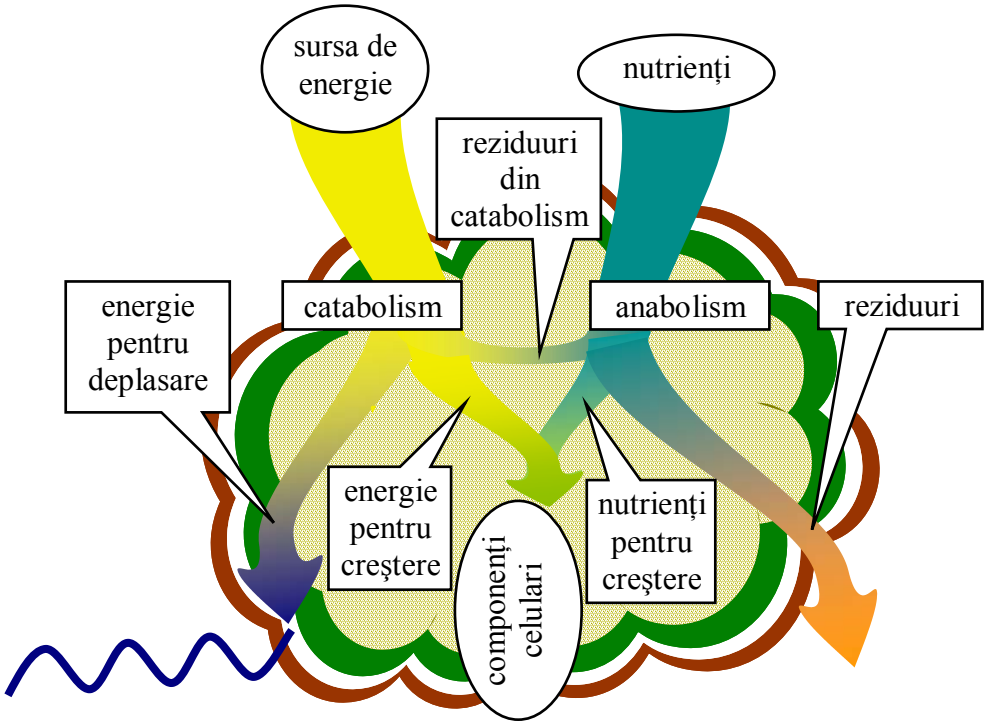
Lorentz JÄNTSCHI

Microbiologie, Toxicologie şi Studii Fitosanitare



Editura *AcademicDirect*

2005

Lorentz JÄNTSCHI

Născut la 8 Ianuarie 1973 în Făgăraş, Braşov.
Absolvent în anul 1991 al Liceului Teoretic *Radu Negru* Făgăraş al secției cu profil *Mecanic*, Licențiat în *Informatică* (1995), *Chimie şi Fizică* (1997), Doctor în *Ştiințe Exacte*, Specializarea *Chimie Organică şi Computațională* (2000) la Universitatea Babeş-Bolyai Cluj-Napoca, Master în Ameliorarea Plantelor şi Controlul Calității Semințelor şi Materialului Săditor la Universitatea de Ştiințe Agricole şi Medicină Veterinară din Cluj-Napoca (2002). Şef 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 Şef: 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, şi Studii Fitosanitare* este organizată pe trei secțiuni, aşa cum rezultă de altfel şi din titlu.

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

Progresul realizat în ultimii 100 de ani, când practic s-au clădit aceaste discipline, justifică pe deplin apariția acestui material, care face o sinteză a celor mai noi tehnologii şi 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 şi 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 „Babeş-Bolyai" din Cluj-Napoca în anul 2000 şi de Masterat în Inginerie Agricolă susținută la Universitatea de Ştiințe Agricole şi 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 şi Studii Fitosanitare. In anexa lucrării este redat un mic (62 de termeni) dicționar englez-român de termeni tehnici specifici domeniului tratat, pe care autorul i-a cules şi 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 şi Biosfera 9
   2.3. Migrarea Elementelor 10
   2.4. Circuitul Substanţelor în Natură 10
   2.5. Ciclurile Biogeochimice 11
   2.6. Biocenoza 12
   2.7. Ecologia Omului 12
3. Microbiologie 17
   3.1. Microbiologia şi Biologia Celulară 17
   3.2. Legăturile Chimice 19
   3.3. Biologia Celulei 26
   3.4. Genetică şi 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 Informaţiei 42
   4.4. Proteine 42
   4.5. Metode de Analiză a Proteinelor 43
   4.6. Carbohidraţi 45
5. Toxicologie 46
   5.1. Imunologie 46
   5.2. Imunologie Clinică şi 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. Proprietăţile 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 şi Agricultura 64
7. Anexa. Dicţionar de Termeni Tehnici Englez-Român 69
8. Referinţe 71

1. Introducere

1.1. Organismul şi Mediul

Organismele întreţin un schimb permanent cu mediul înconjurător iar legităţile ce apar la interacţiunea organismelor cu mediul sunt studiate de ecologie.

Elementele mediului înconjurător care exercită o anumită acţiune asupra organismelor sunt numite factori de mediu: *abiotici*, *biotici* şi *antropogeni* (ţin de particularităţile mediului, prezenţa omului şi activitatea lui de muncă).

Unii dintre factori au importanţă vitală; aceştia sunt *factori limită*.

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

- forma corpului le permite anumitor organisme deplasarea în apă, aer, sol;
- *compoziţia chimică* a mediului este un factor determinant, şi anume există plante care cresc cu predilecţie pe soluri saline iar altele au nevoie de foarte multă apă;
- *temperatura* mediului determină existenţa vieţii şi anume avem plante tropicale, plante de climă temperată şi plante care cresc la temperaturi scăzute (diferiţi arbuşti);

La acţiunea acestor *factori limită* fiecare specie îşi are limitele extreme ale toleranţei (minim, maxim, şi optim). De exemplu ouăle de ascaridă au toleranţa de 12ºC (minim), 40ºC (maxim) şi optim la 25ºC, alga arctică *Sphaerella nivalis* poate creşte la temperatura de 34ºC iar alte alge cianofile viețuiesc în apa ghezerelor au temperatura de 85 sau mai mult.

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

Dintre speciile euritermice se pot menţiona animalele de apă dulce care suportă atât îngheţarea bazinului şi încălzirea la 41ºC-44ºC.

Relativ la comportarea organismelor faţă 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 condiţie necesară, deşi accelerează procesul de dezvoltare în timp ce oul unor specii de moluşte se segmentează numai la întuneric, şi lumina frânează acest proces.

Prezenţa oxigenului pentru organismele aerobe e condiţia obligatorie de existenţă în timp ce pentru cele anaerobe este obligatorie lipsa lui.

Atitudinea faţă de condiţiile externe se poate schima la unul şi acelaşi organism în cursul existenţei sale: ouăle de ascaridă pentru dezvoltare necesită oxigen, însă pentru ascarida matură el este toxic iar larvele ţânţarilor se dezvoltă în apă iar ţânţarii maturi (imago) trăiesc pe uscat.

Temperatura la care se desfăşoare procesele activităţii vitale la majoritatea organismelor este în limitele de la 40ºC la 45ºC şi aşa se explică caracterul sărăcăcios al vieţii în regiunile arctice şi în condiţii aride.

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

Supravieţuirea la condiţii nefavorabile (reducerea umidităţii, temperatura înaltă sau joasă, lipsa hranei) la unele organisme are ca manifestare amorţirea (imobilitate, încetarea alimentării, încetinirea schimbului de gaze, scăderea bruscă a altor procese fiziologice).

Astfel, temperatura ce provoacă amorţirea se întâlneşte la unele insecte, peşti şi amfibii la care amorţirea se instalează la coborârea temperaturii mai jos de +15ºC, la altele la +10ºC iar la unele doar în jurul lui 0ºC. Alte animale în stare de amorţire îngheaţă şi la dezgheţare se reîntorc la activitatea vitală.

Cea mai profundă amorţire 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 vieţii şi se

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

Factorii biotici ai mediului stabilesc relații *interspecifice* şi *intraspecifice* care sunt exprimate prin *legături de nutriție* (*lanțurile trofice*), *concurență*, *antibioză* şi *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 şi formarea compuşilor 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 şi numai o parte din ea este folosită la construirea protoplasmei. Mai departe, animalele răpitoare se hrănesc cu cele erbivore.

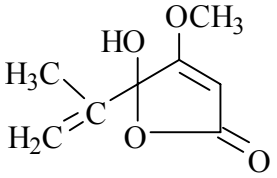
Două exemple de lanțuri trofice sunt:

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

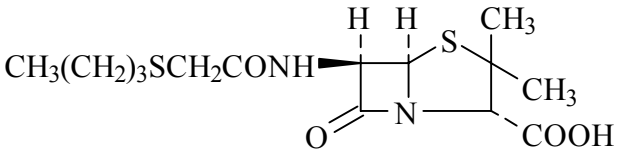
Fiecare lanț trofic cuprinde de regulă nu mai mult de 4-5 verigi, deoarece datorită pierderii de energie biomasa totală a fiecăreia din verigile următoare este de aproximativ 10 ori mai mică decât a celei precedente; această legitate se numeşte *regula piramidei ecologice*.

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

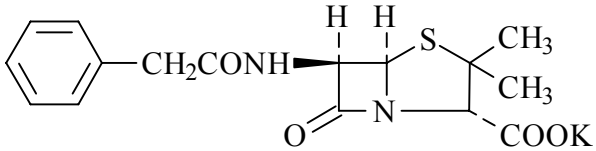
Antibioza este rezultatul acțiunii inhibitoare a unui organism asupra altuia, de cele mai multe ori în urma eliminării unor substanțe speciale de natură chimică diversă cum sunt antibioticele. Sunt cunoscute antibioticele produse de ciuperci, bacterii şi alte organisme. Producători activi de antibiotice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



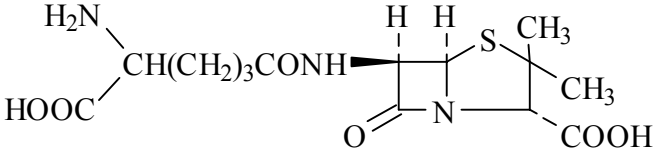
Penicillic Acid



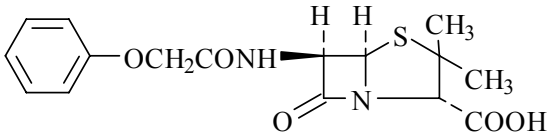
Penicillin BT



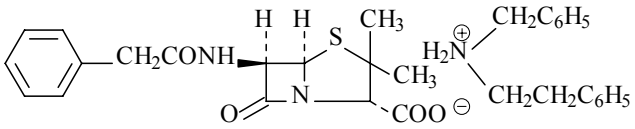
Penicillin G Potassium (Potassium penicillin G)



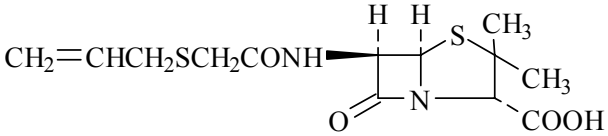
Penicillin N (Cephalosporin N, Adicillin)



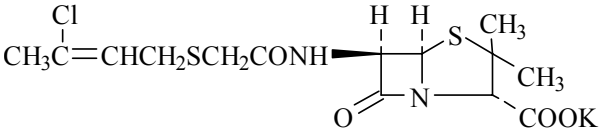
Penicillin V (Penicillin phenoxymethyl, Phenoxymethylpenicillin, Phenoxymethylpenicillinic acid



Penicillin G (Benethamine, Benethamine penicillin G, Benetolin)



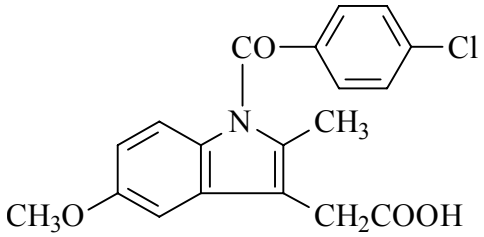
Penicillin O (Penicillin AT)



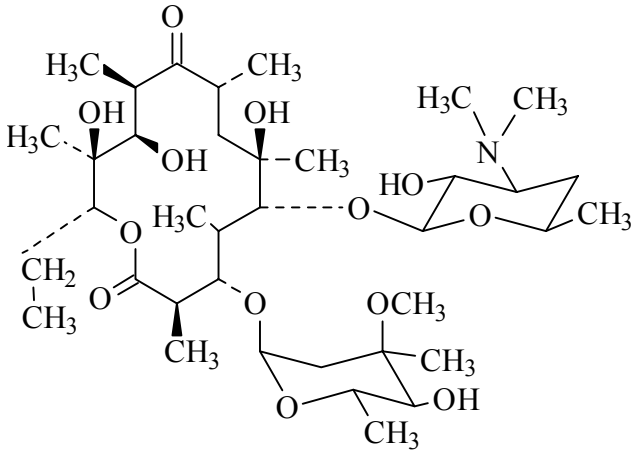
Penicillin S Potassium (Potassium penicillin S)

La antibioticele obţinute din ciupercile de mucegai şi bacterii se referă gramicidina, streptomicina, biomicina, tetraciclina şi altele.

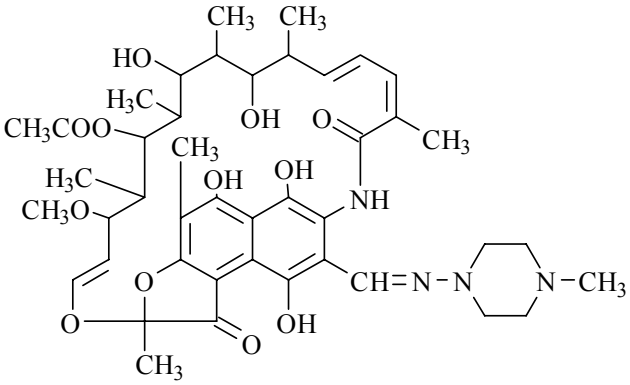
Structurile şi denumirile antibioticelor uzuale sunt redate mai jos:



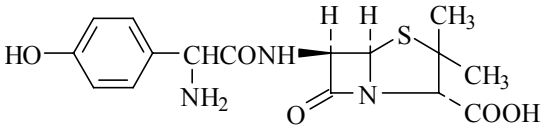
Indomethacin (Argun, Artracin, Artrivia, Catolep, Confortid, Dolcidium, Durametacin, Elmetacin, Indacin)



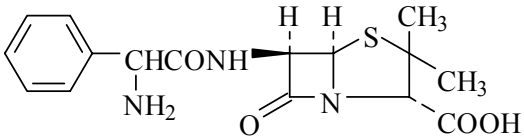
Erythromycin (Erythromycin A, Abomacetin, Eritrocina, Staticin, Stiemycin Torlamicina)



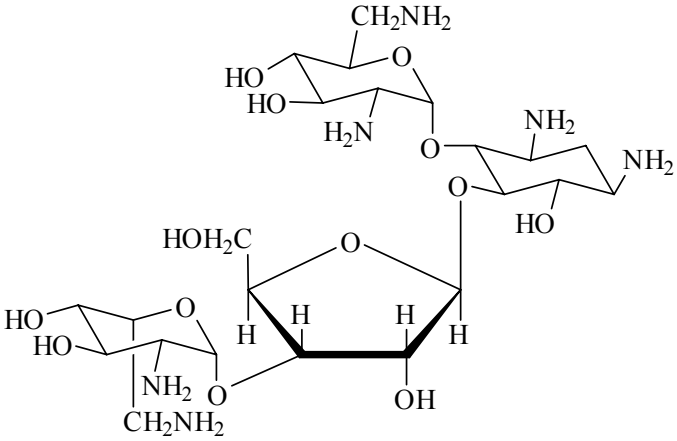
Rifampicin (Rifampin, Rifaldazine, Rifamycin AMP, Rifaprodin, Rifobac, Riforal, Rifoldin, Rifoldine, Rimactan)



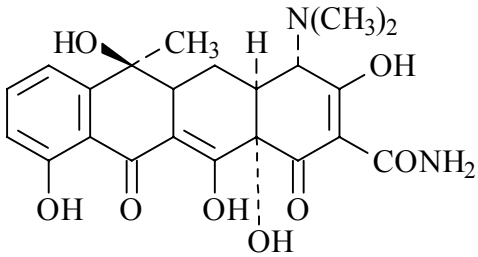
Amoxicillin (Amoxycillin, Amocilline)



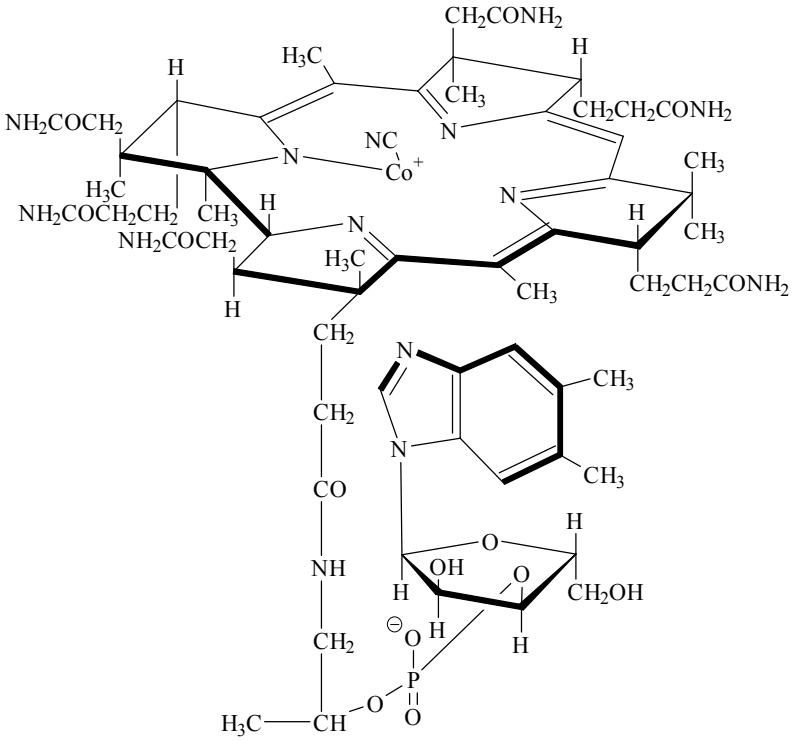
Ampicillin (Ay 6108, Adobacillin, Alpen, Ampicina, Ampilar, Ampimed, Austrapen, Bonapicillin)

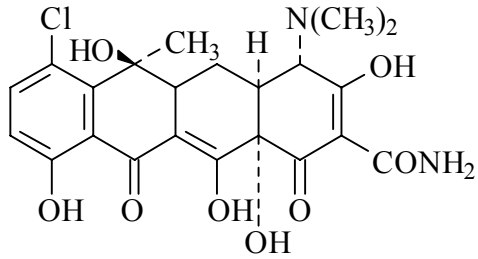


Neomycin (Mycifradin, Myacyne, Fradiomycin, Neomin, Neolate, Pimavecort, Vonamycin Powder V)



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 şi cooperarea), *negative* (agresive, ce condiționează dispersarea) şi *indiferente*.

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

2. Biogeochimie

2.1. Biosfera

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

Biosfera este un înveliş termodinamic cu temperatura de la +50°C până la -50°C şi 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 şi 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 şi biogeochimică; practic toate substanțele scoarței terestre în cantități diferite şi cu o diferită intensitate sunt antrenate în circuitul substanțelor în natură şi trec prin organismele vii.

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

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

Transformarea substanţelor, energiei şi informaţiei în biogeocenoze şi în biosferă în ansamblu decurge continuu din momentul apariţiei vieţii, ceea ce a modificat esenţial aspectul planetei.

Studiul principiilor organizării şi reglării transformării substanţelor, energiei şi informaţiei în natura vie este obiectivul *ciberneticii biosferei*.

Toate organismele vii formează *biomasa* planetei. Ea constituie cca. 0.01% din masa scoarţei terestre însă în pofida masei mici, rolul acestora în procesele ce se desfăşoară în biosferă este enorm. Organismele vii au transformat radical alte învelişuri ale planetei. Activitatea organismelor vii condiţionează compoziţia chimică a atmosferei, concentraţia sărurilor în hidrosferă, formarea unor roci şi distrugerea altora în litosferă, formarea învelişurilor de sol şi altele.

2.2. Biomasa şi 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, şisturile combustibile, petrolul – din resturile de ţesuturi moi de plante şi animale, supuse transformărilor chimice; rezervele de substanţă organică din scoarţa terestră depăşesc de câteva ori cantitatea de substanţă organică vie;

Organismele vii contribuie direct şi indirect şi la distrugerea rocilor:

- lichenii distrug direct stâncile chimic (cu ajutorul fermenţilor) şi mecanic (rupând bucăţi de roci);
- apele naturale ce conţin în stare dizolvată oxigen şi bioxid de carbon de origine biogenă şi alţi compuşi organici; datorită acestei compoziţii capacitatea de dizolvare a apei naturale sporeşte cu mult şi astfel se distrug multe roci;

Materialele iniţiale pentru formarea solului sunt straturile superficiale de roci iar sub acţiunea microorganismelor, plantelor şi animalelor se formează învelişul de sol. În compoziţia organismelor se concentrează elementele biogene; după moartea plantelor şi animalelor şi descompunerea acestora aceste elemente trec în compoziţia solului; ca rezultat în sol se acumulează elemente biogene şi alte substanţe organice nedescompuse complet. În sol se găseşte 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 compuşi organici, anorganici şi organisme vii şi apariţia şi existenţa solului în absenţa biosferei este imposibilă. Solul este habitatul multor organisme; din el plantele absorb substanţe nutritive şi apă.

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

Din cele 4 gaze care alcătuiesc atmosfera numai argonul nu ţine de activitatea vitală a organismelor; consumul şi furnizarea oxigenului, azotului şi 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 viaţă.

Datorită stratului de ozon, care este rezultatul acţiunii vitale a organismelor este posibilă existenţa vieţii pe uscat şi în straturile superioare ale apelor oceanelor.

În concluzie, viaţa singură şi-a creat mediul său de viaţă.

În cadrul hidrosferei, compoziţia chimică a apelor naturale se formează direct şi indirect sub acţiunea organismelor. De asemenea, organismele vii şi produsele activităţii lor vitale contribuie la spălarea unui şir de substanţe; aceste substanţe, apoi dizolvate în apele râurilor şi apoi în apele marine se concentrează de către multe organisme. De exemplu fierul ajunge în mare sub formă de compuşi cu substanţele organice; o parte din acest fier se depune pe cale biogenă: se acumulează în scheletele echinodermelor, sarcodinelor şi 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 şi meteoriții.

2.3. Migrarea Elementelor

Ființele vii realizează migrarea elementelor în litosferă, hidrosferă şi sol, schimbul de elemente între hidrosferă, sol şi atmosferă, dintre uscat şi mare, circuitul apei, carbonului, oxigenului şi 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) şi de aceea mai puternică (după rezultatele finale) decât organismele vii, luate în ansamblu.

Anual 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 şi azotul atmosferei, tot acidul carbonic sunt de origine organogenă. Rolul organismelor vii în biosferă este determinat de capacitatea lor de acumulare şi transformare a energiei solare, de a se reproduce, asigurând continuitatea activității şi acumularea şi de a efectua reacții chimice cu o aşa viteză care de câteva ori depăşeşte 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 şi le întoarce în mediu în altă formă. În această formă substanța nu poate fi folosită de indivizii aceleiaşi 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* şi în cele din urmă în *lanțul metabolic* sunt antrenate toate speciile.

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

Un astfel de exemplu este faptul că nutriția organismelor *heterotrofe* depinde de cele *autotrofe* şi 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 stabileşte un *echilibru* între organismele heterotrofe şi autotrofe.

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

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

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

Pe parcursul existenţei biosferei componenţa specifică a animalelor, plantelor şi microorganismelor ce înfăptuiesc acest *circuit continuu* s-a schimbat în repetate rânduri. Însă întotdeauna activitatea lor în comun menţinea *regimul biogeochimic* necesar pentru existenţa vieţii.

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

2.5. Ciclurile Biogeochimice

Carbonul intră în compoziţia tuturor compuşilor organici. În scoarţa terestră conţinutul lui nu depăşeşte 0.5%, în atmosferă după masă este doar 0.008%, însă în masa uscată a animalelor se găseşte circa 20% iar în cea a plantelor până la 45%. De aceea substanţa organismelor vii la temperatură înaltă se carbonizează. În aerul atmosferic există permanent bioxidul de carbon eliminat de organisme în procesul activităţii vitale. Furnizorii principali de CO_2 în atmosferă sunt vulcanii şi apele freatice saturate cu carbonaţi.

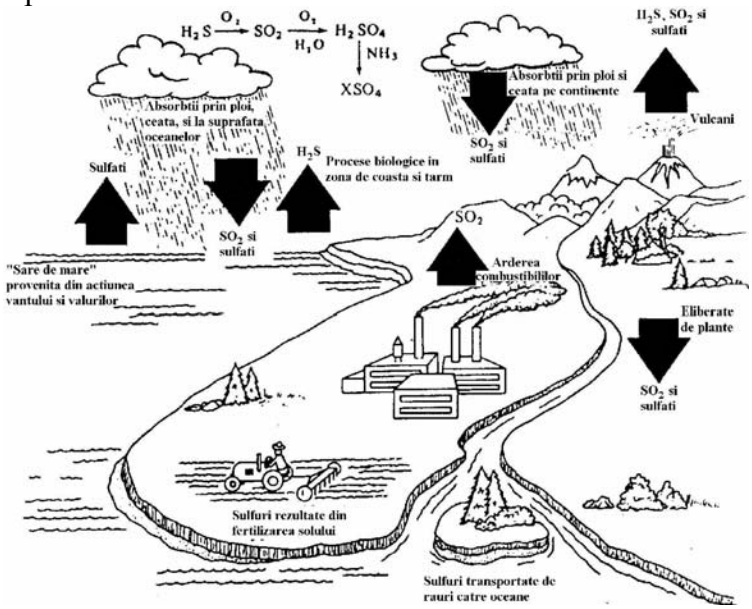
Conţinutul total de CO_2 în atmosferă este de $2.1 \cdot 10^{12}$ tone. Apa de mare conţine circa 50 cm^3 CO_2 în fiecare litru, deci în oceanul planetar conţinutul lui este de $16 \cdot 10^{15}$ tone, de 8 ori mai mult decât în atmosferă.

În procesul de fotosinteză plantele verzi asimilează carbonul pe care frunzele îl primesc din aer sub formă de bioxid de carbon şi formează glucidele. În procesul respiraţiei plantelor o parte din glucide se oxidează şi bioxidul de carbon nimereşte 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 şi om. Astfel carbonul trece în organismul animalelor şi omului. În timpul respiraţiei glucidele se oxidează. Pe contul energiei eliberate se desfăşoară toate procesele vitale iar bioxidul de carbon se elimină în atmosferă.

Putrefacţia se desfăşoară cu participarea *bacteriilor de putrefacţie*. 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 şi şisturile. Omul le foloseşte drept sursă de energie iar bioxidul de carbon eliberat nimereşte din nou în atmosferă.

Astfel un cerc se încheie şi începe un nou ciclu de antrenare a carbonului în compuşi organici, sintetizaţi de plante.



Ciclul sulfului în atmosferă ([1])

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

de către bacteriile *azotofixatoare*. Compuşii cu *sulf* existenţi în atmosferă cuprind în principal H_2S, SO_2, SO_3 şi sulfaţi [2]. Ei intră în atmosferă pe o mare întindere, prin activităţi umane. Se estimează că aproximativ 65 milioane de tone de sulf pe an intră în atmosferă prin activităţi antropologice, în principal la arderea combustibililor [3]. Principalele aspecte ale ciclului global al sulfului în atmosferă sunt redate în figura de mai sus.

2.6. Biocenoza

Animalele vii nu sunt uniform repartizate pe suprafaţa planetei. Există însă anumite sectoare omogene în ceea ce priveşte repartiţia speciilor.

Un sector omogen conţine o serie de biotipuri ale speciilor iar comunitatea de populaţii ce formează un biotip se numeşte *biocenoză*.

O biocenoză conţine 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 si stabil. Dimensiunile unei biogeocenoze pot varia de la câţiva metrii până la câţiva km şi fiecare biogeocenoză se caracterizează prin:

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

În biogeocenoze există 3 grupe de comembrii:

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

O biogeocenoză este un *sistem deschis* şi între toţi componenţii biogeocenozei se stabileşte un echilibru dinamic – *homeostaza ecologică*.

Evoluţia fiecărei specii de organisme se desfăşoară în condiţiile unei anumite biogeocenoze şi ca rezultat a apărut *adaptarea reciprocă* a speciilor.

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

Omul creează *agrobiocenozele artificiale* (câpiile, ogoare, păşuni, livezi, plantaţii 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 componenţei specifice.

Este important de reţinut că folosirea neraţională a resurselor naturale duce de multe ori la dereglarea echilibrului în comunităţile biologice.

2.7. Ecologia omului

În cadrul ecologiei omului se studiază relaţiile cu mediul înconjurător (condiţiile *biotice*, *abiotice* şi *sociale*).

Acţiunea mediului natural asupra omului este mai mult sau mai puţin estompată prin folosirea de îmbrăcăminte, foc şi construcţia de locuinţe.

Mediul înconjurător din imediata vecinătate este modificat prin construcţii locative, gospodăreşti, industriale, plantaţii de arbori, terenuri agricole, funcţionarea întreprinderilor industriale şi agricole şi transportului.

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

Interacţiunea omului cu factorii biogeografici şi antropogeni ai mediului se face la diferite moduri de organizare: organismic, populaţional, specific, biocenotic, şi biosferic.

La *nivelul organismic* se desfăşoară procese ontogenetice şi fiziologice; pentru realizarea lor omul necesită anumite condiţii de hrană, apă, lumină, temperatură.

Reacţiile individuale ale organismului la factorii mediului se evidenţiază în condiţiile provinciilor geochimice (în care se constată insuficienţa sau surplusul unor elemente chimice, ce provoacă boli endemice (locale). De exemplu, insuficienţa de Co se răsfrânge negativ asupra sintezei cianocobalaminei (vitamina B_{12}); are ca efect diminuarea metabolismului nucleic şi micşorarea capacităţilor de adaptare la factorii nefavorabili ai mediului.

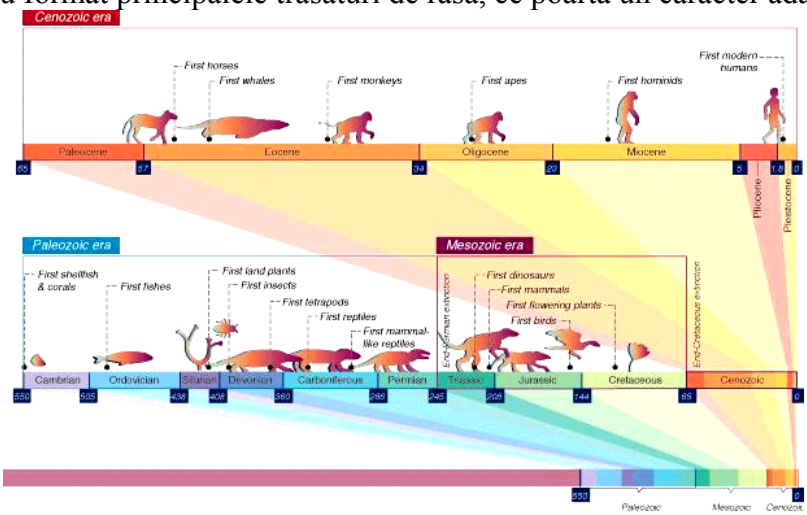
Alt exemplu, insuficienţa de Cu duce la diminuarea metabolismului lipidic şi încetinirea maturizării eritrocitelor în timp ce surplusul de Mo favorizează dereglarea metabolismului purinic, de care este legată sinteza acidului uric; acesta, fiind un compus puţin solubil se depune în articulaţii provocând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

La un surplus de Sr se poate declanşa condrodistrofia, ce duce la nanism, picioare şi mâini scurte, brahidactilie iar în provinciile cu insuficienţă de iod este răspândită guşa endemică, ce ţine de mărirea glandei tiroide.

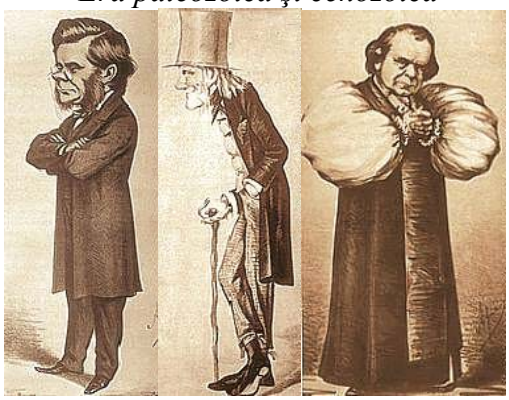
Reacţia individuală a organismului se manifestă cel mai bine la schimbarea mediului de trai, şi mai ales atunci când omul nimereşte în condiţii extreme de mediu.

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

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



Era paleozoică şi cenozoică



Caricaturi ale evoluţiei umane (Vanity Fair Newspaper, 1920)

Astfel, pielea întunecată a rasei ecuatoriale împiedică trecerea radiaţiei UV, părul cârlionţat prin neaderarea lui strânsă la pielea capului serveşte drept barieră pentru razele solare, buzele subţiri, tăietura îngustă a ochilor, epicantusul rasei mongoloide s-au format drept adaptare la clima rece şi uscată a stepelor şi pustiurilor de N-V, unde praful şi frigul pot vătăma membrana mucoasă a ochiului, forma plată a feţei (din experiment) micşorează 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 rudenia 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 şi negroizii din Africa şi analog, un tip adaptiv arctic întâlnim la saami europoizi, nenții mongoloizi, ciuccia, eschimoşii.

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 şi strânsă întrucât el singur reprezintă o biocenoză, în care viețuiesc bacterii-simbionți (bacilul coli – componentul florei intestinale normale) şi endo- şi ectoparaziți.

Tot mediul ce înconjoară pe om constituie practic fie cenoze (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 şi antropobiogeocenoze) decurge viața, desfăşoară activitatea gospodărească şi de toate zilele, de acestea țin factorii de sănătate şi 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, şi comunități orăşenești şi industriale.

Biocenoză naturală

Biocenozele naturale se caracterizează printr-o varietate mai mare de plante şi animale şi se întâlnesc în diferite zone landşaftogeografice şi în această privință reprezintă o mare varietate (pustiuri arctice, tundra, silvotundra, taigaua, pădurile mixte şi de foioase, stepa, semipustiurile, pădurile subtropicale, pădurile musonice şi 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 şi 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 şi Transbaicalia, focarele leishmaniozei în Turcmenia; pe de altă parte înlocuirea landşafului de pădure în zona centrală a Rusiei prin lanşaft de fânețe de câmp a generat modificarea componenței rozătoarelor murine şi apariția unor noi focare

de tularemie. În Africa lărgirea reţelei şanţurilor de irigare a dus la apariţia unor noi focare de schistomiază, deoarece s-a mărit suprafaţa biotipurilor populate de moluşte, care sunt gazdele intermediare ale trematodului; pe teritoriile pustiurilor din trecut n-au fost înregistrate îmbolnăviri locale de ascaridoză întrucât din cauza insuficienţei de umiditate din sol ouăle de ascaridă nu supraviețuiau; în rezultatul construcţiei sistemelor de irigare clima în aceste locuri s-a schimbat, apropiindu-se de cea subtropicală umedă, şi concomitent au apărut focarele locale de ascaridoză. Febra galbenă se întâlnea iniţial doar în Africa Centrală şi de Vest, unde era boala primatelor, transmisă de ţânţarii ce viețuiau în junglă; ulterior, când una din speciile de ţânţari de transmiteau virusul febrei galbene, *Aedes Aegypti*, a început să trăiască în apropierea locuinţelor omeneşti, devenind în rezultat o specie sinatropă (din greacă: sin = împreună, antropos = om). Astfel au apărut focare intraorăşeneşti de febră galbenă. Odată cu Europenii şi robii negri au pătruns în america tropicală agentul patogen al febrei galbene şi ţânţarul *Aedes Aegypti*, ceea ce a generat izbucnirea mai întâi a focarelor intraorăşeneşti iar apoi şi a celor secundare suburbane; în cele secundare gazde ale agentului patogen s-au dovedit a fi maimuţele americane (cu nasul lat), iar vectori speciile americane de ţânţari.

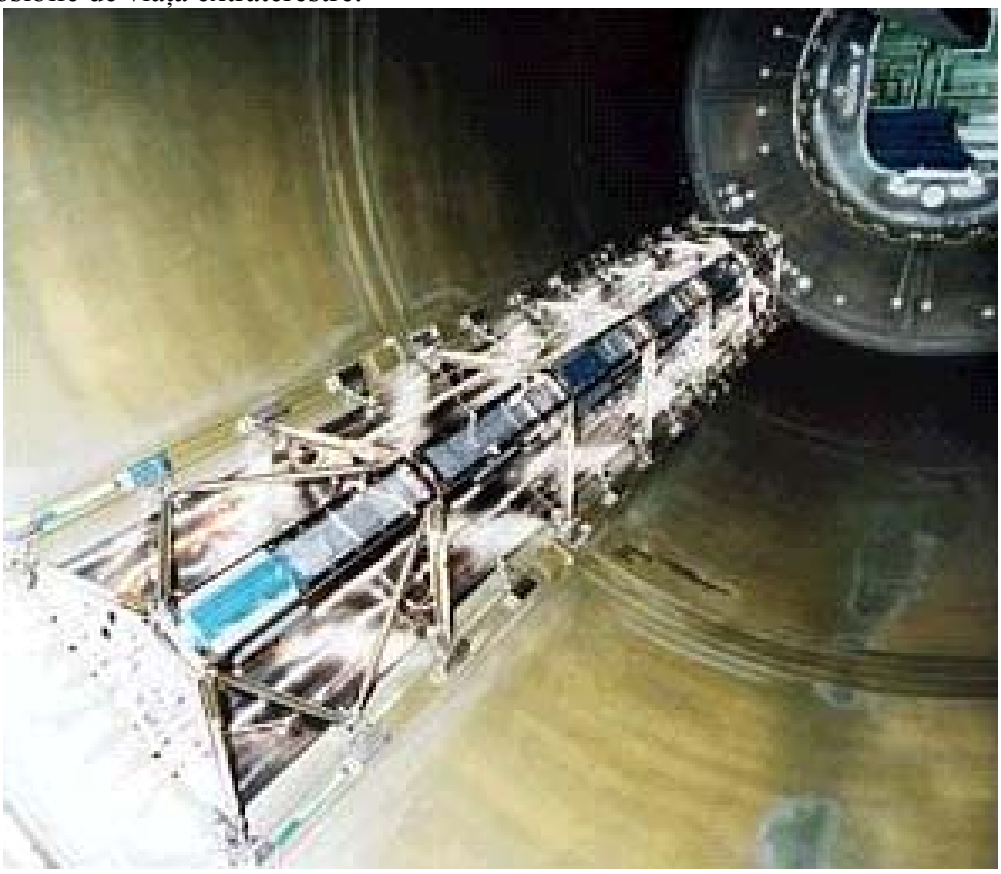
Comunităţile săteşti (*agrocenozele*) se caracterizează prin resturi neînsemnate de plante şi animale sălbatice, teritorii imense ocupate de plante de cultură, un număr mare de animale domestice (componenţa specifică a acestora este limitată). Componenţa specifică şi particularităţile activităţii gospodăreşti contribuie la răspândirea unor specii de zoonoze (echinococoza şi tularemia) şi altele. În ţările cu climă caldă şi agricultură irigată contribuie la răspândirea biohelmiţilor (schistosomozelor). Activitatea gospodărească în aceste cenoze are ca scop sporirea recoltei culturilor agricole şi a productivităţii animalelor domestice.

Agrocenoză

Ocrotirea mediului înconjurător trebuie să se orienteze la folosirea raţională a îngrăşămintelor chimice, pesticidelor, efectuarea măsurilor profilactice pentru întâmpinarea zoonozelor şi helmiţilor. *Cenozele orăşeneşti* şi *industriale* (*urbanocenozele*) se caracterizează prin aglomerări mari de oameni, suprafeţe neînsemnate de vegetaţie plantată artificial, faună sărăcăcioasă, poluarea frecventă a mediului ambiant cu deşeuri industriale şi de transport. Poluarea mediului şi factorii industriali pot fi cauza bolilor profesionale şi alergice şi a traumatismelor; promiscuitatea, factorii profogeni, ritmul încordat al vieţii orăşeneşti, hipodinamia creează premisele pentru bolile de nervi, psihice şi cardiovasculare. Sarcina *medicosanitară* în urbanocenoze constă în preîntâmpinarea poluării mediului înconjurător, introducerea în producţie a circuitelor închise, fără deşeuri, combaterea zgomotului, traumatismului rutier şi de producţie, crearea zonelor verzi în oraşe şi în jurul lor, propagarea modului de viaţă sănătos, culturii fizice şi sportului.

Urbanocenoză

Cosmocenozele sunt un tip special de biocenoze, care a apărut odată cu navele cosmice. *Biologia cosmică* este cea mai tânără ramură a ştiinţelor biologice, care studiază acţiunea factorilor spaţiului cosmic asupra organismelor terestre. Una din sarcinile biologiei cosmice este şi studierea formelor posibile de viaţă extraterestre.



Instalarea primei structuri (din 4) în interiorul laboratorului U. S. A. de pe Staţia Spaţială Internaţională (10 Decembrie 1997)

Problema principală este crearea sistemelor închise ce asigură existenţa omului în spaţiul cosmic. Posibilitatea principală de creare a unui spaţiu închis se bazează pe constatarea că substanţele 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 activităţii vitale.

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

Revenind la cosmobiocenoze, în nava cosmică pe lângă om mai trebuiesc introduse şi aceste două grupe de organisme; sinteza substanţelor organice cu acumularea în ele a energiei poate fi înfăptuită de organismele *fotoautotrofe* (plantele superioare, algele unicelulare). Hrana animală (aminoacizii metioninei şi cistinei) poate fi asigurată prin introducerea crustaceelor de plancton (artemiile, dafniile) sau a speciilor de moluşte fără cochilie. La baza metodei biologice de mineralizare a deşeurilor 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 necesităţilor plantelor. În timpul zborului cosmic omul suportă acţiunea diferiţilor factori: vibraţii, suprasarcini, imponderabilitate.

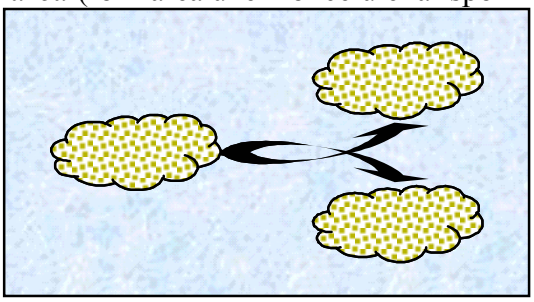
Unul dintre efectele nedorite ale zborului care trebuiesc compensate este că în stare de imponderabilitate greutatea corpului este nulă, presiunea hidrostatică a sângelui în vase se nivelează, sângele este repartizat uniform în toate părţile corpului şi *starea de repleţiune sangvină* a părţii superioare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

3. Microbiologie

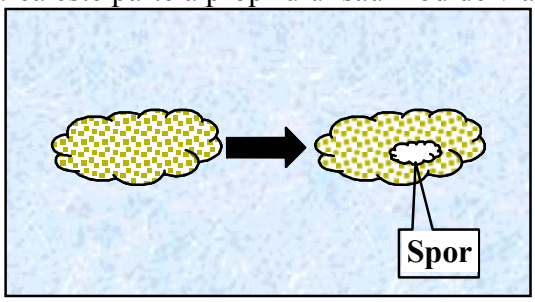
3.1. Microbiologia şi Biologia Celulară

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

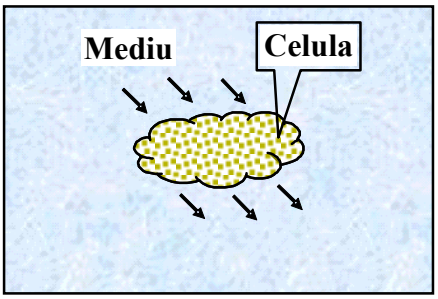
- *auto-hrănirea* sau *nutriţia* (funcţia *maşină*);
- *auto-replicarea* sau *creşterea* (funcţia de *codificare*);
- *divizarea* (formarea unei noi celule iar sporificarea este parte a propriului său mod de viaţă);



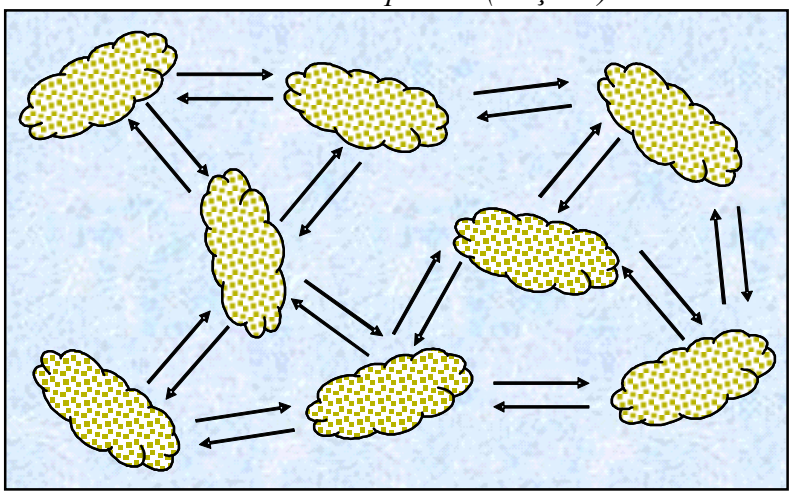
Divizare



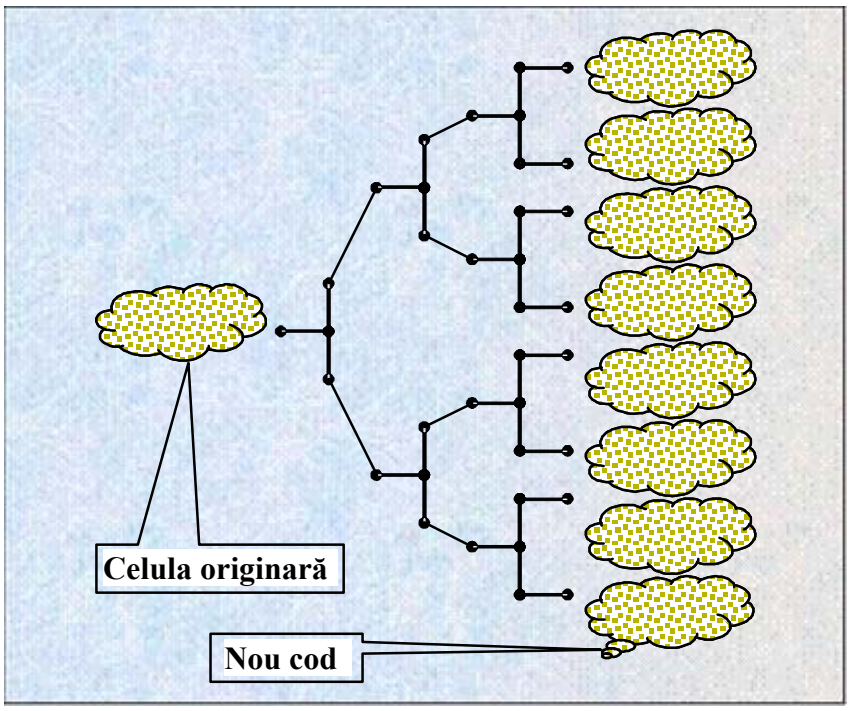
Autoreplicare (creştere)



Auto-hrănire (nutriţie)



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 reuşesc acestea să mențină ordinea?*" şi răspunsul: prin generarea continuă de energie şi 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 compuşi şi se formează structura celulei.

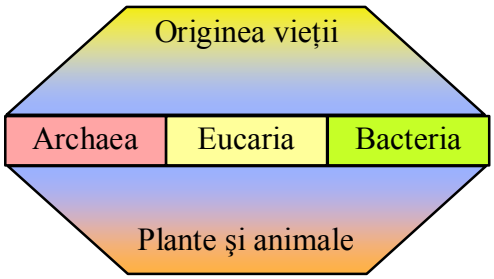
Reacțiile chimice sunt catalizate de către molecule de *proteine* numite *enzime*. Enzimele trebuie să posede o anumită structură pentru a funcționa; astfel, ele trebuie să înglobeze un set de *informații* (*gene*) care codifică structura fiecărei proteine din celulă. Setul de *instrucțiuni* este codificat în *DNA*, materialul genetic al celulei. Există de asemenea un sistem de transformare, *RNA*, care converteşte informația codificată în *DNA* în proteine. Câteva tipuri de molecule *RNA* (*RNA mesager*, *RNA ribozom* şi *RNA de transfer*) sunt esențiale pentru acest proces.
Rezultatul biosintezei este *creşterea* 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 conțin sunt cele care sunt capabile să codifice proteinele cele mai utile pentru supraviețuire şi creştere în condițiile de mediu existente.

Celula trebuie de asemenea să îşi copieze fidel informația genetică atunci când o pune într-o nouă celulă. Greşelile în copiere sunt făcute ocazional; aceste *mutații* sunt în general dăunătoare şi ucid 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 originară. 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; *eucatiotele* 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* şi *cloroplasma*. În plus, biologii operează cu *viruşii*, 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: A*rchaea* şi B*acteria*. Aceste grupuri nu mai sunt acum apropiate unul față de altul aşa cum sunt ele apropiate de *Eucaria*.

Microorganismele trăiesc în habitate în care creşterea lor este afectată de interacțiunile cu *populațiile* altor microbi ca şi 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 cunoaştem 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* şi a *solului* depinde de activitatea acestora. De mult mai mare impact asupra oamenilor se bucură industria producătoare de antibiotice, de produse alimentare, compuşi organici şi biomasă. O descoperire recentă o reprezintă industria biotehnologiilor care foloseşte microbii ca fabrici pentru a produce proteine din gene de plante şi animale prin introducerea lor în bacterii *ADN*. Microbii sunt de asemenea importanți în agricultură şi biodegradarea alimentelor.

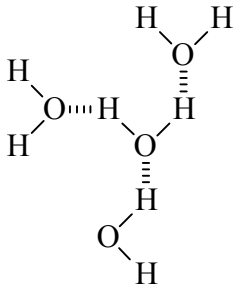
Microbii au fost descoperiți acum 300 de ani de microscopistul *van Leeuwenhoek* dar cea mai mare parte a descoperirilor din microbiologie au fost făcuți în ultimii 100 de ani. *Louis Pasteur* şi *Robert Koch* sunt doi lideri în dezvoltarea disciplinei. Printre alte multe realizări, *Pasteur* a contrazis teoria *generațiilor spontane* definitiv. Foate importantă este demonstrația că experimentele cu microbi sunt reproductibile şi 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 şi utilizarea culturilor pure rămâne şi azi un instrument esențial în studierea bolilor infecțioase.

3.2. Legăturile Chimice

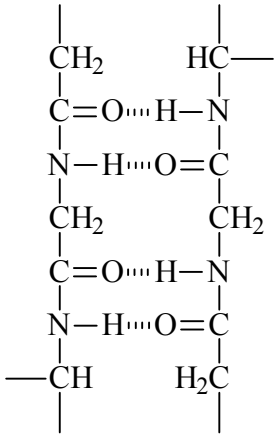
Toate formele de viață conțin tipuri similare de *molecule* şi mulți dintre aceşti compuşi biochimici nu sunt găsiți în materialele care nu sunt de natură biologică. Chiar dacă ele sunt unice, moleculele celulare respectă legile fizicii şi chimiei. Aceste molecule sunt compuse din *atomi* ai a 92 de elemente naturale de pe pământ şi 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 şi diverse. Atomul constă dintr-un nucleu care conține protoni încărcați pozitiv şi neutorni şi un număr de electroni încărcați negativ care orbitează în jurul nucleului. Punerea în comun de electroni constituie o *legătură chimică*. Dacă electronii sunt puşi în comun în mod egal, legătura este *covalentă* şi 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 compuşi.

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

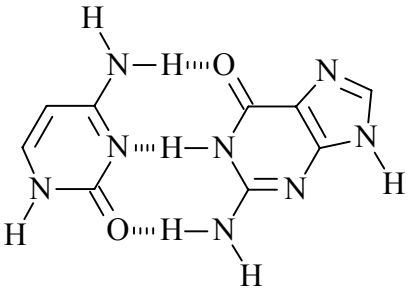


Legături de hidrogen între molecule de apă

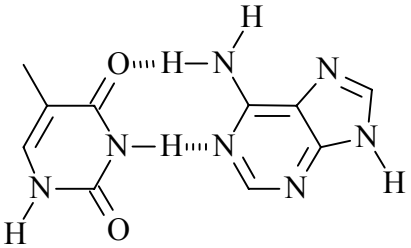


Legături de hidrogen între aminoacizi în lanțurile proteice

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.



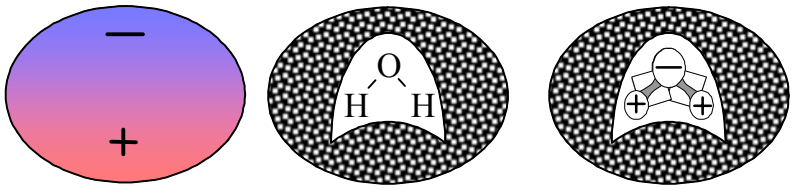
Citozină *Guanină*



Timină *Adenină*

Legături de hidrogen între bazele din DNA

Natura vieții pe pământ este determinată nu numai de chimia atomului de carbon ci şi de proprietățile de solvent ale apei. Cea mai mare parte a greutății unei celule (70 - 90%) este formată de apă, şi reacțiile biochimice nu au loca dacă nu există o cantitate suficientă de apă. Moleculele de apă sunt *slab polare* (tendința ca sarcinile + şi – 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 şi elemente de construcție) sunt solubile în apă;
- moleculele nepolare (ca lipidele) nu sunt solubile în apă şi formează agregate sau se aglomerează.

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

Macromoleculele formează structura celulei, catalizează reacțiile metabolice şi conțin codul informației de replicare a celulei. Sunt 4 tipuri importante de macromolecule celulare: acizi nucleici, proteine, polizaharide şi 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 şi 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 şi B se numeşte copolimerizare şi se poate efectua după una din schemele:

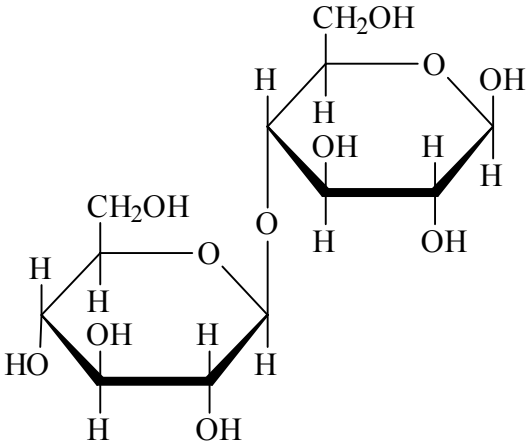
- alternativ: –A–B–A–B–A–B–A–B–A–B–A–B–
- întâmplător: –A–B–B–A–A–B–B–B–A–B–A–A–B–
- bloc: –A–A–A–A–A–A–B–B–B–B–
- ramificat:

```
          B         B
          |         |
—A—A—A—A—A—A—A—A—
            |       |
            B       B
            |       |
            B       B
                    |
                    B
```

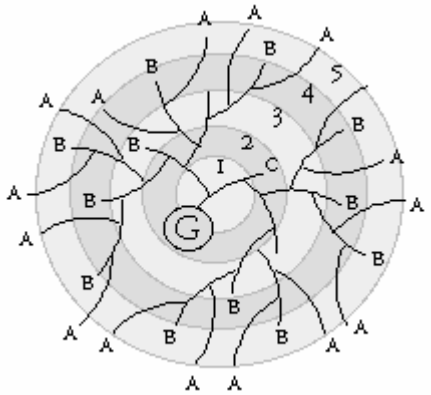
Polimerul obținut prin copolimerizare prezintă numai în cazuri rare o alternare regulată a celor doi monomeri şi, mai mult, raportul de monomeri în catenă nu corespunde de obicei cu raportul de monomeri din amestecul de reacție. Din acest caz copolimerii sunt în general substanțe amorfe.

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

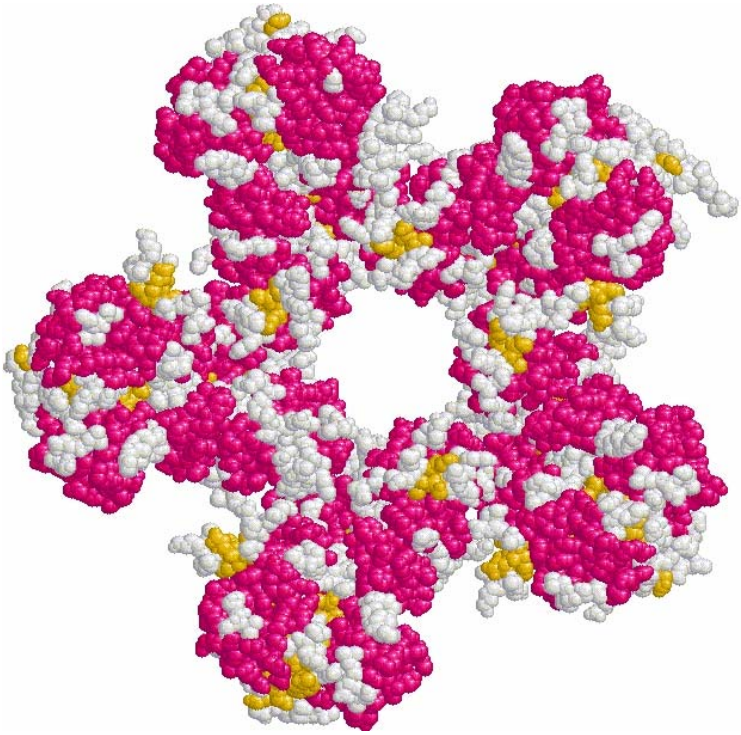
Polizaharidele sunt lanțuri de *carbohidrați* variind în lungime de la 100 la câteva mii de unități. Carbohidrații conținând 4-7 atomi sunt cei mai frecvenți în celule. Molecule diferite de carbohidrați pot fi formate prin substituția grupărilor chimice de pe structura de bază a moleculei de zaharoză şi 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 şi peptidoglicolul.



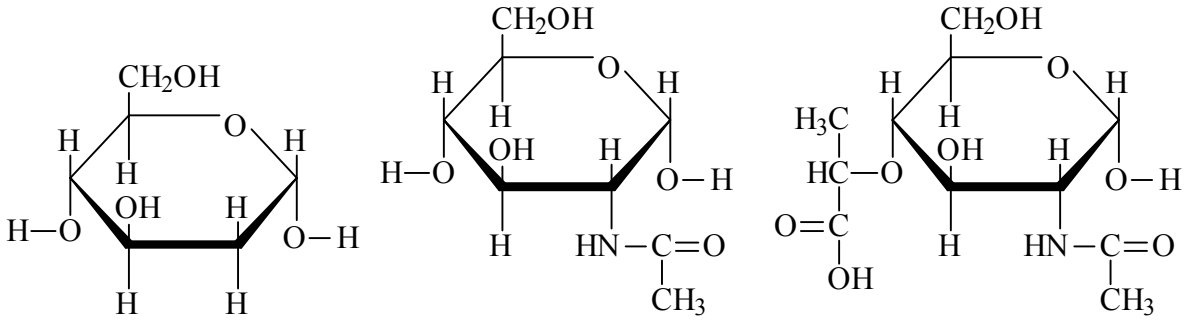
Celobioza, structura repetitivă în molecula de celuloză



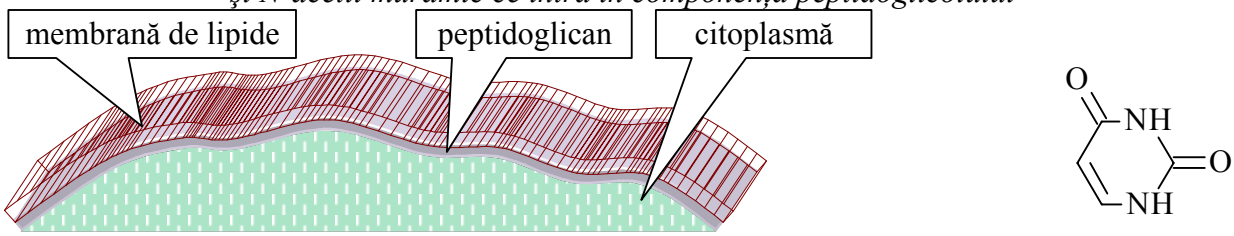
Parte din structura glicogenului (G – glicogenina, A, B, C – izomeri de structură ai glucozei) – primele 5 inele din totalul de 12 [4]



Glicogenina (proteina situată în centrul structurii de glicogen)



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



Membrana celulară şi Uracil, a patra bază în RNA

Lipidele sunt componenţi ai membranelor, bariera permeabilă a celulelor. Natura lor chimică le recomandă pentru această folosinţă. *Acizii graşi* pe care acestea îi conţin au în componenţă *grupări hidrofobe* care previn ca moleculele încărcate electric sa traverseze membrana.

Sunt două tipuri de *acizi nucleici* (DNA şi RNA). Amândouă sunt compuse din blocuri constructive de nucleotide. Unele *nucleotide* au de asemenea şi alte funcţii în metabolismul energetic (*ATP*). Toate nucleotidele conţin un zahar (glucoză, fructoză, ş.a.), un fosfat, şi 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 zahar şi grupările fosfat între nucleotidele adiacente. Acest *cuplaj zahar-fosfat* este regula generală pentru toate moleculele de acizi nucleici. Trei baze sunt comune pentru RNA şi DNA: adenina, guanina şi citozina. A patra bază în RNA este uracil iar în DNA este timina.

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

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

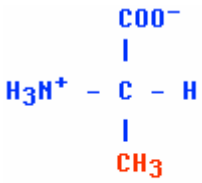
Două punţi de DNA au o secvenţă *complementară*. Dacă se ştie o punte, se poate construi secvenţa celeilalte prin respectarea regulii de perechi. Acest principiu furnizează celulei o cale comodă pentru a copia cu acurateţe secvenţa DNA, care este informaţia genetică.

RNA diferă de DNA prin faptul că sunt în mod obişnuit formate din punţi simple. Mai mult, moleculele de RNA au cel mult câteva mii de nucleotide, în timp ce DNA poate conţine milioane de nucleotide. Sunt 3 clase de RNA, care sunt importante în conversia secvenţei de nucleotide DNA din genă în secvenţă de aminoacizi în proteină.

Proteinele sunt şiruri de *aminoacizi* legate prin legături *peptidice covalente*. Legăturile se formează între o *grupare amino* a unui aminoacid şi o *grupare carboxil* a unui alt aminoacid. Sunt 20 de aminoacizi, care diferă prin proprietăţile chimice ale lanţurilor lor (tabelul 1). Caracteristicile părţilor de moleculă de proteină (de exemplu hidrofobicitatea şi hidrofilicitatea) sunt determinate de tipurile de aminoacizi care se află în acea parte de moleculă. Diversitatea de proprietăţi în ceea ce priveşte aminoacizii este realizată practic de un număr nelimitat de proteine care pot fi construite prin variaţia secvenţei de aminoacizi.

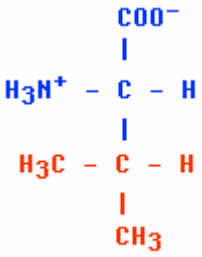
Tabelul 1. Cei 20 de aminoacizi esenţiali

hidrofob



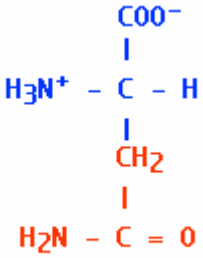
Alanine (Ala)[A]

hidrofob



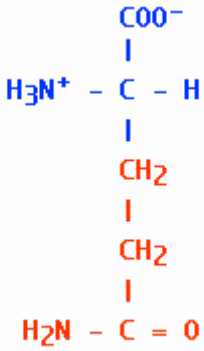
Valine (Val)[V]

carbohidratul poate fi legat covalent de gruparea sa –NH



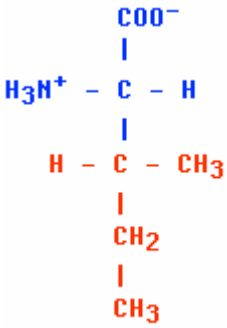
Asparagine (Asn)[N]

moderat hidrofil



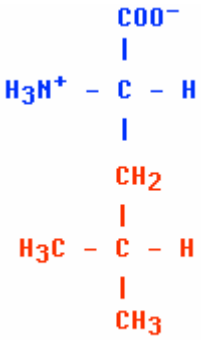
Glutamine (Gln)[Q]

hidrofob



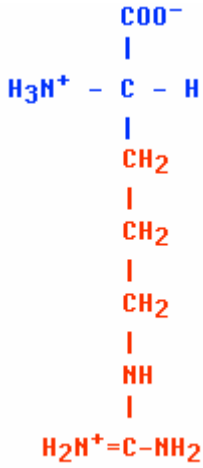
Isoleucine (Ile)[I]

hidrofob



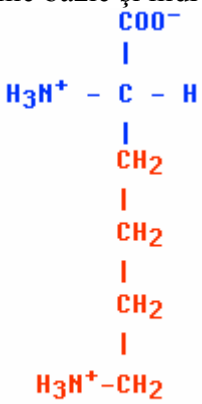
Leucine (Leu)[L]

gruparea liberă amino face ca el să fie bazic şi hidrofil



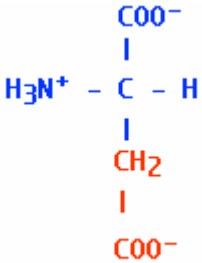
Arginine (Arg)[R]

puternic bazic şi hidrofil



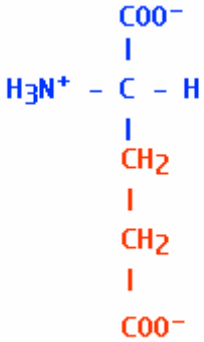
Lysine (Lys)[K]

gruparea liberă carboxil îl face acid şi hidrofil



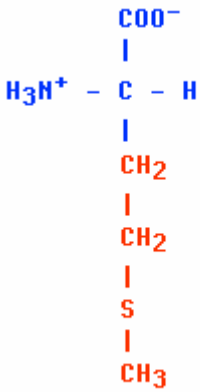
Aspartic acid (Asp)[D]

gruparea liberă carboxil îl face acid şi hidrofil



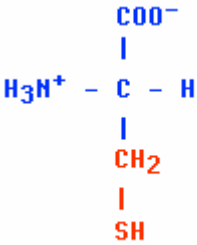
Glutamic acid (Glu)[E]

hidrofob



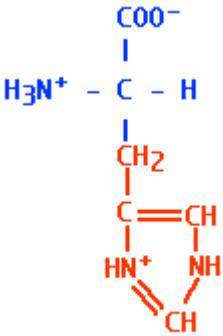
Methionine (Met)[M]

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



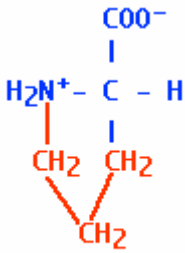
Cysteine (Cys)[C]

Bazic şi hidrofil



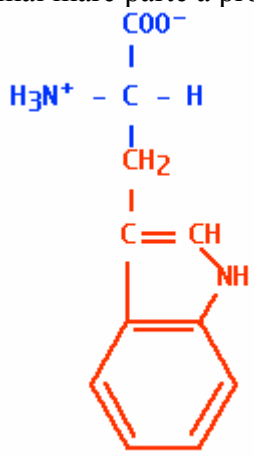
Histidine (His)[H]

provoacă torsiuni în lanț



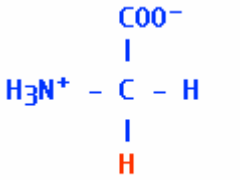
Proline (Pro)[P]

absent în cea mai mare parte a proteinelor din plante



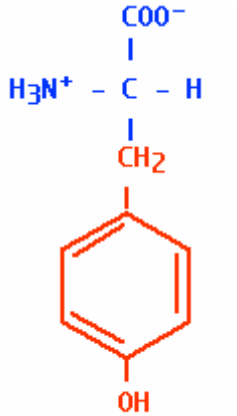
Tryptophan (Trp)[W]

foarte mic şi amfil,
poate exista în orice vecinătate



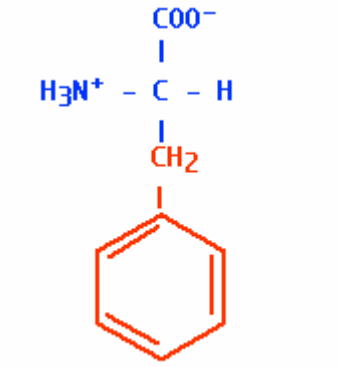
Glycine (Gly)[G]

gruparea –OH îl face moderat hidrofil



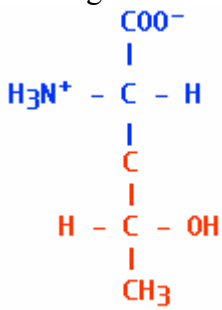
Tyrosine (Tyr)[Y]

foarte hidrofob



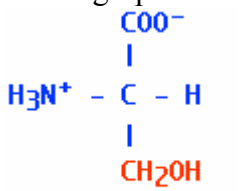
Phenylalanine (Phe)[F]

carbohidratul se poate lega covalent cu gruparea sa -OH



Threonine (Thr)[T]

carbohidratul se poate lega covalent cu gruparea sa -OH

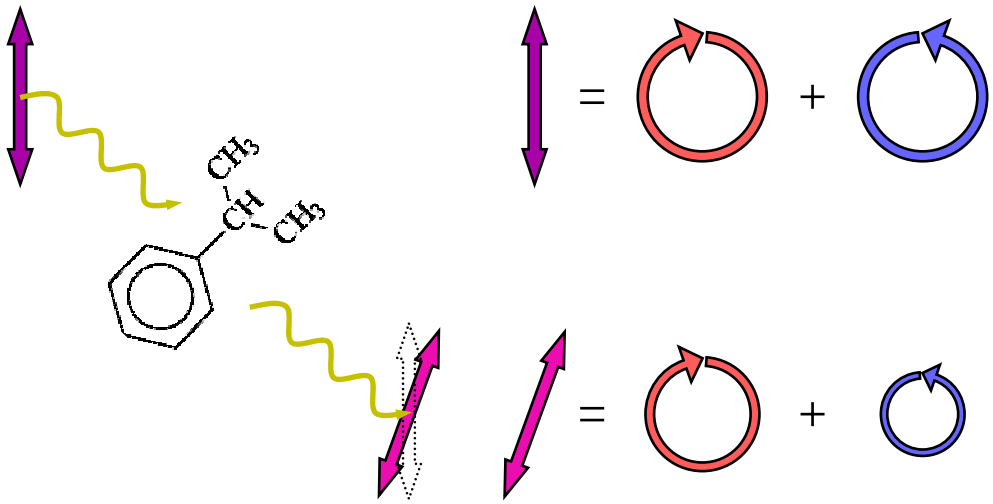


Serine (Ser)[S]

Proteinele nu există ca polimeri liniari. Mai mult, ele capătă forme foarte diferite. Biochimiştii 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 şirul de polipeptide ca rezultat al legăturilor de hidrogen între atomi. O pliere şi mai mare care este realizată de legăturile covalente sau necovalente (-SH) se numeşte *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 şi selecția moleculelor care pot ataşa 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 îşi pierde calitatea de a cataliza o anumită reacție sau capacitatea de a forma structura celulei.

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

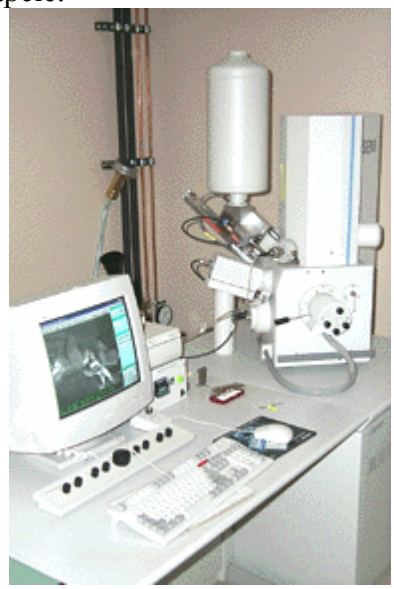


Rotaţia luminii polarizate de către stereoizomeri

3.3. Biologia Celulei

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

Microscop optic



Microscop electronic

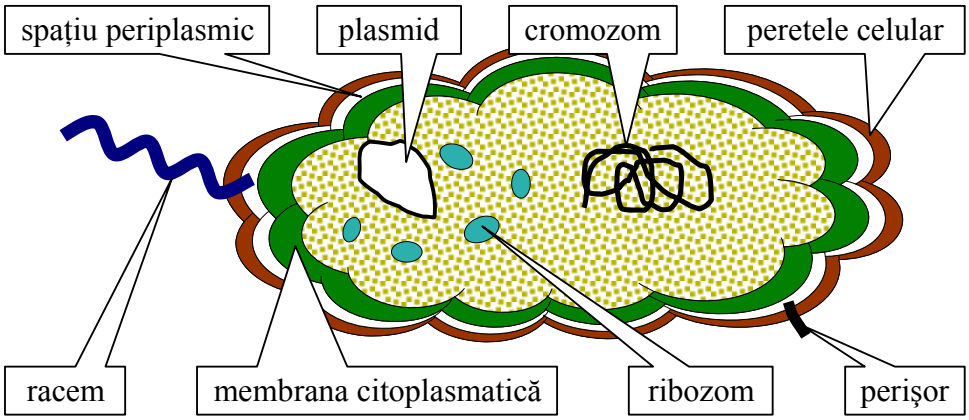
Microscoapele optice sunt utilizate frecvent pentru a determina morfologia celulei. O varietate de tehnici optice (*câmp luminos*, *fluorescenţă de contrast de fază*) au fost perfecţionate pentru aplicaţii specifice şi sunt folosiţi *marcheri* pentru sporirea vizibilităţii şi mărirea contrastului unor structuri anume ale celulei. Limita de rezoluţie pentru microscopul optic este de circa 0.2 μm.

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

Atât celulele de *Bacteria* cât şi cele de *Archaea* pot fi descompuse într-un număr de structuri care efectuează funcţii specifice. Este important de ştiut funcţiile acestor structuri şi compoziţia lor

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

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



Structura celulei

Forme de bacterii (coccus, rod, spirilla)

Aceste organele includ *mitocondrii* şi *cloroplastul* (în organismele *fotosintetice*). Dimensiunea mică a microbilor are câteva implicaţii. 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 consecinţa a faptului că un raport suprafaţă / volum mare le permite un schimb rapid cu mediul exterior şi a faptului că *nutrienţii* care sunt supuşi metabolismului în *citoplasmă* trebuie să fie traversaţi prin membrana celulară. Raportul suprafaţă / volum este o măsură a câtă suprafaţă de membrană este disponibilă pentru a asigura nutrienţi pentru proteinele din unitatea de volum de citoplasmă. Odată cu creşterea dimensiunii celulei, volumul creşte mai repede decât suprafaţa. *Membrana citoplasmatică* este o barieră selectivă în separarea citoplasmei de mediul exterior. Pentru ca să existe ordine, trebuie ca să fie menţinut controlul asupra la cine intră şi cine iese din celulă. Aceasta este de fapt funcţia membranei celulare. Bariera pentru traversarea necontrolată a membranei este asigurată de un *strat dublu de fosfolipide*. Grupările hidrofile de glicerol ale lipidelor sunt aliniate la periferia membranei în timp ce acizii graşi hidrofobi sunt plasaţi 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 şi divid matricea lipidei. Elementul important este că celulele pot tipurile şi activităţile de transport a proteinelor de control care la rândul lor controlează mişcarea moleculelor înspre şi dinspre celulă. Deşi toate celulele au membrane plasmatice formate din lipide, tipul lipidelor diferă. Eucariote şi *steroli* se regăsesc în membrane. Una din calităţile Archaea-ei, comparată cu *Bacteria* sau *Eukaria* o reprezintă *legăturile eterice* între glicerol şi regiunea hidrofobă a lanţului lipidic comparativ cu *legăturile esterice* prezente în alte organisme. Ca rezultat, lipidele archae-lei au regiuni de lanţ compuse din lanţuri de legături de izopren. Membrana lipidică este o barieră pentru traversarea moleculelor dinspre şi înspre celulă. *Membrana de proteine citoplasmatice* este responsabilă pentru activităţile metabolice asociate membranei. Exteriorul membranei este asociat cu transportul nutrientelor în timp ce transportul electronic prin membrană este iniţiat de faţa 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 încape prin aceste găuri. Existența membranelor celulare se justifică şi altfel; concentrația de solut este în general mult mai mare în interiorul celulei decât în exteriorul membranei plasmatice. 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 didroliza peptidoglicanului de către enzima numită *lizozimă*. Multe bacterii mobile au un sistem de echilibru care le permite să-şi regleze deplasarea în funcție de concentrația *atractanților chimici*. Senzorii care reglează acest echilibru sunt numiți *chemoreceptori*. Trei importante organele prezente în celulele eucariote sunt mitocondrii, cloroplastele şi 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 uşor traversa membrana mitocondriilor. Există de asemeni nişte membrane interne numite *cristai*, care sunt implicate în conversia energiei. Matricea mitocondriilor conține enzime care metabolizează compuşii organici. Cloroplastele conțin la rândul lor membrane interioare (*tilacoizi*) bazate pe pigmenți şi proteine necesare pentru transportul enegiei fotosintetice capturate. Energia şi puterea de reducere generate de fotosinteză sunt folosite în țesuturile de legătură pentru conversia CO_2 la carbon organic. Mitocondriile şi cloroplastele sunt de dimensiunea celulelor procariote, şi din acest motiv se justifică explicația că aceste organele apar când celulele procariote invadează celulele mai mari şi devin *simbioți* ai acestora.

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

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

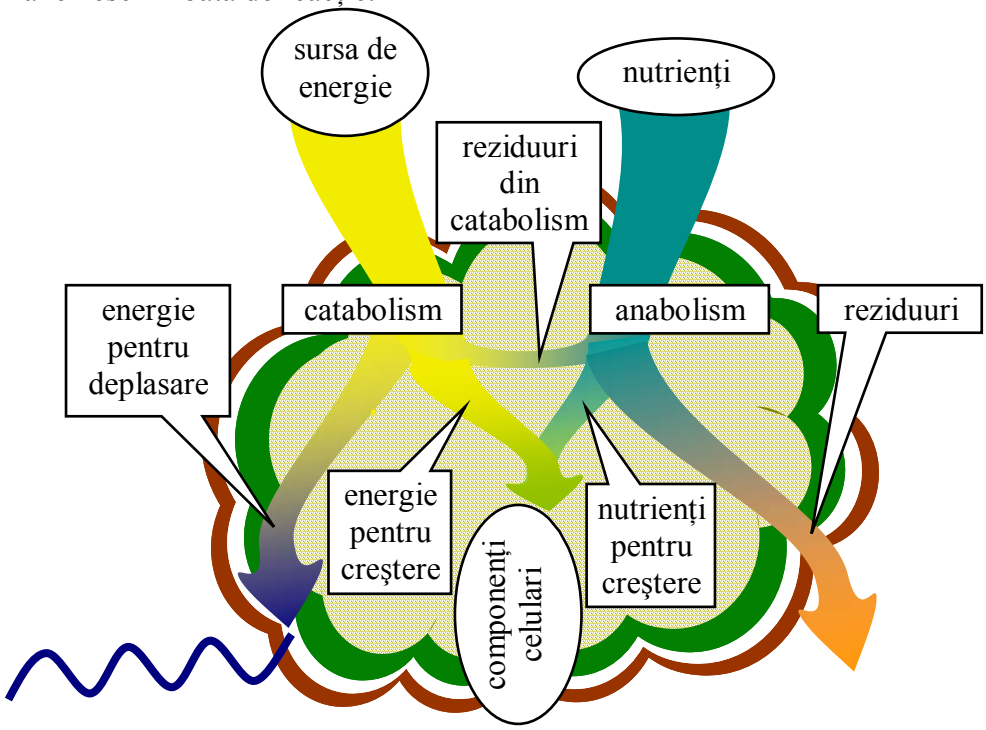
Astfel, proteinele şi acizii nucleici sunt cantitativ cele mai importante componente. La asigurarea unui *nutrient* pentru creşterea unei celule trebuie să se țină seama de ponderea elementelor chimice în celule. *Heterotrofele* necesită carbon organic pentru susținerea biosintezelor de lanțuri carbonice şi necesarul de energie de sinteză. *Azotul*, cel mai frecvent asimilat sub formă de amoniac, este constituentul esențial al proteinelor şi acizilor nucleici. *Fosfații* sunt utilizați uzual ca surse de fosfor pentru sinteza acizilor nucleici şi a fosfolipidelor. Sulful, 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 şi Fe) şi micronutrienți (Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, W, V şi Zn).

Metabolism este termenul care cuprinde toate reacțiile chimice din celulă. Se pot împărți aceste reacții în reacții care sintetizează nou material celular (*anabolism*) şi 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 desfăşurarea reacțiilor anabolice de creştere.

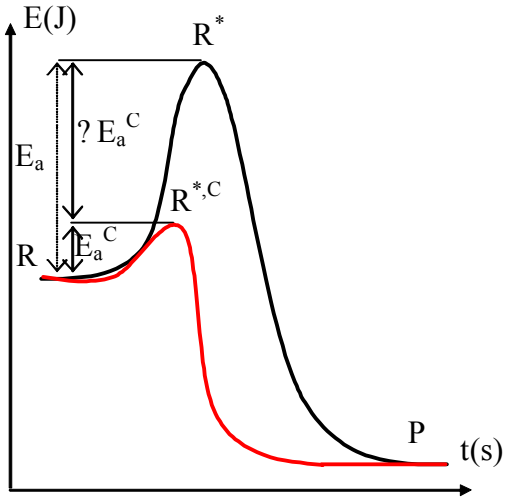
Celulele au pus la punct un mecanism prin care capturează energia eliberată când substanțele sunt *oxidate* în timpul *catabolismului*. Energia se defineşte în acest caz ca abilitatea de a efectua lucru. Cantitatea de energie (lucru) eliberată este cuantificată ca schimbare în *energia liberă* (G). Dacă este eliberată energie într-o reacție, atunci G calculat ca energia liberă din produşi 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 şi 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, şi aceasta necesită o *energie de activare*. Această energie poate fi asigurată prin încălzirea reactanților, dar aceasta nu

este posibil în celule. În celule, *enzimele* funcţionează ca şi *catalizatori* diminuând energia de activare a reacţiei până la punctul la care aceasta decurge la temperatură normală. Catalizatorul (enzima) rămâne neschimbată de reacţie.



Metabolismul celular



Tunelarea energetică cu ajutorul catalizatorilor enzimatici

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

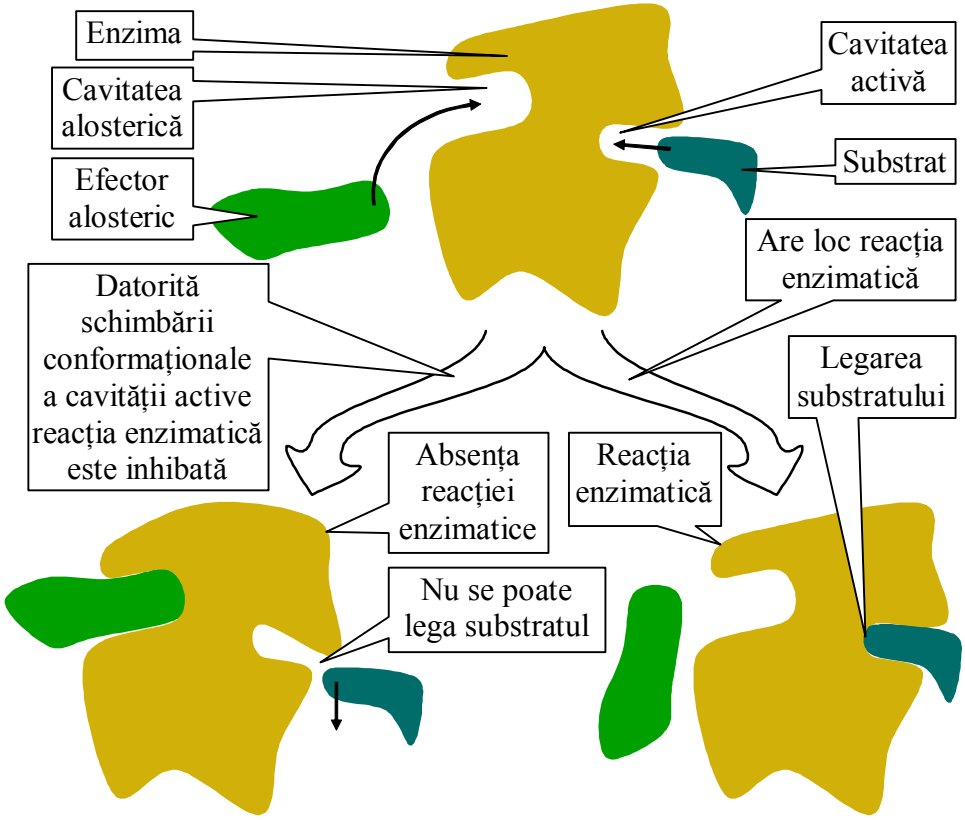
3.4. Genetică şi Inginerie Genetică

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

Chiar dacă multe reacţii enzimatice au loc într-un singur ciclu al celulei, nu toate au aceeaşi amploare. Unii compuşi sunt necesari în cantităţi mari, în timp ce alţii sunt necesari, dar în cantităţi mici. Mai mult, unele proteine sunt necesare în cantităţi mari în anumite condiţii, în timp ce altele în cantităţi mai mici, iar la altele trebuie asigurată o cantitate constantă şi acesta este cazul celor mai

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

Căile *biosintetice* pot fi controlate cu ajutorul *inhibiţiei de reacţie inversă*, ceea ce înseamnă că *produsul final* al întregului lanţ metabolic inhibă activitatea *primei enzime* din lanţ (nu din genă). Dacă prima reacţie nu mai are loc, enzimele următoare sunt "înfometate" de substrat, şi produsul final nu mai este sintetizat. Produsul final se aşează pe prima enzimă într-o *cavitate* diferită de *cavitatea activă*. Această a doua regiune se numeşte *cavitate alosterică*. Aşezarea *efectorului alosteric* schimbă structura tridimensională a proteinei şi în special conformaţia cavităţii active. Astfel, substratul nu se mai poate aşeza în cavitatea activă şi reacţia enzimatică este inhibată până când *inhibitorul de reacţie inversă* nu părăseşte cavitatea alosterică.



Mecanismul enzimatic celular

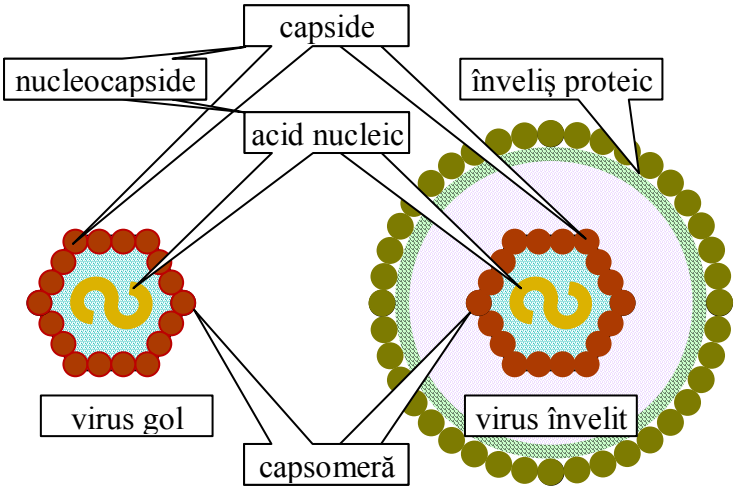
A doua modalitate de a altera activitatea enzimei este prin *modificare covalentă*. O *enzimă modificator* catalizează adiţia (prin legătură covalentă) a unei grupări fosfat, metil sau a unei nucleotide la o enzimă biosintetizatoare. Această adiţie alterează conformaţia cavităţii active a enzimei biosintetice şi prin aceasta şi activitatea ei. Gruparea modificatoare poate apoi fi extrasă cu ajutorul altei enzime modificator şi astfel se restaurează activitatea iniţială a enzimei biosintetice.

Viruşii sunt *elemente genetice necelulare* care conţin acid nucleic înconjurat de un scut proteic. Ei sunt mai mici decât celula şi dimensiunile acestora variază de la 0.02 μm la 0.03 μm. Spaţiul dintre scutul proteic şi virus este metabolic inert iar forma "dezbrăcată" a virusului (de peretele proteic) se numeşte *virion*. Deoarece viruşii nu posedă instrument metabolic, aceste elemente genetice trebuie să invadeze (*infecteze*) celulele şi să folosească ribozomii, enzimele şi potenţialul catabolic al celulei gazdă pentru a se putea reproduce.

Bacteriile, animalele şi plantele sunt susceptibile la anumiţi viruşi. 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 şi o moleculă de zahar (dezoxiriboză sau riboză);

Viruşii nu sunt restricţionaţi la prezenţa lanţurilor duble de DNA ca material genetic. DNA-ul viruşilor poate fi un lanţ simplu în timp ce RNA, ca lanţ simplu sau dublu poate servi ca material genetic. Materialul genetic viral este localizat în interiorul unei proteine numite *nucleocapsidă*. Această formă neobişnuită de material genetic creează probleme unice în replicarea genomului şi producerea de mRNA. Genomul poate de asemenea să fie segmentat în mai multe molecule în interiorul cuştii proteice. Cuşca proteică constă dintr-un număr de subunităţi proteice (*capsomere*) care fiecare formează câte o spirală sau o structură cu 20 de feţe (*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 şi permit ca să aibă loc interacţiuni similare cu interacţiunile proteină-proteină între subunităţile proteice identice şi de aceea se pot *autoasambla*.



Structura unui virus

Acestea sunt elementele minimale pentru un virion. Unii viruşi pot avea alte structuri, cum ar fi cozi sau perişori, care sunt importante în infecţia celulelor. Alţii, cu precădere câţiva viruşi 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 şi purifica gene într-un proces numit *clonare de gene*. Strategia urmărită în clonare este de a izola şi recupera gene specifice de la un genom mare şi complex şi de a-l insera într-o genă simplă şi uşor de manipulat. t-DNA (*total*) este izolat de la un organism şi este decupat în piese mai mici folosind o *endonuleză de restricţie* specifică. Enzima de restricţie realizează o tăiere a lanţului dublu de DNA într-o secvenţă specifică (*palindrom*). Astfel, la sfârşitul tăierii moleculei, se obţin secvenţe simplu înlănţuite. Dacă această preparare a *fragmentelor de restricţie* este amestecată cu un *vector de clonare* şi tăierea se face cu aceeaşi enzimă de restricţie, moleculele hibride se obţin dintr-un fragment de origine DNA inserat într-un vector de clonare DNA. Amestecul de molecule recombinate este introdus într-o bacterie gazdă pentru a genera *librăria DNA*. Aceasta înseamnă că clonele bacteriene individuale conţin molecule de r-DNA (*recombinant*). Dacă vom examina suficiente clone, probabilitatea ca să găsim toate fragmentele de restricţie în sursa de DNA există.

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

Cea mai studiată gazdă de microorganisme pentru r-DNA este *Esterichia coli* (*E. coli*). Potenţialul său de *patogeneză umană* aduce câteva neajunsuri în producţia industrială, iar inabilitatea sa de a *secreta* 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:

- produşi microbieni ca *antibioticele*;
- *vaccinuri* care protejează împotriva viruşilor;
- proteine *mamaliene*;
- plante şi 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 uşor utilizate pentru a obține largi cantități din acestea. *Insulina* umană, factorul uman de creştere, *hormonul paratiroidei* şi *atriopeptina* sunt exemple de aceste tipuri de proteine. Tehnologia de producere a insulinei ilustrează că în afara problemelor ridicare de exprimarea genei şi alți paşi 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 roşii), un număr considerabil de *interferoni* (compuşi antivirali) şi *interleucina* (stimulează limfocitele T), pentru a menționa doar câțiva dintre aceştia.

Vaccinurile virale sunt imperfecte deoarece constau din viruşi morți. Dacă nu toți viruşii sunt morți, inocularea vaccinului poate cauza infecție. Sistemul nostru imunitar răspunde doar la schelete proteice. Astfel, dacă clonăm gena proteică virală şi 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 ineficient deoarece proteina virală este modificată chimic (de exemplu prin adiția 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 aşteaptă 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 produşi cu valoare comercială.

Termenul de *ferment*, când este folosit în contextul microbiologiei industriale desemnează o gamă variată de procese microbiene desfăşurate 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 creşterea în absența unui receptor electronic extern, în timp ce în contextul microbiologiei industriale, acest termen referă creşterea unor mari cantități de

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

Oricum, conformaţia este modificată pentru a mării randamentul produsului. Aceasta presupune un întreg lanţ de mutaţii, cu selecţia atentă a clonelor rare care sintetizează un mai mult sau mai bun produs. Conformaţia aleasă este puţin probabil să supravieţuiască în natură, deoarece procesul de selecţie a alterat controlul regulator al celulei pentru a produce *dezechilibrul metabolic*.

Caracteristicile urmărite sunt:

- creştere rapidă;
- stabilitate genetică;
- absenţa toxicităţii umane;
- dimensiune mare a celulei, pentru extragere simplă din mediul de cultură.

Există câteva colecţii de culturi importante care depozitează şi menţin 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 şi conservarea de gene de plante.

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

Banca de Gene din Suceava (aprilie 2001)

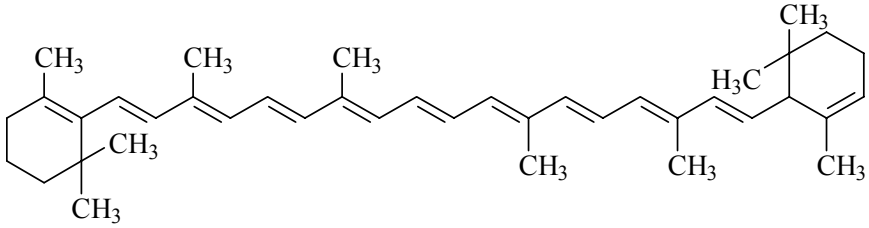
Depozitarea genelor la Banca de Gene din Suceava (aprilie 2001)

Metaboliţii pot fi produsele majore ale catabolismului sau compuşi produşi normal în cantităţi 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 şi ceilalţi microbiologi, iar obiectivul este de a produce cantităţi foarte mari, uneori măsurate în milioane de litrii odată.

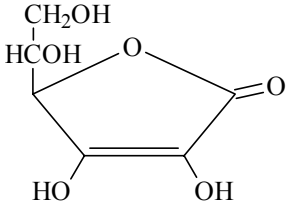
Industria farmaceutică este un important utilizator de microbi. Pentru mulţi ani, antibioticele şi *hormonii steroizi* au fost produşi de microbi. Ingineria genetică a făcut posibil ca bacteriile să producă o mare varietate de substanţe mamaliene care sunt importante din punct de vedere medical.

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

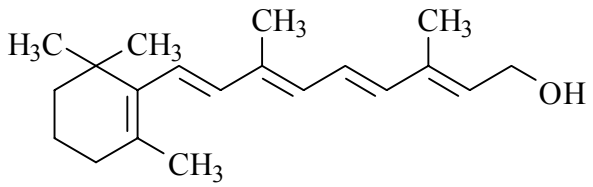
Câteva substanţe speciale sunt mult mai economicos de produs de microbi. Acestea includ câţiva aminoacizi şi vitamine.



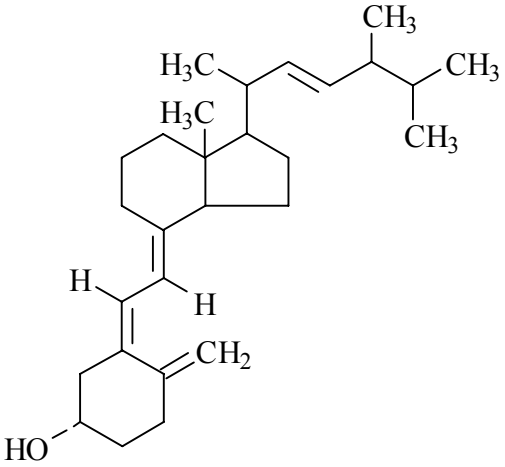
β-Carotene (Provatene, Carotaben, Solatene)



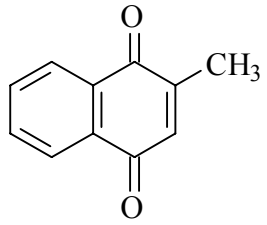
Vitamin C (Ascorbic Acid, Cevitamic Acid, Testascorbic)



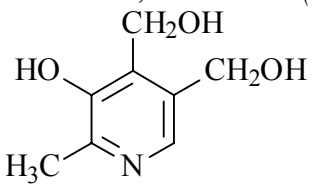
Vitamin A (Biosterol, Acon, Afaxin, Apostavit, Atav)



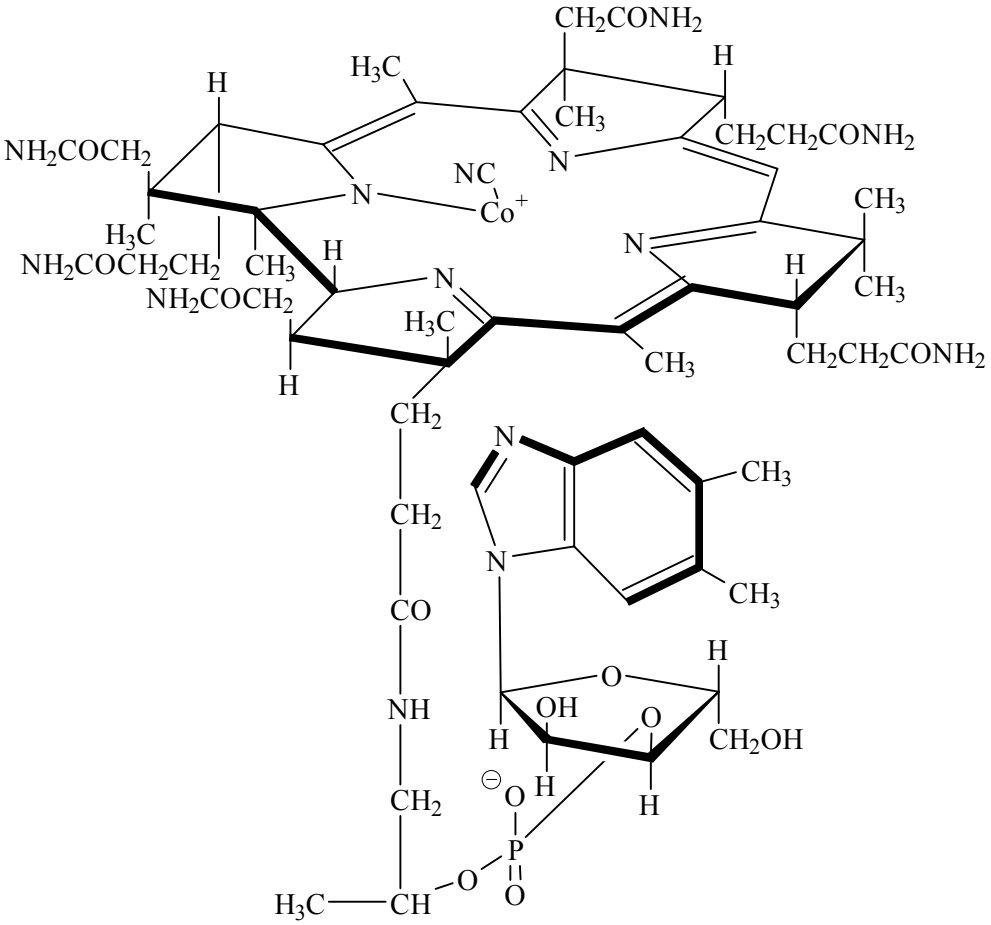
Vitamin D2
(Calciferol, Ergocalciferol, Radsterin)



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



Vitamin B6 (Pyridoxine)



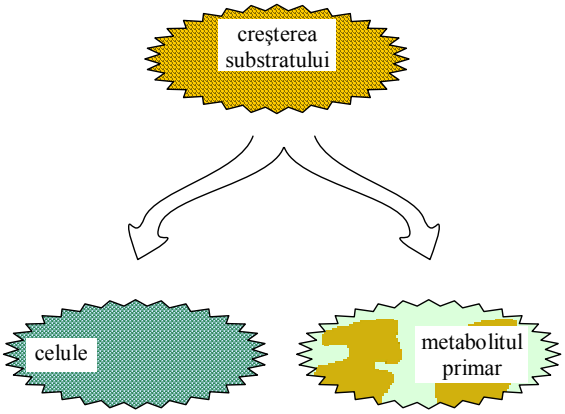
Vitamin B12 (Cyanocobalamin, Antipernicious anemia principle)

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

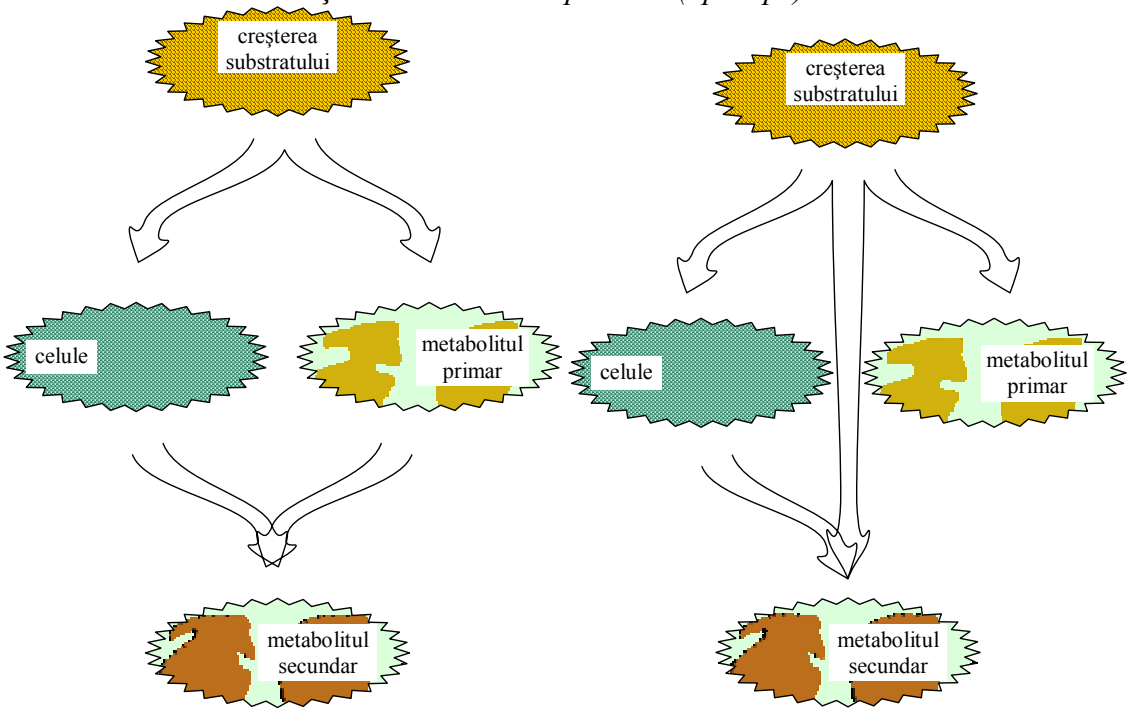
Mulți dintre cei mai importanți *metaboliți industriali* sunt *metaboliți secundari*, produşi în faza staționară a culturii după ce producția de biomasă a fost epuizată. Aceşti compuşi nu sunt esențiali pentru creşterea microbului. Sinteza lor este în mod obişnuit în mare măsură regulată de celulă. În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

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

În metabolismul secundar, se pot distinge 2 faze: *trofofaza*[2] şi *idiofaza*[3]. Trofofaza este faza de creştere a culturii iar idiofaza este timpul în care metaboliții secundari se formează. Succesul idiofazei depinde de trofofază.



Celulele şi metabolitul sunt produse (aproape) simultan



După ce celulele şi metabolitul primar sunt produse celulele convertesc metabolitul primar în metabolitul secundar şi după ce celulele şi metabolitul primar sunt produse, creşterea 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 şi de conținutul mare de biomasă din vasul de fermentare.

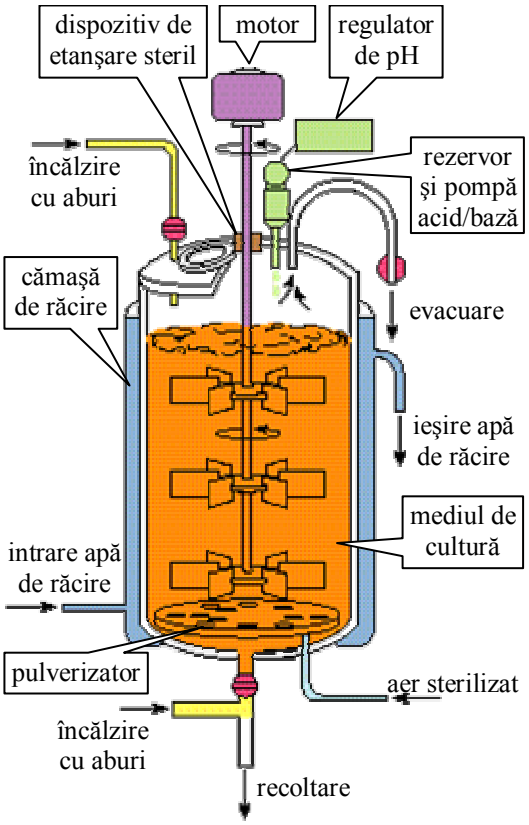
Biomasa mare este de aşteptat să crească cantitatea de produs format, dar creează necesitatea asigurării unei enorme cantități de oxigen. În plus, descendentul care a lucrat bine la scară mică poate nu va lucra eficient la scară mare, sub condițiile de mediu diferite din vasul de fermentare.

---

[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 şi cu o biomasă foarte concentrată. Vasele de fermentare sunt construite din oțel inoxidabil şi au o cămaşă exterioară prin care se asigură răcirea în timpul fermentării.



Schema constructivă a unui vas de fermentare

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

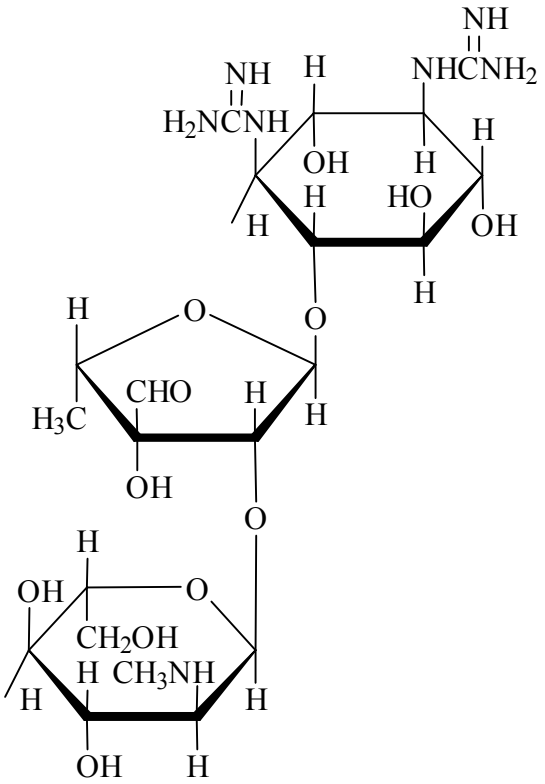
Organismele utilizate în procesele industriale trebuie să fie conservate cu atenție astfel încât calitățile genetice să nu fie alterate datorită mutației. Se poate recurge la depozitarea în formă înghețată în azot lichid sau liofilizarea.

Antibioticele sunt de departe cei mai importanți compuşi produşi de microbi pe cale industrială. Foarte utili sunt metaboliții secundari produşi de fungii *filamentari* şi 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* şi efect în animale infectate înainte ca producția comercială să se desfăşoare. 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 şi eficiente. După ce se validează aceste noi substanțe, se pune la punct tehnologia de obținere a unui randament ridicat şi 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 şi cefalosporine. Acestea sunt deosebit de utile deoarece ținta lor de acțiune sunt compuşii care nu sunt conținuți în eucariote – peptidoglicanul din peretele celular. Aceştia inhibă sinteza sa prin inhibiția reacției de *transpepdidizare*.

Streptomicina, un antibiotic *aminoglicozidic*, ilustrează că chiar dacă antibioticele sunt gândite a fi antibacteriene, totuşi ele pot cauza efecte secundare în animale. Astfel de compuşi sunt ţinuţi în rezervă, pentru a fi utilizaţi în tratament doar în cazurile în care alte antibiotice eşuează.

Tetraciclina este un antibiotic cu spectru larg de acţiune efectiv împotriva speciilor Gram pozitive şi Gram negative. Acesta, şi antibioticele pe bază de lactam sunt foarte utile medical. Au fost folosite în aplicaţii medicale, cum ar fi suplimente pentru animale, dar ele favorizează instalarea genelor încriptate de rezistenţă la antibiotice şi fac terapia cu antibiotice mai puţin efectivă.



Streptomycin (Streptomycin A)

Vitaminele şi aminoacizii (tab. 1) sunt utilizate ca suplimente în hrana umană şi animală. Unii dintre aceşti produşi sunt sintetizaţi cel mai economic de către bacterii, dacă se obţin descendenţi cu înalt randament şi superproducţie. În general, aceasta implică inactivarea mecanismelor regulatoare, care ţin de biosinteza substanţelor, în aceeaşi măsură în care celulele îşi formează elementele constructive. Un scop este de a găsi mutanţii care cresc în prezenţa analogilor chimici ai aminocidului. Acestea oferă însă un slab control de întoarcere al activităţii enzimei.

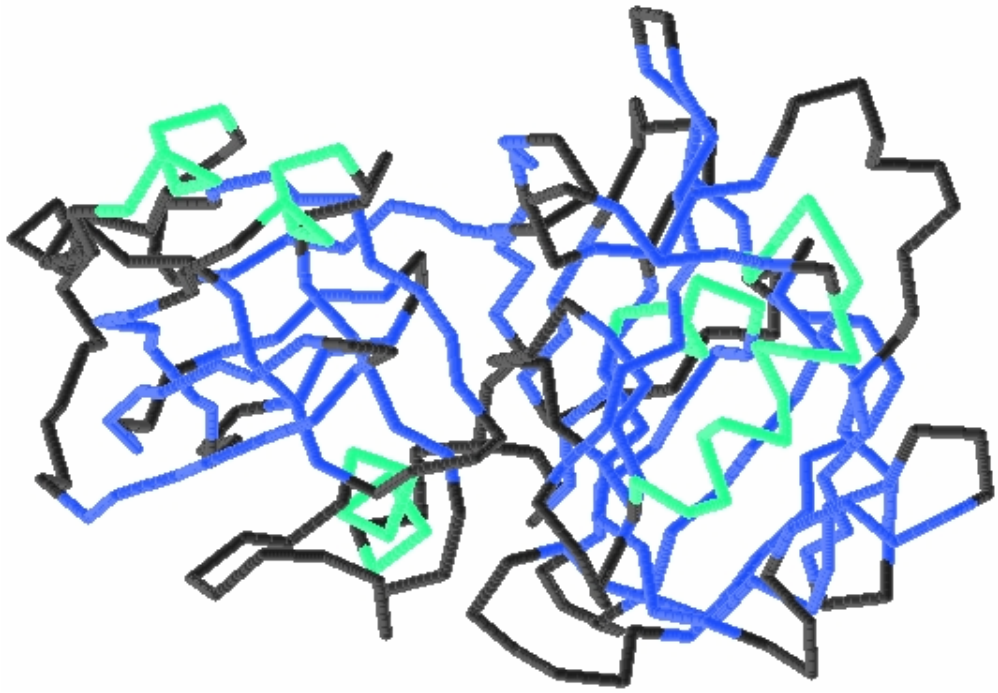
În anumite procese industriale microbii sunt utilizaţi doar pentru a conduce doar anumite reacţii biochimice. Mecanismul de formare a produsului respectă cu stricteţe regulile chimice. Un exemplu de acest tip este bioconversia în etape a hormonilor steroidici.

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

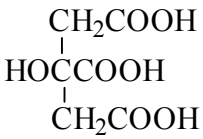
O altă enzimă microbiană importantă este renina, care este foarte folosită în producţia de brânză. Oţetul poate fi produs de *bacteria acidului acetic*, dacă oxigenul este asigurat. Sunt mai multe metode industriale de a realiza reacţia aceasta. Acidul citric este produs de fungul *Aspergillus niger*. Fermentaţia industrială a fungilor poate să apară la suprafaţa unui lichid sau în masa de lichid. În *procesele de suprafaţă* mediul poate fi atât solid cât şi lichid. Celulele de drojdie[4] sunt cei

[4] drojdie = orice fungus unicelular al genului *Saccharomyces*, în special *S. cerevisiae*, ce se reprodce prin construcţia de ascospori şi capabil să fermenteze carbohidraţii.

mai folosiți microbi în industrie. În condiții anaerobe, ei fermentează zaharurile la alcool, şi sunt la baza industriei vinului şi berii. Vinul este sucul fermentat al fructelor, de obicei struguri. *Mustul* este produs prin strivirea fructelor şi 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, ş. a.). Boabele sunt zdrobite, după care sunt coapte şi 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)



Acidul citric

3.6. Ecologia Microbiană

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

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

- condițiile fizice şi chimice în *micromediul* în care organismele microscopice se află poate să difere de ceea ce noi în mod obişnuit măsurăm în unitatea de probă pe care o colectăm;
- există limite de rată de creştere în cele mai multe medii naturale; mai mult, asigurarea nutrienților poate să nu fie continuă, poate surveni în pulsuri, astfel încât creşterea 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 nutrientului este mare aici;
- speciile microbiene concurează pentru nutrientul din mediu.

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

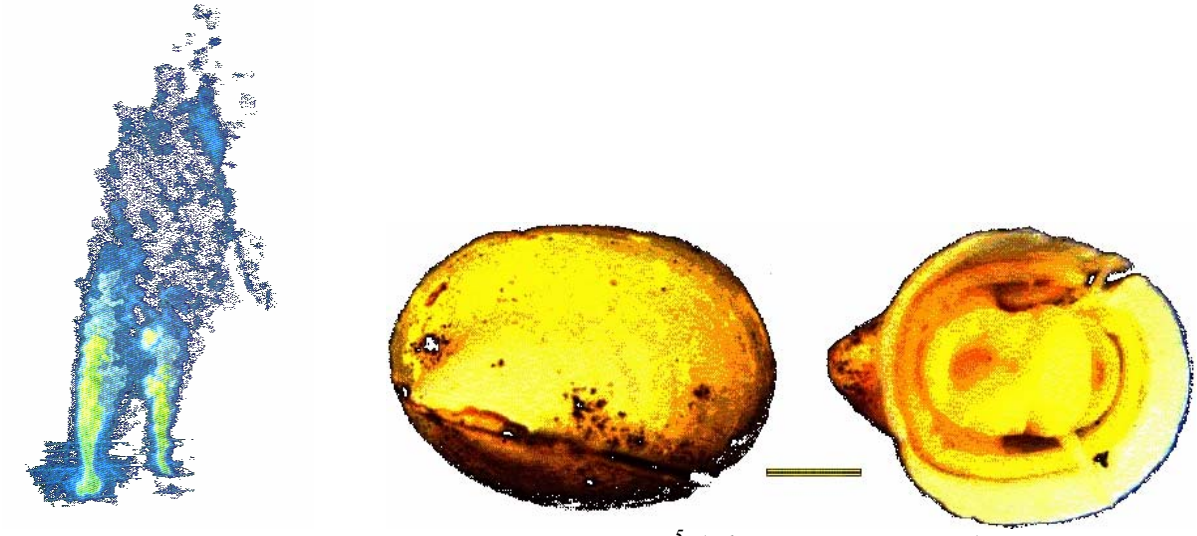
Producerea materiei organice în *habitatele acvatice* este făcută în primul rând de microorganismele fotosintetice, *producătorii primari*. Rata producției primare este determinată de condițiile fizice din mediu şi de resursa de nutrienți anorganici. De exemplu, sunt puțini nutrienți disponibili în largul oceanului şi producția primară este în general foarte mică în comparație cu zonele de coastă. Mediile acvatice în care apar gradienți 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 şi viitoarele metabolisme chemoheterotrofe trebuie să folosească procese anaerobe. Condițiile anaerobe exclud animalele mari din strat.

Formarea *solului* implică procese fizice, chimice şi 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 şi în condiții uscate) şi de starea nutrienților.

Lucrări recente sugerează că microbii pot exista la mai multe sute de metrii 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 ºC şi presiunea hidrostatică depăşeşte 100 de atmosfere. În consecință, este foarte puțină activitate biologică în aceste regiuni [6]. Există totuşi câteva regiuni în adâncul oceanului care prezintă o înaltă activitate biologică. Acestea sunt *nişele hidrotermale* din care se emană ape calde bogate în minerale.

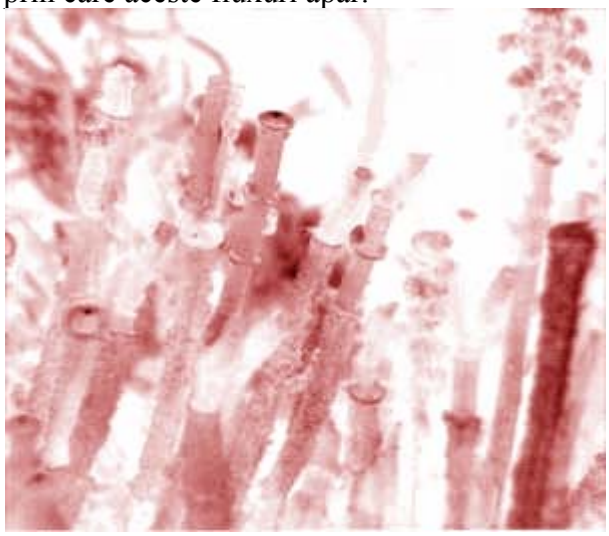


O nişă oceanică în erupție şi Limpet[5] (Clypeosectus Curvus),
unul dintre animalele gazdă ale bacteriilor chemolitotrofe S-oxidante

Apa conține compuşi de sulf redus care servesc ca sursă de energie pentru *chemolitotrofii S-oxidanți*. Aceste bacterii autotrofe execută aceleaşi 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 nişelor. 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 aceşti microbi. Bacteriile oxidatoare de sulf sunt localizate în branhiile scoicilor şi midiilor. Animalele pot trăi pe excrețiile de materie organică şi celule bacteriene moarte. Viermii tub conțin o *hemoglobina* neobişnuită care poate transporta H_2S la bacteriile din trofozom fără să omoare animalul. Din studiile făcute pe sursele de apă din zone în care temperatura poate ajunge la 380 ºC, rezultă că cea mai mare temperatură la care există organisme vii este de 150 ºC. Transformările carbonului conduc ciclul tuturor celorlalte elemente, deoarece toate acestea necesită energie produsă prin fotosinteză sau catabolismul compuşilor organici. Cele mai importante fluxuri de carbon sunt către bioxidul de carbon atmosferic

[5] limpet: una dintre numeroasele moluşte marine gasteropode din familiile Acmaeidae şi Patellidae, cu un perete conic caracteristic şi care aderă la rocile din zonele tidale.
tidal: o variație periodică în nivelul suprafeței oceanelor, mărilor, bazinelor, golfurilor şi estuarelor cauzată de atracția gravitațională a soarelui şi lunii.

şi materia organică vie sau nevie. Fixarea dioxidului de carbon prin fotosinteză şi 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 aceşti monomeri în acizi organici, H_2 şi CO_2;
- *bacteriile oxidatoare cu acizi graşi* convertesc acizii graşi la acetați, H_2 şi CO_2;
- compuşii rezultați sunt folosiți ca substrat de către *bacteriile metanogenice* pentru a produce CH_4.

Oricum, produşii finali ai descompunerii anaerobe sunt gazele CO_2 şi CH_4. Bacteria oxidatoare cu acizi graşi 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 şi mlaştini, tot aşa cum şi în rumen[6].

4. Biochimie

4.1. Chimia Celulei Vii

Biochimia poate fi împărțită în două nivele de studiu:

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

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

$$NH_3 + NCOH \rightarrow NCO^-NH_4^+ \rightarrow_{\Delta} (H_2N)_2CO$$

acid cianic cianat de amoniu uree

Se poate porni în studiul biochimiei pe cale fizică şi chimică uzând de caracterizarea structurală sau din perspectivă biologică prin caracterizarea celulelor şi organismelor vii. Oricum aceste două căi au convers spre acelaşi punct odată cu caracterizarea DNA de către Watson şi Crick în 1952. În tabelul 2 sunt redați aceşti paşi 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 şi din care este mai târziu întoarsă în gură pentru o mai îndelungată mestecare.

Tabelul 2. Căile către biochimia modernă

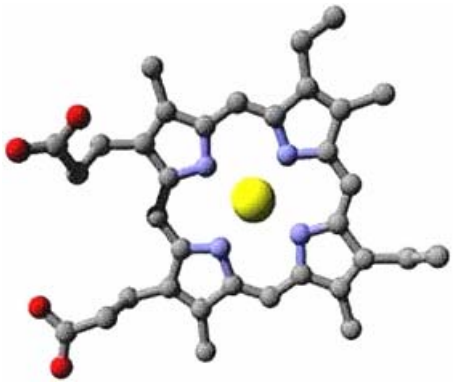
Biologie	Anii	Chimie şi Fizică
Nucleul celular Teoria celulei	1830- 1849	Sinteza ureeei
	1850- 1869	Chimia este folosită pentru caracterizarea biologiei
Descoperirea genetică a DNA	1870- 1889	
Genetica drosofilei	1890- 1909	Descrierea fermentației Cristalizarea ureazei
Microscopie electronică	1910- 1929	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 compuşi utilizați în sistemele vii. Câteva exemple sunt:

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

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



Hemul

Dintre polimerii sistemelor vii se pot enumera:

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

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

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

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

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

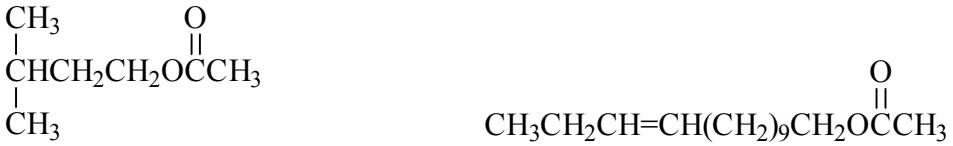
4.3. Circuitul Informației

Se poate schematiza transferul informației biologice prin:

DNA → RNA → Proteină → Structura şi funcțiile celulei

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

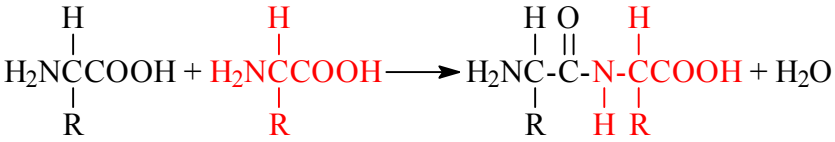
Comunicarea între celule se face prin intermediul substanțelor. Una sau mai multe substanțe sunt eliberate în mediu de către organismul viu. Alte organisme pot detecta aceste substanțe chiar şi în cantități foarte mici. Feromonii sunt un astfel de exemplu:



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

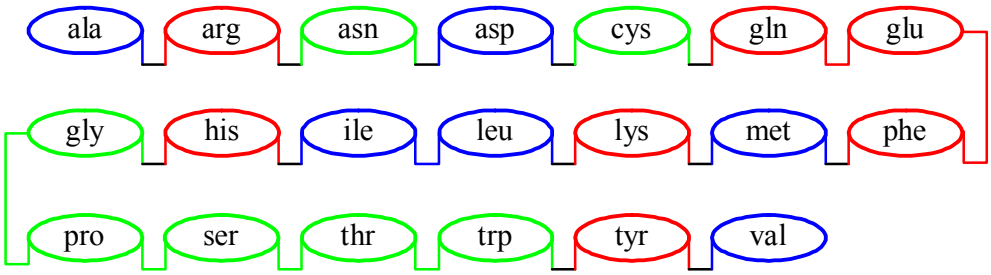
4.4. Proteine

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

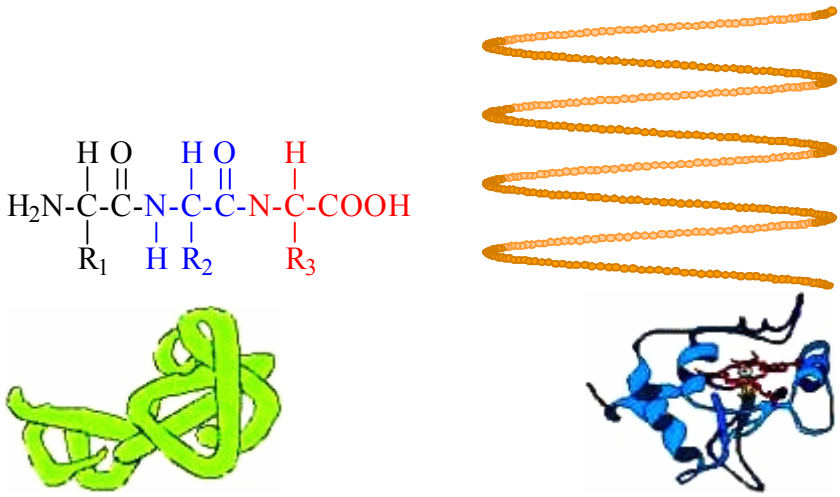
Aminoacizi în proteine se leagă în succesiuni variate (vezi tabelul 1):



Secvență de lanț de aminoacizi într-o proteină

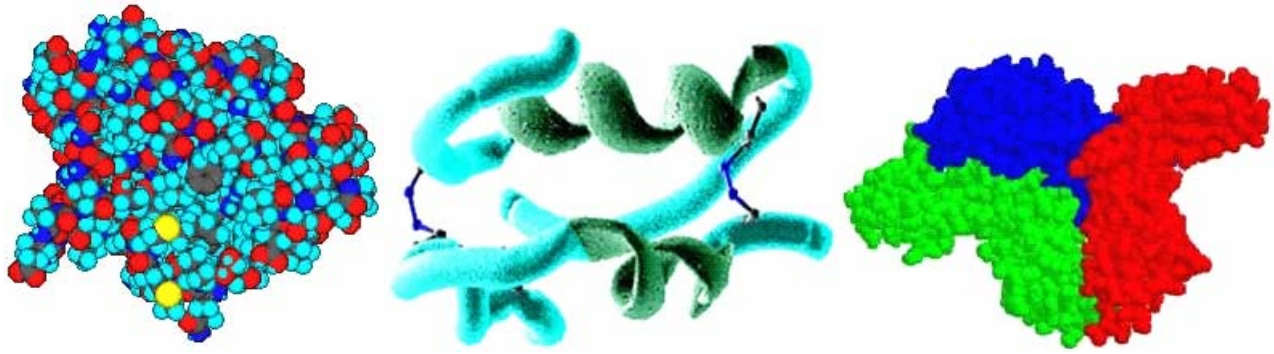
Odată încorporat în proteină, un aminoacid se numeşte reziduu. O polipeptidă se numeşte un lanț format din până la 100 de reziduuri iar proteina conține mai mult de 100 de reziduuri. Ca ordin de mărime, este de reținut că cele mai multe peptide şi proteine izolate de la celule conțin de la 2 la 2000 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 şi 220 kg/mol.

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



Structura primară, secundară, terţiară şi cuaternară a unei proteine

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



Permeaza, proteina care asistă transportul cellular, Insulina umană (51 reziduuri, 3 legături încrucişate S-S), Hormonul de creştere 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 dinainte de anul 1910, iar metoda modernă de cromatografie de afinitate a fost publicată prima dată în 1967 de Axen şi alţii în lucrarea „Metoda bromitului de cianogen pentru imobilizarea liganzilor pe agar”. Ohlson (1978) a fost primul care a demonstrat eficienţa utilizării unui suport rigid microparticulat şi acesta a fost începutul metodelor instrumentale.

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

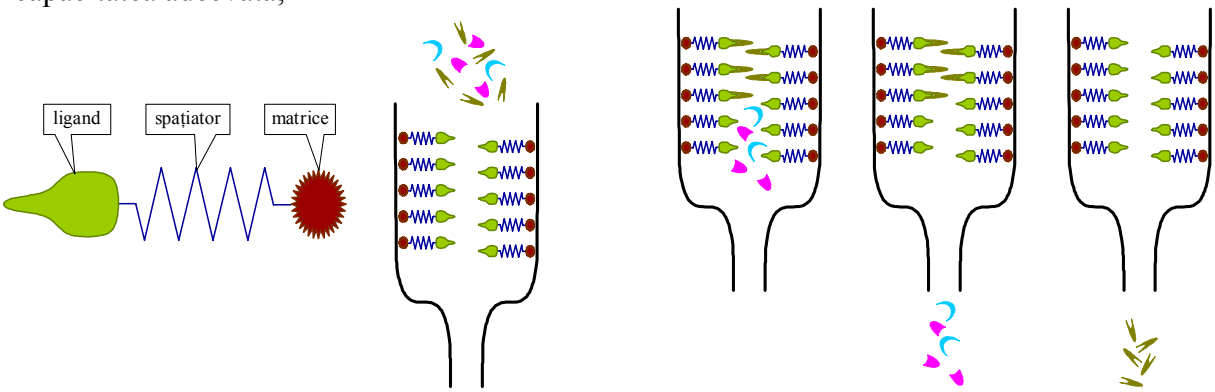
Sunt astfel două tipuri de liganzi:

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

Elementele cromatografiei de afinitate sunt:

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

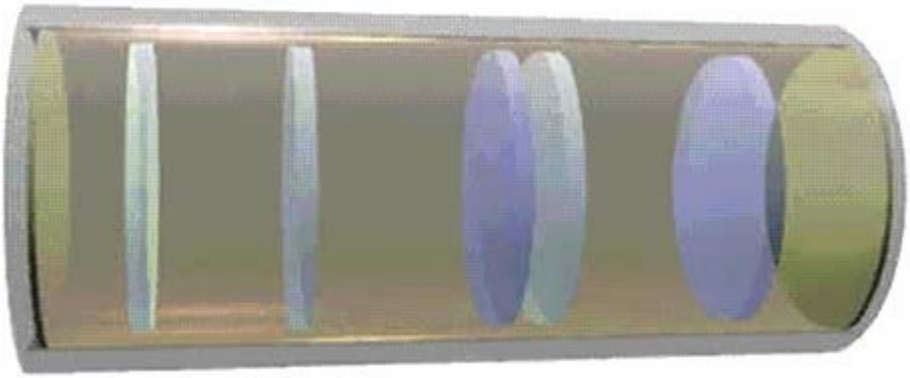
- ligandul, gelul de agaroză este un polimer al D-galactozei şi al 3,6-anihidro-L-galactozei şi poate fi folosit la o presiune de 1 atm. şi într-un interval de pH de la 4 la 9;
- introducerea probei este ilustrată mai jos, când trebuie să se aibă grijă ca coloana să aibă capacitatea adecvată;



Cromatografia de afinitate, eluarea şi spălarea de impurităţi în cromatografia de afinitate

Adsorbţia se realizează utilizând un debit mic, şi eluentul ajută direcţionarea moleculelor din probă către zonele libere. Odată fixate, se pot spăla impurităţile prin traversarea unei cantităţi de solvent prin coloană. La final, componentul de interes trebuie să fie înlăturat şi colectat. Această operaţiune este de fapt regenerarea coloanei.

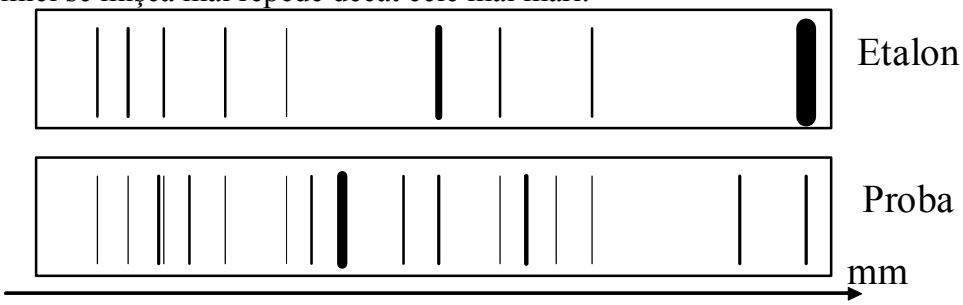
Electroforeza este o metodă de separare care ţine seama atât de dimensiunea cât şi de sarcina particulelor. În această metodă probele sunt supuse unui câmp electric şi unde acestea au tendinţa de migra pe poziţii anume în câmp.



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 (poziţia acestor linii dau originea proteinei iar lăţimea benzii indică cantitatea de aminoacizi de unde se obţine masa proteinei.

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



Interpretarea unei electroforegrame

4.6. Carbohidraţi

Carbohidraţii sunt compuşi ce conţin C, H şi O, şi au formula generală $C_x(H_2O)_y$ având toţi grupări C=O şi –OH. Se clasifică după:

- dimensiunea bazei carbonice din şir;
- numărul de unităţi de zahar;
- localizarea legăturii C=O (aldoze, cu legătura C=O la capăt de şir şi cetoze, cu legătura C=O în mijlocul lanţului carbonic);
- stereochimie.

Tipuri de carbohidraţi:

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

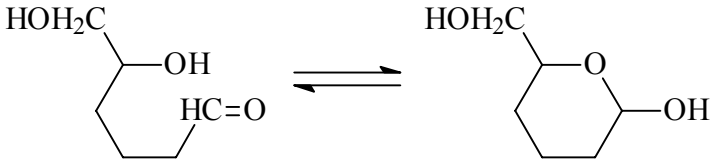
Legăturile se realizează prin intermediul atomilor de oxigen –O– numite legături glicozidice.

Cele mai importante monozaharide sunt:

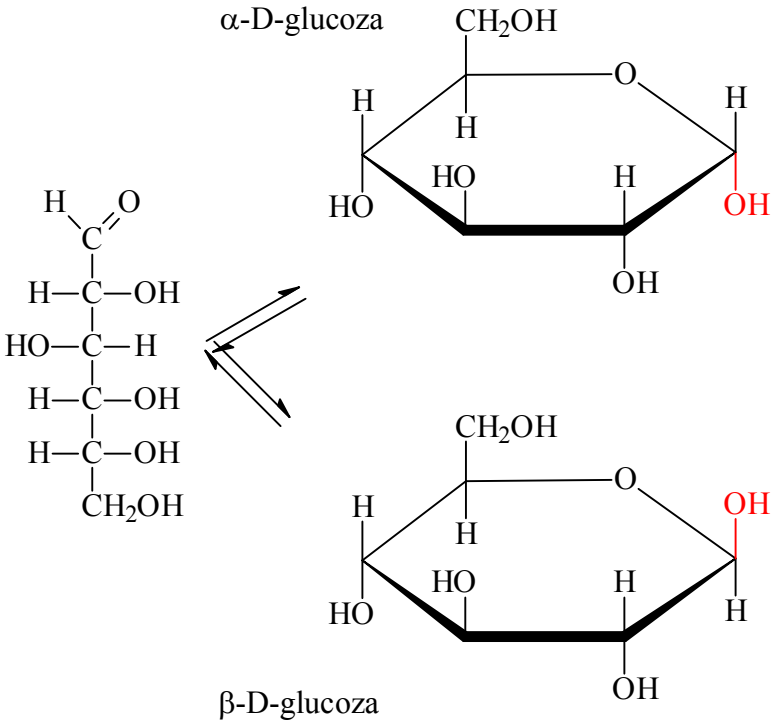
- D-gliceraldehida, cel mai simplu zahar;
- D-glucoza, cel mai important zahar în dietă;
- D-fructoza, cel mai dulce dintre toate zaharurile;
- D-galactoza, parte a zaharului din lapte;
- D-riboza, folosit în construcţia RNA.

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

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



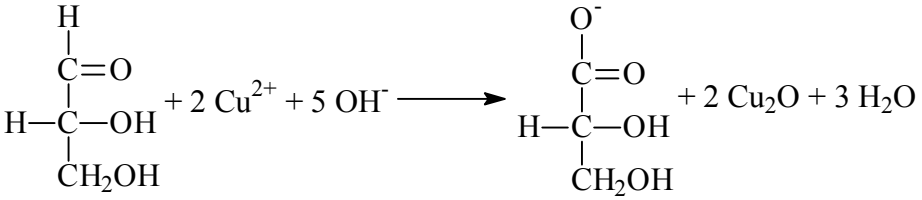
Ciclicizare intramoleculară



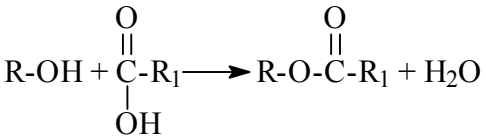
Ciclicizarea D-glucozei

Reacțiile pe care le dau monozaharidele sunt specifice şi cuprind:

- Oxidoreducerea, necesară pentru descompunerea lor completă:



- Esterificarea, producere de esteri fosfați:



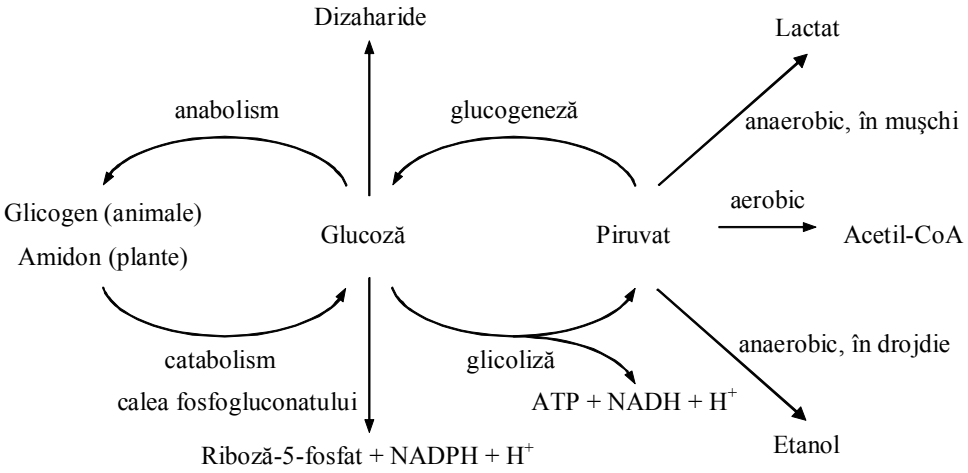
- Derivarea aminică, utilizată pentru a produce componenți structurali ca glicoproteinele;
- Legarea glicozidică, legarea monozaharidelor pentru a forma polizaharide.

În tabelul 4 sunt redate 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:

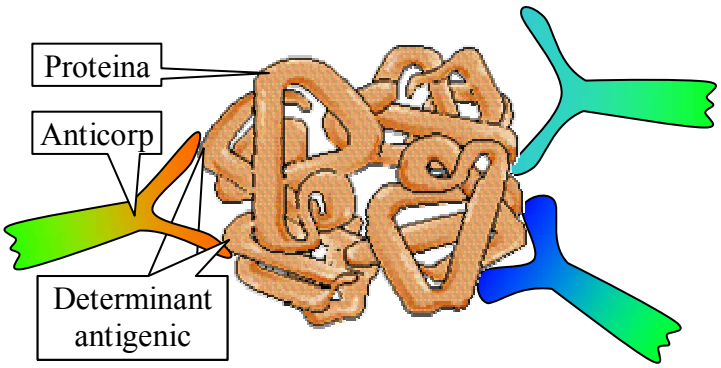


Metabolismul energetic al glucozei

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 şi 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 şi poate face distincția între moleculele străine şi moleculele proprii.



Mecansimul de acţiune al anticorpilor

Definiţiile pentru antigen şi 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 şi alte macromolecule sunt de asemenea imunogenice. În ciuda dimensiunii sale mari, un anticorp specific reacţionează numai cu o mică parte a moleculei imunogenice.

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

5.2. Imunologie Clinică şi Diagnostic Microbiologic

Această secţiune descrie principiile clinice şi diagnosticarea microbiologică care sunt folosite la izolarea şi identificarea bolilor cauzate de agenţii patogeni.

Diagnosticul şi tratamentul bolilor infecţioase pot fi soluţionate prin rapida identificare a microbului responsabil. Tehnicile tradiţionale de izolare, identificare şi testare a susceptibilităţii 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 ţesutul infectat şi fluide trebuie luat cât se poate de aseptic şi 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 instanţe pot fi identificate prin selectarea speciilor care se doreşte a fi izolate, prevenind astfel ca ele să fie contaminate cu floră normală. Dacă sunt membrii ai florei normale care se află în ţesutul care face parte din probă, probabil acesta o contaminează. Metode speciale sunt folosite pentru a lua probe de sânge, urină, materiale fecale şi de alte organite sau ţesuturi.

Poate cel mai important instrument în izolarea patogenilor din probe luate de la indivizi infectaţi este folosirea *condiţiilor restrictive de creştere*. De exemplu, probele incubate în condiţii anaerobe în mod evident vor preveni creşterea bacteriilor aerobe. Dacă anumite caracteristici unice ale patogenului sunt cunoscute, acestea pot fi încorporate în construcţia mediului de incubaţie.

De exemplu, *Martin-Thayer Agar* conţine câteva antibiotice la care *Neisseria gonorroeae* este rezistent. Acesta este un exemplu de *mediu selectiv* care conţine compuşi care inhibă microbii nedoriţi, dar nu şi bacteria de interes. *Mediile diferenţiate* sunt utile pentru identificarea bacteriilor izolate deoarece acestea permit reacţii ca producerea de acid, hemoliza celulelor roşii ale sângelui, sau producerea de hidrogen sulfurat. În practica actuală multe medii au atât proprietăţi selective cât şi diferenţiate.

Pentru a finaliza identificarea unui izolat, o bancă de medii diferenţiate şi teste biochimice pot fi folosite. Aceste teste decurg în prezenţa unei enzime specifice în condiţiile de creştere care sunt asigurate. Prin compararea rezultatelor obţinute de la un izolat necunoscut şi 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 anume tip de antibiotic este stabilită prin *metoda Kirby-Bauer*. O cultură de bacterii este împrăştiată pe o plăcuţă de agar plană şi discurile conţinând diferite antibiotice sunt plasate pe platan. Antibioticul difuzează pe agar. dacă bacteria este rezistentă la antibiotic, o serie de descendenţi se vor dezvolta pe disc. dacă nu, dicul va rămâne gol în acea porţiune. Dimensiunea zonei "moarte" este proporţională cu eficacitatea antibioticului. *Concentraţia minimă de inhibiţie* a unui antibiotic pentru o specie bacteriană este determinată prin inocularea unei serii de tuburi conţinând diferite concentraţii de antibiotic şi observarea celei mai mici concentraţii la care nu are loc creşterea.

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 referinţă* împotriva patogenilor cunoscuţi.

Anticorpii fluorescenţi pot fi vizualizaţi microscopic după ce se leagă de un specimen. Oricum, *specificitatea* anticorpilor policlonali poate fi o problemă. Membrii florei bacteriilor normale pot avea o suprafaţă a antigenilor similară cu a patogenului şi reacţionează încrucişat cu antiserul de referinţă. această problemă poate să apară din nou la utilizarea *anticorpilor monoclonali*. Dacă un anticorp monoclonal reacţionează numai cu un anumit component de suprafaţă, el poate detecta un lanţ particular al bacteriei. În contrast, câţiva determinatori antigenici au efecte similare pentru specii diferite. Un anticorp monoclonal care reacţionează 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 şi utilizat în afişarea programatică a masei. Testul *direct ELISA* este folosit pentru a detecta antigenii într-un specimen pacient în timp ce testele indirecte ELISA detectează anticorpii specifici în serul pacientului.

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

Specimenele clinice conţin un amestec complex de antigeni. Pentru a detecta o proteină specifică antigenică, estul *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 cunoaşterea suficientă a acţiunii lor şi a modului de asigurare împotriva efectului lor toxic a influenţat în mare măsură opinia publică. Îngrijorarea a crescut datorită, mai ales constatării că acţiunea negativă a pesticidelor asupra mediului şi 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% şi *altor organisme* 0.1%. Aceste pierderi variază în diferite regiuni ale lumii în funcţie de condiţiile climatice şi numeroşi alţi factori ecologici.

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

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

6. 2. Aspecte de Sănătate Publică

Numeroase studii şi cercetări, finalizate prin conferinţe ştiinţifice şi articole se fac relativ la influenţele pesticidelor şi altor tratamente chimice asupra ecosistemului.

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

Pentru o analiză corectă, trebuiesc luate în considerare parametrii ca aria de expunere, creşterea demografică şi în general efectele asupra sănătăţii furnizează informaţii complexe.

Se poate spune că în domeniul *expunerii* sunt informaţii liniştitoare aşa cum o dovedesc studiile nivelelor pentru poluanţii toxici persistenţi care au decăzut dramatic, cu precădere din anii 1970 către anii 1980, care arată că trendul în timp al acestor poluanţi a scăzut. Acest declin în nivelele de contaminare în U.S.A. reprezintă un succes în prevenirea primară, care se corelează însă cu acţiunile în parteneriat ale agenţiilor de mediu, agenţiilor de reglementare, care au făcut ca industria să-şi adapteze tehnologiile pentru a reduce emisiile în mediu. S-a arătat că datele măsurate dovedesc că nu este nici o diferenţă semnificativă în ceea ce priveşte concentraţia poluanţilor în bazinul Marilor Lacuri decât în altă parte [12].

Oricum, interpretarea exclusivă pe baza acestor niveluri de poluare oferă o slabă înţelegere asupra potenţialului de toxicitate al poluanţilor.

În termeni *demografici*, sunt populaţii care sunt expuse la risc datorită unor anume categorii de poluanţi care se pot decela în mediu. Se pot produce efecte secundare ale expunerii, cum ar fi sensibilizarea psihologică. De exemplu, creşterea fătului este în special sensibilă la efectele substanţelor toxice persistente şi oferă o fereastră către studii în ceea ce priveşte efectele acestora pe termen lung, în generaţiile următoare (*transgeneraţional*). Sunt necesare astfel studii care să-şi deplaseze atenţia de la efectele pe termen scurt la efectele pe termen lung. Categorii de populaţie consumatoare de peşte, de exemplu, pot fi expuse la riscuri suplimentare faţă 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 populaţiei [13] şi în acelaşi sens, copii alăptaţi pot căpăta rate de expunere de 40-50 de ori mai mari decât restul populaţiei.

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

Opiniile sunt împărţite în ceea ce priveşte implicaţiile studiilor de sănătate obţinute prin intermediul *analizelor epidemiologice*. Diferenţe sunt remarcate în ceea ce priveşte concepţia studiului care conduce la rezultatele care au fost raportate. Oricum, trebuie să recunoaştem 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, şi, ca şi lentilele microscopului, ele variază în ceea ce priveşte puterea de rezolvare şi calitatea. Un fir logic care trebuie urmărit este situat dincolo de aceste căutări şi relevă tentativa de a cuprinde implicaţiile pentru sănătatea publică. Lucrarea [17] caracterizează foarte bine acest numitor comun, şi anume în ce măsură se răspunde la întrebarea: "*Care este expresia cantitativă a implicaţiei în sănătatea publică?*", identificând foarte bine legătura lipsă între ştiinţă şi politica în ştiinţă. Este destul de greu deseori de trecut de la ştiinţă la servicii în termenii practici ai sănătăţii publice. Gilbertson sugerează [17] că motivul pentru care avem această dificultate este pentru că încercăm să identificăm cauzalităţi, cauzalităţi 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 compuşi 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 thuringiens*;

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

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

De asemenea, sub influența pesticidelor, pe lângă insectele care distrug plantele în timpul vegetației şi după recoltare, pot să piară sub influența pesticidelor şi albinele folositoare, iar la combaterea buruienilor pot să sufere chiar plantele a căror protecție se urmăreşte. 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 creşterii plantelor, defolierea şi uscarea lor.

Aplicarea pesticidelor în agricultură, medicina veterinară, diferite industrii (textilă), gospodărie casnică şi ocrotirea sănătății populației are ca scop îmbunătățirea cantitativă şi calitativă a alimentelor, nutrețurilor şi produselor industriale, asigurarea lor în timpul păstrării față de dăunători şi boli, ocrotirea animalelor contra paraziților precum şi distrugerea insectelor şi altor transmițători de boli la oameni şi animale. Lista acestor boli cuprinde: malaria, tifosul exantematic, ciuma, febra galbenă, filarioza, afecțiuni virotice ale creierului, febrele transmise de păduchi şi acarieni, febra de tranşee, amoebiazele, leischmaniozele, onchocercozisele, trypanosomiosisele, bolile papataci, frambezia, inflamarea conjunctivitelor, boala lui Chagas, rickettsiozele şi 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 animali
  - *insecticide*: combaterea insectelor;
  - *rodenticide*: combaterea rozătoarelor;
  - *moluscocide*: combaterea moluştelor;
  - *nematocide*: combaterea nematozilor;
  - *larvicide*: combaterea larvelor;
  - *aficide*: combaterea afidelor;
  - *acaricide*: combaterea acarienilor;
  - *ovicide*: distrugerea ouălor de insecte şi acarieni;
- *fungicide* şi *fungistatice*, *bactericide* şi *virocide*: combaterea ciupercilor şi ciupercostaticelor;
- *erbicidele*: combaterea buruienilor;
- *regulatori de creştere*: mijloace care inhibă sau stimulează procese de creştere la plante:
  - *defoliante*: 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*, *soluţii*, *suspensii*, *aerosoli*, *spume*, *gaze*, *vapori*, *paste*, iar forma de utilizare este dictată de particularităţile dăunătorului combătut, considerentele tehnice şi economice ale aplicării preparatului.

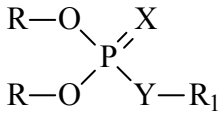
6.4. Chimia Pesticidelor

Caracteristica toxicologică a pesticidelor diferă în funcţie de *clasa structurală* şi *funcţională* la care aparţin. Câteva clase sunt prezentate în continuare:

6.4.1. Insecticidele

Hidrocarburile organoclorurate cuprind compuşii ciclodienici: DDT, HCH, lindan, metoxiclor, Keltan, aldrin, dieldrin, clordan, endrin, endosulfan, heptaclor, Kelewan, toxafen. Trăsătura comună este afinitatea pentru ţesutul adipos şi o mare stabilitate. Pătrund în organismul omului prin piele, tubul digestiv şi căile respiratorii. Se acumulează în special în ţesutul adipos, ficat, creier, muşchi, rinichi şi inimă. Acţiunea toxică în intoxicaţiile acute se manifestă printr-o excitare iniţială puternică şi apoi paralizarea sistemului nervos central. În intoxicaţiile subacute apar perturbări ale auzului, dereglarea coordonării mişcărilor, atrofia ţesutului muscular, leziuni ale ficatului şi rinichilor. În prezent au fost scoase din uz în multe ţări.

Compuşii organofosforici sunt cel mai frecvent esteri ai acizilor: fosforic, tiono-, tiolo-, tionotiolo-fosforic şi pirofosforic. Cea mai largă aplicabilitate o au compuşii cu formula generală:



unde X, Y = O, S şi R, R_1 = radical alchilic când:

- X = Y = O : fosfaţi (clorfenwinfos, diclorfos, dimefox, fosdrin, fosfamidon, monocrotofos, triclorfon);
- X = O, Y = S : tiofosfaţi (demeton-S);
- X = S, Y = O : tionofosfaţi (bromofos, demeton, etilpirimifos, metilopirimifos, clortion, diazinon, fention, folition, paration, metiloparation, fenclorfos, fenitrotion);
- X = Y = S : ditiofosfaţi (formotion, dimetoat, disulfoton, fostion, gution, malation, tiometon, metidation);
- X = S, Y = R : tionofosfaţi (EPN).

Toxicitatea acută a acestor compuşi se măsoară în unităţi per os LD_{50} care reprezintă doza care a provocat moartea a jumătate din animalele din grupa experimentală. Toxicitatea depinde pronunţat de structura chimică. Astfel, s-a constat experimental că compuşii care conţin radicalul metilic (R = CH_3) au o toxicitate mai mare decât cei care conţin radicalul etilic (R = CH_2CH_3). Derivaţii care conţin sulf sunt mai puţin toxici decât cei care conţin oxigen.

Intoxicaţiile sunt foarte periculoase, se caracterizează printr-o îngreunare accentuată a vorbirii, pierderea capacităţii de a coordona mişcările, inhibarea reflexelor şi comă. Moartea intervine în urma paraliziei muşchilor respiratorii şi oprirea funcţionării inimii. Majoritatea compuşilor sunt supuşi în organism unei activări în prezenţa oxidazelor microsomale a $NADPH_2$ (nicotinamidă adenin dinucleotid fosfat redus) şi a oxigenului molecular.

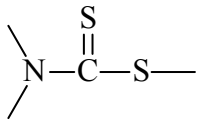
Compuşii carbamici sunt esteri N-substituiţi ai acidului carbamic iar cei folosiţi frecvent sunt carbarilul, cartapul, pirimicarbul, propoxurul, carbofuranul, Temik-ul. Mecanismul de acţiune este acelaşi ca la organofosforici: inhibarea esterazelor, şi în special a esterazei acetilcolinei. Complexul enzimo-carbamat este mai instabil însă şi se deblochează esteraza acetilcolinei si se revine la funcţiile normale. Cazurile de intoxicaţii acute sunt mai rare şi au evoluţie mai atenuată. Carbarilul s-a dovedit toxic pentru cobai şi hârciogi [21].

6.4.2. Fungicidele

Compuşii organomercurici cuprind îndeosebi metil mercur cianoguanidina, p-toluensulfonamida etilomercurică şi acetatul fenil-mercuric. Pătrund în organism prin tubul digestiv şi sistemul respirator, însă în anumite condiţii se pot adsoarbe şi 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 şi sistemul nervos central şi periferic pentru vaporii de mercur şi sistemul nervos central pentru metil-mercur. S-a putut constata că 10% din doza de metilmercur se acumulează în creier, şi 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 şi sunt compuşi ca: Nabam, Maneb, Zineb, Mancozeb, Ziram, Ferbam, Tiram, Polyram. Gruparea activă care condiționează acțiunea fungicidă şi toxică este:



în care azotul aminic este legat cu radicali alifatici iar sulful cu metalul. Ditiocarbamații pot să acționeze asupra ADN indirect prin transformați metabolic ca N-hidroxicarbamații.[22] Derivații ditiocarbamici se caracterizează prin proprietăți puternice de iritare şi sensibilizare.

Alți compuşi 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 compuşi 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 şi rădăcini şi sunt transportate în țesuturile întregii plante).

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

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

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

Derivații azotați heterociclici sunt derivați triazinici şi triasolici ca: antrazina, simazina, prometrina, propazina, prometonul, amitrolul şi manifestă o sferă largă de acțiune atât în raport cu plantele monocotiledonate cât şi dicotiledonate. Toxicitatea acestor compuşi 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;
- compuşi amidici: difenamid, cipromid, propanil.

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

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

Compuşii 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 şi retenția cromatografică sunt cele mai simple proprietăți fizico-chimice experimentale ale compuşilor chimici.

De cele mai multe ori, aceste valori sunt tabelate şi pot fi folosite în proiectarea instalațiilor industriale de producere şi 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 compuşi 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 şi chiar de a modela proprietatea pe clase de compuşi, descompunând-o pe aceasta în elementele sale intrinseci: tipul interacției intramoleculare predominante, tipul proprietății atomice responsabile de manifestarea proprietății măsurabile şi modelul descriptorului de proprietate [31].

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

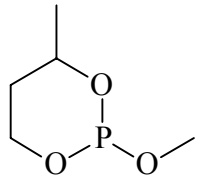
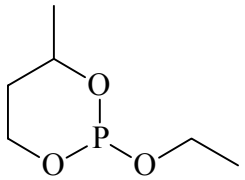
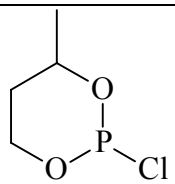
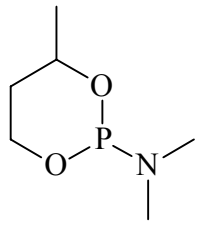
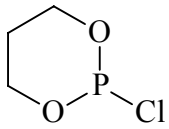
Gutman a introdus *indicele Szeged* ca un indice pur topologic pe baza formulelor (V(G) - lista atomilor, D – operatorul de distanță topologică [32]):

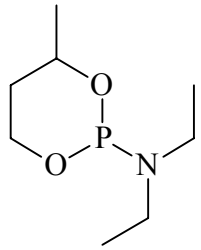
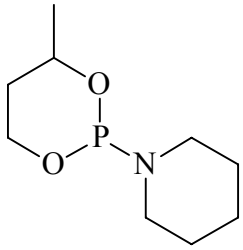
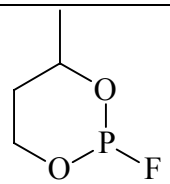
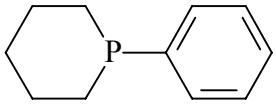
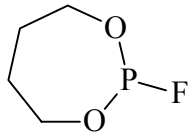
$$SZ_e = \sum_e N_{i,(i,j)} \cdot N_{j,(i,j)},\ N_{i,(i,j)} = |\ \{\ v \in V(G),\ D(i,v) < D(j,v)\ \}\ |,$$

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

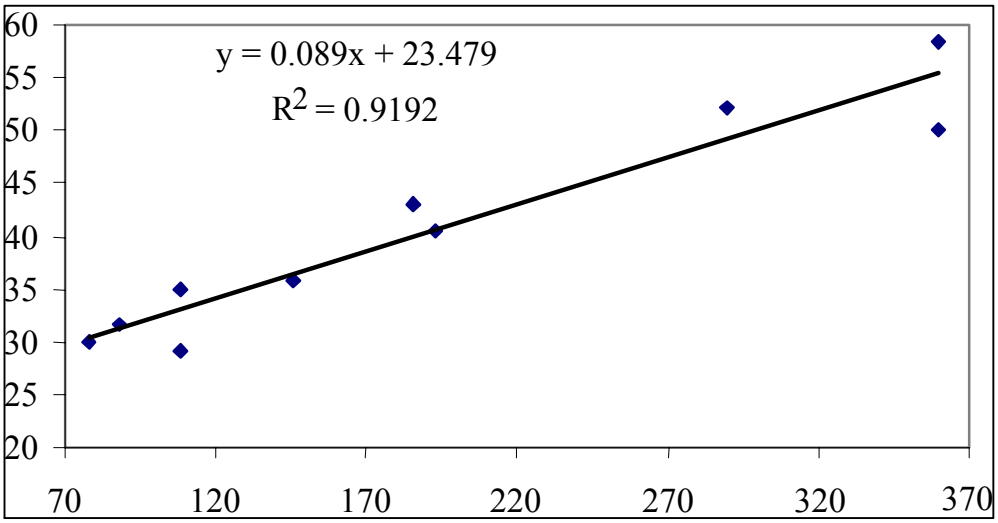
- Rezultatele obținute pentru refracția molară MR şi indicele SZ_e calculat sunt redate în tabelul 5:

Tabelul 5. Valori SZ_e şi MR pentru clasa de compuşi 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 şi reprezentarea grafică a dependenței sunt redate în figura:



Ecuația de regresie între MR şi SZ_e pentru clasa de compuşi organofosforici în studiu

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

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

$$PE_{i,(i,j)} = \sum_v \sqrt[1]{\prod_v E(v)}\ ,\ v \in V(G),\ D(i,v) < D(j,v),$$

M(v) – masa atomului v,

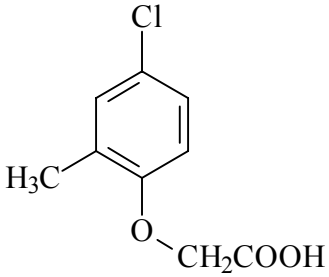
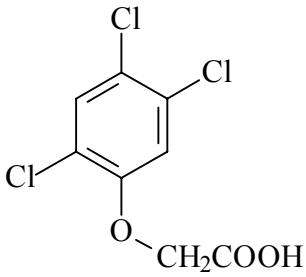
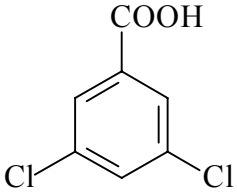
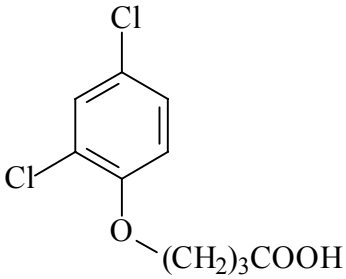
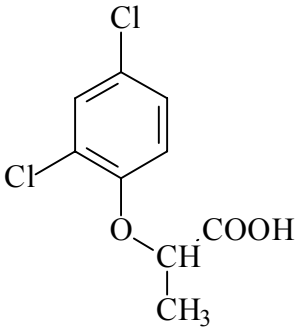
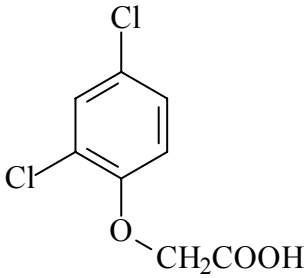
E(v) electronegativitatea Sanderson;

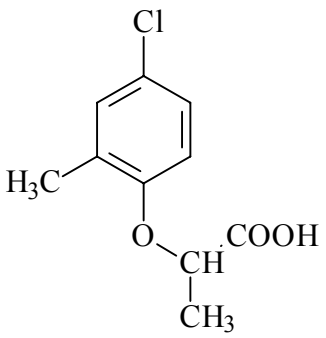
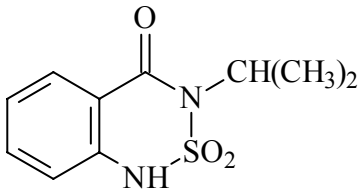
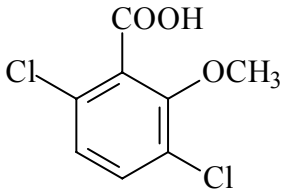
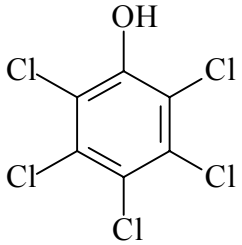
când au rezultat indicii SZ_eM şi SZ_eE corespunzători.

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

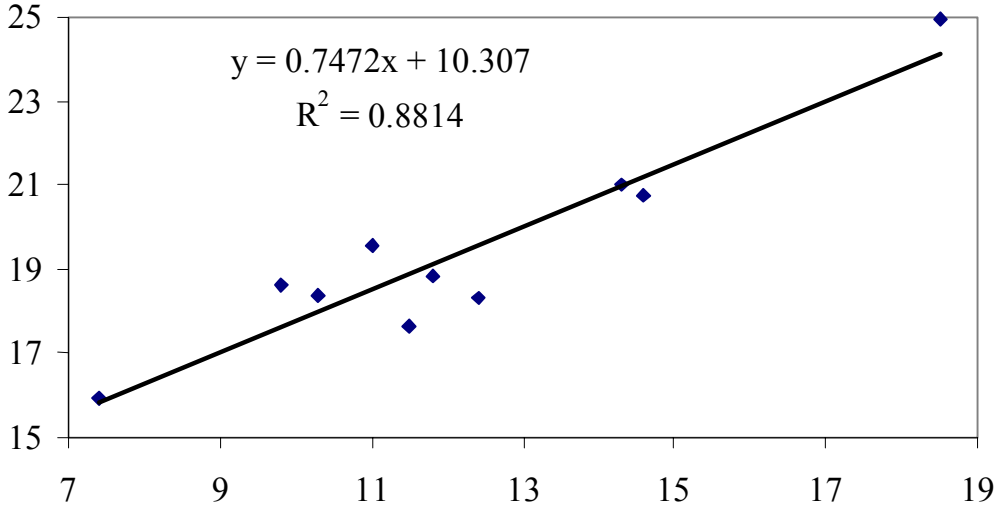
sunt redați în tabelul următor:

Tabelul 6. Valori I_{CHR} şi SZ_eE pentru clasa de erbicide în studiu

Erbicid [24]	Structură	I_{CHR}	SZ_eE
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} şi reprezentarea grafică a dependenței sunt redate în figura:



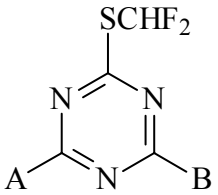
Regresia între I_{CHR} şi SZ_eE pentru clasa de erbicide în studiu

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 şi activitate – proprietate pe clase de compuşi [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 şi B sunt substituenţii: NH_2, $NHCH_3$, NH-i-C_3H_7, NHC_2H_5, NHC_4H_9, NH-i-C_4H_9, NH-s-C_4H_9, NH-t-C_4H_9, NH-C_5H_{11}, NH-C_6H_{13}, NHC_7H_{15}, NH-C_8H_{17} este prezentat în lucrarea [35], unde s-au folosit descriptori de substituent ca X_{LDS} (indicele de centrocomplexitate) W_S (indice de drumuri calculat pe matricea L^3W), volume fragmentale V şi număr de atomi N pentru a prezice activitatea erbicidă exprimată prin pI_{50}, logaritmul cu semn schimbat al concentraţiei necesare pentru inhibiţia în procent de 50% a reacţiei Hill.

Modelarea matematică s-a făcut ţinând seama de simetria substituenţilor şi s-au mediat valorile obţinute pentru descriptorii de substituent folosind media aritmetică (A), geometrică (G) şi armonică (H).

Cea mai bună ecuaţie de regresie în 3 variabile descriptoare pentru modelarea activităţii biologice s-a obţinut pentru un coeficient de corelaţie între valoarea calculată şi 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 corelaţie.

6.7. Metode Moderne în Studiul QSAR/QSPR

În ultima perioadă de timp, indicii structurali utilizaţi studii QSPR/QSAR (quantitative structure-property/activity relationship) sunt tot mai frecvent calculaţi din considerente sterice (geometrice) şi/sau electrostatice (sarcini parţiale) [36-,37,38] în comparaţie cu vechile consideraţii topologice [39].

Sunt preferate calculele structurale semi-empirice şi 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 reţelele neuronale [41,42]

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

(A) *contruieşte* setul de molecule cu activitate cunoscută şi *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 mettodă de suprapunere (suprapunere de fragmente alese din molecule [46,51,52] sau suprapunere grupări farmacofore [53]) şi *suprapune* virtual coordonatele spaţiale;

(C) *construieşte* o reţea de puncte ce înconjoară moleculele suprapuse la (B) în mod standard (grid [44]) sau în formă modificată (curbiliniu [54]) şi *alege* un atom de probă pentru interacţia cu punctele reţelei [55,56].

(D) *foloseşte* o metodă empirică (Hint [57]), un model specific (suprapunere farmacoforă [58]), energia potenţială clasică (Lennard-Jones, Coulomb [44]), potenţialul legăturilor de hidrogen [59], câmpuri generate de orbitalii moleculari [60,61] sau orice alt câmp definit de utilizatorul modelului [55] şi *calculează* valorile de interacţie ale câmpului indus în reţeaua (C) de câmpul de interacţie ales cu un atomul de probă (C) plasat în punctele reţelei;

(E) *foloseşte* valorile calculate ale interacţiei (D) între punctele reţelei şi atomul de probă şi *efectuează* predicţia QSAR a activităţii cunoscute;

(F) *foloseşte* parametrii QSAR obţinuţi (E) şi *efectuează* predicţia activităţii la molecule care se pretează la acelaşi tip de suprapunere cu cele ale setului şcoală (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 compuşilor cu efect farmaceutic [53,65] şi 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 invarianților 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 şi electrostatice ale moleculelor [68-,69,70]. Metoda originală a fost modificată şi i s-a atribuit numele MS-WIHM (Molecular Surface – Weighted Holistic Invariant Molecular) şi a fost aplicată cu succes în analiza suprafeței moleculare [71]. MS-WHIM este o colecție de 36 de indici statistici derivați din proprietăți sterice şi electrostatice şi orientați către parametrizarea suprafeței moleculare [72].

Jäntschi şi Diudea propun un nou model structură – proprietate bazat pe topologia moleculară obținută din formula structurală şi 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·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

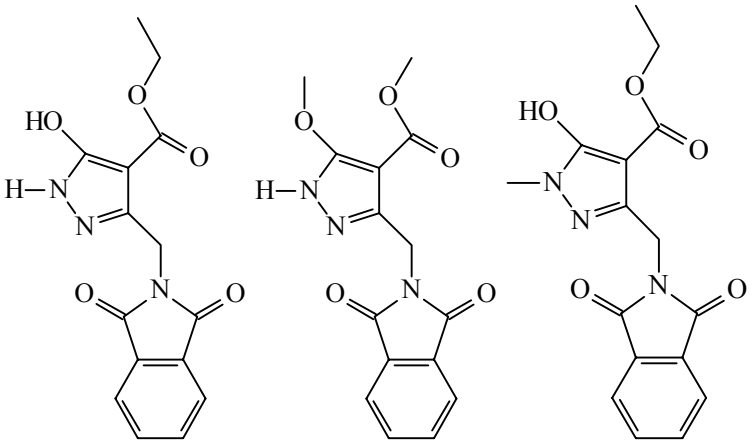
şi se generează întregul set de 61440 indici pentru o moleculă dată pe baza structurii topologice (atomi şi legături) şi topografice (coordonate spațiale şi sarcini parțiale).

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

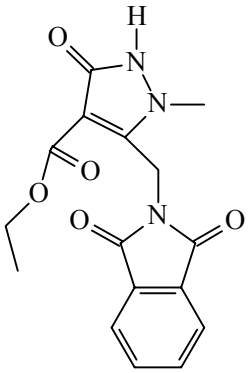
Rezultate deosebite se obțin la recunoaşterea modelelor de proprietate. Construcția indicilor permite în urma selecției făcute în corelație să se identifice cauza structurală a proprietății macroscopice măsurate sau calculate.

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

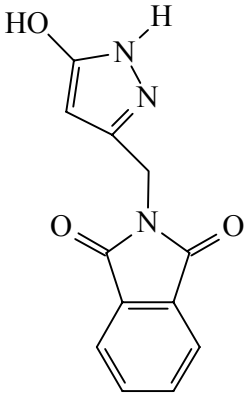
Setul de inhibitori este:



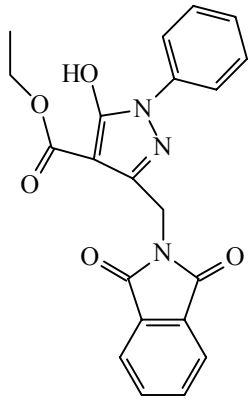
1 2 3



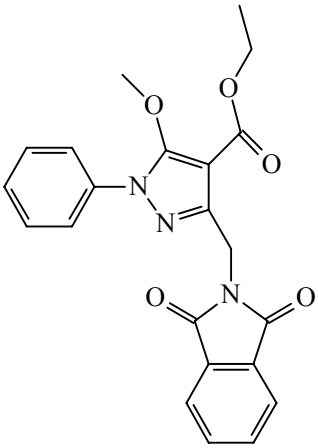
4



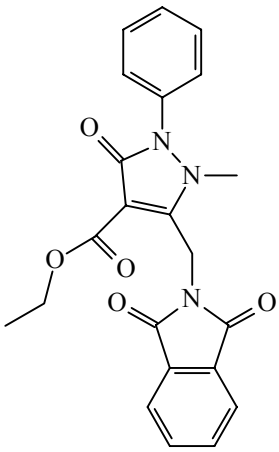
5



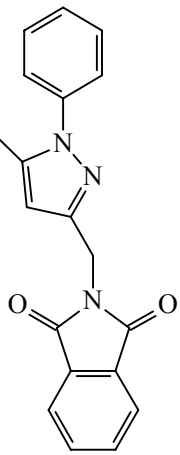
6



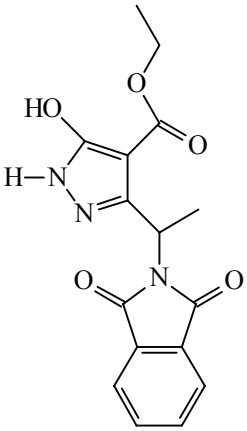
7



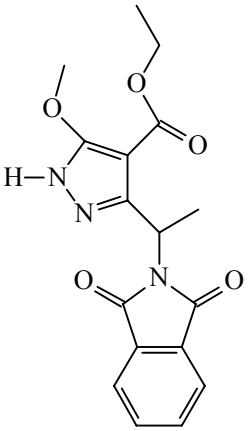
8



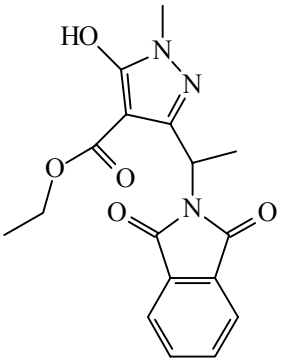
9



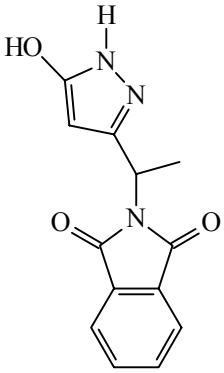
10



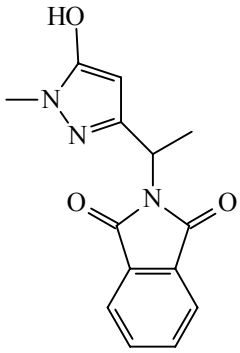
11



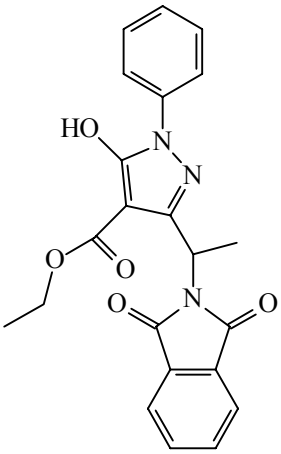
12



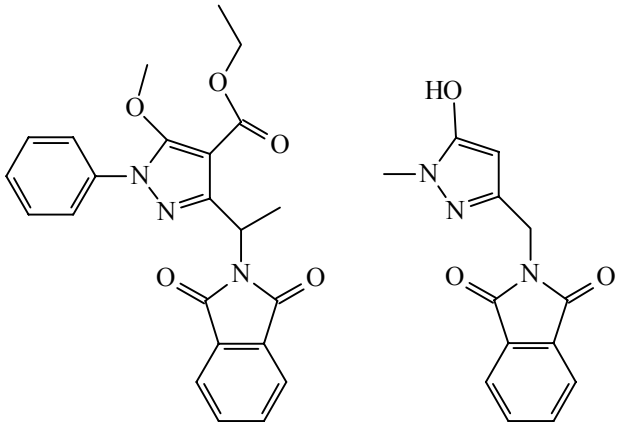
13



14



15



16 17

17 compuşi de substituţie ai 3-(ftalimidoalchil)-pirazolin-5-onei

Cei 17 compuşi de substituţie ai 3-(ftalimidoalchil)-pirazolin-5-onei cu activitate inhibitoare în soluţie de 0.05 g/l asupra *Lepidium sativum L.* (Creson) au proprietăţile:

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)	Inhibiţia (%)
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 generaţi şi sortaţi după scorul în corelaţia monovariată, după care li s-a aplicat regresia bivariată. Cele mai bune rezultatele sunt prezentate în tabelul următor:

Tabelul 7. Scoruri în corelaţia structură - proprietate

Indice	Proprietate	Nume indice	R	Intercepţia	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	inhibiţie	lnDGsDeC_1/p_SE_	0.9538	-3.3e2	96.3
4304 7649	inhibiţie (bivariat)	idDTsDiM_p*d_HP_ idDGjDeE_p/d2SE2	0.9926	-26.8	1.56 -1.70

Concluziile pentru clasa de compuşi analizată sunt:

- Cel mai bun indice în regresia monovariată (lnDGsDeC_1/p_SE_ pe inhibiţie) nu furnizează cea mai bună corelaţie în regresia bivariată;
- Cea mai bună pereche de indici în corelaţia bivariată nu se obţine din ortogonalizare aşa cum

reclamă metoda PCA[74,75] sau DCA[76,77] ci se obține prin traversarea întregii familii şi 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 aşteptat pentru o mărime calculată; în plus, masa se identifică în expresia indicilor, cum era de aşteptat; superpozarea se face sumativ aşa cum se întâmplă de altfel şi 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 şi masei M sugerează interacțiunile de natură electrică şi impedimentele sterice de masă şi 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_) şi 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 şi în bolile cauzate de dependența de estrogen), 90 de compuşi 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. şi folosite în cultură în statul Ohio [82]:

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

Clasa	Pesticid \ Dăunător	viermi sârmă	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	imidacloprid (Admire)	-	-	B	S	S	B	-
	abamectin (Agri-Mek)	-	-	B	-	-	-	-
	pimetrozină(Fulfill)	-	-	-	-	-	FB	-
	imidacloprid (Provado)	-	-	B	S	NS	B	-
	piretrine(Pyrenone)	-	-	?	B	?	?	?
	spinosad (Spin Tor)	-	-	B	-	-	-	?
Necunoscută	*bacillus thuringensis* caterpillar Strains (DiPel)	-	S	-	-	-	-	?
	bacillus thuringensis 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 tratament	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 şi 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 *lărgeşte spectrul de acțiune biologică* al tratamentului;
- pentru a se *combate simultan* bolile şi/sau dăunătorii şi/sau buruienile;
- pentru a se *proteja cultura şi în acelaşi timp administra* îngrăşăminte foliare şi/sau regulatori de creştere;
- 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 şi 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 compuşi de degradare ai substanțelor active şi variația în timp a pH-ului este neînsemnată;
- biologic: îşi 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-naphthyloxy) acetic acid	regulator de creştere	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, reglator de creştere	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 foloseşte denumirea ştiinţifică ci cea uzuală sau comercială. În acest caz sunt utile cataloagele de pesticide ce cuprind informaţii complete despre acestea, aşa cum este cazul [83] care conţine 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 şi biologică a unor pesticide (insecticide cu erbicide) în amestec binar experimentate în protecţia grâului este [84]:

Tabelul 10. Exemplu de interacţiune între insecticide şi erbicide

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

6.9. Biotehnologiile şi Agricultura

6.9.1. Concepte specifice

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

Aplicate pe scară largă, biotehnologiile cuprind activităţi industriale în cadrul cărora biotehnologiile pot înlocui tehnologiile folosite în mod curent şi activităţile industriale în care biotehnologiile au un rol promotor esenţial.

Utilizează biotehnologii industria chimică, sinteza substanţelor aromatice şi de stimulare a gustului, producţia maselor plastice şi a produselor pentru industria textilă.

Sunt implementate biotehnologii în domeniul energiei la producţia de etanol, metanol, biogaz şi hidrogen, în domeniul biometalurgiei la extracţia anumitor metale.

În industria alimentară regăsim biotehnologii la producţia masivă de levuri, alge şi bacterii în vederea furnizării proteinelor, aminoacizilor, vitaminelor şi utilizarea enzimelor, iar în domeniul creşterii productivităţii agricole biotehnologii servesc la clonaj şi selecţie varietală pornind de la culturi de celule şi ţesuturi, fabricarea de bioinsecticide.

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

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

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

În 1963, Niremberg a descifrat codul genetic al cărui caracter general se aplică de la bacterie până la om. Deveneau astfel accesibile mesajul ereditar şi semnificaţia sa, şi anume relaţia între codul genetic şi 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 şi a metodelor de degradare ale lui Edman şi Begg (1967).

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

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

Perfecţionările aduse analizei proteinelor, datorate punerii la punct a microanalizatorului lui Hood şi Hunkapiller, de la *Institutul de Tehnologie* din California, în 1980 permiteau stabilirea secvenţei 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 şi comercializarea primelor maşini automate pentru sintetizarea polipeptidelor. Acestea sunt utilizate în laboratoarele de cercetare şi în industria farmaceutică.

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

Itakura (*City of Hope National Medical Center*, Duarte, California) a reuşit în 1977 şi 1979 să sintetizeze genele somatostatinei şi 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 maşină 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 secvenţelor de proteine pe ordinator, care în anul 1980 conţinea peste 350000 de secvenţe de gene (virusuri, bacterii, om) preluate din revistele ştiinţifice internaţionale.

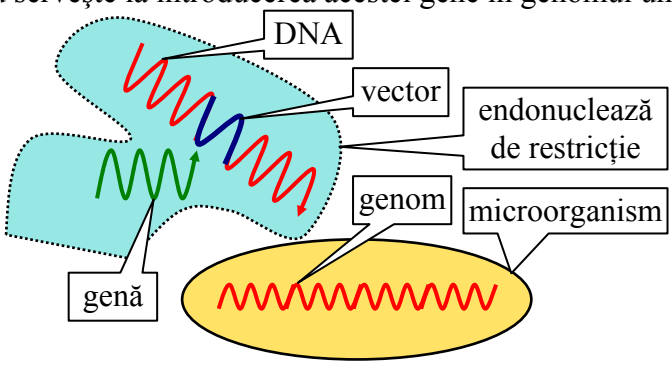
Progresele spectaculoase ale biologiei aşa cum se exprimă ele în realizările ingineriei genetice sunt strâns legate de perfecţionarea tehnicilor analitice ca ultracentrifugarea, marcarea moleculelor cu izotopi radioactivi, electroforeza, cromatografia de afinitate (de exemplu a tehnicii separării moleculelor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

S-au obţinut succese notabile prin recombinare genetică, folosirea enzimelor, celulelor şi 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 şi a-l introduce apoi într-o celulă gazdă, unde se va putea înmulţi. Rezultatul este un clon de *celule transformate*.

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

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



Ilustrarea mecanismului inserţiei de gene în microorganisme

Tehnica enzimelor imobilizate (vezi fig.) este folosită cu succes în producţia penicilinelor semisintetice, a fructozei plecând de la amidonul de porumb şi în testele biochimice simple. Celulele sau organitele celulare imobilizate au avantajul că ele conţin secvenţe complete de enzime indispensabile sintezei compuşilor complecşi [88].

La controlul genetic sunt implicate toate tipurile de *determinanţi genetici* din genotip şi toate tipurile de interacţiuni *aleice* şi *genice* [89]. Astfel, sunt implicate *gene majore*, *gene minore* şi *gene citoplasmatice*.

6.9.2. Gene şi Interacţiunile acestora

Genele majore (*mendeliene*) controlează caracteristici calitative, practic neinfluenţate de condiţiile de mediul de creştere al plantei. În controlul caracteristicilor calitative, genele majore pot manifesta:

- *acţiune monogenică*, *univocă* (*monotropă*) sau *pleiotropă* iar *relaţiile intragenice heterozigote* pot fi de:

1. *dominanţă – recesivitate*;
2. *semidominanţă*;
3. *codominanţă*;
4. *supradominanţă*.

- *interacţiuni genice*, *digenice* sau *multigenice* când se formează sisteme seriale de gene, independente sau legate şi controlează etapele succesive dintr-o secvenţă metabolică pentru a produce o caracteristică particulară; relaţiile intergenice pot fi:

1. *reciproce*: complementaritatea, epistasia, genele duplicate, triplicate;
2. *inhibitoare*: gene inhibitoare şi gene supresori;
3. *modificatoare*: gene intensificatori (plus modificatori), gene reducători (minus modificatori).

Genele minore controlează caracteristici cantitative: productivitate, reproductibilitate, adaptabilitate (rata creşterii, mărimea şi 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. *isomerice* sau *polimerice*;
3. *anisomerice* (*neechivalente* sau *neegale*);

- *antagonice* (*opoziționale*) 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-şi sau diminuându-şi 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 citoplasmatice (*plasmidele*) sunt secvențe de ADN din *plastide* (*plastogene*) şi din *mitocondrii* (*mitogene*). Ele controlează procesele biochimice implicate în realizarea unei căi metabolice din dezvoltarea componentelor morfofiziologice ale producției sau însuşirilor de adaptare. Acțiunea *plasmagenelor* poate fi:

- *autonomă* în realizarea funcțiilor proprii ale organitelor, pe baza acțiunii *plasmaalelelor* [90] şi a interacțiunii unor plasmagene care concură sau interferă la formarea unei caracteristici citoplasmatice;
- *corelată*, în sisteme de gene nucleare şi gene citoplasmatice care determină interacțiuni nucleo – citoplasmatice (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 şi conțin bazele azotate *adenină* (A), *guanină* (G), *citozină* (C) şi *timină* (T) şi într-o exprimare plastică sunt literele alfabetului cu care este scrisă informația genetică:

DNA şi 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 sfârşitul unei informații.

Codul genetic este universal, sistemul de codificare a informației genetice fiind acelaşi la toate viețuitoarele. Dar este însă şi degenerat, pentru că există 61 de codoni şi numai 20 de aminoacizi, adică mai mulți codoni codifică acelaşi 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*) şi o alta nou sintetizată. DNA este o *moleculă informațională*, complementaritatea făcând posibilă *conservarea*, *copierea* şi *transmiterea informației* la celulele fiice rezultate din diviziunea celulară. Când DNA se replică, cele două catene ale sale se separă şi servesc ca matrițe pentru sintetizarea unor *catene complementare*. Moleculele noi care vor conține *aceeaşi informație* deoarece

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

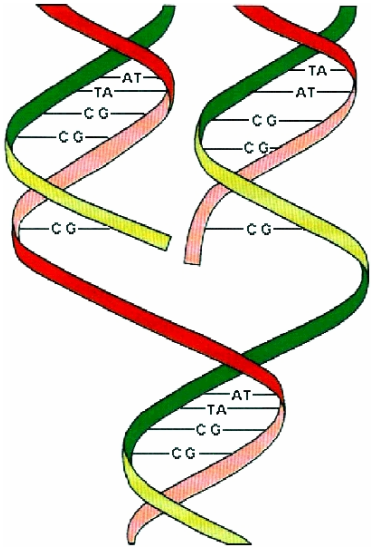
A doua poziție

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

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 şi insecte

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

devenit o practică curentă în agricultura convenţională. *Toleranţa* 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 şi acestea distrug buruienile dicotiledonate. Alte erbicide sunt aplicate în cultura speciilor cu frunza lată, când distrug buruienile monocotiledonate. Cazuri de toleranţă a unor specii cultivate sau sălbatice la erbicide au apărut uneori în mod spontan, sub presiunea tratamentelor, caz în care s-a efectuat o selecţie naturală. *Amelioratorii* uneori obţin 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 toleranţa la erbicide ar avea un *impact* mai mic asupra mediului dacă este apărută în mod spontan sau dacă este obţinută 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 ţări. În România sunt înregistrate la *Institutul de Stat pentru Testare şi Înregistrarea Soiurilor*:

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

Varietăţi transgenice de porumb, cartof şi bumbac rezistente la atacurile unor dăunători ocupă deja suprafeţe foarte mai de teren în culturi comerciale. Rezistenţa la atacurile insectelor fitofage este obţinută prin intermediul unor gene obţinute de la *Bacillus thrrigensis* (Bt) [93]. Construcţiile genetice sunt mărci înregistrate (®). Compania Monsanto comercializează porumb Bt sub denumirea YieldGard®, cartof Bt sub denumirea NewLeaf® şi 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® şi YieldGard®.

Companiile urmăresc o valorificare cât mai largă a construcţiilor genetice pe care le posedă prin realizarea de varietăţi transgenice la cât mai multe specii în cadrul firmelor producătoare de seminţe pe care le controlează sau prin *concesionarea* licenţelor de utilizare unor terţe firme din cât mai multe ţări. Principalul avantaj al cultivării plantelor rezistente la atacul unor dăunători constă în reducerea consumului de insecticide, benefică pentru calitatea producţiei agricole, mediu şi conservarea biodiversităţii. Absolut specifice endotoxinele Bt nu ar trebui să aibă nici un efect asupra polenizatorilor (bondari, albine) sau altor insecte nevizate (prădători şi paraziţi 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 şi au primit aprobarea pentru introducerea deliberată în mediu cartoful NewLeaf, rezistent la atacul gândacului de Colorado şi liniile de hibrizi de porumb MaisGard şi YieldGard rezistente la sfredelitorul porumbului.

Anexa. Dicţionar de Termeni Tehnici Englez – Român

Cuvintele prezentate în această secţiune au fost folosite pentru a exprima termenii tehnici din engleza americană în română pe parcursul studiului bibliografic care a făcut obiectul prezentei lucrări. Sunt prezentaţi termenii cu semnificaţii variate în dicţionarele uzuale şi a căror conotaţie contextuală a făcut atribuirile de faţă. De asemenea, o serie de termeni nu sunt prezenţi în dicţionarele englez – român uzuale şi 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 Google[8], *The American Heritage® Dictionary of the Enlish Language: Fourth Edition (2000)*[9], Translatorul Online *WorldLingo*® (WorldLingo Inc.)[10] dicţionarul de neologisme al limbii române şi diferite alte surse de termeni tehnici, cum ar fi glosarul de microbiologie întreţinut 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	malț
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, Varşovia, 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 fisheaters*, 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 şi Evaluarea Statistică a Metodelor Analitice prin Studii Comparative. I. Validarea Metodelor Analitice folosind Analiza de Regresie*, Revista de Chimie, Bucureşti, 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, *Predicţia proprietăţilor fizico-chimice şi biologice cu ajutorul descriptorilor matematici*, Teză de doctorat, Univ. "Babeş-Bolyai" Cluj-Napoca, 2000.
[28] Claudia Cimpoiu, Lorentz Jäntschi, Teodor Hodişan, *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 Hodişan, *A New Mathematical Model for the Optimization of the Mobile Phase Composition in HPTLC and the Comparision with Other Models*, J. Liq. Chrom. & Rel. Technol., 22(10), p. 1429-1441, 1999.
[30] Lorentz Jäntschi, Simona Mureşan, Mircea Diudea, *Modeling molar refraction and chromatographic retention by Szeged indices*, Studia Universitatis Babeş-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 Szeged 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. Plavšic, 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 Vorpagel; *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 (LD_{50}) 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 D_2 Partial Agonists*, (presented at the Charleston Conference; march; 1998), sumitted 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 Comparision 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. There 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 şi 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 obţinute 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. Puşcaşu, M. Baltac, Al. Al. Alexandri, T. Baicu, I. Mirică, M. Costache, *Compatibilitatea Pesticidelor*, Ministerul Agriculturii, Bucureşti, 1987.
[85] H. G. Khorana, *Total synthesis of a gene*, Science, Washington, 203, 4381, 614-625, 1979.
[86] R. Téoule, *Les gènes artificiels*, La recherché, 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 şi promisiuni*, Ed. Tehnică, Bucureşti, 1988, după *Les biotechnologies: Défis et promosses*, Presses Universitaires de France, Vendôme, UNESCO, 1983.
[89] T. Crăciun, *Geniul Genetic şi Ameliorarea Plantelor*, Ed. Ceres, Craiova, 1987.
[90] T. Crăciun, M. Pătraşcu, *Perspective de utilizare a culturilor de celule şi a protoplaştilor*, Lucările celui de-al doilea Simpozion de Genetică, Piatra Neamţ, 1979.
[91] V. Diaconu, *Plante transgenice*, Raport al Comisiei Naţionale Pentru Securitate Biologică, Bucureşti, 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