

# RAPORT SINTETIC DE CERCETARE

perioada: 02.05.2018 — 30.06.2020

cod proiect: PN-III-P1-1.1-TE-2016-2336

contract de finanțare nr.: 41/02.05.2018

suma finanțată: 450.000 lei

Denumirea proiectului: **Utilizarea nanomaterialelor proiectate în știința plantelor  
(*NanoPlant*)**

Contractor: **Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad”  
Iași**

Director proiect: **Dr. Ana CAZACU**

Echipa proiectului:

1. CS dr. Ursu Elena–Laura (Young Researcher)
2. conf. dr. Lipșa Florin Daniel (Young Researcher)
3. asist. dr. Bodale Ilie (Postdoc Researcher)
4. asist. dr. Teliban Gabriel–Ciprian (Postdoc Researcher)
5. dr. Deleanu Florina-Maria (PhD Student)

Adresa web [http://www.uaiasi.ro/PN\\_III/NanoPlant/index.htm](http://www.uaiasi.ro/PN_III/NanoPlant/index.htm)

Proiectul a avut ca scop stimularea progresului experimental în nanobiotehnologie prin implementarea și dezvoltarea de noi metode de obținere a nanomaterialelor proiectate pe bază de metal cu aplicații în știința plantelor, precum și prin studierea influenței acestora asupra microorganismelor care afectează plantele. Nanotehnologia poate ajuta la depășirea limitărilor persistente ale utilizării substanțelor chimice toxice pe sol și plante, contribuind la un mediu mai sigur și furnizând platforme sustenabile pentru a satisface cerința de alimente a populației masive la nivel mondial.

**NanoPlant** a adus noi cunoștințe legate de înțelegerea interacțiunilor dintre nanomateriale și plante și interacțiunile lor cu microorganisme care trăiesc în sol. În plus, acest proiect a oferit o soluție originală pentru problema existentă legată de obținerea imaginii distribuției nanoparticulelor în diferite țesuturi vegetale prin utilizarea pentru prima dată a tehnologiei de ultimă oră de tip scattering-type scanning near-field optical microscope (NeaSNOM), care combină microscopia de forță atomică cu imagini optice și spectroscopice la nivel nanometric (nano-FTIR).

Astfel, principalele priorități ale proiectului **NanoPlant** au fost:

- a) obținerea de nanoparticule proiectate, cu o distribuție îngustă a dimensiunilor pentru a se evita distribuirea lor în părțile superioare ale plantei;
- b) evaluarea influenței nanoparticulelor asupra semințelor și bulbilor;
- c) nano-imagistica țesuturilor de plante pentru a obține o imagine reală a distribuției nanoparticulelor în compartimentele de plante;
- d) evaluarea efectelor nanoparticulelor asupra unor microorganisme specifice plantelor alese, atât in vitro, cât și în condiții reale în solul în care plantele sunt cultivate și unde microorganismele sunt prezente.

În cadrul proiectului s-au urmărit următoarele activități, împărțite în trei etape (corespunzătoare fiecărui an) după cum se arată mai jos:

|                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                       |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| <b>Etapa 1<br/>(2018)</b> | <b>Sinteza și caracterizarea nanoparticulelor metalice proiectate (partea I). Studiul influenței nanoparticulelor asupra creșterii plantelor în condiții controlate (partea I).</b>                                                                                                                                     | <b>156.895,00 lei</b> |
| <b>Activitate 1.1</b>     | Identificarea condițiilor optime de obținere a nanoparticulelor metalice prin sinteza chimică, electrochimică sau sonochimică (continuare în 2019)                                                                                                                                                                      |                       |
| <b>Activitate 1.2</b>     | Caracterizarea proprietăților nanofazice și structurale ale nanoparticulelor în soluție și în film prin AFM, SEM, XRD, FTIR, UV-VIS, potențial Zeta etc. (continuare în 2019)                                                                                                                                           |                       |
| <b>Activitate 1.3</b>     | Investigarea efectelor nanoparticulelor asupra germinației semințelor de plante rădăcinoase (morcov), Solanaceae (tomate) și bulboase (ceapa) în condiții controlate                                                                                                                                                    |                       |
| <b>Etapa 2<br/>(2019)</b> | <b>Sinteza și caracterizarea nanoparticulelor metalice proiectate (partea a II-a). Studiul influenței nanoparticulelor asupra creșterii plantelor în condiții controlate (partea a II-a) și în condiții de câmp/solar. Investigarea proprietăților antifungice a nanoparticulelor asupra bolilor de sol (partea I).</b> | <b>255.155,00 lei</b> |
| <b>Activitate 2.1</b>     | Identificarea condițiilor optime de obținere a nanoparticulelor metalice prin sinteza chimică, electrochimică sau sonochimică (finalizare)                                                                                                                                                                              |                       |
| <b>Activitate 2.2</b>     | Caracterizarea proprietăților nanofazice și structurale ale nanoparticulelor în soluție și în film prin AFM, SEM, XRD, FTIR, UV-VIS, potențial Zeta etc. (finalizare)                                                                                                                                                   |                       |

|                       |                                                                                                         |                      |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| <b>Activitate 2.3</b> | Investigarea efectelor nanoparticulelor asupra dezvoltării bulbilor (în condiții controlate)            |                      |
| <b>Activitate 2.4</b> | Identificarea tipului și concentrației optime de nanoparticule aplicate plantelor                       |                      |
| <b>Activitate 2.5</b> | Administrarea de nanoparticule la semințe de plante și bulbi ce germinează în vase de vegetație         |                      |
| <b>Activitate 2.6</b> | Transplantarea plantelor în condiții de câmp/solar după germinare                                       |                      |
| <b>Activitate 2.7</b> | Evaluarea influenței nanoparticulelor asupra dezvoltării plantelor în condiții reale de creștere        |                      |
| <b>Activitate 2.8</b> | Studii <i>in vitro</i> a proprietăților antifungice a nanoparticulelor                                  |                      |
| <b>Etapă 3 (2020)</b> | <b>Investigarea proprietăților antifungice a nanoparticulelor asupra bolilor de sol (partea a II-a)</b> | <b>37.950,00 lei</b> |
| <b>Activitate 3.1</b> | Evaluarea activității antifungice a nanoparticulelor asupra plantelor infectate cu spori de fungi       |                      |

Activitățile prevăzute mai sus sunt parte integrantă din următoarele obiective specifice:

#### **O1. Sinteza și caracterizarea complexă a nanomaterialelor**

În cadrul acestui obiectiv, s-au pregătit diferite tipuri de nanoparticule (NPs) cu dimensiuni și forme variate prin modificarea parametrilor fizico-chimici precum concentrația precursorului, pH-ul, temperatura, timpul de reacție, metoda de agitare (magnetică sau sonică) etc. Proprietățile NPs au fost investigate în funcție de compoziția chimică, structura și morfologia, pentru selectarea celor mai potrivite probe pentru a fi utilizate în etapele ulterioare. În plus, s-a stabilit protocolul optim pentru producerea de NPs cu o anumită dimensiune și o distribuție îngustă a dimensiunilor.

#### **O2. Studiul influenței NPs asupra creșterii plantelor în condiții de mediu controlate**

Influența administrării NPs la plante a fost studiată mai întâi într-o cameră controlată, pentru a controla condițiile de mediu și a evita influența altor factori. S-au evaluat efectele induse asupra germinării semințelor plantelor și dezvoltării bulbilor plantelor. NPs care au prezentat cele mai bune rezultate la creșterea și dezvoltarea plantelor au fost alese pentru utilizare ulterioară.

#### **O3. Studiul de teren al influenței NP asupra creșterii și dezvoltării plantelor**

În această etapă, NPs cu rezultate optime asupra plantelor au fost utilizate pentru tratarea semințelor și bulbilor de plante care au fost lăsate să crească în seră sau câmp pentru o mai bună evaluare a efectelor în condiții realiste.

#### **O4. Investigarea proprietăților antifungice ale NP-urilor asupra unor microorganisme**

Activitatea antifungică a NPs a fost evaluată *in vitro*, prin aplicare directă pe mediul de creștere a microorganismelor și *in vivo* prin infectarea plantelor cu spori de ciuperci.

În cele ce urmează sunt prezentate sintetic câteva dintre rezultatele cercetării realizate în cadrul proiectului (cele care au fost publicate deja și care nu fac parte din alte articole/cerere de brevet în curs de evaluare sau publicare).

#### **O1. Sinteza și caracterizarea complexă a nanomaterialelor**

##### **Sinteza nanoparticulelor de aur stabilizate cu chitosan**

Optimizarea dimensiunilor nanoparticulelor de aur (AuNPs) s-a făcut în funcție de concentrația precursorului  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  și energia injectată în sistem de câmpul ultrasonor.

AuNPs au fost preparate în soluții de chitosan de mase moleculare diferite, studiindu-se rolul de agent reducător și stabilizator al chitosanului în funcție de masa acestuia. Procesul de omogenizare și termo-precipitare s-a realizat prin tratarea soluției inițiale cu un câmp ultrasonor.

Au fost preparate soluții stoc precursorare de  $\text{HAuCl}_4$  (0,01 M) și chitosan 0,1% în acid acetic 0,5%. Acestea au fost amestecate în raport diferit, astfel încât să se obțină soluții de AuNPs de concentrații diferite (25, 50, 75  $\mu\text{g/ml}$ ), fiind lăsate sub influența câmpului ultrasonor timp de 20

minute, la o temperatură de 55°C. Formarea AuNPs a fost dovedită, în primul rând, de colorarea soluțiilor (figura 1) după două zile (inițial fiind transparente). Colorația este strâns legată de dimensiunea nanoparticulelor de Au, forma geometrică, masa polimerul ce acoperă nanoparticulele etc.



**Figura 1.** Soluții de AuNPs și chitosan (concentrație diferită)

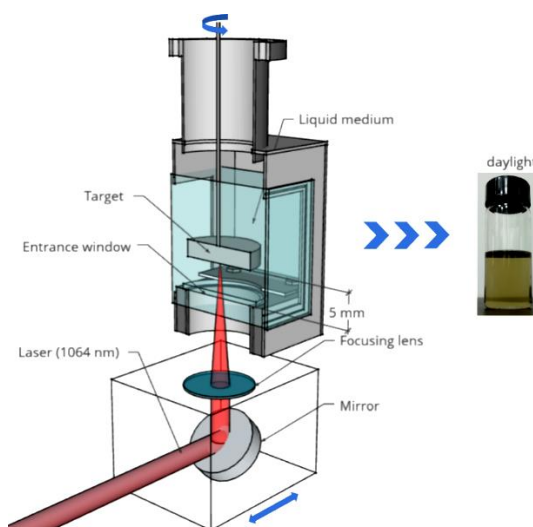
S-a constatat că pentru toate tipurile de chitosan, cantități prea mari de  $\text{HAuCl}_4$  determină gradienti de concentrație care conduc la formarea de microcristalite de aur care formează un precipitat maro, soluția cu cantități reziduale de nanoparticule fiind galbenă. Precipitarea apare și la concentrații mai mici în cazul chitosanului cu masă moleculară prea mică.

### **Sinteza nanoparticulelor de aur stabilizate cu citrat**

Au fost stabilite condițiile optime de obținere a nanoparticulelor de aur medii, stabilizate cu citrat, studiindu-se sinteza acestora prin metoda Turkevich. A fost luată în considerare influența diferiților parametri (raportul molar citrat de sodiu:acid clorauric, temperatura amestecului de reacție, concentrațiile reactanților) asupra dimensiunii și formei nanoparticulelor pentru a obține stabilitate mare, polidispersitate mică și, implicit, rezultate reproductibile. Formarea coloidului este indicată de modificarea culorii inițiale a soluției de la galben pal la roșu. Soluția a fost lăsată la răcit la temperatura camerei, după care a fost depozitată la 4°C. În final s-a ajuns la o concentrație a soluției stoc de AuNPs stabilizate cu citrat de 10,4 mM. Pentru optimizarea procesului de sinteză au fost efectuate mai multe încercări în care soluția precursoră de  $\text{HAuCl}_4$  a fost încălzită și la alte temperaturi din intervalul 50-100°C. Totuși, rezultate optime legate de calitatea și stabilitatea AuNPs au fost obținute pentru o temperatură inițială a soluției precursoră de 60 °C.

### **Nanoparticule de carbon generate prin ablație laser în lichid**

Folosind ablația laser în lichid (LAL) s-au obținut suspensii stabile de nanoparticule de carbon (NPC) în etanol fără a utiliza surfactanți.



**Figura 2.** Aranjamentul experimental de generare a NPC prin ablație în lichid.

O țință de grafit pirolitic sub forma de disc a fost imersată în 15 ml de etanol și supusă incidenței unui fascicul laser Nd:YAG (lungimea de undă 1064 nm, durata pulsului 7 ns) focalizat

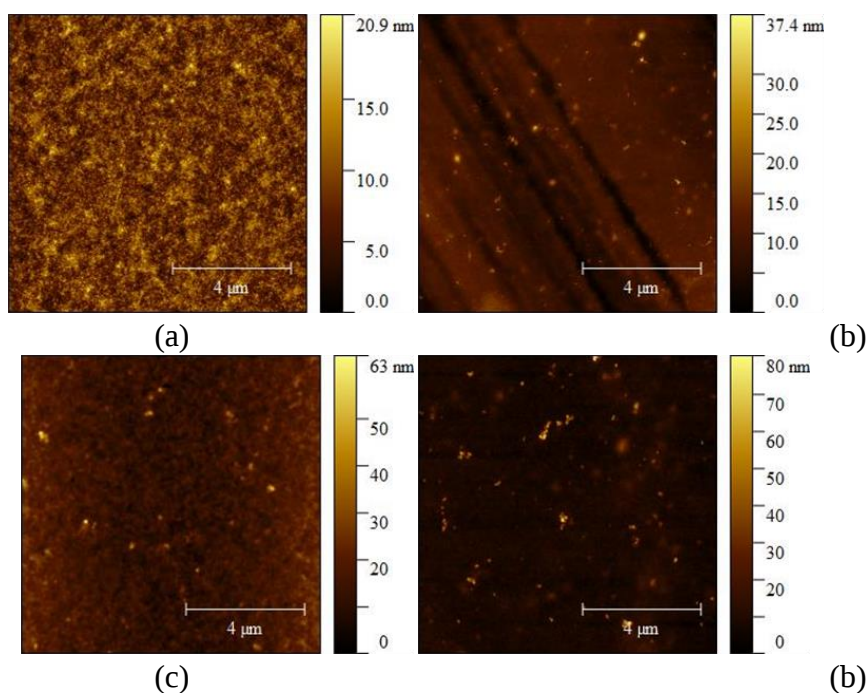
cu ajutorul unei lentile sferice, ca în aranjamentul experimental prezentat în figura 2. Pentru a produce suspensia de NPC au fost utilizate un număr de 18000 de pulsuri pentru ablația grafitului la o frecvență de repetiție de 10 Hz și pentru o înălțime a coloanei de lichid de 0.5 cm. Aranjamentul experimental dezvoltat permite modificarea înălțimii coloanei de lichid fără a afecta distanța lentilă de focalizare – țintă și modificarea fluenței laser prin deplasarea lentilei de focalizare relativ la poziția țintei. De asemenea, pentru a asigura condiția de reproductibilitate și o rată de producere a nanoparticulelor crescută, spotul de focalizare al laserului a fost deplasat pe o traiectorie elicoidală pe suprafața țintei folosind un sistem de deplasare liniară al ansamblului oglindă – lentilă de focalizare (figurat prin cubul din figura 2) pe direcția de propagare a fasciculului laser într-un plan paralel cu planul țintei, concomitent cu o mișcare de rotație a țintei în jurul propriei axe.

***Caracterizarea proprietăților nanofazice și structurale ale nanoparticulelor în soluție și în film au fost realizate prin AFM, SEM, XRD, FTIR, UV-VIS, potențial Zeta etc.***

### **Sinteza nanoparticulelor de aur stabilizate cu chitosan**

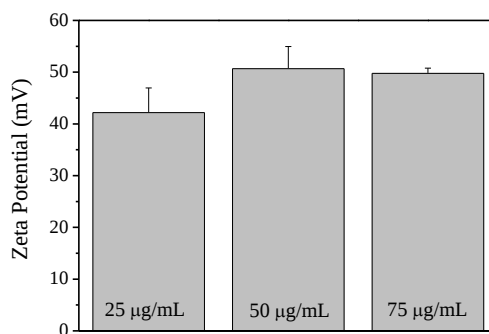
În figura 3 sunt prezentate topografiile AFM ale AuNPs pentru soluții de concentrații diferite de aur precursor și chitosan.

Din figura de mai jos se observă că distribuția nanoparticulelor în matricea de chitosan crește cu creșterea concentrației de aur. Dimensiunile medii ale nanoparticulelor de aur sunt cuprinse în intervalul 120 – 200 nm, fapt ce dovedește că sunt acoperite cu chitosan.



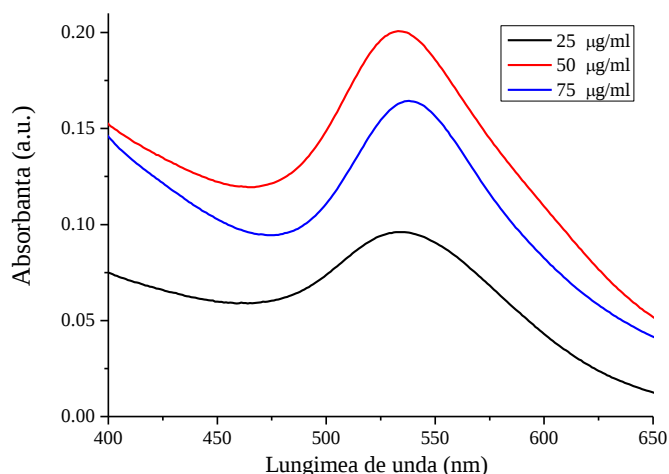
**Figura 3.** Imaginile AFM de topografie pentru chitosan (a), AuNPs 25 µg/ml (b), AuNPs 50 µg/ml (c) și AuNPs 75 µg/ml (d).

Valoarea medie a potențialului Zeta reprezintă un criteriu de stabilitate a soluțiilor coloidale. Dacă toate particulele din suspensie au un potențial mare negativ sau pozitiv, ele au tendința de a se respinge și, astfel, nu vor forma agregate. Totuși, dacă au valori mici ale potențialului Zeta, nici o forță nu va preveni agregarea particulelor. Valorile înregistrate pentru potențialul Zeta (figura 4) a soluțiilor de AuNPs în chitosan sunt: 42,17 mV (25 µg/ml), 50,66 mV (50 µg/ml) și 49,77 mV (75 µg/ml). Pe baza acestor valori, putea afirma că soluțiile se încadrează în categoria celor care au o stabilitate moderată.



**Figura 4.** Potențialul Zeta pentru soluțiile de AuNPs cu chitosan.

În figura 5 sunt prezentate spectrele UV-Vis ale soluțiilor de AuNPs la diferite concentrații. Se constată că toate spectrele prezintă o bandă de absorbție tipică de rezonanță plasmonică a nanoparticulelor de aur la peste 530 nm, ceea ce evidențiază prezența nanoparticulelor de aur. Se constată o deplasare a maximumului acestei benzi spre lungimi de undă mai mari, cu creșterea concentrației de precursor. De asemenea, la concentrații mici de precursor, maximumul se deplasează spre lungimi de undă mai mari cu cât masa de chitosan este mai mică. Optimizarea procesului de obținere a AuNPs se poate face ținând cont de aceste rezultate.



**Figura 5.** Spectrele UV-Vis ale soluțiilor de AuNPs stabilizate cu chitosan.

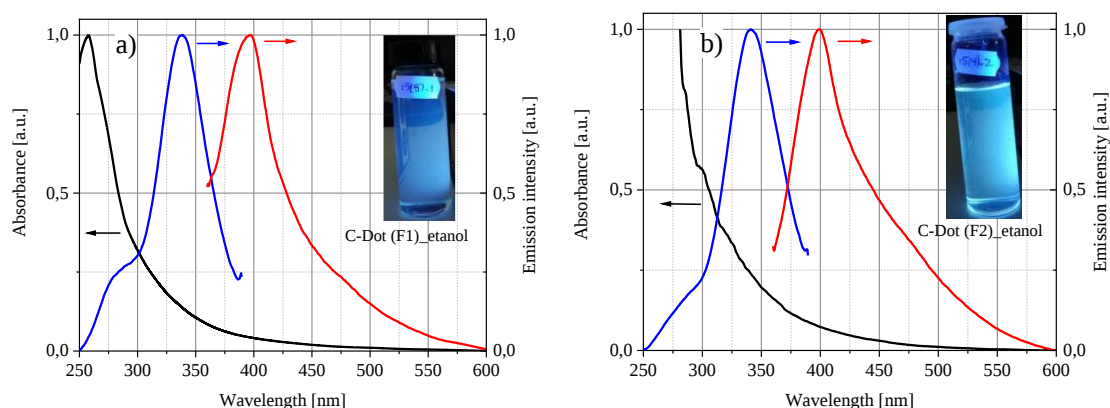
### Nanoparticule de carbon de tip quantum dots - caracterizare

Analiza produșilor obținuți a fost efectuată utilizând o serie de tehnici de caracterizare complementare. Proprietățile optice ale soluțiilor de nanoparticule au fost investigate la temperatura camerei folosind spectroscopia UV-Vis și fotoluminescența. Distribuția de dimensiuni și calitatea nanostructurilor de carbon obținute au fost determinate utilizând împrăștierea dinamică a luminii (DLS). Pulberea rezultată prin evaporarea etanolului a fost supusă analizei prin spectroscopie FTIR și microscopie de forță atomică (AFM) pentru determinarea unor informații complementare legate de structura și, respectiv, morfologia nanoparticulelor de carbon.

Fluorescența NPC constituie o proprietate importantă și o premisă pentru utilizarea acestor nanomateriale în varii aplicații (cum ar fi bio-imagistica, fotocataliza, detecție de ioni  $\text{Fe}^{3+}$ , senzori, etc.) datorită stabilității ridicate, toxicității joase și costului redus al acestora.

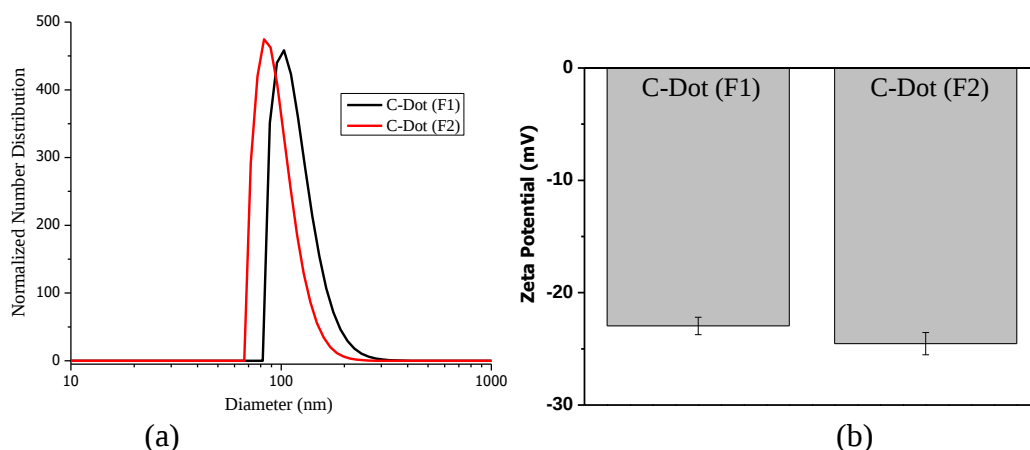
Soluțiile de NPC obținute în etanol prezintă fotoluminescență (PL) în albastru (figura 6). Creșterea fluenței laser conduce la formarea unor suspensii de NPC în etanol ce prezintă un spectru de PL de bandă mai îngustă și deplasat spre roșu, maximumul de emisie deplasându-se de la 396 nm (figura 6a) la 399 nm (figura 6b) pentru aceeași lungime de undă de excitare de 340 nm. Odată cu creșterea fluenței laser este de așteptat o creștere în dimensiune a nanoparticulelor obținute, ceea ce se reflectă în deplasarea spre lungimi de undă mai mici ale maximumului de emisie în PL. De

asemenea, concentrația de NPC în soluție crește și implicit împrăștierea luminii la trecerea prin soluție este mai importantă, lucru reflectat de o creștere a absorbției spre lungimi de undă mari (figura 6b).



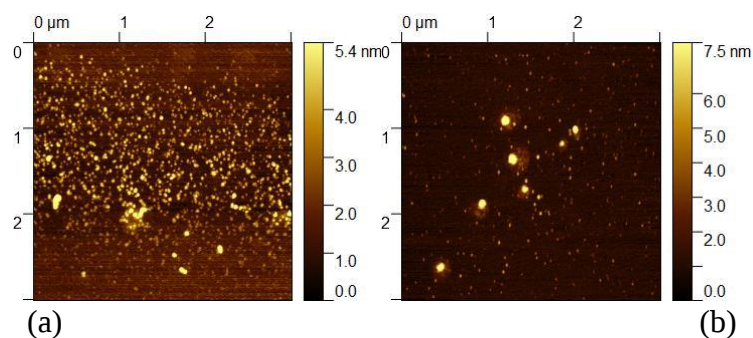
**Figura 6.** Spectrele de absorbție UV-Vis, excitare și emisie ( $\lambda_{exc} = 340$  nm) a soluțiilor de NPC obținute pentru o fluență laser de a)  $2 \text{ J/cm}^2$  și b)  $3 \text{ J/cm}^2$ .

Analiza prin DLS (fig. 7a) indică prezența unei singure populații pentru ambele probe cu diametrul hidrodinamic mediu de  $119,6 \pm 29,8$  pentru proba C-Dot (F1) și, respectiv  $96,8 \pm 21,9$  pentru proba C-Dot (F2). Pentru a evalua stabilitatea NPC în apă s-a măsurat potențialul Zeta (fig. 7b). Valorile obținute ( $-22,96$  mV pentru C-Dot (F1) și  $-24,54$  mV pentru C-Dot (F2)) sugerează că suspensiile de NPC obținute au o stabilitate moderată.



**Figura 7.** Analiza DLS (a) și potențialul Zeta (b) pentru nanoparticulele de carbon obținute.

O altă metodă utilizată pentru analiza nanoparticulelor de carbon a fost microscopia de forță atomică (figura 8). Astfel,  $10 \mu\text{L}$  din fiecare soluție s-au depus pe plăcuțe de mică proaspăt clivate și lăsate la uscat la temperatura camerei peste noapte.



**Figura 8.** Imaginile AFM de topografie pentru nanoparticulele de carbon obținute: C-Dot (F1)(a) și C-Dot (F2) (b).

Imaginile arată prezența nanoparticulelor sferice de dimensiuni mici (~7 nm) pentru proba C-Dot (F1). În cazul probei C-Dot (F2) se observă atât particule de dimensiuni mici (~3 nm), dar și nanoparticule cu dimensiuni mari (~15 nm).

## O2. Studiul influenței NPs asupra creșterii plantelor în condiții de mediu controlate

Germinația este un indicator important în aprecierea calității semințelor. Aceasta se desfășoară într-o perioadă variabilă de timp, fiind influențată de o serie de factori, printre care de mare importanță sunt specia și tratamentul aplicat semințelor.

În prima etapă a proiectului **NanoPlant** s-a studiat influența tratamentelor cu soluții de nanoparticule asupra germinării semințelor pentru a identifica soluțiile optime de nanoparticule, concentrația lor, durata tratamentului, dar și tipul de nanocomponente înglobat în soluție în vederea stimulării procesului de germinație al semințelor. Protocolul experimental a prevăzut organizarea unei experiment bifactorial, utilizând trei specii de semințe de legume care au fost supuse unor serii de tratamente cu soluții de nanoparticule. Experimentul a fost realizat pentru trei loturi de probe (trei repetiții), iar pentru fiecare lot s-a folosit un set de probe martor, tratat fie cu apă distilată fie cu chitosan 0,1%. Experimentul bifactorial s-a bazat pe:

**Factorul A – Specia utilizată**, cu trei graduări:

a<sub>1</sub> – semințe de morcov, *Daucus carota* convar. *sativus* (Alef.), fam. *Umbelliferae*

a<sub>2</sub> – semințe de ceapă, *Allium cepa*(L.), fam. *Liliaceae*

a<sub>3</sub> – semințe de tomate, *Lycopersicon esculentum* (Mill.), fam. *Solanaceae*

**Factorul B – tratamentul semințelor**, cu nouă graduări:

b<sub>1</sub> – AuNPs + chitosan (50 µg/ml)

b<sub>2</sub> – AuNPs + chitosan (75 µg/ml)

b<sub>3</sub> – AuNPs + citrat (2,6 mM)

b<sub>4</sub> – AuNPs + citrat (5,2 mM)

b<sub>5</sub> – C-Dot (F1)

b<sub>6</sub> – C-Dot (F2)

b<sub>7</sub> – chitosan 0,1%

b<sub>8</sub> – H<sub>2</sub>O

b<sub>9</sub> – AuNPs + citrat (2,6 mM) - 24 ore

Pentru toate cele trei specii studiate s-au utilizat semințe netratate, alegându-se un singur cultivar pentru fiecare specie:

- pentru morcov s-a utilizat soiul "Lunga di Nantes" produs de Raci Sementi – Italia, importator Adri Procom S.R.L.;

- pentru ceapă s-a utilizat soiul "Dorata di Parma" produs de Raci Sementi – Italia, importator Adri Procom S.R.L.;

- pentru tomate s-a utilizat hibridul "Marisa" produs de Monsanto Holland BV – Olanda, importator Universal Impexsem.

Semințele selecționate au fost tratate cu diferite soluții de nanoparticule, de concentrații diferite, dar și tratate în mod diferit. În consecință, al doilea factor din experiment, factorul B, prezintă nouă graduări:

- varianta 1 – AuNPs + chitosan (50 µg/ml): semințele au fost înmuiate în soluție timp de 2 ore, variantă notată **S1**;

- varianta 2 – AuNPs + chitosan (75 µg/ml): semințele au fost înmuiate în soluție timp de 2 ore, variantă notată **S2**;

- varianta 3 – AuNPs + citrat (2,6 mM): semințele au fost înmuiate în soluție timp de 2 ore, variantă notată **S3**;

- varianta 4 – AuNPs + citrat (5,2 mM): semințele au fost înmuiate în soluție timp de 2 ore, variantă notată **S4**;

- varianta 5 – C-Dot (F1): semințele au fost înmuiate în soluție timp de 2 ore, variantă notată **S5**;

- varianta 6 – C-Dot (F2): semințele au fost înmuiate în soluție timp de 2 ore, variantă notată **S6**;
- varianta 7 – chitosan 0,1%: semințele au fost înmuiate în soluție timp de 2 ore, variantă notată **S7**;
- varianta 8 – H<sub>2</sub>O (apă distilată), semințele au fost înmuiate în apă timp de 2 ore, variantă notată **S8**;
- varianta 9 – AuNPs + citrat (2,6 mM): semințele au fost înmuiate în soluție timp de 24 ore, variantă notată **S9**.

În acest raport, cu **M** s-au notat eşantioanele pentru morcov, cu **C** pentru ceapă, iar cu **T** pentru tomate.

După aplicarea tratamentului, conform schemei de mai sus, semințele au fost așezate în vase Petri, pe hârtie de filtru umectată cu apă distilată. În fiecare vas Petri au fost dispuse câte 30 de semințe, ordonate cât mai uniform, pe 6 linii, pentru o evaluare ușoară a germinării lor, dar și pentru asigurarea unui spațiu suficient în vederea dezvoltării plănuțelor în fenofazele de germinare și creștere inițială.

Pe durata experimentului, vasele Petri au fost menținute în germinator (germinatorul utilizat a fost SANYO, model MLR-351H), unde s-au controlat parametrii de mediu (fig. 9):

- temperatura a fost setată la 16°C - ziua (6:00 - 21:00) și 13°C - noaptea (21:00 - 6:00),
- umiditatea a fost setată la 80% atât ziua cât și noaptea,
- lumina. Iluminarea probelor s-a făcut cu lumina albă în radiație monocromă de 2500 de lucși în intervalul orar 6:00 - 21:00, iar pe timpul nopții a fost redusă la 0 lucși.

Pe durata experimentelor, semințele au fost menținute în condiții optime de umezeală, favorabile germinării. Astfel, au fost efectuate udări cu apă distilată de câte ori a fost nevoie pentru a menține aceeași umezeală a semințelor.



**Fig. 9.** Germinatorul utilizat și condițiile de germinare

Experimentul a fost monitorizat pe întreaga durată de desfășurare, prin observații zilnice, fiind culese toate datele privind germinarea semințelor. Din momentul în care embrionul a spart tegumentul seminței, s-au făcut observații și determinări privind *dinamica germinării* zilnice până în momentul în care cel puțin două determinări consecutive au evidențiat același număr de semințe germinate. Prin aceste determinări a fost înregistrat procentul total de semințe germinate în fiecare zi pentru fiecare variantă în parte, precum și alți doi parametri: **rata de germinare** și **viteza de germinare**, parametri necesari pentru o evaluare cât mai obiectivă a efectelor tratamentelor aplicate.

**Rata de germinare** reprezintă procentul de plante răsărite în fiecare zi în parte sau procentul de plante răsărite de la o zi la alta.

**Viteza de germinare** reprezintă procentul de plante germinate în unitatea de timp (zi) și se calculează cu formula:

$$V_G = \frac{Gi}{n}, \text{ unde:}$$

$Gi$  = germinația la o anumită dată;

$n$  = numărul de zile în care a fost realizată germinația  $Gi$ .

### Analiza dimensiunilor plantelor în fenofazele de germinare

Studiul influenței nanoparticulelor asupra procesului fiziologic de germinație al semințelor de legume a încorporat și analiza dimensiunilor plantelor în fenofazele de germinare și creștere inițială măsurate în ultima zi de determinare.

#### Morcov

Prima specie analizată este morcovul, pentru care rezultatele individuale privind dimensiunile plantelor în primele fenofaze de creștere sunt în corelație cu evoluția germinării semințelor. Cu toate acestea, rezultatele medii sunt puțin diferite, evidențiindu-se varianta MS6 cu dimensiunile cele mai mari, dar și cu eroarea cea mai mare. Eroare rezultă din neuniformitatea mare a ratelor de germinație (fig. 10). Eroarea cea mai mică a fost înregistrată la varianta MS4, varianta ce a înregistrat o valoare a germinației de 88%. O altă variantă care a reacționat bine la tratamentul aplicat a fost varianta MS5, cu o eroare mică privind mărimea plantelor și cu cea mai ridicată germinație finală (90%).

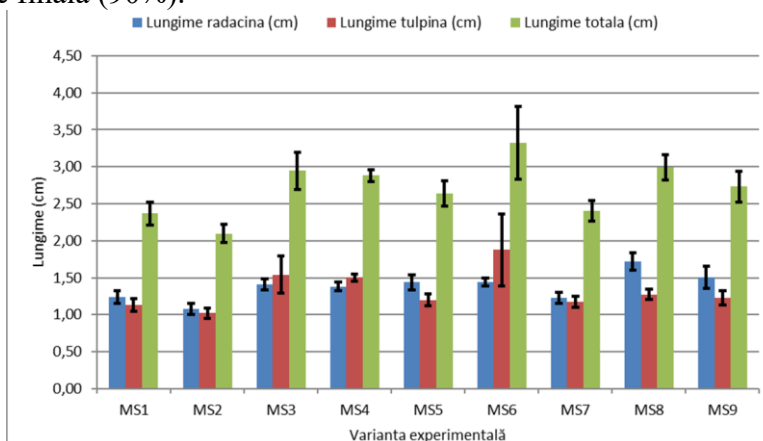


Fig. 10. Reprezentarea grafică a dimensiunilor plantelor de morcov la finalul experimentului

#### Ceapă

Rezultatele individuale privind dimensiunile plantelor în fenofazele de germinare și creștere inițială la ceapă sunt în corelație cu evoluția germinării semințelor pentru toate variantele, exceptând varianta CS9 care prezintă erori mari (fig. 11).

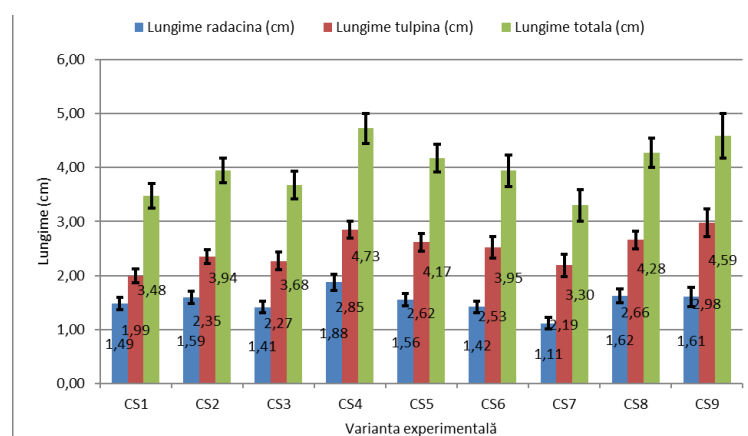
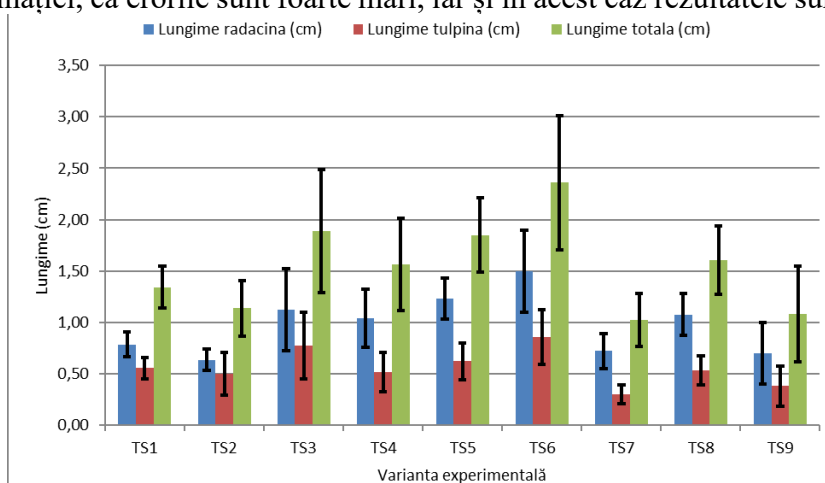


Fig. 11. Reprezentarea grafică a dimensiunilor plantelor de ceapă la finalul experimentului

La ceapă, erorile cele mai mici au fost înregistrate la varianta CS1, pentru care s-a înregistrat o valoare a germinației ridicată (de 93%) și pentru varianta CS2, la care valoarea germinației finale

a fost de 97%. Deci, aceste două variante, au determinat, nu doar o germinație ridicată, ci și o uniformitate în fenofaza de creștere inițială.

**Tomate:** În cazul tomatelor, condițiile de mediu și tratamentul aplicat arată o inhibare a procesului de germinare. Din figura 12, se poate observa, așa după cum era de așteptat și din evaluarea germinației, că erorile sunt foarte mari, iar și în acest caz rezultatele sunt neconcludente.



**Fig. 12.** Reprezentarea grafică a dimensiunilor plantelor de tomate la finalul experimentului

**În concluzie,** rezultatele experimentale prezentate mai sus arată că cele două specii reacționează diferit la tratamentele aplicate, dar cu rezultate, în general, pozitive pentru tratamente de durată medii (de două ore). În cazul tratamentelor de lungă durată (semințe înmuiate în soluții de nanoparticule timp de 24 ore), acestea prezintă o inhibare a germinației. Varianta 9, atât la morcov cât și la ceapă, determină rezultate slabe, acestea manifestându-se prin neuniformitate la germinare în cazul semințelor de morcov și germinație scăzută în cazul semințelor de ceapă. În urma tratamentelor aplicate pentru morcov se disting variantele MS4 și MS5 care au un efect stimulator pentru germinație și uniformități în creșteri în primele fenofaze. În schimb la ceapă, în urma diferitelor tratamente aplicate semințelor, se disting variantele CS1 și CS2 prin germinația ridicată (93%, respectiv 97%) și uniformitate în fenofaza de creștere inițială. Înțelegerea modului de influențare a tratamentului cu nanoparticule asupra semințelor de tomate se impune repetarea experimentului în alte condiții de mediu, în special prin creșterea temperaturii.

### O3. Studiul de teren al influenței NP asupra creșterii și dezvoltării plantelor

Cercetările au fost organizate în condițiile anului 2019, în Ferma Horticolă "V. Adamachi" a Facultății de Horticultură, USAMV Iași. Plantele experimentale s-au cultivat într-un sol de tipul *cernoziom cambic*, mediu aprovizionat în elemente nutritive, cu 3% substanță organică și pH = 6,5. Condițiile meteorologice din perioada experimentală s-au înscris în normele climatologice pentru regiunea Iași. Condițiile pedoclimatice existente au fost favorabile pentru această specie.

Protocolul experimental a prevăzut organizarea unei experiment monofactorial, cu trei repetiții, în care a fost studiată influența nanoparticulelor de magnetită, soluție de AuNPs-chitosan și AuNPs-citrat.

#### Pregătirea terenului

Pregătirea terenului s-a realizat în două etape: toamna și primăvara, conform protocolului tehnologic specific acestor specii de plante.

Toamna, s-a eliberat terenul de resturile vegetale ale culturii anterioare și s-a fertilizat organic cu 300 kg/ha Orgevit (fertilizarea de bază). Îngrășământul a fost încorporat în sol prin arătura de bază efectuată la 25 cm adâncime; arătura lăsată în brazdă nelucrată până în primăvară.

Pregătirea terenului a fost continuată în primăvară printr-o trecere cu un combinator, în condiții optime de umiditate, asigurându-se o mărunțire și o nivelare a solului. Cu o săptămână înainte de înființarea culturii s-a efectuat o trecere cu un motocultor tip BCS echipat cu freza, realizându-se astfel nivelarea și mărunțirea corespunzătoare a solului. În vederea plantării

arpagicului în bune condiții, terenul a fost lăsat să se așeze timp de o săptămână, apoi a fost pichetat conform schemei de plantare din protocolului experimental.

Materialul biologic folosit în cadrul acestui experiment a fost reprezentat de bulbi de arpagic (ceapă galbenă), din specia *Alliumcepa* (L.), fam. *Liliaceae*. Înființarea culturii a fost realizată la data de 24.04.2019 utilizând ca material biologic arpagic de calitate I, uniform ca mărime, de dimensiuni 9-10 cm diametru, pentru a se asigura uniformitatea plantelor în cultură. Bulbii de arpagic au fost pregătiți înainte de plantare prin tratarea cu soluții de nanoparticule, tratament aplicat prin imersarea bulbilor în soluție timp de 2 ore.

În studiul influenței nanoparticulelor asupra arpagicului s-au folosit mai multe variante de tratament, după cum urmează:

- V1 – AuNPs - citrat 5,2 mM,
- V2 – AuNPs - citrat 10,4 mM,
- V3 – Citrat,
- V4 – AuNPs - chitosan 25 µg/mL,
- V5 – AuNPs - chitosan 50 µg/mL,
- V6 – AuNPs - chitosan 75 µg/mL,
- V7 – Chitosan,
- V8 – Magnetită 3,6 mg/mL,
- V9 – Magnetită 7,3 mg/mL,
- V10 – Magnetită 14,6 mg/mL,
- V11 – H<sub>2</sub>O (varianta martor).

Cultivarea a fost efectuată manual, pe teren nemodelat, în benzi distanțate la 40 cm, distanța între rândurile din bandă fiind de 30 cm, iar între plante pe rând de 10 cm, ceea ce a asigurat o densitate de aproximativ 300 mii plante/ha. Adâncimea de plantare a fost de 2-3 cm. Arpagicul a fost distribuit pe rigolele deschise anterior cu sapa și fixat pe fundul acestora, în poziție verticală, la o distanță de 10 cm între bulbi. După efectuarea acestor operațiuni, arpagicul a fost acoperit manual cu un strat de sol ce a fost ușor tasat pentru a asigura un contact bun cu solul.

Lucrările de îngrijire. Au avut un caracter general, fiind efectuate la momentele optime, pentru realizarea unor producții ridicate, așa cum au fost stipulate în protocolul tehnologic.

Irigarea a fost aplicată prin picurare, ori de câte ori a fost nevoie, cu norme de aproximativ 250-300 m<sup>3</sup> apă/ha. Prima udare a fost aplicată imediat după plantare cu aproximativ 200 m<sup>3</sup> apă/ha, pentru a asigura o răsărire uniformă. De asemenea, au fost aplicate udări mai ales în fazele de formare și creștere progresivă a bulbului. În total au fost aplicate 6 udări, norma de irigare fiind de aproximativ 1500 m<sup>3</sup> apă/ha. Cu 20 de zile înainte de recoltare a fost sistată irigarea, pentru a asigura o bună maturare a bulbilor și a preveni îmbolnăvirea acestora.

Pe parcursul perioadei de vegetație nu au fost aplicate fertilizări pentru a nu influența rezultatele experimentale.

Recoltarea s-a efectuat manual, în aceeași zi pentru toate variantele experimentale (14.08.2019). Din punct de vedere fenologic, recoltarea s-a realizat când frunzele au început să se îngălbenească, gâtul s-a înmuiat și s-a lăsat pe o parte și au apărut primele tunici pergamentoase.

Determinările efectuate au vizat principalii indici ce determină producția. Descriptorii cantitativi ai bulbilor au inclus evaluarea a patru caracteristici: greutatea fiecărui bulb, înălțimea, diametrul și raportul înălțime/diametru. Pentru fiecare variantă în parte au fost selectați câte 60 de bulbi (respectiv câte 20 de bulbi din fiecare repetiție), la întâmplare, conform instrucțiunilor adoptate de UPOV adopted by International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV). Măsurătorile privind greutatea fiecărui bulb au fost efectuate cu un cântar electronic, produs de compania KERN, iar cele privind diametrul și înălțimea bulbilor au fost efectuate cu un șubler electronic cu afișaj digital.

Evaluarea influenței nanoparticulelor asupra dezvoltării plantelor a fost determinată folosind bulbi de arpagic (ceapă galbenă), din specia *Alliumcepa* (L.), fam. *Liliaceae*. Producția de ceapă a variat, în condițiile menționate anterior, de la 29.5 t/ha în cazul variantei V11 (varianta martor

experimentului – udată doar cu apă) până la 43.1 t/ha în cazul variantei V5 (AuNPs - chitosan 50 µg/mL), în timp ce media experimentală a înregistrat o valoare de 36.3 t/ha.

Toate variantele de tratament au înregistrat sporuri de producție comparativ cu martorul experienței, de la 1.2 t/ha (4.19% pentru soluția de magnetită 14,6 mg/mL) până la 13.5 t/ha (45,87% pentru soluția de AuNPs - chitosan 50 µg/mL).

Variabilitatea greutateii bulbilor de ceapă, exprimată prin coeficientul de variabilitate, deși are valori mijlocii și mari conform statisticii, este normală pentru această specie la care producția comercială rezultată după condiționarea și calibrarea bulbilor este de aproximativ 2/3 din producția totală. Diferențele privind greutatea medie a bulbilor, din punct de vedere statistic, au fost asemănătoare cu cele rezultate la producția medie calculată la hectar. Referitor la diametrul și înălțimea bulbului, diferențe asigurate statistic s-au înregistrat doar între varianta V5 și varianta martor V11, atât pentru diametrul bulbilor, cât și pentru înălțimea acestora.

Între celelalte variante nu s-au înregistrat diferențe asigurate statistic, conform testului Tukey, ceea ce înseamnă că tratamentele efectuate nu au avut influențe semnificative asupra acestor caracteristici, în cazul acestor tratamente.

Raportul înălțime/diametru este o caracteristică ce determină forma bulbului, aceasta având diferențe ne semnificative din punct de vedere statistic ceea ce indică că ceapa obținută prin utilizarea tratamentelor cu soluții de nanoparticule este adecvată consumului.

#### **O4. Investigarea proprietăților antifungice ale NP-urilor asupra unor microorganisme**

În vederea studierii influenței nanoparticulelor (NP) asupra speciilor fungice patogene pe diverse plante de cultură s-a pus în aplicare următorul protocol de lucru:

- s-au sintetizat soluțiile de nanoparticule pe baza de aur, chitosan, citrat și carbon. În cadrul experimentului s-au utilizat 10 soluții de nanoparticule pe bază de aur (Au), chitosan și carbon în diferite compoziții și concentrații;

- s-au achiziționat, în cultură pură, activă, de la Leibniz-Institut DSMZ (Braunschweig, Germania) următoarele specii fungice: *Fusarium oxysporum* (typestrain DSM 62338), *Fusarium oxysporum* (typestrain DSM 62060), *Rhizoctonia solani* (typestrain DSM 22844) și *Verticillium luteoalbum* (typestrain DSM 63079).

Mediile de cultură și multiplicare au fost realizate în cadrul Laboratorului de Microbiologie utilizând rețete 90 (mediul de cultură MEPA) și 129 (mediul de cultură PDA) de pe pagina de web a Leibniz-Institut DSMZ (Germania).

- în vederea studierii influenței volumului soluției cu nanoparticule (NP) asupra speciilor fungice patogene s-au introdus în plăcile Petri cele zece soluții cu NP în următoarele variante de inoculare: 0,5 ml; 1 ml, 2 ml și 5 ml. Ulterior, în fiecare placă Petri au fost dispersați 15 ml de mediu de cultură cu ajutorul echipamentului APS 320. Mediile de cultură au fost realizate cu ajutorul preparatorului automat de medii Masterclave 09 (Franța).

- pentru testarea eficacității soluțiilor cu NP, după solidificarea mediilor de cultură, acestea s-au însămânțat cu una dintre speciile fungice prezentate anterior. Pentru însămânțare, s-au folosit discuri cu diametrul de 7 mm, prelevate din zona de creștere activă a unei culturi fungice cu vârsta de 5 zile. Pentru fiecare variantă de lucru testarea s-a realizat în plăci Petri (Gosselin, Franța) în câte 5 repetiții, plus o variantă martor (fără soluție cu NP). După însămânțare vasele Petri au fost păstrate la incubator la o temperatură de 28°C.

- prin măsurători zilnice, a fost urmărită dezvoltarea coloniilor fungice, timp de 7 zile, pentru speciile genurilor *Fusarium* și *Verticillium*, respectiv 4 zile în cazul speciei *Rh. solani* (perioadă redusă, deoarece în varianta martor cultura a atins marginea plăcilor Petri, unde diametrul maxim al plăcii este 85 mm). Toate valorile înregistrate în cazul celor 10 soluții cu NP au fost comparate cu valorile variantei martor netratată.

Pentru rezultatele testării celor zece soluții cu NP a fost realizată media citirilor celor cinci vase, iar apoi valorile au fost comparate cu varianta martor.

##### **1. Soluții cu nanoparticule pe bază aur și citrat**

În urma măsurătorilor efectuate asupra plăcilor Petri în perioada de 7 zile a experimentului, comparând varianta martor cu variantele inoculate, am stabilit că soluțiile de nanoparticule pe bază de aur (Au) stabilizate cu citrat în cele trei concentrații diferite (2,6; 5,2 și 10,4 mM), precum și a citratului pur, nu au fost eficiente împotriva celor patru specii fungice patogene avute în studiu.

După cum se poate observa în imaginea de mai jos (Fig. 13 -fotografie față-verso), efectul soluției de NP cu Au-citrat în diferite concentrații a fost nul asupra speciilor micotice, acestea dezvoltându-se în același ritm, sau uneori chiar mai rapid, decât în varianta martor.

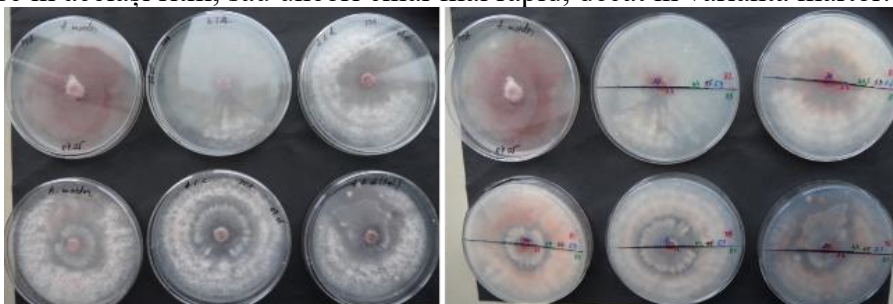


Figura 13 – Imagine față-verso a plăcilor Petri inoculate cu Au-citrat (variantele martor + variantele A1a...A1d) și însămânțate cu *Fusarium oxysporum*

## 2. Soluții cu nanoparticule pe bază de aur și chitosan

În urma măsurătorilor efectuate asupra plăcilor Petri în perioada de 7 zile a experimentului, comparând varianta martor cu variantele inoculate, am stabilit că soluțiile de nanoparticule pe bază de aur (Au) și chitosan în cele trei concentrații diferite (25, 50 and 75  $\mu\text{g H AuCl}_4/\text{mL}$ ), precum și a chitosanului (0,1 mg/mL), au fost eficiente împotriva celor patru specii fungice patogene avute în studiu. Eficacitatea soluției de NP Au-chitosan împotriva speciilor fungice a variat în timp, dar și cu cantitatea de soluție cu NP inoculată în vas.



Fig 14 Efectul inhibitor al soluției AuNPs-chitosan si Chitosan asupra speciei *Fusarium oxysporum* (type strain DSM 62338)

În cazul speciei *Fusarium oxysporum* (typestrain DSM 62338), comparativ cu varianta martor, se poate observa că la varianta Au-chitosan 75 s-au obținut rezultatele cele mai bune în ceea ce privește inhibarea dezvoltării coloniei fungice din placa Petri atunci când în fiecare placă Petri a fost introdusă o cantitate de 0,5 mg/ml de suspensie. În cadrul acestei variante se observă inhibarea dezvoltării coloniei cu 54,12% după 168 ore (7 zile) comparativ cu varianta martor.

Pe parcursul celor 7 zile diametrul mediu al coloniei de pe mediile inoculate cu 75  $\mu$ g HAuCl<sub>4</sub>/mL a variat între 63,16 și 54,12% în cazul concentrației de 0,5 mg/ml de suspensie, între 31,58 și 17,65% în cazul concentrației de 0,2 mg/ml de suspensie, între 15,79 și 9,41% în cazul concentrației de 0,1 mg/ml de suspensie și între 10,53 și 3,53% în cazul concentrației de 0,05 mg/ml de suspensie. Diametrul mediu al coloniilor de pe mediile inoculate cu 25 și 50  $\mu$ g HAuCl<sub>4</sub>/mL a fost de asemenea redus, dar valorile au fost mai scăzute, mai ales în cazul volumelor mici de inocul. La volumul cel mai mare de inocul adăugat pentru a inhiba dezvoltarea micotică (0,5 mg/ml) diametrul coloniilor după 7 zile a fost mai mic cu 48,24% în cazul variantei Au-chitosan 50 și cu 47,06% în cazul variantei Au-chitosan 25, comparativ cu varianta martor. Specia *Fusarium oxysporum* (typestrain DSM 62338) a fost inhibată și de soluția cu NP pe bază de chitosan fiind cunoscut efectul inhibitor al chitosanului asupra speciilor microbiene. La 24 de ore de la însămânțare, diametrul coloniilor dezvoltate pe mediul inoculat cu 0,5 mg/ml soluție NP era redus cu 63,16%, iar după 168 ore cu 44,71%, comparativ cu varianta martor (Fig. 15).

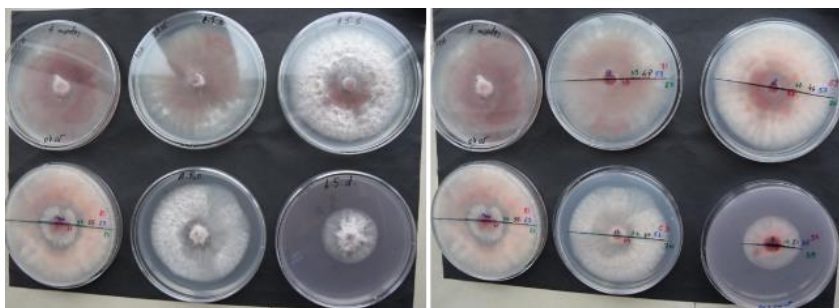


Figura 15 – Imagine față-verso a plăcilor Petri inoculate cu Au-chitosan (variantele martor + variantele A5a...A5d) și însămânțate cu *Fusarium oxysporum*

Chitosanul provine dintr-un produs natural, chitina, care se găsește în exoscheletul (carapacea) crustaceelor marine (crabi roșii, creveți, homari etc) și în structura internă a altor nevertebrate (moluște). Chitina este o polizaharidă naturală cu structură liniară și masă moleculară mare ce reprezintă al doilea polimer biodegradabil care se găsește preponderent în natură după celuloză. Chitosanul, fiind un polimer natural asemănător din punct de vedere structural cu celuloza a fost rapid adoptat în procesele de înnobilare a materialelor textile prin grefare. Deși mecanismul antimicrobian al chitosanului nu este pe deplin clarificat, este general acceptat faptul că grupările amino încărcate pozitiv se pot lega la suprafața celulelor bacteriene încărcate negativ realizând o distrugere a peretelui celular. O astfel de interacțiune duce la scurgeri de substanțe intracelulare în mediul extern provocând moartea microorganismului respectiv. De asemenea, chitosanul poate interacționa cu ADN-ul microorganismelor și împiedică sinteza proteinelor celulare. Proprietățile antimicrobiene, împreună cu caracterul non-toxic, biodegradabilitatea și biocompatibilitatea ridicată, permit utilizarea chitosanului și a derivaților de chitosan în domeniul industriei alimentare, agricultură, medicină și la finisarea materialelor textile.

În cazul speciei *Fusarium oxysporum* (type strain DSM 62060), comparativ cu varianta martor, se poate observa în fig. 16 și fig. 17, că la toate variantele Au-chitosan sau chitosan simplu s-a obținut inhibarea totală a dezvoltării coloniei fungice din plăcile Petri atunci când în fiecare placă Petri a fost introdusă o cantitate de 0,5 mg/ml de suspensie. În cazul inoculării cu cantități mai mici de soluție cu NP, inhibarea creșterii în diametru a coloniilor a variat în 196 ore de la 18,82% (chitosan) la 23,53% (Au-chitosan) la o concentrație de 0,2 mg/ml soluție NP, între 4,71 (Au-chitosan) și 10,59% (chitosan) la o concentrație de 0,1 mg/ml soluție NP și între 3,53 (chitosan) și 4,71% (Au-chitosan) la o concentrație de 0,05 mg/ml soluție NP (fig. 17). În cazul

speciei *Verticillium luteoalbum* (typestrain DSM 63079) comparativ cu varianta martor, la toate variantele Au-chitosan sau chitosan simplu s-a obținut inhibarea totală a dezvoltării coloniei fungice din plăcile Petri atunci când în fiecare placă Petri a fost introdusă o cantitate de 0,5 mg/ml de suspensie.

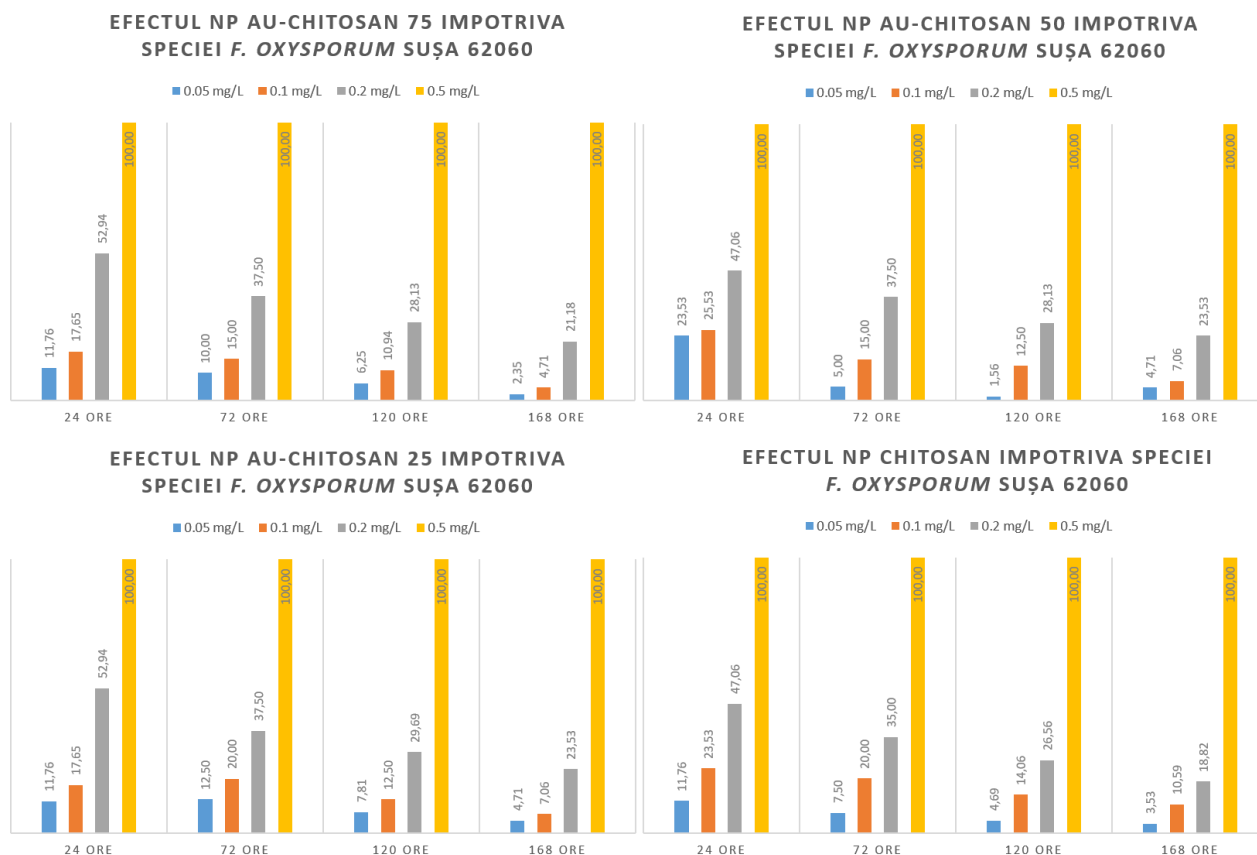


Figura 16 – Efectul inhibitor al soluției cu NP pe bază de Au-chitosan și Chitosan asupra speciei *Fusarium oxysporum* (type strain DSM 62060)

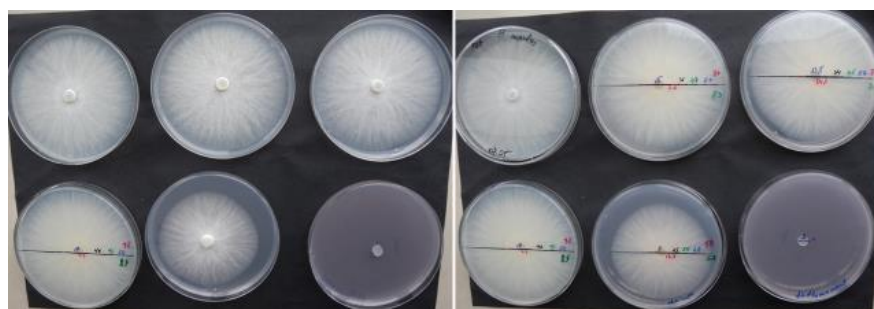


Figura 17 – Imagine față-verso a plăcilor Petri inoculate cu Au-chitosan (variantele martor + variantele B5a...B5d) și însămânțate cu *Fusarium oxysporum* (type strain DSM 62060)

### 3. Soluții cu nanoparticule pe bază de carbon

În urma măsurărilor efectuate asupra plăcilor Petri în perioada de 7 zile a experimentului, comparând varianta martor cu variantele inoculate, s-a stabilit că dintre soluțiile cu nanoparticule pe bază de carbon, doar soluția de nanotuburi de carbon 1 a fost eficientă împotriva a două sușe de *Fusarium oxysporum* avute în studiu. Eficacitatea soluției de nanotuburi de carbon 1 împotriva speciilor fungice a variat în timp, dar și cu cantitatea de soluție cu NP inoculată în vas. În cazul speciei *Fusarium oxysporum* (typestrain DSM 62338), comparativ cu varianta martor, se poate observa în fig.8.8, că la varianta la care s-a utilizat nanotuburi de carbon 1 s-au obținut rezultatele cele mai bune în ceea ce privește inhibarea dezvoltării coloniei fungice din placa Petri, atunci când în fiecare placă Petri a fost introdusă o cantitate de 0,5 mg/ml de suspensie. În cadrul acestei variante se observă inhibarea dezvoltării coloniei cu 47,35% după 168 ore (7 zile) comparativ cu

variantea martor (Figura 18). În cazul speciei *Fusarium oxysporum* (type strain DSM 62060), comparativ cu varianta martor, se poate observa în figurile 18 și 19, că la varianta nanotuburi de carbon 1 s-au obținut rezultatele cele mai bune în ceea ce privește inhibarea dezvoltării coloniei fungice din placa Petri, atunci când în fiecare placă Petri a fost introdusă o cantitate de 0,5 mg/ml de suspensie. În cadrul acestei variante se observă inhibarea dezvoltării coloniei cu 36,47% după 168 ore (7 zile) comparativ cu varianta martor (Figura 18).

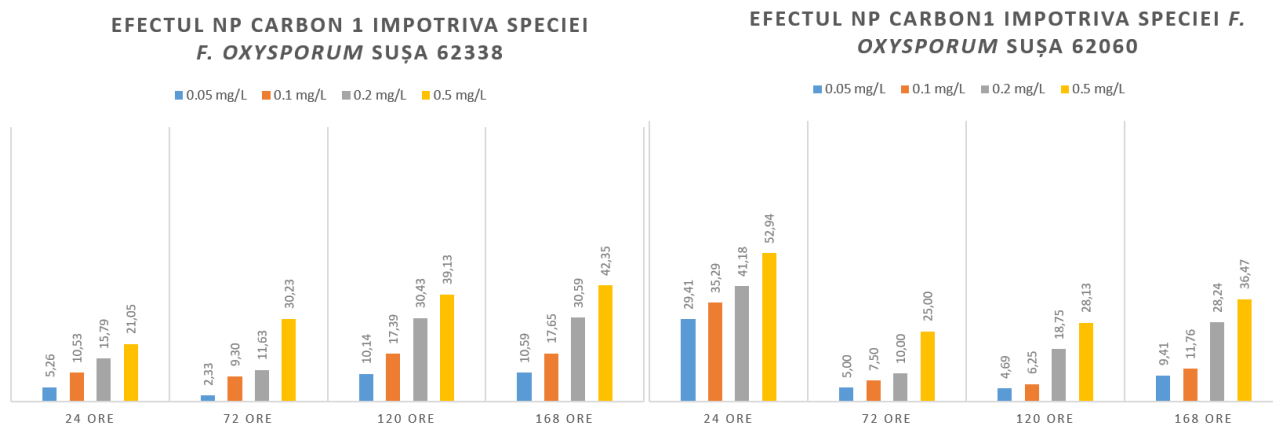


Figura 18 – Efectul inhibitor al soluției de nanotuburi de carbon 1 asupra sușelor speciei *F. oxysporum*

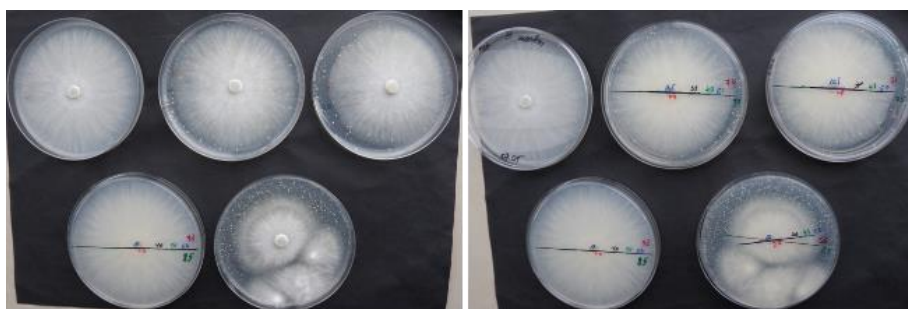


Figura 19 – Imagine față-verso a plăcilor Petri inoculate cu nanotuburi de carbon 1 și însămânțate cu sușele speciei *F. oxysporum*

## Diseminarea rezultatelor

### Cerere de brevet depusă la OSIM

Titlu: *Metodă de tratament a bulbilor de ceapă cu soluții de nanoparticule*

Inventatori: **Ana Cazacu, Ilie Bodale, Gabriel-Ciprian Teliban, Vasile Stoleru**

### Lucrări ISI

1. **Florin Lipșa, Eugen Ulea, Elena-Laura Ursu, Cristian Ursu, Ana Cazacu**, Evaluation of the antifungal efficiency of gold - chitosan and carbon nanoparticles on *Fusarium Oxysporum*, *Agronomy* 10(8), 1143, 2020. ISSN 2073-4395. Impact factor: 2.925.
2. **Ilie Bodale, Alexandru Stancu**, „Reversible and irreversible processes in drying and wetting of soil”, *Materials*, 13(1), 135, 2020. Impact factor: 3.057.

### Abstract ISI

1. **Ana Cazacu, Adrian Cernescu, Elena-Laura Ursu**, Biocompatible gold nanoparticles – chitosan composite films for medical implantation applications, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, volume 125, supplement 5, p. 27, 2019. Impact factor: 2.452.

#### Participări la manifestări științifice

1. **Florin Daniel Lipșa**, Eugen Ulea, **Elena-Laura Ursu**, **Ana Cazacu**, Antifungal activity of gold-chitosan nanoparticles on *Fusarium oxysporum*, International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture", 4 - 6 iunie 2020, București, Romania. (poster)
2. **Ana Cazacu**, Adrian Cernescu, **Elena-Laura Ursu**, Biocompatible gold nanoparticles – chitosan composite films for medical implantation applications, conferința The 8th International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology (ICBEB 2019), 22 - 25 october 2019, Seul, Coreea de Sud (oral).
3. **A. Cazacu**, **E. L. Ursu**, **G. C. Teliban**, **I. Bodale**, V. Stoleru, Gold Nanoparticles Synthesis and Investigation of their Effects on Vegetable Seeds Germination, 16th International Conference on Nanosciences and Nanotechnologies (NN19), 2-5 July 2019, Thessaloniki, Greece (poster).
4. **Ilie Bodale**, **Gabriel-Ciprian Teliban**, **Elena-Laura Ursu**, Vasile Stoleru, **Ana Cazacu**, „The influence of gold nanoparticles on germination of carrotseeds”, 19th International Multidisciplinary Scientific GeoConference (SGEM2019), 28 June - 7 July, 2019, Albena, Bulgaria (poster)
5. **Ilie Bodale**, Feodor Filipov, „The negative effect of snow melting water infiltration in ploughed layer at the edge of polytunnel”, 19th International Multidisciplinary Scientific GeoConference (SGEM2019), 28 June - 7 July, 2019, Albena, Bulgaria (poster)
6. **Cazacu Ana**, Spânu Mihaela, Oancea Servilia, **Bodale Ilie**, *Spectrophotometric study of the heavy metal effects in animal blood*, "Life sciences, a challenge for the future" International Scientific Congress, 18-19 octombrie 2018, Iași, Romania (oral)
7. **Bodale Ilie**, **Cazacu Ana**, *Study of capillary hysteresis in medium texture soil using Preisach model*, "Life sciences, a challenge for the future" International Scientific Congress, 18-19 octombrie 2018, Iași, Romania (oral)
8. **Cazacu Ana**, Oancea Servilia, **Bodale Ilie**, *Analysis of proteins content from blood plasma of herbivorous and carnivorous animals*, "Life sciences, a challenge for the future" International Scientific Congress, 18-19 octombrie 2018, Iași, Romania (poster)
9. **Bodale Ilie**, Oancea Servilia, **Cazacu Ana**, *Valorification of the economic potential of Rarau Massif based on climate conditions*, "Life sciences, a challenge for the future" International Scientific Congress, 18-19 octombrie 2018, Iași, Romania (poster)

#### Lucrări științifice BDI publicate

1. **Cazacu Ana**, Spânu Mihaela, Oancea Servilia, **Bodale Ilie**, 2018 - *Spectrophotometric study of the heavy metal effects in animal blood*. Lucrări Științifice USAMV Iași, seria Horticultură, 61(1), pp 23-28, ISSN: 1454-7376
2. **Cazacu Ana**, Oancea Servilia, **Bodale Ilie**, 2018 - *Analysis of proteins content from blood plasma of herbivorous and carnivorous animals*. Lucrări Științifice USAMV Iași, seria Horticultură, 61(1), pp 29-34, ISSN: 1454-7376
3. **Bodale Ilie**, Oancea Servilia, **Cazacu Ana**, 2018 - *Valorification of the economic potential of Rarau Massif based on climate conditions*. Lucrări Științifice USAMV Iași, seria Horticultură, 61(1), pp 35-40, ISSN: 1454-7376
4. **Bodale Ilie**, **Cazacu Ana**, 2018 - *Study of capillary hysteresis in medium texture soil using Preisach model*. Lucrări Științifice USAMV Iași, seria Horticultură, 61(1), 41-46, ISSN: 1454-7376
5. C. Pereș, **A. Cazacu**, I. Motrescu, N. Munteanu, C. Inculeț, V. Stoleru, Biometric indicators and yield of tomato under conventional and unconventional biostimulators, Bulletin UASVM Horticulture, 76(1), 131-134, 2019. ISSN: 1843-5254

#### Lucrări științifice publicate în volume ale conferințelor indexate Scopus sau ISI

1. **Ilie Bodale, Gabriel-Ciprian Teliban, Elena-Laura Ursu, Vasile Stoleru, A. Cazacu**, „The influence of gold nanoparticles on germination of carrot seeds”, 19th International Multidisciplinary Scientific GeoConference (SGEM2019) – Conference proceedings, <https://doi.org/10.5593/sgem2019/6.1/S24.059>, 19 (6.1), Micro and macro technologies section, pp. 451-458, 2019
2. **Ilie Bodale, Filipov**, „The negative effect of snow melting water infiltration in ploughed layer at the edge of polytunnel”, 19th International Multidisciplinary Scientific GeoConference (SGEM2019) – Conference proceedings, <https://doi.org/10.5593/sgem2019/3.2>, 19 (3.2), Soil section, pp. 539-546, 2019

## Bibliografie:

A. Llorens, R. Mateo, M.J. Hinojo, F.M. Valle-Algarra, M. Jiménez, Influence of environmental factors on the biosynthesis of type B trichothecenes by isolates of *Fusarium* spp. From Spanish crops, International Journal of Food Microbiology, vol. 94, pp. 43-54, 2004.

Aoki T, O'Donnell K (1999), Morphological and molecular characterization of *Fusarium pseudograminearum* sp. nov., formerly recognized as the group 1 population of *F. graminearum*, Mycologia 91:597–609

Baughman R.H., Zakhidov A.A., and de Heer W.A., Carbon nanotubes – the route toward applications, Science, vol. 297, pp. 787–792, 2002.

Choi O., Deng K.K., Kim N.J., Ross L., Surampalli R.Y., and Hu Z., The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth, Water Research., vol. 42, pp. 3066-3074, 2008.

Chung H., Son Y., Yoon T.K., Kim S., and Kim W., The effect of multi-walled carbon nanotubes on soil microbial activity, Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 74, pp. 569–575, 2011.

Cui Y., Zhao Y., Tian Y., Zhang W., Lu W., and Jiang X., The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*, Biomaterials, vol. 33, pp. 2327-2333, 2012.

Firme C.P. 3rd, Bandaru P.R., Toxicity issues in the application of carbon nanotubes to biological systems, Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine, vol. 6, pp. 245–256, 2010.

Ghosh S, Chizhik AM, Karedla N, et al (2014) Photoluminescence of Carbon Nanodots: Dipole Emission Centers and Electron–Phonon Coupling. Nano Lett 14:5656–5661. <https://doi.org/10.1021/nl502372x>

Keisuke Tomioka, Yuuri Hirooka, Takayuki Aoki, Toyozo Sato (2008), „Fusarium rot of hyacinth caused by *Gibberella zeae* (anamorph: *Fusarium graminearum*)”, J Gen Plant Pathol 74:264–266

Kimling J, Maier M, Okenve B, et al (2006) Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. J Phys Chem B 110:15700–15707. <https://doi.org/10.1021/jp061667w>

Mateo J.J., Mateo R., Jiménez M., Accumulation of type A trichothecenes in maize, wheat and rice by *Fusarium sporotrichioides* isolates under diverse culture conditions, International Journal of Food Microbiology, vol. 72, pp. 115-123, 2002.

O'Donnell K, Ward TJ, Geiser DM, Kistler HC, Aoki T (2004), Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade, Fungal Genet Biol 41:600–623

Perni S., Piccirillo C., Pratten J., Prokopovich P., Chrzanowski W., Parkin I.P., and Wilson M., The antimicrobial properties of light-activated polymers containing methyleneblue and gold nanoparticles, Biomaterials, vol. 30, pp. 89-93, 2009.

Poland C.A., Duffin R., Kinloch I., Maynard A., Wallace W.A.H., Seaton A., Stone V., Brown S., MacNee W., and Donaldson K., Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity

of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study, *Nature Nanotechnology*, vol. 3, pp. 423–428, 2008.

Reyes D, Camacho M, Camacho M, et al (2016) Laser Ablated Carbon Nanodots for Light Emission. *Nanoscale Res Lett* 11:424. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1638-8>

Reyes-Contreras D, Camacho-López M, Camacho-López MA, et al (2015) Influence of the per pulse laser fluence on the optical properties of carbon nanoparticles synthesized by laser ablation of solids in liquids. *Opt Laser Technol* 74:48–52. <https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2015.05.010>

S. K. Sivaraman, S. Kumar, V. Santhanam (2011), Monodisperse sub-10 nm gold nanoparticles by reversing the order of addition in Turkevich method-the role of chloroauric acid, *J Colloid Interface Sci*, 361(2):543-7.

Sivaraman S. K., Kumar S., Santhanam V., Monodisperse sub-10 nm gold nanoparticles by reversing the order of addition in Turkevich method-the role of chloroauric acid, *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 361/no. 2, pp. 543-547, 2011.

Tokeer A., Irshad A. W., Irfan H. L., Aparna G., Nikhat M., Aijaz A., Jahangeer A., and Ayed S. A., Antifungal activity of gold nanoparticles prepared by solvothermal method, *Materials Research Bulletin*, vol. 48/no. 1, pp. 12-20, 2013.

Walkey C., Sykes E. A., and Chan W. C. W., Application of semiconductor and metal nanostructures in biology and medicine, *Hematology*, pp. 701-707, 2009.

Yu C, Xuan T, Yan D, et al (2017) Sesame-derived ions co-doped fluorescent carbon nanoparticles for bio-imaging, sensing and patterning applications. *Sens Actuators B Chem* 253:900–910. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.07.043>