

Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului  
“Regele Mihai I al României” din Timișoara

Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara



**BAROGA R. MIHAI**

# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**Evaluarea riscului de poluare a solului și  
a râului Jiu în județele Gorj și Dolj prin metode  
chimice și biologice**

**Conducător științific**

**Prof. Dr. CRISTINA ROMEO TEODOR**

**T i m i ș o a r a  
2021**

Banat's University of Agriculture and Veterinary Medicine  
"King Michael I of Romania" from Timișoara

**Faculty of Veterinary Medicine Timișoara**



**BAROGA R. MIHAI**

# **DOCTORAL THESIS**

**Pollution risk assessment of the of soil and Jiu  
river in Gorj and Dolj counties by chemical  
and biological methods**

Scientific advisor

**Prof. Dr. CRISTINA ROMEO TEODOR**

**T i m i ș o a r a**

**2001**

## Rezumatul tezei de doctorat

### Evaluarea riscului de poluare a solului și a râului Jiu în județele Gorj și Dolj prin metode chimice și biologice

#### Prezenta teză conține:

*Lista abrevierilor folosite*

*Rezumatul în limba Română și Engleză*

*Parte de cercetări bibliografice:* 44 pagini

*Parte de cercetări proprii fără bibliografie:* 129 pagini

*Tabele:* 48

*Figuri:* 83

*Surse bibliografice:* 305 titluri

#### Motivația alegerii temei de cercetare

În România două sectoare de activitate au o contribuție decisivă la emisiile de poluanți de natură organică: Poluarea industrială și agricolă este o urmare nedorită a intensificării activităților din aceste domenii rezultanta fiind afectarea directă a calității solurilor.

Categoriile de poluare a solurilor în România au fost descrise pentru prima oară în anul 1987, în volumul II din Metodologia elaborării studiilor pedologice și mai apoi din 2003, în Sistemul de Taxonomie a Solurilor, gradul de poluare fiind categorisit în 5 categorii, stabilite după rata reducerii recoltei comparativ cu producțiile obținute pe soluri nepoluate, sau prin depășirea limitelor stabilite prin Ordinul pentru aprobarea reglementării referitor la evaluarea poluării mediului (nr. 756 din 1997), modificat prin Ordinul 592 din 2002 (Ord. 756 din 1997). Încă din 2004, Agenția Europeană de Mediu (AEM) a stabilit un set de bază denumit *Core Set Indicators (CSI)* care cuprindea 37 de indicatori de mediu generali. În acest sens, pentru întocmirea Raportului național anual cu privire la Starea Mediului în România, setul de indicatori propus a fost adaptat în conformitate cu prevederile OMMAP 618/30.03.2015, unde, pe lângă cei 37 de indicatori majori, legați de poluarea aerului, biodiversitate, schimbările climatice, sol, deșeuri, resursele de apă, agricultură, energie, piscicultură și transporturi, au mai fost adăugați încă 34 de indicatori specifici, rezultând un total de 71 de indicatori.

În același context apele naturale conțin numeroase impurități de natură minerală și organică, dizolvate (săruri, gaze) sau împrăștiate, organisme biologice, substanțe biogene și au anumite caracteristici organoleptice, biologice, bacteriologice, fizice și chimice.

Adaptarea diferitelor organisme animale și vegetale la condițiile ecologice permite utilizarea lor ca indicatori ai calității apei din sursele naturale fapt ce a stimulat colectivele de cercetători să identifice noi metode rapide de decelare a riscului poluării.

Tot în acest context, în raportul Comisiei Europene intitulat "*Towards a Thematic Strategy for Soil Protection*", au fost identificate principalele opt restricții pentru solurile din Europa, între acestea un loc important fiind ocupat poluarea solului cu metalele grele.

Unele metale grele, ca de exemplu: Cu, Co, Zn, Mn sunt considerate indispensabile pentru animale și plante, altele doar pentru animale (ex. cromul și nichelul) iar altele ca plumbul și cadmiul, în special când prin solubilizarea lor sunt depășite limitele maxime admisibile devin nocive pentru mediu, plante și animale. Poluanții surselor de apă dulce,

prin potențialul lor de risc, pot afecta sănătatea umană și animală, actualmente fiind concepute numeroase teste de risc, ghiduri și standarde, validate / în validare și în aplicare.

#### **Obiectivele generale ale tezei**

Prezenta teză doctorală își propune să aducă informații noi și de actualitate în gestionarea fenomenului poluării solului și apelor prin utilizarea metodologiilor moderne recomandate ca și cromatografia sau aplicarea metodologiilor OECD pe organisme vii în modele experimentale propunându-se:

- identificarea principiilor elemente fizico-chimice ale apelor;
- utilizarea formelor juvenile de sturioni, în cazul nostru cega (*Acipenser ruthenus*) și
- a râmelor de gunoi (*Eisenia fetida*).

#### **Actualitatea studiului**

Este dată de studiile de implementare a metodologiilor de detectare a riscului de poluare a apelor și solurilor prin aplicații *in vivo* și *in vitro* moderne. Studiile inițiale au arătat că peștii sunt suficient de sensibili pentru a detecta poluanții din ape, atât în studii acute, cât și pe termen lung. Tot mai mulți cercetători utilizează testele de toxicitate asupra embrionilor și larvelor ca alternative viabile la testele de toxicitate acută sau cronică pentru peștii, deoarece acestea s-au dovedit a fi instrumente perfect valabile pentru a evalua potențialul de toxicitate

**Cuvinte cheie:** *poluare sol - apă, screening, studiu acut, plumb, OECD, test static pe râme (Eisenia fetida), ISO, juvenili, Acipenser ruthenus, Eisenia fetida, Gorj, Dolj.*

#### **Locul desfășurării experimentelor:**

- Complexul de laboratoare de cercetare „Horia Cernescu” (CLCCH) – Laboratorul de cercetări toxico-farmacologice (B.12), infrastructură finanțată prin proiectul RO 05. Cod SMIS-CSNR 2669 (USAMVBT).
- Laboratorul disciplinei de farmacologie – FMV Timișoara.
- Laboratorul disciplinei toxicologie – FMV Timișoara.
- Laboratorul de biologie celulară și moleculară – FMV Timișoara.
- Laboratorul Departamentului de Piscicultură de la Facultatea de Bioingineria resurselor Animale Timișoara și stațiunea Pădurea Verde Timișoara.
- Laboratorul disciplinei de anatomie patologică și necropsie – FMV Timișoara.

#### **Metodologia aplicată:**

- *Analiza spectrofotometrică a parametrilor apei Jiului.*
- *Analiza parametrilor specifici din modelul in vitro folosind analizorul portabil model Hach HQ40D (Hach Products, Germania).*
- *Observația comportamentului și modificărilor organice ale peștilor la un microscopul modelul Kruss Optronic GmbH (Germania).*
- *Testele OECD nr. 236 și 210, adoptate în 2013 ca analize de risc acute.*
- *Testul ISO-11268-2:2015*
- *Analiza statistică – software Graph Pad Prism 6.0 pentru Windows prin ANOVA (Two-way ANOVA).*

În conformitate cu instrucțiunile în vigoare teza este compusă din două părți mari:

- *Partea generală – Stadiul actual al cunoașterii*
- *Cercetările proprii*

## I. Partea generală

### Stadiul actual al cunoașterii

Este extinsă pe **44 de pagini** (25,4% din teză) și structurată în **două capitole** incluzând **cinci subcapitole**.

#### Capitolul 1. Poluarea solului și apelor

**Subcapitolul 1.1.** face o scurtă descriere a principalelor caracteristici ale solurilor, principalele surse de poluare biologică, industrială și agricolă, cu prezentarea activității metalelor grele, hidrocarburilor

În **subcapitolul 1.2.** se face descrierea surselor de apă și principalele caracteristici ale acesteia, se prezintă principalele surse de poluare biologică.

**Subcapitolul 1.3.** tratează impactul dejecțiilor asupra mediului și principalii factori care influențează cinetica în sol a bacteriilor, tot aici se analizează impactul poluării cu azotați și azotiți asupra homeostaziei mediului.

Concentrațiile mari ale nitraților pot fi foarte poluante pentru apele freactice, fiind în directă legătură cu sezonul ploios, azotul având concentrații mai crescute în zonele uscate deoarece rata diluării este foarte scăzută. Cantitățile crescute ale nitraților din apă, poate amplifică ratele de creștere a plantelor și algelor din lacuri și cursurile de apă, în final antrenând epuizarea surselor de oxigen.

Având un impact negativ asupra mediului ambiant, metalele grele și dejecțiile pot fi prezente în apele reziduale din fermele de animale implicația acestor surse asupra mediului fiind prezentate în acest subcapitol. Un accent deosebit s-a pus pe descrierea metodelor pentru stabilizarea și decontaminarea dejecțiilor.

#### Capitolul 2. Metodologii de determinare a toxicității mediului

**Subcapitolele 2.1.** și **2.2.** sunt dedicate descrierii metodologiilor de determinare a toxicității acute și cronice asupra peștilor. Deasemenea este descisă metodologia de determinare a poluării prin utilizarea râmelor după OECD.

Protocolul utilizează răspunsul unei singure specii, *Eisenia fetida*, aleasă datorită caracteristicii de a nu săpa prea adânc în sol și a preferenței acesteia pentru soluri bogate în materie organică, provenită de obicei din resturi vegetale descompuse sau dejecții animale.

**Subcapitolul 2.3.** descrie metode de identificare a poluanților din ecosistemele apă și sol cu prezentarea indicatorilor de poluare a mediului acvatic, cu prezentarea avantajelor utilizării peștilor zebra transgenici, precum și activitatea benefică a lumbricidelor.

Efectele benefice asupra solului sunt reprezentate de aerarea solului, transportul solului mineral din profunzime spre suprafață și al solului biogen spre profunzime și participă și la procesele de transformare a resturilor vegetale în humus.

## II. Cercetările proprii

Această parte se extinde pe **129 pagini** (reprezentând 74,6% din teză) este compus din **trei** capitole mari precum și capitolele de *Concluzii finale* și relevarea unor aspecte de originalitate / noutate din teză și *Îndrumări pentru practicieni*.

### Capitolul 3. Evaluarea riscului de poluare a râului Jiu în Județele Gorj și Dolj

Fiind un factor important în echilibrele ecologice, poluarea apei și solului poate avea consecințe grave asupra biosferei. Cele două componente esențiale care au condus la intensificarea gradului de utilizare a resurselor naturale au fost și rămân creșterea populației, pe de-o parte, și, dezvoltarea societății umane pe de alta, activitățile antropice de exploatare și valorificarea acestor resurse cunoscând un real progres dar, au și generat cantități apreciabile de reziduuri, emisii poluante care au degradat calitatea mediului. Din păcate, comparând „*strategia*” naturii cu cea a societății omenești, putem constata o contradicție esențială între: echilibrul și armonia din natură vs. tendința omului de a realiza producții maxime, înlocuind ecosistemele naturale cu cele artificiale, majoritatea labile, create și menținute viabile artificial.

#### Obiectivul studiului

- analiza parametrilor chimici și fizico-chimici ale apei Jiului din 15 locații punctuale prin utilizarea unui spectrofotometru portabil performant (valorile pH-ului, durtății, oxigenului dizolvat),
- determinarea azoților și azotaților din probele de apă prelevate,
- detectarea prezenței unor elemente chimice din apa Jiului,
- efectuarea tuturor corelațiilor între elementele identificate și identificarea principalelor surse de poluare ecologică ale râului.

**Cuvintele cheie ale studiului:** *studiu de risc regional, parametri poluare, ape, sol, duritate, pH, oxigen dizolvat, nitrați / nitriți, metale grele.*

#### Locul desfășurării studiului:

Evoluția stării ecologice a râului Jiu a fost investigată pentru o perioadă de doi ani și în sezoane climatice diferite în 15 locații, localizări în amonte și în aval de cei mai mari poluatori ai județelor Gorj și Dolj (respectiv, termocentralele Turceni și Ișalnița). Recoltarea probelor s-a făcut cu înregistrarea coordonatelor GPS, a durtății, pH-ului și oxigenului dizolvat. Pentru determinarea parametrilor chimici și fizico-chimici, în prezenta cercetare a fost folosit spectrofotometrul portabil model DR 1900 (*Hach*, România).

Acesta are avantajul portabilității, compactibilității și greutatea redusă. Aparatul este conceput pentru a rezista la șocuri și umiditate din teren, precum și la accepta cea mai mare gamă dimensională de fiole.

Numărul mare de metode pre-programate (peste 220 de metode de testare a apei încorporate precum și gama de citire largă de până la 800 nm.) oferă rezultate de înaltă

acuratețe tehnică și din acest considerent rata de procesare a datelor ofera o precizie comparabilă cu cea din laborator.

### **Analiza statistică**

Analiza statistică a rezultatelor sa efectuat în programul Excel Microsoft cu generarea graficelor comparative.

### **Rezultate**

În urma prezentului studiu putem concluziona că:

**Valoarea pH-ului** pentru probele de apă recoltate din râul Jiu a variat în funcție de locul de prelevare, de anotimp și de an astfel:

- pentru probele de apă recoltate din Jiu pe teritoriul *județului Gorj* au fost obținute valori ale pH-ului cuprinse între 7,0 și 9,2 în anul 2016 și între 7,4-8,5 în anul 2017;
- pentru probele de apă recoltate pe teritoriul *județului Dolj* au fost obținute valori ale pH-ului cuprinse între 6,0 și 9,2 / 2016 și între 7,0 - 9,0 / 2017;

**Comparând valorile** a două prelevări în lunile ianuarie și iulie ale anilor 2016 și 2017, am constatat că valoarea pH-ului a fost mai ridicată în lunile ianuarie și iulie în 2016 comparativ valorile obținute în aceleași luni ale anului 2017;

**Concentrația oxigenului** din probele de apă prelevate Jiu, atât de pe raza *județului Gorj* cât și *Dolj* a fost crescută atât în anul 2016 cât și 2017, încadrând cf. Ord 161 / 2006, râul Jiu în starea ecologică I (foarte bună);

- valorile cantității de O<sub>2</sub> (mg/L) au fost mai crescute în anul 2016, atât în luna ianuarie cât și iulie, comparativ cu aceeași perioadă a anului 2017;
- valoarea concentrației de O<sub>2</sub> a fost mai scăzută la probele prelevat în aval comparativ cu probele prelevate în amonte;

Pentru probele de apă prelevate din râul Jiu **valorile azotaților și azotiților** au fost pe parcursul:

- *județului Gorj* în anul 2017, valorile azotaților și azotiților au fost *mai crescute* în luna iulie comparativ cu luna august pentru zona Drăguțești-Ionești, valorile obținute încadrând apa Jiului pe acest tronson în clasa de calitate I și II pentru indicatorul azotiți și clasa II și III pentru azotați;
- *județului Dolj* valorile azotaților au fost mai crescute în luna iulie comparativ cu luna august în probele de apă prelevate în aval de Ișalnița, valori care încadrează apa Jiului pe acest tronson în clasa a III-a de calitate;
- Pentru probele de apă recoltate din râul Jiu pe teritoriul *județului Gorj* au fost obținute valori crescute pentru Mn, Cr și Fe în aval de termocentrala de la Rovinari;
- valori crescute de Pb în zona Rovinari, Brebeni și Ionești care încadrează apa în clasa a V-a de ecologizare;
- Pentru probele de apă recoltate din râul Jiu pe teritoriul *județului Dolj* au fost obținute valori crescute pentru Mn (zona Ișalnița -Podari);
- prezența cromului în apa prelevată din punctele P4, P5, P6;
- valori crescute de plumb în zona Ișalnița și pentru cel puțin trei puncte în aval, valori ce încadrează apa în clasa IV și V de ecologizare.

#### **Capitolul 4. Un model original *in vitro* pentru evaluarea efectelor plumbului pe larvele de cegă (*Acipenser ruthenus*)**

Poluanții surselor de apă dulce, prin potențialul lor de risc, pot afecta sănătatea umană și animală, actualmente fiind concepute numeroase teste de risc, ghiduri și standarde, validate / în validare și în aplicare. Se știe că grupurile de vertebrate care răspund fără întârziere dacă mediul este poluat, ca urmare a activităților antropice, sunt peștii.

În câmpul eco-toxicologic și bio-medical, peștii adulți și stadiile lor incipiente sunt utilizate ca mijloace pentru a testa diferite substanțe, de la poluanți industriali până la substanțele active medicamentoase. Metodologiile de identificare a toxicității asupra larvelor/peștilor decelează tipurile de toxicitate acută și/sau letală a diferite matrice chimice asupra peștilor. Metoda solicită cunoașterea proprietăților fizico-chimice ale substanțelor investigate ca de exemplu: hidrofilia, presiunea hidrostatică, stabilitatea fizico-chimică, biodegradabilitatea, etc. pentru alegerea metodei potrivite.

##### ***Locul desfășurării studiului***

- Complexul de laboratoare de cercetare „Horia Cernescu” (CLCCH) – Laboratorul de cercetări toxico-farmacologice (B.12), infrastructură finanțată prin proiectul RO 05. Cod SMIS-CSNR 2669 (USAMVBT).
- Laboratorul disciplinei de farmacologie – FMV Timișoara.
- Laboratorul disciplinei toxicologie – FMV Timișoara.
- Laboratorul de biologie celulară și moleculară – FMV Timișoara
- Laboratorul disciplinei de anatomie patologică și necropsie – FMV Timișoara..
- Laboratorul Departamentului de Piscicultura de la Facultatea de Bioingineria resurselor Animale Timișoara și stațiunea Pădurea Verde Timișoara.

##### **Motivația studiului**

*Motivul* pentru care a fost ales plumbul ca matrice de testat în acest studiu este că din testările anterioare ale apei Jiului efectuate de noi valorile obținute au relevat valori crescute ale plumbului în zonele Rovinari, Brebeni și Ionești, în județul Gorj, fapt care a încadrat această apă în clasa a V-a de ecologizare, respectiv valorile crescute din zona Ișalnița - Podari și pentru cel puțin trei puncte în aval, valori care au încadrat apa în clasele IV și V de ecologizare.

În acest sens scopul cercetării noastre a fost evaluarea efectelor toxice ale plumbului, prin teste acute pe larve de pești cegă (*Acipenser ruthenus*) și monitorizarea tulburărilor de comportament apărute dependent de concentrația de substanță utilizată. Prezenta testare fiind imaginată ca un procedeu util care vine în ajutorul metodologiilor cunoscute din domeniul testelor de eco-toxicitate.

##### **Obiectivul**

Obiectivul a fost descrierea unui test acut de 96 de ore, pe larve (embrioni) de sturioni, mai precis cega (*Acipenser ruthenus*) și aprecierea dacă această specie se potrivește ca instrument uzual de evaluare în investigarea poluării apei.

Studiul a vizat și identificarea principalelor simptome clinice la expunerea la soluțiile de acetat de plumb, prin modificări de ordin: anatomic, morfologic, histologic și mortalitate, prezența acestor modificări de comportament fiind considerate puncte critice de control, dovedindu-se acuratețea rezultatelor obținute în urma testării.



Testele OECD nr. 236 și 210, adoptate în 2013 ca analize de risc acute, au fost adaptate pentru stadiile de eco-toxicitate la sturioni

**Cuvintele cheie ale studiului:** *studiu acut de risc, juvenili, Acipenser ruthenus, plumb, poluarea apelor, testare OECD.*

### Analiza statistică

Valorile statistice înregistrate au fost analizate ca: medie ( $\bar{x}$ ), varianță ( $s$ ), valoare critică (CV), medie ( $Sx$  și  $Sx\%$ ), eroarea mijlocie a mediei ( $\pm SEM$ ), exprimate grafic prin GraphPad Prism 6.0. Windows (GraphPad, San Diego SUA).

Pentru evaluarea diferențelor dintre grupuri, s-a efectuat prin two-ways ANOVA, cu testul  $t$  și, respectiv, corecția multiplă a lui Bonferroni, diferența statistică fiind stabilită la valoarea lui  $p < 0,05$  sau mai mică.

### Rezultate

- Poluarea cu plumb prin potențialul său de risc ecologic alterează sănătatea oamenilor și a animalelor. Efectele detrimentală ale toxicității plumbului diluat în apă au fost evidențiate în modificările anatomice, etologice identificate la larve. Toxicitatea acută la larvele studiate a fost confirmată prin lipsa detașării cozii, abdomenul supradimensionat, hemoragiile din regiunea cardiacă, urmate la scurt timp de absența bătăilor inimii.
- Mortalitatea cea mai mare a fost la concentrația de 400 urmată de 200 ppm larve moarte fiind observate la 12 de ore de la debutul studiului, cu vârf la 72-96 de ore, dependent de concentrație.
- Deși cega (*Acipenser ruthenus*) nu este încă considerată ca standard în testele de toxicologie sau de poluare considerăm că această metodă ar putea fi dezvoltată ca o analiză alternativă,
- Această specie de pești se potrivește ca instrument de evaluare pentru anchetele de poluare ecologică a apei. Larvele de cega au avantajul că se folosesc într-un număr crescut de indivizi, larvele fiind preferate deoarece studiile pe organisme în faza embrionară / larvară nu se supun legislației actuale de protecție a animalelor pe timpul experimentelor.
- S-au găsit, de asemenea, valori statistice semnificative ridicate pentru parametrii de lungime și greutate ai formelor juvenile. Evaluarea grafică a letalității larvelor a evidențiat o legătură certă între numărul de embrioni morți la aceeași concentrație.
- Datele obținute ar putea fi utile pentru a determina concentrația critică a unui singur sau mai mulți contaminanți care pot provoca consecințe considerabile și pentru a actualiza informațiile.
- Modificările cito-histologice ca urmare a expunerii la acetatul de plumb a confirmat modificările morfopatologice observate la indivizii vii expuși mai ales la concentrațiile mari la organele ficat, intestin și rinichi.

## Capitolul 5. Evaluarea riscului ecologic al solului din zona râului Jiu utilizând testul calitativ ISO 11268-2:2015 cu *Eisenia fetida*

### Motivația studiului

Evaluarea contaminării solului și a proceselor dinamice naturale de autopurificare ale solului poate fi realizată prin numeroase mijloace igienice și sanitare identificabile în literatura. Dintre acestea, testele calitative ISO de comportament la dozele subletale de poluanți utilizând testul de evitare al râmelor s-au dovedit a fi printre cele mai eficiente.

În acest sens, *Eisenia fetida* și *Eisenia andrei* sunt considerate reprezentanți ai faunei solului la această oră fiind disponibile numeroase informații despre ecologia râmelor și utilizarea acestora în testarea ecotoxicologică.

În cazul județelor Gorj și Dolj, râul Jiu a fost subiectul numeroaselor amenințări legate de poluarea apei dar și a solurilor din limitofia lui.

Amenințările de-a lungul timpului au fost legate în principal de prezența istorică a celor doi poluatori, termocentralele Turceni și Ișalnița, unde analizele de sol și apă anuale au relevat constant emisii crescute de NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> și metale grele (Pb, Ni, Co, Cr, Cd, Cu) în sol, dar și de NH<sup>4+</sup> (clasa a II-a de calitate), fier (clasa a III-a), NO<sub>3</sub> (clasa V-a de calitate) în apă, la care se adaugă și riscul de poluare cu materii organice. Acest fapt a dus la luarea unor măsuri conservative de mediu justificând continuarea efectuarea unui studiu de identificare a poluării în puncte în amonte și aval de aceste obiective.

Testele pentru evitarea solurilor poluate sunt importante pentru practica de evaluare ecotoxicologică, datorită numeroaselor avantaje pe care le oferă:

- pot fi efectuate cu ușurință;
- au costuri reduse;
- sunt realizate într-un timp scurt;
- iar rezultatele pot fi utilizate cu siguranță pentru a evalua poluarea probelor prelevate din zone cu condiții ecotoxicologice necunoscute.

### Obiectivul

*Obiectivul principal* a fost monitorizarea caracteristicilor etologice și somatice ale râmelor de pământ *Eisenia fetida* pentru o perioadă de 14 zile, conform metodologiei de testare ISO 11268-2:2015, unde s-au comparat rezultatelor obținute pentru un sol curat (considerat martor) vs. solurile suspicinate a fi poluate (cele de testare).

În consecință s-au efectuat analize pe câte patru probe de sol, prelevate la 10 – 30 – 50 - 100 m de axul râului Jiu, replicate de două ori, în cazul nostru în lunile Ianuarie / Februarie, și respectiv Iulie / August pentru o perioadă de doi ani, conform metodologiei ISO acceptate la acest moment. În timpul testelor, nu s-au observat modificări în comportamentul râmelor, cum ar fi prezența lor pe suprafața solului la sfârșitul testului.

De aceea pentru a analiza dacă rata mortalității râmelor este în corelație certă cu un factor exogen poluant sau de natură chimică cu potențial toxic letal pentru organismele vii am efectuat și evaluările *Ratei relative de creșterea greutateii* = RRG (eng. *Relative Growth Rate*) și a *Ratei de creștere specifică* = RCS, (eng. *Specific Growth Rate*).

**Cuvintele cheie ale studiului:** sol, poluare, studiu acut de risc, *Eisenia fetida*, ISO 11268-2:2015

### ***Analiza statistică***

Analiza statistică pe care am folosit-o în acest studiu a fost *Two-way ANOVA* (ANOVA bidirecțională), asociată cu *Tukey multiple comparison test* (Testul de comparație multiplă al lui Tukey), prin utilizarea programului de software Graph Pad Prism 6.0 pentru Windows (Graph Pad Software, San Diego, SUA).

Valorile exprimate ca eroare standard medie ( $\pm$ SEM) au oferit acuratețe, fiind o alegere perfect aplicabilă acestui tip de testare, analizele statistice în aceste cazuri

Evaluarea diferenței dintre grupuri pe cei doi ani și pe județe a fost considerată semnificativă când diferențele înregistrate au avut valoarea lui  $p < 0,05$  sau mai puțin.

Efectele măsurate la râme (mortalitate, modificările de greutate prin: *Rata Relativă de creșterea Greutății / Relative Growth Rate* (RRG) și *Rata de Creștere Specifică / Specific Growth Rate* (RCS) au fost corelate cu substanțele cu potențial poluant suspicinate și cu concentrațiile acestora în țesuturile rămelor, prin coeficienții de corelație Pearson, pentru datele distribuite în normal, sau respectiv coeficienții de corelație Spearman, pentru datele care nu sunt distribuite în mod normal.

### ***Locul desfășurării studiului***

- Complexul de laboratoare de cercetare „*Horia Cernescu*” (CLCHC) – Laboratorul de cercetări toxico-farmacologice (B.12), infrastructură finanțată prin proiectul RO 05. Cod SMIS-CSNR 2669 (USAMVBT).
- Laboratorul disciplinei de farmacologie – FMV Timișoara.
- Laboratorul disciplinei toxicologie – FMV Timișoara.

### ***Metodele utilizate***

Metoda experimentală utilizată în acest studiu a fost în conformitate cu metodologia ISO 11268-2:2015, test pentru testarea toxicității solurilor contaminate, utilizând râme (de exemplu *Eisenia fetida*, *E. andrei* sau *Lumbricus terrestris*), fără reînnoirea solului

### ***Rezultatele***

- Cea mai mare rată de mortalitate la *E. fetida* s-a înregistrat în ordine crescătoare pentru probele recoltate de la distanță de 10 metri și de 30 de metri în punctele de eșantionare: Rovinari, Brebenei și Ionești în județul Gorj și Ișalnița, Podari, Secui și Drănic în județul Dolj. Rezultatele au avut acoperire statistică ( $*p < 0,05$ ).
- Au fost întâlnite letalități dar într-o proporție mult mai mică și la 50 de metri, mai ales în locațiile: Rovinari (GJ) și Podari, Secui și Drănic (DJ), dar nu au fost înregistrate mortalități la 100 de metri de axul râului decât într-un singur caz, în județul Dolj. Rezultatele au fost confirmate statistic fiind înalt semnificative ( $**p < 0,01$  la 10 m și  $###p < 0,001$  la 30 de metri).
- Nu s-au observat tulburări de comportament sau rămânerea la suprafața solului ale rămelor în momentul 0 și / sau în zilele 7 sau 14 ale testării, dar evaluările matematice comparative cu solul considerat nepoluat, ale *RRG* și *RCS*, au confirmat, pentru

distanțele de recoltare a probelor de la 10 și 30 de metri, o puternică legătură statistică cu o sursă de poluare (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ).

- *Testul acut static* de 14 zile ISO 11268-2:2015 pentru aprecierea mortalității rămelor se poate realiza cu costuri scăzute dar cu rezultate certe în testarea ecotoxicității pe râme. Interpretarea rezultatelor oferă bazele unor aprecieri clare semnificative statistic care pot fi comparate cu alte rezultate din domeniu. În opinia noastră, această evaluare simplă ar trebui inclusă într-un set de teste, ca instrument de screening calitativ timpuriu și util în evaluarea contaminării solului, cu rezultate rapide și precise, indicând potențialul risc ecologic al solului.

*Ultima parte a tezei este dedicată Concluziilor finale și relevarea aspectelor de originalitate / noutate din prezenta teză (Capitolul 6), Îndrumărilor pentru practicieni (Capitolul 7).*

Cele mai importante aspecte de noutate / originalitate ce emerg din prezenta teză sunt:

- Efectuarea unui screening complex de teren pe durata a doi ani cu obiectivul de a identifica potențiale surse ale polurării în 15 locații de pe traiectul râului Jiu din județele Gorj și Dolj, cu interpretarea și validarea rezultatelor primare în lumina metodologiei curente de analiză.
- Utilizarea în premieră în România a larvelor de *Acipenser ruthenus* într-un test de ecotoxicitate cu extrapolarea metodei de testare de la peștele zebra (*Danio rerio*) la o altă specie de interes economic major.
- Validarea rezultatelor primare în lumina metodologiei OECD a unui prim test de ecotoxicitate pe larve de cegă (*Acipenser ruthenus*).
- Utilizarea a metodologiei ISO 11268-2:2015, testul static pe râme (*Eisenia fetida*) într-un test de teren de ecotoxicitate a solurilor din județele Gorj și Dolj și demonstrarea specificității acestei metode.

## **Bibliografia**

Este compusă din 305 titluri valoroase din main-streamul informațional internațional, marea lor majoritate de actualitate fiind respectat un echilibru între lucrările fundamentale, prezentări originale și legislația domeniului.