers in vertebrates*. CRC Press, 2020.
- [23] L. Nasreddine and D. Parent-Massin, "Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry?," *Toxicology letters*, vol. 127, no. 1-3, pp. 29-41, 2002.
- [24] P. K. Rai, S. S. Lee, M. Zhang, Y. F. Tsang, and K.-H. Kim, "Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management," *Environmental International*, vol. 125, pp. 365-385, 2019.
- [25] A. Sharma and A. K. Nagpal, "Contamination of vegetables with heavy metals across the globe: hampering food security goal," *Journal of food science and technology*, vol. 57, no. 2, pp. 391-403, 2020.
- [26] A. Gebrekidan and A. A. Desta, "Assessment on the levels of selected essential and non-essential metals in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) collected from Sheraro Town, Northwest Tigray, Ethiopia," *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, vol. 33, no. 2, pp. 191-202, 2019.
- [27] M. I. Dar, I. D. Green, and F. A. Khan, "Trace metal contamination: Transfer and fate in food chains of terrestrial invertebrates," *Food Webs*, vol. 20, p. e00116, 2019.
- [28] M. A. Zoroddu, J. Aaseth, G. Crisponi, S. Medici, M. Peana, and V. M. Nurchi, "The essential metals for humans: a brief overview," *Journal of inorganic biochemistry*, vol. 195, pp. 120-129, 2019.
- [29] I.-A. Simionov *et al.*, "Bioconcentration of Essential and Nonessential Elements in Black Sea Turbot (*Psetta Maxima* Maeotica Linnaeus, 1758) in Relation to Fish Gender," *Journal of Marine Science and Engineering*, vol. 7, no. 12, p. 466, 2019.
- [30] L. P. de Carvalho, J. Held, and E. J. T. de Melo, "Essential and nonessential metal effects on extracellular *Leishmania amazonensis* in vitro," *Experimental Parasitology*, vol. 209, p. 107826, 2020.
- [31] X. Zhao, "Land Contamination Legislation in China: The Emerging Challenges," in *Environmental Policy and Governance in China*, H. Kitagawa, Ed. Tokyo: Springer Japan, 2017, pp. 47-67.

- [32] H. Kitagawa, *Environmental Policy and Governance in China*. Springer Japan KK, 2017, p. 198.
- [33] L. Montanarella *et al.*, "Status of the World's Soil Resources Main report," 2015.
- [34] B. J. Alloway, "Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability," *Environmental Pollution*, vol. 22, pp. 11-50, 2013.
- [35] V. Dumitrescu, "Contribuții la fundamentarea măsurilor de control al mobilității metalelor în bazinul Ampoiului," Licența Licență, Universitatea din București, 2011.
- [36] D. Guo *et al.*, "Streptomyces pactum combined with manure compost alters soil fertility and enzymatic activities, enhancing phytoextraction of potentially toxic metals (PTMs) in a smelter-contaminated soil," *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 181, pp. 312-320, Oct 15 2019.
- [37] I. Ahmad, M. J. Akhtar, Z. A. Zahir, and A. J. P. J. B. Jamil, "Effect of cadmium on seed germination and seedling growth of four wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars," vol. 44, no. 5, pp. 1569-1574, 2012.
- [38] P. Tripodi and S. Kumar, "The Capsicum Crop: An Introduction," in *The Capsicum Genome*, N. Ramchiary and C. Kole, Eds. Cham: Springer International Publishing, 2019, pp. 1-8.
- [39] C. Maria, *Ghidul cultivării legumelor în agricultură biologică*. Bacău: Alma Mater, 2010, p. 327.
- [40] A. Aguilar-Meléndez, P. L. Morrell, M. L. Roose, and S. C. J. A. J. o. B. Kim, "Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annum*; Solanaceae) from Mexico," vol. 96, no. 6, pp. 1190-1202, 2009.
- [41] V. Luchian, "Legumicultura generala si speciala, Ed," *Elisavaros, Bucuresti*, 2007.
- [42] R. Ciofu *et al.*, *Tratat de legumicultură*. București: Editura Ceres, 2004, pp. 688-689.
- [43] A. Maria and A. L. Apahidean, "S..(2000b) Legumicultură generală, vol. II, Ed," *Risoprint, Cluj-Napoca*.
- [44] G. Poșta and V. Berar, *Legumicultură generală: îndrumar pentru lucrări practice*. Mirton, 2008.
- [45] N. T. Stan and T. N. Stan, *Legumicultură generală*. Editura "Ion Ionescu de la Brad", 2010.
- [46] N. Stan, N. Munteanu, and T. Stan, *Legumicultură*. Iași: Ed., Ion Ionescu de la Brad", Iași, 2003, p. 310.
- [47] N. Stan and N. Munteanu, *Legumicultură*. Iași: Editura Ion Ionescu de la Brad, 2001, p. 240.
- [48] M. Ruscitti, M. Arango, and J. Beltrano, "Improvement of copper stress tolerance in pepper plants (*Capsicum annum* L.) by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi," *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, vol. 29, no. 1, pp. 37-49, 2017.
- [49] S. Rawat, "Effects Of Unweathered Or Soil Weathered Copper-Based Nanoparticles And Compounds On Soil Grown Bell Pepper (*capsicum Annum*) And Spinach (*spinacia Oleracea*) Plants," 2018.
- [50] F. A. Lone and N. A. Kirmani, "Effect of Sewage Sludge and Inorganic Fertilizers on Growth Performance of Bell Pepper (*Capsicum annum* var.

- Nishat-1) under Temperate Conditions of Kashmir," *Applied Biological Research*, vol. 20, no. 2, pp. 130-136, 2018.
- [51] L. S. Silva *et al.*, "Investigation of heavy metal accumulation in soil, water and plants in areas with intensive horticulture," *Australian Journal of Crop Science*, vol. 13, no. 2, p. 192, 2019.
- [52] L. Stoian, *Ghid practic pentru cultura biologică a legumelor*. Editura Tipoactiv.
- [53] C. Gómez-Campo and S. Prakash, "2 Origin and domestication," in *Developments in Plant Genetics and Breeding*, vol. 4, C. Gómez-Campo, Ed.: Elsevier, 1999, pp. 33-58.
- [54] L. Maggioni, R. von Bothmer, G. Poulsen, and F. Branca, "Origin and domestication of cole crops (*Brassica oleracea* L.): linguistic and literary considerations," *Economic botany*, vol. 64, no. 2, pp. 109-123, 2010.
- [55] S. Khan, S. Rehman, A. Z. Khan, M. A. Khan, and M. T. Shah, "Soil and vegetables enrichment with heavy metals from geological sources in Gilgit, northern Pakistan," *Ecotoxicology and environmental safety*, vol. 73, no. 7, pp. 1820-1827, 2010.
- [56] C. Radulescu, C. Stîhi, I. V. Popescu, I. D. Dulama, E. D. Chelarescu, and A. Chilian, "Heavy metal accumulation and translocation in different parts of *Brassica oleracea* L.," *Romanian Journal of Physics*, vol. 58, no. 9-10, pp. 1337-1354, 2013.
- [57] FAOSTAT. (2020), accesat 6 mai 2020). *Chillies and pepper, green*. Available: <http://www.fao.org/faostat/en/#compare>
- [58] L. Bett, O. Gilbert, W. Phanice, and S. Mule, "Determination of Some Heavy Metals in Soils and Vegetables Samples from Kericho West Sub-county, Kenya," *Chemical Science International Journal*, pp. 1-10, 2019.
- [59] OECD, *Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test*. 2006.
- [60] V. Berar and G. Poșta, *Legumicultura* (Curs Facultatea de Horticultură - Învățământ la distanță). Timișoara, 2005.
- [61] \*\*\*, Manual de Espectrofotometru Boeco Manual S20: BOE 8630501 / BOE 8630531. [Online]. Available: [https://issuu.com/laboratorio\\_hu/docs/manual\\_de\\_espectrofotometru\\_b\\_oeco\\_manual\\_s20\\_s](https://issuu.com/laboratorio_hu/docs/manual_de_espectrofotometru_b_oeco_manual_s20_s). Accessed on 19 iul 2020.
- [62] C. Soares, S. Branco-Neves, A. de Sousa, J. Teixeira, R. Pereira, and F. Fidalgo, "Can nano-SiO<sub>2</sub> reduce the phytotoxicity of acetaminophen? - A physiological, biochemical and molecular approach," *Environ Pollut*, vol. 241, pp. 900-911, Oct 2018.
- [63] G.-A. Iosob, V. Nedeff, M. Prisecaru, and T. O. Cristea, "Extraction and estimation of chlorophyll content in cabbage seedling leaves (*Brassica oleracea* L. Silvana variety) grown in soil contaminated with different concentrations of cadmium and copper," *Studii și Cercetări Biologie*, vol. 28, pp. 66-70, 2019.
- [64] S. Toscano, D. Romano, A. Tribulato, and C. Patanè, "Effects of drought stress on seed germination of ornamental sunflowers," *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 39, no. 8, p. 184, 2017/07/27 2017.
- [65] M. Hejna *et al.*, "Bioaccumulation of heavy metals from wastewater through a *Typha latifolia* and *Thelypteris palustris* phytoremediation system," vol. 241, p. 125018, 2020.

- [66] R. Xiao, S. Wang, R. Li, J. J. Wang, and Z. Zhang, "Soil heavy metal contamination and health risks associated with artisanal gold mining in Tongguan, Shaanxi, China," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 141, pp. 17-24, 2017/07/01/ 2017.
- [67] S. K. Agarwal, *Heavy Metal Pollution*. New Delhi: S.B Nangia, 2009, p. 270.
- [68] J. P. Goullé and L. Grangeot-Keros, "Aluminum and vaccines: current state of knowledge," *Medecine et maladies infectieuses*, vol. 50, no. 1, pp. 16-21, 2020.
- [69] P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, and D. J. Sutton, "Heavy Metal Toxicity and the Environment," in *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology: Volume 3: Environmental Toxicology*, A. Luch, Ed. Basel: Springer Basel, 2012, pp. 133-164.
- [70] *ORDIN nr. 756 din 3 noiembrie 1997 pentru aprobarea Reglementarii privind evaluarea poluării mediului* p. s. p. m. Ministrul apelor, 1997.