



Academia Oamenilor  
de Știință din România

**UV** Universitatea de Vest  
din Timișoara



---

# INTEGRAREA METODOLOGIILOR EXPERIMENTALE ȘI INFORMATICE ÎN EVALUAREA IMPACTULUI TOXICOLOGIC: INVESTIGAREA EFECTELOR UNOR FUNGICIDE TRIAZOLICE ASUPRA MEDIULUI ȘI SĂNĂTĂȚII UMANE

---

RAPORT INTERMEDIAR 1  
APRILIE-IULIE 2025



## ÎNTOCMIT:

Director proiect, Lect. Dr. AGACHI Bianca-Vanesa  
Membru echipă, Lect. Dr. IACHIMOV-DATCU Adina-Daniela  
Membru echipă, Asist. Cercet. Dr. VULPE Constantina-Bianca  
Membru echipă, Drd. PUJICIC Andrijana

IULIE 2025  
TIMIȘOARA

# RAPORT INTERMEDIAR I

## Pentru perioada Aprilie-Iulie 2025

**Titlul proiectului:** Integrarea Metodologiilor EXperimentale și INformative în Evaluarea Impactului TOXicologic: Investigarea Efectelor unor Fungicide Triazolice asupra Mediului și Sănătății Umane

**Acronimul proiectului:** EX-IN-TOX

**Domeniul științific:** Ecologie, Mediu, Schimbări climatice

**Echipa de implementare:**

Director proiect, Lect. Dr. AGACHI Bianca-Vanesa

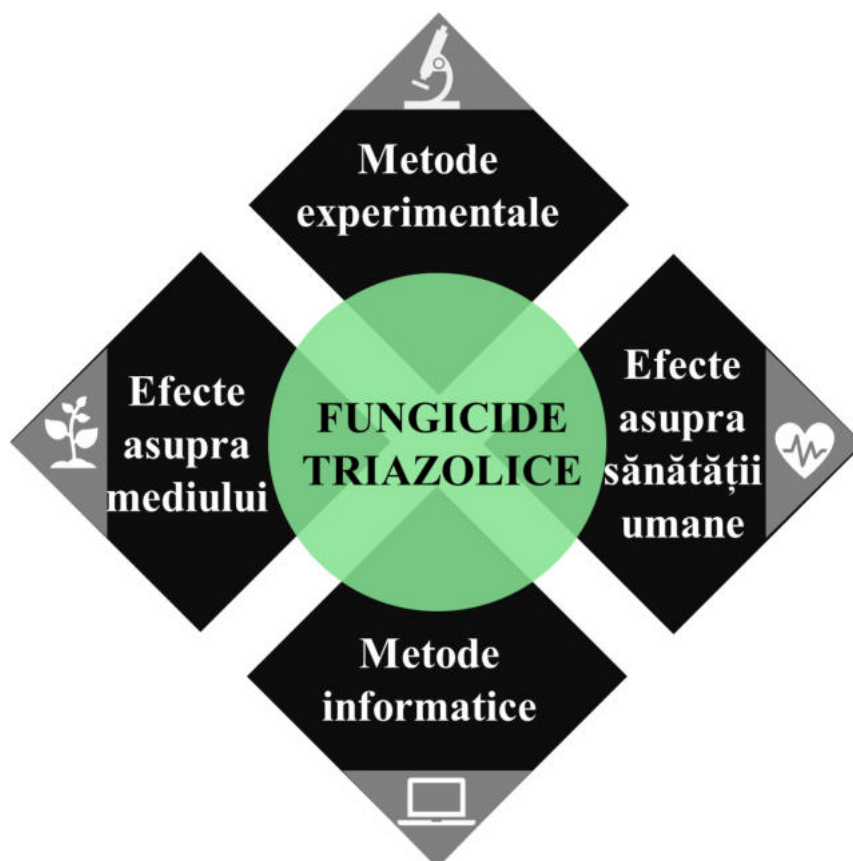
Membru echipă, Lect. Dr. IACHIMOV-DATCU Adina-Daniela

Membru echipă, Asist. Cercet. Dr. VULPE Constantina-Bianca

Membru echipă, Drd. PUJICIC Andrijana

**Scopul proiectului:** Scopul acestui proiect constă în analiza efectelor ecotoxicologice și asupra sănătății umane ale unor fungicide triazolice, prin integrarea metodelor experimentale cu tehnici informatice avansate.

**Reprezentare grafică a proiectului**



## Obiectivele proiectului:

**O1.** Realizarea unei analize critice a literaturii de specialitate privind ecotoxicitatea și toxicitatea umană a fungicidelor triazolice, pentru a fundamenta abordarea metodologică a cercetării

**O2.** Evaluarea ecotoxicității acvatice a fungicidelor triazolice asupra plantelor acvatice model, precum *Lemna minor*, în scopul caracterizării impactului asupra ecosistemelor acvatice și al identificării unor potențiale riscuri ecologice

**O3.** Investigarea ecotoxicității terestre a fungicidelor triazolice asupra speciilor vegetale de interes agronomic (ex. porumb, ridiche, etc.), pentru a determina efectele acestora asupra culturilor agricole și sănătății ecosistemelor solului

**O4.** Analiza efectelor biochimice și moleculare induse de fungicidele triazolice în plantele expuse, pentru a investiga mecanismele de toxicitate

**O5.** Aplicarea metodelor computaționale avansate pentru modelarea ecotoxicității fungicidelor triazolice, predicția proprietăților ADMET (Absorbție, Distribuție, Metabolizare, Excreție și Toxicitate) la nivel uman, precum și investigarea interacțiunilor acestora cu molecule biologice relevante prin andocări moleculare

**O6.** Valorificarea și diseminarea rezultatelor științifice prin publicarea acestora în reviste de specialitate, prezentarea la conferințe naționale și internaționale și promovarea cunoștințelor obținute, pentru a crește impactul și vizibilitatea cercetării în domeniile toxicologiei mediului și sănătății publice

## Activități propuse pentru atingerea obiectivelor:

**A1.** Analiza critică a literaturii de specialitate privind ecotoxicitatea și toxicitatea umană a fungicidelor triazolice

**A2.** Evaluarea ecotoxicității acvatice a fungicidelor triazolice asupra unor plantelor acvatice model

**A3.** Investigarea ecotoxicității terestre a fungicidelor triazolice asupra speciilor vegetale de interes agronomic

**A4.** Investigarea efectelor biochimice și moleculare ale fungicidelor triazolice asupra plantelor expuse

**A5.** Aplicarea metodelor computaționale pentru modelarea ecotoxicității și estimarea toxicității fungicidelor triazolice

**A6.** Valorificarea și diseminarea rezultatelor obținute

## Calendarul activităților din proiect:

Luna/activitatea	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A1																				
A2																				
A3																				
A4																				
A5																				
A6																				

## Activități planificate pentru prima perioadă de raportare:

**A1.** Analiza critică a literaturii de specialitate privind ecotoxicitatea și toxicitatea umană a fungicidelor triazolice

**A5.** Aplicarea metodelor computaționale pentru modelarea ecotoxicității și estimarea toxicității fungicidelor triazolice

# CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b> .....	<b>4</b>
<b>METODOLOGIE</b> .....	<b>5</b>
COMPARAREA METODELOR STANDARDIZATE DE TESTARE A FITOTOXICITĂȚII .....	5
TOXICITATEA FUNGICIDELOR TRIAZOLICE ASUPRA SĂNĂTĂȚII UMANE.....	5
MODELAREA ADMETOX A CELOR TREI FUNGICIDE TRIAZOLICE DE INTERES .....	6
<b>REZULTATE OBȚINUTE</b> .....	<b>7</b>
COMPARAREA METODELOR STANDARDIZATE DE TESTARE A FITOTOXICITĂȚII .....	7
TOXICITATEA FUNGICIDELOR TRIAZOLICE ASUPRA SĂNĂTĂȚII UMANE.....	9
<i>Studii in vivo pe mamifere de laborator</i> .....	9
<i>Studii in vitro realizate pe linii celulare</i> .....	10
<i>Studii complementare</i> .....	11
MODELAREA ADMETOX A CELOR TREI FUNGICIDE TRIAZOLICE DE INTERES .....	11
<b>VALORIFICAREA REZULTATELOR</b> .....	<b>14</b>
<b>CONCLUZII</b> .....	<b>15</b>
<b>BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ</b> .....	<b>16</b>

## LISTA FIGURILOR

<b>FIGURA 1.</b> NUMĂRUL ARTICOLELOR PUBLICATE DE PE GOOGLE SCHOLAR CARE ABORDEAZĂ TERMENUL DE FITOTOXICITATE .....	7
<b>FIGURA 2.</b> HARTĂ DE REȚEA GENERATĂ PRIN INTERMEDIUL INSTRUMENTULUI VOSVIEWER CARE EVIDENȚIAZĂ LEGĂTURILE DINTRE CONCEPTELE ASOCIATE FITOTOXICITĂȚII, PE BAZA CO-CITĂRII SAU CO-APARIȚIEI TERMENILOR .....	7
<b>FIGURA 3.</b> REZULTATE PRELIMINARE CU PRIVIRE LA VALORI LD <sub>50</sub> OBȚINUTE ÎN URMA TESTULUI DE TOXICITATE ORALĂ ACUTĂ LA ȘOBOLANI .....	9
<b>FIGURA 4.</b> REZULTATE PRELIMINARE CU PRIVIRE LA VALORI LD <sub>50</sub> OBȚINUTE ÎN URMA TESTULUI DE TOXICITATE DERMICĂ ACUTĂ LA ȘOBOLANI .....	9
<b>FIGURA 5.</b> REZULTATE PRELIMINARE CU PRIVIRE LA VALORI LC <sub>50</sub> OBȚINUTE ÎN URMA TESTULUI DE TOXICITATE PRIN INHALARE ACUTĂ LA ȘOBOLANI .....	10
<b>FIGURA 6.</b> REZULTATE PRELIMINARE CU PRIVIRE LA VALORI IC <sub>50</sub> OBȚINUTE ÎN URMA UNOR TESTE IN VITRO DE CITOTOXICITATE .....	10
<b>FIGURA 7.</b> REZULTATE PRELIMINARE CU PRIVIRE LA EFECTE ASUPRA SĂNĂTĂȚII UMANE .....	11
<b>FIGURA 8.</b> REZULTATE PRELIMINARE CU PRIVIRE LA PROFILUL ADMETOX PENTRU DIFENOCONAZOL (CULOAREA ROȘIE INDICĂ PROBABILITATE MARE 80-100%, CULOAREA PORTOCALIE INDICĂ PROBABILITATE MEDIE 60-80%, CULOAREA GALBENĂ INDICĂ PROBABILITATE MICA 50-60%, CULOAREA GRI INDICĂ FAPTUL CĂ NU ESTE PROBABIL) .....	12
<b>FIGURA 9.</b> REZULTATE PRELIMINARE CU PRIVIRE LA PROFILUL ADMETOX PENTRU MEFENTRIFLUCONAZOL (CULOAREA ROȘIE INDICĂ PROBABILITATE MARE 80-100%, CULOAREA PORTOCALIE INDICĂ PROBABILITATE MEDIE 60-80%, CULOAREA GALBENĂ INDICĂ PROBABILITATE MICA 50-60%, CULOAREA GRI INDICĂ FAPTUL CĂ NU ESTE PROBABIL) .....	12
<b>FIGURA 10.</b> REZULTATE PRELIMINARE CU PRIVIRE LA PROFILUL ADMETOX PENTRU PROTIOCONAZOL (CULOAREA ROȘIE INDICĂ PROBABILITATE MARE 80-100%, CULOAREA PORTOCALIE INDICĂ PROBABILITATE MEDIE 60-80%, CULOAREA GALBENĂ INDICĂ PROBABILITATE MICA 50-60%, CULOAREA GRI INDICĂ FAPTUL CĂ NU ESTE PROBABIL) .....	13
<b>FIGURA 11.</b> POSTERE PREZENTATE ÎN CADRUL CONFERINȚEI ANUALE BIOLOGIA, EDIȚIA A XVII-A – 27 Iunie 2025, 09:00, TIMIȘOARA.....	14
<b>FIGURA 12.</b> PREZENTARE A PROIECTULUI SUSȚINUTĂ ÎN CADRUL CONFERINȚEI ANUALE BIOLOGIA, EDIȚIA A XVII-A – 27 Iunie 2025, 09:00, TIMIȘOARA.....	14

## LISTA TABELELOR

<b>TABELUL 1.</b> FORMULELE SMILES ȘI STRUCTURILE CHIMICE ALE CELOR TREI FUNGICIDE TRIAZOLICE DE INTERES .....	6
<b>TABELUL 2.</b> GHIDURI STANDARD IDENTIFICATE PENTRU TESTE DE FITOTOXICITATE .....	8
<b>TABELUL 3.</b> GRADUL DE REALIZARE A ACTIVITĂȚILOR PROPUSE PENTRU PRIMA PERIOADĂ RAPORTATĂ .....	15

## INTRODUCERE

Agricultura modernă se confruntă cu o presiune constantă de a asigura productivitate crescută, securitate alimentară și sustenabilitate ecologică. În acest context, fungicidele joacă un rol esențial în protecția culturilor împotriva patogenilor fungici, contribuind la menținerea calității și cantității recoltelor. Dintre acestea, fungicidele triazolice s-au impus în ultimele decenii prin eficiența lor ridicată și profilul chimic relativ stabil. Utilizarea lor extensivă, deși eficace agronomic, a generat o serie de preocupări privind efectele cumulative asupra mediului și potențialele riscuri pentru sănătatea publică.

Mai mult, utilizarea excesivă și adesea necorespunzătoare a fungicidelor triazolice – prin aplicări repetate, nerespectarea dozelor recomandate sau lipsa alternării cu alte substanțe – amplifică semnificativ riscurile asociate. Aceste substanțe prezintă o capacitate ridicată de persistență atât în medii terestre, cât și acvatică, favorizând procesele de bioacumulare în sol, apă și organisme vii. Acumularea pe termen lung poate conduce la dezechilibre ecologice majore, afectând biodiversitatea și funcționarea lanțurilor trofice. În paralel, expunerea indirectă a populației prin consumul de alimente sau apă contaminate cu reziduuri de triazoli constituie un risc toxicologic deloc neglijabil. Astfel, analiza utilizării acestor fungicide nu se mai poate limita doar la eficacitatea lor agricolă, ci trebuie extinsă către înțelegerea mecanismelor de toxicitate și a efectelor ecologice.

Fungicidele triazolice sunt derivați ai triazolului, cu un nucleu aromatic caracteristic și diferite grupe funcționale care le conferă proprietăți fungicide. Deși o parte dintre acești compuși au fost interziși la nivelul Uniunii Europene în urma reevaluărilor de risc, un număr semnificativ de fungicide triazolice rămân în continuare autorizate și disponibile pe piață. Această disponibilitate, coroborată cu lipsa unei informări adecvate a utilizatorilor, favorizează aplicarea lor în doze necorespunzătoare sau în mod repetat, amplificând riscurile asociate. În acest context, prezentul studiu se concentrează asupra evaluării toxicologice și ecotoxice a unor fungicide triazolice aflate încă în uz legal în Uniunea Europeană, evidențiind necesitatea monitorizării riguroase a efectelor acestora.

În cadrul acestui proiect, cercetarea se concentrează asupra a trei fungicide triazolice cu aplicabilitate largă în agricultură: difenoconazol, mefentrifluconazol și protioconazol, al căror impact toxicologic asupra mediului și sănătății umane urmează a fi investigat prin metode computaționale și experimentale.

Înțelegerea impactului acestor substanțe presupune o abordare complexă din punct de vedere toxicologic și ecotoxicologic. Astfel, toxicologia se concentrează pe studiul efectelor nocive ale compușilor chimici asupra organismului uman, iar două componente esențiale ale acesteia sunt:

- Toxicocinetica: studiază absorbția, distribuția, metabolizarea și excreția substanței din organism;
- Toxicodinamica: se ocupă de mecanismele de acțiune ale substanței toxice asupra structurilor biologice.

Ecotoxicologia investighează efectele poluanților asupra organismelor non-țintă și a ecosistemelor. Un subdomeniu important al acesteia este fitotoxicologia, care evaluează impactul substanțelor chimice asupra plantelor, inclusiv a celor cultivate.

Având în vedere complexitatea problematicii și necesitatea unei abordări multidimensionale, prezentul studiu își propune să contribuie la o înțelegere mai profundă a efectelor fungicidelor triazolice asupra mediului și sănătății umane, prin integrarea metodologiilor experimentale și informatice. Această abordare complementară permite realizarea unei investigații riguroase a datelor existente din literatura științifică, integrarea tehnologiilor computaționale avansate pentru evaluarea predictivă a riscurilor toxice asupra sănătății umane și mediului, precum și aplicarea unor experimente de fitotoxicologie menite să evidențieze impactul biologic direct al fungicidelor triazolice asupra speciilor vegetale. Relevanța cercetării constă în capacitatea sa de a furniza date esențiale pentru fundamentarea deciziilor privind utilizarea responsabilă a acestor substanțe, susținând totodată inițiativele de protecție a ecosistemelor și sănătății publice în contextul agriculturii durabile.

## METODOLOGIE

În prima perioadă de raportare a proiectului au fost desfășurate două activități principale, identificate în planul de lucru drept A1 și A5. Activitatea A1 a cuprins două teme majore: compararea metodelor standardizate de testare a fitotoxicității și evaluarea toxicității fungicidelor triazolice asupra sănătății umane. Aceste teme au vizat realizarea unui studiu de literatură detaliat, cu scopul de a sintetiza și compara informațiile științifice disponibile privind metodele experimentale utilizate în testarea efectelor toxice asupra plantelor, respectiv efectele toxice potențiale ale fungicidelor asupra organismului uman.

Activitatea A5 a fost dedicată studiului computațional, respectiv modelării ADMETox (Absorbție, Distribuție, Metabolism, Excreție și Toxicitate) pentru cele trei fungicide triazolice de interes în cadrul acestui proiect: difeconazol, mefentrifluconazol și protioconazol. Pentru această analiză s-a utilizat platforma admetSAR 3.0, un instrument bioinformatic avansat care permite evaluarea predictivă a proprietăților toxicologice și toxicocinetice ale compușilor chimici.

### Compararea metodelor standardizate de testare a fitotoxicității

Pentru realizarea acestei etape din activitatea A1, obiectivul principal a constat în identificarea și compararea unor metode experimentale validate și frecvent utilizate în testarea fitotoxicității. Studiul a fost realizat în prima jumătate a anului 2025, printr-o cercetare bibliografică sistematică desfășurată utilizând platformele Google Academic (<https://scholar.google.ro/>) și Web of Science (<https://www.webofscience.com/wos/woscc/basic-search>).

Criteriile de selecție au inclus articole publicate în reviste de specialitate, în limba engleză, cu relevanță directă pentru domeniul toxicologiei vegetale. Sursele în alte limbi decât engleza au fost excluse pentru a menține coerența terminologică și comparabilitatea datelor.

Pentru o integrare vizuală a materialului obținut, a fost realizată o reprezentare grafică logică utilizând platforma VOSviewer (<https://www.vosviewer.com/>). Aceasta a permis generarea unei hărți de rețea care ilustrează conexiunile dintre diverse concepte asociate fitotoxicității, pe baza co-citațiilor sau co-apariției termenilor în cadrul corpusului de articole analizate.

### Toxicitatea fungicidelor triazolice asupra sănătății umane

Pentru realizarea studiului privind toxicitatea fungicidelor triazolice asupra sănătății umane, a fost inițiată o analiză documentară sistematică, aflată încă în desfășurare. Sursele bibliografice au fost identificate utilizând trei baze de date științifice majore: Google Scholar, Web of Science și PubMed, care permit accesul la articole științifice din domeniile toxicologiei și sănătății publice. Pentru asigurarea calității și comparabilității informațiilor, au fost incluse doar articolele publicate în limba engleză, excluderea studiilor în alte limbi fiind motivată de lipsa unor traduceri oficiale și potențiala ambiguitate terminologică.

În prima etapă a fost urmărită identificarea literaturii relevante cu privire la cele trei fungicide triazolice vizate de proiect – difenoconazol, mefentrifluconazol și protioconazol – cu scopul de a obține o imagine inițială asupra profilului toxicologic al acestora. Se preconizează ca, în următoarea perioadă de raportare, această investigație să fie extinsă la alte fungicide triazolice, pentru a plasa substanțele de interes într-un context comparativ mai larg și pentru a evidenția potențialele particularități structurale și toxicodinamice.

În ceea ce privește selecția studiilor, au fost considerate relevante doar acele lucrări care conțin date experimentale legate de efectele asupra organismului uman, direct sau prin modele biologice relevante. Astfel, literatura analizată a fost organizată în trei mari categorii:

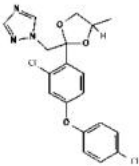
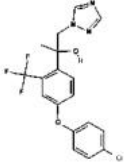
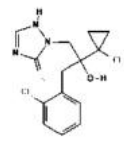
- Studii *in vivo* pe mamifere de laborator (în special rozătoare), care au furnizat informații esențiale privind dozele letale (LD<sub>50</sub>) sau concentrațiile letale (LC<sub>50</sub>), utile pentru caracterizarea toxicității acute și subacute a fungicidelor analizate;
- Studii *in vitro* realizate pe linii celulare umane sau animale, din care au fost extrase valori de tip IC<sub>50</sub> (concentrația inhibitorie mediană), indicator important pentru determinarea pragului de efect citotoxic;
- Studii complementare, care au vizat efecte precum iritația pielii, iritația oculară, toxicitatea hepatică și renală, precum și potențialul carcinogen al fungicidelor triazolice analizate.

Această abordare etapizată și categorială are ca scop construirea unei perspective integrate asupra modului în care aceste substanțe pot afecta sănătatea umană, în funcție de calea de expunere, dozaj, durată și context biologic.

## Modelarea ADMETox a celor trei fungicide triazolice de interes

Pentru realizarea studiului computațional privind profilul ADMETox (Absorbție, Distribuție, Metabolism, Excreție și Toxicitate) al celor trei fungicide triazolice de interes – difenoconazol, mefentrifluconazol și protioconazol – a fost utilizată o abordare *in silico*, bazată pe predicții bioinformatic. În prima etapă, au fost obținute structurile moleculare ale celor trei substanțe sub formă de formule SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) din baza de date PubChem (**Tabelul 1**), reprezentări chimice standardizate care permit procesarea automată a informației structurale de către platformele computaționale.

**Tabelul 1.** Formulele SMILES și structurile chimice ale celor trei fungicide triazolice de interes

Fungicid triazolic de interes	Formulă SMILES	Structură chimică
Difenoconazol	<chem>CC1COC(O1)(CN2C=NC=N2)C3=C(C=C(C=C3)OC4=CC=C(C=C4)Cl)Cl</chem>	
Mefentrifluconazol	<chem>CC(CN1C=NC=N1)(C2=C(C=C(C=C2)OC3=CC=C(C=C3)Cl)C(F)(F)F)O</chem>	
Protioconazol	<chem>C1CC1(C(CC2=CC=CC=C2Cl)(CN3C(=S)N=CN3)O)Cl</chem>	

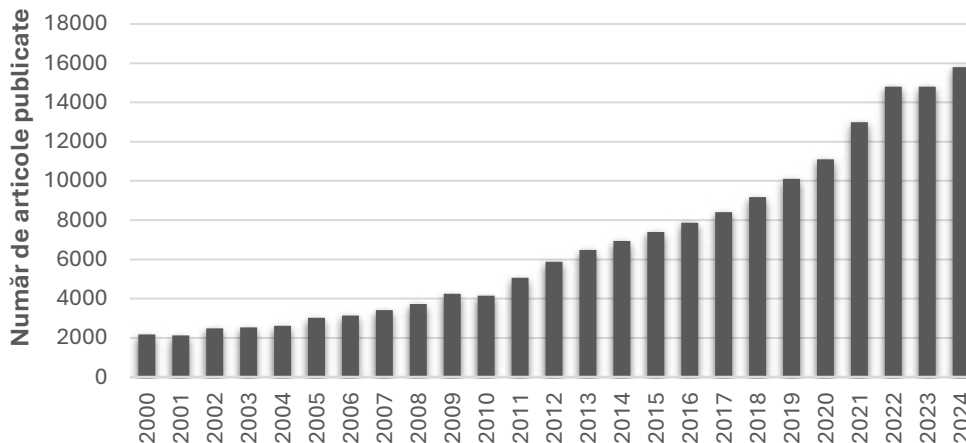
Ulterior, aceste formule au fost introduse în platforma admetSAR 3.0, un instrument online de predicție care oferă o abordare practică, sistematică și riguroasă pentru evaluarea proprietăților ADMET ale substanțelor chimice. În urma celei mai recente actualizări, platforma beneficiază de o bază de date solidă, alcătuită din peste 370.000 de înregistrări experimentale, extrase din mai mult de 100.000 de compuși unici. Aceasta integrează un total de 119 parametri ADMET, organizați în cinci categorii majore: proprietăți fizico-chimice de bază, parametri toxicocinetici ADME, indicatori de toxicitate asupra sănătății umane, parametri de risc ecotoxicologic și predictorii ai riscurilor în domeniul cosmetic.

Această analiză predictivă oferă o imagine preliminară asupra comportamentului biochimic al moleculelor studiate și contribuie la o evaluare timpurie a riscurilor toxice, completând datele obținute prin metode experimentale și prin studiul literaturii de specialitate.

# REZULTATE OBȚINUTE

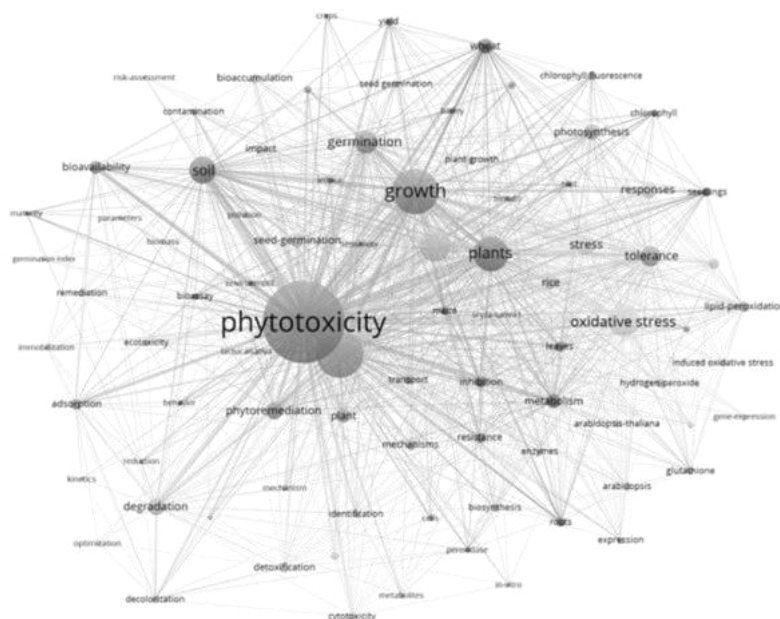
## Compararea metodelor standardizate de testare a fitotoxicității

În perioada cuprinsă între anul 2000 și anul 2024, pe platforma Google Scholar sunt înregistrate peste 68.400 de articole științifice dedicate tematicii fitotoxicității. Această vastă cantitate de publicații reflectă un interes tot mai accentuat pentru subiect, iar analiza temporală indică o tendință clară de creștere a numărului de studii publicate în ultimii ani (**Figura 1**).



*Figura 1. Numărul articolelor publicate de pe Google Scholar care abordează termenul de fitotoxicitate*

Harta de co-ocurență generată cu ajutorul programului VOSviewer evidențiază fitotoxicitatea ca temă centrală a analizei (**Figura 2**). În jurul acesteia, se observă conexiuni semnificative cu termeni precum creșterea plantelor, solul și stresul oxidativ, indicând direcțiile principale de cercetare. Termenii frecvenți precum „toleranță”, „stres” și „răspunsuri” subliniază interesul pentru mecanismele prin care plantele fac față condițiilor toxice. De asemenea, cuvinte-cheie ca „fotosinteză”, „germinare” și „fitoremediere” reflectă atât impactul toxicității asupra funcțiilor esențiale ale plantelor, cât și potențialul acestora în procesele de remediere a mediului. Această reprezentare vizuală facilitează înțelegerea relațiilor și tendințelor din literatura de specialitate, evidențiind ariile prioritare de studiu în domeniul fitotoxicității.



*Figura 2. Hartă de rețea generată prin intermediul instrumentului VOSviewer care evidențiază legăturile dintre conceptele asociate fitotoxicității, pe baza co-citării sau co-apariției termenilor*

Printre testele de fitotoxicitate, cele mai frecvent utilizate sunt cele standardizate, dezvoltate sub forma unor ghiduri elaborate de organizații internaționale recunoscute, precum OECD (Organizația pentru Cooperare și Dezvoltare Economică), EPA (Agenția pentru Protecția Mediului din Statele Unite) și ISO (Organizația Internațională pentru Standardizare) (**Tabelul 2**). Aceste standarde asigură un cadru metodologic unitar și validat pentru evaluarea impactului toxic al substanțelor asupra plantelor.

*Tabelul 2. Ghiduri standard identificate pentru teste de fitotoxicitate*

<b>Test</b>	<b>Scurtă descriere</b>
OECD 208 Seedling Emergence and Seedling Growth Test	Evaluează efectele substanțelor asupra germinării și creșterii plantulelor în sol
OECD 221 <i>Lemna sp.</i> Growth Inhibition Test	Evaluează toxicitatea diferitelor substanțe asupra genului <i>Lemna</i> , care include specii mici de plante acvatice
OECD 227 Vegetative Vigour Test	Se aplică plantelor deja dezvoltate, aflate în faza vegetativă
EPA 850.4100 Seed Germination / Root Elongation Test	Test de laborator care analizează efectele asupra germinării și creșterii rădăcinii
EPA 850.4150 Vegetative Vigor	Evaluează efectele substanțelor asupra creșterii plantelor dezvoltate
EPA 850.4230 Seedling Emergence	Testează germinarea și creșterea plantulelor în sol

Testele de toxicitate asupra plantelor diferă în funcție de stadiul de creștere al plantei, mediul de testare și tipul plantei utilizate — variind de la teste simple de germinație până la evaluări complexe realizate pe plante mature, în sisteme sol, fără sol sau acvatice. Deși unele metode se suprapun, fiecare oferă perspective specifice, în funcție de speciile studiate și condițiile de expunere, contribuind astfel la o înțelegere detaliată a efectelor fitotoxice.

Aceste teste de fitotoxicitate utilizează diverse specii de plante ne-țintă, alese în funcție de relevanța lor pentru obiectivele studiilor. Testele terestre implică atât plante agricole, care pot fi expuse accidental sau intenționat la fungicide și alte substanțe potențial toxice, cât și plante sălbatice, reprezentative pentru ecosistemele naturale și care pot reflecta impactul asupra biodiversității. Plantele agricole sunt selectate pentru a evalua efectele potențiale asupra culturilor de interes economic, iar plantele sălbatice sunt incluse pentru a surprinde posibilele consecințe ecologice ale contaminării mediului.

În ceea ce privește testele de fitotoxicitate acvatică, acestea utilizează preponderent plante acvatice plutitoare, cum ar fi *Lemna minor*. Această specie este favorizată datorită mai multor avantaje, printre care o creștere vegetativă rapidă, capacitatea de a servi drept organism-model în studiile ecotoxicologice și faptul că are contact direct cu apa și substanțele toxice dizolvate în mediul acvatic.

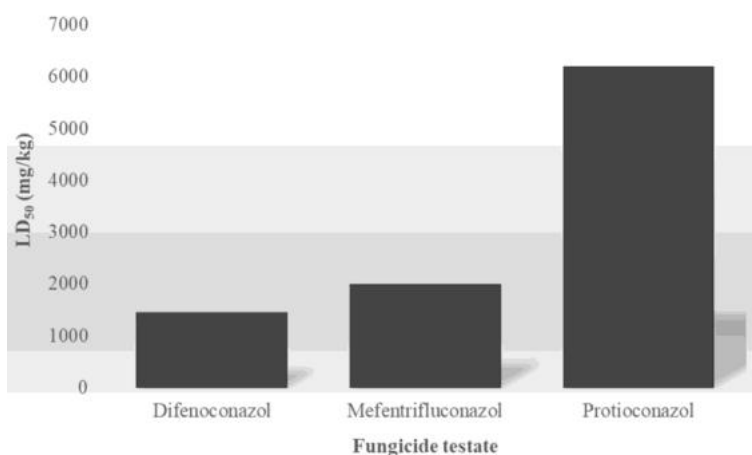
Datele și informațiile sintetizate în cadrul acestui capitol au fost grupate și structurate pentru a forma o analiză coerentă și detaliată, care a fost ulterior pregătită pentru publicare. Manuscrisul a fost transmis spre evaluare și publicare în revista *Annals of West University of Timișoara, Series of Biology*, contribuind astfel la diseminarea rezultatelor preliminare și la validarea științifică a concluziilor obținute în această etapă a proiectului.

## Toxicitatea fungicidelor triazolice asupra sănătății umane

Au fost identificate multiple studii care investighează efectele celor trei fungicide de interes în proiect - difenoconazol, mefentrifluconazol și protoconazol. Aceste cercetări includ o varietate de abordări experimentale, cuprinzând studii *in vivo* realizate pe mamifere de laborator, menite să evalueze efectele toxice la nivelul întregului organism, studii *in vitro* efectuate pe diverse linii celulare pentru a determina parametri precum concentrațiile inhibitorii mediane ( $IC_{50}$ ), dar și studii complementare care analizează efecte specifice, precum iritația pielii și a ochilor, toxicitatea hepatică și renală, potențialul carcinogen și alte tipuri de efecte toxice relevante pentru sănătatea umană. Această diversitate metodologică permite o evaluare complexă și cuprinzătoare a riscurilor asociate cu expunerea la aceste fungicide.

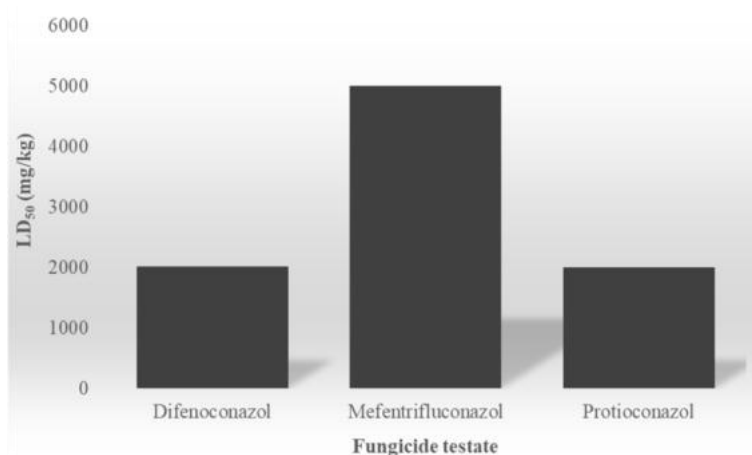
### Studii *in vivo* pe mamifere de laborator

Testele de toxicitate orală acută efectuate pe șobolani au evidențiat că difenoconazolul este cel mai toxic dintre cele trei fungicide investigate, având o valoare  $LD_{50}$  de aproximativ de patru ori mai mică decât cea a protoconazolului, indicând astfel o toxicitate semnificativ mai ridicată. Mefentrifluconazolul prezintă o toxicitate ușor mai redusă decât difenoconazolul, cu o valoare  $LD_{50}$  estimată la aproximativ de trei ori mai mică comparativ cu protoconazolul (**Figura 3**). Astfel, atât difenoconazolul, cât și mefentrifluconazolul manifestă un potențial toxic acut considerabil mai mare decât protoconazolul.



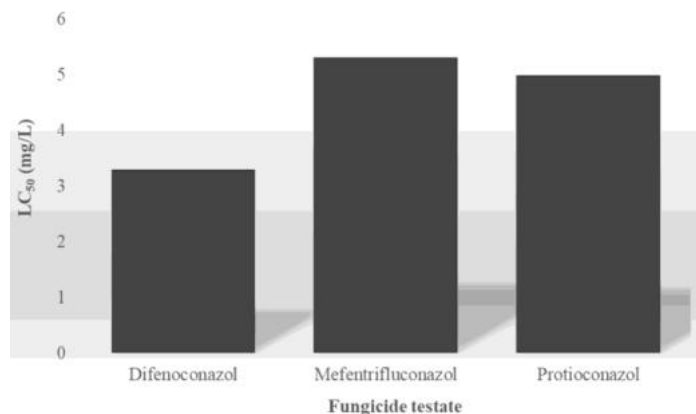
**Figura 3.** Rezultate preliminare cu privire la valori  $LD_{50}$  obținute în urma testului de toxicitate orală acută la șobolani

Testul de toxicitate dermică acută realizat pe șobolani a arătat că difenoconazolul și protoconazolul prezintă valori similare ale  $LD_{50}$ , indicând un nivel comparabil de toxicitate prin această cale de expunere. În contrast, mefentrifluconazolul a înregistrat valori ale  $LD_{50}$  de aproximativ două până la trei ori mai mari decât cele ale celorlalte două substanțe, evidențiindu-se astfel ca fiind cel mai puțin toxic în cazul expunerii dermice acute (**Figura 4**).



**Figura 4.** Rezultate preliminare cu privire la valori  $LD_{50}$  obținute în urma testului de toxicitate dermică acută la șobolani

Testul de toxicitate prin inhalare acută efectuat pe șobolani a indicat că difenoconazolul este cel mai toxic dintre cele trei fungicide analizate, prezentând o valoare  $LC_{50}$  mai scăzută comparativ cu celelalte două substanțe. Atât mefentrifluconazolul, cât și protioconazolul au manifestat valori similare ale  $LC_{50}$ , care au fost aproximativ de 1,5 ori mai mari decât cea a difenoconazolului, sugerând un nivel redus de toxicitate prin inhalare în comparație cu acesta (**Figura 5**).

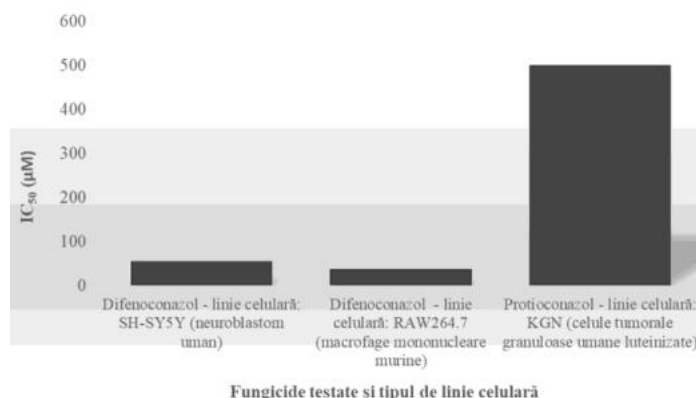


**Figura 5.** Rezultate preliminare cu privire la valori  $LC_{50}$  obținute în urma testului de toxicitate prin inhalare acută la șobolani

Analiza comparativă a toxicității acute a fungicidelor triazolice difenoconazol, mefentrifluconazol și protioconazol, realizată prin teste orale, dermice și prin inhalare pe șobolani, a evidențiat un profil diferențiat al acestora în funcție de calea de expunere. Difenoconazolul s-a dovedit a fi cel mai toxic în testele orale și prin inhalare, indicând un potențial crescut de risc în cazul ingestiei și expunerii respiratorii. În ceea ce privește toxicitatea dermică, difenoconazolul și protioconazolul au prezentat valori  $LD_{50}$  similare, în timp ce mefentrifluconazolul s-a evidențiat ca având o toxicitate semnificativ mai redusă prin această cale. Aceste rezultate subliniază importanța considerării specifice a fiecărei căi de expunere în evaluarea riscurilor toxice ale fungicidelor, contribuind astfel la o mai bună înțelegere a profilului lor de siguranță pentru sănătatea umană.

### Studii *in vitro* realizate pe linii celulare

În cadrul fazei preliminare a studiului de literatură, nu au fost identificate date relevante referitoare la citotoxicitatea mefentrifluconazolului. Pentru difenoconazol au fost găsite informații privind efectele asupra liniilor celulare SH-SY5Y (celule neuronale umane) și RAW264.7 (linie celulară de macrofage murine), în timp ce pentru protioconazol datele disponibile vizează linia celulară KGN luteinizată (celule ovariene umane) (**Figura 6**).

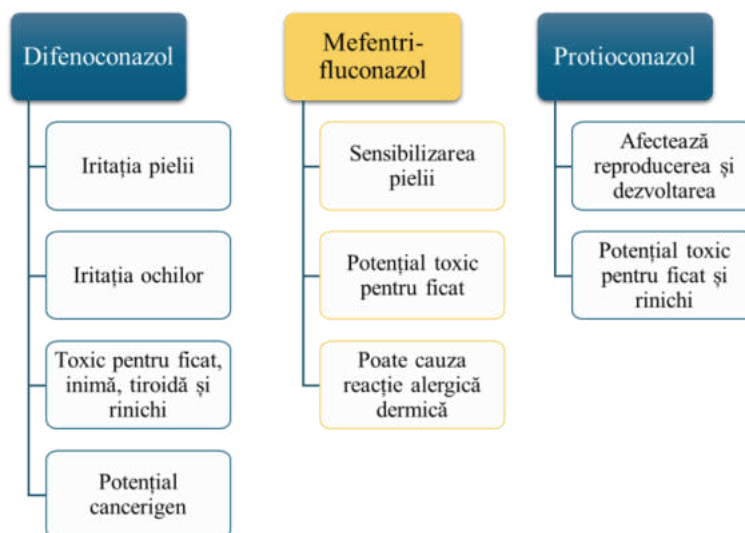


**Figura 6.** Rezultate preliminare cu privire la valori  $IC_{50}$  obținute în urma unor teste *in vitro* de citotoxicitate

Analiza comparativă a acestor date indică faptul că difenoconazolul manifestă un grad mai ridicat de citotoxicitate față de liniile celulare investigate, comparativ cu protioconazolul pe linia sa specifică. Totuși, efectul citotoxic al difenoconazolului variază semnificativ între liniile celulare studiate, acesta fiind aproape de două ori mai toxic pentru linia RAW264.7 în comparație cu SH-SY5Y, evidențiind astfel o variabilitate specifică tipului celular în sensibilitatea la această substanță.

## Studii complementare

În cadrul studiilor complementare privind toxicitatea fungicidelor triazolice, pentru difenoconazol au fost raportate multiple efecte adverse potențiale asupra sănătății umane. Acesta este asociat cu iritații ale ochilor și pielii, precum și cu toxicitate pentru organe vitale, inclusiv ficatul, inima, tiroida și rinichii. Totodată, difenoconazolul este considerat un potențial agent cancerigen. Pentru mefentrifluconazol au fost identificate efecte de sensibilizare a pielii și potențială toxicitate hepatică, alături de capacitatea de a induce reacții alergice dermice. Protoconazolul, în schimb, a fost asociat în principal cu efecte asupra reproducerii și dezvoltării, fiind, de asemenea, potențial toxic pentru ficat și rinichi (**Figura 7**).



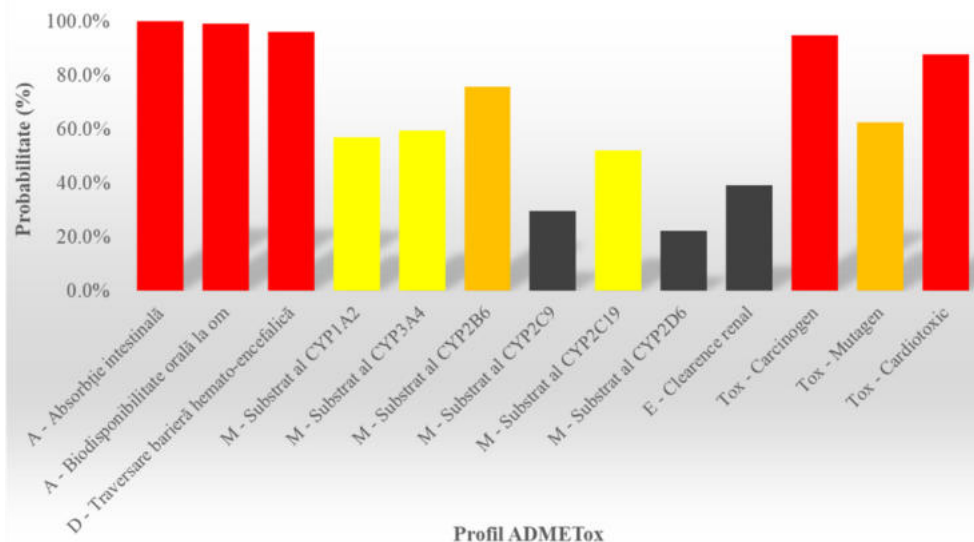
**Figura 7.** Rezultate preliminare cu privire la efecte asupra sănătății umane

Aceste date evidențiază necesitatea unei evaluări riguroase, detaliate și integrate a riscurilor toxice ale fungicidelor triazolice asupra sănătății umane, care să includă atât teste *in vivo*, cât și *in vitro*, dar și studii complementare. Având în vedere complexitatea și diversitatea efectelor adverse raportate — de la iritații și sensibilizări până la toxicitate asupra organelor vitale și potențial carcinogen — este esențială combinarea rezultatelor obținute din aceste metode complementare pentru o înțelegere cuprinzătoare a impactului acestor substanțe. Această abordare integrată facilitează identificarea nivelurilor de expunere sigure și susține dezvoltarea unor strategii eficiente de gestionare a riscurilor, protejând astfel sănătatea publică și mediul.

## Modelarea ADMETox a celor trei fungicide triazolice de interes

Platforma admetSAR 3.0 furnizează rezultate sub formă de probabilități exprimate în procente, indicând șansa ca un anumit efect sau proprietate să fie prezente pentru compusul analizat. Acest instrument online evaluează comprehensiv mai mulți parametri ADMETox, inclusiv absorbția compușilor prin testele de absorbție intestinală și biodisponibilitatea orală la om, capacitatea de transport prin bariera hematoencefalică, precum și metabolizarea. În ceea ce privește metabolizarea, admetSAR identifică dacă substanța este substrat pentru enzime importante în metabolizarea xenobioticelor, precum CYP1A2, CYP3A4, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 și CYP2D6. De asemenea, platforma estimează excreția prin clearance renal și evaluează potențialele riscuri toxice, inclusiv carcinogenitatea, mutagenitatea și cardiotoxicitatea compușilor testați.

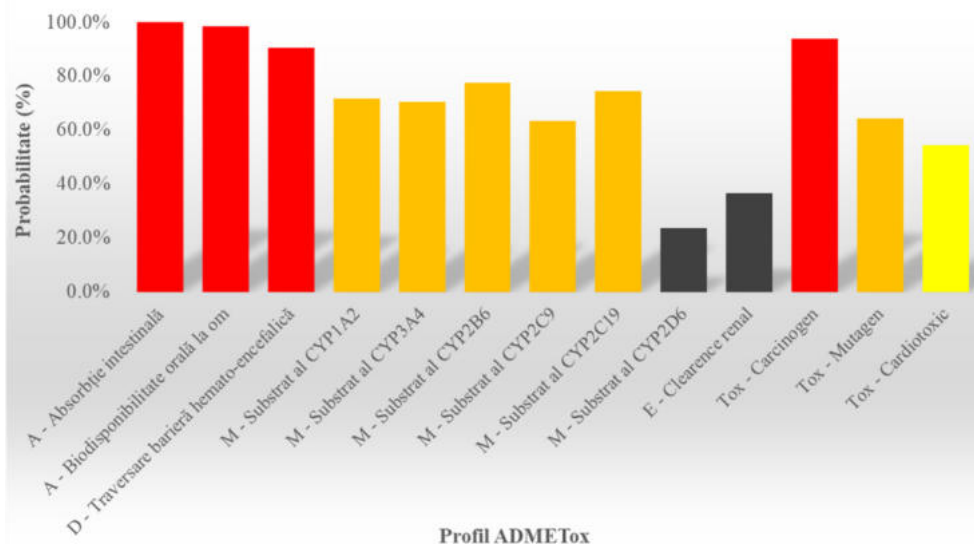
Analiza profilului ADMETox al difenoconazolului (**Figura 8**) indică o probabilitate ridicată pentru absorbție intestinală și biodisponibilitate orală, ceea ce sugerează o bună preluare și disponibilitate a compusului în organism după administrare orală. De asemenea, se observă o probabilitate crescută pentru capacitatea de traversare a barierei hematoencefalice, ceea ce indică potențialul compusului de a pătrunde în sistemul nervos central. În ceea ce privește toxicitatea, difenoconazol prezintă o probabilitate ridicată de carcinogenitate și cardiotoxicitate, aspecte critice în evaluarea riscurilor pentru sănătatea umană.



**Figura 8.** Rezultate preliminare cu privire la profilul ADMETTox pentru difenoconazol (culoarea roșie indică probabilitate mare 80-100%, culoarea portocalie indică probabilitate medie 60-80%, culoarea galbenă indică probabilitate mica 50-60%, culoarea gri indică faptul că nu este probabil)

Pentru metabolizare, compusul are o probabilitate medie de a fi substrat al enzimei CYP2B6, ceea ce poate influența modul în care este procesat în organism, iar pentru mutagenitate, probabilitatea este tot medie, indicând un risc moderat de a induce modificări genetice. În schimb, probabilitatea ca difenoconazolul să fie substrat pentru enzimele CYP1A2, CYP3A4 și CYP2C19 este scăzută, sugerând o metabolizare mai redusă prin aceste căi. Aceste rezultate oferă o perspectivă integrată asupra comportamentului toxicocinetic și toxicologic al difenoconazolului, subliniind atât potențialul său de absorbție și distribuție, cât și riscurile asociate toxicității.

Profilul ADMETTox al mefentrifluconazolului (**Figura 9**) indică o probabilitate ridicată pentru absorbția intestinală și biodisponibilitatea orală, semnalând o eficiență preluare și disponibilitate a substanței în organism după administrare. De asemenea, compusul prezintă o probabilitate mare de traversare a barierei hematoencefalice, sugerând potențialul de a afecta sistemul nervos central.



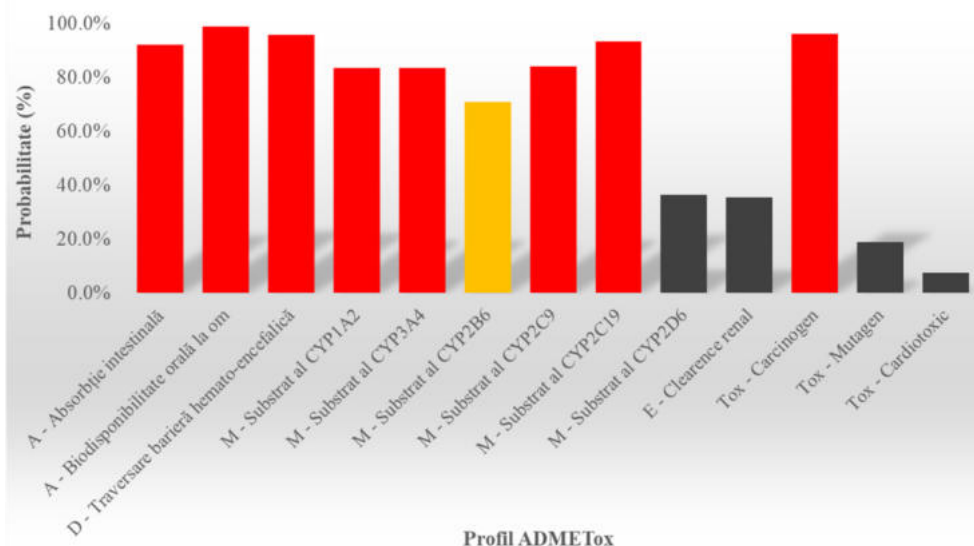
**Figura 9.** Rezultate preliminare cu privire la profilul ADMETTox pentru mefentrifluconazol (culoarea roșie indică probabilitate mare 80-100%, culoarea portocalie indică probabilitate medie 60-80%, culoarea galbenă indică probabilitate mica 50-60%, culoarea gri indică faptul că nu este probabil)

În ceea ce privește metabolizarea, mefentrifluconazolul manifestă probabilități medii de a fi substrat pentru majoritatea enzimelor CYP implicate în metabolizarea xenobioticelor, inclusiv CYP1A2, CYP3A4, CYP2B6, CYP2C9 și CYP2C19, însă nu prezintă activitate de substrat pentru enzima CYP2D6.

Riscurile toxice asociate includ o probabilitate ridicată de carcinogenitate, ceea ce indică un potențial impact negativ asupra ADN-ului celular și dezvoltării cancerului, și o probabilitate medie de mutagenitate, sugerând un risc moderat de afectare genetică. În schimb, mefentrifluconazolul prezintă o probabilitate scăzută de cardiotoxicitate, indicând un risc redus de afectare a funcției cardiace.

Acest profil oferă o imagine detaliată a potențialelor caracteristici toxicocinetice și toxice ale mefentrifluconazolului, evidențiind atât proprietățile favorabile de absorbție și distribuție, cât și anumite riscuri moderate și reduse asociate toxicității.

Profilul ADMETox al protioconazolului (**Figura 10**) indică o probabilitate mare pentru absorbția intestinală și biodisponibilitatea orală și este foarte probabil să traverseze bariera hematoencefalică.



**Figura 10.** Rezultate preliminare cu privire la profilul ADMETox pentru protioconazol (culoarea roșie indică probabilitate mare 80-100%, culoarea portocalie indică probabilitate medie 60-80%, culoarea galbenă indică probabilitate mica 50-60%, culoarea gri indică faptul că nu este probabil)

În ceea ce privește metabolizarea, protioconazolul are o probabilitate ridicată de a fi substrat pentru enzimele CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9 și CYP2C19, în timp ce pentru CYP2B6 prezintă o probabilitate medie. Aceasta indică un profil metabolic activ, cu implicarea semnificativă a acestor enzime în procesarea compusului. Referitor la toxicitate, protioconazolul prezintă o probabilitate ridicată de carcinogenitate, semnalând un potențial risc crescut de dezvoltare a cancerului asociat expunerii.

Comparativ, profilurile ADMETox ale celor trei fungicide triazolice evidențiază similarități și diferențe semnificative în ceea ce privește absorbția, metabolizarea și potențialul toxic. Toate cele trei fungicide triazolice — difenoconazol, mefentrifluconazol și protioconazol — prezintă o probabilitate ridicată pentru absorbția intestinală, biodisponibilitatea orală și capacitatea de traversare a barierei hematoencefalice, indicând un potențial ridicat de expunere sistemică și posibil efect asupra sistemului nervos central.

În ceea ce privește metabolizarea, protioconazolul și mefentrifluconazolul se diferențiază prin implicarea extinsă ca substrat al mai multor enzime CYP450, în special CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9 și CYP2C19, ceea ce poate sugera un profil metabolic mai complex comparativ cu difenoconazol, care prezintă o probabilitate mai scăzută de metabolizare prin aceste enzime.

Din perspectiva toxicologică, toți trei compuși manifestă un risc crescut de carcinogenitate, însă difenoconazol și mefentrifluconazol prezintă un potențial mai pronunțat de cardiotoxicitate comparativ cu protioconazolul, care are această probabilitate redusă. De asemenea, probabilitățile de mutagenitate sunt moderate pentru difenoconazol și mefentrifluconazol, dar mai scăzute sau neprobabile pentru protioconazol.

În concluzie, deși toate cele trei fungicide prezintă caracteristici similare în ceea ce privește absorbția și biodisponibilitatea, diferențele în metabolizare și potențialele efecte toxice sugerează necesitatea unor evaluări suplimentare detaliate pentru a înțelege mai bine riscurile specifice asociate fiecărui compus.

# VALORIFICAREA REZULTATELOR

Rezultatele obținute în cadrul studiului privind „Compararea metodelor standardizate de testare a fitotoxicității” au fost prezentate sub forma a două postere la Conferința Anuală Biologia, ediția a XVII-a – 27 iunie 2025, 09:00, Timișoara, facilitând astfel diseminarea cunoștințelor și schimbul de opinii cu specialiști din domeniu. Cele două postere au fost intitulate: „Metode de lucru adecvate pentru testarea pe *Lemna minor*” și „Metode de testare ecotoxicologică pe plante terestre: analiză comparativă a protocoalelor standard și a testelor biochimice” (Figura 11).

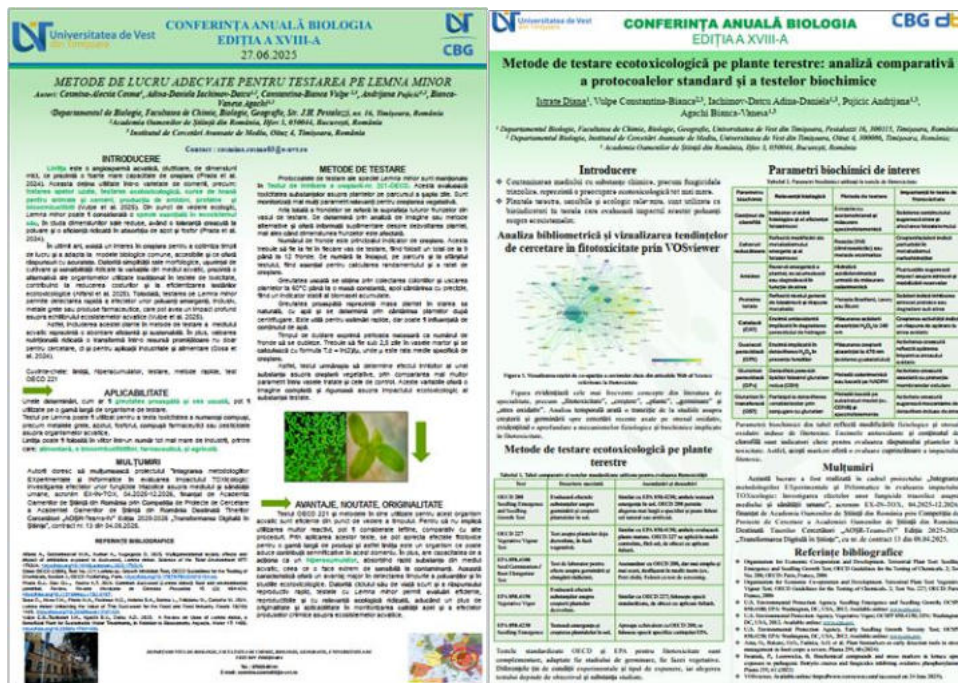



Figura 11. Postere prezentate în cadrul Conferinței Anuale Biologia, ediția a XVII-a – 27 iunie 2025, 09:00, Timișoara

De asemenea, în cadrul aceleiași conferințe a avut loc și prezentarea proiectului, oferind astfel o oportunitate suplimentară de a evidenția obiectivele, metodologia și importanța studiului în contextul evaluării toxicologice a fungicidelor triazolice (Figura 12). Această prezentare a facilitat dialogul cu experți din domeniu și a contribuit la creșterea vizibilității proiectului în comunitatea științifică, consolidând astfel baza colaborărilor viitoare și susținând progresul cercetărilor aferente.



Academia Oamenilor de Știință din România




Universitatea de Vest din Timișoara

Sesiunea științifică de prezentare a rezultatelor cercetărilor realizate în cadrul proiectelor câștigătoare

PROIECTUL

# EX-IN-TOX



Membru proiect: Asist. Cercet. Dr. VULPE Constantina Bianca

Dezpartamentul Biologie, Institutul de Cercetări Avansate de Mediu, Universitatea de Vest din Timișoara

Figura 12. Prezentare a proiectului susținută în cadrul Conferinței Anuale Biologia, ediția a XVII-a – 27 iunie 2025, 09:00, Timișoara

Totodată, datele au fost elaborate într-un manuscris științific și transmise spre evaluare și publicare în revista „Annals of West University of Timisoara, Series of Biology”. Publicarea în această revistă de specialitate va asigura o vizibilitate extinsă a rezultatelor, sprijinind astfel integrarea lor în literatura de specialitate și în dezvoltarea ulterioară a cercetărilor din domeniu. Astfel, prin aceste demersuri, rezultatele studiului sunt valorificate pe multiple planuri, contribuind atât la avansarea cunoașterii științifice, cât și la promovarea unei bune practici în evaluarea fitotoxicității.

## CONCLUZII

Pe parcursul primei perioade de raportare, au fost demarate și implementate în mod eficient cele două activități planificate pentru această etapă: A1. *Analiza critică a literaturii de specialitate privind ecotoxicitatea și toxicitatea umană a fungicidelor triazolice* și A5. *Aplicarea metodelor computaționale pentru modelarea ecotoxicității și estimarea toxicității fungicidelor triazolice*. Deși activitățile continuă și în următoarele etape de raportare, toate demersurile stabilite pentru această primă perioadă au fost îndeplinite, reflectând o implementare eficientă a proiectului. Mai mult, a fost inițiată și activitatea A6 – *Valorificarea și diseminarea rezultatelor obținute*, care nu era prevăzută pentru această etapă, ceea ce evidențiază un progres semnificativ față de planificarea inițială (**Tabelul 3**).

*Tabelul 3. Gradul de realizare a activităților propuse pentru prima perioadă raportată*

ACTIVITATE	TEORETIC	REALIZAT
A1	20%	20%
A5	13%	13%
A6	0%	6%

În cadrul activității A1, au fost abordate două direcții tematice majore care contribuie esențial la fundamentarea științifică a proiectului. Prima temă a vizat analiza comparativă a metodelor standardizate de testare a fitotoxicității, punând în evidență faptul că organismele vegetale utilizate în testele ecotoxicologice, fie ele terestre sau acvatiche, pot oferi rezultate relevante privind potențialul fitotoxic al substanțelor chimice. Prin analiza ghidurilor elaborate de organizații precum OECD și EPA, s-a evidențiat diversitatea metodelor în funcție de tipul de plantă, mediu și stadiu de dezvoltare. Aceste informații oferă o bază solidă pentru selecția și adaptarea ulterioară a metodelor experimentale în proiect.

A doua temă din cadrul aceleiași activități a implicat o analiză preliminară a toxicității triazolilor de interes (difenoconazol, mefentrifluconazol și protioconazol) asupra sănătății umane. Rezultatele sintetizate din literatura de specialitate au arătat că difenoconazolul prezintă cea mai ridicată toxicitate acută, urmat de mefentrifluconazol, în timp ce protioconazolul are un profil mai redus de toxicitate în testele *in vivo*. În paralel, datele *in vitro* au indicat un efect citotoxic mai accentuat pentru difenoconazol pe liniile celulare testate. Studiile complementare au completat imaginea riscurilor potențiale, evidențiind posibile efecte iritante, hepatotoxice, cardiotoxice și potențial cancerigene. Aceste concluzii subliniază importanța evaluării integrate și diferențiate a riscurilor fiecărui compus.

În ceea ce privește activitatea A5, modelarea computațională ADMETox realizată cu ajutorul platformei admetSAR 3.0 a permis estimarea predictivă a comportamentului toxicocinetic și toxicologic al celor trei fungicide. S-a constatat că toate cele trei substanțe prezintă o absorbție intestinală ridicată și o probabilitate mare de biodisponibilitate orală, precum și capacitatea de a traversa bariera hematoencefalică, ceea ce poate implica riscuri neurotoxice. De asemenea, analiza a arătat diferențe relevante în ceea ce privește potențialul de metabolizare și toxicitate sistemică, cu predicții de probabilitate ridicată pentru carcinogenitate în cazul tuturor compușilor. Aceste date vin în completarea celor experimentale, oferind un instrument valoros pentru prioritizarea riscurilor și orientarea cercetărilor viitoare.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Burcham, P. C. (2014). An introduction to toxicology (pp. 151-187). London, UK.: Springer.
- European Commission, EU Pesticides Database, Active substances , safeners and synergists search engine, <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances> (accessed 10.04.2025)
- Gu, Y., Yu, Z., Wang, Y., Chen, L., Lou, C., Yang, C., ... & Tang, Y. (2024). admetSAR3. 0: a comprehensive platform for exploration, prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Nucleic acids research*, 52(W1), W432-W438.
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., ... & Bolton, E. E. (2023). PubChem 2023 update. *Nucleic acids research*, 51(D1), D1373-D1380.
- OECD (2006), Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264070066-en>.
- OECD (2006), Test No. 221: *Lemna sp.* Growth Inhibition Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264016194-en>.
- OECD (2006), Test No. 227: Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264067295-en>.
- U.S. EPA (2012), OCSPP 850.4100: Seedling emergence and seedling growth, Ecological Effects Test Guidelines
- U.S. EPA (2012), OCSPP 850.4150: Vegetative vigor, Ecological Effects Test Guidelines
- U.S. EPA (2012), OCSPP 850.4230: Early seedling growth toxicity test, Ecological Effects Test Guidelines
- Vulpe, C. B., Toplicean, I. M., Agachi, B. V., & Datcu, A. D. (2025). A Review on Uses of *Lemna minor*, a Beneficial Plant for Sustainable Water Treatments, in Relation to Bioeconomy Aspects. *Water*, 17(9), 1400.
- Zakrzewski, S. F. (2002). *Environmental toxicology*. Oxford University Press.
- Zubrod, J. P., Bundschuh, M., Arts, G., Brühl, C. A., Imfeld, G., Knäbel, A., ... & Schäfer, R. B. (2019). Fungicides: an overlooked pesticide class?. *Environmental science & technology*, 53(7), 3347-3365.