

ASPECTS REGARDING THE EFFECTS OF FUNGICIDES ON ORGANISMS

Andreea DRĂGOI*, Nicoleta IANOVICI

West University of Timisoara, Faculty of Chemistry, Biology, Geography, Department of Biology-Chemistry, Pestalozzi 16, Timișoara

*Corresponding author e-mail: andreea.dragoi99@e-uvv.ro

Received 19 May 2021; accepted 5 July 2021

ABSTRACT

Pesticides can have a number of health effects, as a consequence of both environmental and occupational exposures. Current knowledge suggests that exposure to pesticides can lead to negative changes in reproduction, may lead to the development of neurological dysfunctions and several chronic disorders. A significant number of data also identified an association between exposure to pesticides and their harmful effects on the immune system, the development of immune system disorders depending on the dose and duration of exposure to pesticides. Fungicides represent a category of substances classified in the broad group of pesticides. They are used in the treatment of plant diseases. They work by inhibiting the energy metabolism, blocking biosynthesis or modifying fungal cell membranes. However, the use of chemicals to combat plant diseases has raised concerns because of the harmful potential that these substances have on the environment and health. It is also suggested that certain broad spectrum fungicides, in addition to their antibiotic action against pathogens, may be involved in activating defensive plant responses.

KEYWORDS: *fungicides, plant diseases, associated effects*

1. **Efectele fungicidelor asupra organismului uman**
 - 1.1. *Efectele asupra sistemului imunitar*
 - 1.2. *Cancerul*
 - 1.3. *Boala Parkinson*
 - 1.4. *Diabetul zaharat*
 - 1.5. *Boala cardiovasculară*
 - 1.6. *Alte boli cronice*
2. **Fungicidele și mecanismele defensive la plantele superioare**
 - 2.1. *Interacțiunea plantă-patogen*
 - 2.2. *Răspunsuri de apărare*
 - 2.3. *Utilizarea fungicidelor*
 - 2.4. *Fitotoxicitate*
 - 2.5. *Bioactivitatea compușilor fenolici în rezistența patogenilor*
 - 2.6. *Răspunsul metabolismului oxidativ la atacul patogenilor.*

Pesticidele sunt substanțe chimice utilizate pe scară largă în agricultură, menite să păstreze productivitatea culturilor și calitatea recoltelor. Termenul de pesticid include compuși cu diferite structuri chimice și

mecanisme specifice de acțiune, care le permit să prevină, distrugă și să respingă sau să atenueze dăunătorii țintă (Costa et al. 2015). Bazat pe structura lor chimică specifică, pesticidele pot fi clasificate în diferite clase, de exemplu, carbamați, derivați cumarinici, compuși organoclorurați, compuși organofosforici și piretroizi (Luchian et al, 2019; Boboescu et al, 2020).

Utilizarea universală a unor grupuri variate de pesticide determină poluarea mediului la nivel global, precum și expunerea accidentală a oamenilor la aceste pesticide (Kapka-Skrzypczak et al. 2011). Pesticidele se instalează în sol, sunt deversate în apele subterane și consecutiv în râuri și mări, pătrunzând în lanțul trofic și astfel, indirect, în corpurile umane. Contaminarea mediului înconjurător este, în mare parte, semnificativă în țările în curs de dezvoltare, unde utilizarea pesticidelor este extinsă și nediscriminatorie, în timp ce caracterul neadecvat al preparatelor și a echipamentelor pentru gestionarea atentă a pesticidelor și absența unui control strict, cresc riscurile pentru sănătate. De remarcat este faptul că printre țările bine dezvoltate ale Uniunii Europene (UE), Italia ocupă primul loc în consumul de pesticide pe unitate de suprafață agricolă.

1. Efectele fungicidelor asupra organismului uman

Deoarece bolile fungice reprezintă o amenințare majoră pentru culturi (Fisher et al, 2012; Ianovici, 2016), aplicarea fungicidelor pentru combaterea infestărilor fungice este adesea considerată indispensabilă pentru asigurarea aprovizionării globale cu alimente (Strange și Scott, 2005) În Uniunea Europeană, vânzările de fungicide reprezintă mai mult de 40% din vânzările totale de pesticide (Eurostat Pesticide sales). În regiunile viticole, fungicidele pot reprezenta mai mult de 90% dintre pesticide. Mai mult, se prevede că utilizarea fungicidelor va crește la nivel regional din cauza modificărilor condițiilor climatice, dezvoltării rezistenței la fungicide și a speciilor fungice invazive (Hakala et al, 2011). În urma utilizării lor, fungicidele pot pătrunde în ecosistemele acvatice punctual (de exemplu, deversarea de la stațiile de epurare a apelor uzate în urma utilizării domestice și agricole - Kahle et al, 2008) și nonpoint [de exemplu, drenajul, scurgerea suprafeței în principal din utilizarea agricolă - Bereswill et al, 2012). În sistemele acvatice, fungicidele pot fi toxice pentru o gamă largă de organisme non-țintă, deoarece acționează asupra proceselor biologice de bază care nu sunt specifice fungilor (Maltby et al, 2009) În ciuda utilizării intensive a fungicidelor și a riscurilor ecotoxicologice potențiale asociate în sistemele acvatice, soarta și efectele fungicidelor au primit mult mai puțină atenție în comparație cu insecticidele și erbicidele. De exemplu, numai 13% din studiile privind efectele pesticidelor între 1991 și

2013 s-au concentrat pe fungicide, comparativ cu 62% și respectiv 24% pentru insecticide și, respectiv, erbicide (Köhler și Triebkorn, 2013).

În peisajele agricole, fungicidele sunt utilizate preponderent pe fructe și legume și contribuie la mai mult de 35% din cota de piață a pesticidelor la nivel mondial. Din punct de vedere geografic, Europa este considerată piața dominantă pentru fungicide cu aplicații majore pe cereale (de exemplu, grâu), fructe (cu utilizare deosebit de intensă în viticultură) și legume (Research and Markets, 2014). În Statele Unite (SUA), fungicidele reprezintă mai puțin de 10% (inclusiv fungicidele anorganice) din masa totală a pesticidelor aplicate. Ditiocarbamații, cloronitrilii, inhibitorii de demetilare (DMI) și strobilurinele constituie grupuri fungicide majore care reprezintă aproximativ 65, 12, 7 și 6% din masa fungicidă sintetică totală utilizată în SUA. Mai mult decât atât, ditiocarbamații (agregați cu carbamați) și fungicidele DMI reprezintă aproximativ 29 și 24% din masa fungicidelor sintetice vândute în UE, în timp ce lipsesc date specifice privind cloronitrilii și strobilurinele (Zubrod et al, 2019).

Fungicidele se aplică fie pe semințe, fie direct pe culturi. Multe dintre fungicide posedă acțiune sistemică, adică pot fi preluate în țesuturile plantelor unde oferă protecție împotriva dăunătorilor și agenților patogeni, asemănătoare cu insecticidele (Seagraves și Lundgre, 2012) Fungicidele aplicate pe semințe sunt eficiente împotriva agenților patogeni din sol, dar au potențialul de a persista la concentrații scăzute timp de până la câteva luni în plantă sau rizosferă (Thompson, 2010; Bonmatin et al, 2015; Nettles et al, 2016). În ceea ce privește aplicarea directă pe culturi, utilizarea obișnuită a fungicidelor în culturile tridimensionale, cum ar fi copacii și ramurile de viță de vie, poate crește riscul transportului fungicidului către sistemele acvatice adiacente (Lefrancq et al, 2013). Acest risc este sporit, deoarece fungicidele, spre deosebire de majoritatea celorlalte pesticide, sunt de obicei aplicate profilactic și adesea de 10 ori pe sezon pentru culturile vizate, cum ar fi vița de vie (Reilly et al, 2012).

În ciuda utilizării intensive a fungicidelor, fungii patogeni sunt responsabili de 7-24% din pierderile de producție pentru culturile de bază, care pot fi parțial atribuite dezvoltării rezistenței la fungicidele utilizate în mod obișnuit (Oerke, 2006; Ianovici, 2016). În funcție de genomul agentului patogen și de modul de acțiune fungicidă, agenții patogeni fungici pot dezvolta rezistență în câțiva ani de la expunere (Avenot și Michailides, 2007). Acest lucru necesită o căutare constantă pentru noi fungicide și strategii noi de tratament. Măsurile eficiente pentru prevenirea rezistenței includ scăderea atât a cantității, cât și a frecvenței de aplicare (van Den Bosch et al, 2011) sau combinarea aplicării mai multor fungicide cu diferite moduri de acțiune (van den Bosch et al, 2014).

În zonele urbane, fungicidele eliberate pot contribui considerabil la intrările în ecosistemele acvatică (Burkhardt et al, 2012; Bollmann et al, 2014). Din cauza necesității unei protecții pe termen lung, aplicarea fungicidelor urbane la clădiri poate avea loc pe tot parcursul anului, ceea ce poate duce la mobilizarea fungicidelor în principal în timpul precipitațiilor (Wittmer et al, 2010). Mai mult, fungicidele se aplică în spațiile publice și private (de exemplu, terenuri de golf, peluze, grădini) (Haith și Duffany, 2007) și au fost detectate atât în apele uzate tratate, cât și în cele netratate rezultate din utilizarea lor ca produse farmaceutice umane, precum și în lemn (Kahle et al, 2008; Ianovici, 2020). În consecință, fungicidele utilizate intens atât în peisajele agricole, cât și în cele urbane sunt eliberate în mediu pe tot parcursul anului și pot prezenta un risc pentru organismele vii.

Au fost identificate 99, 52, 108 și respectiv 84 de studii relevante care se ocupă de efectele fungicidelor asupra microorganismelor, macrofitelor, nevertebratelor și respectiv vertebratelor. Fungicidele DMI s-au clasat întotdeauna pe primul loc după grupul de organisme, cu excepția macrofitelor, unde strobilurinele au fost studiate cel mai frecvent. În ceea ce privește microorganismele, numărul studiilor referitoare la alge, bacterii și ciuperci a fost relativ similar, în timp ce alte grupuri microbiene nu au primit aproape nicio atenție. Pentru macrofite, aproape exclusiv *Lemna* și macrofite înrădăcinate au fost evaluate. Datele pentru nevertebrate sunt puternic orientate spre crustacee (în special *Daphnia* spp. și *Gammarus* spp.). În mod considerabil, mai puține studii s-au referit la insecte și moluște, iar studiile referitoare la alte grupuri de nevertebrate sunt rare. În ceea ce privește vertebratele, există mai multe studii privind toxicitatea fungicidă DMI și dicarboximidă la pești decât studiile efectuate pe amfibieni. Pentru toate grupurile de organisme și fungicide, majoritatea studiilor au fost efectuate în laborator (Zubrod et al, 2019).

În ceea ce privește populația umană generală, expunerea la pesticide are loc la niveluri relativ scăzute. De obicei, la aceste doze de expunere, pesticidele nu produc efecte dăunătoare, permanente, pentru oamenii adulți. Cu toate acestea, mai multe grupuri de indivizi prezintă un risc considerabil, fie din cauza expunerii crescute (de exemplu, lucrătorii agricoli și familiile acestora; indivizi care locuiesc aproape de câmpurile în care se aplică pesticide), fie din cauza susceptibilității crescute la toxicitatea pesticidelor (de exemplu, copiii) (García et al. 2016). Efectele asupra sănătății, rezultate din expunerea la pesticide pe cale cutanată, orală sau inhalatorie variază în funcție de compusul specific implicat și pot fi acute sau cronice.

1.1. Efectele asupra sistemului imunitar. Studiile experimentale au raportat că expunerea la pesticide poate exercita efecte dăunătoare asupra

sistemului imunitar (Mokarizadeh et al. 2015). Sistemul imunitar este o rețea compusă din situri anatomice și diferite tipuri de celule specializate care sunt implicate în apărarea unui organism împotriva potențialilor agenți patogeni și a celulelor neoplazice (Fig. 1). Răspunsul imun constă în răspunsul antigen-nespecific (înnăscut) și cel antigen-specific (adaptiv). Celulele imunocompetente secretă mediatori inflamatori, cum ar fi citokinele, chemokinele și speciile reactive de oxigen (ROS) și speciile reactive de azot (RNS). În special, citokinele pot regla imunitatea înnăscută sau adaptativă, hematopoieza, procesele inflamatorii și multe alte activități celulare prin legarea specifică la receptorii acestora. S-a demonstrat că, în timp ce *in vitro* citokinele pot acționa singure, acțiunile lor *in vivo* sunt sinergice sau antagonice; astfel formează o rețea intercomunicativă care rezultă dintr-un echilibru delicat care susține homeostazia (Brundage și Barnett, 2010; Batalu & Ianovici, 2018). Acest echilibru prezintă vulnerabilitate la acțiunile unui număr de substanțe chimice, conducând la modificări structurale și funcționale ale sistemului, care în cele din urmă, au rezultate negative.

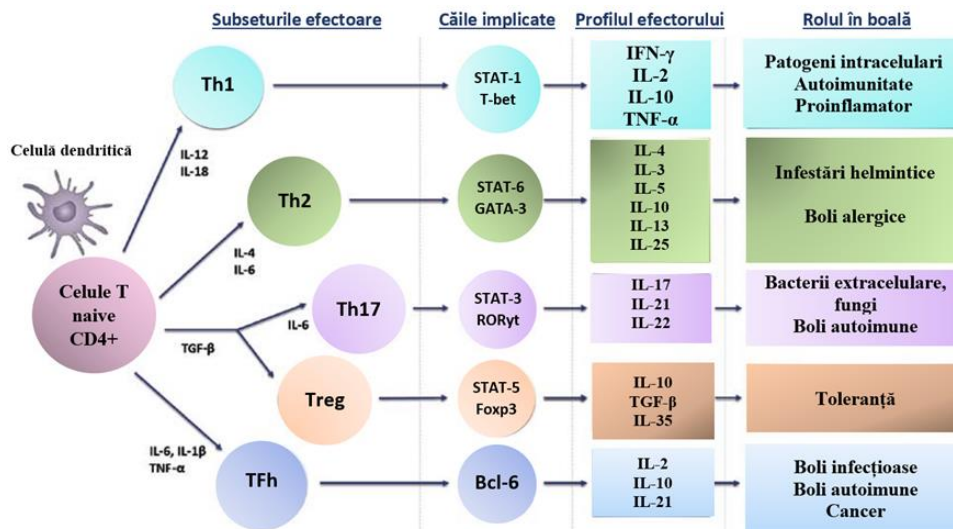


FIG. 1. Rețeaua sistemului imunitar. O prezentare schematică a semnalizării celulelor efectoare imune implicate în boală (adaptat după Gangemi et al. 2016).

Implicarea sistemului imunitar, care contribuie la dezvoltarea condițiilor patologice, a fost demonstrată anterior tot în contextul diferitelor riscuri profesionale. Mai mult, expunerea profesională la riscuri biologice, poate provoca infecții de la diferiți agenți care activează răspunsul imun. O astfel de

activare poate determina proliferarea clonelor de celule B specific, ca o consecință a stimulării antigenice cronice susținute de diferiți agenți infecțioși. Mai mult, implicarea micro-mediului tumoral împreună cu eliberarea de citokine pot fi asociate cu dezvoltarea tumorală în cazul muncitorilor expuși la azbest sau la alte fibre (Malaponte et al. 2016).

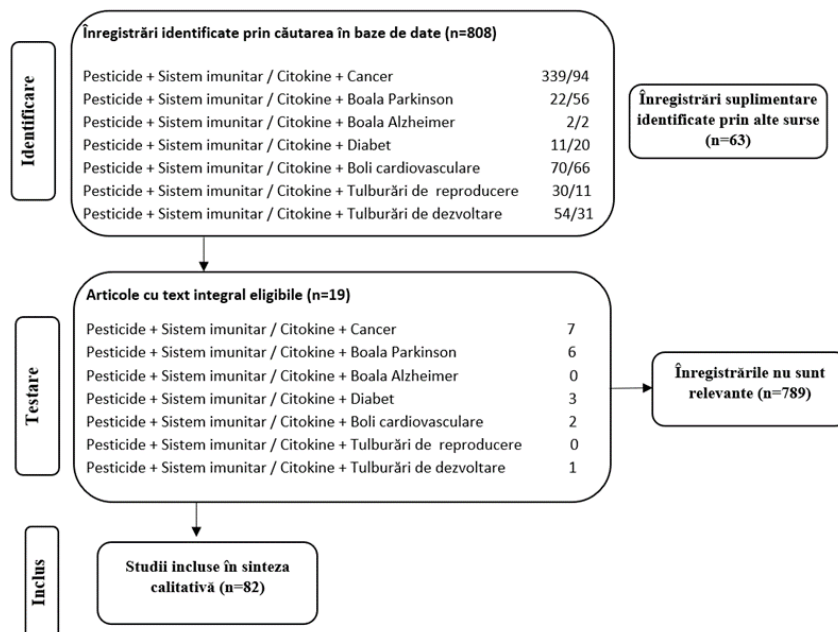


FIG. 2. Pesticidele și bolile cronice la om. Prezentarea schematică a rezultatelor din PubMed axate pe căutarea unei corelații între acțiunea pesticidelor și modularea căilor de citokine în bolile cronice (Adaptată după Gangemi et al. 2016).

Deși mai multe studii au investigat efectele expunerii la pesticide asupra citokinelor, majoritatea au analizat efectele *in vitro*, întrucât *in vivo* studiile s-au concentrat în principal pe modele animale. Prin urmare, există o discrepanță în cunoașterea impactului real al acestor modificări asupra nivelului de citokine umorale la om și, în special, asupra dozelor minime care pot promova dezvoltarea bolilor cronice.

În lucrarea lui Gangemi și colab., din anul 2016, colectarea datelor s-a obținut dintr-o căutare realizată în baza de date științifice, *PubMed*, pentru a identifica articolele publicate în limba engleză corelând expunerea la pesticide cu mai multe boli cronice legate de imunitate, accentul fiind pus pe efectele expunerii profesionale și de mediu la pesticide, asupra căilor citokinelor și asupra impactului modificărilor nivelurilor de citokine asupra sănătății, precum

dezvoltarea unor boli cronice. S-au folosit următorii termeni: „cancer”, „boala Parkinson”, „boala Alzheimer”, „diabet”, „boală cardiovasculară”, „tulburări de reproducere”, „tulburare de dezvoltare” fiecare în combinație cu „pesticide” și „sistem imunitar” sau „citokină” (Fig. 2).

1.2. Cancerul. Ipoteza unei posibile asocieri între expunerea la pesticide și cancer a fost investigată pe scară largă; literatura de specialitate oferind substanțiale informații conform cărora expunerea cronică la pesticide, chiar și la doze mici, în administrațiile agricole, comerciale, domestice și grădini este asociată cu o creștere a riscului dezvoltării cancerului de plămâni, ficat, prostată, colon și sân, precum și limfom non-Hodgkin, mielom multiplu și leucemie (Alavanja et al. 2013).

Un număr mare de date au raportat capacitatea sistemului imunitar de a recunoaște și controla creșterea tumorii. Se pare că există o legătură destul de strânsă între riscul de apariție al cancerului și efectul imunotoxic al compușilor chimici care influențează activitatea celulelor natural NK și NKT, celulelor T citotoxice, macrofagelor și producerii de citokine: aceste modificări au fost sugerate ca fiind cele care afectează imunosupravegherea cancerului și au fost raportate mai multe pesticide (organofosfați, organocloruri, ditiocarbamați și unele fungicide) care induc activarea acestor celule atât *in vitro*, *in vivo* cât și la populațiile umane expuse (Corsini et al. 2013). Date de la studiile *in vitro* și *in vivo* au sugerat că sistemul imunitar este capabil să recunoască celulele transformate, iar acum este general stabilit că evitarea detectării și eliminării imune este un semn distinctiv al cancerului; dimpotrivă, a devenit clar că sistemul imunitar poate promova, de asemenea, progresia tumorii prin promovarea inflamației cronice, influențând imunogenicitatea tumorii și suprimând imunitatea antitumorală (Teng et al. 2015). Acest rol dublu al sistemului imunitar în inhibarea sau facilitarea creșterii tumorii este cunoscut sub numele de imunoeditare a cancerului și constă din trei faze: eliminarea (supravegherea imunitară a cancerului), echilibrul (cu imunitatea care controlează expansiunea tumorii) și evacuarea (celulele tumorale se diferențiază reducând imunogenicitatea lor sau inducând mecanisme imunosupresoare, ducând la creșterea tumorii). Imunotoxicitatea indusă de substanțe chimice, datorită expunerii la pesticide, poate compromite oricare dintre fazele imunoeditării (Teng et al. 2015).

Un alt posibil mecanism de tumorigenicitate este sugerat de dovezile transformării neoplazice a siturilor inflamatorii cronice în care pesticidele pot activa disfuncția imună înăscută, ducând la inflamație cronică. Într-adevăr, producția crescută de factori de creștere necesară pentru repararea țesuturilor deteriorate de secreția crescută a chemokinelor și citokinelor inflamatorii [de

exemplu, factorul de necroză tumorală (TNF), interleukina (IL) -1, -6 și -8] facilitează dezvoltarea celulelor tumorale (Mokarizadeh et al. 2015).

Nu s-a reținut niciun studiu care să includă în mod clar expunerea omului la pesticide, cancerul și expresia citokinelor. Cu toate acestea, asocierea presupusă este puternic determinată de publicații care sugerează că modificările profilurilor citokinelor și ale altor ținte imunologice pot crește riscul de cancer.

Cassidy și colaboratorii (2005) au investigat corelația dintre expunerea la unele insecticide și cancerul de sân. În biopsiile femeilor evaluate pentru leziuni mamare, au găsit o asociere pozitivă între prezența epoxidului heptaclor și prevalența cancerului. Mai mult, când acești autori au expus limfocite umane izolate la epoxid heptaclor la concentrații similare cu cele găsite în biopsiile mamare, s-a demonstrat că TNF- α , în sinergie cu estrogeni, a indus leziuni ale ADN-ului prin semnalizarea oxidului azotic (NO) și a inițiat transformarea neoplazică.

Într-un alt studiu, imunotoxicitatea unui piretroid sintetic a fost evaluată la 30 de muncitori din sere, expuși ocupațional la α -cipermetrin, prin compararea nivelurilor plasmatiche de IFN- γ , IL-12p70, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , TNF- α și TNF- β . Lucrătorii expuși nu au prezentat nici semne clinice de imunosupresie, nici modificări ale leucocitelor totale sau a subpopulațiilor de leucocite, în timp ce au fost demonstrate diferențe semnificative ($p < 0.05$) ale nivelurilor de IFN- γ , IL-22 și IL-8. Aceste constatări sunt extrem de relevante, deoarece mediatorii respectivi sunt implicați în imunitatea antitumorală și răspunsul la infecție. Prin urmare, aceste rezultate susțin ipoteza conform căreia expunerea la piretroide poate reduce apărarea gazdei împotriva infecției și cancerului, în special la subiecții cu capacitate imună redusă.

S-au făcut investigații referitoare la expunerea la multiple pesticide (inclusiv neonicotinoide, piretroide și organofosfați), toți suspecți de a fi cancerigeni. Nivelurile serice ale IL-17 și IL-22 au fost analizate în rândul lucrătorilor din sere expuși ocupațional, indicându-se o creștere semnificativă a nivelurilor de IL-22, fapt care a fost stabilit ca fiind implicat în inițierea cancerului de la inflamație, prin activarea traductorului de semnal și a căii de semnalizare a activatorului de transcriere 3 (STAT-3), în timp ce promovează tumorigeneza prin semnalizarea protein kinaza 8 (MAP3K8) activată prin mitogen. Rezultatele susțin ipoteza conform căreia stresul oxidativ și afectarea funcției limfocitelor Th1 pot afecta apărarea gazdei împotriva cancerului în cazul lucrătorilor expuși la pesticide (Fenga et al. 2014).

Recent, Dhoub și colaboratorii au analizat asocierea dintre expunerea la pesticidele cu carbamat, modificările sistemului imunitar și susceptibilitatea

la diferite tipuri de cancer. Autorii au ajuns la concluzia că, carbamații pot provoca cancer prin mai multe mecanisme neimunologice și imunologice, incluzând stresul oxidativ, suprimarea producției de citokine în celulele T helper 1 (Th1) și producția de NO indusă de IFN- γ în macrofage (Dhouib et al. 2016).

Studiul lui Jorsaraei și colaboratorii (2014) a arătat că carbarylul, un alt carbamat, a redus greutatea timusului și splinei la șobolani; în plus, carbarylul a redus semnificativ proliferarea limfocitelor în splină și producția de IL-2, a modificat echilibrul Th1 / Th2 către răspunsul Th2 prin inhibarea IFN- γ și creșterea producției de IL-4 și IL-10 și, de asemenea, a redus producerea de citokine inflamatorii (IL-1 β și TNF- α) de către macrofage. Astfel, conform aceluiași autori, carbarylul poate stimula dezvoltarea cancerului prin utilizarea mecanismelor de răspuns imun.

Clorpirifosul și derivații săi au fost, de asemenea, implicați în carcinogeneză. Într-un studiu recent, *in vivo*, administrarea de clorpirifos la șobolani a demonstrat o mică corelație negativă între nivelurile de expunere și numărul de celule NK, despre care se știe că joacă un rol important în supravegherea imunologică împotriva cancerului.

Mai mult, s-a demonstrat recent că metil-parationul și clorpirifosul promovează producția de citokine inflamatorii, cum ar fi TNF- α , IL-6 și IL-1 β în celulele carcinomului hepatocelular uman (HepG2), influențând, astfel, negativ expresia genei paraoxonaza 1 (PON1). Important este faptul că, o expresie scăzută a genei PON1 poate crește susceptibilitatea la toxicitatea organofosfatului și incidența bolilor legate de inflamația cronică, cum ar fi carcinogeneza hepatocelulară (Medina-Díaz et al. 2016).

1.3. Boala Parkinson este o boală neurodegenerativă care afectează în cea mai mare parte sistemul motor și se caracterizează prin tremor, rigiditate, afectarea reflexului postural și lentoare. Această afecțiune debilitantă este cauzată de depleția selectivă a neuronilor dopaminergici (DA) din regiunea substantia nigra compacta (SNpc) și de nivelurile de DA în corpul striatum al căii DA nigrostriatale. Neuronii dopaminergici (DA) sunt deosebit de sensibili la stresul oxidativ datorită capacității lor antioxidante scăzute și a conținutului ridicat de molecule predispuse la oxidare (DA, lipide și fier). Etiologia și mecanismele de acțiune ale bolii Parkinson sunt încă neclare; cu toate acestea, există dovezi puternice care sugerează că reacția glială și neuroinflamarea joacă un rol în patogeneza acesteia (Blesa et al. 2015).

Activarea celulelor gliale este o caracteristică frecventă atât la pacienți, cât și la modelele animale cu boala Parkinson, iar microgliile și astrocitele sunt considerate a juca roluri esențiale în procesele neuroinflamatorii legate de dezvoltarea acestei boli. Mai mult, s-a emis ipoteza că activarea excesivă a

microgliei duce la inducerea crescută a citokinelor proinflamatorii, cum ar fi IFN- γ , IL-1 β , IL-6 și TNF- α , inducând degenerarea neuronilor dopaminergici SNpc. Mai mult, activarea microglială stimulează eliberarea de mediatori proinflamatori responsabili de activarea astrocitelor, care la rândul lor contribuie la procesele neuroinflamatorii în boala Parkinson (Hong et al. 2016).

Mai multe studii au sugerat că factorii de mediu, precum neurotoxinele, pesticidele, insecticidele și neuronii dopaminergici în sine, pot juca un rol în fiziopatologia bolii, prin neurodegenerarea neuronilor dopaminergici SNpc, afectând funcția mitocondrială și activând microglia, astfel în cele din urmă inducând acumularea speciilor reactive de oxigen (ROS) și a factorilor inflamatorii (Baltazar et al. 2014).

Boala Parkinson este probabil boala neurologică cea mai frecvent asociată, prin studii epidemiologice, cu expunerea la pesticide în medii profesionale sau de mediu. În general, datele disponibile au furnizat suficiente dovezi pentru a stabili o asociere între expunerea la pesticide în general și un risc crescut de apariție a bolii. Cu toate acestea, dovezile nu par atât de convingătoare pentru a confirma o asociere cauzală (Moretto și Colosio, 2013). Astfel, datele experimentale realizate pe rozătoare au sugerat că expunerea la pesticide reprezintă un factor de risc pentru boala Parkinson. Important este faptul că paraquatul și rotenona, cunoscute pentru cauzarea neuroinflamației și pierderea celulelor dopaminergice, sunt cele mai frecvente pesticide utilizate la modele animale cu boala Parkinson, pe bază de toxine. Mai mult, s-a demonstrat că tratamentul cu paraquat a cauzat tulburări de comportament, precum și o creștere a nivelurilor de specii reactive de oxigen (ROS) și TNF- α în substanța neagră la șobolani. Într-un alt studiu a fost demonstrat că o deleție genetică a IFN- γ a protejat neuronii dopaminergici SNpc de efectele dăunătoare ale paraquatului, prezentând și modificări normalizate ale factorilor inflamatori și oxidativi (IL-1 β , TNF- α) în această regiune a creierului. Prin urmare, autorii au concluzionat că IFN- γ influențează neurodegenerarea indusă de paraquat, implicând căile oxidative și proinflamatorii. Mai mult, eliberarea de TNF- α și IL-1 β din celulele BV-2 microgliene este, de asemenea, crescută în urma tratamentului cu rotenonă, după cum a raportat Yuan și colaboratorii (2013). S-a demonstrat că expunerea la unele pesticide organoclorurate, în special dieldrina, duce la neurotoxicitate dopaminergică selectivă care poate fi mediată de producția intracelulară de ROS (specii reactive de oxigen), reglând NOX2 și activarea microglială. Într-un alt exemplu al efectelor dăunătoare ale pesticidelor, expunerea cronică a șobolanilor la diclorvos, un insecticid organofosforic, determină activarea microglială cu inducerea NADPH oxidazei și citokinelor proinflamatorii (TNF- α , IL-1 β și IL-6) (Binukumar et al. 2011). Este important de reținut faptul că activarea

microglială în sine reprezintă un factor de risc pentru boala Parkinson, prin creșterea sensibilității celulelor dopaminergice la toxicitatea diclorvosului (Binukumar et al. 2011).

1.4. Diabetul zaharat este o boală cronică progresivă caracterizată prin hiperglicemie sistemică ce rezultă din modificări ale acțiunii insulinei, secreției de insulină sau ambelor. Diabetul zaharat, în special cel de tipul 2, este considerată o boală multifactorială în care atât genetica și stilul de viață joacă un rol semnificativ, precum și factorii de mediu și ocupaționali. Într-adevăr, Raafat și colaboratorii au demonstrat o corelație puternică între concentrația sanguină a malationului, un insecticid organofosforic și rezistența la insulină în rândul fermierilor (Raafat et al. 2012).

Diabetul zaharat de tip 1 este o boală autoimună, în care sistemul imunitar vizează incorect celulele β producătoare de insulină din pancreas. Prin urmare, acest tip de diabet poate fi considerat o boală inflamatorie (Donath și Shoelson, 2011). Pe de altă parte, diabetul zaharat de tip 2 este o tulburare metabolică asociată cu hiperglicemie, rezistență la insulină și o relativă lipsă de insulină. Această patologie pare să provină din modificări ale sistemului imunitar, mai ales în ceea ce privește diferitele modele de exprimare a citokinelor, rezultând o afecțiune cunoscută sub numele de „inflamație sistemică de grad scăzut”. Mai mult, citokinele produse de țesutul adipos, cum ar fi TNF- α și IL-6, controlează secreția proteinei C reactive din ficat. Stimularea acestui mecanism inflamator pare a fi cauza ce declanșează rezistența la insulină în țesuturile periferice.

Datele epidemiologice recente au demonstrat o asociere pozitivă marcată între expunerea umană la compușii organoclorurați și pesticidele organofosforice și diabetul zaharat. În ansamblu, a fost evidențiată o asociere pozitivă a expunerii la unele pesticide organoclorurate [trans-nonaclor, hexaclorobenzen, diclorodifeniltriclorețan (DDT) și diclorodifenildicloroetilenă (DDE)] cu diabetul de tip 2. Cu toate acestea, datele bibliografice disponibile nu sunt suficient de numeroase pentru a confirma cauzalitatea (Jaacks și Staimez, 2015).

Cu toate acestea, până în prezent, nu a fost efectuat niciun studiu uman. Această asociere presupusă a fost examinată în doar câteva studii experimentale având ca modele rozătoare cu rezistență la insulină. Astfel, un studiu recent a arătat că creșterea numerică a celulelor imunitare poate fi o consecință a expresiei crescute a citokinelor, inclusiv IL-1, IL-6 și IFN- γ în ficatul șobolanilor expuși malationului (Lasram et al. 2014). Mai mult, Zhang și colaboratorii au demonstrat niveluri crescute de malondialdehidă, TNF- α și IL-6 în mușchii șobolanilor expuși la insecticidal ometoat. Autorii au concluzionat că ometoatul are potențialul de a provoca rezistență la insulină (Zhang et al.

2014). Mai mult, un studiu transversal a sugerat că fermierii expuși profesional la pesticide organofosforice sunt susceptibili la apariția tulburărilor neuropsihologice, precum și a diabetului.

În plus, anumite pesticide, aparținând familiei organoclorurilor, par a fi corelate cu un risc crescut de diabet (Starling et al. 2014). Duramad și colaboratorii au investigat efectele expunerii la pesticide, la copii, în timpul dezvoltării prenatale și postnatale timpurii. Acești autori au emis ipoteza că modificările profilurilor de citokine Th1/Th2 sunt implicate în dezvoltarea mai multor tulburări, cum ar fi bolile respiratorii, alergiile, cancerul și diabetul (Duramad et al. 2007).

Alte studii au demonstrat niveluri crescute de citokine pro-inflamatorii la sobolanii expuși la organofosfați. În plus, s-a demonstrat că administrarea periferică de IL-6 induce hiperglicemie și rezistență la insulină la om și la rozătoare. Un studiu recent a emis ipoteza că pesticidele organofosforice pot atenua efectul incretinei și pot produce rezistență la insulină prin efecte lipotoxice, stimulare inflamatorie și inducerea stresului oxidativ. Mai mult, s-a constatat că organofosfații cauzează o disfuncție a celulelor β prin suprastimulare și, prin urmare, reglarea descendentă a receptorilor muscarinici datorită acumulării de acetilcolină (ACh), care joacă un rol în producția de insulină dependentă de glucoză (Rathish et al. 2016).

1.5. Boala cardiovasculară reprezintă cea mai cunoscută cauză de deces la nivel mondial și a doua cea mai întâlnită cauză de deces în țările cu venituri ridicate. Un număr deosebit de mare de studii epidemiologice au susținut corelația dintre expunerea la pesticide și dezvoltarea bolilor cardiovasculare. Un sondaj efectuat în regiunile rurale din Kenya a arătat că majoritatea fermierilor activi, sufereau de probleme de sănătate legate de utilizarea diferiților compuși agrochimici. Studiul a analizat asocierea diferitelor sarcini de lucru, cum ar fi horticultura, floricultura și sera (cele cu o aplicare abundentă de produse agrochimice) pentru a detecta simptomele cardiovasculare (dureri toracice, palpitații și umflarea picioarelor) la muncitorii respectivi. Într-adevăr, a fost detectată o corelație semnificativă între expunerea agrochimică și bolile cardiovasculare (Tsimbiri et al. 2015). Mai mult, s-a sugerat o posibilă asociere între aplicarea de produse agrochimice (inclusiv erbicide, compuși fenoxi, insecticide, fungicide, carbamați, organofosfați și organocloruri) cu mortalitatea datorată bolilor cardiovasculare, precum cardiopatii ischemice sau accidente vasculare cerebrale în rândul fermierilor.

Conform literaturii disponibile, până în prezent nu există niciun studiu actual care să includă în mod clar expunerea omului la pesticide, boli cardiovasculare și expresia citokinelor, deși un număr limitat de studii pe

animale descriu această asociere complexă. Astfel, Vadhana și colaboratorii a evaluat efectul tratamentului timpuriu cu permetrin asupra inimii șobolanilor adulți. Ei au raportat niveluri mai ridicate de colesterol, IFN- γ , IL-2, IL-1 β , IL-10, în plasmă, susținând dovezile conform cărora modificările detectate la șobolanii adulți pot fi rezultatul modificărilor epigenetice ce apar în perioada neonatală, și conducând la modificări ale chemokinelor legate de funcția cardiacă (Vadhana et al. 2011). Zafiroopoulos și colaboratorii a evaluat efectul expunerii repetate la nivel scăzut la diazinon, propoxur și clorpirifos asupra funcției cardiace a iepurilor și a arătat că acestea produc modificări ale ADN-ului genomic din țesuturile cardiace și cresc stresul oxidativ (Zafiroopoulos et al. 2014). Într-un alt studiu, în urma administrării omeotatului la șobolani, s-a demonstrat că nivelul TNF- α în țesutul cerebral a fost cu mult mai mare decât nivelul observat în grupul martor.

1.6. Alte boli cronice. Există un număr destul de redus de studii care evaluează corelația dintre expunerea la pesticide și alte boli cronice aferente la om, cauzate de dereglarea citokinelor. Totodată, această asociație nu are încă un sprijin solid din partea bibliografiei. Aceste condiții includ: boala Alzheimer (Chin-Chan et al. 2015), tulburările de reproducere (Jamal et al. 2015) și neurodezvoltarea (Shelton et al. 2014), care necesită investigații suplimentare pentru mai multe dovezi.

Așadar, pesticidele pot exercita diferite efecte asupra sănătății umane prin influențarea sistemului imunitar atât în cazul expunerii la mediu, cât și la locul de muncă. Expunerea la pesticide induce modificări ale sistemului imunitar în funcție de un anumit pesticid și include modificarea răspunsurilor imune bine reglementate, la antigeni tumorali, alergeni, autoantigeni și antigeni microbieni care pot crește susceptibilitatea organismului de a dezvolta diferite tipuri de cancer, alergii, boli autoimune și infecțioase. Cu toate acestea, mecanismele imunologice exacte care stau la baza toxicității pesticidelor rămân neclare.

Studiile pe animale au demonstrat că anumite pesticide pot modifica sistemul imunitar fie morfologic, fie funcțional. Cu toate acestea, în unele cazuri, concentrațiile sau dozele testate nu au indicat concentrații de expunere relevante pentru oameni, astfel identificarea unei legături între efectele imunotoxice la modelele animale și populațiile umane, rămâne complexă.

Evaluările expunerii s-au limitat, în general, la evaluarea unor categorii mai largi de pesticide sau a populațiilor țintă, care pot ascunde implicarea unor pesticide specifice sau a altor expuneri agricole (Aschebrook-Kilfoy et al. 2014). Alți factori limitativi sunt expunerea la un singur pesticid în majoritatea studiilor de imunotoxicitate, în timp ce în situații din viața reală, indivizii sunt expuși unei game largi de substanțe chimice și/sau pesticide. Datorită

antagonismului potențial sau a efectelor sinergice ale substanțelor chimice atunci când acestea sunt amestecate, toxicitatea și riscurile rezultate pot diferi în comparație cu propriile lor efecte. Acest aspect prezintă importanță în cazul persoanelor expuse profesional, deoarece nivelurile de pesticide combinate la care sunt expuși oamenii pot atinge concentrații extrem de ridicate, în special în industria producătoare și în zonele agricole.

Studiile care raportează tulburări ale sistemului imunitar la persoane expuse pesticidelor, au multe limitări, cum ar fi lipsa de informații cu privire la nivelurile de expunere, diferențele în procedurile de administrare a pesticidelor, dificultatea de a caracteriza o semnificație prognostică a modificărilor slabe observate adesea și interpretarea rezultatelor obținute. Se pare că, deși expunerea la pesticide poate afecta funcția imună, apariția tulburărilor imune depinde de nivelurile și durata expunerii la pesticide (Taghavian et al. 2016).

Există dovezi din studiile experimentale și epidemiologice care indică faptul că expunerea la pesticide poate afecta sistemul imunitar prin perturbări ale echilibrului citokinelor. La fel, este acum bine stabilit că sistemul imunitar joacă un rol important în dezvoltarea mai multor boli cronice. Cu toate acestea, nu este încă clar dacă expunerea la pesticide poate duce la boli cronice prin efecte directe sau indirecte asupra citokinelor. Principala provocare nu este doar identificarea efectelor pesticidelor individuale și a combinațiilor acestora asupra sistemului imunitar, ci și determinarea modului și a duratei expunerii, dat fiind faptul că efectele toxice asupra sistemului imunitar nu pot fi separate de aceste considerații. Prin urmare, există o nevoie clară de studii epidemiologice și experimentale mai bine concepute și standardizate pentru a identifica exact asocierea dintre nivelurile de expunere și efectele toxice, pentru a stabili noi biomarkeri ai expunerii (Batalu & Ianovici, 2018).

Un studiu de data foarte recentă dezvăluie efectele a trei fungicide diferite, imazalil (IMZ), chlorothalonil (CTL) și carbendazim (CBZ), care sunt fungicide tipice cu spectru larg care sunt detectate la niveluri ridicate în mediul natural, asupra celulelor colorectale epiteliale umane eterogene. Toate cele trei fungicide au avut potențialul de a induce diferite grade de toxicitate, de a provoca apoptoză, de specii reactive de oxigen (ROS) și chiar de a schimba ciclul celular din celule. Concentrația inhibitoare jumătate maximă (IC50) a CTL este cea mai scăzută dintre aceste trei fungicide, sugerând că poate avea cel mai mare risc de expunere, urmată de IMZ și CBZ (Tao et al, 2020).

Aplicarea pe scară largă a fungicidelor triazolice îi face pe oameni să se preocupe cu privire la efectele sale adverse la mamifere. Într-un studiu recent, efectele citotoxice ale fungicidelor alcoolice triazolice (TAF) au fost evaluate asupra celulelor HeLa umane, A549, HCT116 și K562. Rezultatele au

arătat că TAF au avut citotoxicitate asupra celulelor umane cu niveluri diferite și selectivitate citotoxică. Dintre cele cinci TAF, diniconazolul a dezvăluit o gamă largă de citotoxicitate pentru a inhiba viabilitatea celulelor aderente și a suspensiei, provocând micșorarea celulelor HeLa, cu intrarea celulelor K562 în colaps și citotoxicitate mai puternică decât a hexaconazolului. Mai mult, s-a observat implicarea ROS în citotoxicitatea TAF pe celulele umane și s-a caracterizat apoptoza celulelor HeLa și formarea corpului apoptotic în celulele K562 induse de diniconazol. Rezultatele au indicat că citotoxicitatea TAF depinde de proprietatea și specificitatea celulelor umane, celulele K562 fiind cele mai susceptibile la TAF și diniconazolul cel mai toxic (Xu et al, 2020).

S-au găsit reziduuri de fungicide pe alimente destinate consumului uman, în principal din tratamente post-recoltare (Brooks și Roberts, 1999). Unele fungicide sunt periculoase pentru sănătatea umană, cum ar fi vinclozolin, care acum a fost eliminat din utilizare (Hrelia et al, 1996). Ziram este, de asemenea, un fungicid care este toxic pentru oamenii cu expunere pe termen lung și fatal dacă este ingerat (NCBI).

2. Fungicidele și mecanismele defensive la plantele superioare

2.1. Interacțiunea plantă-patogen. Primul pas în infecția unei plante de către un agent patogen este pătrunderea în țesutul vegetal prin deschiderile naturale, cum ar fi stomatele sau prin leziuni (Heydari și Misaghi, 1999). Invadarea țesutului este adesea urmată de dezvoltarea rapidă și răspândirea agentului patogen în gazdă. De îndată ce planta detectează prezența microorganismului invadator, pot fi declanșate unul sau mai multe mecanisme de apărare pentru a restricționa dezvoltarea agentului patogen și, în cele din urmă, pentru a-l distruge. Aceste mecanisme de apărare includ atât bariere fizice, cât și bariere chimice, cum ar fi pereții celulari întăriți sau sinteza moleculelor antimicrobiene (Hammond-Kosack și Jones, 1996; Alexan & Ianovici, 2018; Ciobanu & Ianovici, 2018).

Interacțiunile dintre plante și agenți patogeni au fost clasificate ca fiind compatibile sau incompatibile. Reacțiile incompatibile (gazdă rezistentă, agent patogen avirulent) sunt adesea caracterizate prin apariția necrozei sau moartea celulelor vegetale, la punctul de penetrare al agentului patogen. De asemenea, cunoscut sub numele de răspuns hipersensibil (HR-hypersensitive response), acesta previne transmiterea agentului patogen către alte celule sau părți ale plantei gazdă. Pe de altă parte, în interacțiunile compatibile (gazdă sensibilă, agent patogen virulent), în care agentul patogen se poate răspândi în alte zone ale plantei, moartea masivă a celulelor plantelor nu are loc (Bowler et al. 1992).

2.2. Răspunsuri de apărare. Răspunsul hipersensibil (HR) implică o multitudine de evenimente biochimice din cadrul plantei, inclusiv sinteza etilenei și fitoalexinelor, întărirea peretelui celular cu caloză, lignină și a compușilor înrudiți, acumularea de glicoproteine bogate în hidroxiprolină la limita peretelui celular și sinteza proteinelor legate de patogeneză (PRP-pathogenesis-related protein), acestea incluzând glucanaze, quitanaze, peroxidaze și inhibitori de proteine (Dixon și Lamb, 1990). În timpul dezvoltării HR, reglarea spațială și temporală a diferitelor reacții generale de apărare, cum ar fi întărirea peretelui celular, producția de fitoalexine și acumularea de proteine antimicrobiene, se numără printre cei mai decisivi factori care guvernează susceptibilitatea sau rezistența în interacțiunile plante-patogen (Hammond-Kosack și Jones, 1996).

În plus față de această rezistență genetică, plantele relevă o rezistență inductibilă numită „rezistență sistemică dobândită” (SAR-systemic acquired resistance), datorită leziunilor necrotice cauzate de agenții patogeni atât în interacțiunile compatibile, cât și în interacțiunile incompatibile (Ryals et al. 1996). Dezvoltarea SAR protejează planta împotriva unui spectru larg de agenți patogeni și se corelează cu inducerea unui grup de gene bine caracterizate (gene SAR) care alcătuiesc așa-numitele PRP (proteine legate de patogeneză). Acest răspuns pare a fi modular, consolidând mecanismele de rezistență primare, astfel încât SAR să poată converti o interacțiune compatibilă într-una incompatibilă.

2.3. Utilizarea fungicidelor. Bolile plantelor sunt adesea tratate cu substanțe chimice (de exemplu, fungicide, nematocide, bactericide) și, în unele cazuri, prin tehnici de cultivare. Cu toate acestea, utilizarea substanțelor chimice pentru combaterea bolilor plantelor a stârnit îngrijorare în ultimii ani din cauza potențialului dăunător al acestor substanțe atât asupra mediului înconjurător, cât și în lanțul alimentar. S-a demonstrat că unele substanțe chimice sunt cancerigene. Alte probleme includ apariția de noi tulpini de agenți patogeni care au devenit rezistente la compușii chimici existenți, eliminarea treptată a unor pesticide și refuzul unor companii de a dezvolta noi produse chimice datorită procesului lung de înregistrare și a costurilor asociate (Heydari și Misaghi, 1999). În orice caz, pentru a menține și, în unele cazuri, pentru a crește recolta, fermierii aplică cantități enorme de tratamente chimice de toate tipurile în fiecare an. În ciuda utilizării abundente a fungicidelor, o medie de 35% din producția agricolă posibilă este pierdută în urma unui atac fungic (Bader și Abdel-Basset, 1999).

Marea varietate de fungicide care se cunosc, poate fi clasificată în două categorii principale: fungicide de contact și fungicide sistemice. Fungicidele de contact, cum ar fi cele cu cupru (Cu) sau cu sulf (S) au acțiune

preventivă, acționând prin uciderea ciupercilor pe măsură ce sporii germinează, înainte ca miceliul să crească și să se dezvolte în țesuturile plantei. Fungicidele sistemică, cunoscute și sub numele de fungicide curative sau de eradicare, pot ucide ciuperca după ce miceliul a pătruns în parenchimul țesutului plantei, oprind dispersia sau infecția în interiorul plantei.

Benzimidazolii sunt un grup de fungicide organice cu acțiune sistemică care sunt utilizate pe scară largă în agricultură. Aceste tipuri de compuși controlează bolile produse de o gamă largă de ciuperci, la doze relativ mici de aplicare (Delp, 1987). În plus, s-a demonstrat că acești compuși pot avea efecte benefice asupra fiziologiei plantei. De exemplu, fungicidul benomil (carbamat de metil-N-butil-carbamil-benzimidazol), unul dintre cei mai eficienți și mai utilizați benzimidazoli, are o activitate de citokinină în soia și ridiche. Carbendazimul (benzimidazol 2-il metil carbamat) are proprietăți similare cu cele ale benomilului, metabolitul activ al acestuia având efect de întârziere a senescenței la grâu (*Triticum aestivum*).

În general, majoritatea fungicidelor acționează prin inhibarea metabolismului energetic, blocarea biosintezei sau modificarea membranelor celulare ale ciupercii. În funcție de locul în care celula este atacată, fungicidele pot acționa asupra peretelui celular, membranei, protoplastului, mitocondriei, ribozomilor sau nucleului. Astfel, de exemplu, carbendazimul, un fungicid sistemic cu acțiune curativă și protectoare, inhibă dezvoltarea materialului germinativ, formarea apresoriului și creșterea nucleului (Tomlin, 1994).

Deși este general acceptat faptul că activitatea acestor compuși derivă din acțiunea lor directă, antibiotică, au apărut speculații cu privire la modul în care sistemele de apărare ale plantei pot spori eficacitatea fungicidului. Astfel, în soia, de exemplu, eficacitatea metalaxilului, un fungicid sistemic activ împotriva ciupercilor oomicete, a fost corelată cu acumularea de glicerolină, o fitoalexină vegetală antimicrobiană (Ward et al. 1980). Ulterior s-a raportat că, la tuberculii de cartof, metalaxilul este eficient împotriva *Fusarium* sp. și *Alternaria* sp., ciuperci pentru care metalaxilul nu prezintă toxicitate directă. În mod similar, s-a sugerat că fungicidul fosetil și $\text{Cu}(\text{OH})_2$, fungicide și bactericide cu spectru larg, pot fi implicate în activarea unor răspunsuri defensive la gazdă (Guest, 1984). În acest sens, Molina și colaboratorii (1998) au demonstrat că în cazul plantei *Arabidopsis*, mecanismul de apărare înăscut al plantei contribuie la eficacitatea diferitelor fungicide.

2.4. Fitotoxicitate. În afară de simpla idee conform căreia un biocid ar trebui să fie specific în ținta sa (un fungicid ar trebui să fie toxic pentru o ciupercă, un insecticid pentru o insectă etc.), doar câteva articole au fost publicate privind problema conform căreia diferite produse chimice modifică sau inhibă activitatea fiziologică sau metabolică a plantelor. În acest sens,

Bader și Abdel-Basset (1999) au arătat pentru prima dată că fungicidele de tip triforină (sapro) inhibă puternic reacțiile de transport ale electronilor cloroplastelor. Benzimidazolii, deși fungicide eficiente, pot deveni fitotoxice, împiedicând creșterea plantelor și provocând daune vizibile răsadurilor. Unele produse, cum ar fi benlatul DF (benomil), diminuează fotosinteza. Carbendazimul nu inhibă fotosinteza, dar scade nivelurile de calciu (Ca) foliar, favorizând cloroza la *Petunia*. În unele cazuri, cauza fitotoxicității fungicidului s-a dovedit a fi legată de anumite produse rezultate din descompunerea fungicidului însuși, după pătrunderea în celula gazdă și integrarea în metabolismul celular. Astfel Marc și colaboratorii au demonstrat că dibutil urea, un produs al descompunerii benomilului, poate fi responsabil în special de fitotoxicitatea fungicidului benlat DF. Alte ingrediente ale degradării benlatului contribuie, de asemenea, la fitotoxicitatea fungicidului (Marc et al. 1997).

Pentru a înțelege efectele fungicidelor asupra fiziologiei plantelor, García și colaboratorii (2002) au analizat modul în care diferitele concentrații ale unui fungicid afectează producția de biomasă, conținutul de pigmenți și nivelurile de nutrienți prin aplicarea foliară la plantele de tutun. Fungicidul utilizat în acest experiment a fost carbendazimul (carb) deoarece este unul dintre cele mai utilizate fungicide din sud-estul Spaniei, o zonă cu agricultură intensivă și pentru că este un fungicid cu spectru larg, preventiv, aplicat unui număr mare de culturi (Tomlin, 1994). Fungicidul a fost aplicat la puritate 100% și la trei concentrații diferite. Tratamentul aplicat în cazul probelor de control, a constat în neaplicarea carbendazimului. Luând în considerare toți parametrii analizați în acest experiment, acești cercetători au descoperit că, în raport cu controlul, diferitele tratamente cu carbendazim au provocat în general efecte similare. Aplicarea dozei mai mici decât cele recomandate (1,3 mM) a dus la o greutate uscată mai mare, precum și la concentrații mai mari de azot (N) și potasiu (K) decât la martor. Aceasta reflectă efectul benefic pe care îl poate exercita aplicarea foliară a carbendazimului asupra acumulării acestor nutrienți esențiali, precum și asupra creșterii și dezvoltării plantelor de tutun. Aplicarea dozei recomandate de carbendazim (2.6 mM) a redus ușor valorile pentru greutatea uscată, nivelurile nutriționale, toți pigmenții foliari, P, Ca și magneziu. Aceste rezultate reflectă un efect dăunător, deși nu sever, al carbendazimului asupra stării nutriționale, a biosintezei pigmentare și a biomasei. Prin urmare, rezultatele, prin dezvăluirea unei ușoare fitotoxicități, susțin doar parțial recomandarea utilizării acestui produs. În cele din urmă, acești autori au descoperit că aplicarea dozei mai mari decât cele recomandate (5,2 mM) a redus semnificativ greutatea uscată, toți pigmenții foliari și substanțele nutritive în raport cu celelalte doze și control. Aceste date arată clar că acest fungicid, aplicat în exces, este toxic pentru plantele de tutun sănătoase. În plus,

simptomele necrozei au fost găsite în frunzele senescente după aplicarea dozelor crescânde de fungicid.

2.5. Bioactivitatea compușilor fenolici în rezistența patogenilor.

Trei grupe de compuși fenolici sunt implicate în apărarea plantelor împotriva agenților patogeni: ligninele și polifenolii înrudiți, fenilpropanoidele (compuși fenolici și fitoalexine) și acidul salicilic (Wendehenne et al. 1998). Spre exemplu, hidroliza alcalină a pereților celulari ai țesutului foliar infectat sau a tuberculilor de cartof, eliberează două tipuri de compuși fenolici, derivați ai acidului hidroxibenzoic și amide ale acidului hidroxicinamic - HCA (Friend, 1985). În acest sens, se pare că încorporarea în peretele celular a derivaților HCA, în principal cumaric, ferulic și conjugății acestora, induși de agenți patogeni, ar trebui să consolideze rigiditatea și să diminueze digestibilitatea peretelui celular de către enzimele degradante ale agentului patogen. În acest fel, scheletele fenolpropanoide servesc ca substraturi pentru a începe procesul de lignificare, care a fost propus ca fiind un mecanism de rezistență față de leziunile provocate de patogenii fungici (Tiburzy și Reisener, 1990).

Pe de altă parte, se știe că la unele plante, fenolpropanoidele sunt necesare pentru formarea fitoalexinelor (Dixon et al. 1994). Acestea sunt definite ca fiind compuși antimicrobieni sintetizați ca răspuns la atacul patogenilor, deoarece s-a confirmat că nivelurile acestor compuși cresc brusc în jurul locului infecției până când ajung la concentrații toxice pentru patogeni (Dixon et al. 1994). În acest sens, multe fabacee, inclusiv soia, fasolea verde și mazărea, răspund la atacul agenților patogeni și la alte tipuri de stres prin acumularea de fitoalexine izoflavonoide (Ebel și Grisebach, 1988).

În afară de acești compuși, s-a constatat că necroza indusă de agenții patogeni în frunzele inoculate este însoțită de acumularea de acid salicilic (SA) la locul infecției, precum și în fluidul din floem și în frunzele sănătoase, neinoculate (Summermatter et al. 1995). În plus, este necesar ca SA să inducă expresia unui grup de gene numit SAR (rezistență sistemică dobândită), o parte din acesta codificând proteine. Din acest motiv, se crede că SA participă la procesul de transducție a semnalului care declanșează SAR.

În cele din urmă, acumularea de compuși fenolici în țesuturile afectate este precedată de o coordonare crescută a activităților principalelor enzime implicate în calea fenolpropanoidă. Astfel, activitatea mai mare a polifenol oxidazei (PPO), guaiacol peroxidazei (GPX) și a legăturii fenilalanină-amoniu (PAL) a fost observată la plantele tratate cu diferiți inductori de rezistență, atât biotici, cât și abiotici (Smith-Becker et al. 1998). Multe lucrări sugerează că PAL este enzima principală în reglarea sintezei acidului salicilic și în stabilirea rezistenței sistemice dobândite. Astfel, plantele răspund la atacul agenților patogeni printr-o mare varietate de mecanisme de apărare, în care

metabolismul compușilor fenolici este implicat decisiv și, prin urmare, determină în mare măsură consecințele interacțiunilor plante-agent patogen.

În plus față de atacul agenților patogeni, diferite tipuri de stres biotic și abiotic pot induce metabolismul fenolic, inclusiv leziunile, razele ultraviolete, poluarea aerului (în special ozonul) și stresul termic, efectele erbicidelor fiind studiate cel mai mult. De asemenea, diferite lucrări arată că starea anumitor substanțe nutritive, cum ar fi borul (B), calciul (Ca), azotul (N), fosforul (P) și fierul (Fe) pot determina modificări ale metabolismului fenolic.

Cu toate acestea, influența care poate fi exercitată asupra acestui proces de către anumite substanțe, cum ar fi fungicidele, care se aplică plantelor în mod specific cu intenția de a atenua și, mai ales, de a preveni posibilul atac al agenților patogeni, a fost puțin studiată. Astfel, având în vedere rolul esențial al compușilor fenolici în dezvoltarea rezistenței împotriva agenților patogeni și dată fiind influența pe care fungicidele o exercită asupra bolilor plantelor, García și colaboratorii (2001) au determinat efectul aplicării diferitelor concentrații de carbendazim privind metabolismul compușilor fenolici din plantele de tutun care nu suferă daune biotice sau abiotice. Rezultatele lor au indicat faptul că aplicarea carb 1 crește activitatea PAL, precum și acumularea de fenoli. Prin urmare, în cazul carbendazimului, aplicarea unei concentrații de fungicid cu 50% mai mică decât cea recomandată (carb 1) poate fi mai eficientă în fortificarea rezistenței plantelor la infecția cu agenți patogeni, având în vedere că Nagarathna și colaboratorii (1993) au sugerat că activitatea PAL crescută și, prin urmare, o acumulare fenolică mai mare, a crescut sinteza ligninei, rezultând un răspuns hipersensibil la locul infecției și prevenind în cele din urmă dezvoltarea ciupercii.

Pe de altă parte, García și colaboratorii (2001) au demonstrat o inhibare a oxidării fenolice prin aplicarea celei mai mari concentrații de fungicide, în principal cu carb 3. Aceste descoperiri sugerează că aplicarea excesivă de carbendazim poate dăuna plantelor sănătoase de tutun, deoarece inhibarea metabolismului fenolic (biosinteză și oxidare) ar slăbi considerabil răspunsul plantei la atacul patogenilor. În acest sens, s-a observat că plantele de tutun în care activitatea PAL a fost suprimată epigenetic, activând astfel metabolismul fenolic, au fost incapabile să exprime rezistența sistemică dobândită.

2.6. Răspunsul metabolismului oxidativ la atacul patogenilor.

Metabolismul oxidativ la plante este mediat de specii de oxigen reduse, cum ar fi oxigenul (O_2) și peroxidul de hidrogen (H_2O_2), care sunt produse secundare inevitabile ale metabolismului celular. În mod separat, ambele specii nu sunt extrem de active, dar împreună pot forma anionul radical hidroxil ($OH\cdot$), precum și alți derivați foarte reactivi. Acești radicali liberi pot provoca

peroxidarea lipidelor, denaturarea proteinelor și mutații genetice (Cadenas, 1989). Pentru a preveni această deteriorare oxidativă, celulele vegetale sunt echipate cu un sistem de molecule antioxidante și enzime de protecție pentru a detoxifica acești radicali, diminuând deteriorarea metabolismului celular. Prin urmare, celulele vegetale au capacitatea de a degrada și detoxifica așa-numitele specii active de oxigen (AOS-activated oxygen species). Astfel, în condiții normale, majoritatea celulelor au mai multe mecanisme pentru a menține nivelul AOS cât mai scăzut posibil în interiorul celulei. Cu toate acestea, în anumite condiții de stres, cum ar fi atacul patogenilor, aceste mecanisme de protecție sunt redirecționate printr-o producție rapidă și tranzitorie de cantități mari de AOS numite „explozie oxidativă”. Acest eveniment este unul dintre primele răspunsuri vizibile în timpul dezvoltării mecanismelor de apărare în interacțiunile plante-agent patogen. Astfel, acest fenomen a fost observat la plantele infectate cu microorganisme patogene, inclusiv ciuperci, bacterii, virusuri și fragmente de pereți celulari ai celulelor patogene, sau ca răspuns la stres mecanic (Vera-Estrella et al. 1992).

Principala specie de oxigen activ a exploziei oxidative este H_2O_2 , cu posibila participare a O_2^- , deoarece s-a demonstrat că acest proces este sensibil la adăugarea de catalază (CAT) în mediu și insensibil la prezența superoxidului dismutazei (SOD) sau a manitolului. Aceste și alte observații indică faptul că O_2^- , și cu atât mai mult H_2O_2 , trebuie să fie îndeaproape implicat în determinarea rezultatului interacțiunilor plantă-agent patogen. Pentru verificarea acestei ipoteze, au fost propuse trei mecanisme:

- H_2O_2 este substratul multor reacții importante în ceea ce privește întărirea peretelui celular, dat fiind faptul că s-a demonstrat că H_2O_2 duce la formarea de legături oxidative ale glicoproteinelor peretelui celular, reducând astfel susceptibilitatea acestei structuri la degradarea enzimatică (Wojtaszek, 1995). Aceasta guvernează capacitatea agentului patogen de a pătrunde în celulă.
- O_2^- și H_2O_2 pot acționa ca mesageri secundari pe calea semnalelor care declanșează activarea genetică a proteinelor legate de patogeneză (Klessig și Malamy, 1994) și inducând rezistența sistemică dobândită (Chen et al. 1993).
- Ambele substanțe pot fi implicate activ în distrugerea agenților patogeni și/sau a celulelor gazdă în răspunsul hipersensibil, deoarece H_2O_2 s-a demonstrat că este direct toxic pentru microorganisme (Tenhaken et al. 1995).

În legătură cu acestea, participarea enzimelor implicate în eliminarea oxiradicalilor și localizarea acestora, atât subcelular, cât și extracelular, joacă un rol critic în determinarea consecințelor interacțiunii plantei cu agentul

patogen. Astfel, în rădăcinile roșiilor infectate cu o tulpină compatibilă de nematod *Meloidogyne incognita*, activitatea superoxid dismutazei (SOD) crește considerabil în comparație cu cea a soiurilor rezistente care manifestă răspunsuri hipersensibile și care nu induc SOD. Acest fapt pare să indice că, într-o reacție incompatibilă, activitatea SOD scăzută permite O_2^- și speciilor de oxigen înrudite să distrugă celulele vegetale, ducând la un răspuns hipersensibil, în timp ce într-o reacție compatibilă, activitatea SOD ridicată asigură detoxifierea oxiradicalilor și sporește moartea celulară mai puțin localizată (Bowler et al. 1992).

De asemenea, dacă O_2^- și H_2O_2 acționează ca mesageri secundari, modificările activității SOD le pot modifica capacitatea de a transduce semnalul care controlează cantitățile din celulă, atât în reacții compatibile, cât și în reacții incompatibile. Astfel, s-a raportat că, în frunzele de tutun infiltrate cu acid benzoic activat cu H_2O_2 și enzima 2-hidroxilază (enzima care formează acid salicilic din acidul benzoic), rezultatul este o acumulare de acid salicilic (Leon et al. 1995). La rândul său, acidul salicilic inhibă catalaza și ascorbatul peroxidazei (APX) și reglează, de asemenea, nivelurile de specii reactive de oxigen (Durner și Klessig, 1995).

În cele din urmă, se știe că proteinele structurale care sunt insolubilizate după ce au ajuns la peretele celular rezultă dintr-o reacție catalizată de o peroxidază din peretele celular (Smith-Becker et al. 1998). Aceste proteine sunt insolubilizate prin legături covalente și s-a dovedit că această acțiune este condusă de H_2O_2 (Wojtaszek et al. 1995). La plante, această imobilizare rapidă a proteinelor pare să întărească peretele celular, încetinind astfel intrarea agentului patogen. De asemenea, această imobilizare poate acționa ca o ancoră în imobilizarea compușilor fenolici și în formarea consecventă a papilelor (Wojtaszek et al. 1995).

Dezvoltarea metabolismului oxidativ la plante începe ca răspuns la un număr mare de factori, atât biotici, cât și abiotici (Mehdy et al. 1996). Printre diferiții factori de mediu care pot afecta activitățile acestor enzime se numără intensitatea luminii, expunerea la ierbicide, poluanți atmosferici (de exemplu, O_3 , SO_2), frigul, seceta, excesul de apă, toxicitatea sărurilor și toxicitatea metalelor grele. De asemenea, aceste activități enzimaticice pot fi modificate de anumite dezechilibre nutriționale (Datcu et al, 2019a; Datcu et al, 2019b) în elemente precum zincul (Zn), manganul (Mn), fierul (Fe), cuprul (Cu), magneziul (Mg), potasiul (K) și borul (B).

Datorită rolului esențial al metabolismului oxidativ în dezvoltarea rezistenței plantelor la atacul patogenilor și având în vedere importanța fungicidelor în combaterea bolilor plantelor, García și colab. (2003) au determinat efectul aplicării diferitelor doze de carbendazim asupra nivelurilor

de H₂O₂, precum și asupra activității enzimelor conexe, cum ar fi SOD, GPX, APX și CAT, în plantele de tutun. Rezultatele lor au indicat că din nou aplicarea unei doze de carbendazim cu 50% mai mică decât cea recomandată (carb 1; 1,3 mM) poate fi mai eficientă, deoarece acumularea foliară de H₂O₂, împreună cu cea mai mare producție de biomasă înregistrată pentru carb 1, poate întări rezistența plantei la infecția cu agenți patogeni. Pe de altă parte, autorii au descoperit că aplicarea excesivă a carbendazimului (carb 3; 5,2 mM) a limitat semnificativ capacitatea acestor plante de a răspunde la atacul patogenilor, deoarece biomasa, precum și acumularea de H₂O₂ au scăzut semnificativ în acest tratament. Aceste descoperiri arată că la plantele de tutun mecanismele de apărare înăscute contribuie la eficacitatea carbendazimului, atâta timp cât acest fungicid se aplică numai la concentrația adecvată.

Așadar, studii detaliate ale efectelor fungicidelor ar trebui să ajute la selectarea unor substanțe chimice de protecție mai eficiente, care sunt mai puțin toxice și mai puțin dăunătoare ecologic.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- Alavanja M.C., Ross M.K., Bonner M.R. 2013. Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. *CA Cancer J Clin*; 63: 120-142.
- Alexan D.I., Ianovici N. 2018. Defensive mechanisms of plants based on secondary metabolites. *BIOSTUDENT*, 1 (2): 51-58
- Aschebrook-Kilfoy B., Ward M.H., Della Valle C.T., Friesen M.C. 2014. Occupation and thyroid cancer. *Occup Environ Med*. 71: 366-380.
- Avenot H. F.; Michailides T. J. 2007. Resistance to boscalid fungicide in *Alternaria alternata* isolates from pistachio in California. *Plant Dis*. 91 (10), 1345– 1350
- Bader K. P., Abdel-Basset R. 1999. Adaptation of plants to anthropogenic and environmental stresses: The effects of air constituents and plant-protective chemicals, pp. 973–1010. In: *Handbook of plant and crop stress*. Pessarakli M. (ed.), Marcel Dekker, New York.
- Baltazar M.T., Dinis-Oliveira R.J., de Lourdes Bastos M., Tsatsakis A.M., Duarte J.A., Carvalho F. 2014. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases - a mechanistic approach. *Toxicol Lett*. 230: 85-103.
- Batalu A., Ianovici N. 2018. Aspects regarding the influence of psychosocial factors on immunity. *BIOSTUDENT* 1 (2), 69-80
- Bereswill R.; Golla B.; Strelöke M.; Schulz R. 2012. Entry and toxicity of organic pesticides and copper in vineyard streams: erosion rills jeopardise the efficiency of riparian buffer strips. *Agric., Ecosyst. Environ.* 146 (1), 81– 92
- Binukumar B.K., Bal A., Gill K.D. 2011. Chronic dichlorvos exposure: microglial activation, proinflammatory cytokines and damage to nigrostriatal dopaminergic system. *Neuromolecular Med*. 13: 251-265.
- Blesa J., Trigo-Damas I., Quiroga-Varela A., Jackson-Lewis V.R. 2015. Oxidative stress and Parkinson's disease. *Front Neuroanat*. 9: 91.
- Boboescu N T., Seichea E. I., Cînda L.M., Șcheau A.O., Ianovici N. 2020. Pesticides and their adverse effects on the environment and human health. *BIOSTUDENT*, vol. 3 (1): 13-3
- Bollmann U. E.; Tang C.; Eriksson E.; Jönsson K.; Vollertsen J.; Bester K. 2014. Biocides in urban wastewater treatment plant influent at dry and wet weather: concentrations, mass flows and possible sources. *Water Res.* 60, 64– 74
- Bonmatin J.-M.; Giorio C.; Girolami V.; Goulson D.; Kreutzweiser D.; Krupke C.; Liess M.; Long E.; Marzaro M.; Mitchell E. A. 2015. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (1), 35– 67
- Bowler C., Van Montagu M. V., Inzé D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Rev. Pl. Physiol. Pl. Molec. Biol.* 43: 83–116.
- Brooks G.T., Roberts T.R. 1999. *Pesticide Chemistry and Bioscience* edited by. Published by the Royal Society of Chemistry
- Brundage K.M., Barnett J.B. 2010. Immunotoxicity of pesticides, pp:483-497. In: *Hayes handbook of pesticide toxicology*. Academic Press/Elsevier, New York.

DRĂGOI & IANOVICI: *Aspects regarding the effects of fungicides on organisms*

- Burkhardt M.; Zuleeg S.; Vonbank R.; Bester K.; Carmeliet J.; Boller M.; Wangler T. 2012. Leaching of biocides from facades under natural weather conditions. *Environ. Sci. Technol.* 46 (10), 5497– 5503
- Cadenas E. 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual Rev. Biochem.* 58: 79–110.
- Cassidy R.A., Natarajan S., Vaughan G.M. 2005. The link between the insecticide heptachlor epoxide, estradiol, and breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 90: 55-64.
- Chen Z., Silva H., Klessig D.F. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systematic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262: 1883.
- Chin-Chan M., Navarro-Yepes J., Quintanilla-Vega B. 2015. Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Front Cell Neurosci.* 9: 124.
- Ciobanu D.G., Ianovici N. 2018. Considerations regarding the mechanisms involved in regulating plant immunity to pathogen attack. *BIOSTUDENT*, 1 (2): 93-98
- Corsini E., Sokooti M., Galli C.L., Moretto A., Colosio C. 2013. Pesticide induced immunotoxicity in humans: A comprehensive review of the existing evidence. *Toxicology.* 307: 123-135.
- Costa C., Gangemi S., Giambò F., Rapisarda V., Caccamo D., Fenga C. 2015. Oxidative stress biomarkers and paraoxonase 1 polymorphism frequency in farmers occupationally exposed to pesticides. *Mol Med Rep.* 12: 6353-6357.
- Datcu A.D., Alexa E., Ianovici N., Sala F. 2019a. Zinc foliar fertilization effect on some gravimetric indices on wheat. *Research Journal of Agricultural Science*, 51 (3), 99-105
- Datcu A.D., Alexa E., Ianovici N., Sala F. 2019b. Zinc fertilization effects on biomass production and some morphometric parameters for wheat. *Research Journal of Agricultural Science*, 51 (3), 2019. 93-98
- Delp C. J. 1987. Benzimidazole and related fungicides, pp. 233–244. In: *Modern selective fungicides: Properties, applications, mechanisms of action.* Lyr H. (ed.), Wiley, New York.
- Dhouib I., Jallouli M., Annabi A., Marzouki S., Gharbi N., Elfazaa S., Lasram MM. 2016. From immunotoxicity to carcinogenicity: The effects of carbamate pesticides on the immune system. *Environ Sci Pollut Res Int.* 23: 9448-9458.
- Dixon, R. A., Lamb. C. J. 1990. Molecular communication in interactions between plant and microbial pathogens. *Annual Rev. Pl. Physiol. Pl. Molec. Biol.* 41: 339–367.
- Donath M.Y., Shoelson S.E. 2011. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 11: 98-107.
- Duramad P., Tager I.B., Holland N.T. 2007. Cytokines and other immunological biomarkers in children's environmental health studies. *Toxicol Lett.* 172: 48-59.
- Durner, J., Klessig D.F. 1995. Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloro-isonicotinic acid, two inducers of plant defence responses. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 92: 11312–11316.
- Ebel, J., Grisebach H. 1988. Defense strategies of soybean against the fungus *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*: A molecular analysis. *Trends Biochem. Sci.* 13: 23–27.
- Eurostat Pesticide sales. http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=aei_fm_salpest09.
- Fenga C., Gangemi S., Catania S., De Luca A., Costa C. 2014. IL-17 and IL-22 serum levels in greenhouse workers exposed to pesticides. *Inflamm Res.* 63: 895-897.
- Fisher, M. C.; Henk, D. A.; Briggs, C. J.; Brownstein, J. S.; Madoff, L. C.; McCraw, S. L.; Gurr, S. J. 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature* .484 (7393), 186– 194
- Friend, J. 1985. Phenolic substances and plant disease, pp. 131–137. In: *The biochemistry of plant phenolics.* Van Sumere C. F. & Lea P. J. (eds.). Clarendon, Oxford.
- Gangemi S., Gofita E., Costa C., Teodoro M., Briguglio G., Nikitovic D., Tzanakakis G., Tsatsakis A.M., WILKS M.F., Spandidos D.A., Fenga C. 2016. Occupational and environmental exposure to pesticides and cytokine pathways in chronic diseases. *Int. J. Mol. Med.* 38: 1012-1020.
- García P.C., Ruiz J. M., Rivero R. M., López-Lefebvre L. R., Sánchez E., Romero L. 2002. Is the application of carbendazim harmful to healthy plants? Evidence of weak phytotoxicity in tobacco. *J. Agric. Food Chem.* 50: 279–283
- García P.C., Rivero R. M., López-Lefebvre L. R., Sánchez E., Ruiz J. M., Romero L. 2001. Direct action of the biocide carbendazim on phenolic metabolism in tobacco plants. *J. Agric. Food Chem.* 49: 131–137.
- García P.C., Rivero R.M., Ruiz J.M., Romero L. 2003. The role of fungicides in the physiology of higher plants: Implications for defense responses. *The Bot Rev.* 69: 162–172.
- García-García C.R., Parrón T., Requena M., Alarcón R., Tsatsakis A.M., Hernández A.F. 2016. Occupational pesticide exposure and adverse health effects at the clinical, hematological and biochemical level. *Life Sci.* 145: 274-283.
- Guest D.I. 1984. Modification of defence responses in tobacco and capsicum following treatments with fosetyl-Al [aluminium tris (o-ethyl phosphonate)]. *Physiol. Pl. Pathol.* 25: 125–134.
- Haith D. A.; Duffany M. W. 2007. Pesticide runoff loads from lawns and golf courses. *J. Environ. Eng.* 133 (4), 435–446
- Hakala K.; Hannukkala A. O.; Huusela-Veistola E.; Jalli M.; Peltonen-Sainio P. 2011. Pests and diseases in a changing climate: a major challenge for Finnish crop production. *Agric. Food Sci.* 20, 3– 14
- Hammond-Kosack K. E., Jones J. G. 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *Pl. Cell.* 8: 1773–1791.

- Heydari A., Misaghi I.J. 1999. Herbicide-mediated changes in the population and activity of root associated microorganisms: A potential cause of plant stress, pp. 613–624. In: Handbook of plant and crop stress. Pessaraki M. (ed.), Marcel Dekker, New York.
- Hong H., Kim B.S., Im H.I. 2016. Pathophysiological role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Int Neurol J*. 20: 2-7.
- Hrelia et al. 1996. The genetic and non-genetic toxicity of the fungicide Vinclozolin. *Mutagenesis*. 11 445-453
- Ianoşci N. 2016. Methods of biological monitoring in urban conditions: quantification of airborne fungal spores. *Annales de West University of Timisoara. Series of Biology* 19 (1), 87
- Ianoşci N. 2020. The fluctuations of airborne fungal components in western Romania, *Turkish Journal of Botany*. 44: 358-366
- Jaacks L.M., Staimez L.R. 2015. Association of persistent organic pollutants and non-persistent pesticides with diabetes and diabetes-related health outcomes in Asia: A systematic review. *Environ Int*. 76: 57-70.
- Jamal F., Haque Q.S., Singh S., Rastogi S. 2015. The influence of organophosphate and carbamate on sperm chromatin and reproductive hormones among pesticide sprayers. *Toxicol Ind Health*. 32:1527-1536.
- Jorsaraei S.G., Maliji G., Azadmehr A., Moghadamnia A.A., Faraji A.A. 2014 Immunotoxicity effects of carbaryl in vivo and in vitro. *Environ Toxicol Pharmacol*. 38: 838-844.
- Kahle M.; Buerge I. J.; Hauser A.; Müller M. D.; Poiger T. 2008. Azole fungicides: occurrence and fate in wastewater and surface waters. *Environ. Sci. Technol*. 42 (19), 7193– 7200, DOI: 10.1021/es8009309
- Kapka-Skrzypczak L., Cyranka M., Skrzypczak M., Kruszewski M. 2011. Biomonitoring and biomarkers of organophosphate pesticides exposure - state of the art. *Ann Agric Environ Med*. 18: 294-303.
- Klessig D.F., Malamy J. 1994. The salicylic acid signal in plants. *Pl. Molec. Biol*. 26: 1439–1458.
- Köhler H. R.; Triebkorn R. 2013. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? *Science*. 341 (6147), 759– 765, DOI: 10.1126/science.1237591
- Lasram M.M., Dhoubi I.B., Bouzid K., Lamine A.J., Annabi A., Belhadjhmida N., Ahmed M.B., Fazaa S.E., Abdelmoula J., Gharbi N. 2014. Association of inflammatory response and oxidative injury in the pathogenesis of liver steatosis and insulin resistance following subchronic exposure to malathion in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*. 38: 542-553.
- Lefrancq M.; Imfeld G.; Payraudeau S.; Millet M. 2013. Kresoxim methyl deposition, drift and runoff in a vineyard catchment. *Sci. Total Environ*. 442, 503– 508
- Leon J., Lawton M.A., Raskin I. 1995. H2 O2 simulated salicylic acid biosynthesis in tobacco. *Pl. Physiol*. 108: 1673– 1678.
- Luchian M.R., Datcu A.D., Ianoşci N. 2019. The effect of glyphosate-based formulations on aquatic plants. *BIOSTUDENT*, 2 (1): 25-32
- Malaponte G., Hafsi S., Polese J., Castellano G., Spessotto P., Guarneri C., Canevari S., Signorelli S.S., McCubrey J.A., Libra M. 2016. Tumor microenvironment in diffuse large B-cell lymphoma: Matrixmetalloproteinases activation is mediated by osteopontin overexpression. *Biochim Biophys Acta*. 1863: 483-489.
- Maltby L.; Brock T. C. M.; van den Brink P. J. 2009. Fungicide risk assessment for aquatic ecosystems: importance of interspecific variation, toxic mode of action, and exposure regime. *Environ. Sci. Technol*. 43 (19), 7556– 7563
- Marc W., Iersel V., Bugbee B. 1997. Dibutylurea reduces photosynthesis, growth and flowering of Petunia and Impatiens. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*. 122(4): 536–541.
- Medina-Díaz I.M., Ponce-Ruiz N., Ramírez-Chávez B., Rojas-García A.E., Barrón-Vivanco B.S., Elizondo G., Bernal-Hernández Y.Y. 2016. Downregulation of human paraoxonase 1 (PON1) by organophosphate pesticides in HepG2 cells. *Environ Toxicol*. 32: 490-500.
- Mehdy M.C., Sharma Y.K., Sathasivan K. 1996. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. *Physiol. Pl.* 98(2): 365–374.
- Mocarizadeh A., Faryabi M.R., Rezvanfar M.A., Abdollahi M. 2015. A comprehensive review of pesticides and the immune dysregulation: Mechanisms, evidence and consequences. *Toxicol Mech Methods*. 25: 258-278.
- Molina A., Hunt M.D., Ryals J.A. 1998. Impaired fungicide activity in plants blocked in disease resistance signal transduction. *Pl. Cell*. 10: 1903–1914.
- Moretto A., Colosio C. 2013. The role of pesticide exposure in the genesis of Parkinson's disease: Epidemiological studies and experimental data. *Toxicology*. 307: 24-34.
- Nagarathna K.C., Shetty S.A., Shetty H.S. 1993. Phenylalanine ammonia-lyase activity in pearl millet seedlings and its relation to downy mildew disease resistance. *J. Exp. Bot*. 44: 1291–1296.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=8722, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8722>
- Nettles R.; Watkins J.; Ricks K.; Boyer M.; Licht M.; Atwood L. W.; Peoples M.; Smith R. G.; Mortensen D. A.; Koide R. T. 2016. Influence of pesticide seed treatments on rhizosphere fungal and bacterial communities and leaf fungal endophyte communities in maize and soybean. *Appl. Soil Ecol*. 102, 61– 69
- Oerke E.-C. 2006. Crop losses to pests. *J. Agric. Sci*. 144 (1), 31– 43
- Raafat N., Abass M.A., Salem H.M. 2012. Malathion exposure and insulin resistance among a group of farmers in Al-Sharkia governorate. *Clin Biochem*. 45: 1591-1595.
- Rathish D., Agampodi S.B., Jayasumana M.A., Siribaddana S.H. 2016. From organophosphate poisoning to diabetes mellitus: The incretin effect. *Med Hypotheses*. 91: 53-55.

DRĂGOI & IANOVICI: *Aspects regarding the effects of fungicides on organisms*

- Reilly T. J.; Smalling K. L.; Orlando J. L.; Kuivila K. M. 2012. Occurrence of boscalid and other selected fungicides in surface water and groundwater in three targeted use areas in the United States. *Chemosphere*. 89 (3), 228– 234
- Research and Markets. 2014. Global Fungicides Market (Type, Crop Type and Geography - Size, Share, Global Trends, Company Profiles, Analysis, Segmentation and forecast, 2013–2020
- Ryals J.K., Neuenschwander U.H., Willits M.G., Molina A., Steiner H., Hunt M.D. 1996. Systemic acquired resistance. *Pl. Cell*. 8: 1809–1819.
- Seagraves M. P.; Lundgre, J. G. 2012. Effects of neonicotinoid seed treatments on soybean aphid and its natural enemies. *J. Pest Sci.* 85 (1), 125– 132, DOI: 10.1007/s10340-011-0374-1
- Shelton J.F., Geraghty E.M., Tancredi D.J., Delwiche L.D., Schmidt R.J., Ritz B., Hansen R.L., Hertz-Picciotto I. 2014. Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: The CHARGE study. *Environ Health Perspect.* 122: 1103-1109.
- Smith-Becker J., Marois E., Huguet E.J., Midland S.L., Sims J.J., Keen N.T. 1998. Accumulation of salicylic acid and 4-hydrobenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stem. *Pl. Physiol.* 116: 231–238.
- Starling A.P., Umbach D.M., Kamel F., Long S., Sandler D.P., Hoppin J.A. 2014. Pesticide use and incident diabetes among wives of farmers in the Agricultural Health Study. *Occup Environ Med.* 71: 629-635.
- Strange R. N.; Scott P. R. 2005. Plant disease: a threat to global food security. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43, 83– 116, Summermatter K., Sticher L., Métraux J.P. 1995. Systemic response in *Arabidopsis thaliana* infected and challenged with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Pl. Physiol.* 108: 1379–1385.
- Taghavian F., Vaezi G., Abdollahi M., Malekiran A.A. 2016. Comparative Toxicological Study between Exposed and Non-Exposed Farmers to Organophosphorus Pesticides. *Cell J.* 18: 89-96.
- Tao H., Bao Z., Jin C., Miao W., Fu Z., Jin Y. 2020. Toxic effects and mechanisms of three commonly used fungicides on the human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. *Environmental Pollution*, 263, Part B, 114660
- Teng M.W., Galon J., Fridman W.H., Smyth M.J. 2015. From mice to humans: Developments in cancer immunoediting. *J Clin Invest.* 125: 3338-3346.
- Tenhaken R., Levine A., Brisson L.F., Dixon R.A., Lamb C.J. 1995. Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 92: 4158–4163.
- Thompson H. M. 2010. Risk assessment for honey bees and pesticides—recent developments and 'new issues'. *Pest Manage. Sci.* 66 (11), 1157– 1162
- Tiburzy, R., Reisener H. J. 1990. Resistance of wheat to *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici*: Association of the hypersensitive reaction with the cellular accumulation of linkin-like material and callose. *Physiol. Molec. Pl. Pathol.* 36: 109–120.
- Tomlin C. 1994. The pesticide manual: A world compendium: Incorporating the agrochemicals handbook. ed. 10, British Crop Protection Council, Farnham, England. 1341 p.
- Tsimbiri P.F., Moturi W.N., Sawe J., Henley P., Bend J.R. 2015. Health impact of pesticides on residents and horticultural workers in the lake Naivash region, Kenya. *Occup Dis Environ Med.* 3: 24-34.
- Vadhana M.S., Carloni M., Nasuti C., Fedeli D., Gabbianelli R. 2011. Early life permethrin insecticide treatment leads to heart damage in adult rats. *Exp Gerontol.* 46: 731-738.
- van Den Bosch F.; Paveley N.; Shaw M.; Hobbelen P.; Oliver R. 2011. The dose rate debate: does the risk of fungicide resistance increase or decrease with dose? *Plant Pathol.* 60 (4), 597– 606
- van den Bosch F.; Paveley N.; van den Berg F.; Hobbelen P.; Oliver R. 2014. Mixtures as a fungicide resistance management tactic. *Phytopathology*. 104 (12), 1264– 1273
- Vera-Estrella R., Blumwald E., Higgins V.J. 1992. Effect of specific elicitors of *Cladosporium fulvum* on tomato suspension cells. *Pl. Physiol.* 99: 1208–1215.
- Wendehenne D., Durner J., Chen Z., Klessig D.F. 1998. Bezothiadiazole, an inducer of plant defenses, inhibits catalase and ascorbate peroxidase. *Phytochemistry*. 47: 651–657.
- Wittmer I.; Bade, H.-P.; Scheidegge, R.; Singe, H.; Lüc, A.; Hank, I.; Carlsson, C.; Stam, C. 2010. Significance of urban and agricultural land use for biocide and pesticide dynamics in surface waters. *Water Res.* 44 (9), 2850– 2862
- Wojtaszek P. 1995. Oxidative burst: An early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.* 332: 681–692.
- Xu J., Xiong H., Zhang X., Muhayimana S., Liu X., Xue Y., Huang Q. 2020. Comparative cytotoxic effects of five commonly used triazole alcohol fungicides on human cells of different tissue types, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55:5, 438-446, DOI: 10.1080/03601234.2019.1709377
- Yuan Y.H., Sun J.D., Wu M.M., Hu J.F., Peng S.Y., Chen N.H. 2013. Rotenone could activate microglia through NFκB associated pathway. *Neurochem Res.* 38: 1553-1560.
- Zafiroopoulos A., Tsarouhas K., Tsitsimpikou C., Fragkiadaki P., Germanakis I., Tsardi M., Maravgakis G., Goutzouras N., Vasilaki F., Kouretas D., Hayes A.W., Tsatsakis A.M. 2014. Cardiotoxicity in rabbits after a low-level exposure to diazinon, propoxur, and chlorpyrifos. *Hum Exp Toxicol.* 33: 1241-1252.
- Zhang Y., Ren M., Li J., Wei Q., Ren Z., Lv J., Niu F., Ren S. 2014. Does omethoate have the potential to cause insulin resistance? *Environ Toxicol Pharmacol* 37: 284-290.
- Zubrod J.P. Bundschuh M., C.A. Brühl, Imfeld G., Knäbel A., Payraudeau S., Rasmussen J.J., Rohr J.J., Scharmüller A., Smalling K., Stehle S., Schulz R., Schäfer R.B. 2019. Fungicides: An Overlooked Pesticide Class? *Environ. Sci. Technol.* 2019, 53, 7, 3347–3365