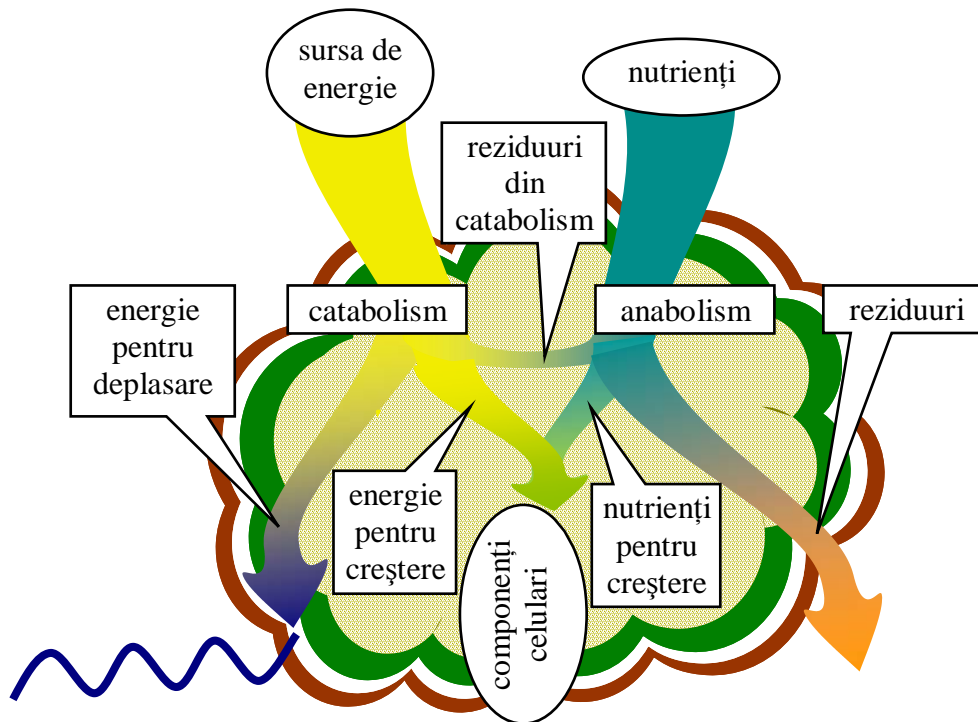


Lorentz JÄNTSCHII

Microbiologie, Toxicologie și Studii Fitosanitare



Editura AcademicDirect

2005



Lorentz JÄNTSCHI

Născut la 8 Ianuarie 1973 în Făgăraș, Brașov.

Absolvent în anul 1991 al Liceului Teoretic *Radu Negru* Făgăraș al secției cu profilul *Mecanic*, Licențiat în *Informatică* (1995), *Chimie și Fizică* (1997), Doctor în *Științe Exacte*, Specializarea *Chimie Organică și Computațională* (2000) la Universitatea Babeș-Bolyai Cluj-Napoca, Master în Ameliorarea Plantelor și Controlul Calității Semințelor și Materialului Săditor la Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca (2002). Șef de lucrări la Universitatea Tehnică Cluj-Napoca.

<http://lori.academicdirect.ro>



Editura AcademicDirect

Muncii 103-105, 400020, Cluj-Napoca

Tel. 0264 401775, Fax 0264 592055

Redactor Șef: Dr. Lorentz JÄNTSCHI

Colecția Didactica

Copyright © 2005 dr. Lorentz JÄNTSCHI

Toate drepturile asupra lucrării aparțin autorului. Reproducerea integrală sau parțială a textului sau ilustrațiilor este posibilă numai cu acordul prealabil scris al autorului.

Prefață

Lucrarea *Microbiologie, Toxicologie, și Studii Fitosanitare* este organizată pe trei secțiuni, așa cum rezultă de altfel și din titlu.

Primele două secțiuni, cele de microbiologie și toxicologie prezintă conceptele și instrumentele specifice domeniilor biologie celulară și microbiologie și respectiv biochimie și toxicologie, domenii de interfață între biologie, informatică, chimie și fizică.

Progresul realizat în ultimii 100 de ani, când practic s-au clădit aceste discipline, justifică pe deplin apariția acestui material, care face o sinteză a celor mai noi tehnologii și sisteme de investigare celulară. Lucrarea este bine ilustrată, numai în această secțiune a sa având 88 de figuri. Se pune accent pe dezvoltarea capacităților intuitive, deductive și inductive în domeniu.

A doua parte a acestei lucrări o reprezintă contribuția personală a autorului în acest domeniu, cu referințe directe la publicațiile personale. Această secțiune referă lucrările autorului de Doctorat în Chimie Organică susținută la Universitatea „Babeș-Bolyai” din Cluj-Napoca în anul 2000 și de Masterat în Inginerie Agricolă susținută la Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca în anul 2002.

Trimiterile la literatura de specialitate sunt bine reprezentate, cu precădere în această a doua secțiune, care referă rezultate comparative ale multor autori.

Lucrarea conține, pe capitole, noțiuni de Biogeochimie, Microbiologie, Biochimie, Toxicologie și Studii Fitosanitare. În anexa lucrării este redat un mic (62 de termeni) dicționar englez-român de termeni tehnici specifici domeniului tratat, pe care autorul i-a cules și folosit pe parcursul documentării necesare realizării prezentului material.

Cluj-Napoca,
08.01.2005

Lorentz JÄNTSCHI

Cuprins

1. Introducere	5
2. Biogeochimie	8
2.1. Biosfera	8
2.2. Biomasa și Biosfera	9
2.3. Migrarea Elementelor	10
2.4. Circuitul Substanțelor în Natură	10
2.5. Ciclurile Biogeochimice	11
2.6. Biocenoza.....	12
2.7. Ecologia Omului	12
3. Microbiologie.....	17
3.1. Microbiologia și Biologia Celulară.....	17
3.2. Legăturile Chimice	19
3.3. Biologia Celulei	26
3.4. Genetică și Inginerie Genetică.....	29
3.5. Microbiologie Industrială	32
3.6. Ecologia Microbiană.....	38
4. Biochimie	40
4.1. Chimia Celulei Vii	40
4.2. Biomolecule	41
4.3. Circuitul Informației	42
4.4. Proteine	42
4.5. Metode de Analiză a Proteinelor	43
4.6. Carbohidrați	45
5. Toxicologie	46
5.1. Imunologie	46
5.2. Imunologie Clinică și Diagnostic Microbiologic.....	47
6. Studii Fitosanitare	48
6.1. Introducere	48
6.2. Aspecte de Sănătate Publică	49
6.3. Agrochimia Pesticidelor	50
6.4. Chimia Pesticidelor.....	51
6.5. Proprietățile Fizico-Chimice ale Pesticidelor	52
6.6. Activitatea Biologică a Pesticidelor.....	56
6.7. Metode Moderne în Studiul QSAR/QSPR	57
6.8. Utilizarea Pesticidelor în Cultură – Exemplu Aplicativ	61
6.9. Biotehnologiile și Agricultură	64
7. Anexa. Dicționar de Termeni Tehnici Englez-Român.....	69
8. Referințe.....	71

1. Introducere

1.1. Organismul și Mediul

Organismele întrețin un schimb permanent cu mediul înconjurător iar legăturile ce apar la interacțiunea organismelor cu mediul sunt studiate de ecologie.

Elementele mediului înconjurător care exercită o anumită acțiune asupra organismelor sunt numite factori de mediu: *abiotici*, *biotici* și *antropogeni* (țin de particularitățile mediului, prezența omului și activitatea lui de muncă).

Unii dintre factori au importanță vitală; aceștia sunt *factori limită*.

Factorii abiotici au ca sursă evoluția. Astfel, în procesul dezvoltării evolutive fiecare organism (specie) s-a adaptat la anumite condiții abiotice și anume:

- forma corpului le permite anumitor organisme deplasarea în apă, aer, sol;
- *compoziția chimică* a mediului este un factor determinant, și anume există plante care cresc cu predilecție pe soluri saliniale iar altele au nevoie de foarte multă apă;
- *temperatura* mediului determină existența vieții și anume avem plante tropicale, plante de climă temperată și plante care cresc la temperaturi scăzute (diferiți arbuști);

La acțiunea acestor *factori limită* fiecare specie își are limitele extreme ale toleranței (minim, maxim, și optim). De exemplu ouăle de ascaridă au toleranța de 12°C (minim), 40°C (maxim) și optim la 25°C, alga arctică *Sphaerella nivalis* poate crește la temperatura de 34°C iar alte alge cianofile viețuiesc în apa ghezerelor la temperatura de 85 sau mai mult.

Unele organisme pot suporta schimbări considerabile din mediul înconjurător numite *euritopice*, altele există numai în limite restrânse de oscilație a lor (valența ecologică diferită), numite *stenotopice*. Organismele care suportă schimbări considerabile în ceea ce privește temperaturile se numesc *euritermice* iar cele care nu suportă variații considerabile de temperatură se numesc *stenotermice*. Relativ la rezistența la săruri, avem organisme *eurigalice* și respectiv *stenogalice*. Multe exemple de organisme stenotermice găsim printre animalele nevertebrate marine care suportă ridicarea temperaturii până pe la 30°C și mai rar până la 38°C.

Dintre speciile euritermice se pot menționa animalele de apă dulce care suportă atât înghețarea bazinului și încălzirea la 41°C-44°C.

Relativ la comportarea organismelor față de lumină, de exemplu oul viermelui parazit fasciola – larva lui miradiciu se poate forma numai la o iluminare puternică iar pentru ouăle de broască lumina nu este o condiție necesară, deși accelerează procesul de dezvoltare în timp ce oul unor specii de moluște se segmentează numai la întuneric, și lumina frânează acest proces.

Prezența oxigenului pentru organismele aerobe e condiția obligatorie de existență în timp ce pentru cele anaerobe este obligatorie lipsa lui.

Atitudinea față de condițiile externe se poate schimba la unul și același organism în cursul existenței sale: ouăle de ascaridă pentru dezvoltare necesită oxigen, însă pentru ascarida matură el este toxic iar larvele țânțarilor se dezvoltă în apă iar țânțarii maturi (imago) trăiesc pe uscat.

Temperatura la care se desfășoară procesele activității vitale la majoritatea organismelor este în limitele de la 40°C la 45°C și așa se explică caracterul sărăcăcios al vieții în regiunile arctice și în condiții aride.

Pentru multe specii de animale și plante foarte important este ciclul anual de dezvoltare – fotoperiodism (durata zilei lumină și regimul de temperatură).

Supraviețuirea la condiții nefavorabile (reducerea umidității, temperatura înaltă sau joasă, lipsa hranei) la unele organisme are ca manifestare amorțirea (imobilitate, încetarea alimentării, încetinirea schimbului de gaze, scăderea bruscă a altor procese fiziologice).

Astfel, temperatura ce provoacă amorțirea se întâlnește la unele insecte, pești și amfibii la care amorțirea se instalează la coborârea temperaturii mai jos de +15°C, la altele la +10°C iar la unele doar în jurul lui 0°C. Alte animale în stare de amorțire îngheață și la dezghețare se reîntorc la activitatea vitală.

Cea mai profundă amorțire are loc în caz de anabioză. Anabioza este o stare a organismului în care procesele vitale sunt atât de încetinite încât lipsesc toate manifestările vizibile ale vieții și se

instalează la schimbarea temperaturii sau a umidității. De remarcat că în stare de anabioză sporește rezistența organismului și la alți factori nefavorabili (hipoxie, acțiunea substanțelor toxice, a radiației ionizante).

Factorii biotici ai mediului stabilesc relații *interspecifice* și *intraspecifice* care sunt exprimate prin *legături de nutriție* (lanțurile trofice), *concurență*, *antibioză* și *simbioză*.

Relațiile reciproce dintre organisme ce țin de nutriție duc la formarea *lanțurilor trofice*. Deoarece sursa de energie ce asigură existența tuturor organismelor este Soarele, prima verigă a oricărui lanț trofic este transformarea în procesul fotosintezei a energiei luminoase în energie chimică și formarea compușilor organici. Astfel, 0,1% din energia solară primită de pământ e utilizată în fotosinteză, trecând în energie potențială a substanțelor organice. Animalele erbivore dispersează o parte considerabilă a energiei și numai o parte din ea este folosită la construirea protoplasmei. Mai departe, animalele răpitoare se hrănesc cu cele erbivore.

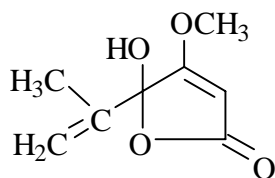
Două exemple de lanțuri trofice sunt:

- alge de plancton – animale de plancton – crustacee – pești – păsări și mamifere piscivore;
- plante – insecte – păsări insectivore – păsările răpitoare;

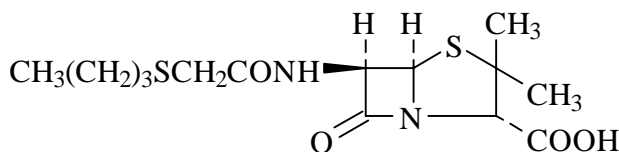
Fiecare lanț trofic cuprinde de regulă nu mai mult de 4-5 verigi, deoarece datorită pierderii de energie biomasa totală a fiecăreia din verigile următoare este de aproximativ 10 ori mai mică decât a celei precedente; această legitate se numește *regula piramidei ecologice*.

Concurența și *antibioza* sunt două noțiuni des întâlnite în studiile ce privesc relațiile ce se stabilesc între organismele vii. *Concurența* se numesc relațiile ce se stabilesc între organismele aceleiași sau diferitelor specii care coexistă în condiții identice ale mediului. De exemplu acridienii, rozătoarele și copitalele ce se hrănesc cu ierburi și între ele se stabilesc relații de concurență, în timp ce la plante apare concurența pentru lumină și umiditate.

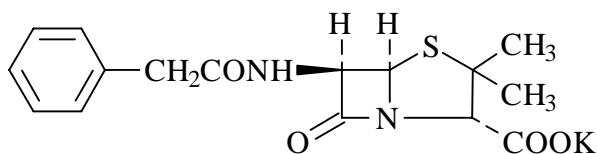
Antibioza este rezultatul acțiunii inhibitoare a unui organism asupra altuia, de cele mai multe ori în urma eliminării unor substanțe speciale de natură chimică diversă cum sunt antibioticele. Sunt cunoscute antibioticele produse de ciuperci, bacterii și alte organisme. Producători activi de antibiotice s-au dovedit a fi ciupercile de mucegai, de exemplu *Penicillium* care elimină penicilina, nocivă pentru multe bacterii. Seria de derivați ai penicilinei, cu efect antibiotic este prezentată în figura următoare.



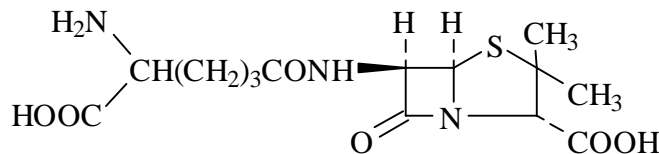
Penicillic Acid



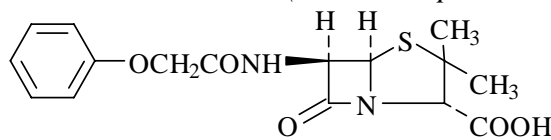
Penicillin BT



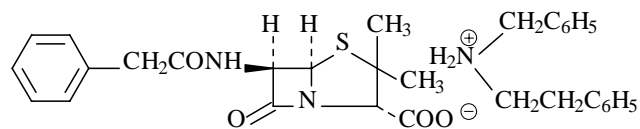
Penicillin G Potassium (Potassium penicillin G)



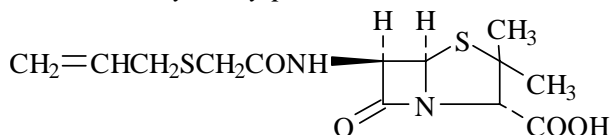
Penicillin N (Cephalosporin N, Adicillin)



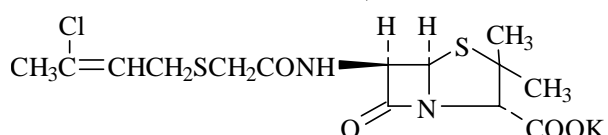
Penicillin V (Penicillin phenoxymethyl, Phenoxymethylpenicillin, Phenoxymethylpenicillinic acid)



Penicillin G (Benethamine, Benethamine penicillin G, Benetolin)



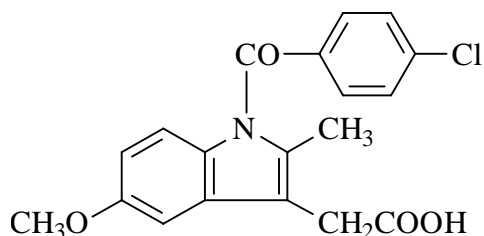
Penicillin O (Penicillin AT)



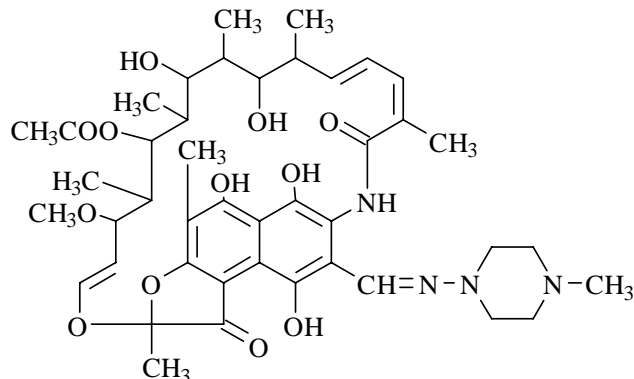
Penicillin S Potassium (Potassium penicillin S)

La antibioticele obținute din ciupercile de mucegai și bacterii se referă gramicidina, streptomycină, biomicina, tetraciclină și altele.

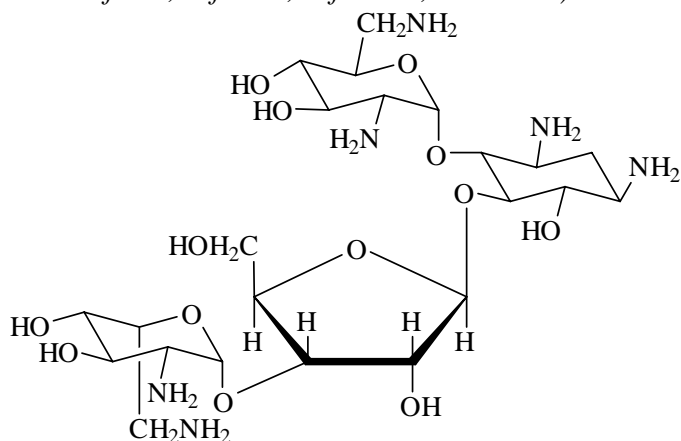
Structurile și denumirile antibioticelor uzuale sunt redată mai jos:



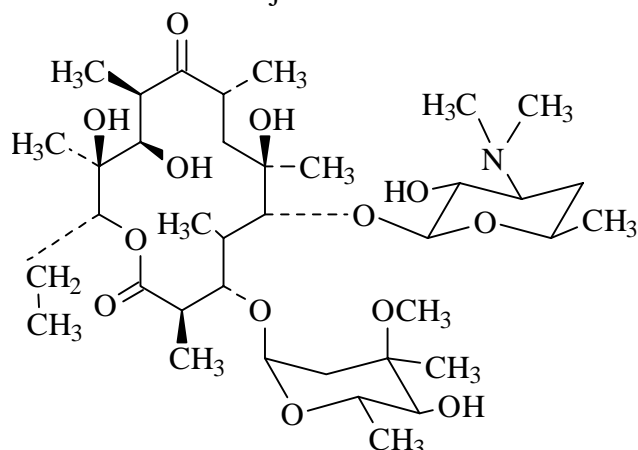
Indomethacin (Argun, Artracin, Artrivia, Catolep, Confortid, Dolcidium, Durametacin, Elmetacin, Indacin)



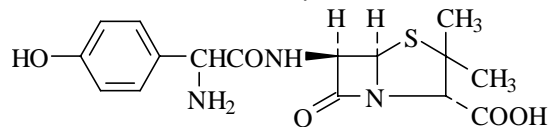
Rifampicin (Rifampin, Rifaldazine, Rifamycin AMP, Rifaprodin, Rifobac, Riforal, Rifoldin, Rifoldine, Rimactan)



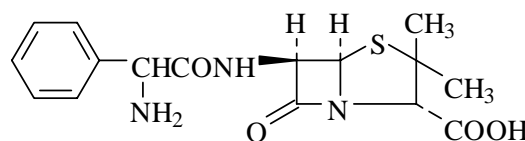
Neomycin (Mycifradin, Myacyne, Fradiomycin, Neomin, Neolate, Pimavecort, Vonamycin Powder V)



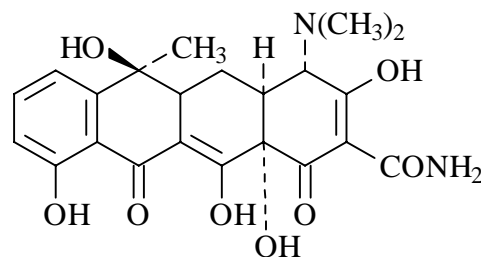
Erythromycin (Erythromycin A, Abomacetin, Eritrocina, Staticin, Stiemycin Torlamicina)



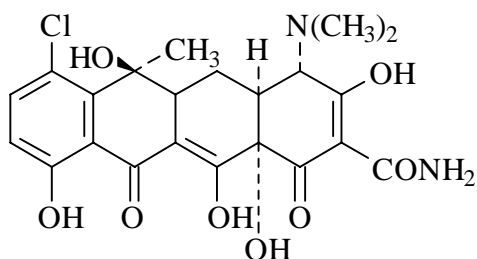
Amoxicillin (Amoxycillin, Amocilline)



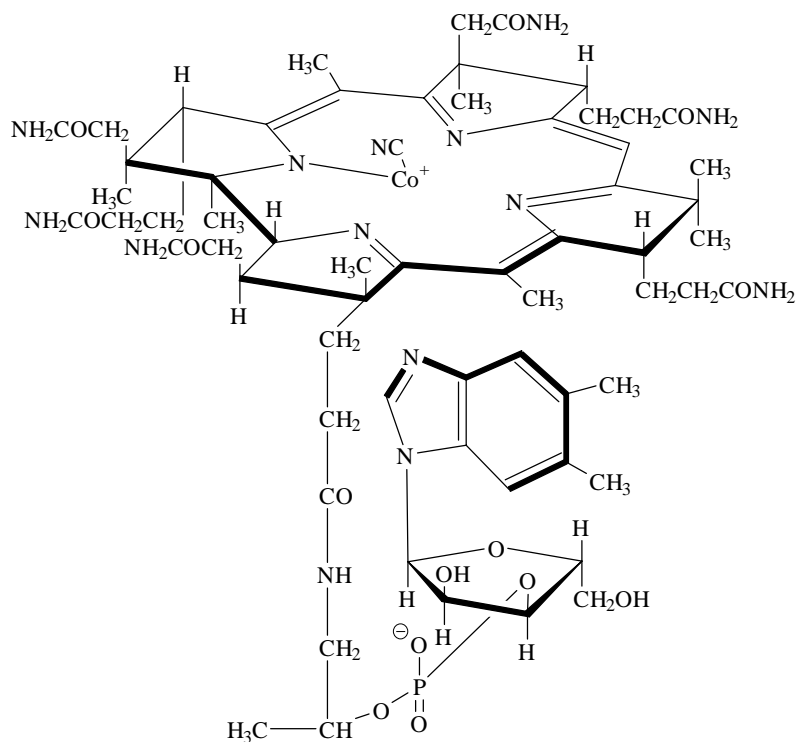
Ampicillin (Ay 6108, Adobacillin, Alpen, Ampicina, Ampilar, Ampimed, Austrapen, Bonapicillin)



Tetracycline (Deschlorobiomycin, Tsiklomitsin, Abricycline, Achromycin, Agromicina, Ambramicina, Ambramycin, Bio-Tetra, Cyclomycin, Hostacyclin)



Biomycin (Chlortetracycline, 7-Chlorotetracycline, Biomitsin)



Duodecibin (Dodecavite, Dodecabee, Embiol, Emociclina, Fresmin, Hepavis, Hemomin, Hepagon, Hepcovite, Megabion (Indian), Megalovel)

Relațiile intraspecifice (între membrii populației) pot fi *pozitive* (provoacă atracția reciprocă și cooperarea), *negative* (agresive, ce condiționează dispersarea) și *indiferente*.

În cadrul aceleiași populații, divizarea duce la separarea pe *subunități*, și anume *individul*, *familia*, *reuniunea întâmplătoare a indivizilor* și *comunitatea*. Iată câteva exemple în cazul vertebratelor: bancuri de pești, haite de lupi, turme de cerbi, colonii de păsări. În comunitate în urma ciocnirilor se stabilește *individul dominant* și *rangul fiecăruia din subalterni*.

2. Biogeochimie

2.1. Biosfera

Biosfera reprezintă o parte a învelișurilor globului pământesc (atmosfera, hidrosfera, litosfera) populată și transformată de ființele vii. Biosfera este formată din totalitatea organismelor vii împreună cu habitatele lor.

Biosfera este un înveliș termodinamic cu temperatura de la +50°C până la -50°C și presiunea în jurul unei atmosfere (101325 Pa); aceste condiții constituie limita vieții pentru majoritatea organismelor; limita superioară a biosferei este la 22 km deasupra nivelului mării; în oceane, limita inferioară a vieții o constituie la adâncimea de 10 km; în scoarța terestră dură (litosferă) limita vieții este determinată de temperatura înaltă și organismele pătrund până la 4-5 km.

Viața în biosferă se menține datorită fluxului de energie radiantă folosită de plantele verzi în fotosinteză, când energia luminoasă se transformă în energie chimică. Transformările complicate ale substanțelor în organismele vii pe contul energiei chimice acumulate în procesul de fotosinteză sunt de natură de natură biochimică și biogeochimică; practic toate substanțele scoarței terestre în cantități diferite și cu o diferită intensitate sunt antrenate în circuitul substanțelor în natură și trec prin organismele vii.

Structura elementară a biosferei o constituie *biocenoza*, și anume organisme cu diferite tipuri de schimb de substanțe. *Bio(geo)cenozele* încorporează producătorii de substanțe organice (*fotosinteticii* și *hemosinteticii*), *consumatorii* (care există pe contul substanțelor organice) și

reducătorii (ce mineralizează substanțele organice). În aceste procese se realizează transformarea energiei luminoase în diferite alte tipuri de energie.

Transformarea substanțelor, energiei și informației în biogeocenoze și în biosferă în ansamblu decurge continuu din momentul apariției vieții, ceea ce a modificat esențial aspectul planetei.

Studiul principiilor organizării și reglării transformării substanțelor, energiei și informației în natura vie este obiectivul *ciberneticii biosferei*.

Toate organismele vii formează *biomasa* planetei. Ea constituie cca. 0.01% din masa scoarței terestre însă în pofida masei mici, rolul acestora în procesele ce se desfășoară în biosferă este enorm. Organismele vii au transformat radical alte învelișuri ale planetei. Activitatea organismelor vii condiționează compoziția chimică a atmosferei, concentrația sărurilor în hidrosferă, formarea unor roci și distrugerea altora în litosferă, formarea învelișurilor de sol și altele.

2.2. Biomasa și Biosfera

În cadrul litosferei, organismele vii contribuie la crearea rocilor. Origine organogenică au:

- calcarurile ce se formează în mări din scheletele organismelor;
- diatomitul – din resturile algelor monocelulare;
- cărbunele, șisturile combustibile, petrolul – din resturile de țesuturi moi de plante și animale, supuse transformărilor chimice; rezervele de substanță organică din scoarța terestră depășesc de câteva ori cantitatea de substanță organică vie;

Organismele vii contribuie direct și indirect și la distrugerea rocilor:

- lichenii distrug direct stâncile chimic (cu ajutorul fermenților) și mecanic (rupând bucăți de roci);
- apele naturale ce conțin în stare dizolvată oxigen și bioxid de carbon de origine biogenă și alți compuși organici; datorită acestei compoziții capacitatea de dizolvare a apei naturale sporește cu mult și astfel se distrug multe roci;

Materialele inițiale pentru formarea solului sunt straturile superficiale de roci iar sub acțiunea microorganismelor, plantelor și animalelor se formează învelișul de sol. În compoziția organismelor se concentrează elementele biogene; după moartea plantelor și animalelor și descompunerea acestora aceste elemente trec în compoziția solului; ca rezultat în sol se acumulează elemente biogene și alte substanțe organice nedescompuse complet. În sol se găsește un număr colosal de microorganisme; într-o tonă de cernoziom numărul de microorganisme se ridică la cifra de $25 \cdot 10^2$, deci solul are o origine biogenă. În sol sunt compuși organici, anorganici și organisme vii și apariția și existența solului în absența biosferei este imposibilă. Solul este habitatul multor organisme; din el plantele absorb substanțe nutritive și apă.

Compoziția chimică a atmosferei este reglată de activitatea organismelor vii. Aerul uscat din stratul atmosferei de la suprafața pământului conține Azot ($78 \cdot 10^{-2}$ g/l), Oxigen ($0.2 \cdot 10^{-2}$ g/l), Argon ($9 \cdot 10^{-3}$ g/l), și Bioxid de carbon ($33 \cdot 10^{-5}$ g/l).

Din cele 4 gaze care alcătuiesc atmosfera numai argonul nu ține de activitatea vitală a organismelor; consumul și furnizarea oxigenului, azotului și bioxidului de carbon este reglată de organisme. În straturile superioare ale troposferei din oxigen se formează ozonul; moleculele de ozon absorb razele ultraviolete care sunt nocive pentru viață.

Datorită stratului de ozon, care este rezultatul acțiunii vitale a organismelor este posibilă existența vieții pe uscat și în straturile superioare ale apelor oceanelor.

În concluzie, viața singură și-a creat mediul său de viață.

În cadrul hidrosferei, compoziția chimică a apelor naturale se formează direct și indirect sub acțiunea organismelor. De asemenea, organismele vii și produsele activității lor vitale contribuie la spălarea unui șir de substanțe; aceste substanțe, apoi dizolvate în apele râurilor și apoi în apele marine se concentrează de către multe organisme. De exemplu fierul ajunge în mare sub formă de compuși cu substanțele organice; o parte din acest fier se depune pe cale biogenă: se acumulează în scheletele echinodermelor, sarcodinelor și în algele marine. În concluzie biosfera include:

- Substanța vie (totalitatea organismelor vii);
- Substanța biogenă ce se formează ca rezultat al activității organismelor vii:
 - Gazele din atmosferă;
 - Rocile de origine organică: cărbunele, petrolul, calcarul, etc;
 - Substanța inertă (apărută fără participarea organismelor vii) cum ar fi rocile expulzate și meteoriții.

2.3. Migrarea Elementelor

Ființele vii realizează migrarea elementelor în litosferă, hidrosferă și sol, schimbul de elemente între hidrosferă, sol și atmosferă, dintre uscat și mare, circuitul apei, carbonului, oxigenului și altor elemente ce intră în compoziția substanței vii.

Pe suprafața terestră nu-i o altă forță chimică care s-ar caracteriza printr-o acțiune mai continuă (de zeci de milioane de ani) și de aceea mai puternică (după rezultatele finale) decât organismele vii, luate în ansamblu.

Annual pe pământ se formează $4 \cdot 10^{11}$ tone de substanță organică. În biosferă practic atomii tuturor elementelor au trecut prin starea de substanță vie.

Elemente ca iodul, fosforul, sulful, potasiul aproape complet sunt concentrate în substanța vie, circulând continuu în organismele vii.

Oxigenul și azotul atmosferei, tot acidul carbonic sunt de origine organogenă. Rolul organismelor vii în biosferă este determinat de capacitatea lor de acumulare și transformare a energiei solare, de a se reproduce, asigurând continuitatea activității și acumularea și de a efectua reacții chimice cu o așa viteză care de câteva ori depășește viteza reacțiilor din natura nevie.

2.4. Circuitul Substanțelor în Biosferă

Toate organismele în procesul activității lor vitale consumă substanțele din mediul înconjurător. Fiecare specie de organisme le prelucrează în felul său și le întoarce în mediu în altă formă. În această formă substanța nu poate fi folosită de indivizii aceleiași specii sau de organismele altor specii cu schimb de substanțe identic.

Produsele activității vitale a unor organisme se consumă de altele care au caracter diferit al *metabolismului* și în cele din urmă în *lanțul metabolic* sunt antrenate toate speciile.

Ca rezultat aceeași substanță este folosită *multiplu* pentru formarea materiei vii.

Un astfel de exemplu este faptul că nutriția organismelor *heterotrofe* depinde de cele *autotrofe* și necesitatea tuturor aerobilor de oxigen subliniază dependența acestora de plantele verzi.

Nici organismele *autotrofe* nu pot exista fără organismele *heterotrofe* căci cantitatea de substanță neorganică necesară pentru sinteza substanțelor organice de pe Tera este nelimitată. Drept sursă de noi sinteze organice servesc produsele descompunerii substanțelor organice sintetizate anterior. Aceste sinteze sunt realizate de unele organisme *heterotrofe* în principal de bacterii astfel că plantele verzi pentru sinteza amidonului necesită CO_2 expirat în atmosferă de organismele vii.

În concluzie rezultă că în atmosferă se stabilește un *echilibru* între organismele heterotrofe și autotrofe.

Mai mult, nutriția organismelor heterotrofe este întotdeauna în dependență de alte organisme, ceea ce condiționează apariția unor *lanțuri trofice complexe*. Astfel:

- Animalele și omul consumă substanțele organice sintetizate de plante;
- Plantele verzi în procesul fotosintezei utilizează bioxidul de carbon expirat de organismele vii;
- Bacteriile și fungiile descompun substanțele organice.

Toate organismele vii sunt antrenate în circuitul substanțelor în natură. Produsele activității vitale a unor organisme sunt necesare pentru existența altora. Astfel se creează *unitatea continuă* a naturii vii și nevii.

Procesul continuu de trecere a elementelor chimice dintr-un compus în altul din componența scoarței terestre în organismele vii, scindarea lor ulterioară în compuși neorganici și elemente chimice și din nou trecerea în componența scoarței terestre se numește *circuitul substanței și energiei*.

Pe parcursul existenței biosferei componența specifică a animalelor, plantelor și microorganismelor ce înfăptuiesc acest *circuit continuu* s-a schimbat în repetate rânduri. Însă întotdeauna activitatea lor în comun menține *regimul biogeochimic* necesar pentru existența vieții.

Din totalitatea de elemente chimice cunoscute circa 40 sunt antrenate de organismele vii în circuitul activ. Aceste elemente sunt numite *ciclice* sau *biogene*.

Pentru organismele vii o importanță mai mare o prezintă circuitul carbonului, azotului, oxigenului, hidrogenului, fierului, fosforului, sulfului, potasiului, calciului, manganului, siliciului însă două cicluri identice ale aceluiași element nu există. În fiecare ciclu nou apar câteva schimbări.

2.5. Ciclurile Biogeochimice

Carbonul intră în compoziția tuturor compușilor organici. În scoarța terestră conținutul lui nu depășește 0.5%, în atmosferă după masă este doar 0.008%, însă în masa uscată a animalelor se găsește circa 20% iar în cea a plantelor până la 45%. De aceea substanța organismelor vii la temperatură înaltă se carbonizează. În aerul atmosferic există permanent bioxidul de carbon eliminat de organisme în procesul activității vitale. Furnizorii principali de CO_2 în atmosferă sunt vulcanii și apele freatice saturate cu carbonați.

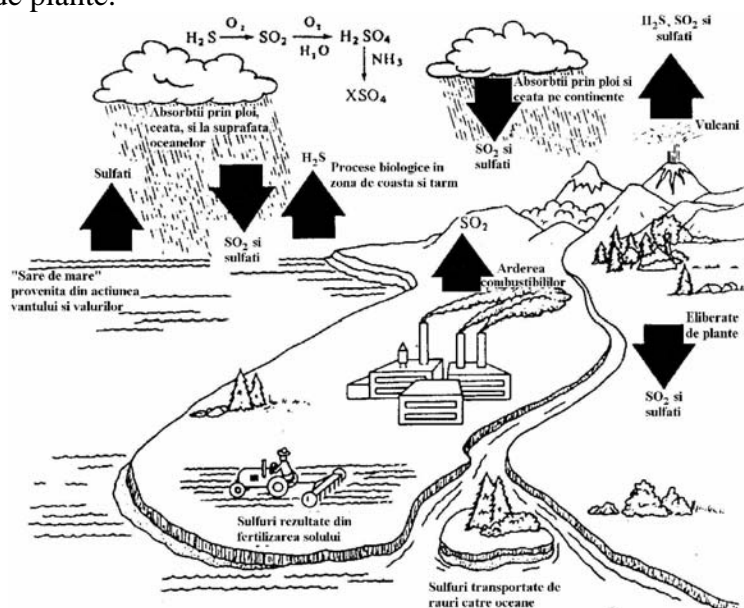
Conținutul total de CO_2 în atmosferă este de $2.1 \cdot 10^{12}$ tone. Apa de mare conține circa 50 cm^3 CO_2 în fiecare litru, deci în oceanul planetar conținutul lui este de $16 \cdot 10^{15}$ tone, de 8 ori mai mult decât în atmosferă.

În procesul de fotosinteză plantele verzi asimilează carbonul pe care frunzele îl primesc din aer sub formă de bioxid de carbon și formează glucidele. În procesul respirației plantelor o parte din glucide se oxidează și bioxidul de carbon nimereste din nou în atmosferă. Cea mai mare parte din glucide se acumulează în plante, în care se mai formează de asemenea proteine, grăsimi, vitamine.

Plantele sunt mâncate de animalele erbivore și om. Astfel carbonul trece în organismul animalelor și omului. În timpul respirației glucidele se oxidează. Pe contul energiei eliberate se desfășoară toate procesele vitale iar bioxidul de carbon se elimină în atmosferă.

Putrefacția se desfășoară cu participarea *bacteriilor de putrefacție*. În urma acestui proces de asemenea are loc oxidarea carbonului cu formarea de CO_2 ce se elimină în atmosferă. La descompunerea organismelor în lipsa oxigenului adică fără oxidare (de exemplu pe fundul bazinelor) se formează turba, cărbunele de pământ, petrolul și șisturile. Omul le folosește drept sursă de energie iar bioxidul de carbon eliberat nimereste din nou în atmosferă.

Astfel un cerc se încheie și începe un nou ciclu de antrenare a carbonului în compuși organici, sintetizați de plante.



Ciclul sulfului în atmosferă ([1])

Azotul este un element obligatoriu din compoziția proteinelor. Masa principală de azot este conținută în atmosferă. Însă plantele nu pot asimila azotul liber. El este trecut în compuși organici

de către bacteriile *azotofixatoare*. Compușii cu *sulf* existenți în atmosferă cuprind în principal H₂S, SO₂, SO₃ și sulfatați [2]. Ei intră în atmosferă pe o mare întindere, prin activități umane. Se estimează că aproximativ 65 milioane de tone de sulf pe an intră în atmosferă prin activități antropologice, în principal la arderea combustibililor [3]. Principalele aspecte ale ciclului global al sulfului în atmosferă sunt redată în figura de mai sus.

2.6. Biocenoza

Animalele vii nu sunt uniform repartizate pe suprafața planetei. Există însă anumite sectoare omogene în ceea ce privește repartiția speciilor.

Un sector omogen conține o serie de biotipuri ale speciilor iar comunitatea de populații ce formează un biotip se numește *biocenoză*.

O biocenoză conține câteva specii care sunt factorii regulatori principali. Astfel, biocenozele terestre au ca specii regulatori principali plantele.

Pe lângă *comembrii biocenozei* (plante, animale, microorganisme) natura nevie ce le înconjoară (sol, ape subterane, straturile inferioare ale troposferei) formează biogeocenoza.

Biogeocenoza este un sistem unic, dinamic și stabil. Dimensiunile unei biogeocenoze pot varia de la câțiva metri până la câțiva km și fiecare biogeocenoză se caracterizează prin:

- circuit specific al substanțelor;
- transformarea energiei solare;
- productivitatea biomasei.

În biogeocenoze există 3 grupe de comembrii:

- *sintetizatorii* (producătorii de substanțe organice) – organisme autotrofe;
- *consumatorii* (transformă substanțele organice);
- *distrugătorii* (mineralizează substanțele organice).

O biogeocenoză este un *sistem deschis* și între toți componenții biogeocenozei se stabilește un echilibru dinamic – *homeostaza ecologică*.

Evoluția fiecărei specii de organisme se desfășoară în condițiile unei anumite biogeocenoze și ca rezultat a apărut *adaptarea reciprocă* a speciilor.

Productivitatea biologică a biogeocenozei este un element important în caracterizarea sa. Se definește productivitatea primară ca biomasa plantelor ce se formează într-o unitate de timp.

Omul creează *agrobiocenozele artificiale* (câpiile, ogoare, pășuni, livezi, plantații forestiere, rezervoare de apă). Acestea sunt cu mult mai productive dar nu pot exista fără îngrijirea omului. Mai mult, spre deosebire de biogeocenozele naturale, agrobiocenozele artificiale se caracterizează prin omogenitatea componenței specifice.

Este important de reținut că folosirea nerațională a resurselor naturale duce de multe ori la dereglarea echilibrului în comunitățile biologice.

2.7. Ecologia omului

În cadrul ecologiei omului se studiază relațiile cu mediul înconjurător (condițiile *biotice*, *abiotice* și *sociale*).

Acțiunea mediului natural asupra omului este mai mult sau mai puțin estompată prin folosirea de îmbrăcăminte, foc și construcția de locuințe.

Mediul înconjurător din imediata vecinătate este modificat prin construcții locative, gospodărești, industriale, plantații de arbori, terenuri agricole, funcționarea întreprinderilor industriale și agricole și transportului.

Spre deosebire de orice alt organism viu, ce populează doar un anumit areal, ce ține seama de anumite condiții naturale, omul s-a stabilit cu traiul pe toată planeta, având astfel cel mai întins areal cosmopolit.

Interacțiunea omului cu factorii biogeografici și antropogeni ai mediului se face la diferite moduri de organizare: organismic, populațional, specific, biocenotic, și biosferic.

La *nivelul organismic* se desfășoară procese ontogenetice și fiziologice; pentru realizarea lor omul necesită anumite condiții de hrană, apă, lumină, temperatură.

Reacțiile individuale ale organismului la factorii mediului se evidențiază în condițiile provinciilor geochimice (în care se constată insuficiența sau surplusul unor elemente chimice, ce provoacă boli endemice (locale). De exemplu, insuficiența de Co se răsfrânge negativ asupra sintezei cianocobalaminei (vitamina B₁₂); are ca efect diminuarea metabolismului nucleic și micșorarea capacităților de adaptare la factorii nefavorabili ai mediului.

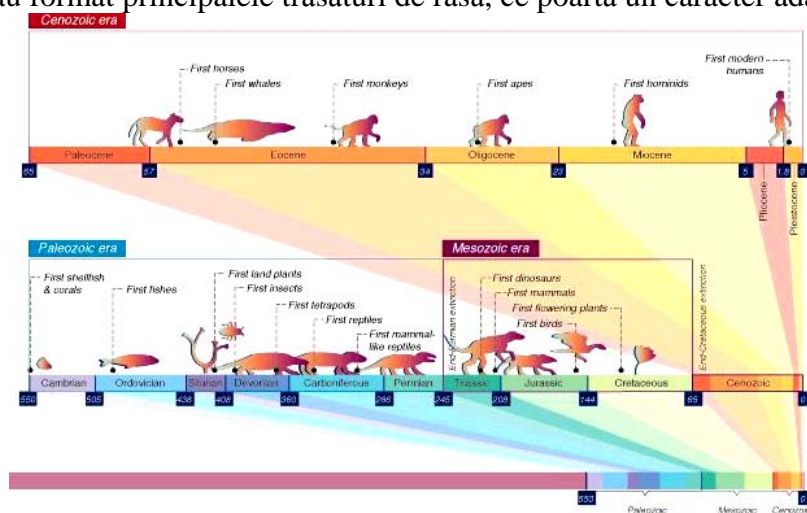
Alt exemplu, insuficiența de Cu duce la diminuarea metabolismului lipidic și încetinirea maturizării eritrocitelor în timp ce surplusul de Mo favorizează dereglarea metabolismului purinic, de care este legată sinteza acidului uric; acesta, fiind un compus puțin solubil se depune în articulații provocând o boală asemănătoare cu podagra, denumită podagră endemică molibdenică.

La un surplus de Sr se poate declanșa condrodistrofia, ce duce la nanism, picioare și mâini scurte, brahidactilie iar în provinciile cu insuficiență de iod este răspândită gușa endemică, ce ține de mărirea glandei tiroide.

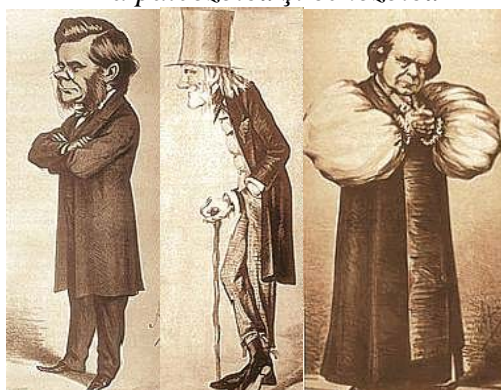
Reacția individuală a organismului se manifestă cel mai bine la schimbarea mediului de trai, și mai ales atunci când omul nimerește în condiții extreme de mediu.

Adaptarea (aclimatizarea) este condiționată de rezervele fiziologice ale organismului. Astfel, la schimbarea temperaturii mediului încep să funcționeze *mecanismele de termoregulare*. La trecerea într-o nouă zonă orară sau la urcarea în munți pentru aclimatizare se cer uneori câteva zile iar mutarea în alte condiții climatice – uneori săptămâni sau chiar luni sau să nu se stabilească deloc.

La nivel populațional – specific se poate spune că în epoca paleolitolului superior (în zorii istoriei umane) s-au format principalele trăsături de rasă, ce poartă un caracter adaptiv.



Era paleozoică și cenozoică



Caricaturi ale evoluției umane (Vanity Fair Newspaper, 1920)

Astfel, pielea întunecată a rasei ecuatoriale împiedică trecerea radiației UV, părul cârlionțat prin neaderarea lui strânsă la pielea capului servește drept barieră pentru razele solare, buzele subțiri, tăietura îngustă a ochilor, epicantusul rasei mongoloide s-au format drept adaptare la clima rece și uscată a stepelor și pustiurilor de N-V, unde praful și frigul pot vătăma membrana mucoasă a ochiului, forma plată a feței (din experiment) micșorează pericolul suprarăcirii în timp ce pielea

albă a rasei europoide s-a format în rezultatul acomodării la clima nordică unde insuficiența de calciferol în hrană duce la rahitism. Sub acțiunea razelor solare, această vitamină se poate sintetiza în grosimea pielii, însă nu e necesar ca pielea să fie apărată de pigment întunecat.

Trăsăturile adaptive sunt reacțiile care apar convergent în diferite populații ce se găsesc în condiții de trai identice independent de rudenția lor genetică sau apartenența la rasă. Astfel, un complex apropiat de trăsături caracteristice pentru zona tropicală se observă la populația europoidă din India, aborigenii din Australia și negrozii din Africa și analog, un tip adaptiv arctic întâlnim la saami europoizi, nenții mongoloizi, ciuccia, eschimoșii.

Dacă trăsăturile de rasă s-au format în zorii istoriei umane, tipurile adaptive se formează pe tot parcursul istoriei umanității.

La *nivelul biocenotic*, ca parte a biocenozei, omul intră în anumite relații cu alte organisme. Cu unele specii întreține o legătură permanentă și strânsă întrucât el singur reprezintă o biocenoză, în care viețuiesc bacterii-simbionți (bacilul coli – componentul florei intestinale normale) și endo- și ectoparaziți.

Tot mediul ce înconjoară pe om constituie practic fie cenoză (biocenoze) artificiale create de om fie biogeocenoze naturale modificate într-o oarecare măsură de activitatea omului iar biogeocenoze absolut neschimbate nu mai există practic pe planetă. În aceste biogeocenoze (numite și antropobiogeocenoze) decurge viața, desfășoară activitatea gospodărească și de toate zilele, de acestea țin factorii de sănătate și restabilire a capacității de muncă.

Din punct de vedere medicobiologic biogeocenozele se împart în 3 grupe: biocenoze naturale, încă puțin supuse acțiunii omului, comunități sătești, și comunități orașenești și industriale.



Biocenoză naturală

Biocenozele naturale se caracterizează printr-o varietate mai mare de plante și animale și se întâlnesc în diferite zone landșaftogeografice și în această privință reprezintă o mare varietate (pustiuri arctice, tundra, silvotundra, taigaua, pădurile mixte și de foioase, stepa, semipustiurile, pădurile subtropicale, pădurile musonice și mixte. De acestea ține existența bolilor cu focalitate naturală; aceste focare puteau să existe în natură pe parcursul mai multor secole independent de om, însă intervenția omului în focarele străvechi ale bolilor este deseori cauza izbucnirii morbidității.

Transformarea naturii poate duce la stingerea și lichidarea focarelor, propagarea infecției în afara focarelor primare, sau la apariția focarelor noi, ce țin de activitatea omului. Astfel au fost lichidate focarele naturale ale pestei în Europa și Transbaicalia, focarele leishmaniozei în Turcmenia; pe de altă parte înlocuirea landșafului de pădure în zona centrală a Rusiei prin lanșaft de fânețe de câmp a generat modificarea componentei rozătoarelor murine și apariția unor noi focare

de tularemie. În Africa lărgirea rețelei șanțurilor de irigare a dus la apariția unor noi focare de schistomiază, deoarece s-a mărit suprafața biotipurilor populate de moluște, care sunt gazde intermediare ale trematodului; pe teritoriile pusturilor din trecut n-au fost înregistrate îmbolnăviri locale de ascaridoză întrucât din cauza insuficienței de umiditate din sol ouăle de ascaridă nu supraviețuiau; în rezultatul construcției sistemelor de irigare clima în aceste locuri s-a schimbat, apropiindu-se de cea subtropicală umedă, și concomitent au apărut focarele locale de ascaridoză. Febra galbenă se întâlnea inițial doar în Africa Centrală și de Vest, unde era boala primatelor, transmisă de țânțarii ce viețuiau în junglă; ulterior, când una din speciile de țânțari de transmiteau virusul febrei galbene, *Aedes Aegypti*, a început să trăiască în apropierea locuințelor omenești, devenind în rezultat o specie sinantropă (din greacă: sin = împreună, antropos = om). Astfel au apărut focare intraorășenești de febră galbenă. Odată cu Europeanii și robii negri au pătruns în America tropicală agentul patogen al febrei galbene și țânțarul *Aedes Aegypti*, ceea ce a generat izbucnirea mai întâi a focarelor intraorășenești iar apoi și a celor secundare suburbane; în cele secundare gazde ale agentului patogen s-au dovedit a fi maimuțele americane (cu nasul lat), iar vectori speciile americane de țânțari.

Comunitățile sătești (agrocenozele) se caracterizează prin resturi neînsemnate de plante și animale sălbatice, teritorii imense ocupate de plante de cultură, un număr mare de animale domestice (componenta specifică a acestora este limitată). Componenta specifică și particularitățile activității gospodărești contribuie la răspândirea unor specii de zoonoze (echinococoza și tularemia) și altele. În țările cu climă caldă și agricultură irigată contribuie la răspândirea biohelmiților (schistosomozelor). Activitatea gospodărească în aceste cenoze are ca scop sporirea recoltei culturilor agricole și a productivității animalelor domestice.



Agrocenoză

Ocrotirea mediului înconjurător trebuie să se orienteze la folosirea rațională a îngrășămintelor chimice, pesticidelor, efectuarea măsurilor profilactice pentru întâmpinarea zoonozelor și helmiților. *Cenozele orășenești și industriale (urbanocenozele)* se caracterizează prin aglomerări mari de oameni, suprafețe neînsemnate de vegetație plantată artificial, faună sărăcăcioasă, poluarea frecventă a mediului ambiant cu deșeuri industriale și de transport. Poluarea mediului și factorii industriali pot fi cauza bolilor profesionale și alergice și a traumatismelor; promiscuitatea, factorii profogeni, ritmul încordat al vieții orășenești, hipodinamia creează premisele pentru bolile de nervi, psihice și cardiovasculare. Sarcina *medicosanitară* în urbanocenoze constă în preîntâmpinarea poluării mediului înconjurător, introducerea în producție a circuitelor închise, fără deșeuri, combaterea zgomotului, traumatismului rutier și de producție, crearea zonelor verzi în orașe și în jurul lor, propagarea modului de viață sănătos, culturii fizice și sportului.



Urbanocenoză

Cosmocenozele sunt un tip special de biocenoze, care a apărut odată cu navele cosmice. *Biologia cosmică* este cea mai tânără ramură a științelor biologice, care studiază acțiunea factorilor spațiului cosmic asupra organismelor terestre. Una din sarcinile biologiei cosmice este și studierea formelor posibile de viață extraterestre.



Instalarea primei structuri (din 4) în interiorul laboratorului U. S. A. de pe Stația Spațială Internațională (10 Decembrie 1997)

Problema principală este crearea sistemelor închise ce asigură existența omului în spațiul cosmic. Posibilitatea principală de creare a unui spațiu închis se bazează pe constatarea că substanțele consumate de organismele mature sunt eliminate în mediul înconjurător în strictă conformitate cu cantitatea consumată. Întrebarea principală este aici cum pot fi reintroduse în circuit produsele activității vitale.

În condițiile biocenozelor terestre circuitul substanțelor se realizează datorită activității a 3 grupe de organisme (producători, consumatori, distrugătorii). Sarcina habitatului într-un sistem artificial închis se reduce la crearea unui circuit asemănător al substanțelor; întrucât la baza circuitului substanțelor stau două procese diametral opuse (sinteza autotrofă a substanțelor organice și scindarea acestor substanțe).

Revenind la cosmobiocenoze, în nava cosmică pe lângă om mai trebuie introduse și aceste două grupe de organisme; sinteza substanțelor organice cu acumularea în ele a energiei poate fi înfăptuită de organismele *fotoautotrofe* (plantele superioare, algele unicelulare). Hrana animală (aminoacizii metioninei și cistinei) poate fi asigurată prin introducerea crustaceelor de plancton (artemiile, dafniile) sau a speciilor de moluște fără cochilie. La baza metodei biologice de mineralizare a deșeurilor organice pot fi puse procesele de *oxidare aerobă* în reactoarele utilizate pentru purificarea apelor de menaj. În prezent se creează noi metode de mineralizare, întrucât astfel de produse finale să corespundă mai bine necesităților plantelor. În timpul zborului cosmic omul suportă acțiunea diferiților factori: vibrații, suprasarcini, imponderabilitate.

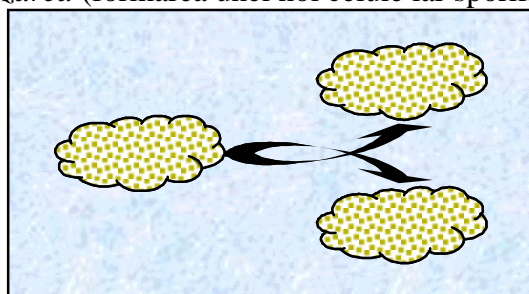
Unul dintre efectele nedorite ale zborului care trebuie compensate este că în stare de imponderabilitate greutatea corpului este nulă, presiunea hidrostatică a sângelui în vase se nivelează, sângele este repartizat uniform în toate părțile corpului și *starea de replețiune sangvină* a părții superioare a trunchiului este mai mare și se intensifică procesul de eliminare a lichidelor din organism precum și a ionilor de Na^+ și Ca^{2+} .

3. Microbiologie

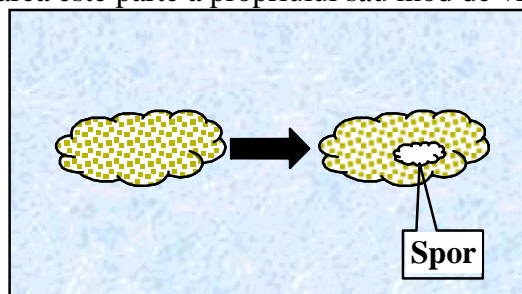
3.1. Microbiologia și Biologia Celulară

Toate organismele vii sunt compuse din *celule*. Cele cinci caracteristici importante ale celulelor sunt:

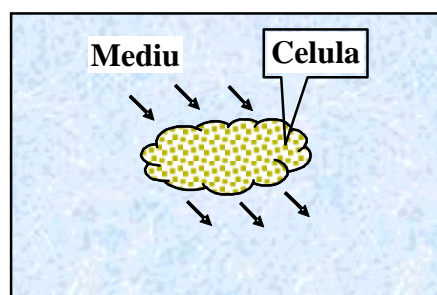
- *auto-hrănirea* sau *nutriția* (funcția *mașină*);
- *auto-replicarea* sau *creșterea* (funcția de *codificare*);
- *divizarea* (formarea unei noi celule iar sporificarea este parte a propriului său mod de viață);



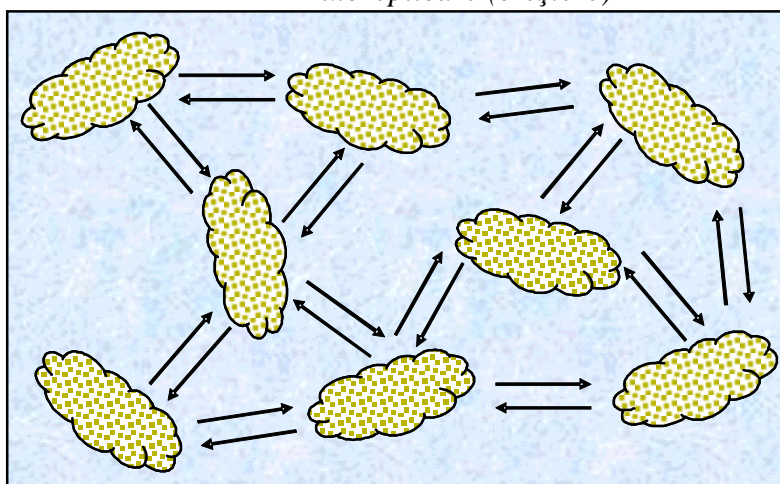
Divizare



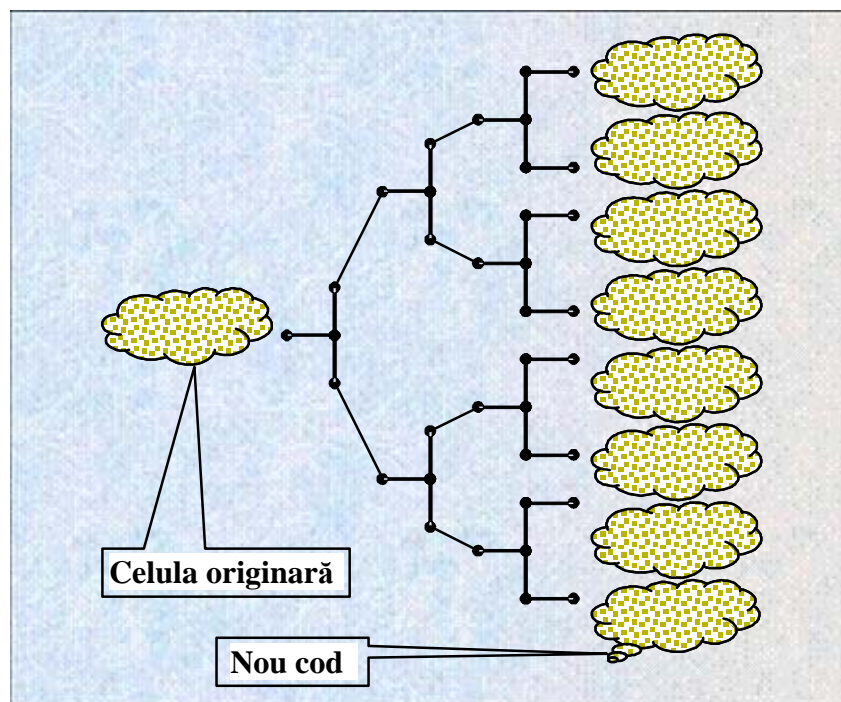
Autoreplicare (creștere)



Auto-hrănire (nutriție)



Comunicarea cu alte celule prin semnale chimice



Evoluție (apariția de modificare în codul genetic)

- *transmiterea de semnale chimice* (comunicarea cu alte celule);
- *evoluția* (schimbări care duc la apariția unor noi proprietăți biologice).

Aparent, celulele par a nu respecta legile fizicii fiind structuri cu grad înalt de ordine într-o lume în care trendul general este de a deveni mai puțin ordonată în timp. Întrebarea care se pune este "*Cum reușesc acestea să mențină ordinea?*" și răspunsul: prin generarea continuă de energie și o parte din aceasta este folosită pentru a menține structura celulei.

Generarea energiei este o caracteristică importantă a *metabolismului*. Alte caracteristici ale metabolismului sunt reacțiile chimice prin care se sintetizează compuși și se formează structura celulei.

Reacțiile chimice sunt catalizate de către molecule de *proteine* numite *enzime*. Enzimele trebuie să aibă o anumită structură pentru a funcționa; astfel, ele trebuie să înglobeze un set de *informații (gene)* care codifică structura fiecărei proteine din celulă. Setul de *instrucțiuni* este codificat în *DNA*, materialul genetic al celulei. Există de asemenea un sistem de transformare, *RNA*, care convertește informația codificată în *DNA* în proteine. Câteva tipuri de molecule *RNA (RNA mesager, RNA ribozom și RNA de transfer)* sunt esențiale pentru acest proces.

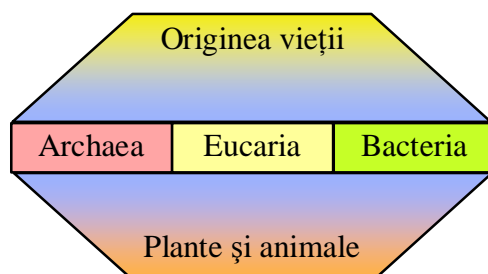
Rezultatul biosintezei este *creșterea* celulei. Pentru ca celula să se replice, ea trebuie să sintetizeze mai mult de 1000 de molecule diferite de proteine. Celulele au informație genetică pentru a produce aproximativ 3000 de proteine diferite iar genele pe care aceasta le conține sunt cele care sunt capabile să codifice proteinele cele mai utile pentru supraviețuire și creștere în condițiile de mediu existente.

Celula trebuie de asemenea să își copieze fidel informația genetică atunci când o pune într-o nouă celulă. Greșelile în copiere sunt făcute ocazional; aceste *mutații* sunt în general dăunătoare șiucid celula. Oricum, ele asigură un mecanism prin care celula achiziționează noi proprietăți. Acest fenomen apare dacă proteina codată de gena mutantă catalizează o reacție diferită față de proteina originală. În condiții favorabile de mediu, această celulă mutantă poate avea un avantaj selectiv (care constă în faptul că se poate replica mai rapid decât competitorii). Principiul *selecției naturale* este subliniat de teoria *evoluției* a lui Darwin.

Sunt două tipuri structurale de celule: celulele *procariote* sunt relativ simple în structură; *eucariotele* în schimb sunt mai complexe în sensul în care conțin *organite*, care sunt compartimente pentru funcții metabolice speciale. Aceste organite includ un nucleu adevărat, *mitocondrii* și *cloroplasta*. În plus, biologii operează cu *virusii*, care sunt entități necelulare care folosesc instrumentul metabolic al celulelor pentru a se replica.

Dihotomia între tipurile structurale de celule nu redă cu fidelitate evoluția relațiilor dintre organisme. Analiza secvențelor de *nucleotide* ale RNA ribozom au arătat că există două grupuri de procariote: *Archaea* și *Bacteria*. Aceste grupuri nu mai sunt acum apropiate unul față de altul așa cum sunt ele apropiate de *Eucaria*.

Microorganismele trăiesc în habitate în care creșterea lor este afectată de interacțiunile cu *populațiile* altor microbi ca și de proprietățile fizico-chimice ale mediului. Înțelegerea interacțiunilor ecologice în comunitățile microbiene este esențială în stabilirea rolului microbilor în natură. Este dificil de studiat microbii în natură. De aceea, tot ceea ce cunoaștem despre microbi s-a învățat de la *culturile pure*.



Evoluția relațiilor dintre organisme

Câteva specii de microbi pot avea efecte devastatoare asupra omului, cauzându-i *boli infecțioase*. Un mare succes al microbiologiei a fost controlul bolilor infecțioase letale în țările în curs de dezvoltare. Oricum, aceste boli sunt încă importante cauze de deces în zonele mai puțin dezvoltate ale lumii. Lăsând aceste aprecieri asupra anumitor specii, cea mai mare parte a microorganismelor sunt benefice. Funcționarea corespunzătoare a *biosferei* și a *solului* depinde de activitatea acestora. De mult mai mare impact asupra oamenilor se bucură industria producătoare de antibiotice, de produse alimentare, compuși organici și biomasă. O descoperire recentă o reprezintă industria biotehnologiilor care folosește microbii ca fabrici pentru a produce proteine din gene de plante și animale prin introducerea lor în bacterii *ADN*. Microbiul sunt de asemenea importanți în agricultură și biodegradarea alimentelor.

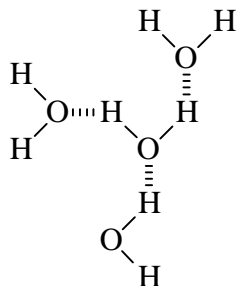
Microbiul au fost descoperiți acum 300 de ani de microscopistul *van Leeuwenhoek* dar cea mai mare parte a descoperirilor din microbiologie au fost făcuți în ultimii 100 de ani. *Louis Pasteur* și *Robert Koch* sunt doi lideri în dezvoltarea disciplinei. Printre alte multe realizări, *Pasteur* a contrazis teoria *generațiilor spontane* definitiv. Foarte importantă este demonstrația că experimentele cu microbi sunt reproductibile și nu este o consecință a apariției unei noi vieți. *Koch* a descoperit criterii ferme pentru a demonstra că o boală specifică este cauzată de o bacterie specifică (*postulatele lui Koch*). Obținerea culturilor pure a fost esențial pentru succesul criteriilor lui *Koch* și utilizarea culturilor pure rămâne și azi un instrument esențial în studierea bolilor infecțioase.

3.2. Legăturile Chimice

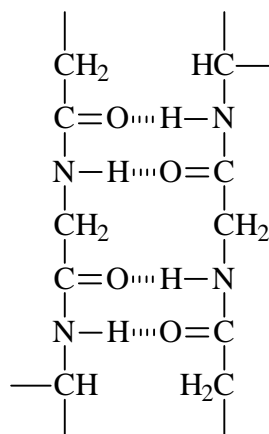
Toate formele de viață conțin tipuri similare de *molecule* și mulți dintre acești compuși biochimici nu sunt găsiți în materialele care nu sunt de natură biologică. Chiar dacă ele sunt unice, moleculele celulare respectă legile fizicii și chimiei. Aceste molecule sunt compuse din *atomi* ai a 92 de elemente naturale de pe pământ și doar 6 dintre acestea sunt componente majore ale biomasei (H, C, N, O, P, S).

Carbonul este cel mai important dintre acestea. El poate stabili legături chimice cu alți atomi în mai multe moduri pentru a produce molecule complexe și diverse. Atomul constă dintr-un nucleu care conține protoni încărcăți pozitiv și neutroni și un număr de electroni încărcăți negativ care orbitează în jurul nucleului. Punerea în comun de electroni constituie o *legătură chimică*. Dacă electronii sunt puși în comun în mod egal, legătura este *covalentă* și este una relativ puternică. Legăturile covalente pot fi formate sau rupte în celule doar de reacții specifice catalizate de *enzime*. Câteva alte interacțiuni necovalente sunt de asemenea biologic importante în determinarea formei moleculelor, sau în legarea macromoleculelor de alți compuși.

Legăturile de hidrogen sunt formate prin atracția spontană a atomilor încărcăți slab pozitiv de atomii încărcăți slab negativ din molecule.

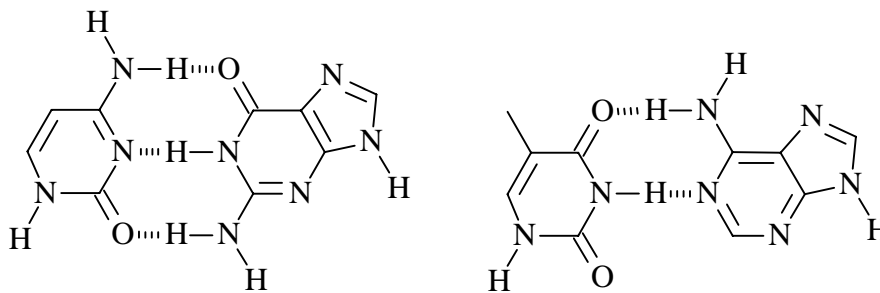


Legături de hidrogen între molecule de apă



Legături de hidrogen între aminoacizi în lanțurile proteice

O legătură simplă de hidrogen este mult mai slabă decât o legătură covalentă, dar când un mare număr de legături de hidrogen sunt formate în sau între molecule, acestea pot avea un efect semnificativ. În legăturile *hidrofobe* molecule care intră în contact cu apa formează o asociere.



Citozină

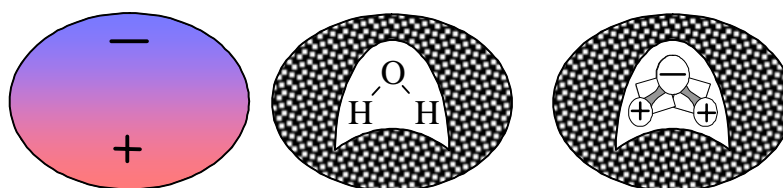
Guanină

Timină

Adenină

Legături de hidrogen între bazele din DNA

Natura vieții pe pământ este determinată nu numai de chimia atomului de carbon ci și de proprietățile de solvent ale apei. Cea mai mare parte a greutateii unei celule (70 - 90%) este formată de apă, și reacțiile biochimice nu au loca dacă nu există o cantitate suficientă de apă. Moleculele de apă sunt *slab polare* (tendința ca sarcinile + și - să se separe în molecule).



Molecula de apă

Consecințele acestei polarități sunt:

- moleculele biochimice polare importante (ca proteine, acizi nucleici, moleculele mici folosite ca nutrienți și elemente de construcție) sunt solubile în apă;
- moleculele nepolare (ca lipidele) nu sunt solubile în apă și formează agregate sau se aglomerează.

Agregatele de lipide formează bariere ca membranele și afectează mișcarea moleculelor polare înspre sau în afara celulelor.

Macromoleculele formează structura celulei, catalizează reacțiile metabolice și conțin codul informației de replicare a celulei. Sunt 4 tipuri importante de macromolecule celulare: acizi nucleici, proteine, polizaharide și lipide. Fiecare moleculă este un *polimer* compus dintr-o secvență de *blocuri constructive* legate prin legături covalente. Este important de cunoscut caracteristicile fiecărui bloc constructiv pentru fiecare tip de macromoleculă.

În funcție de natura lanțului macromolecular polimerii se împart în:

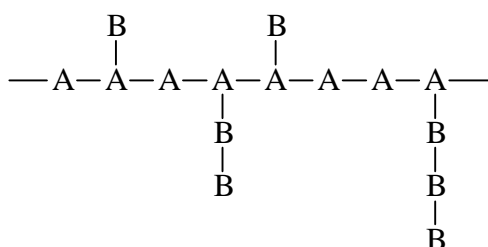
- carbocatenari (cu lanț alcătuit numai din atomi de carbon: policlorură de vinil, polietilenă, polibutadienă);
- heterocatenari (lanț alcătuit și din alți atomi: oxigen, azot, sulf, siliciu pe lângă cei de carbon: poliamide, poliuretani, poliesteri, polizaharide).

După tipul reacțiilor prin care se obțin polimerii sintetici, ei se clasifică în:

- polimeri obținuți prin reacții de policondensare;
- polimeri obținuți prin reacții de poliadiție.

Polimerizarea a două specii diferite A și B se numește copolimerizare și se poate efectua după una din schemele:

- alternativ: $-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-$
- întâmplător: $-A-B-B-A-A-B-B-B-A-B-A-A-B-$
- bloc: $-A-A-A-A-A-A-B-B-B-B-$

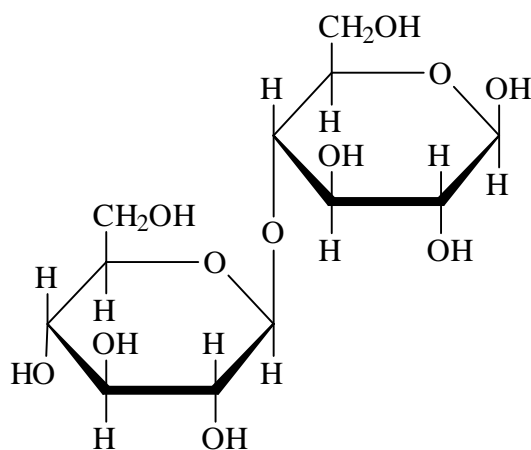


- ramificat:

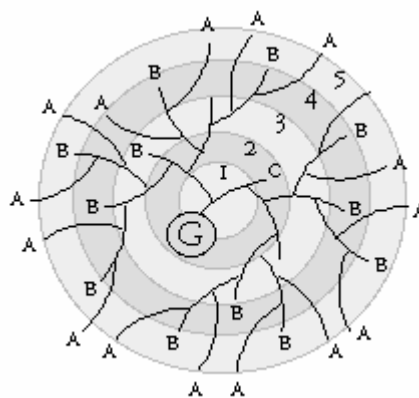
Polimerul obținut prin copolimerizare prezintă numai în cazuri rare o alternanță regulată a celor doi monomeri și, mai mult, raportul de monomeri în catenă nu corespunde de obicei cu raportul de monomeri din amestecul de reacție. Din acest caz copolimerii sunt în general substanțe amorfe.

În acizii nucleici și proteine *secvența* blocului constructiv variază de la o moleculă la alta; această secvență este cea care determină activitatea biologică a macromoleculii în celulă.

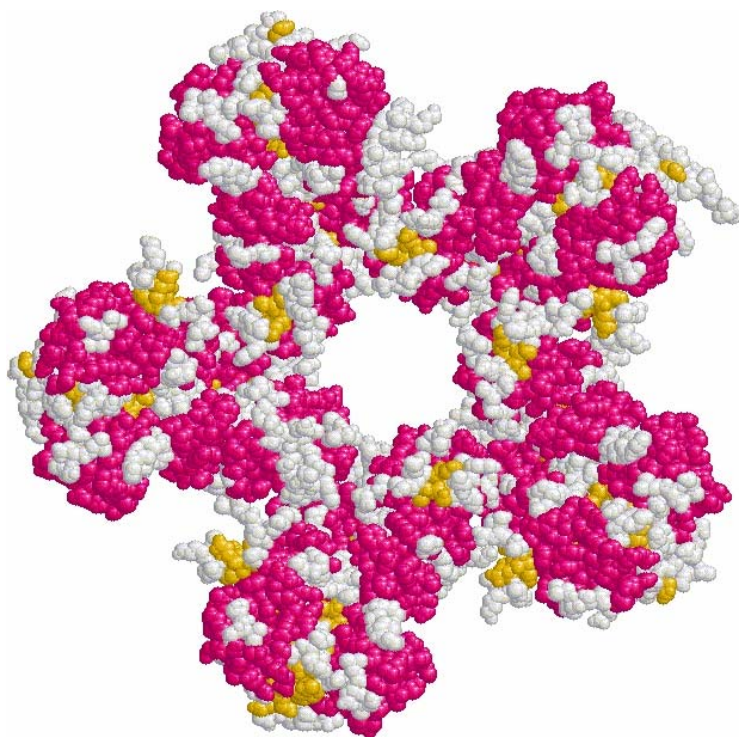
Polizaharidele sunt lanțuri de *carbohidrați* variind în lungime de la 100 la câteva mii de unități. Carbohidrații conținând 4-7 atomi sunt cei mai frecvenți în celule. Molecule diferite de carbohidrați pot fi formate prin substituția grupărilor chimice de pe structura de bază a moleculei de zaharoză și de asemenea prin *stereoizomerism*, care este obținut prin variația spațială a grupărilor –OH în lanțul carbonic. Unitățile de zaharoză în polizaharide sunt legate între ele prin *legături glicozidice*. Molecule diferite de polizaharide pot fi formate prin variația orientării legăturii glicozidice, variația monomerului carbohidrat sau prin folosirea a 2 sau mai mulți monomeri într-o polizaharidă. Cele mai importante polizaharide sunt celuloza, glicogenul, amidonul și peptidoglicolul.



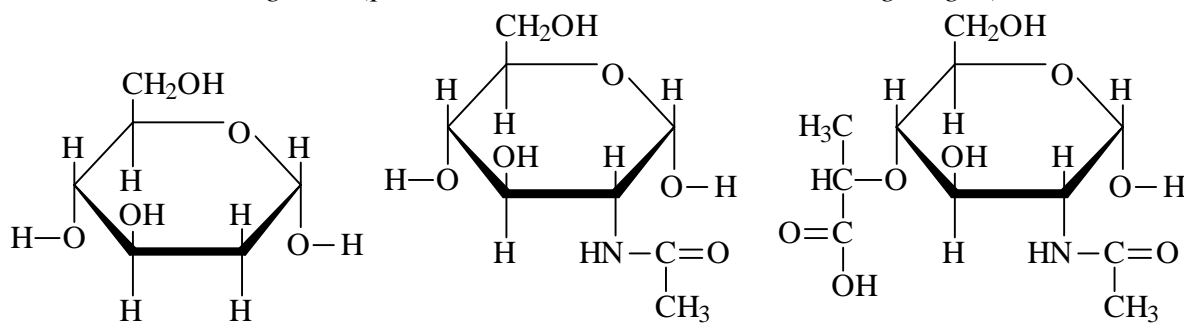
Celobioza, structura repetitivă în molecula de celuloză



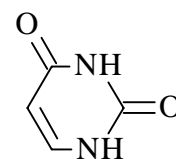
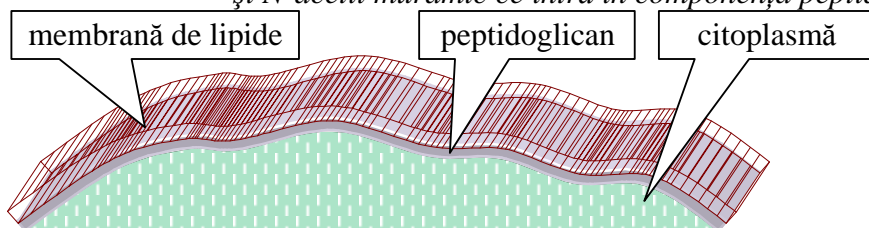
Parte din structura glicogenului (G – glicogenina, A, B, C – izomeri de structură ai glucozei) – primele 5 inele din totalul de 12 [4]



Glicogenina (proteina situată în centrul structurii de glicogen)



Glucoza, structura repetitivă în molecula de glicogen și amidon [5], și acizii N-acetil glucozamină și N-acetil muramic ce intră în componența peptidoglicolului



Membrana celulară și Uracil, a patra bază în RNA

Lipidele sunt componenți ai membranelor, bariera permeabilă a celulelor. Natura lor chimică le recomandă pentru această folosință. *Acizii grași* pe care acestea îi conțin au în componență *grupări hidrofobe* care previn ca moleculele încărcate electric să traverseze membrana.

Sunt două tipuri de *acizi nucleici* (DNA și RNA). Amândouă sunt compuse din blocuri constructive de nucleotide. Unele *nucleotide* au de asemenea și alte funcții în metabolismul energetic (*ATP*). Toate nucleotidele conțin un zahăr (glucoză, fructoză, ș.a.), un fosfat, și o bază azotată. Cei doi acizi nucleici diferă unul de celălalt prin zaharul din blocul constructiv. În amândoi, polimerul se formează prin legături covalente între zahăr și grupările fosfat între nucleotidele adiacente. Acest *cuplaj zahar-fosfat* este regula generală pentru toate moleculele de acizi nucleici. Trei baze sunt comune pentru RNA și DNA: adenina, guanina și citozina. A patra bază în RNA este uracil iar în DNA este timina.

DNA conține punți duble zahar-fosfat care sunt legate între ele prin legături de hidrogen între baze prin perechi de *punți*. Aici există preferință pentru *perechi de baze* în formarea legăturilor

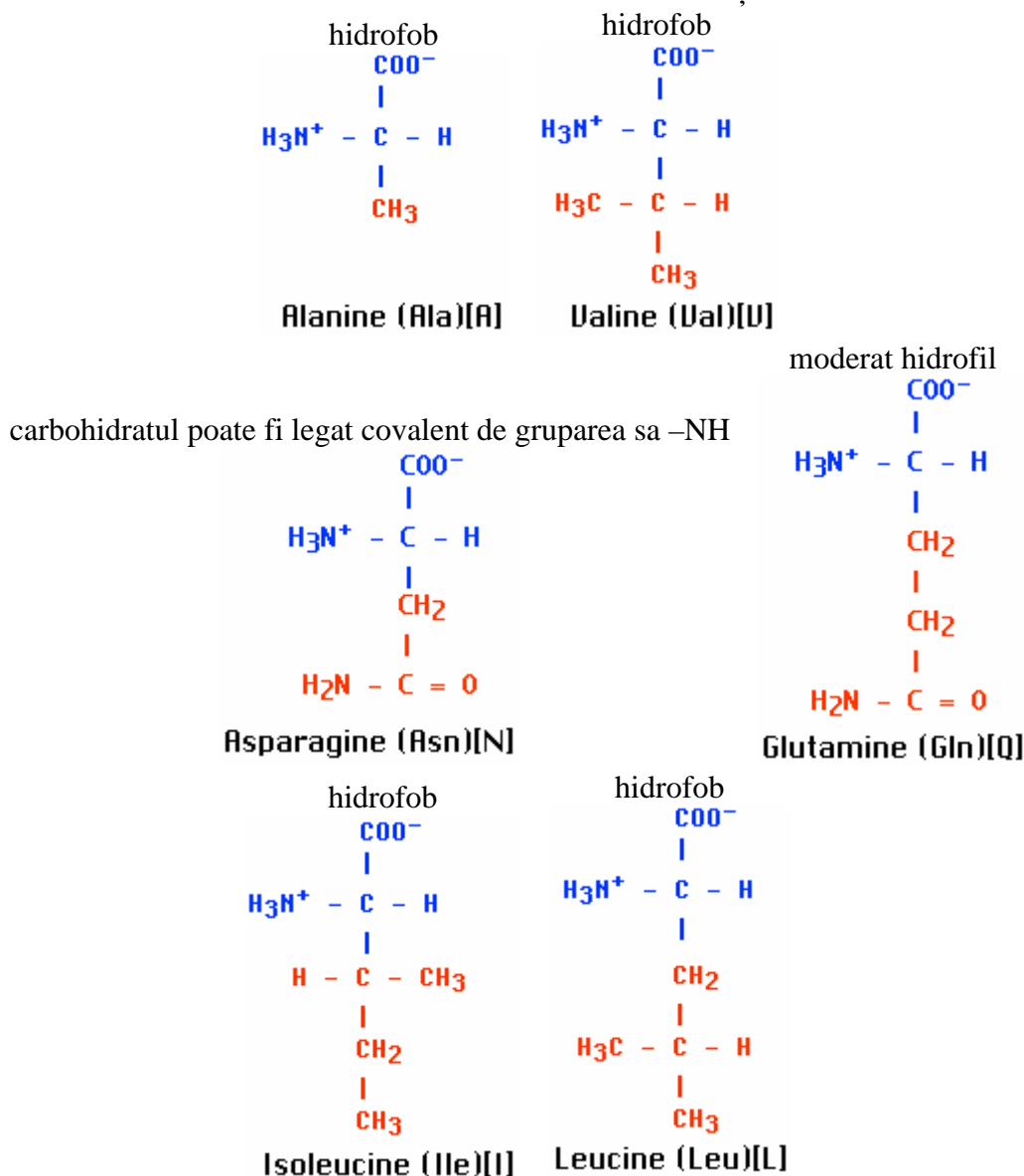
de hidrogen. Cele 4 baze se combină și compușii rezultați se împart în două clase: *purine* și *pirimidine*. Purina este formată din asocierea adeninei și timinei în timp ce pirimidina se formează din guanină și citozină.

Două punți de DNA au o secvență *complementară*. Dacă se știe o punte, se poate construi secvența celeilalte prin respectarea regulii de perechi. Acest principiu furnizează celulei o cale comodă pentru a copia cu acuratețe secvența DNA, care este informația genetică.

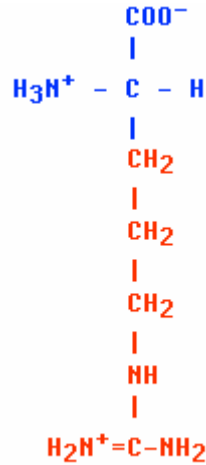
RNA diferă de DNA prin faptul că sunt în mod obișnuit formate din punți simple. Mai mult, moleculele de RNA au cel mult câteva mii de nucleotide, în timp ce DNA poate conține milioane de nucleotide. Sunt 3 clase de RNA, care sunt importante în conversia secvenței de nucleotide DNA din genă în secvență de aminoacizi în proteină.

Proteinele sunt șiruri de *aminoacizi* legate prin legături *peptidice covalente*. Legăturile se formează între o *grupare amino* a unui aminoacid și o *grupare carboxil* a unui alt aminoacid. Sunt 20 de aminoacizi, care diferă prin proprietățile chimice ale lanțurilor lor (tabelul 1). Caracteristicile părților de moleculă de proteină (de exemplu hidrofobicitatea și hidrofilicitatea) sunt determinate de tipurile de aminoacizi care se află în acea parte de moleculă. Diversitatea de proprietăți în ceea ce privește aminoacizii este realizată practic de un număr nelimitat de proteine care pot fi construite prin variația secvenței de aminoacizi.

Tabelul 1. Cei 20 de aminoacizi esențiali

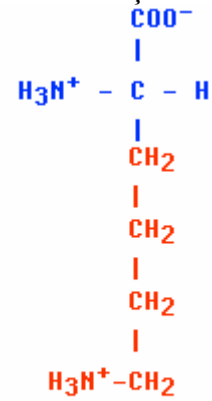


gruparea liberă amino face ca el să fie bazic și hidrofîl



Arginine (Arg)[R]

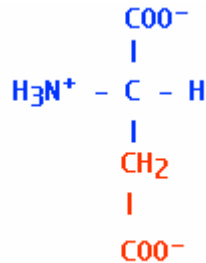
puternic bazic și hidrofîl



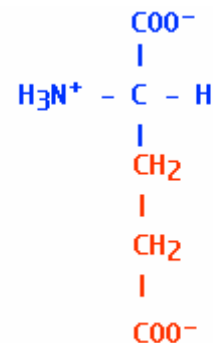
Lysine (Lys)[K]

gruparea liberă carboxil îl face acid și hidrofîl

gruparea liberă carboxil îl face acid și hidrofîl

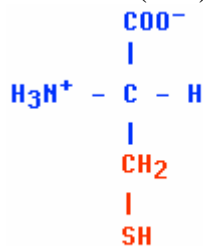


Aspartic acid (Asp)[D]



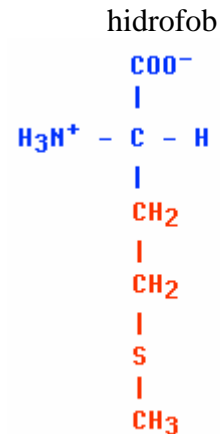
Glutamic acid (Glu)[E]

oxidarea grupării sale sulfhidril (-SH) poate lega două Cys (S-S)

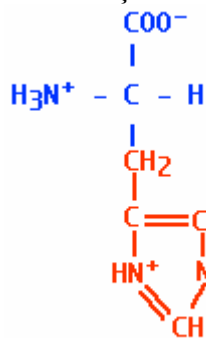


Cysteine (Cys)[C]

Bazic și hidrofîl

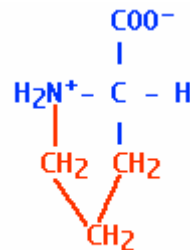


Methionine (Met)[M]



Histidine (His)[H]

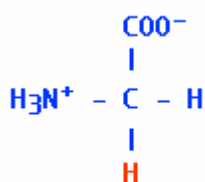
provoacă torsiuni în lanț



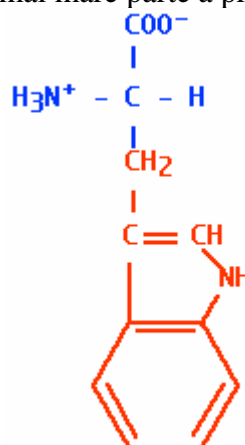
Proline (Pro)[P]

absent în cea mai mare parte a proteinelor din plante

foarte mic și amfil,
poate exista în orice vecinătate



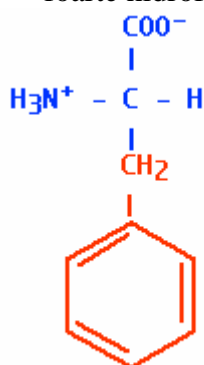
Glycine (Gly)[G]



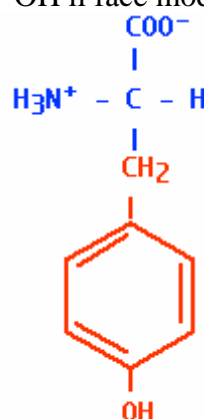
Tryptophan (Trp)[W]

gruparea -OH îl face moderat hidrofil

foarte hidrofob



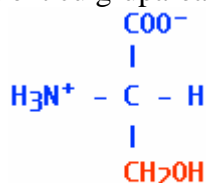
Phenylalanine (Phe)[F]



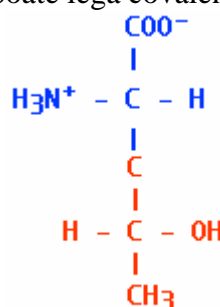
Tyrosine (Tyr)[Y]

carbohidratul se poate lega covalent cu gruparea sa -OH

carbohidratul se poate lega
covalent cu gruparea sa -OH



Serine (Ser)[S]

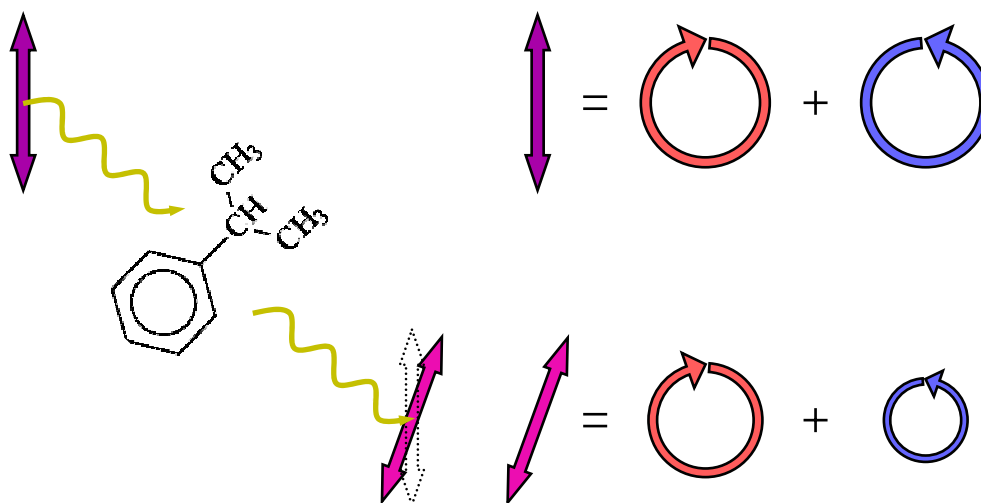


Threonine (Thr)[T]

Proteinele nu există ca polimeri liniari. Mai mult, ele capătă forme foarte diferite. Biochimistii definesc 4 nivele ale structurii proteice. *Structura primară* este dată de secvența de aminoacizi. *Structura secundară* referă formarea unei spirale sau a unei foi de șirul de polipeptide ca rezultat al legăturilor de hidrogen între atomi. O pliere și mai mare care este realizată de legăturile covalente sau necovalente (-SH) se numește *structura terțiară*. În cele din urmă, mai multe polipeptide se pot asocia pentru a forma o proteină funcțională. Aceste aranjamente formează *structura cuaternară*.

Proprietățile de pliere sunt esențiale în stabilirea formei proteinei și selecția moleculelor care pot atașa prin legături covalente sau necovalente de aceasta. Demonstrația acestui fapt se face pe cale experimentală, când prin deplierea structurii terțiare, folosind căldura, acizi sau baze (*denaturarea* unei proteine) proprietățile sale originare (în special *activitatea biologică*) sunt diminuate sau eliminate. Astfel, aceasta își pierde calitatea de a cataliza o anumită reacție sau capacitatea de a forma structura celulei.

Când 4 entități diferite sunt legate de un atom de carbon, acele molecule pot exista ca *stereoizomeri*. Aceste molecule au aceeași formulă structurală dar una este imaginea în oglindă a celeilalte. La zaharuri și aminoacizi, aceste forme se numesc D și L (de la *dextrogir* - rotește planul de polarizare al luminii spre dreapta și *levogir* - rotește planul de polarizare al luminii la stânga). Zaharurile D predomină în sistemele biologice iar formele L predomină în aminoacizi.



Rotația luminii polarizate de către stereoizomeri

3.3. Biologia Celulei

Celulele microbilor sunt prea mici pentru a fi văzute direct. În consecință, pentru studiul morfologiei celulare, sunt utilizate microscopale.



Microscop optic



Microscop electronic

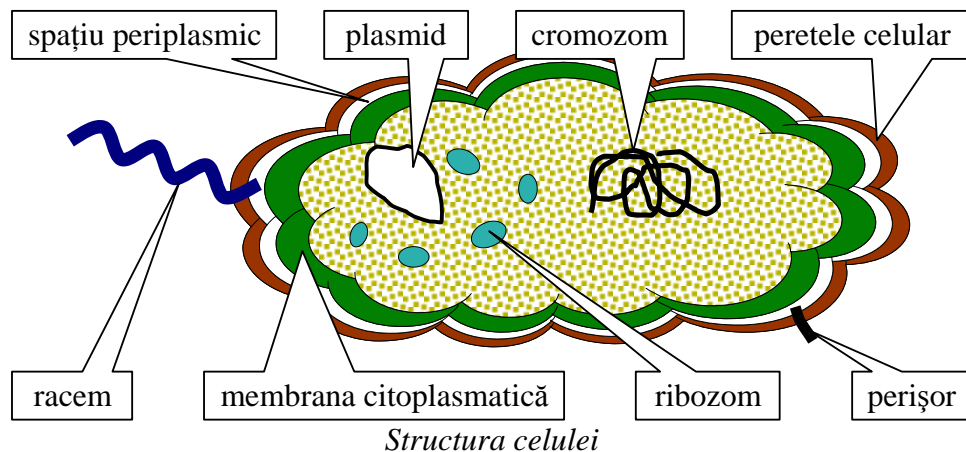
Microscopale optice sunt utilizate frecvent pentru a determina morfologia celulei. O varietate de tehnici optice (*câmp luminos*, *fluorescență de contrast de fază*) au fost perfecționate pentru aplicații specifice și sunt folosiți *marcheri* pentru sporirea vizibilității și mărirea contrastului unor structuri anume ale celulei. Limita de rezoluție pentru microscopul optic este de circa 0.2 μm .

Cea mai importantă tehnică de marcarea este *marcarea Gram*, deoarece diferențiază organismele pe baza structurii *peretelui celular*. Rezultă astfel două grupuri de bacterii: *Gram-pozitive* și *Gram-negative*. Detaliile fine ale structurii celulare se pot decela cu ajutorul *microscopului electronic*.

Atât celulele de *Bacteria* cât și cele de *Archaea* pot fi descompuse într-un număr de structuri care efectuează funcții specifice. Este important de știut funcțiile acestor structuri și compoziția lor

chimică. Câteva structuri de bază se regăsesc în toate celulele *procariote* și *eucariote*. Acestea sunt *membrana citoplasmatică*, *ribozomii* și *genomul*.

Câteva forme de bacterii sunt frecvente: forma sferică (*coccus*), cilindrică (*rod*) și elicoidală (*spirilla*). În contrast cu celulele procariote, celulele eucariote sunt mult mai mari și mult mai complexe. Nucleele lor se află în interiorul unei membrane și sunt organizate în molecule de DNA distincte numite *cromozomi*. De asemenea în celulele eucariote conțin o structură secundară numită *organele*.



Forme de bacterii (*coccus*, *rod*, *spirilla*)

Aceste organele includ *mitochondrii* și *cloroplastul* (în organismele *fotosintetice*). Dimensiunea mică a microbilor are câteva implicații. Dimensiunea bacteriilor variază de la 0.1-0.2 μm până la 50 μm în diametru. În general, celulele mici cresc mai rapid decât celulele mari. Aceasta este o consecință a faptului că un raport suprafață / volum mare le permite un schimb rapid cu mediul exterior și a faptului că *nutrienții* care sunt supuși metabolismului în *citoplasmă* trebuie să fie traversați prin membrana celulară. Raportul suprafață / volum este o măsură a câtă suprafață de membrană este disponibilă pentru a asigura nutrienți pentru proteinele din unitatea de volum de citoplasmă. Odată cu creșterea dimensiunii celulei, volumul crește mai repede decât suprafața. *Membrana citoplasmatică* este o barieră selectivă în separarea citoplasmei de mediul exterior. Pentru ca să existe ordine, trebuie ca să fie menținut controlul asupra la cine intră și cine iese din celulă. Aceasta este de fapt funcția membranei celulare. Bariera pentru traversarea necontrolată a membranei este asigurată de un *strat dublu de fosfolipide*. Grupările hidrofobe de glicerol ale lipidelor sunt aliniate la periferia membranei în timp ce acizii grași hidrofobi sunt plasați în interior. Interiorul hidrofob previne ca moleculele încărcate pozitiv sau negativ să traverseze membrana. Aceste molecule pot traversa membrana numai cu ajutorul unor *proteine transmembrană* specifice care sunt înglobate și divid matricea lipidei. Elementul important este că celulele pot tipurile și activitățile de transport a proteinelor de control care la rândul lor controlează mișcarea moleculelor înspre și dinspre celulă. Deși toate celulele au membrane plasmice formate din lipide, tipul lipidelor diferă. Eucariote și *steroli* se regăsesc în membrane. Una din calitățile Archaea-ei, comparată cu *Bacteria* sau *Eukaria* o reprezintă *legăturile eterice* între glicerol și regiunea hidrofobă a lanțului lipidic comparativ cu *legăturile esterice* prezente în alte organisme. Ca rezultat, lipidele archae-iei au regiuni de lanț compuse din lanțuri de legături de izopren. Membrana lipidică este o barieră pentru traversarea moleculelor dinspre și înspre celulă. *Membrana de proteine citoplasmatică* este responsabilă pentru activitățile metabolice asociate membranei. Exteriorul membranei este asociat cu transportul nutrienților în timp ce transportul electronic prin membrană este inițiat de fața interioară. Membrana exterioară este mult mai permeabilă decât membrana

plasmatică interioară. Ea conține *peri*, proteine care formează mici găuri în membrană. Oricum, macromoleculele nu pot încapa prin aceste găuri. Existența membranelor celulare se justifică și altfel; concentrația de solut este în general mult mai mare în interiorul celulei decât în exteriorul membranei plasmatică. Dezechilibrul se corectează prin traversarea apei prin membrană spre celulă (*osmoză*). Oricum, prea multă apă poate provoca blocajul celulei. Tăria mecanică a pereților celulei rezistă însă presiunii osmotice. Acest fapt este atestat de hidroliza peptidoglicanului de către enzima numită *lizozimă*. Multe bacterii mobile au un sistem de echilibru care le permite să-și regleze deplasarea în funcție de concentrația *atractanților chimici*. Sensorii care reglează acest echilibru sunt numiți *chemoreceptori*. Trei importante organele prezente în celulele eucariote sunt mitocondrii, cloroplastele și nucleul. Toate 3 sunt înconjurate de membrane de lipide dar în toate cazurile, membranele acestora sunt mult mai permeabile decât membrana plasmatică. Nucleul conține materialul genetic al eucariotelor. Genomul este conținut într-un număr de molecule de DNA numite *cromozomi*. Mitocondrii sunt sursele de energie. Moleculele cu masă mică pot ușor traversa membrana mitocondriilor. Există de asemenea niște membrane interne numite *cristai*, care sunt implicate în conversia energiei. Matricea mitocondriilor conține enzime care metabolizează compușii organici. Cloroplastele conțin la rândul lor membrane interioare (*tilacoizi*) bazate pe pigmenți și proteine necesare pentru transportul energiei fotosintetice capturate. Energia și puterea de reducere generate de fotosinteză sunt folosite în țesuturile de legătură pentru conversia CO₂ la carbon organic. Mitocondriile și cloroplastele sunt de dimensiunea celulelor procariote, și din acest motiv se justifică explicația că aceste organele apar când celulele procariote invadează celulele mai mari și devin *simbioți* ai acestora.

Microorganismele sunt împărțite în clase metabolice în funcție de sursa lor de energie. *Fototropele* își obțin energia din lumină, în timp ce *chemotropele* își obțin energia pe cale chimică. *Chemoorganotropele* folosesc compuși organici în timp ce chemolitotrofele folosesc compuși anorganici.

Compoziția chimică a celulei este un element important de analiză. Celulele sunt bogate în proteine și în instrumente de producere a acestora (*ribozomii*).

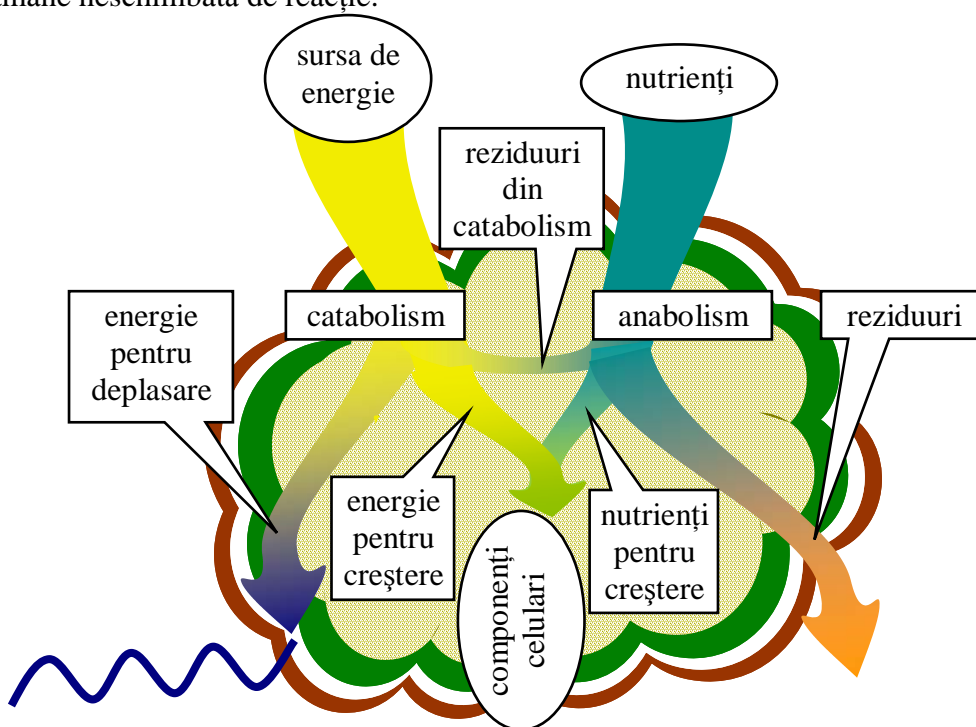
Astfel, proteinele și acizii nucleici sunt cantitativ cele mai importante componente. La asigurarea unui *nutrient* pentru creșterea unei celule trebuie să se țină seama de ponderea elementelor chimice în celule. *Heterotrofele* necesită carbon organic pentru susținerea biosintezelor de lanțuri carbonice și necesarul de energie de sinteză. *Azotul*, cel mai frecvent asimilat sub formă de amoniac, este constituentul esențial al proteinelor și acizilor nucleici. *Fosfații* sunt utilizați uzual ca surse de fosfor pentru sinteza acizilor nucleici și a fosfolipidelor. Sulfur, asimilat sub formă de sulfați, este esențial pentru sinteza a 2 aminoacizi. Prin convenție, nutrienții sunt împărțiți în macronutrienți (C, H, O, N, P, S, K, Mg, Na, Ca și Fe) și micronutrienți (Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, W, V și Zn).

Metabolism este termenul care cuprinde toate reacțiile chimice din celulă. Se pot împărți aceste reacții în reacții care sintetizează nou material celular (*anabolism*) și reacții al căror scop este asigurarea energiei din energie chimică (*catabolism*). Aceste două categorii de reacții sunt legate între ele, în sensul în care reacțiile catabolice asigură energia necesară pentru desfășurarea reacțiilor anabolice de creștere.

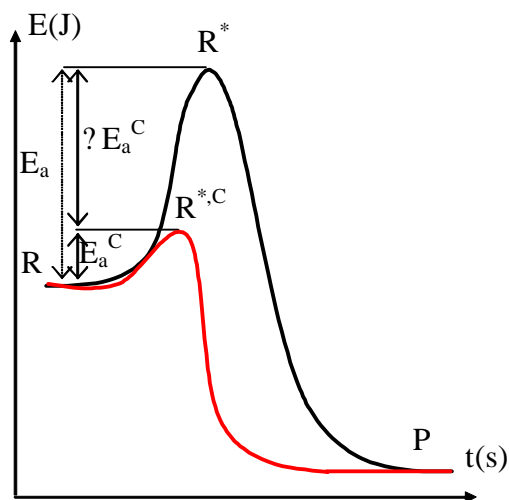
Celulele au pus la punct un mecanism prin care capturează energia eliberată când substanțele sunt *oxidate* în timpul *catabolismului*. Energia se definește în acest caz ca abilitatea de a efectua lucru. Cantitatea de energie (lucru) eliberată este cuantificată ca schimbare în *energia liberă* (G). Dacă este eliberată energie într-o reacție, atunci G calculat ca energia liberă din produși minus energia liberă din reactanți este mai mică ca 0, deci o variație de energie liberă negativă. Aceasta este natura reacțiilor catabolice. În reacțiile de *biosinteză* (anabolice), variația de energie liberă este mai mare decât 0 și celula trebuie să contribuie cu energie pentru ca reacția să decurgă în sensul dorit.

Oricum, reacțiile controlate termodinamic nu au loc totdeauna imediat ce reactanții sunt amestecați. Legăturile trebuie rupte pentru ca moleculele să se recombine, și aceasta necesită o *energie de activare*. Această energie poate fi asigurată prin încălzirea reactanților, dar aceasta nu

este posibil în celule. În celule, *enzimele* funcționează ca și *catalizatori* diminuând energia de activare a reacției până la punctul la care aceasta decurge la temperatură normală. Catalizatorul (enzima) rămâne neschimbată de reacție.



Metabolismul celular



Tunelarea energetică cu ajutorul catalizatorilor enzimatici

Enzimele sunt catalizatori biologici; ele sunt foarte specifice și pot avea efect spectaculos asupra reacțiilor pe care le controlează. Energia de activare pentru hidroliza acidă a zaharozei este de $107 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$; în prezența enzimei *zaharază* energia se reduce la $36 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ și procesul de hidroliză este accelerat de 10^{12} ori la temperatura corpului (310 K).

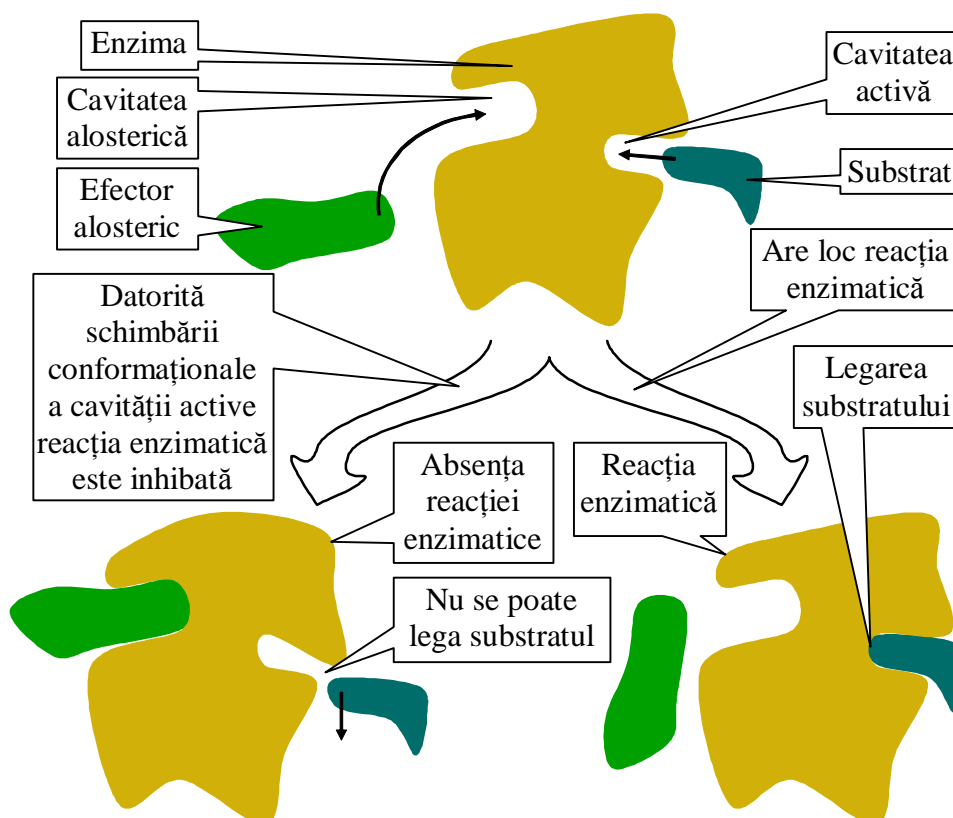
3.4. Genetică și Inginerie Genetică

Chiar dacă genomul celulei posedă toate instrucțiunile necesare pentru construcția multor proteine, nu toate acestea *se exprimă* în același timp. Mai mult, când o enzimă este prezentă în celulă, poate să nu fie activă datorită condițiilor de mediu prezente în celulă.

Chiar dacă multe reacții enzimatice au loc într-un singur ciclu al celulei, nu toate au aceeași amploare. Unii compuși sunt necesari în cantități mari, în timp ce alții sunt necesari, dar în cantități mici. Mai mult, unele proteine sunt necesare în cantități mari în anumite condiții, în timp ce altele în cantități mai mici, iar la altele trebuie asigurată o cantitate constantă și acesta este cazul celor mai

multe dintre procesele de creștere. Deoarece celula trebuie să folosească la maxim resursele sale, aceste procese trebuie regulate.

Căile *biosintetice* pot fi controlate cu ajutorul *inhibiției de reacție inversă*, ceea ce înseamnă că *produsul final* al întregului lanț metabolic inhibă activitatea *primei enzime* din lanț (nu din genă). Dacă prima reacție nu mai are loc, enzimele următoare sunt "înfometate" de substrat, și produsul final nu mai este sintetizat. Produsul final se așează pe prima enzimă într-o *cavitate* diferită de *cavitatea activă*. Această a doua regiune se numește *cavitate alosterică*. Așezarea *efectorului alosteric* schimbă structura tridimensională a proteinei și în special conformația cavității active. Astfel, substratul nu se mai poate așeza în cavitatea activă și reacția enzimatică este inhibată până când *inhibitorul de reacție inversă* nu părăsește cavitatea alosterică.



Mecanismul enzimatic celular

A doua modalitate de a altera activitatea enzimei este prin *modificare covalentă*. O *enzimă modifikator* catalizează adăugarea (prin legătură covalentă) a unei grupări fosfat, metil sau a unei nucleotide la o enzimă biosintetizatoare. Această adăugare alterează conformația cavității active a enzimei biosintetice și prin aceasta și activitatea ei. Gruparea modificatoare poate apoi fi extrasă cu ajutorul altei enzime modifikator și astfel se restaurează activitatea inițială a enzimei biosintetice.

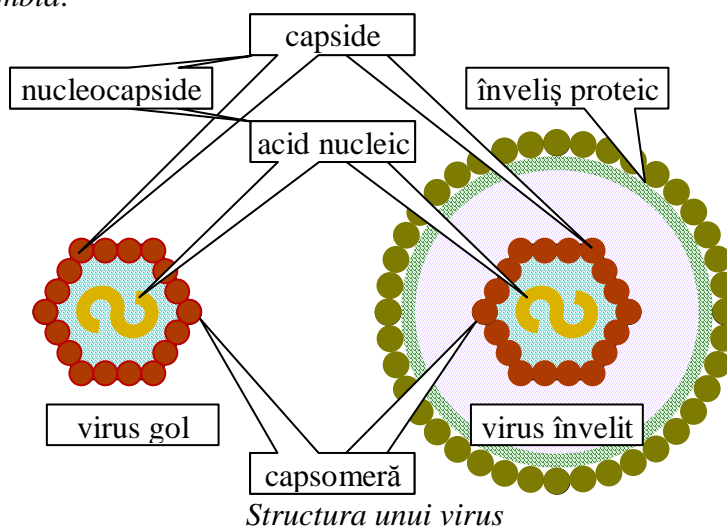
Virusii sunt *elemente genetice necelulare* care conțin acid nucleic înconjurat de un scut proteic. Ei sunt mai mici decât celula și dimensiunile acestora variază de la 0.02 μm la 0.03 μm . Spațiul dintre scutul proteic și virus este metabolic inert iar forma "dezbrăcată" a virusului (de peretele proteic) se numește *virion*. Deoarece virusii nu posedă instrument metabolic, aceste elemente genetice trebuie să invadeze (*infecțeze*) celulele și să folosească ribozomii, enzimele și potențialul catabolic al celulei gazdă pentru a se putea reproduce.

Bacteriile, animalele și plantele sunt susceptibile la anumiți virusi. Genomul viral este mult mai mic decât sistemele bacteriene. Unul dintre cei mai mari genomi virali are 190 de kilobaze comparativ cu 590 de kilobaze, cât are cel mai mic sistem bacterian.¹

¹ Kilobază – unitate de lungime pentru fragmente de DNA egală cu 1000 de nucleotide;

Nucleotidă – subunitate de DNA sau RNA formată dintr-o bază azotată (purină, adenină, guanină, pirimidină, timină, citozină, uracil și o moleculă de zahar (deoxiriboză sau riboză);

Virusii nu sunt restricționați la prezența lanțurilor duble de DNA ca material genetic. DNA-ul virusilor poate fi un lanț simplu în timp ce RNA, ca lanț simplu sau dublu poate servi ca material genetic. Materialul genetic viral este localizat în interiorul unei proteine numite *nucleocapsidă*. Această formă neobișnuită de material genetic creează probleme unice în replicarea genomului și producerea de mRNA. Genomul poate de asemenea să fie segmentat în mai multe molecule în interiorul cuștii proteice. Cușca proteică constă dintr-un număr de subunități proteice (*capsomere*) care fiecare formează câte o spirală sau o structură cu 20 de fețe (*icosaedru*) în jurul acidului nucleic. Aceste aranjamente sunt cele mai eficiente din punct de vedere geometric deoarece minimizează numărul de capsomere necesare pentru a acoperi genomul și permit ca să aibă loc interacțiuni similare cu interacțiunile proteină-proteină între subunitățile proteice identice și de aceea se pot *autoasambla*.



Acestea sunt elementele minimale pentru un virion. Unii virusi pot avea alte structuri, cum ar fi cozi sau perișori, care sunt importante în infecția celulelor. Alții, cu precădere câțiva virusi animali, au *anvelope* membranoase care înconjoară *nucleocapsida*. Acestea sunt adăugate ca particule florale pe membrana celulară. Astfel, aceste lipide din anvelopă sunt derivate din celulă, dar proteinele pot avea cod de virus înglobat în ele pe perioada multiplicării virusului.

Obiectivul programului de *inginerie genetică* este de a izola și purifica gene într-un proces numit *clonare de gene*. Strategia urmărită în clonare este de a izola și recupera gene specifice de la un genom mare și complex și de a-l insera într-o genă simplă și ușor de manipulat. t-DNA (*total*) este izolat de la un organism și este decupat în piese mai mici folosind o *endonuclează de restricție* specifică. Enzima de restricție realizează o tăiere a lanțului dublu de DNA într-o secvență specifică (*palindrom*). Astfel, la sfârșitul tăierii moleculei, se obțin secvențe simplu înlănțuite. Dacă această preparare a *fragmentelor de restricție* este amestecată cu un *vector de clonare* și tăierea se face cu aceeași enzimă de restricție, moleculele hibride se obțin dintr-un fragment de origine DNA inserat într-un vector de clonare DNA. Amestecul de molecule recombinante este introdus într-o bacterie gazdă pentru a genera *librăria DNA*. Aceasta înseamnă că clonele bacteriene individuale conțin molecule de r-DNA (*recombinant*). Dacă vom examina suficiente clone, probabilitatea ca să găsim toate fragmentele de restricție în sursa de DNA există.

Proiectul *Genomul Uman*, un efort de a colecta și secvențializa întregul genom uman a dus la crearea *primului cromozom artificial* (YAC). Vectorul YAC este de aproximativ 10 kilobaze și acceptă de la 200 la 800 de kilobaze pereche de DNA și a fost construit în primă fază la fel cu un cromozom eucariotic obișnuit.

Cea mai studiată gazdă de microorganisme pentru r-DNA este *Esterichia coli* (*E. coli*). Potențialul său de *patogeneză umană* aduce câteva neajunsuri în producția industrială, iar inabilitatea sa de a *secretă* enzime face ca metodele de purificare să fie greu de aplicat la scară industrială.

Domeniile principale de interes comercial pentru tehnologia de sintetizare de r-DNA este pentru producerea de:

- produși microbieni ca *antibioticele*;
- *vaccinuri* care protejează împotriva virusilor;
- proteine *mamaliene*;
- plante și animale *transgenice*.

Aceste tehnici sunt de asemenea folosite pentru studiul bacteriilor care produc degradarea poluanților mediului ca o metodă de a trata *bolile genetice*.

Multe *proteine mamaliene* care au importanță medicală sunt produse numai în cantități mici, deoarece este dificil de a fi obținute. Prin clonarea acestor gene, bacteriile pot fi ușor utilizate pentru a obține largi cantități din acestea. *Insulina* umană, factorul uman de creștere, *hormonul paratiroidei* și *atriopeptina* sunt exemple de aceste tipuri de proteine. Tehnologia de producere a insulinei ilustrează că în afara problemelor ridicare de exprimarea genei și alți pași trebuie considerați cu atenție pentru a produce un produs biologic funcțional. Alte produse mamaliene obținute prin inginerie genetică sunt: *țesutul activator plasminogen* (utilizat pentru a dizolva coagulările din sânge), *eritropoietina* (stimulează producerea de celule roșii), un număr considerabil de *interferoni* (compuși antivirali) și *interleucina* (stimulează limfocitele T), pentru a menționa doar câțiva dintre aceștia.

Vaccinurile virale sunt imperfecte deoarece constau din viruși morți. Dacă nu toți virușii sunt morți, inocularea vaccinului poate cauza infecție. Sistemul nostru imunitar răspunde doar la schelete proteice. Astfel, dacă clonăm gena proteică virală și producem doar această proteină, riscul infecției de pe urma vaccinului poate fi evitată. În unele cazuri, un vaccin efectiv poate fi obținut prin producerea proteinei virale în bacterii. Oricum, în alte cazuri, este inefficient deoarece proteina virală este modificată chimic (de exemplu prin adăugarea de zaharuri) după producerea ribozomilor lor. Acest proces nu apare însă în gazde bacteriene. Pentru aceste cazuri, este produsă o *subunitate de vaccin*, în care gena pentru țesutul proteic al virusului *patogenic* este clonată într-un virus inofensiv, cum ar fi *vaccinia*.

Tehnicile de recombinare a DNA sunt utilizate pentru a produce modificări în plante (*plante transgenice*). Un DNA străin poate fi introdus în plantă prin metode fizice, ca electroforeza sau tunul cu particule sau pe cale biologică cu ajutorul bacteriei *Agrobacterium tumefaciens*. Cest patogen de plantă induce formarea tumorii în plante prin inserarea părții sale de plasmid Ti DNA în cromozomii plantei. Plasmidul Ti poate apoi servi ca vector pentru inserarea lui DNA străin în celula plantei. La unele specii, celulele plantei crescute în cultură pot fi utilizate pentru regenerarea întregii plante.

Animalele transgenice pot fi produse prin injectarea lui r-DNA în ouă fertilizate. Noile descoperiri în cercetarea biomedicală se așteaptă ca să fie făcute prin această tehnică. În plus, aceasta poate avea aplicații comerciale, deoarece proteinele umane produse prin introducerea de gene clonate în animale poate întârzia procesul care are loc după translație, în timp ce aceste modificări nu apar când gena este formată în bacterii.

Terapia genetică este o metodă terapeutică care permite modificarea unei gene disfuncționale direct la pacient. Prima boală care a fost tratată pe această cale a fost deficiența de *deaminază adenozinică*.

3.5. Microbiologie Industrială

În ultimii 100 de ani, culturile pure de microbi au fost utilizate pentru a se obține produși cu valoare comercială.

Termenul de *ferment*, când este folosit în contextul microbiologiei industriale desemnează o gamă variată de procese microbiene desfășurate în condiții aeroba sau anaerobe. Mai recent, bacteriile produse pe calea ingineriei genetice au fost crescute la scară industrială pentru a produce substanțe care acestea nu le produc în mod uzual.

De notat că microbiologii folosesc termenul de *fermentație* în două contexte diferite. În contextul metabolismului fermentarea referă creșterea în absența unui receptor electronic extern, în timp ce în contextul microbiologiei industriale, acest termen referă creșterea unor mari cantități de

celule. Microorganismele industriale sunt selectate inițial din probe naturale sau luate dintr-o *colecție de cultură* deoarece ele nu arată capacitatea de a sintetiza produsul dorit.

Oricum, conformația este modificată pentru a mării randamentul produsului. Aceasta presupune un întreg lanț de mutații, cu selecția atentă a clonelor rare care sintetizează un mai mult sau mai bun produs. Conformația aleasă este puțin probabil să supraviețuiască în natură, deoarece procesul de selecție a alterat controlul regulator al celulei pentru a produce *dezechilibrul metabolic*.

Caracteristicile urmărite sunt:

- creștere rapidă;
- stabilitate genetică;
- absența toxicității umane;
- dimensiune mare a celulei, pentru extragere simplă din mediul de cultură.

Există câteva colecții de culturi importante care depozitează și mențin material genetic de la cele mai importante microorganisme.

În Statele Unite, *American Type Culture Collection* (ATCC) este probabil cea mai cunoscută, însă de asemenea *Northern Regional Research Laboratory* (NRRL) este de asemenea bine cunoscută. În România există de asemenea o bancă de gene la Suceava (*Suceava Gene Bank*), specializată în depozitarea și conservarea de gene de plante.

Microbiologii din industrie trebuie să fie capabili să producă masa microbiană propriu zisă, enzime specifice, și metaboliți.



Banca de Gene din Suceava (aprilie 2001)



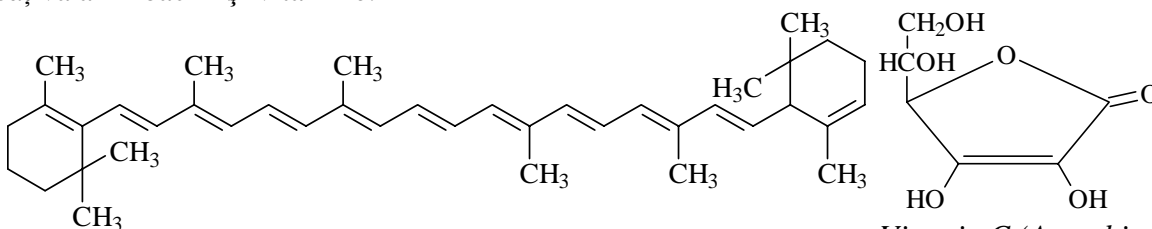
Depozitarea genelor la Banca de Gene din Suceava (aprilie 2001)

Metaboliții pot fi produsele majore ale catabolismului sau compuși produși normal în cantități mici de speciile naturale. Industria microbiologică depinde de scara la care se practică. Altfel, microbiologii din industrie cultivă organismele în multe moduri, la fel ca și ceilalți microbiologi, iar obiectivul este de a produce cantități foarte mari, uneori măsurate în milioane de litri odată.

Industria farmaceutică este un important utilizator de microbi. Pentru mulți ani, antibioticele și *hormonii steroizi* au fost produși de microbi. Ingineria genetică a făcut posibil ca bacteriile să producă o mare varietate de substanțe mamaliene care sunt importante din punct de vedere medical.

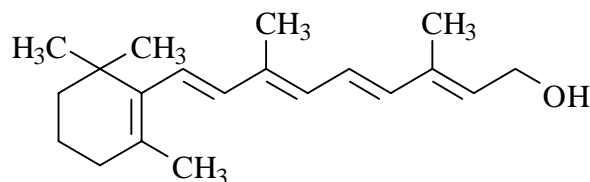
În agricultură bacteria din genul *Rizobium* a fost adăugată semințelor de legume unde, urmând formarea nodulilor din planta gazdă, ea capturează sau fixează azotul atmosferic și astfel reduce cantitatea de îngrășămintă pe bază de azot necesare pentru plantă.

Câteva substanțe speciale sunt mult mai economicos de produs de microbi. Acestea includ câțiva aminoacizi și vitamine.

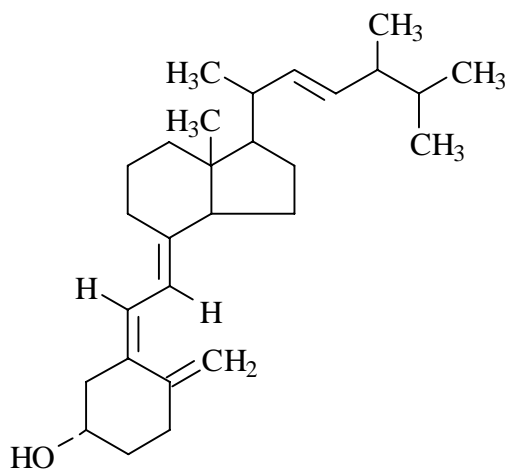


β -Carotene (Provatene, Carotaben, Solatene)

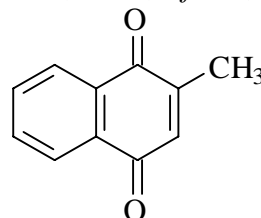
Vitamin C (Ascorbic Acid, Cevitamic Acid, Testascorbic)



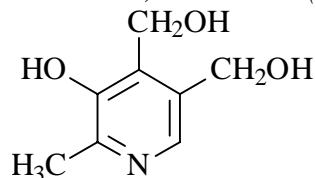
Vitamin A (*Biosterol, Acon, Afaxin, Apostavit, Atav*)



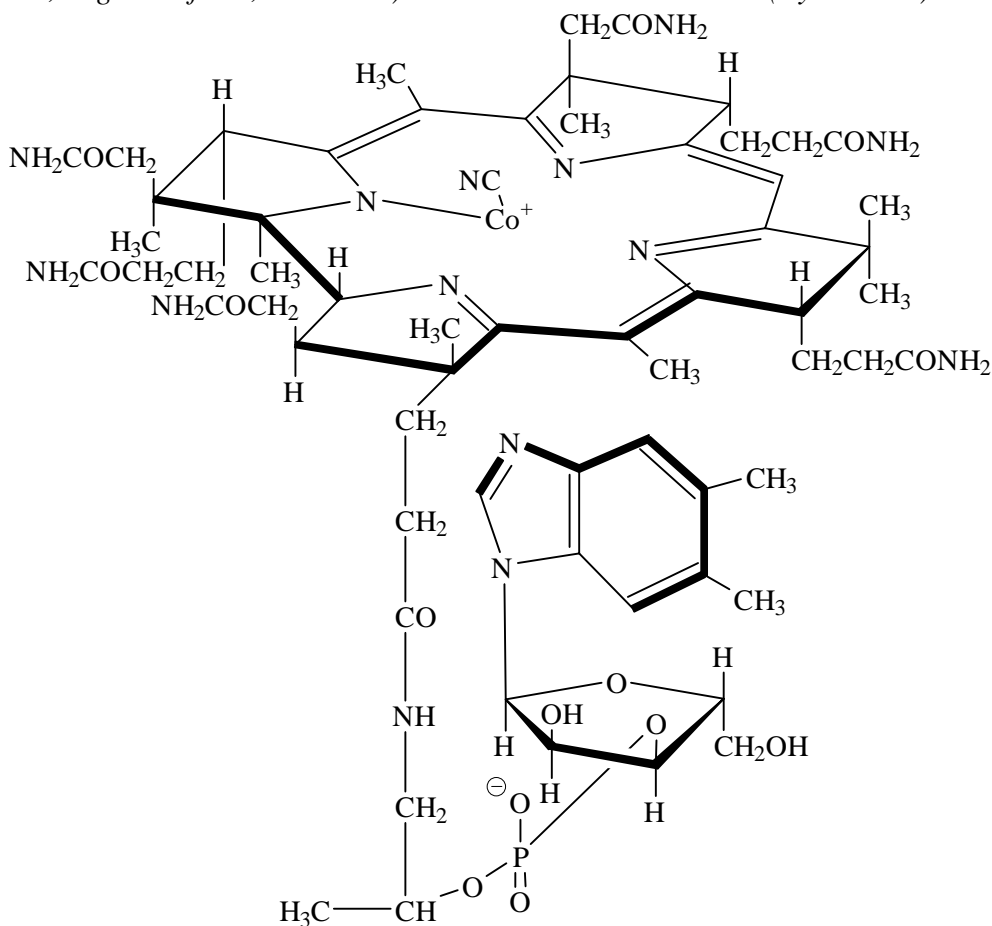
Vitamin D2
(*Calciferol, Ergocalciferol, Radsterin*)



Vitamin K3 (*Menadione, Vitamin K2(0), Panosine*)



Vitamin B6 (*Pyridoxine*)



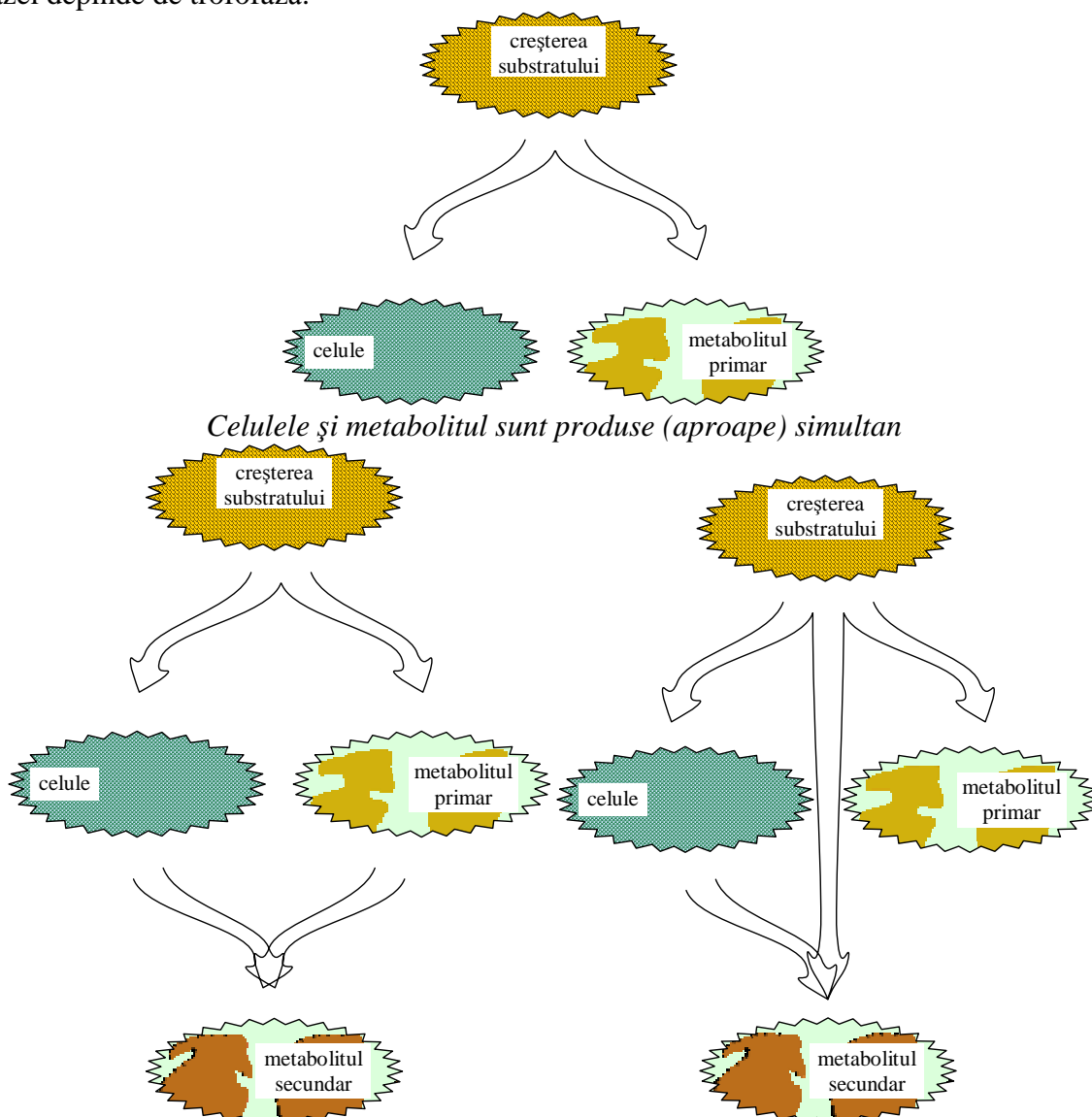
Vitamin B12 (*Cyanocobalamin, Antipernicious anemia principle*)

Solvenții industriali, cum sunt alcoolii și acetona se pot produce prin fermentație microbiană. Oricum, în prezent este mai ieftin să se obțină acestea pe bază chimică din petrol.

Mulți dintre cei mai importanți *metaboliți industriali* sunt *metaboliți secundari*, produși în faza staționară a culturii după ce producția de biomasă a fost epuizată. Acești compuși nu sunt esențiali pentru creșterea microbului. Sinteza lor este în mod obișnuit în mare măsură regulată de celulă. În consecință, pentru a obține randamente mari, condițiile de mediu care afectează

mecanismele reglatoare ca inhibiția de represiune și de reacție inversă trebuie să fie evitate. În plus, descendenții mutații care asigură o producție superioară a compusului sunt selectați.

În metabolismul secundar, se pot distinge 2 faze: *trofofaza*² și *idiofaza*³. Trofofaza este faza de creștere a culturii iar idiofaza este timpul în care metabolizii secundari se formează. Succesul idiofazei depinde de trofofază.



După ce celulele și metabolitul primar sunt produse celulele convertesc metabolitul primar în metabolitul secundar și după ce celulele și metabolitul primar sunt produse, creșterea de substrat este folosită pentru sintetizarea metabolitului secundar

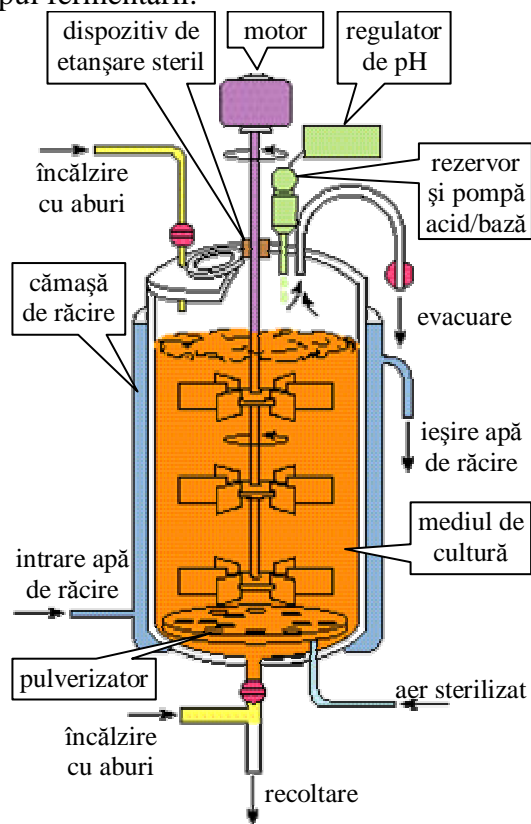
După ce un microorganism corespunzător a fost identificat din studii de laborator pentru un proces industrial, încă mai sunt un număr de probleme de trecere de la faza de laborator la faza de producție industrială. Acestea includ asigurarea unei aerări corespunzătoare încontinuu în masa din vasul de fermentare. Dificultățile sunt implicate de volumul enorm de amestec, de zonele unde amestecarea este mai puțin eficientă și de conținutul mare de biomasă din vasul de fermentare.

Biomasa mare este de așteptat să crească cantitatea de produs format, dar creează necesitatea asigurării unei enorme cantități de oxigen. În plus, descendentul care a lucrat bine la scară mică poate nu va lucra eficient la scară mare, sub condițiile de mediu diferite din vasul de fermentare.

² trofo-: cu semnificația "(referitor la) nutriție, hrănire"

³ idio-: cu semnificația "propriu"

Pentru producția industrială se folosesc vase de fermentare cu capacitate mai mare de 400.000 litrii. Procesul poate fi aerob sau anaerob. În general, procesele aerobe sunt mult mai dificil de realizat, datorită necesității aerării unei volum mare de amestec și cu o biomasă foarte concentrată. Vasele de fermentare sunt construite din oțel inoxidabil și au o cămașă exterioară prin care se asigură răcirea în timpul fermentării.



Schema constructivă a unui vas de fermentare

Pulverizatoarele și agitatoarele din vas sunt folosite pentru aerarea și amestecarea conținutului. Vasul poate conține diferite instrumente pentru monitorizarea condițiilor de mediu din cultură, astfel încât acești factori pot fi optimizați pentru a se obține randamente mari de producție.

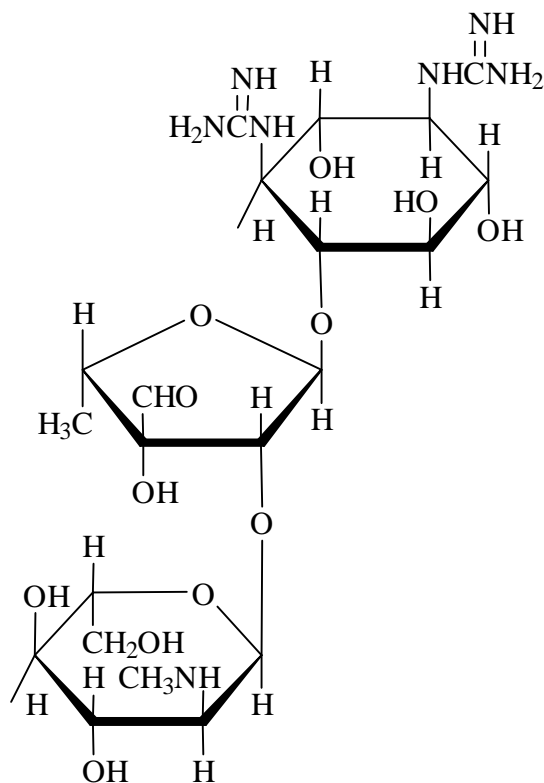
Organismele utilizate în procesele industriale trebuie să fie conservate cu atenție astfel încât calitățile genetice să nu fie alterate datorită mutației. Se poate recurge la depozitarea în formă înghețată în azot lichid sau liofilizarea.

Antibioticele sunt de departe cei mai importanți compuși produși de microbi pe cale industrială. Foarte utili sunt metaboliții secundari produși de fungii *filamentari* și bacteriile sunt clasificate ca actinomicete. Noile antibiotice sunt descoperite prin *vizualizarea* microbilor izolați din probe naturale pentru producția de substanțe care inhibă anumite *bacterii de test*. Bacteriile de test referă *patogenii bacterieni*. Multe rezultate bune sunt la fel cu cele pe care le dau antibioticele cunoscute până acum, dar câteva sunt încă nedescoperite. Noile substanțe sunt testate pentru *toxicitate* și efect în animale infectate înainte ca producția comercială să se desfășoare. Cele mai multe substanțe noi se dovedesc a fi toxice pentru animale sau relativ ineficiente în omorârea patogenilor din organism. Astfel, o foarte mare cantitate de energie trebuie cheltuită pentru a găsi substanțele rare care sunt noi și eficiente. După ce se validează aceste noi substanțe, se pune la punct tehnologia de obținere a unui randament ridicat și este stabilită metoda de purificare. Antibioticele sunt sintetizate pe căi *biochimice* complexe. Un important obiectiv al cercetării este de a înțelege aceste căi, pentru ca apoi să se poată indica căile de selecție ale descendenților cu productivitate ridicată.

Antibioticele lactamice includ peniciline și cefalosporine. Acestea sunt deosebit de utile deoarece ținta lor de acțiune sunt compușii care nu sunt conținuți în eucariote – peptidoglicanul din peretele celular. Aceștia inhibă sinteza sa prin inhibiția reacției de *transpeptidizare*.

Streptomicina, un antibiotic *aminoglicozidic*, ilustrează că chiar dacă antibioticele sunt gândite a fi antibacteriene, totuși ele pot cauza efecte secundare în animale. Astfel de compuși sunt ținuți în rezervă, pentru a fi utilizați în tratament doar în cazurile în care alte antibiotice eșuează.

Tetraciclina este un antibiotic cu spectru larg de acțiune efectiv împotriva speciilor Gram pozitive și Gram negative. Acesta, și antibioticele pe bază de lactam sunt foarte utile medical. Au fost folosite în aplicații medicale, cum ar fi suplimente pentru animale, dar ele favorizează instalarea genelor încrîptate de rezistență la antibiotice și fac terapia cu antibiotice mai puțin efectivă.



Streptomycin (Streptomycin A)

Vitaminele și aminoacizii (tab. 1) sunt utilizate ca suplimente în hrana umană și animală. Unii dintre acești produși sunt sintetizați cel mai economic de către bacterii, dacă se obțin descendenți cu înalt randament și superproducție. În general, aceasta implică inactivarea mecanismelor reglatoare, care țin de biosinteza substanțelor, în aceeași măsură în care celulele își formează elementele constructive. Un scop este de a găsi mutații care cresc în prezența analogilor chimici ai aminocidului. Acestea oferă însă un slab control de întoarcere al activității enzimei.

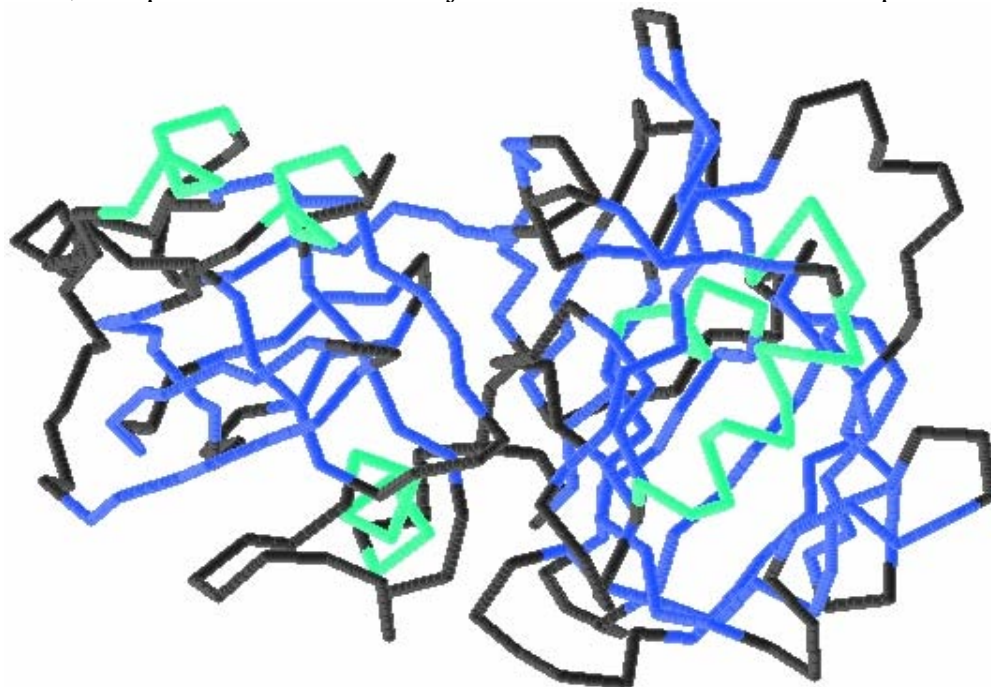
În anumite procese industriale microbii sunt utilizați doar pentru a conduce doar anumite reacții biochimice. Mecanismul de formare a produsului respectă cu strictețe regulile chimice. Un exemplu de acest tip este bioconversia în etape a hormonilor steroidici.

Cea mai mare parte a enzimelor microbiene implică prezența enzimelor hidrolitice care digeră materialele insolubile. Acestea sunt utilizate pentru industria detergenților. O serie de trei enzime sunt utilizate pentru producerea îndulcitorilor din amidon. Siropul de cereale cu foarte mare concentrație de fructoză este produs prin hidroliza amidonului la glucoză izomerizarea glucozei într-o moleculă mai dulce, fructoza.

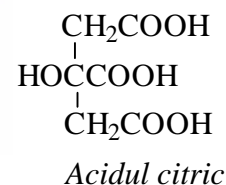
O altă enzimă microbială importantă este renina, care este foarte folosită în producția de brânză. Oțetul poate fi produs de *bacteria acidului acetic*, dacă oxigenul este asigurat. Sunt mai multe metode industriale de a realiza reacția aceasta. Acidul citric este produs de fungul *Aspergillus niger*. Fermentația industrială a fungilor poate să apară la suprafața unui lichid sau în masa de lichid. În *procesele de suprafață* mediul poate fi atât solid cât și lichid. Celulele de drojdie⁴ sunt cei

⁴ drojdie = orice fungus unicelular al genului *Saccharomyces*, în special *S. cerevisiae*, ce se reproduce prin construcția de ascospori și capabil să fermenteze carbohidrații.

mai folosiți microbi în industrie. În condiții anaerobe, ei fermentează zaharurile la alcool, și sunt la baza industriei vinului și berii. Vinul este suc fermentat al fructelor, de obicei struguri. *Mustul* este produs prin strivirea fructelor și drojdia vinului este adăugată. După tratamentul cu bioxid de sulf, drojdia vinului este omorâtă. După aproximativ 2 săptămâni fermentarea produce aproximativ 10-12% alcool. Berea este produsă din grăunțele de malț (orz, orzoaică, ș. a.). Boabele sunt zdrobite, după care sunt coapte și aruncate în apă. Enzimele din malț convertesc amidonul la zaharuri, care pot fi fermentate de drojdie. Amestecul rezultat este fiert pentru a steriliza soluția.



Renina (Chymosin)



3.6. Ecologia Microbiană

Microorganismele sunt responsabile pentru multe reacții esențiale pentru buna funcționare a biosferei. În mediul natural, interacțiunea microbului cu caracteristicile fizice și chimice ale mediului cât și cu alte organisme îi determină succesul de creștere aici. *Reciclarea* nutrienților din compuși organici în compuși anorganici pot fi folosite de organismele *fotosintetizatoare* este o funcție specială importantă făcută de microbii *descompunători*.

Ecologia microbiană este un mare și variat domeniu, dar este posibil să facem câteva generalizări. Astfel:

- condițiile fizice și chimice în *micromediul* în care organismele microscopice se află poate să difere de ceea ce noi în mod obișnuit măsurăm în unitatea de probă pe care o colectăm;
- există limite de rată de creștere în cele mai multe medii naturale; mai mult, asigurarea nutrienților poate să nu fie continuă, poate surveni în pulsuri, astfel încât creșterea apare numai în anumite momente de timp între care sunt perioade de înfometare;
- cel mai des microbii se găsesc lipiți de *suprafețe* deoarece în medii limitate nutrițional concentrația nutrienților este mare aici;
- speciile microbiene concurează pentru nutrienții din mediu.

Speciile de succes sunt acelea care pot crește cel mai rapid cu minim de concentrație de nutrienți, atâta timp cât un competitor nu produce o substanță care să-i inhibe creșterea.

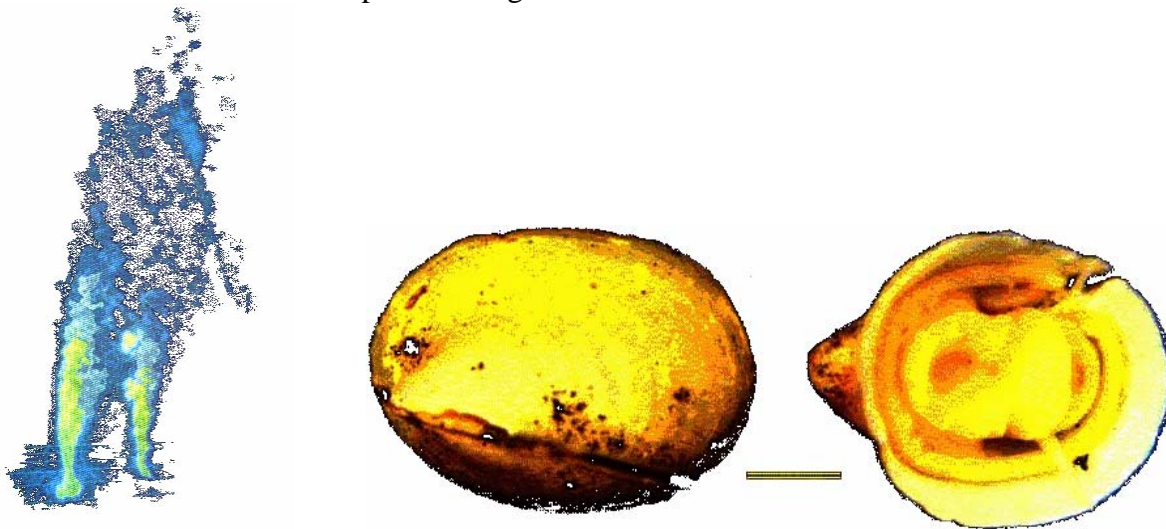
Producerea materiei organice în *habitatele acvatice* este făcută în primul rând de microorganismele fotosintetice, *producătorii primari*. Rata producției primare este determinată de condițiile fizice din mediu și de resursa de nutrienți anorganici. De exemplu, sunt puțini nutrienți disponibili în largul oceanului și producția primară este în general foarte mică în comparație cu zonele de coastă. Mediile acvatice în care apar gradienti de densitate verticali datorită *stratificării termice* pot deveni anaerobi în straturile inferioare. materia organică produsă prin fotosinteză în

apele superioare circulă către adâncime, unde bacteriile heterotrofe consumă oxigen pentru a o mineraliza. Dacă sunt suficiente sedimente de materie organică în adâncime, tot oxigenul este consumat de acest proces și viitoarele metabolisme chemoheterotrofe trebuie să folosească procese anaerobe. Condițiile anaerobe exclud animalele mari din strat.

Formarea *solului* implică procese fizice, chimice și biologice. Microbii contribuie la acestea prin producerea de materie organică care este convertită la acid carbonic care dizolvă mineralele din roci. Formarea solului din roci expuse poate dura sute de ani. Microbii din sol controlează prezența multor nutrienți pentru plante. Ca rezultat, funcțiile microbiene în sol este cheia productivității solului. Activitatea microbilor în sol este limitată de *activitatea apei* (atât în condiții umede cât și în condiții uscate) și de starea nutrienților.

Lucrări recente sugerează că microbii pot exista la mai multe sute de metri adâncime în sol, însă nu este clar care este nivelul activității acestora în aceste medii de sub suprafață.

Producția primară în largul oceanului este mică. Astfel, doar o mică cantitate de materie organică poate ajunge în adâncul oceanului la adâncimi mai mari de 1000 de metri. În plus, temperatura în aceste zone este mai mică de 4 °C și presiunea hidrostatică depășește 100 de atmosfere. În consecință, este foarte puțină activitate biologică în aceste regiuni [6]. Există totuși câteva regiuni în adâncul oceanului care prezintă o înaltă activitate biologică. Acestea sunt *nișele hidrotermale* din care se emană ape calde bogate în minerale.



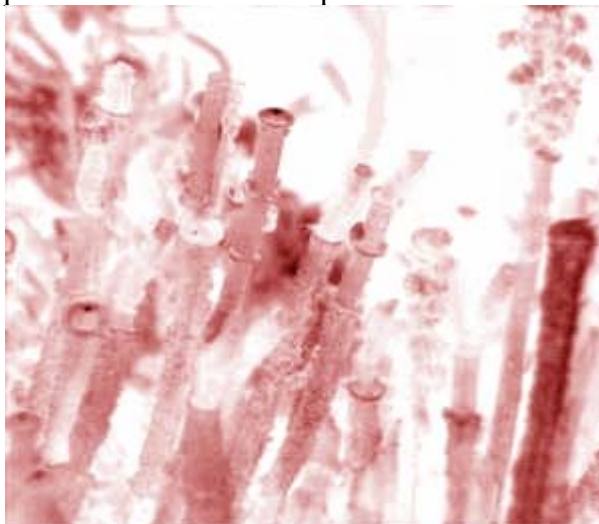
O nișă oceanică în erupție și Limpet⁵ (Clypeosectus Curvus), unul dintre animalele gazdă ale bacteriilor chemolitotrofe S-oxidante

Apa conține compuși de sulf redus care servesc ca sursă de energie pentru *chemolitotrofii S-oxidanți*. Aceste bacterii autotrofe execută aceleași funcții pe care le îndeplinesc organismele fotosintetice de la suprafața pământului, ele fiind astfel producătorii primari ai ecosistemului. O mare densitate de animale nevertebrate sunt în vecinătatea nișelor. Oricum, ele nu mănâncă bacteriile de sulf, dar formează asociații simbiotice cu ele. Viermele tub *Riftia* conține o modificare a tubului intestinal numită trofozom care este umplută cu acești microbi. Bacteriile oxidatoare de sulf sunt localizate în branhiile scoicilor și midiilor. Animalele pot trăi pe excrețiile de materie organică și celule bacteriene moarte. Viermii tub conțin o *hemoglobina* neobișnuită care poate transporta H₂S la bacteriile din trofozom fără să omoare animalul. Din studiile făcute pe sursele de apă din zone în care temperatura poate ajunge la 380 °C, rezultă că cea mai mare temperatură la care există organisme vii este de 150 °C. Transformările carbonului conduc ciclul tuturor celorlalte elemente, deoarece toate acestea necesită energie produsă prin fotosinteză sau catabolismul compușilor organici. Cele mai importante fluxuri de carbon sunt către bioxidul de carbon atmosferic

⁵ limpet: una dintre numeroasele moluște marine gasteropode din familiile Acmaeidae și Patellidae, cu un perete conic caracteristic și care aderă la rocile din zonele tidale.

tidal: o variație periodică în nivelul suprafeței oceanelor, mărilor, bazinelor, golfurilor și estuarelor cauzată de atracția gravitațională a soarelui și lunii.

și materia organică vie sau nevie. Fixarea dioxidului de carbon prin fotosinteză și producerea sa prin respirație sunt mecanisme prin care aceste fluxuri apar.



Viermi tub (genul *Ridgeia Piscesae*)

Descompunerea anaerobă a carbonului organic necesită participarea a 4 grupuri metabolice de bacterii:

- bacteriile cu hidroliză extracelulară rup polimerii cu masă moleculară mare ca polizaharidele sau proteinele în constituenții lor monomeri;
- bacteriile fermenți convertesc acești monomeri în acizi organici, H₂ și CO₂;
- bacteriile oxidatoare cu acizi grași convertesc acizii grași la acetati, H₂ și CO₂;
- compușii rezultați sunt folosiți ca substrat de către bacteriile metanogenice pentru a produce CH₄.

Oricum, produșii finali ai descompunerii anaerobe sunt gazele CO₂ și CH₄. Bacteria oxidatoare cu acizi grași poate să crească numai dacă hidrogenul pe care ea îl produce este consumat într-o altă reacție. Aceste organisme depind prin *transferul de hidrogen între specii* de alte bacterii, ca metanogenele care metabolizează rapid orice hidrogen pe care acestea îl generează. Metanogeneza apare în medii de apă dulce, cum sunt sedimentele din lacuri, maluri și mlaștini, tot așa cum și în rumen⁶.

4. Biochimie

4.1. Chimia Celulei Vii

Biochimia poate fi împărțită în două nivele de studiu:

- *conformațional*: care vizează structura și aranjamentele tridimensionale ale moleculelor;
- *informațional*: care vizează limbajul de comunicare înăuntru și în afara celulelor;

În 1828 are loc prima sinteză organică (biochimică) de către Friedrich Wöler:



Se poate porni în studiul biochimiei pe cale fizică și chimică uzând de caracterizarea structurală sau din perspectivă biologică prin caracterizarea celulelor și organismelor vii. Oricum aceste două căi au converș spre același punct odată cu caracterizarea DNA de către Watson și Crick în 1952. În tabelul 2 sunt redați acești pași majori făcuți în biochimie până în *era biochimiei moderne*.

⁶ rumen: prima diviziune a stomacului animalelor rumegătoare în care cea mai mare parte a mâncării este colectată imediat ce a fost înghițită și din care este mai târziu întoarsă în gură pentru o mai îndelungată mestecare.

Tabelul 2. Căile către biochimia modernă

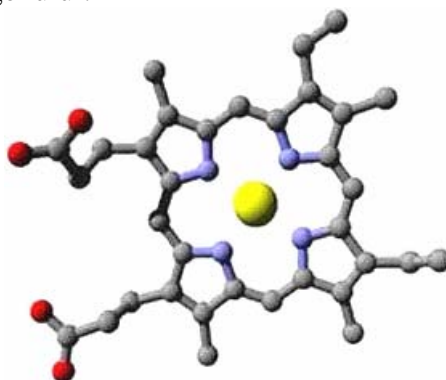
Biologie	Anii	Chimie și Fizică
Nucleul celular Teoria celulei	1830- 1849	Sinteza ureei
	1850- 1869	Chimia este folosită pentru caracterizarea biologiei
Descoperirea genetică a DNA	1870- 1889	
Genetica drosofilei	1890- 1909	Descrierea fermentației Cristalizarea urezei
Microscopie electronică	1910- 1929	Caracterizarea glicolizei
Funcțiile DNA	1930- 1949	Descrierea ciclului acidului citric
Analiza de raze X a cristalelor de proteină din enzime de restricție	1950- 1969	Lanțul dublu de DNA Codul genetic
RNA catalitic Terapia genetică	1970- 1989	DNA recombinant Reacția în lanț a polimerazei

4.2. Biomolecule

Sunt o mare varietate de compuși utilizați în sistemele vii. Câteva exemple sunt:

- carbohidrați: asigură energia celulei, structura și servesc la recunoașterea moleculară;
- lipide: asigură energia celulei, constituent de bază al membranei celulare, intră în compoziția hormonilor;
- vitamine: amestec de compuși care joacă multe roluri și sunt părți esențiale ale altor biomolecule;
- aminoacizi: blocurile constructive din proteine;
- inele de porfirină: specii ca hemul și clorofila;

Hemul are ionul de Fe^{2+} în centrul său care formează un complex cu oxigenul și este folosit de celule pentru transportul oxigenului.



Hemul

Dintre polimerii sistemelor vii se pot enumera:

- acizii nucleici, care stochează și transferă informația și sunt construiți din zaharuri, fosfat și baze azotate;
- proteinele, care asigură transportul, structura și sistemul regulator în celulă și sunt construite din aminoacizi;
- polizaharidele care sunt folosite pentru realizarea structurii, stocarea energiei și sunt construite din simple zaharuri;

iar dintre asocierile organizate de macromolecule, numite și ansambluri supramoleculare:

- membranele celulare, alcătuite din lipide și proteine;
- cromatinul, format din DNA și proteine;

- ribozomii, formați din RNA și proteine;
- citoscheletul, o structură proteică fibroasă;
- virușii, ansambluri de lanțuri DNA și RNA împachetate într-o proteină.

Este foarte important de reținut că nici una dintre cele enumerate mai sus nu sunt considerate vii.

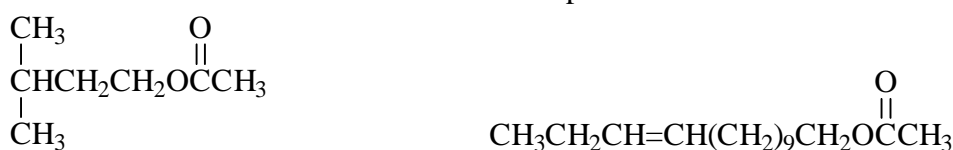
4.3. Circuitul Informației

Se poate schematiza transferul informației biologice prin:

DNA → RNA → Proteină → Structura și funcțiile celulei

Dintre structurile elementare enunțate, cele responsabile cu stocarea și prelucrarea informației sunt, DNA care stochează informația, RNA care extrage informația stocată, și Proteinele care procesează informația.

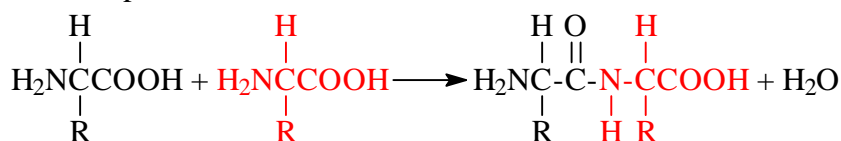
Comunicarea între celule se face prin intermediul substanțelor. Una sau mai multe substanțe sunt eliberate în mediu de către organismul viu. Alte organisme pot detecta aceste substanțe chiar și în cantități foarte mici. Feromonii sunt un astfel de exemplu:



Izoamilacetat (alarma albinelor) și Tetradecenilacetat (feromonul sexual al moliei porumbului)

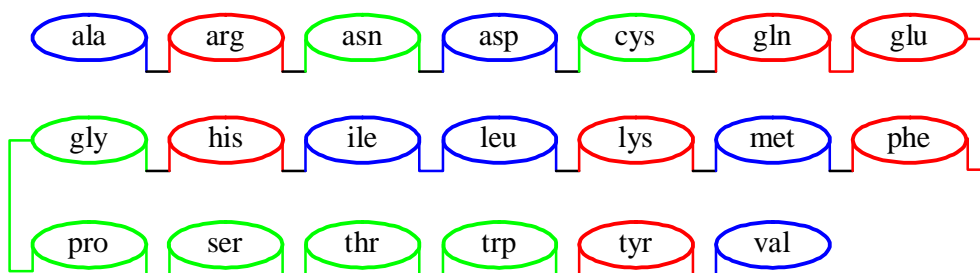
4.4. Proteine

După cum s-a văzut, proteinele sunt construite din aminoacizi. La formarea unei proteine se eliberează o moleculă de apă:



Formarea proteinelor prin înlănțuirea aminoacizilor

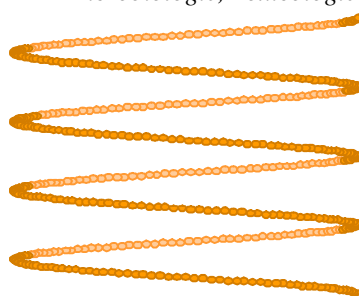
Aminoacizi în proteine se leagă în succesiuni variate (vezi tabelul 1):



Secvență de lanț de aminoacizi într-o proteină

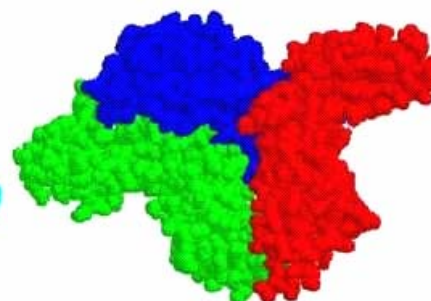
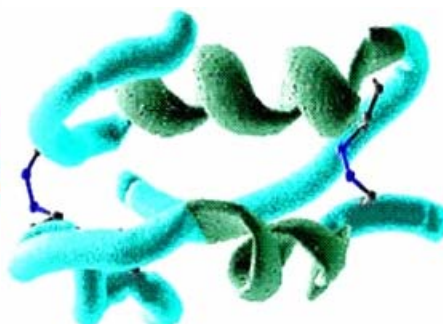
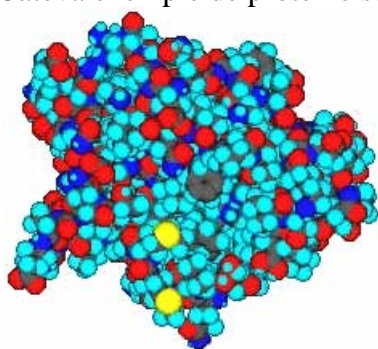
Odată încorporat în proteină, un aminoacid se numește reziduu. O polipeptidă se numește un lanț format din până la 100 de reziduuri iar proteina conține mai mult de 100 de reziduuri. Ca ordin de mărime, este de reținut că cele mai multe peptide și proteine izolate de la celule conțin de la 2 la 2000 de reziduuri. Dacă folosim valoarea masei moleculare medii a aminoacizilor (220 g/mol) rezultă pentru proteine o valoare a masei molare cuprinsă între 200 g/mol și 220 kg/mol.

Analiza proteinelor a dus la stabilirea structurii acestora. Ca și la acizii nucleici, proteinele se caracterizează folosind 4 nivele structurale. Un exemplu interesant este hormonal creșterii umane, care originar a fost obținut de la cadavre pentru ca astăzi să se producă pe calea ingineriei genetice. Dimensiunile câtorva proteine importante sunt redată în tabelul 3.



Structura primară, secundară, terțiară și cuaternară a unei proteine

Câteva exemple de proteine sunt regate în figurile de mai jos.



Permeaza, proteina care asistă transportul celular, Insulina umană (51 reziduuri, 3 legături încrucișate S-S), Hormonul de creștere uman (596 de reziduuri)

Tabelul 3. Dimensiuni proteice

Proteină	Masă molară	Reziduuri
Insulina	6000	51
Citocromul C	16000	104
Hemoglobina	65000	574
Gama globulina	176000	1320
Miosina	800000	6100

4.5. Metode de Analiză a Proteinelor

Cromatografia de afinitate datează dinaintea anului 1910, iar metoda modernă de cromatografie de afinitate a fost publicată prima dată în 1967 de Axen și alții în lucrarea „Metoda bromitului de cianogen pentru imobilizarea liganzilor pe agar”. Ohlson (1978) a fost primul care a demonstrat eficiența utilizării unui suport rigid microparticulat și acesta a fost începutul metodelor instrumentale.

Metoda implică interacția dintre un ligand și solutul de interes. Acest fapt poate fi privit asemănător cu cromatografia de schimb ionic.

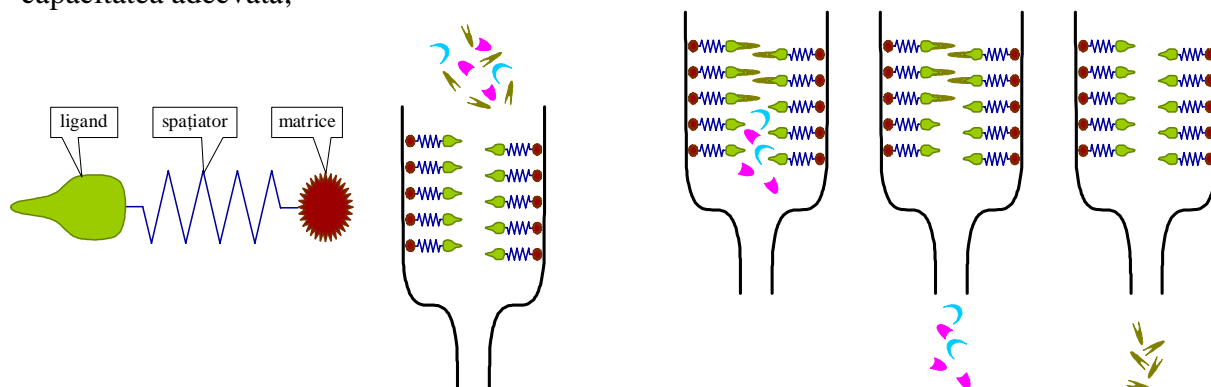
Sunt astfel două tipuri de liganzi:

- specifici, cei care leagă doar o specie anume (modelul anticorp / antigen);
- generali, care formează legături cu grupări specifice de specie țintă;

Elementele cromatografiei de afinitate sunt:

- suportul: materialul pe care ligandul este fixat; ideal este ca acesta să fie rigid, stabil și să aibă o suprafață mare; agarul este cel mai cunoscut suport, de asemenea se mai folosește celuloza, dextranul și poliacrilamida;

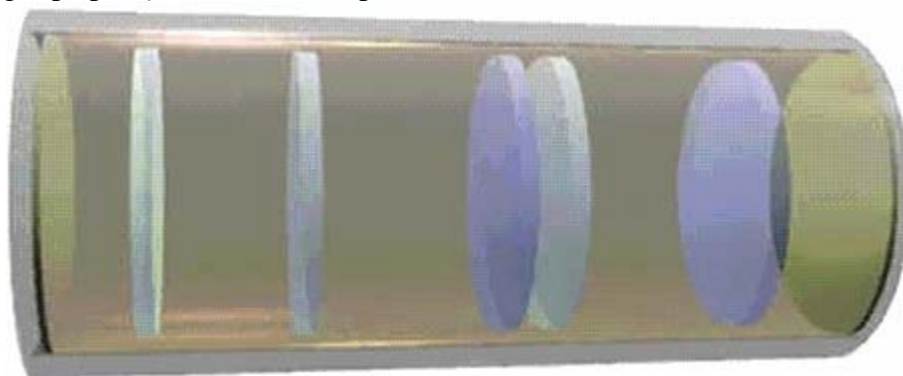
- ligandul, gelul de agaroză este un polimer al D-galactozei și al 3,6-anihidro-L-galactozei și poate fi folosit la o presiune de 1 atm. și într-un interval de pH de la 4 la 9;
- introducerea probei este ilustrată mai jos, când trebuie să se aibă grijă ca coloana să aibă capacitatea adecvată;



Cromatografia de afinitate, eluarea și spălarea de impurități în cromatografia de afinitate

Adsorbția se realizează utilizând un debit mic, și eluentul ajută direcționarea moleculelor din probă către zonele libere. Odată fixate, se pot spăla impuritățile prin traversarea unei cantități de solvent prin coloană. La final, componentul de interes trebuie să fie înlăturat și colectat. Această operațiune este de fapt regenerarea coloanei.

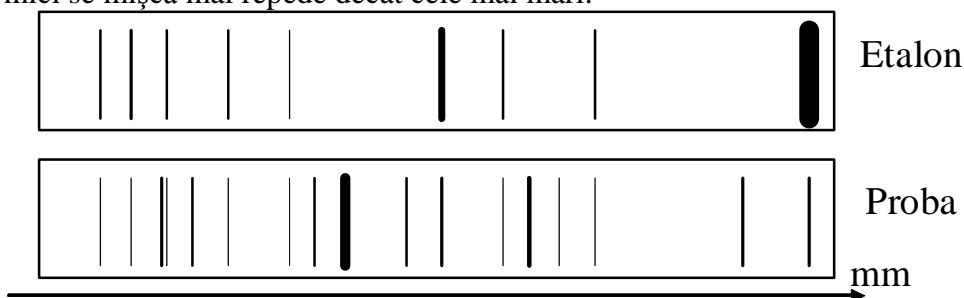
Electroforeza este o metodă de separare care ține seama atât de dimensiunea cât și de sarcina particulelor. În această metodă probele sunt supuse unui câmp electric și unde acestea au tendința de migra pe poziții anume în câmp.



Migrarea speciilor încărcate electric în electroforeză

Interpretarea unei electroforegrame se face prin comparare cu o probă etalon iar liniile lăsate de probă se pot folosi atât calitativ (poziția acestor linii dau originea proteinei iar lățimea benzii indică cantitatea de aminoacizi de unde se obține masa proteinei).

Cu electroforeza de gel un polimer încrucișat se comportă ca o sită moleculară astfel încât moleculele mici se mișcă mai repede decât cele mai mari.



Interpretarea unei electroforegrame

4.6. Carbohidrați

Carbohidrații sunt compuși ce conțin C, H și O, și au formula generală $C_x(H_2O)_y$ având toți grupări C=O și –OH. Se clasifică după:

- dimensiunea bazei carbonice din șir;
- numărul de unități de zahar;
- localizarea legăturii C=O (aldeze, cu legătura C=O la capăt de șir și cetoze, cu legătura C=O în mijlocul lanțului carbonic);
- stereochimie.

Tipuri de carbohidrați:

- monozaharide, cu o singură unitate de zahar;
- dizaharide, cu două unități de zahar;
- oligozaharide, cu de la 2 la 10 unități de zahar;
- polizaharide, cu peste 10 unități de zahar.

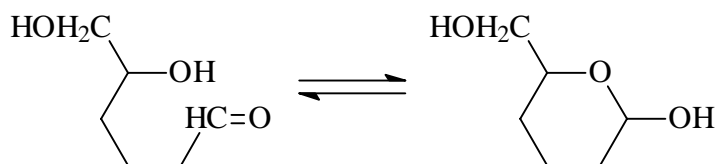
Legăturile se realizează prin intermediul atomilor de oxigen –O– numite legături glicozidice.

Cele mai importante monozaharide sunt:

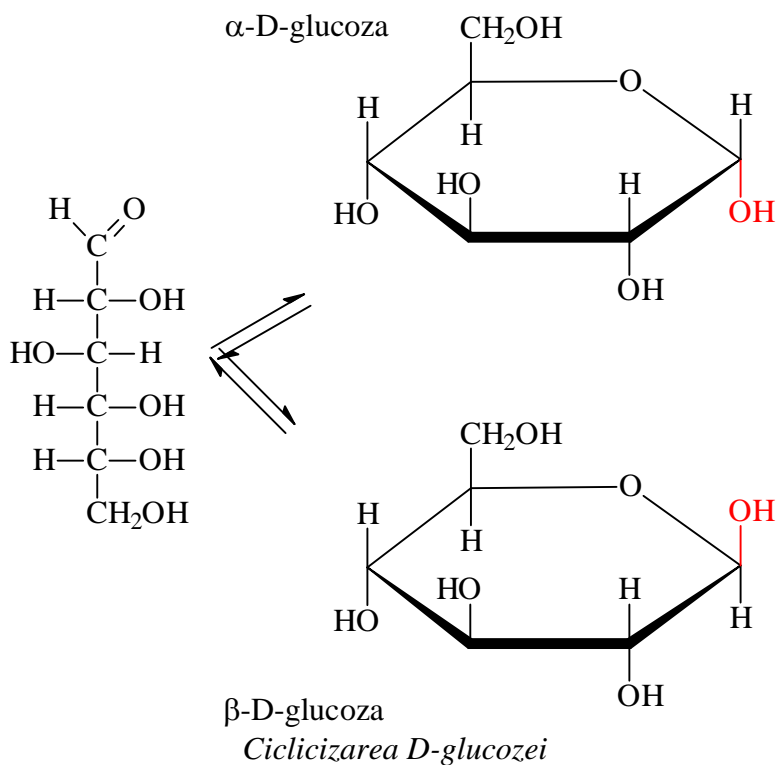
- D-gliceraldehida, cel mai simplu zahar;
- D-glucoza, cel mai important zahar în dietă;
- D-fructoza, cel mai dulce dintre toate zaharurile;
- D-galactoza, parte a zaharului din lapte;
- D-riboza, folosit în construcția RNA.

Litera D denotă faptul că fiecare dintre compuși este un D-enantiomer (răsuște lumina polarizată spre dreapta).

Au loc frecvent închideri de ciclu în zaharurile liniare, cum este:

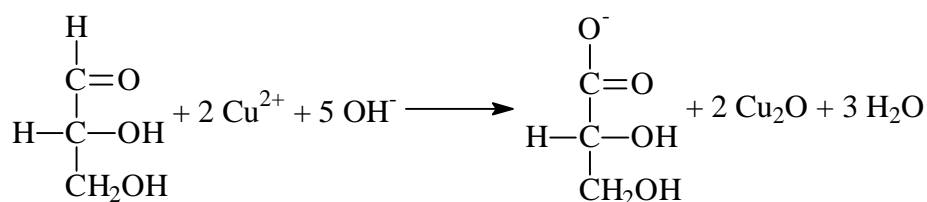


Ciclicizare intramoleculară

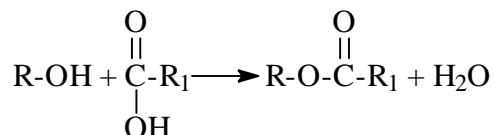


Reacțiile pe care le dau monozaharidele sunt specifice și cuprind:

- Oxidoreducerea, necesară pentru descompunerea lor completă:



- Esterificarea, producere de esteri fosfați:



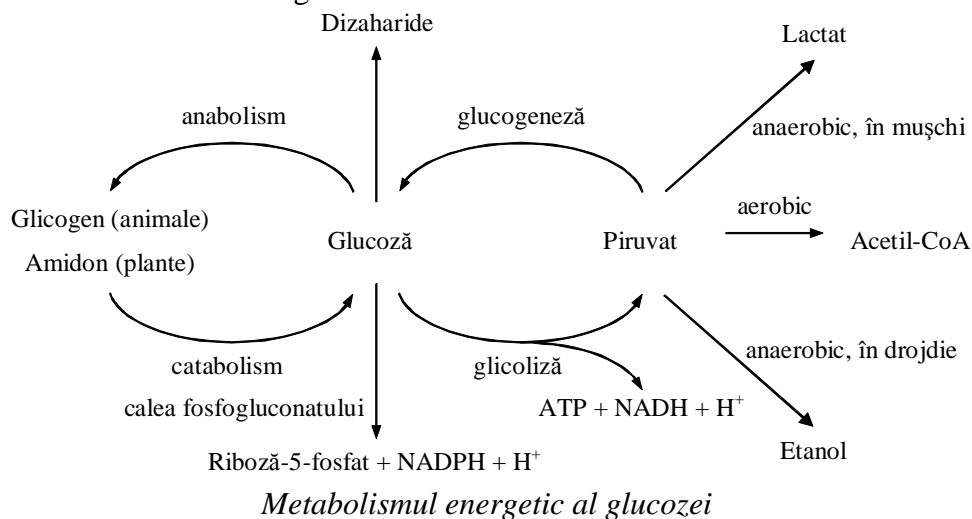
- Derivarea aminică, utilizată pentru a produce componenți structurali ca glicoproteinele;
- Legarea glicozidică, legarea monozaharidelor pentru a forma polizaharide.

În tabelul 4 sunt redată calitățile gustative ale monozaharidelor:

Tabelul 4. Cât de dulci sunt zaharurile

Zahar	Dulceață relativă la sucroză
lactoză	0.16
galactoză	0.32
maltoză	0.33
sucroză	1.00
fructoză	1.73
aspartam	180
zaharină	450

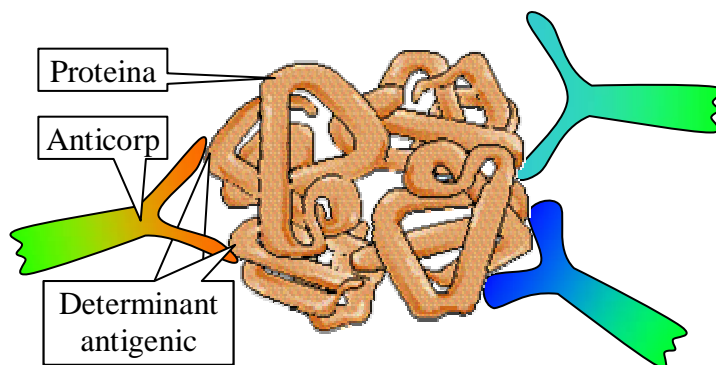
Metabolismul zaharurilor în organism este extrem de esențial pentru viață. În figura următoare este redat metabolismul glucozei:



5. Toxicologie

5.1. Imunologie

Imunologia se ocupă cu identificarea principiilor care stau la baza funcționării sistemului imunitar la animalele vertebrate. Răspunsul sistemului imunitar este un sistem sofisticat de a neutraliza și înlătura substanțele străine din corpul animalelor. Poate să fie unul foarte specific, posedă o memorie astfel încât răspunsul este mult mai rapid după prima experiență cu un material străin și poate face distincția între moleculele străine și moleculele proprii.



Mecanismul de acțiune al anticorpilor

Definițiile pentru antigen și anticorp sunt circulare (una este definită în termenii celeilalte). Un *antigen* (sau mai specific un *imunogen*) induce un răspuns imunitar care include formarea de anticorpi (proteine serice), activarea de celule T (trombocite) sau ambele. Anticorpii se pot lega la antigen. Doar moleculele mari pot genera un răspuns imun. Proteinele sunt foarte efective în a face asta, dar și alte macromolecule sunt de asemenea imunogenice. În ciuda dimensiunii sale mari, un anticorp specific reacționează numai cu o mică parte a moleculei imunogenice.

Această *regiune determinantă a antigenului* poate conține doar 4-5 aminoacizi. Astfel, o proteină poate avea un mare număr de determinanți antigenici astfel încât răspunsul imunitar poate consta dintr-un număr mare de anticorpi cu diferite specificități.

5.2. Imunologie Clinică și Diagnostic Microbiologic

Această secțiune descrie principiile clinice și diagnosticarea microbiologică care sunt folosite la izolarea și identificarea bolilor cauzate de agenții patogeni.

Diagnosticul și tratamentul bolilor infecțioase pot fi soluționate prin rapida identificare a microbului responsabil. Tehnicile tradiționale de izolare, identificare și testare a susceptibilității la antibiotice durează aproximativ 72 de ore. Oricum, mult mai rapide sunt procedeele moderne care au fost puse la punct în scopul reducerii acestui timp.

Probele care sunt colectate de la țesutul infectat și fluide trebuie luat cât se poate de aseptice și trebuie analizat prompt pentru a preveni schimbările chimice sau biologice care pot avea loc în timpul depozitării. Totdeauna există posibilitatea ca probele care sunt recoltate din organism să fie contaminate în timpul colectării. Aceste instanțe pot fi identificate prin selectarea speciilor care se dorește a fi izolate, prevenind astfel ca ele să fie contaminate cu floră normală. Dacă sunt membrii ai florei normale care se află în țesutul care face parte din probă, probabil acesta o contaminează. Metode speciale sunt folosite pentru a lua probe de sânge, urină, materiale fecale și de alte organite sau țesuturi.

Poate cel mai important instrument în izolarea patogenilor din probe luate de la indivizi infectați este folosirea *condițiilor restrictive de creștere*. De exemplu, probele incubate în condiții anaerobe în mod evident vor preveni creșterea bacteriilor aerobe. Dacă anumite caracteristici unice ale patogenului sunt cunoscute, acestea pot fi încorporate în construcția mediului de incubație.

De exemplu, *Martin-Thayer Agar* conține câteva antibiotice la care *Neisseria gonorrhoeae* este rezistent. Acesta este un exemplu de *mediu selectiv* care conține compuși care inhibă microbii nedoriți, dar nu și bacteria de interes. *Mediile diferențiate* sunt utile pentru identificarea bacteriilor izolate deoarece acestea permit reacții ca producerea de acid, hemoliza celulelor roșii ale sângelui, sau producerea de hidrogen sulfurat. În practica actuală multe medii au atât proprietăți selective cât și diferențiate.

Pentru a finaliza identificarea unui izolat, o bancă de medii diferențiate și teste biochimice pot fi folosite. Aceste teste decurg în prezența unei enzime specifice în condițiile de creștere care sunt asigurate. Prin compararea rezultatelor obținute de la un izolat necunoscut și datele de la speciile cunoscute identificarea poate fi făcută. Cele mai utile teste pentru prelevarea patogenilor sunt comercializate în pachete de kituri, astfel încât laboratoarele mici să nu fie obligate să prepare o varietate de medii speciale.

Sensibilitatea unui patogen izolat la un anumit tip de antibiotic este stabilită prin *metoda Kirby-Bauer*. O cultură de bacterii este împrăștiată pe o plăcuță de agar plană și discurile conținând diferite antibiotice sunt plasate pe platan. Antibioticul difuzează pe agar. Dacă bacteria este rezistentă la antibiotic, o serie de descendenți se vor dezvolta pe disc. Dacă nu, discul va rămâne gol în acea porțiune. Dimensiunea zonei "moarte" este proporțională cu eficacitatea antibioticului. *Concentrația minimă de inhibiție* a unui antibiotic pentru o specie bacteriană este determinată prin inocularea unei serii de tuburi conținând diferite concentrații de antibiotic și observarea celei mai mici concentrații la care nu are loc creșterea.

Dacă o metodă imunologică poate fi utilizată direct pe un specimen clinic, patogenul poate fi identificat fără a fi cultivat. Aceasta necesită prepararea unui *antiser de referință* împotriva patogenilor cunoscuți.

Anticorpilor fluorescenți pot fi vizualizați microscopic după ce se leagă de un specimen. Oricum, *specificitatea* anticorpilor policlonali poate fi o problemă. Membrii florei bacteriilor normale pot avea o suprafață a antigenilor similară cu a patogenului și reacționează încrucișat cu antiserul de referință. Această problemă poate să apară din nou la utilizarea *anticorpilor monoclonali*. Dacă un anticorp monoclonal reacționează numai cu un anumit component de suprafață, el poate detecta un lanț particular al bacteriei. În contrast, câțiva determinatori antigenici au efecte similare pentru specii diferite. Un anticorp monoclonal care reacționează cu acest determinant poate fi folosit într-un sistem de vizualizare pe ecran.

Testul ELISA a devenit popular în diagnosticarea de laborator deoarece poate fi automatizat și utilizat în afișarea programatică a masei. Testul *direct ELISA* este folosit pentru a detecta antigenii într-un specimen pacient în timp ce testele indirecte ELISA detectează anticorpilor specifici în serul pacientului.

Testele de aglutinare pot fi făcute rapid și necostisitor. Prin amestecarea unui antigen sau anticorp, se poate observa imediat reacția pozitivă a acestuia. Tehnica este necostisitoare, și este folosită în special pe scară largă sau în țările în curs de dezvoltare în care aparatura complexă este dificil de întreținut.

Specimenele clinice conțin un amestec complex de antigeni. Pentru a detecta o proteină specifică antigenică, testul *Western blot* poate fi aplicat. În această tehnică, proteinele sunt separate pe baza dimensiunii prin electroforeză de gel pe poliacrilamidă.

6. Studii Fitosanitare

6.1. Introducere

Caracterul universal al aplicării *pesticidelor* adesea fără cunoașterea suficientă a acțiunii lor și a modului de asigurare împotriva efectului lor toxic a influențat în mare măsură opinia publică. Îngrijorarea a crescut datorită, mai ales constatării că acțiunea negativă a pesticidelor asupra mediului și omului se manifestă timp îndelungat [7].

Pierderile provocate agriculturii pe plan mondial de diferitele *organisme dăunătoare* se ridică anual la 35% din recolte, ceea ce corespunde cu aproximativ 100 miliarde de dolari. Din aceste pierderi, *insectelor* le revin 13.8%, *ciupercilor* 11.6%, *buruienilor* 9.5% și *altor organisme* 0.1%. Aceste pierderi variază în diferite regiuni ale lumii în funcție de condițiile climatice și numeroși alți factori ecologici.

Astfel, lucrarea [8] tratează schimbările din sol datorită climei în depozitele glaciare. Aici se remarcă că *cronofuncțiile* solului sunt adesea cvasiliniare, dar aceste relații sunt adesea valabile doar grosier, generalizări fortuite care ignoră schimbările în soluri datorate climei și altor cicluri externe, influențe care guvernează formarea și degradarea solului. Lucrarea prezintă aspecte legate de aceste influențe asupra munților Rocky (U.S.A.) și aici analiza solului a permis estimarea anilor de sedimentare. Într-un detaliat studiu al solurilor din Wind River Range și Wind River Basin s-au relevat caracteristici ale straturilor de suprafață care nu urmează trendul anual. Oricum, urmărind compoziția în carbonați a straturilor se obțin caracteristici corelate anual.

În mare măsură pierderile reflectă și posibilitățile de a controla mărimea producției agricole pe diferite teritorii. Astfel, pierderile provocate de insecte constituie 5% din *producția potențială agricolă* în Europa, 7% în Oceania, 9% în America de Nord și Centrală, 10% în America de Sud, Rusia și China, 13% în Africa și 21% în restul Asiei. Cele mai evidente și mai palpabile sunt de obicei pierderile în producția de cereale [9]. Un important aspect al producției agricole este pentru sănătatea publică [10].

6.2. Aspecte de Sănătate Publică

Numeroase studii și cercetări, finalizate prin conferințe științifice și articole se fac relativ la influențele pesticidelor și altor tratamente chimice asupra ecosistemului.

Astfel, lucrările conferinței [11] tratează aspectele legate de efectele asupra sănătății umane în ecosistemele din vecinătatea Marilor Lacuri și bazinului St. Louis Lawrence River (U.S.A.). S-a relevat o impresionantă cantitate de noi cunoștințe și instrumente de aplicare a acestor cunoștințe doar în anii 1994-1996, de când o întâlnire similară a avut loc în Detroit (U.S.A.).

Pentru o analiză corectă, trebuie luate în considerare parametrii ca aria de expunere, creșterea demografică și în general efectele asupra sănătății furnizează informații complexe.

Se poate spune că în domeniul *expunerii* sunt informații liniștitoare așa cum o dovedesc studiile nivelelor pentru poluanții toxici persistenți care au decăzut dramatic, cu precădere din anii 1970 către anii 1980, care arată că trendul în timp al acestor poluanți a scăzut. Acest declin în nivelele de contaminare în U.S.A. reprezintă un succes în prevenirea primară, care se corelează însă cu acțiunile în parteneriat ale agențiilor de mediu, agențiilor de reglementare, care au făcut ca industria să-și adapteze tehnologiile pentru a reduce emisiile în mediu. S-a arătat că datele măsurate dovedesc că nu este nici o diferență semnificativă în ceea ce privește concentrația poluanților în bazinul Marilor Lacuri decât în altă parte [12].

Oricum, interpretarea exclusivă pe baza acestor niveluri de poluare oferă o slabă înțelegere asupra potențialului de toxicitate al poluanților.

În termeni *demografici*, sunt populații care sunt expuse la risc datorită unor anume categorii de poluanți care se pot decela în mediu. Se pot produce efecte secundare ale expunerii, cum ar fi sensibilizarea psihologică. De exemplu, creșterea fătului este în special sensibilă la efectele substanțelor toxice persistente și oferă o fereastră către studii în ceea ce privește efectele acestora pe termen lung, în generațiile următoare (*transgenerațional*). Sunt necesare astfel studii care să-și deplaseze atenția de la efectele pe termen scurt la efectele pe termen lung. Categoriile de populație consumatoare de pește, de exemplu, pot fi expuse la riscuri suplimentare față de cele relevate de trenduri. Studii în acest sens arată că această categorie, de exemplu, este supusă la riscuri de 2-3 ori mai mari decât restul populației [13] și în același sens, copii alăptați pot căpăta rate de expunere de 40-50 de ori mai mari decât restul populației.

În termeni de *sănătate umană*, studii arată că funcțiile *neuromotorie* și *reproductivă* sunt cele mai în suferință [14-,15,16]. Ceea ce este de remarcat este că aceste deficiențe odată apărute, nu mai pot fi reparate, ca un deficit bugetar, de exemplu.

Opiniile sunt împărțite în ceea ce privește implicațiile studiilor de sănătate obținute prin intermediul *analizelor epidemiologice*. Diferențe sunt remarcate în ceea ce privește concepția studiului care conduce la rezultatele care au fost raportate. Oricum, trebuie să recunoaștem remarcabila paralelă care ceste studii o relevă. Fiecare dintre aceste studii, fie că provin din studii epidemiologice, studii de laborator sau din studii de genetică, ele pot fi comparate cu lentilele unui microscop, și, ca și lentilele microscopului, ele variază în ceea ce privește puterea de rezolvare și calitatea. Un fir logic care trebuie urmărit este situat dincolo de aceste căutări și relevă tentativa de a cuprinde implicațiile pentru sănătatea publică. Lucrarea [17] caracterizează foarte bine acest numitor comun, și anume în ce măsură se răspunde la întrebarea: "*Care este expresia cantitativă a implicației în sănătatea publică?*", identificând foarte bine legătura lipsă între știință și politica în știință. Este destul de greu deseori de trecut de la știință la servicii în termenii practici ai sănătății publice. Gilbertson sugerează [17] că motivul pentru care avem această dificultate este pentru că încercăm să identificăm cauzalități, cauzalități care sunt foarte dificil de stabilit. O cantitate

considerabilă de informație [18-,19,20] referă vecinătatea domiciliului persoanelor la care se manifestă efecte de malformații congenitale la naștere, ca dovadă a legăturii între cauză și efect.

Toate acestea vin să întărească importanța studiului pesticidelor, sub toate aspectele sale, mai ales sub aspectul sănătății publice.

6.3. Agrochimia Pesticidelor

Pesticidele, în accepțiunea generală se împart în:

- *chimice* care sunt compuși chimici cu efecte nefavorabile asupra insectelor, bolilor sau dăunătorilor plantelor de cultură;
- *fizice*, ca de exemplu iradierea ce provoacă sterilitatea la insecte;
- *biologice*, ca de exemplu preparatele de *Bacillus thuringiensis*;

Pesticidele chimice sunt deci un bun exemplu de compuși a căror aplicare este riscantă. Totuși, principalul beneficiar al acestora este agricultura. Aici ele se aplică în scopul protecției plantelor în timpul vegetației dar și în scopul protecției plantelor după recoltare în mijloacele de transport și depozite.

Pesticidele se caracterizează prin lipsa *acțiunii selective*; ele pot să provoace *intoxicații acute* oamenilor, mai ales celor care lucrează la producția și aplicarea lor.

De asemenea, sub influența pesticidelor, pe lângă insectele care distrug plantele în timpul vegetației și după recoltare, pot să piară sub influența pesticidelor și albinele folositoare, iar la combaterea buruienilor pot să sufere chiar plantele a căror protecție se urmărește. Asemenea situații sunt agravate de *aplicarea incorectă* a pesticidelor.

Termenul de pesticide cuprinde toate substanțele sau amestecurile de substanțe folosite pentru:

- prevenirea dezvoltării sau combaterea oricărui organism vegetal sau animal nedorit;
- reglarea creșterii plantelor, defolierea și uscarea lor.

Aplicarea pesticidelor în agricultură, medicina veterinară, diferite industrii (textilă), gospodărie casnică și ocrotirea sănătății populației are ca scop îmbunătățirea cantitativă și calitativă a alimentelor, nutrețurilor și produselor industriale, asigurarea lor în timpul păstrării față de dăunători și boli, ocrotirea animalelor contra paraziților precum și distrugerea insectelor și altor transmitători de boli la oameni și animale. Lista acestor boli cuprinde: malaria, tifosul exantematic, ciurma, febra galbenă, filarioza, afecțiuni virotice ale creierului, febrele transmise de păduchi și acarieni, febra de tranșee, amoebiazeele, leishmaniozele, onchocercозisele, trypanosomiosisele, bolile papataci, frambezia, inflamarea conjunctivitelor, boala lui Chagas, rickettsiozele și tularemia. În lupta cu aceste boli rolul cel mai important l-au avut insecticidele organoclorurate, iar dintre acestea DDT, folosite încă în continuare în anumite țări.

În funcție de destinația pesticidelor, acestea pot fi împărțite în următoarele grupe:

- *zoocide* – pentru combaterea dăunătorilor animalii
 - *insecticide*: combaterea insectelor;
 - *rodenticide*: combaterea rozătoarelor;
 - *moluscocide*: combaterea moluștelor;
 - *nematocide*: combaterea nematozilor;
 - *larvicide*: combaterea larvelor;
 - *aficide*: combaterea afidelor;
 - *acaricide*: combaterea acarienilor;
 - *ovicide*: distrugerea ouălor de insecte și acarieni;
- *fungicide* și *fungistatice*, *bactericide* și *virocide*: combaterea ciupercilor și ciupercostaticelor;
- *erbicidele*: combaterea buruienilor;
- *regulatori de creștere*: mijloace care inhibă sau stimulează procese de creștere la plante:
 - *defoliate*: mijloace de defoliere a plantelor;
 - *desicante*: mijloace de uscare a plantelor înainte de recoltare;
 - *deflorante*: mijloace de înlăturare a cantității excesive de flori;
- *atractante*: mijloace de ademenit;

- *repelente*: mijloace pentru respingere.

Pesticidele sunt aplicate sub diferite forme: *prafuri, pulberi, granule, capsule, soluții, suspensii, aerosoli, spume, gaze, vapori, paste*, iar forma de utilizare este dictată de particularitățile dăunătorului combătut, considerentele tehnice și economice ale aplicării preparatului.

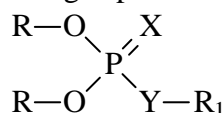
6.4. Chimia Pesticidelor

Caracteristica toxicologică a pesticidelor diferă în funcție de *clasa structurală* și *funcțională* la care aparțin. Câteva clase sunt prezentate în continuare:

6.4.1. Insecticidele

Hidrocarburile organoclorurate cuprind compușii ciclodienici: DDT, HCH, lindan, metoxiclor, Keltan, aldrin, dieldrin, clordan, endrin, endosulfan, heptaclor, Kelewan, toxafen. Trăsătura comună este afinitatea pentru țesutul adipos și o mare stabilitate. Pătrund în organismul omului prin piele, tubul digestiv și căile respiratorii. Se acumulează în special în țesutul adipos, ficat, creier, mușchi, rinichi și inimă. Acțiunea toxică în intoxicațiile acute se manifestă printr-o excitare inițială puternică și apoi paralizarea sistemului nervos central. În intoxicațiile subacute apar perturbări ale auzului, dereglarea coordonării mișcărilor, atrofia țesutului muscular, leziuni ale ficatului și rinichilor. În prezent au fost scoase din uz în multe țări.

Compușii organofosforici sunt cel mai frecvent esteri ai acizilor: fosforic, tiono-, tiolo-, tionotio- fosforic și pirofosforic. Cea mai largă aplicabilitate o au compușii cu formula generală:



unde X, Y = O, S și R, R₁ = radical alchilic când:

- X = Y = O : fosfați (clorfeninfos, diclorfos, dimefox, fosdrin, fosfamidon, monocrotofos, triclorfon);
- X = O, Y = S : tiofosfați (demeton-S);
- X = S, Y = O : tionofosfați (bromofos, demeton, etilpirimifos, metilpirimifos, clortion, diazinon, fention, folition, paration, metiloparation, fenclorfos, fenitrotion);
- X = Y = S : ditiofosfați (formotion, dimetoat, disulfoton, fostion, gution, malation, tiometon, metidation);
- X = S, Y = R : tionofosfați (EPN).

Toxicitatea acută a acestor compuși se măsoară în unități per os *LD*₅₀ care reprezintă doza care a provocat moartea a jumătate din animalele din grupa experimentală. Toxicitatea depinde pronunțat de structura chimică. Astfel, s-a constatat experimental că compușii care conțin radicalul metilic (R = CH₃) au o toxicitate mai mare decât cei care conțin radicalul etilic (R = CH₂CH₃). Derivații care conțin sulf sunt mai puțin toxici decât cei care conțin oxigen.

Intoxicațiile sunt foarte periculoase, se caracterizează printr-o îngreunare accentuată a vorbirii, pierderea capacității de a coordona mișcările, inhibarea reflexelor și comă. Moartea intervine în urma paraliziei mușchilor respiratorii și oprirea funcționării inimii. Majoritatea compușilor sunt supuși în organism unei activări în prezența oxidazelor microsomale a *NADPH*₂ (nicotinamidă adenin dinucleotid fosfat redus) și a oxigenului molecular.

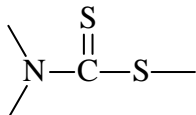
Compușii carbamici sunt esteri N-substituiți ai acidului carbamic iar cei folosiți frecvent sunt carbarilul, cartapul, pirimicarbul, propoxurul, carbofuranul, Temik-ul. Mecanismul de acțiune este același ca la organofosforici: inhibarea esterazelor, și în special a esterazei acetilcolinei. Complexul enzimo-carbamat este mai instabil însă și se deblochează esteraza acetilcolinei și se revine la funcțiile normale. Cazurile de intoxicații acute sunt mai rare și au evoluție mai atenuată. Carbarilul s-a dovedit toxic pentru cobai și hârciogi [21].

6.4.2. Fungicidele

Compușii organomercurici cuprind îndeosebi metil mercur cianoguanidina, p-toluensulfonamida etilmercurică și acetatul fenil-mercuric. Pătrund în organism prin tubul digestiv și sistemul respirator, însă în anumite condiții se pot adsoarbe și prin piele. În tubul digestiv metil-

mercurul este *adsorbit* în proporție de 95% iar în plămâni în proporție de 80%. În intoxicații, organele critice sunt rinichii și sistemul nervos central și periferic pentru vaporii de mercur și sistemul nervos central pentru metil-mercur. S-a putut constata că 10% din doza de metilmercur se acumulează în creier, și dispare din organism extraordinar de încet: 50% în decurs de 70-90 zile.

Ditiocarbamații sunt derivați ai acidului ditiocarbamic, care nu apare în stare liberă și sunt compuși ca: Nabam, Maneb, Zineb, Mancozeb, Ziram, Ferbam, Tiram, Polyram. Gruparea activă care condiționează acțiunea fungicidă și toxică este:



în care azotul aminic este legat cu radicali alifatici iar sulfurul cu metalul. Ditiocarbamații pot să acționeze asupra ADN indirect prin transformări metabolice ca N-hidroxicarbamații.²² Derivații ditiocarbamici se caracterizează prin proprietăți puternice de iritare și sensibilizare.

Alți compuși derivați halogenați ca pentaclorfenolul (PCP), cvintocenul (PcNB), Captanul, Folpetul, Difolatanul influențează transportul de electroni în lanțul respirator, duce la perturbarea celulară a respirației.

6.4.3. Erbicidele

Se aplică cu succes peste 500 de diferiți compuși chimici sau combinații ale acestora în combaterea buruienilor. După modul de acțiune *erbicidele* se clasifică în:

- *de contact* (distrug plantele în urma contactului direct cu ele);
- *sistemice* (se adsorb prin frunze și rădăcini și sunt transportate în țesuturile întregii plante).

Derivații carboxilici aromatici au acțiune variată în funcție de structura chimică și modul de aplicare. Cele mai importante sunt: derivații acidului fenoxiacetic (2,4-D, 2,4,5-T, MCPA, diclorprop, mecoprop) și derivații acidului benzoic (Dikamba, 2,3,6-TBA), clase care se denumesc deseori și erbicide auxinice, au efecte secundare de pătrundere în organismul oamenilor și animalelor pe cale digestivă și respiratorie și pot provoca alergii și erupții pe piele și iritarea mucoaselor ochiului. Dioxinele pot lua naștere din clorfenoli, materialul inițial în producerea multor pesticide clorurate.

Derivații acizilor alifatici cuprind în principal Dalaponul și acidul tricloracetic. Erbicidele din această grupă combat buruienile monocotiledonate.

Fenolii substituiți ca Dinoseb (DNBP), pentaclorfenolul (PCP), DNOC, DNPP acționează prin contact asupra buruienilor dicotiledonate și pot fi aplicați ca fungicide sau acaride și insecticide. În afară de PCP toți conțin două grupări nitrice care decid caracterul acțiunii toxice.

Derivații azotați heterociclici sunt derivați triazinici și triasolici ca: antrazina, simazina, prometrina, propazina, prometonul, amitrolul și manifestă o sferă largă de acțiune atât în raport cu plantele monocotiledonate cât și dicotiledonate. Toxicitatea acestor compuși se manifestă în special prin acțiunea asupra ficatului.

Derivații azotați alifatici se pot împărți în 3 subgrupe:

- derivați ai ureei: diuron, linuron, monuron, fluorometuron, clortoluron, cloroxuron;
- carbamați: IPC, CIPC, barban, diallat;
- compuși amidici: difenamid, cipromid, propanil.

Erbicidele pe bază de uree se folosesc la combaterea buruienilor dicotiledonate în plantațiile pomicele și legumicole iar acțiunea toxică se manifestă prin modificări hematologice.

Erbicidele carbamice se aplică pentru distrugerea selectivă a plantelor monocotiledonate din culturile dicotiledonate.

Compușii amidici au un caracter mai puțin toxic [23].

6.5. Proprietățile Fizico-Chimice ale Pesticidelor

Proprietățile fizico-chimice ca punctul de fierbere, refracția molară, presiunea critică, viscozitatea și retenția cromatografică sunt cele mai simple proprietăți fizico-chimice experimentale ale compușilor chimici.

De cele mai multe ori, aceste valori sunt tabelate și pot fi folosite în proiectarea instalațiilor industriale de producere și separare [24]. Sunt însă cazuri în care nu se dispune de date pentru un anumit compus, cazuri în care se apelează la studiile de corelație pentru a regăsi valorile dorite [25].

Amestecurile complexe de pesticide pot ridica dificultăți în separarea cromatografică [26] O soluție este utilizarea de modele matematice capabile să optimizeze faza mobilă pentru a asigura o bună separare [27]. Acestea pot da rezultate superioare altor metode atunci când se aplică amestecurilor complexe de compuși cu structură asemănătoare [28]. În cazul cel mai general se consideră funcții de optim cumulat provenit din mai multe modele [29]. Corelarea proprietăților fizico-chimice cu structura este un instrument puternic, capabil de a furniza soluții atunci când ne confruntăm cu lipsa de date preliminare [30], de a furniza explicații de natură structurală și chiar de a modela proprietatea pe clase de compuși, descompunând-o pe aceasta în elementele sale intrinseci: tipul interacției intramoleculare predominante, tipul proprietății atomice responsabile de manifestarea proprietății măsurabile și modelul descriptorului de proprietate [31].

Iată câteva rezultate de acest tip, pentru modelarea refracției molare și indicelui de retenție cromatografică la pesticide pe o clasă de 10 compuși organofosforici, și o clasă de 10 erbicide preluate din [30].

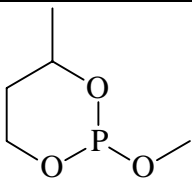
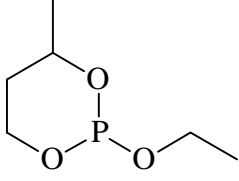
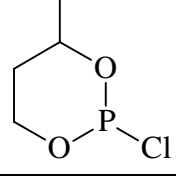
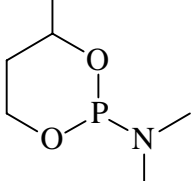
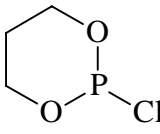
Gutman a introdus *indicele Szeged* ca un indice pur topologic pe baza formulelor ($V(G)$ - lista atomilor, D - operatorul de distanță topologică [32]):

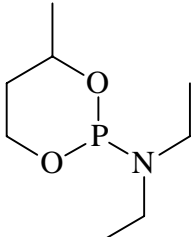
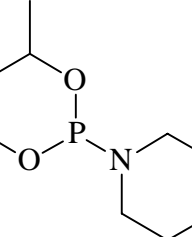
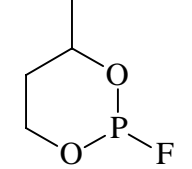
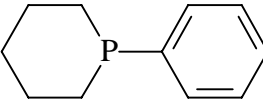
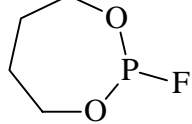
$$SZ_e = \sum_e N_{i,(i,j)} \cdot N_{j,(i,j)}, N_{i,(i,j)} = | \{ v \in V(G), D(i,v) < D(j,v) \} |,$$

$$N_{j,(i,j)} = | \{ v \in V(G), D(i,v) > D(j,v) \} |;$$

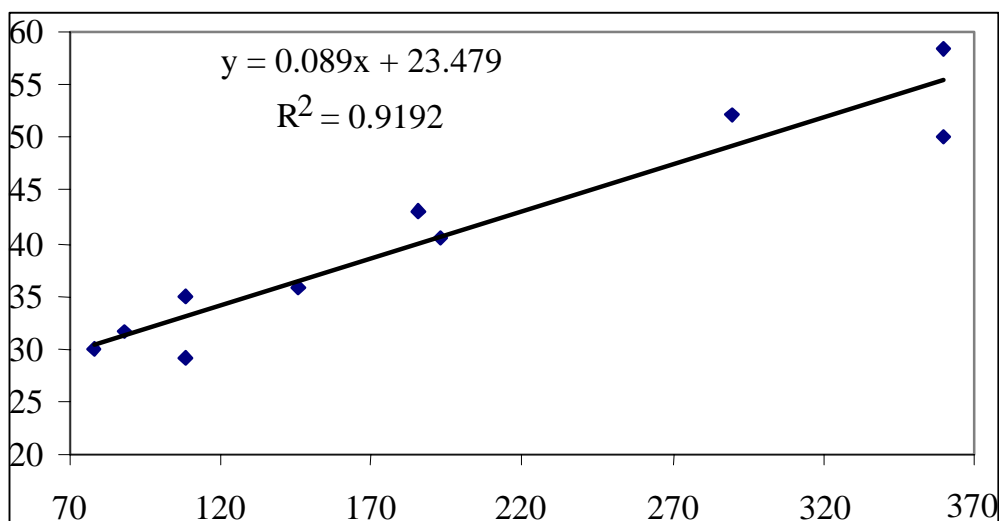
- Rezultatele obținute pentru refracția molară MR și indicele SZ_e calculat sunt redate în tabelul 5:

Tabelul 5. Valori SZ_e și MR pentru clasa de compuși organofosforici în studiu

Structură compus	Indice Szeged, SZ_e	Refracție molară, MR
	146	35.808
	193	40.524
	108	34.911
	186	43.005
	78	30.030

	290	52.029
	360	49.971
	108	29.222
	360	58.323
	88	31.636

- Modelul matematic al refracției molare MR și reprezentarea grafică a dependenței sunt redată în figura:



Ecuția de regresie între MR și SZ_e pentru clasa de compuși organofosforici în studiu

- Diudea a înlocuit operatorul de cardinalitate din ecuațiile (1b,c) cu operatori specifici de proprietate atomică (masă și electronegativitate), pe baza formulelor [33]:

$$PM_{i,(i,j)} = \sum_v M(v), v \in V(G), D(i,v) < D(j,v),$$

$$PE_{i,(i,j)} = \sum_v \sqrt{\prod_v E(v)}, v \in V(G), D(i,v) < D(j,v),$$

$M(v)$ – masa atomului v ,

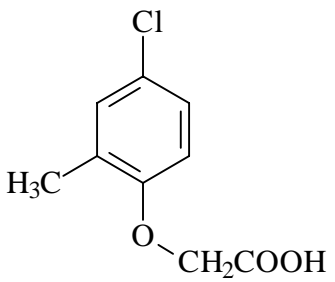
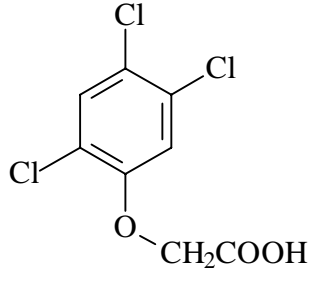
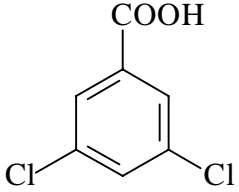
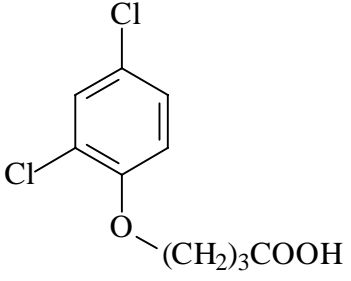
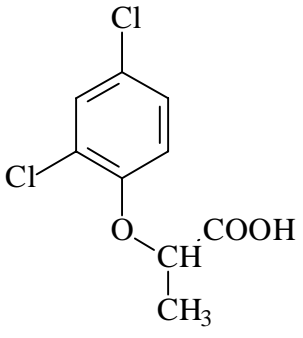
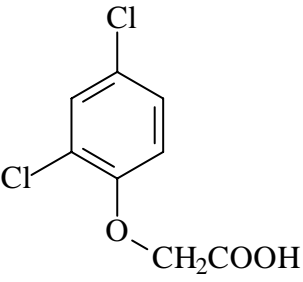
$E(v)$ electronegativitatea Sanderson;

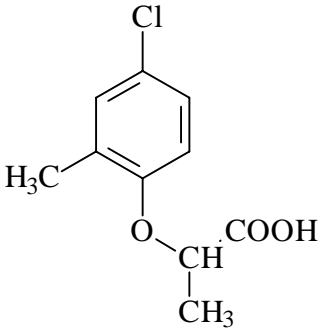
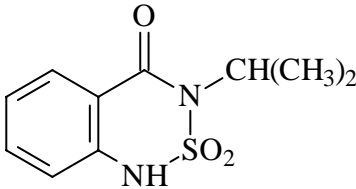
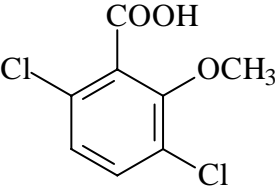
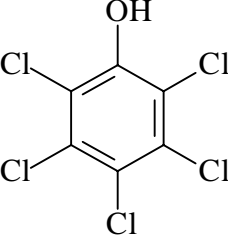
când au rezultat indicii SZ_eM și SZ_eE corespunzători.

- Indicii de retenție cromatografică I_{CHR} și Szeged calculați pe electronegativități Sanderson SZ_eE

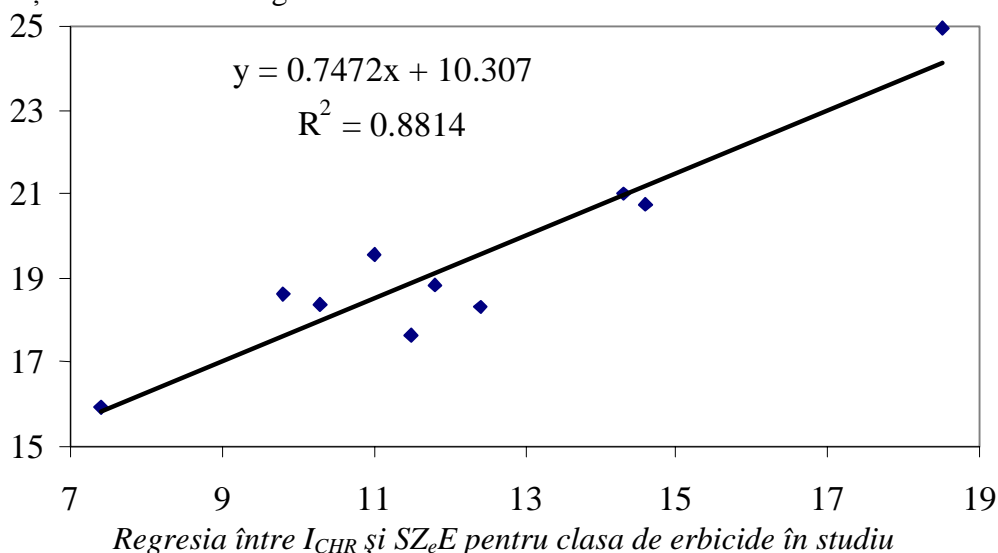
sunt redați în tabelul următor:

Tabelul 6. Valori I_{CHR} și SZ_{cE} pentru clasa de erbicide în studiu

Erbicid [24]	Structură	I_{CHR}	SZ_{cE}
MCPA		11.5	17.620
2,4,5-T		14.3	20.991
Acid 3,5-diclorbenzoic		7.4	15.956
2,4-DB		14.6	20.745
Diclorprop		11	19.535
2,4-D		11.8	18.810

MCPP (Mecoprop)		10.3	18.373
Bentazon		18.5	24.957
Dicamba		9.8	18.614
pentaclorofenol		12.4	18.324

- Modelul matematic al indicelui de retenție cromatografică I_{CHR} și reprezentarea grafică a dependenței sunt redate în figura:

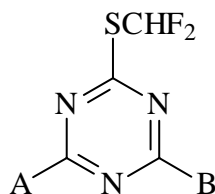


6.6. Activitatea Biologică a Pesticidelor

În literatura de specialitate este greu de găsit valoarea activității biologice a unei anumite pesticide pentru un anumit proces biologic. Din acest motiv sunt foarte utile relațiile structură – proprietate și activitate – proprietate pe clase de compuși [34].

Un exemplu de aplicare cu succes a descriptorilor de substituent în predicția activității erbicide a triazinelor unei clase de 30 de derivați ai 2-difluorometiltio-4,6-bis(monoalchilamino)-

1,3,5-triazine cu formula generală:



unde A și B sunt substituenții: NH₂, NHCH₃, NH-i-C₃H₇, NHC₂H₅, NHC₄H₉, NH-i-C₄H₉, NH-s-C₄H₉, NH-t-C₄H₉, NH-C₅H₁₁, NH-C₆H₁₃, NHC₇H₁₅, NH-C₈H₁₇ este prezentat în lucrarea [35], unde s-au folosit descriptorii de substituent ca X_{LDS} (indicele de centrocomplexitate) W_S (indice de drumuri calculat pe matricea L³W), volume fragmentale V și număr de atomi N pentru a prezice activitatea erbicidă exprimată prin pI₅₀, logaritmul cu semn schimbat al concentrației necesare pentru inhibiția în procent de 50% a reacției Hill.

Modelarea matematică s-a făcut ținând seama de simetria substituenților și s-au mediat valorile obținute pentru descriptorii de substituent folosind media aritmetică (A), geometrică (G) și armonică (H).

Cea mai bună ecuație de regresie în 3 variabile descriptoare pentru modelarea activității biologice s-a obținut pentru un coeficient de corelație între valoarea calculată și valoarea estimată de $r = 0.9807$:

$$pI_{50} = 10.202 - 119.5 \cdot (1/V_{(H)}) - 0.097 \cdot X_{(H)} - 0.047 \cdot W_{(H)}$$

medierea armonică (H) dând cele mai bune rezultate în corelație.

6.7. Metode Moderne în Studiul QSAR/QSPR

În ultima perioadă de timp, indicii structurali utilizați studii QSPR/QSAR (quantitative structure-property/activity relationship) sunt tot mai frecvent calculați din considerente sterice (geometrice) și/sau electrostatice (sarcini parțiale) [36-,37,38] în comparație cu vechile considerații topologice [39].

Sunt preferate calculele structurale semi-empirice și cuantice efectuate de programe ca: Hondo95, Gaussian94, Gamess, Icon08, Tx90, Polyrate, Unichem/Dgauss, Allinger's MM3, Mopac93, Mozyme, HyperChem [40].

În analiza de regresie proprietate/indice structural sunt folosite metode clasice de regresie liniară, regresie liniară multiplă, regresie neliniară, sau, în cazul bazelor de date mari, sistemele expert sau rețelele neuronale [41,42]

Ca metodă preliminară analizei, unii autori aliniaza setul de molecule [43]. Mai mult, metoda CoMFA [44] introduce un algoritm în 6 pași pentru analiza QSAR [45]:

(A) *construiește* setul de molecule cu activitate cunoscută și *generează* structura 3D a moleculelor (eventual cu unul din programele: Mopac, Sybyl [46,47], HyperChem [48,49], Alchemy2000 [46] MolConn [46,50]);

(B) *alege* o metodă de suprapunere (suprapunere de fragmente alese din molecule [46,51,52] sau suprapunere grupări farmacofore [53]) și *suprapune* virtual coordonatele spațiale;

(C) *construiește* o rețea de puncte ce înconjoară moleculele suprapuse la (B) în mod standard (grid [44]) sau în formă modificată (curbiniu [54]) și *alege* un atom de probă pentru interacția cu punctele rețelei [55,56].

(D) *folosește* o metodă empirică (Hint [57]), un model specific (suprapunere farmacoforă [58]), energia potențială clasică (Lennard-Jones, Coulomb [44]), potențialul legăturilor de hidrogen [59], câmpuri generate de orbitalii moleculare [60,61] sau orice alt câmp definit de utilizatorul modelului [55] și *calculează* valorile de interacție ale câmpului indus în rețeaua (C) de câmpul de interacție ales cu un atomul de probă (C) plasat în punctele rețelei;

(E) *folosește* valorile calculate ale interacției (D) între punctele rețelei și atomul de probă și *efectuează* predicția QSAR a activității cunoscute;

(F) *folosește* parametrii QSAR obținuți (E) și *efectuează* predicția activității la molecule care se pretează la același tip de suprapunere cu cele ale setului școală (A).

Metoda CoMFA este un instrument bun în predicția unui variat tip de activități biologice cum sunt: citotoxicitate [62], inhibiție [56,60], proprietăți de formare [63,64]. De asemenea, metoda se folosește în modelarea compușilor cu efect farmaceutic [53,65] și analiza inhibitorilor HIV [66].

O importantă problemă în modelarea QSAR este căutarea în moleculele active biologic a substructurilor active care dau cea mai mare parte a răspunsului biologic măsurat [67].

Căutarea invariantilor moleculari este deosebit de utilă în studiul de caz. Metoda WHIM (Weighted Holistic Invariant Molecular) calculează în acest sens un set de indici statistici derivați din proprietăți sterice și electrostatice ale moleculelor [68-,69,70]. Metoda originală a fost modificată și i s-a atribuit numele MS-WIHM (Molecular Surface – Weighted Holistic Invariant Molecular) și a fost aplicată cu succes în analiza suprafeței moleculare [71]. MS-WHIM este o colecție de 36 de indici statistici derivați din proprietăți sterice și electrostatice și orientați către parametrizarea suprafeței moleculare [72].

Jäntschi și Diudea propun un nou model structură – proprietate bazat pe topologia moleculară obținută din formula structurală și topografia moleculară obținută din calcule cuantice [27,31]. Pentru modelarea moleculară este folosită o nouă clasă de indici: FPIF (fragmental property index family) ce conține un număr de 61440 indici membrii calculați pe baza a:

- 8 metode de fragmentare topologică denumite MI, MA, SzDi, SzDe, CfDi, CfDe, CjDi, CjDe;
- 4 modele de interacțiune fizică denumite RG, DG, RT, DT;
- 8 descriptori de proprietate p în funcție de distanța d : p , d , $1/p$, $1/d$, $p \cdot d$, p/d , p/d^2 , p^2/d^2 ;
- 5 modele de suprapunere a interacțiilor fragmentale: S, P, A, G, H;
- 4 tipuri de indici sumativi pe matricile cu proprietăți fragmentale rezultate: P₋, P₂, E₋, E₂;
- 3 operatori de scalare a indicilor: id, 1/, ln;
- 4 proprietăți p implicite: C, M, E, Q

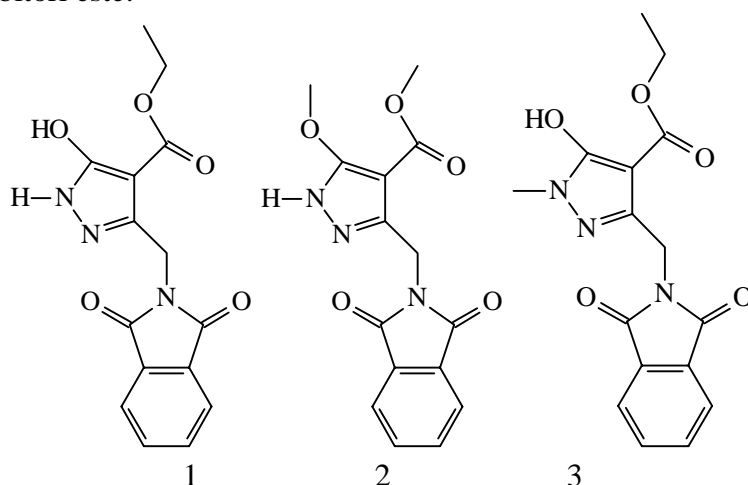
și se generează întregul set de 61440 indici pentru o moleculă dată pe baza structurii topologice (atomi și legături) și topografice (coordonate spațiale și sarcini parțiale).

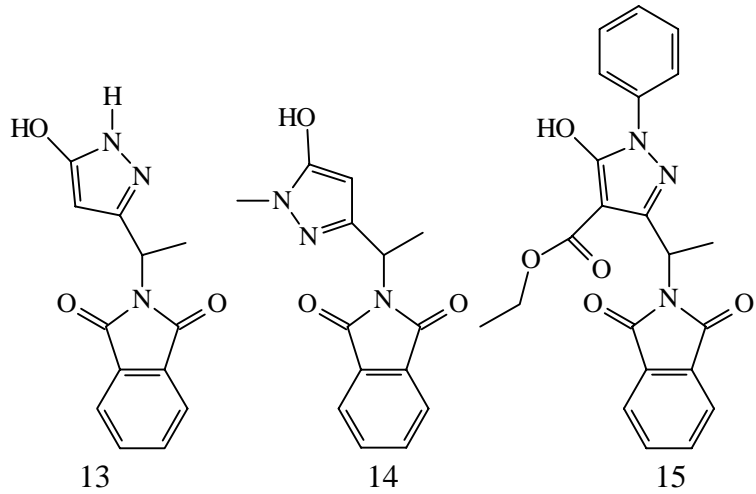
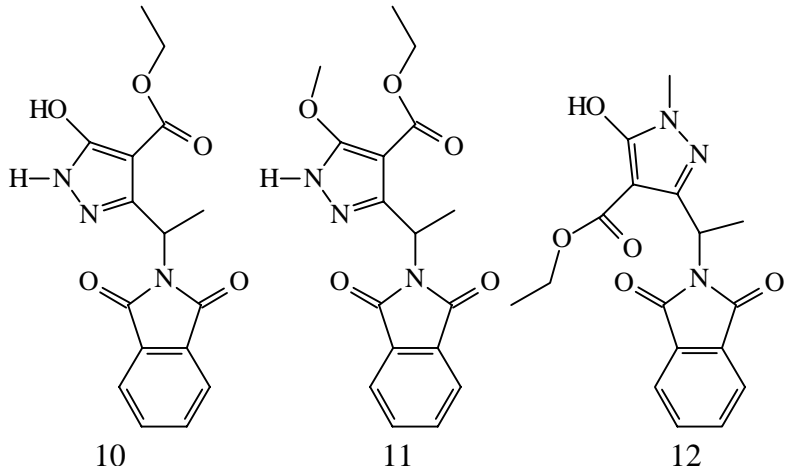
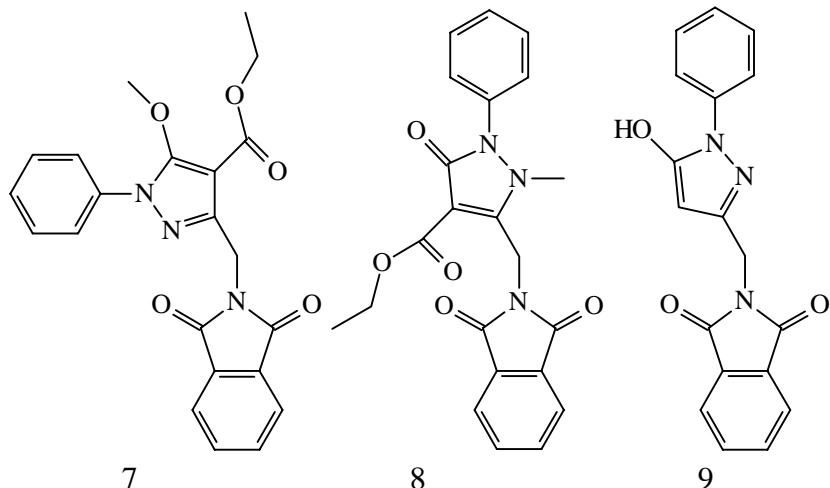
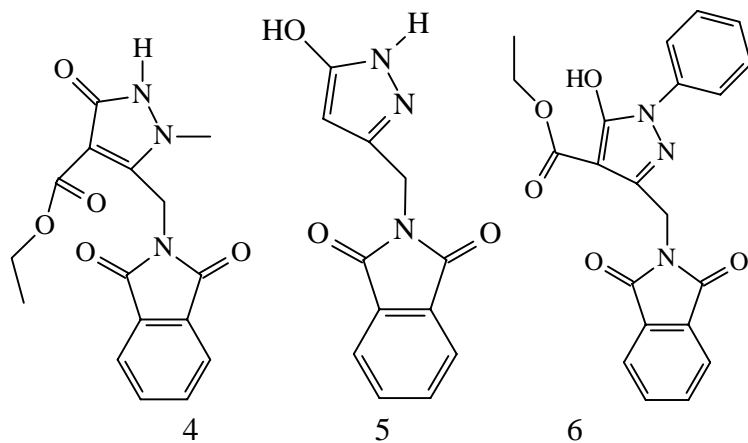
Nu toți indicii obținuți sunt distincți în general. Degenerări apar din degenerarea valorilor proprietăților atomice și ale descriptorilor aleși. În urma eliminării identităților din întregul set rămân aproximativ 15000 de indici distincți.

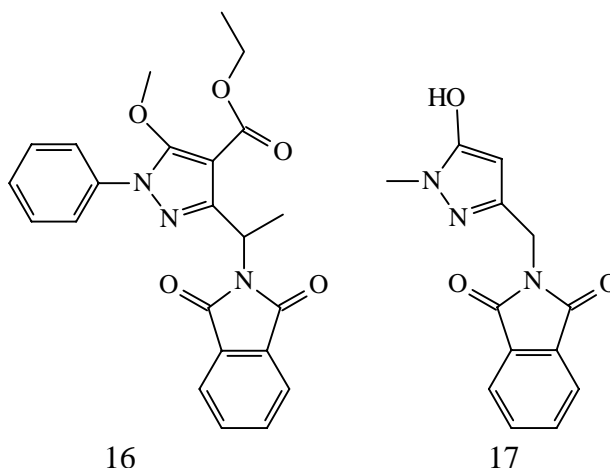
Rezultate deosebite se obțin la recunoașterea modelelor de proprietate. Construcția indicilor permite în urma selecției făcute în corelație să se identifice cauza structurală a proprietății macroscopice măsurate sau calculate.

Un exemplu este analiza QSAR și QSPR a unui set de 17 compuși de substituție ai 3-(ftalimidoalchil)-pirazolin-5-onei cu activitate inhibitoare asupra *Lepidium sativum* L. (Creson), rezultate superioare celor obținute în lucrarea [73].

Setul de inhibitori este:







17 compuși de substituție ai 3-(ftalimidoalchil)-pirazolin-5-onei

Cei 17 compuși de substituție ai 3-(ftalimidoalchil)-pirazolin-5-onei cu activitate inhibitoare în soluție de 0.05 g/l asupra *Lepidium sativum* L. (Creson) au proprietățile:

Tabelul 6. Sum of One-Electron Energy Calculated at Single Point Semi-Empirical Extended-Huckel and the Inhibitory Activity on *Lepidium sativum* L. (Cresson)

Molecula nr.	Energia (kcal/mol)	Inhibiția (%)
1	50978.19	28.4
2	51000.36	28
3	53441.43	30.4
4	53416.95	27.7
5	38604.68	14.3
6	62330.33	68.3
7	64752.65	49.4
8	64751.09	65.2
9	50012.42	46.9
10	53424.19	29.3
11	55729.99	28.9
12	55832.12	32.6
13	41020.54	12.2
14	43473.37	18.2
15	64701.39	71.7
16	67104.64	50.6
17	41057.46	15.1

Indicii de structură au fost generați și sortați după scorul în corelația monovariată, după care li s-a aplicat regresia bivariată. Cele mai bune rezultatele sunt prezentate în tabelul următor:

Tabelul 7. Scoruri în corelația structură - proprietate

Indice	Proprietate	Nume indice	R	Intercepția	Pante
1	energie	lnDGjDeE_p/d2PE_	0.9997	5370	3.76e3
492 1737	energie (bivariat)	idRTjDeM_p/d2SP_ 1/RTsDeM_p/d2AP2	0.9999	5.62e4	47.8 -7.1e5
1	inhibiție	lnDGsDeC_1/p_SE_	0.9538	-3.3e2	96.3
4304 7649	inhibiție (bivariat)	idDTsDiM_p*d_HP_ idDGjDeE_p/d2SE2	0.9926	-26.8	1.56 -1.70

Concluziile pentru clasa de compuși analizată sunt:

- Cel mai bun indice în regresia monovariată (lnDGsDeC_1/p_SE_ pe inhibiție) nu furnizează cea mai bună corelație în regresia bivariată;
- Cea mai bună pereche de indici în corelația bivariată nu se obține din ortogonalizare așa cum

reclamă metoda PCA[74,75] sau DCA[76,77] ci se obține prin traversarea întregii familii și efectuarea de perechi;

- Suma energiilor de un electron este modelat cel mai bine de perechea de indici (idRTjDeM_p/d2SP_, 1/RTsDeM_p/d2AP2) cu un scor $r = 0.9999$; aceasta justifică dependența *Sum of One-Electron Energy, Extended Hückel Model, Single Point Calculation* de topologia moleculară cum era de așteptat pentru o mărime calculată; în plus, masa se identifică în expresia indicilor, cum era de așteptat; superpozarea se face sumativ așa cum se întâmplă de altfel și în calculul energiei;
- Inhibiția activității mitodepresive pe soluția de *Lepidium sativum* 0.05 mg/ml este prezisă cel mai bine de perechea (idDTsDiM_p*d_HP_, idDGjDeE_p/d2SE2) cu un scor $r = 0.99$; prezența electronegativității E și masei M sugerează interacțiunile de natură electrică și impedimentele sterice de masă și volum care au loc la inhibiție; modelul de descriptor de interacțiune este p/d2, specific unui câmp electric; prezența descriptorului de interacțiune p*d la masă sugerează forțele elastice care apar la oscilațiile armonice în jurul pozițiilor de echilibru ale atomilor în structură;
- Analiza de corelație Energie – Inhibiție demonstrează că cele două mărimi sunt slab corelate ($r = 0.78$) ceea ce demonstrează că modelul a fost capabil să explice două mărimi care nu sunt intercorelate.

Ulterior, în lucrările [78,79] a fost testată puterea de predicție a FPIF pe un set de 58 de dipeptide cu activitate inhibitoare a ACE, exprimată în $\log IC_{50}$ (vezi anexa 2), caz în care s-a dovedit încă o dată puterea de discriminare (idDTsDeEp2/d2SP2, idDGjDiPp/dGP_) și corelare ($r = 0.89$). De asemenea, în lucrarea [80] mai multe seturi de molecule cu activitate biologică inhibitoare au fost considerate. Astfel, 10 derivați de diclorofenil metan inhibitori ai aromatazei (aromatizarea enzimatică a androgenilor este implicată în biosinteza estrogenilor și în bolile cauzate de dependența de estrogen), 90 de compuși cu azot, 25 de nitrofenoli cu activitate erbicidă. De fiecare dată FPIF a dovedit o abilitate superioară de predicție față de modelele raportate în literatura de specialitate pe seturile considerate. Astfel, de exemplu pentru cei 10 inhibitori ai aromatazei, lucrarea [81] raportează o corelație de $R^2 = 0.89$ în timp ce membrii clasei FPIF generează un model al proprietății care se corelează cu mărimea observată cu scorul $R^2 = 0.9716$.

6.8. Utilizarea Pesticidelor în Cultură – Exemplu Aplicativ

Următorul tabel clasifică pesticidele prin acțiunea lor asupra insectelor dăunătoare culturii de cartof aprobate pentru folosință în S.U.A. și folosite în cultură în statul Ohio [82]:

Tabelul 8. Pesticide și acțiunea lor biologică asupra dăunătorilor în regiunea statului Ohio

Clasa	Pesticid	Dăunător						
		viermi sărmă	viermi tăietori	gândac Colorado	gândac purice	purici frunze	afide	sfredelit. cereale
Organofosfați	diazinon (D-Z-N)	?	?	?	B	?	S	-
	dimetoat (Cygon)	-	-	-	-	B	B	-
	disulfoton (Di-Syston)	-	-	?	?	?	B	-
	fonofos (Dyfonate)	?	-	-	-	-	-	-
	azinfosmetil (Guthion)	-	-	B/S*	B	?	-	?
	fosmet (Imidan)	-	-	B/S*	B	S	-	-

	malation (Cythion)	-	-	-	B	S	S	-
	etoprop (Mocap)	B	-	-	-	-	-	-
	metamidofos (Monitor)	-	B	NS	B	B	B	B
	metil paration (Penncap-M)	-	S	NS	NS	B	S	?
	forat (Thimet)	?	-	S	B	B	NS	?
Carbamați	carbofuran (Furadan)	-	-	NS **	B	?	-	?
	metomil (Lannate)	-	B	-	B	B	B	-
	carbaril (Sevin)	-	S	S/ NS **	B	B	-	?
	oxamil (Vydate)	-	-	?	?	?	?	-
Organoclorine	metoxiclor (Marlate)	-	-	NS	?	S	-	-
	diclorpropenă (Teleone)	?	-	-	?	?	-	-
	endosulfan (Thiodan, Phaser)	-	-	B/S *	B	S	B	?
Piretroizi	permetrin (Ambrush, Pounce)	-	B	B/S *	B	B	S	?
	esfenvalerat (Asana)	-	B	B/S *	B	B	S	?
	ciflutrin (Baythorid)	-	-	B/S *	B	B	-	?
Alte otrăvuri nervoase	imidaclopid (Admire)	-	-	B	S	S	B	-
	abamectin (Agri-Mek)	-	-	B	-	-	-	-
	pimetrozină(Fulfill)	-	-	-	-	-	FB	-
	imidaclopid (Provado)	-	-	B	S	NS	B	-
	piretrine(Pyrenone)	-	-	?	B	?	?	?
	spinosad (Spin Tor)	-	-	B	-	-	-	?
Necunoscută	<i>bacillus thuringensis</i> caterpillar Strains (DiPel)	-	S	-	-	-	-	?
	<i>bacillus thuringensis</i> coleoptera Strains (M-Trak)	-	-	B	-	-	-	-
	criolit (Krydocine)	-	S	B	S	-	-	-
	azadiractin	-	-	B	?	-	-	-

	(Neem, Azatin)							
	rotenonă (Rotenox, Rotacide)	-	?	B	B	?	?	-
	Soap (M-Pede)	-	-	-	-	S	S	-
Clasa	Pesticid Tip trata- ment	oca- zional	oca- zional	anual	oca- zional	anual	oca- zional	oca- zional

Legendă:

FB: acțiune biologică de combatere foarte bună;

B: acțiune biologică de combatere bună;

S: acțiune biologică de combatere satisfăcătoare;

NS: acțiune biologică de combatere nesatisfăcătoare;

?: acțiune biologică de combatere necunoscută;

-: fără acțiune biologică de combatere;

*: câteva populații sunt însă rezistente;

** : majoritatea populațiilor sunt însă rezistente.

În protecția plantelor împotriva bolilor, dăunătorilor și buruienilor se practică din ce în ce mai mult administrarea pesticidelor în amestec din următoarele motive:

- pentru a se combate concomitent mai mulți paraziți, dăunători sau specii de buruieni, când se *lărgeste spectrul de acțiune biologică* al tratamentului;
- pentru a se *combate simultan* bolile și/sau dăunătorii și/sau buruienile;
- pentru a se *proteja cultura și în același timp administra* îngrășăminte foliare și/sau regulatori de creștere;
- pentru a se *preveni formarea de rase rezistente* la pesticide.

Pentru ca două sau mai multe pesticide să fie aplicate în amestec acestea trebuie să fie compatibile fizic, chimic și biologic, adică:

- fizic: în amestec nu produc precipitate, aglomerări de particule, spumă persistentă, separare de faze, depuneri;
- chimic: nu reacționează între ele, adică nu pun în libertate compuși de degradare ai substanțelor active și variația în timp a pH-ului este neînsemnată;
- biologic: își păstrează eficacitatea inițială, nu produc efecte secundare (arsuri sau alte fenomene de fitotoxicitate).

Tabelul 9. Extras de catalog pentru câteva pesticide

Denumire	Utilizare	Toleranță	Formulă	Cod LMS	Alte denumiri
(2-naphthoxy) acetic acid	regulator de creștere	revocată, utilizare externă	$C_{12}H_{10}O_3$	334	9CI: (2-naphthalenyloxy)acetic acid ISO: (2-naphthyloxy) acetic acid Other: 2-naphthoxyacetic acid BNOA naphthoxyacetic acid, beta

2,3,6-TBA	erbicid	utilizare externă	$C_7H_3Cl_3O_2$	319	9CI: 2,3,6-trichlorobenzoic acid ISO: 2,3,6-TBA Other: trichlorobenzyl chloride metabolite Trade Benzac, Trysben, Zobar
2,4,5-T	erbicid	utilizare externă	$C_8H_5Cl_3O_3$	312	9CI: (2,4,5-trichlorophenoxy) acetic acid ISO: 2,4,5-T Trade: Weedone
2,4-D	erbicid, regulator de creștere	180.142, utilizare externă	$C_8H_6Cl_2O_3$	026	9CI: (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid ISO: 2,4-D Other: 2,4-DB metabolite Trade: Weed B Gon

De cele mai multe ori pentru a referi un pesticid nu se folosește denumirea științifică ci cea uzuală sau comercială. În acest caz sunt utile cataloagele de pesticide ce cuprind informații complete despre acestea, așa cum este cazul [83] care conține peste 1022 de pesticide din care am extras câteva pesticide (tabelul 9).

Compatibilitatea pesticidelor este prezentată de regulă în tabele. Cel mai simplu caz este al amestecurilor binare. Un exemplu de compatibilitate fizică și biologică a unor pesticide (insecticide cu erbicide) în amestec binar experimentate în protecția grâului este [84]:

Tabelul 10. Exemplu de interacțiune între insecticide și erbicide

Erbicide \ Insecticide	2,4-D (sare DMA 50 LS)	Icedin forte 33
Carbetox 37 CE	-	-
Sinatorox 35 CE	+	+
Onefon 80 PS	+	+
Clorofos	+	+

6.9. Biotehnologiile și Agricultură

6.9.1. Concepte specifice

Biotehnologiile constau în utilizarea bacteriilor, levurilor și celulelor animale și vegetale de cultură al căror metabolism și capacitate de biosinteză sunt orientate către fabricarea substanțelor specifice.

Aplicate pe scară largă, biotehnologiile cuprind activități industriale în cadrul cărora biotehnologiile pot înlocui tehnologiile folosite în mod curent și activitățile industriale în care biotehnologiile au un rol promotor esențial.

Utilizează biotehnologii industria chimică, sinteza substanțelor aromatice și de stimulare a gustului, producția maselor plastice și a produselor pentru industria textilă.

Sunt implementate biotehnologii în domeniul energiei la producția de etanol, metanol, biogaz și hidrogen, în domeniul biometalurgiei la extracția anumitor metale.

În industria alimentară regăsim biotehnologii la producția masivă de levuri, alge și bacterii în vederea furnizării proteinelor, aminoacizilor, vitaminelor și utilizarea enzimelor, iar în domeniul creșterii productivității agricole biotehnologii servesc la clonaj și selecție varietală pornind de la culturi de celule și țesuturi, fabricarea de bioinsecticide.

Industria farmaceutică utilizează biotehnologii la prepararea de vaccinuri, sinteza hormonilor, interferonilor și antibioticelor.

Nici protecția mediului nu lasă biotehnologiile în afara domeniului de preocupare. Astfel, ele se aplică la tratarea apelor uzate și transformarea resturilor menajere, compostarea și fabricarea compușilor biodegradabili.

În 1953, structura completă a unei proteine, insulina, era stabilită de Sanger, în timp ce Crick și Watson arătau că acidul dezoxiribonucleic (ADN) are o structură dublu elicoidală.

În 1963, Nirenberg a descifrat codul genetic al cărui caracter general se aplică de la bacterie până la om. Deveneau astfel accesibile mesajul ereditar și semnificația sa, și anume relația între codul genetic și structura proteinelor.

O a doua etapă a fost parcursă de-a lungul anilor '60 atunci când se determina în mod automat structura proteinelor, ca urmare a ameliorării tehnicilor de analiză ale lui Sanger și a metodelor de degradare ale lui Edman și Begg (1967).

Au fost apoi comercializate aparate capabile să determine secvența aminoacizilor proteinelor. În 1978 secvențele (structura primară) a peste 500 de proteine au fost în felul acesta stabilite și stocate pe ordinator sub forma unui atlas de proteine (Dayhoff și Erk, 1978).

După proteine, a venit rândul acizilor nucleici iar în 1976, Gilbert și Maxam de la *Universitatea Harvard* și Sanger au pus la punct o metodă rapidă de analiză chimică a ADN. Se puteau astfel determina secvențe de 1000 de nucleotide pe săptămână cu ajutorul unui manipulator (Gilbert, 1981). Au fost deci puse bazele lansării pe piață, între 1982 și 1985 a unei mașini automate de analiză a acizilor nucleici și a genelor. Ca urmare a analizei ADN se putea deduce grație codului genetic secvența proteinelor a căror sinteză este guvernată de gene.

Perfecționările aduse analizei proteinelor, datorate punerii la punct a microanalizatorului lui Hood și Hunkapiller, de la *Institutul de Tehnologie* din California, în 1980 permiteau stabilirea secvenței de 100 până la 200 de aminoacizi pe zi, pornind de la numai 10 ng de proteine.

După analiză, a treia etapă este sinteza. Studiile lui Merrifield (1963) au făcut posibilă construirea și comercializarea primelor mașini automate pentru sintetizarea polipeptidelor. Acestea sunt utilizate în laboratoarele de cercetare și în industria farmaceutică.

După ce determinase secvența și structura ARN-ului de transfer (ARN_t) al fenilalaninei, Khorana a reușit să sintetizeze între 1970 și 1972 ADN-ul (adică gena) corespunzătoare acestui ARN_t [85]. S-au făcut apoi progrese în sintetizarea genei precursorului ARN_t-ului tirozinei de *Esterichia coli* [86].

Itakura (*City of Hope National Medical Center*, Duarte, California) a reușit în 1977 și 1979 să sintetizeze genele somatostatinei și insulinei umane. Aceste gene au fost introduse în celulele de *Esterichia coli* prin tehnici de recombinare genetică puse la punct de Boyer (Genentech). Aceasta reprezintă prima expresie a genelor umane în celule bacteriene. În 1980, Itakura pune la punct primul asamblor de gene iar societatea *Bio-Logicals* din Toronto pune în vânzare o mașină capabilă să sintetizeze în 6 ore un dodecanucleotid cu ordinea dorită a nucleotidelor.

Sinteza de acizi nucleici s-a ameliorat rapid. Dacă în 1979 era nevoie de 2 ani pentru sintetizarea unei gene de 120 de nucleotide, în 1981 erau suficiente 3 zile.

Dayhoff de la *National Biomedical Research Foundation* din Washington a realizat un atlas al secvențelor de proteine pe ordinator, care în anul 1980 conținea peste 350000 de secvențe de gene (virusuri, bacterii, om) preluate din revistele științifice internaționale.

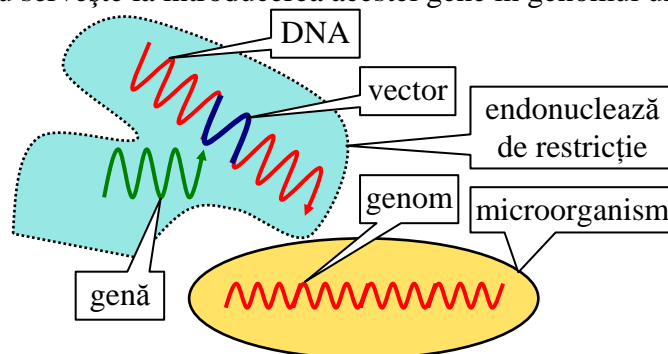
Progresele spectaculoase ale biologiei așa cum se exprimă ele în realizările ingineriei genetice sunt strâns legate de perfecționarea tehnicilor analitice ca ultracentrifugarea, marcarea moleculelor cu izotopi radioactivi, electroforeza, cromatografia de afinitate (de exemplu a tehnicii separării moleculelor complexe cu ajutorul anticorpilor monoclonali corespunzători), electrofocalizarea bidimensională (ce permite analiza a peste 50000 de proteine a unei celule), microanaliza.

S-au obținut succese notabile prin recombinare genetică, folosirea enzimelor, celulelor și organismelor imobilizate.

ADN recombinat sunt molecule de ADN sintetizate în afara celulelor vii prin legarea unor segmente de ADN natural sau sintetic cu molecule care pot să se replice într-o celulă vie. Principiul constă în a reuni un *ADN nativ* cu un *ADN străin* într-un vector care este un plasmid bacterian sau genom viral și a-l introduce apoi într-o celulă gazdă, unde se va putea înmulți. Rezultatul este un clon de *celule transformate*.

Unul dintre obiectivele biindustriei este de a avea la dispoziție celule transformate în stare să exprime mesajul genetic străin pe care ele l-au integrat și deci apte să producă molecule proteice specifice în cantitate mare [87].

Pentru descoperirea *enzimelor de restricție* în 1972 de către Arber, Smith și Nathans se acordă *Premiul Nobel* în 1978, marcând astfel importanța acestora în dezvoltarea biotehnologiilor. Aceste enzime secționează acidul dezoxiribonucleic (ADN) în situsuri specifice și ca urmare a caracterizării *ligazelor* care leagă fragmentele de ADN și *transcriptazei inverse* care sintetizează ADN-ul pornind de la *acidul ribonucleic (ARN) mesager*. Enzimele sau endonucleazele de restricție precum și ligazele sunt indispensabile operației de inserție a uneia sau mai multor gene în ADN-ul vector care la rândul său servește la introducerea acestei gene în genomul unui microorganism:



Ilustrarea mecanismului inserției de gene în microorganisme

Tehnica enzimelor imobilizate (vezi fig.) este folosită cu succes în producția penicinelor semisintetice, a fructozei plecând de la amidonul de porumb și în testele biochimice simple. Celulele sau organitele celulare imobilizate au avantajul că ele conțin secvențe complete de enzime indispensabile sintezei compușilor complecși [88].

La controlul genetic sunt implicate toate tipurile de *determinanți genetici* din genotip și toate tipurile de interacțiuni *aleice* și *genice* [89]. Astfel, sunt implicate *gene majore*, *gene minore* și *gene citoplasmice*.

6.9.2. Gene și Interacțiunile acestora

Genele majore (*mendeliene*) controlează caracteristici calitative, practic neinfluențate de condițiile de mediul de creștere al plantei. În controlul caracteristicilor calitative, genele majore pot manifesta:

- *acțiune monogenică, univocă (monotropă) sau pleiotropă iar relațiile intragenice heterozigote pot fi de:*
 1. *dominanță – recesivitate;*
 2. *semidominanță;*
 3. *codominanță;*
 4. *supradominanță.*
- *interacțiuni genice, digenice sau multigenice când se formează sisteme seriale de gene, independente sau legate și controlează etapele succesive dintr-o secvență metabolică pentru a produce o caracteristică particulară; relațiile intergenice pot fi:*
 1. *reciproce: complementaritatea, epistasia, genele duplicate, triplicate;*
 2. *inhibitoare: gene inhibitoare și gene supresori;*
 3. *modificatoare: gene intensificatori (plus modificatori), gene reducători (minus modificatori).*

Genele minore controlează caracteristici cantitative: productivitate, reproductibilitate, adaptabilitate (rata creșterii, mărimea și greutatea, capacitatea de a produce o anumită cantitate de

semințe, fructe, masă vegetativă, substanțe utile, densitatea pigmentației. Acțiunea genelor minore este mult influențată de condițiile de mediu.

Controlul caracteristicilor cantitative este realizat de 2 sau mai multe *gene minore nealele* care acționează în cadrul unor sisteme de gene numite *gene multiple*. Un sistem de gene multiple acționează asupra dezvoltării *unei singure caracteristici ereditare*, când efectele locilor minori individuali asupra fenotipului pot fi:

- *aditive*, când efectele asupra fenotipului sunt:
 1. *echivalente* sau *egale*;
 2. *isomeric* sau *polimeric*;
 3. *anisomeric* (*neechivalente* sau *neegale*);
- *antagonice* (*opozitionale*) când unele gene individuale din sistemul de gene multiple au o acțiune în opoziție negativă, scăzătoare comparativ cu alte gene din sistem care au o acțiune aditivă;
- *multiplicative* când acțiunile genelor individuale din sistemul de gene se combină intensificându-și sau diminuându-și reciproc activitatea;

Membrii sau locii sistemelor de gene multiple sunt independenți, fiind situați în *cromozomi nehomologi*. Ca urmare, aceste gene se comportă independent în *segregare*.

Dovada independenței genelor minore este fenomenul de *segregare transgresivă*.

Genele citoplasmatic (*plasmidele*) sunt secvențe de ADN din *plastide* (*plastogene*) și din *mitochondrii* (*mitogene*). Ele controlează procesele biochimice implicate în realizarea unei căi metabolice din dezvoltarea componentelor morfofiziologice ale producției sau însușirilor de adaptare. Acțiunea *plasmagenelor* poate fi:

- *autonomă* în realizarea funcțiilor proprii ale organitelor, pe baza acțiunii *plasmaalelelor* [90] și a interacțiunii unor plasmagene care concură sau interferează la formarea unei caracteristici citoplasmatic;
- *corelată*, în sisteme de gene nucleare și gene citoplasmatic care determină interacțiuni nucleo – citoplasmatic (genice – plasmagenice).

6.9.3 Informația Genetică

Molecula care stochează *informația genetică* este acidul dezoxiribonucleic (DNA) iar subunitățile sunt nucleotidele care îl compun [91]. Acestea sunt de 4 tipuri și conțin bazele azotate *adenină* (A), *guanină* (G), *citozină* (C) și *timină* (T) și într-o exprimare plastică sunt literele alfabetului cu care este scrisă informația genetică:



DNA și informația genetică

Dintre cei 64 de codoni care constituie codul genetic, 61 codifică cei 20 de aminoacizi ai moleculelor proteice, iar 3 sunt semnale stop, care marchează sfârșitul unei informații.

Codul genetic este universal, sistemul de codificare a informației genetice fiind același la toate viețuitoarele. Dar este însă și degenerat, pentru că există 61 de codoni și numai 20 de aminoacizi, adică mai mulți codoni codifică același aminoacid. DNA este singura moleculă *autoreplicativă* cunoscută. Ea este formată din 2 catene (lanțuri) polinucleotidice asociate conform principiului *complementarității*, secvența nucleotidelor dintr-o catenă dictând secvența nucleotidelor în cealaltă catenă. Astfel, adenina se leagă totdeauna cu timina iar citozina cu guanina. Rezultatul constă în formarea a două molecule noi alcătuite fiecare din câte o catenă veche (*matrița*) și o alta nou sintetizată. DNA este o *moleculă informațională*, complementaritatea făcând posibilă *conservarea, copierea și transmiterea informației* la celulele fiice rezultate din diviziunea celulară. Când DNA se replică, cele două catene ale sale se separă și servesc ca matrițe pentru sintetizarea unor *catene complementare*. Moleculele noi care vor conține *aceeași informație* deoarece

sucesiunea identică a bazelor (literelor) va forma întotdeauna aceeași codoni (cuvinte) care vor constitui aceeași genă (propoziție) așa cum se exemplifică în figura de mai jos.

A doua poziție

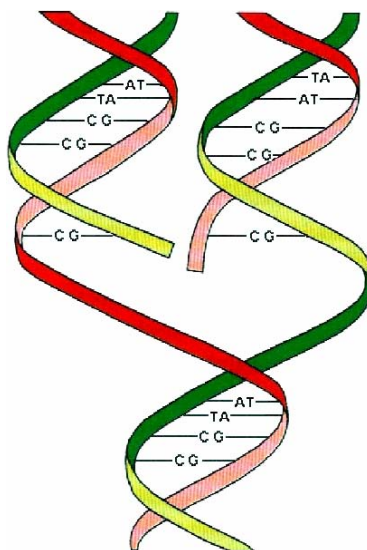
		U	C	A	G	
Prima poziție	U	UUU } Fen.	UCU } Ser.	UAU } Tir.	UGU } Cis.	U
		UUC } Fen.	UCC } Ser.	UAC } Tir.	UGC } Cis.	C
		UUA } Leu.	UCA } Ser.	UAA } Stop	UGA Stop	A
		UUG } Leu.	UCG } Ser.	UAG } Stop	UGG Trp	G
C	CUU } Leu.	CCU } Pro.	CAU } His.	CGU } Arg	U	
	CUC } Leu.	CCC } Pro.	CAC } His.	CGC } Arg	C	
	CUA } Leu.	CCA } Pro.	CAA } Gln.	CGA } Arg	A	
	CUG } Leu.	CCG } Pro.	CAG } Gln.	CGG } Arg	G	
A	AUU } Ile.	ACU } Trn	AAU } Asn	AGU } Ser	U	
	AUC } Ile.	ACC } Trn	AAC } Asn	AGC } Ser	C	
	AUA } Ile.	ACA } Trn	AAA } Liz	AGA } Arg.	A	
	AUG Met.	ACG } Trn	AAG } Liz	AGG } Arg.	G	
G	GUU } Val.	GCU } Ala.	GAU } Asp.	GGU } Gli.	U	
	GUC } Val.	GCC } Ala.	GAC } Asp.	GGC } Gli.	C	
	GUA } Val.	GCA } Ala.	GAA } Glu.	GGA } Gli.	A	
	GUG } Val.	GCG } Ala.	GAG } Glu.	GGG } Gli.	G	

A treia poziție

Codul genetic al ARNm

Legendă:

Fen – fenilamină; Leu – leucină; Ser – serină; Cis – cisteină; Tir – tirozină; Trp – triptifan; Pro – prolină; His – histidină; Gli – glicină; Arg – arginină; Ile – izoleucină; Met – metionină; Trn – treonină; Glu – glutamină; Liz – lizină; Val – valină; Ala – alanină; Asp – acid aspartic; Asn – asparagină.



Replicarea codului DNA

6.9.4. Mutageneza rezistenței la erbicide și insecte

Principalul obiectiv al agricultorilor este obținerea de producții mari și de calitate, prin valorificarea deplină a potențialului plantelor cultivate și a resurselor pedoclimatice [92]. Aceasta presupune, nu în ultimul rând eliminarea concurenței buruienilor. În consecință, erbicidarea a

devenit o practică curentă în agricultura convențională. *Toleranța* speciilor cultivate la erbicide nu este un caracter nou, marea majoritate a erbicidelor fiind concepute astfel încât să distrugă numai anumite plante. Astfel, există erbicide care se folosesc în culturile de cereale și acestea distrug buruienile dicotiledonate. Alte erbicide sunt aplicate în cultura speciilor cu frunza lată, când distrug buruienile monocotiledonate. Cazuri de toleranță a unor specii cultivate sau sălbatice la erbicide au apărut uneori în mod spontan, sub presiunea tratamentelor, caz în care s-a efectuat o selecție naturală. *Amelioratorii* uneori obțin soiuri de plante tolerante la anumite principii active erbicide prin metode care nu implică manipularea genetică. Logic, nu este nici un motiv să se creadă că toleranța la erbicide ar avea un *impact* mai mic asupra mediului dacă este apărută în mod spontan sau dacă este obținută prin *metode de ameliorare* decât atunci când este rezultatul unor manipulări genetice. *Plantele de interes economic* tolerante la erbicide sunt aflate deja în culturi comerciale ce se întind pe milioane de hectare, în diverse țări. În România sunt înregistrate la *Institutul de Stat pentru Testare și Înregistrarea Soiurilor*:

- soia Round Ready™, produsă de compania Monsanto;
- hibridii de porumb Liberty Link™, produși de compania Pioneer.

Varietăți transgenice de porumb, cartof și bumbac rezistente la atacurile unor dăunători ocupă deja suprafețe foarte mari de teren în culturi comerciale. Rezistența la atacurile insectelor fitofage este obținută prin intermediul unor gene obținute de la *Bacillus thuringiensis* (Bt) [93]. Construcțiile genetice sunt mărci înregistrate (®). Compania Monsanto comercializează porumb Bt sub denumirea YieldGard®, cartof Bt sub denumirea NewLeaf® și bumbac Bt sub denumirea BollGard®, în timp ce compania Pioneer comercializează porumb Bt sub denumirea MaisGard® iar compania Novartis comercializează linii de porumb sub denumirea de KnockOut® și YieldGard®.

Comaniile urmăresc o valorificare cât mai largă a construcțiilor genetice pe care le posedă prin realizarea de varietăți transgenice la cât mai multe specii în cadrul firmelor producătoare de semințe pe care le controlează sau prin *concesionarea* licențelor de utilizare unor terțe firme din cât mai multe țări. Principalul avantaj al cultivării plantelor rezistente la atacul unor dăunători constă în reducerea consumului de insecticide, benefică pentru calitatea producției agricole, mediu și conservarea biodiversității. Absolut specifice endotoxinele Bt nu ar trebui să aibă nici un efect asupra polenizatorilor (bondari, albine) sau altor insecte nevizate (prădători și paraziți ai dăunătorilor) care ajung în culturile plantelor transgenice [94]. Evident însă că acest risc trebuie practic evaluat de la caz la caz [95].

În România sunt înregistrate la ISTIS și au primit aprobarea pentru introducerea deliberată în mediu cartoful NewLeaf, rezistent la atacul gândacului de Colorado și liniile de hibridi de porumb MaisGard și YieldGard rezistente la sfredelitorul porumbului.

Anexa. Dicționar de Termeni Tehnici Englez – Român

Cuvintele prezentate în această secțiune au fost folosite pentru a exprima termenii tehnici din engleza americană în română pe parcursul studiului bibliografic care a făcut obiectul prezentei lucrări. Sunt prezentați termenii cu semnificații variate în dicționarele uzuale și a căror conotație contextuală a făcut atribuirile de față. De asemenea, o serie de termeni nu sunt prezenți în dicționarele englez – român uzuale și a fost necesară folosirea de surse alternative, cum ar fi baza de date de sinonime a programului *Microsoft Word XP*⁷ (Microsoft®), motorul de căutare Google⁸, *The American Heritage® Dictionary of the English Language: Fourth Edition (2000)*⁹, Translatorul Online *WorldLingo®* (WorldLingo Inc.)¹⁰ dicționarul de neologisme al limbii române și diferite alte surse de termeni tehnici, cum ar fi glosarul de microbiologie întreținut de firma Dyer Laboratories Inc.¹¹.

⁷ <http://www.microsoft.com>

⁸ <http://www.google.com>

⁹ <http://www.bartleby.com/61>

¹⁰ <http://www.worldlingo.com>

¹¹ <http://www.dyerlabs.com/glossary/microbiology>

Dicționar de termeni tehnici englez (american) – român

aphids	afide
bait	ademenitor
bare	suprateran
barley	orz
beetle	gândac
bin loader	încărcător
blight	tăiere
blossom	înflorire
broadleaf	frunză mare
broad-spectrum	spectru larg
bruising	lovirea
burlap	mase plastice
chlorosis	îngălbenire
clots	coagulat
conveyor	transportor
cooked	copt
crop	recoltă
decay	îmbătrânire
dried	umed
drop	oprirea
feedback	reacție inversă
fermentor	vas de fermentare
flamer	arzător
flea	purice
frost	îngheț
fumigation	ardere
greening	înverzire
handling	manipulare
harvesting	recoltare
hilling	movilire
impeller	agitator (mecanic)
injury	stricăciune
issue of scale	scara la care se practică
leafhopper	purici de frunze
malt	maț
marsh	mal
mist	pulbere
moisture	noroios
organelles	organite
pilus	perișor
racking	separarea vinului de drojdie (pritocire)
ragellum	racem
reared	crescut
residual	instalare
rot	putrezire
scale-up	trecere de la laborator la producție
seed	sămânță
seedling	puiet
shout	răsărire

slime	noroi
slug	limax
spore	spori
sprout	vegetație
stain	marker
starch	amidon
strain	conformație
strain	descendent
vacuum	aspirator
vine	tulpină
vinegar	oțet
weed	buruiană
yeast	drojdie

Referințe

- [1] Unguresan Mihaela, Delia Dicu, Lorentz Jäntschi, Desulfuration of Gases. Chemical Methods, Oradea University Annals, Chemistry Fascicle, 2001, VIII, 19-24, ISSN 1224-7626.
- [2] Atanasova P., Lopez R., Palacios J., Agudo A., Journal of Catalysis, 328-338, 1999.
- [3] Manahan S. E., Environmental Chemistry, 327-336, 1992.
- [4] E. Meléndez-Hevia, R. Meléndez and E. I. Canela, *Glycogen Structure: an Evolutionary View*, p. 319–326 in *Technological and Medical Implications of Metabolic Control Analysis*, ed. A. Cornish-Bowden and M. L. Cárdenas, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2000.
- [5] Harvey Lodish, Arnold Berk, Lawrence S. Zipursky, Paul Matsudaira, David Baltimore, James Darnell, *Molecular Cell Biology (Fourth Edition)*, W. H. Freeman and Company, New York (USA) and Houndsmills (UK), ISBN 0-7167-3136-3.
- [6] German C. R., Parson L. M. and Mills R. A., *Mid-Ocean Ridges and Hydrothermal Activity*, 152-164, in *Oceanography*, Eds. C. P. Summerhayes and S. A. Thorpe, John Wiley & Sons, New York, 1996.
- [7] Maksym Nikonorow, *Pesticidele în lumina toxicologiei mediului*, Praca zbiorowa, Varșovia, 1979.
- [8] Robert D. Hall, *Effects of Climate Change on Soils in Glacial Deposits, Wind River Basin, Wyoming*, Quaternary Research, Vol. 51, No. 3, p. 248-261, May 1999.
- [9] H. H. Cramer, *Plant protection and world crop production*, Pflanzenschutz-Nahr., Berlin, 1, 1, 1967.
- [10] Barry L. Johnson and Christopher T. De Rosa, *Public Health Implications*, Environmental Research Section A, 80, S246–S248, 1999.
- [11] Z. A. Rosemond, C. T. De Rosa, W. Cibulas, and H. E. Hicks, *Proceedings of the Great Lakes Human Health Effects Research Symposium*, Toxicol. Ind. Health, 12(3/4), 814-823, 1996.
- [12] M. J. DeVito, L. S. Birnbaum, W. H. Farland, and T. A. Gaslewicz, *Comparisons of estimated human body burdens of dioxin-like chemicals and TCDD body burdens in experimentally exposed animals*, Environ. Health Perspect, 103(9), 820–831, 1995.
- [13] S. L. Schantz, A. M. Sweeney, J. C. Gardiner, *Neuropsychological assessment of an aging population of Great Lakes fish eaters*, Toxicol. Ind. Health, 12(3/4), 403–417, 1996.
- [14] T. Darvill, E. Lonky, J. Reihman, and P. Stewart, *Effect of recency of maternal consumption of Lake Ontario sport fish on neonatal coping behavior and infant temperament*, Environ. Res., 81(3), S316-326, 1999.
- [15] J. A. Dellinger, S. L. Gerstenberger, L. K. Hansen, and L. L. Malek, *Ojibwa health study: Assessing the health risks from consuming contaminated Great Lakes fish*, Environ. Res., 83(5), S514-S520, 1999.

- [16] J. E. Vena, G. M. Buck, P. Kostyniak, *The New York Angler Cohort Study: Exposure characterization and reproductive and developmental health*, Toxicol. Ind. Health, 12(3/4), 327–334, 1996.
- [17] M. Gilbertson, *Guest commentary*. Great Lakes Res. Rev., 1(2), 3–4, 1995.
- [18] M. Berry, and F. Bove, *Birth weight reduction associated with residence near a hazardous waste landfill*, Environ. Health Perspect., 105(8), 856–861, 1997.
- [19] L. A. Croen, G. M. Shaw, L. Sanbonmatsu, S. Selvin, P. A. Buffler, *Maternal residential proximity to hazardous waste sites and risk for elected congenital malformations*, Epidemiology, 8(4), 347–354, 1997.
- [20] B. L. Johnson, *Hazardous waste: Human health effects*, J. Clean Tech. Environ. Tox. Occupat. Med., 7, 351–375, 1998.
- [21] J. F. Robens, *Teratologic Studies of Carbaryl, Diazinon, Norea, Disulfiram and Thiram in Small Laboratory Animals*, Toxicol. Appl. Pharmacol., 15, 152-156, 1970.
- [22] ***, *Report of the secretary's commission on pesticides and their relationship to environmental health*, U. S. Dept. of Health Education and Welfare, 1969.
- [23] G. T. Brooks, T. R. Roberts, *Pesticide Chemistry and BioScience: The Food-Environment Challenge*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K., 438 p., 1999, ISBN 0-85404-709-3.
- [24] ***, *1995/1996 HP Environmental Solutions Catalog*.
- [25] Costel Sârbu, Lorentz Jäntschi, *Validarea și Evaluarea Statistică a Metodelor Analitice prin Studii Comparative. I. Validarea Metodelor Analitice folosind Analiza de Regresie*, Revista de Chimie, București, p. 19-24, 49(1), 1998.
- [26] A. Garrido Frenich, J. L. Martínez Vidal, and M. Martínez Galera, *Use of the Cross-Section Technique Linked with Multivariate Calibration Methods To Resolve Complex Pesticide Mixtures*, Anal. Chem., 71, p. 4844-4850, 1999.
- [27] Lorentz Jäntschi, *Predicția proprietăților fizico-chimice și biologice cu ajutorul descriptorilor matematici*, Teză de doctorat, Univ. "Babeș-Bolyai" Cluj-Napoca, 2000.
- [28] Claudia Cimpoiu, Lorentz Jäntschi, Teodor Hodișan, *A New Method for Mobile Phase Optimization in High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)*, Journal of Planar Chromatography, 11(May/June), p. 191-194, 1998.
- [29] Claudia Cimpoiu, Lorentz Jäntschi, Teodor Hodișan, *A New Mathematical Model for the Optimization of the Mobile Phase Composition in HPTLC and the Comparison with Other Models*, J. Liq. Chrom. & Rel. Technol., 22(10), p. 1429-1441, 1999.
- [30] Lorentz Jäntschi, Simona Mureșan, Mircea Diudea, *Modeling molar refraction and chromatographic retention by Szegeged indices*, Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Chemia, XLV, 1-2, 313-319, 2000.
- [31] Diudea Mircea, Gutman Ivan, Jäntschi Lorentz, *Molecular Topology*, Nova Science, Huntington, New York, 332 p., 2001, ISBN 1-56072-957-0, <http://www.nexusworld.com/nova/1271.htm>.
- [32] Ivan Gutman, *A Formula for the Wiener Number of Trees and Its Extension to Graphs Containing Cycles*, Graph Theory Notes of New York, 27, p. 9-15, 1994.
- [33] Mircea Diudea, Bazil Pârv, Mihai Topan, *Derived Szegeged and Cluj Indices*, J. Serb. Chem. Soc., 62, 235-239, 1997.
- [34] Diudea Mircea (Ed.), *QSAR/QSPR Studies by Molecular Descriptors*, Nova Science, Huntington, New York, 438 p., 2001.
- [35] Mircea Diudea, Lorentz Jäntschi, Ovidiu Ivanciuc, L. Pejov, D. Plavšić, D. Vikić-Topić, *Topological Substituent Descriptors*, Croat. Chem. Acta., submitted, 2001.
- [36] M. Filizola, G. Rosell, A. Guerrero, J. J. Pérez, *Conformational Requirements for Inhibition of the Pheromone Catabolism in Spodoptera Littoralis*, QSAR, 17(3), 205-210, 1998.
- [37] E. Lozoya, M. Berges, J. Rodríguez, F. Sanz, M. I. Loza, V. M. Moldes, C. F. Masauer, *Comparison of Electrostatic Similarity Approaches Applied to a Series of Kentaserin Analogues with 5-HT_{2A} Antagonistic Activity*, QSAR, 17(3), 199-204, 1998.

- [38] D. A. Winkler, F. R. Burden, *Holographic QSAR of Benzodiazepines*, QSAR, 17(3), 224-231, 1998.
- [39] D. A. Wikler, F. R. Burden, A. J. R. Watkins, *Atomistic Topological Indices Applied to Benzodiazepines using Various Regression Methods*, QSAR, 17(1), 14-19, 1998.
- [40] Jackson State University, *Sixth Conference on Current Trends On Computational Chemistry*, Vicksburg, Mississippi, Nov 7-8, 2-178, 1997.
- [41] J. H. Wikel, E. R. Dow, M. Heathman, *Interpretative Neural Networks for QSAR*, Network Science, 1996, Jan, <http://www.netsci.org/Science/Combichem/feature02.html>.
- [42] Valery Golender, Boris Vesterman, Erich Vorpapel; *APEX-3D Expert System for Drug Design*, Network Science, <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature09.html>.
- [43] P. Zbinden, M. Dobler, G. Folkers, A. Vedani, *PrGen: Pseudoreceptor Modeling Using Receptor-mediated Ligand Alignment and Pharmacophore Equilibration*, QSAR, 17(2), 122-130, 1998.
- [44] R. D. Cramer III, D. E. Patterson, J. D. Bunce, *Comparative Molecular Field Analysis (COMFA). 1. Effect of Shape on Binding of Steroids to Carrier Proteins*, J. Am. Chem. Soc., 110(18), 5959-67, 1988.
- [45] Simon Seamus, *CoMFA: A Field of Dreams?*, Nova Science, Jan, <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature11.html>, 1996.
- [46] ***, *Unity Program for SIMCA (Soft Independent Modeling Class Analogy)*, Tripos Associates, St. Louis, MO.
- [47] Alfred Merz, Didier Rognan, Gerd Folkers, *3D QSAR Study of N2-phenylguanines as Inhibitors of Herpes Simplex Virus Thymide Kinase*, Antiviral and Antitumor Research, <http://www.pharma.ethz.ch/text/research/tk/qsar.html>.
- [48] P. E. Gurba, M. E. Parham, J. R. Voltano, *Comparison of QSAR Models Developed for Acute Oral Toxicity (LD₅₀) by Regression and Neural Network Techniques*, Conference on Computational Methods in Toxicology – April, 1998, Holiday Inn/I-675, Dayton, Ohio, USA, abstract available at <http://www.ccl.net/ccl/toxicology/abstracts/abs9.html>.
- [49] ***, *HyperChem*, Molecular Modelling System, Hypercube Inc.
- [50] ***, *Molconn-Z*, <http://www.eslc.vabiotech.com/molconn>.
- [51] C. L. Waller, S. D. Wyrick, H. M. Park, W. E. Kemp, F. T. Smith, *Conformational Analysis, Molecular Modeling, and Quantitative Structure-Activity Relationship Studies of Agents for the Inhibition of Astrocytic Chloride Transport*, Pharm. Res., 11(1), 47-53, 1994.
- [52] J. P. Horwitz, I. Massova, T. Wiese, J. Wozniak, T. H. Corbett, J. S. Sebolt-Leopold, D. B. Capps, W. R. Leopold, *Comparative Molecular Field Analysis of in Vitro Growth Inhibition of L1210 and HCT-8 Cells by Some Pyrazoloacridines*, J. Med. Chem., 36(23), 3511-3516, 1993.
- [53] G. B. McGaughey, R. E. Mewshaw, *Molecular Modeling and the Design of Dopamine D₂ Partial Agonists*, (presented at the Charleston Conference; march; 1998), submitted may 1998, Network Science, <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature20.html>.
- [54] H. Chuman, M. Karasawa, T. Fujita, *A Novel Three-Dimensional QSAR Procedure: Voronoi Field Analysis*, QSAR, 17(4), 313-326, 1998.
- [55] C. L. Walter, G. E. Kellogg, *Adding Chemical Information of CoMFA Models with Alternative 3D QSAR Fields*, Network Science, <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature10.htm>, Jan, 1996.
- [56] A. Merz, D. Rognan, G. Folkers, *3D QSAR Study of N2-phenylguanines as Inhibitors of Herpes Simplex Virus Thymide Kinase*, Antiviral and Antitumoral Research, <http://www.pharma.ethz.ch/text/research/tk/qsar.html>.
- [57] G. E. Kellogg, S. F. Semus, D. J. Abraham, *HINT: a new method of empirical hydrophobic field calculation for CoMFA*, J. Comput.-Aided Mol. Des., 5(6), 545-552, 1991.
- [58] A. M. Myers, P. S. Charifson, C. E. Owens, N. S. Kula, A. T. McPhail, R. J. Baldessarini, R. G. Booth, S. D. Wyrick, *Conformational Analysis, Pharmacophore Identification, and Comparative*

Molecular Field Analysis of Ligands for the Neuromodulatory .sigma.3 Receptor, J. Med. Chem., 37(24), 4109-4117, 1994.

[59] K. H. Kim, *Use of the hydrogen-bond potential function in comparative molecular field analysis (CoMFA): An extension of CoMFA*, Quant. Struct. Act. Relat., 12, 232-238, 1993.

[60] G. L. Durst, *Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) of Herbicidal Protoporphyrinogen Oxidase Inhibitors using Standard Steric and Electrostatic Fields and an Alternative LUMO Field*, Quant. Struct. Act. Relat., 17, 419-426, 1998.

[61] C.L. Waller, G. R. Marshall, *Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship of Angiotensin-Converting Enzyme and Thermolysin Inhibitors. II. A Comparison of CoMFA Models Incorporating Molecular Orbital Fields and Desolvation Free Energy Based on Active-Analog and Complementary-Receptor-Field Alignment Rules*, J. Med. Chem., 36, 2390-2403, 1993.

[62] M. Wiese, I. L. Pajeva, *A Comparative Molecular Field Analysis of Propafenone-type Modulators of Cancer Multidrug Resistance*, Quant. Struct.-Act. Relat., 17(4), 301-312, 1998.

[63] G. Klebe; U. Abraham, *On the Prediction of Binding Properties of Drug Molecules by Comparative Molecular Field Analysis*, J. Med. Chem., 36(1), 70-80, 1993.

[64] K.-H. A. Czaplinski, G. L. Grunewald, *A Comparative Molecular Field Analysis Derived Model of Binding of Taxol Analogs to Microtubes*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 4(18), 2211-2216, 1994.

[65] T. Akagi, *Exhaustive Conformational Searches for Superimposition and Three-Dimensional Drug Design of Pyrethroids*, QSAR, 17(6), 565-570, 1998.

[66] C. L. Waller, T. I. Oprea, A. Giolitti, G. R. Marshall; *Three-Dimensional QSAR of Human Immunodeficiency Virus. (I) Protease Inhibitors. 1. A determined Alignment Rules*, J. Med. Chem., 36(26), 4152-4160, 1993.

[67] E. Thompson, *The Use of Substructure Search and Relational Databases for Examining the Carcinogenic Potential of Chemicals*, Conference on Computational Methods in Toxicology – April, 1998, Holiday Inn/I-675, Dayton, Ohio, USA, abstract available at <http://www.ccl.net/ccl/toxicology/abstracts/tabs6.html>.

[68] R. Todeschini, M. Lasagni, E. Marengo, *New Molecular Descriptors for 2D and 3D Structures. Theory*, J. Chemometrics, 8, 263-272, 1994.

[69] R. Todeschini, P. Gramatica, R. Provenzani, E. Marengo, *Weighted Holistic Invariant Molecular (WHIM) descriptors. Part2. Their Development and Application on Modeling Physico-chemical Properties of Polyaromatic Hydrocarbons; Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 27, 221-229, 1995.

[70] R. Todeschini, M. Vighi, R. Provenzani, A. Finizio, P. Gramatica, *Modeling and Prediction by Using WHIM Descriptors in QSAR Studies: Toxicity of Heterogeneous Chemicals on Daphnia Magna*, Chemosphere, 8; 1527-1533, 1996.

[71] A. Zaliani, E. Gancia, *MS-WHIM Scores for Amino Acids: A New 3D-Description for Peptide QSAR and QSPR Studies*, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 39(3), 525-533, 1999.

[72] G. Bravi, E. Gancia, P. Mascagni, M. Pegna, R. Todeschini, A. Zaliani, *MS-WHIM. New 3D Theoretical Descriptors Derived from Molecular Surface Properties: A Comparative 3D QSAR Study in a Series of Steroids*, J. Comput.-Aided Mol. Des., 11, 79-92, 1997.

[73] Sonia Nikolić, M. Medić-Sarić, J. Matijević-Sosa, *A QSAR Study of 3-(Phtalimidoalkyl)-pyrazolyn-5-ones*, Croat. Chem. Acta, 66, 151-160, 1993.

[74] L. L. Thurstone, *Multiple Factor Analysis*, Psychological Review, 38, 406-427, 1931.

[75] L. L. Thurstone, *Multiple Factor Analysis*, University Chicago Press, Chicago, 1947.

[76] Milan Randić, *Search for Optimal Molecular Descriptors*, Croat. Chem. Acta, 64, 43-54, 1991.

[77] Milan Randić, *Resolution of Ambiguities in Structure Property Studies by Use of Orthogonal Descriptors*, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 31, 311-320, 1991.

[78] Lorentz Jäntschi, Romeo Chira, *Chimia și Biochimia Poluanților. Lucrări practice*, U. T. Pres, 2000, ISBN 973-9471-46-3.

- [79] Dorina Opris, Mircea Diudea, *Peptide Property Modeling by Cluj Indices*, SAR/QSAR Environ. Res., 12, 159-179, 2001.
- [80] Lorentz Jäntschi, Gabriel Katona, Diudea Mircea, *Modeling Molecular Properties by Cluj Indices*, Comun. Math. Comp. Chem., 41, 151-188, 2000, ISSN 0340-6253, Bayreuth, Germany.
- [81] P.I. Nagy, J. Tokarski, A. J. Hopfinger, *Molecular shape and QSAR analysis of a family of substituted dichlorodiphenyl aromatase inhibitors*, J. Chem. Inf. Comput. Chem., 1994, 34, 1190-1197.
- [82] ***, *Date obținute prin amabilitatea Ministerului Agriculturii din Canada*, PDF, http source.
- [83] Bernadette McMahon, Ann Marie Poulsen, John J. Jennings, Jr., Carolyn Makov, *Glosary of Pesticide Chemicals*, FDA Division of Pesticides and Industrial Chemicals, HFS-337, 200 C Street SW, Washington, U.S.A., PDF http source, Creator: Adobe for Macintosh, Version: October 2001.
- [84] A. Pușcașu, M. Baltac, Al. Al. Alexandri, T. Baicu, I. Mirică, M. Costache, *Compatibilitatea Pesticidelor*, Ministerul Agriculturii, București, 1987.
- [85] H. G. Khorana, *Total synthesis of a gene*, Science, Washington, 203, 4381, 614-625, 1979.
- [86] R. Téoule, *Les gènes artificiels*, La recherche, Paris, 13, 131, 340-347, 1982.
- [87] J. Abelson, E. Butz, *Recombinant DNA*, Science, Washington, 209, 4463, 1317-1438, 1980.
- [88] A. Sasson, *Biotehnologiile: sfidare și promisiuni*, Ed. Tehnică, București, 1988, după *Les biotechnologies: Défis et promesses*, Presses Universitaires de France, Vendôme, UNESCO, 1983.
- [89] T. Crăciun, *Geniul Genetic și Ameliorarea Plantelor*, Ed. Ceres, Craiova, 1987.
- [90] T. Crăciun, M. Pătrașcu, *Perspective de utilizare a culturilor de celule și a protoplaștilor*, Lucările celui de-al doilea Simpozion de Genetică, Piatra Neamț, 1979.
- [91] V. Diaconu, *Plante transgenice*, Raport al Comisiei Naționale Pentru Securitate Biologică, București, 2000.
- [92] H. G. Baker, *The evolution of weeds*, Ann. Rev. of Ecol. and System, 5, 1-24, 1974.
- [93] J. L. Dunwell, *Transgenic crops: the next generation, or an example of 2020 vision*, Ann. of Bot., 84, 269-277, 1999.
- [94] J. L. Tynan, M. K. Williams, A. J. Conner, *Low frequency of pollen dispersal from a field of transgenic potatoes*, J. of Genet. and Breed., 44, 303-306, 1990.
- [95] P. J. Dale, *The release of transgenic plants into agriculture*, J. of Agric. Sci., 120, 1-5, 1993.

Editura AcademicDirect

<http://ph.academicdirect.ro>

Colectia Didactica

ISBN 973-86211-8-6