

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI
MEDICINĂ VETERINARĂ
"ION IONESCU DE LA BRAD"
IAȘI**

Gheorghe Țârdea

Lucian Crețu

GENETICA

2001

CUPRINS

CAPITOLUL 1

BAZELE CELULARE ALE EREDITĂȚII ȘI VARIABILITĂȚII (CITOGENETICA)	1
1.1. Structura celulei procariote.....	1
1.2. Structura celulei eucariote.....	3
1.3. Organizarea genomului la eucariote.....	11
1.3.1. Morfologia cromozomilor.....	11
1.3.2. Structura moleculară a cromozomului.....	18
1.3.3. Tipuri particulare de cromozomi.....	19
1.4. Organizarea genomului la procariote (bacterii și virusuri).....	22
1.5. Reproducerea celulei.....	23
1.5.1. Mitoza.....	23
1.5.2. Meioza.....	27

CAPITOLUL 2

BAZELE MOLECULARE ALE EREDITĂȚII	34
2.1. Dovezi privind rolul genetic al ADN.....	34
2.1.1. Transformarea la procariote.....	35
2.1.2. Transfecția la procariote.....	36
2.1.3. Transformarea la eucariote.....	37
2.1.4. Materialul genetic al ribovirusurilor.....	38
2.2. Acizii nucleici și rolul lor genetic.....	38
2.2.1. Structura moleculară a acidului dezoxiribonucleic (ADN).....	38
2.2.2. Acidul ribonucleic (ARN).....	41
2.2.3. Denaturarea și renaturarea ADN.....	44
2.2.4. Replicația ADN.....	44
2.3. Codul genetic.....	46
2.4. Biosinteza proteinelor.....	49
2.4.1. Transcripția informației genetice.....	49
2.4.2. Translația informației genetice.....	50
2.5. Recombinarea genetică la bacterii.....	53

CAPITOLUL 3

EREDITATEA MENDELIANĂ	57
3.1. Terminologia folosită în genetica mendeliană.....	57
3.2. Legile mendeliene ale eredității.....	59
3.2.1. Legea segregării caracterelor (legea purității gameților).....	59
3.2.2. Legea segregării independente a perechilor de caractere.....	62
3.3. Încrucișarea analizoare.....	64

CAPITOLUL 4

TEORIA CROMOZOMICĂ A EREDITĂȚII	66
4.1. Gene și cromozomi.....	66
4.2. Plasarea liniară a genelor pe cromozomi.....	68
4.3. Transmiterea înlănțuită a genelor (linkage).....	68
4.4. Schimbul reciproc de gene între cromozomii omologi (crossing-over).....	70
4.5. Hărțile cromozomice.....	71

4.6. Hărțile citologice.....	72
CAPITOLUL 5	
DETERMINISMUL GENETIC AL SEXULUI.....	74
5.1. Generalități.....	74
5.2. Determinismul cromozomic al sexelor.....	75
5.3. Sexul în cazul înmulțirii partenogenetice.....	78
5.4. Determinismul genetic al sexului la plante.....	78
5.5. Ereditatea caracterelor legate de sex.....	80
CAPITOLUL 6	
EREDITATEA EXTRANUCLEARĂ.....	84
6.1. Metode de evidențiere a eredității extranucleare.....	84
6.1.1. Fenomenul merogoniei.....	84
6.1.2. Ereditatea extranucleară în hibridarea reciprocă.....	86
6.1.3. Testul heterocarion.....	86
6.2. Manifestarea eredității extranucleare.....	87
6.2.1. Ereditatea prin plastide.....	87
6.2.2. Ereditatea mitocondrială.....	88
6.2.3. Androsterilitatea citoplasmatică și nucleo-plasmatică.....	89
CAPITOLUL 7	
MUTAȚII GENETICE.....	92
7.1. Clasificarea mutațiilor.....	92
7.2. Mutațiile spontane.....	93
7.3. Mutațiile artificiale.....	94
7.3.1. Radiațiile mutagene.....	95
7.3.2. Temperatura.....	96
7.3.3. Substanțele chimice mutagene.....	96
7.3.4. Factorii mutageni biologici.....	97
7.4. Mecanismul molecular al mutațiilor.....	98
PARTEA II: AMELIORAREA PLANTELOR.....	100
CAPITOLUL 8	
NOȚIUNI INTRODUCTIVE.....	100
8.1. Obiectul, conținutul și importanța ameliorării plantelor.....	100
8.2. Legătura ameliorării plantelor cu alte discipline.....	101
8.3. Scurt istoric al ameliorării plantelor.....	102
CAPITOLUL 9	
OBIECTIVELE AMELIORĂRII PLANTELOR.....	104
9.1. Ameliorarea capacității de producție.....	104
9.2. Ameliorarea calității.....	105
9.3. Ameliorarea rezistenței la boli și dăunători.....	106
9.4. Ameliorarea precocității.....	108
9.5. Ameliorarea rezistenței la cădere și scuturare.....	108
9.6. Ameliorarea rezistenței la iernare și la înghețurile târzii de primăvară.....	109
9.7. Ameliorarea rezistenței la secetă și șistăvire.....	109
9.8. Ameliorarea reacției favorabile la irigare și mecanizare.....	109

CAPITOLUL 10	
MATERIALUL INIȚIAL DE AMELIORARE	110
10.1. Importanța materialului inițial.....	110
10.2. Formele materialului inițial.....	110
CAPITOLUL 11	
METODELE DE AMELIORARE A PLANTELOR AGRICOLE	113
11.1. Alegerea metodei de ameliorare.....	113
11.2. Clasificarea și caracterizarea metodelor de ameliorare.....	114
11.3. Selecția în procesul de ameliorare.....	114
11.3.1. Efectul selecției în funcție de modul de reproducere al plantelor....	117
11.3.2. Metodele de selecție.....	118
11.3.3. Clasificarea metodelor de selecție.....	119
11.4. Hibridarea ca metodă de ameliorare.....	127
11.4.1. Importanța și baza teoretică a hibridării.....	127
11.4.2. Clasificarea metodelor de hibridare.....	128
11.5. Consangvinizarea la plante.....	131
11.5.1. Efectele consangvinizării.....	131
11.6. Mutațiile în ameliorarea plantelor.....	133
11.6.1. Definiție și clasificare.....	133
11.6.2. Selecția mutantelor.....	133
11.6.3. Utilizarea mutațiilor în ameliorare.....	134
11.7. Poliploidia (mutațiile de genom).....	134
11.7.1. Definiție și clasificare.....	134
11.7.2. Obținerea poliploizilor.....	136
11.7.3. Folosirea mutațiilor de genom în ameliorare.....	137
11.8. Metode moderne utilizate în ameliorarea plantelor.....	138
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	140

Prefață

Începutul mileniului trei se poate caracteriza printr-o explozie de noutăți în toate domeniile științifice, inclusiv în cel al biologiei. Genetica, știința eredității și variabilității lumii vii, nu putea să nu ofere la rândul ei, prin problemele ce le ridică omenirea, o serie impresionantă de realizări în domeniul vegetal, animal și nu în ultimul rând, în domeniul uman.

Sucesiunea problemelor prezentate în lucrare a avut în vedere programele analitice actuale ale cursului de Genetică vegetală predat studenților Facultăților de Agricultură și Horticultură.

Am fost tentați să abordăm principalele aspecte de genetică într-o formă aproximativ cronologică, dar analizând noțiunile de genetică predate la liceu, am considerat că este mai util ca studenții să ia contact mai întâi cu bazele celulare și moleculare ale eredității și variabilității, iar apoi să revenim la aspectele geneticii clasice.

Elaborarea unui manual universitar de genetică vegetală este o problemă dificilă, deoarece într-un volum limitat, am căutat să analizăm, succint, un număr cât mai mare de aspecte ale eredității.

Lucrarea se adresează tuturor celor care se interesează de tainele acestei științe, dar în mod deosebit studenților care urmează forma de învățământ la distanță, pentru care am prezentat materialul într-un mod mai concis.

CAPITOLUL 1

BAZELE CELULARE ALE EREDITĂȚII ȘI VARIABILITĂȚII (CITOGENETICA)

Motto:

*"Precum istoria Pământului este înscrisă în straturile sale geologice,
tot astfel istoria unui organism este înscrisă în cromozomii săi"*

H. Kihara

1.1. STRUCTURA CELULEI PROCARIOTE

Procariotele sunt organisme cu o structură simplă, ce cuprind viețuitoare acelulare, din care fac parte virozii, virusurile și micoplasmele și viețuitoare celulare, bacteriile și algele albastre-verzi (cianoficeele).

Materialul genetic este reprezentat de o moleculă de ADN sau ARN, necomplexat cu proteine histonice sau nehistonice. Cromozomul procariotelor se găsește în contact direct cu citoplasma, deoarece compartimentarea celulară și specializarea membranelor este abia schițată.

Virozii sunt agenți infecțioși reprezentați de o moleculă scurtă de ARN, lipsiți de înveliș proteic. Primii virozii au fost identificați ca agenți ce produc boala cartofilor fuziformi sau stelarea cartofilor, ulterior identificându-se în cazul mai multor boli grave. Majoritatea virozilor se găsesc în nucleul celulei gazdă, replicarea ARN viroidal depinzând strict de complexul enzimatic al celulei gazdă.

Virusurile sunt particule infecțioase acelulare, submicroscopice, care produc bolile cunoscute sub denumirea de viroze. Virusurile atacă toate organismele, de la bacterii (bacteriofagi), până la celulele animale și vegetale.

Virusurile sunt lipsite de complexul enzimatic necesar sintezei de substanțe energetice și reproducerii. De aceea, virusurile folosesc mecanismele și organelle celulei gazdă pentru reproducere, fiind considerate organisme parazite obligatoriu sau, altfel spus, parazite la nivel genetic. Celula gazdă produce și furnizează precursorii necesari replicării moleculei de acid nucleic viral și a proteinelor virale, care apoi se asamblează, rezultând o nouă particulă virală. Particulele virale, de obicei, lizează (distrug) membrana celulei gazdă, putând produce noi infecții.

Structura particulei virale a fost descoperită de A.D. Hershey și M. Chase, în anul 1952. Particula virală este alcătuită dintr-un înveliș proteic, denumit *capsidă*, formată dintr-o singură proteină sau din mai multe proteine stratificate, iar la virusurile mai mari se adaugă lipide și glucide. Capsida poate avea diverse forme, în funcție de natura subunităților proteice, care au fost denumite *capsomere*. La unele virusuri (R₁₇, F₂, virusul herpesului), capsida poate fi înconjurată de un înveliș proteic extern (anvelopă externă) cu ajutorul căruia fagul aderă pe membrana celulei gazdă.

În interiorul capsidei se găsește materialul genetic reprezentat de o moleculă de ADN (*dezoxiribovirusuri*) sau o moleculă de ARN (*ribovirusuri*), de mărimi diferite, specifice fiecărui tip de virus.

La unii bacteriofagi (virusuri ale bacteriilor) capsida se continuă cu o coadă cu simetrie elicoidală, la ale cărei extremități sunt prezente mai multe filamente codale, ce asigură contactul cu celula parazitată (figura 1.1.).

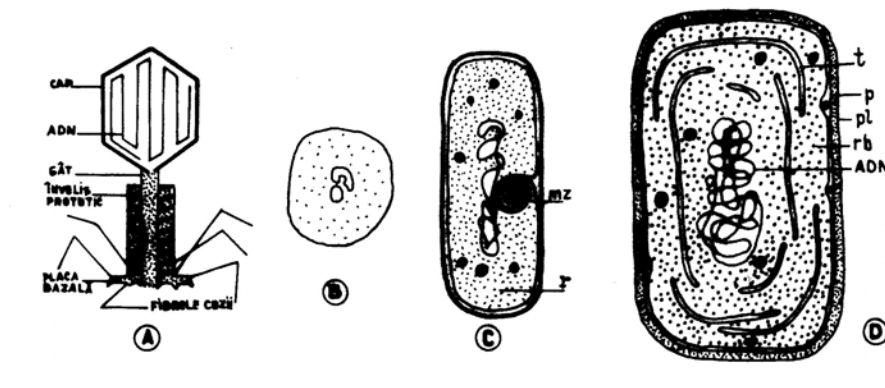


Fig. 1.1. Structura celulei la procariote:

A-dezoxiribovirus; B-micoplasmă; C-bacterie; D-cianoficee
(mz-mezozom, rb-ribozom, p-peretele celular, pl-plasmalema,
r-produs de rezervă, t-tilacoid) (după Roland și Szöllösi)

Micoplasmele sunt organisme extrem de simple, care nu au perete celular fiind delimitate de plasmalemă, în interiorul căreia se găsesc câteva sute de ribozomi și un cromozom reprezentat de o moleculă de ADN (figura 1.1.). Deși au o structură foarte simplă, sunt capabile să-și sintetizeze în mod independent proteinele și ATP necesare metabolismului. Micoplasmele produc o serie de boli atât la animale (pleuropneumonia taurinelor), cât și la plante (stolburul solanaceelor, cloroza asterului, nanismul porumbului etc.).

Celula bacteriană. Este delimitată la exterior de un perete celular rigid, alcătuit din glicoproteine complexe (de tipul mureinelor), care, în funcție de structura chimică, conferă acesteia caracteristicile de imunitate și patogenitate. Plasmalema, de natură lipo-proteică este

situată pe fața internă a peretelui celular, delimitând citoplasma (figura 1.1.). Citoplasma nu este omogenă din punct de vedere structural, înglobând o serie de vezicule membranoase, microfibrile, ribozomi, glucide de rezervă etc. Zona centrală a citoplasmei cuprinde o masă densă de microfibrile, reprezentând molecula de ADN, ce constituie materialul genetic. ADN este bicatenar, circular, necomplexat cu histone, cu o lungime de aproape 1 mm. Această moleculă de ADN constituie *cromozomul* sau *genoforul* bacterian. În jurul său citoplasma este mai densă, rezultând așa numitul *nucleoid*, care este lipsit de membrană și nucleol.

Cercetarea electronmicroscopică a bacteriilor a evidențiat o serie de invaginări tubulare sau lamelare ale plasmalemei, denumite *mezozomi*. Mezozomii sunt accesorii ale genoforilor implicați în activitatea respiratorie, replicarea semiconservativă a ADN și diviziunea celulei (F. Jacob, 1966).

Cianoficeele (algele albastre-verzi) sunt cele mai vechi organisme cunoscute, unicelulare, de formă filamentoasă (*Oscillatoria*), globuloasă (*Spirulina*), care au o organizare destul de apropiată celei bacteriene. La cianoficee, invaginațiile plasmalemice au forme aplatizate, grupate în pachete de vezicule membranoase, denumite *tilacoide*, ce conțin pigmenți fotosintetizatori (figura 1.1.).

1.2. STRUCTURA CELULEI EUCARIOTE

Celula eucariotă, vegetală sau animală, delimitată de membrana celulară este alcătuită din protoplasmă, care conține două componente fundamentale: citoplasma și nucleul.

Citoplasma are o compartimentare strictă, conținând organite citoplasmice lipsite de membrană (microtubuli, centrioli, microfilamente, ribozomi), cu membrană simplă (reticul endoplasmic, aparatul Golgi, lizozomi, peroxizomi, glioxizomi, lomazomi) și cu membrană dublă sau anvelopă (nucleu, plastide, mitocondrii) (Toma C. și colab., 1995).

Membrana celulară. Constituie învelișul extern al celulei și are rol de efector al controlului schimburilor de substanțe dintre conținutul celulei și mediul ambiant. Ea este reprezentată de stratul bimolecular fosfolipidic, care poartă pe fața sa externă un strat proteic bogat în hidrați de carbon, iar pe fața sa internă un singur lanț proteic. La microscopul electronic apare formată din două straturi, fiecare de câte 20 Å grosime, între care se află un spațiu clar de 35 Å.

La animale, celula are la exterior doar membrana plasmatică. La plante, celulele sunt învelite în plus, la exterior, de un perete celular impregnat cu celuloză, lignină, săruri sau alte substanțe. Aceasta prezintă o mare importanță economică, cum ar fi de exemplu în cazul plantelor textile, de la care se obțin fibre pentru industria textilă.

Citoplasma. Reprezintă partea celulei situată între membrana plasmatică și membrana nucleară. Este alcătuită dintr-o matrice citoplasmatică și organite citoplasmice.

Matricea constă dintr-o plasmă coloidală, reprezentând un sistem heterogen format din lanțuri macromoleculare și agregate moleculare, precum și enzime, substanțe metabolice de rezervă etc.

Organitele citoplasmice, caracteristice principal pentru toate celulele sunt: reticulul endoplasmic, mitocondriile, ribozomii, corpusculii Golgi (prezente în toate celulele), cloroplastele (la speciile vegetale fototrofe), centriolii (în celulele animale, la unele alge și ciuperci), lizozomii (în celulele animale și, probabil, ale unor plante).

Reticulul endoplasmic. La microscopul electronic în citoplasmă a fost descoperit un sistem de cisterne, vezicule și canalicule, denumite de K. Porter (1953) reticulul endoplasmic. Canaliculele au un diametru de 500 Å, iar cisternele până la 1500 Å. Starea în care la plante și animale ribozomii sunt atașați de reticulul endoplasmic s-a numit *ergastoplasmă*.

Mitocondriile. Sunt organite citoplasmice care se găsesc în mod obișnuit în toate celulele. Ele au fost studiate la animale mai mult decât la plante, deși, în general, au aceeași structură și funcție.

Mitocondriile variază ca mărime, de la 0,2 μ (limita de rezoluție a microscopului obișnuit) până la câțiva μ. Mitocondriile au diferite forme, după celulele din care fac parte (bastonașe, filiforme, sferice etc.). În celula vie ele apar mobile, fiind antrenate de mișcările citoplasmice. Numărul acestor organite variază de la un țesut la altul; astfel, se găsesc în număr mare în celulele ce aparțin unor țesuturi cu activitate intensă (celulele meristemice, miofibrile, tuburile renale etc.).

Mitocondriile sunt înconjurate de o membrană dublă, asemănătoare celeia de la exteriorul celulei. Membrana internă formează numeroase invaginări (criste mitocondriale), care măresc foarte mult suprafața activă a mitocondriilor. Aceste organite constituie centrul unor trepte ale procesului de respirație aerobă. Ele posedă enzimele necesare cu rol în oxidarea grăsimilor și de fosforilare.

Studiul complex al mitocondriilor a relevat existența unui ADN mitocondrial și a unui aparat enzimatic propriu, ce permite sinteza unor proteine caracteristice. ADN din mitocondrii

este bicatenar, circular, asemănător ADN bacterian. Pe această bază s-a tras concluzia că mitocondriile (ca și plastidele) derivă din organisme procariote, care au invadat celulele eucariotelor și s-au subordonat nucleului acestora.

Aparatul genetic mitocondrial explică localizarea unor însușiri la nivelul citoplasmic, deoarece astăzi se știe precis că mitocondriile au proprietatea de a crește, de a se divide și posedă continuitate celulară și genetică. Genele mitocondriale se transmit pe cale citoplasmatică, pe linie maternă. Mutațiile care apar la nivelul mitocondriilor afectează în primul rând funcțiile de respirație. Aceste mutații pot să apară cu o frecvență relativ mare și se transmit pe linie maternă la descendenți.

Ribozomii. Sunt corpusculi submicroscopici cu dimensiuni cuprinse între 50-200 Å, care se găsesc în citoplasmă, cloroplaste, mitocondrii.

Ribozomii conțin acizi ribonucleici ribozomali și proteine ribozomale în proporție de aproximativ 1:1. Din cauza conținutului ridicat în acid ribonucleic ribozomal (ARN_r), G. E. Palade (1953), descoperitorul acestor particule, le-a denumit ribozomi. Ei se găsesc liberi în citoplasmă sau fixați de reticulul endoplasmic.

În celulă, ribozomii îndeplinesc un rol deosebit de important, prin participarea lor la sinteza proteinelor. Ei se găsesc în cantitate mare în țesuturile cu diviziuni celulare intense, în care sinteza proteică se realizează, de asemenea, intens. În sinteza proteică, ribozomii devin activi prin asocierea lor cu moleculele de acid ribonucleic mesager (ARN_m) împreună cu care formează *poliribozomi*.

Ribozomii liberi participă la sinteza proteinelor necesare proceselor de diferențiere celulară, a unor proteine cu funcții specifice și de formare a organitelor citoplasmice, în timp ce ribozomii atașați reticulului endoplasmic participă la sinteza proteinelor destinate secreției celulare și depozitării proteinelor sintetizate la nivelul celulei.

În ceea ce privește originea ribozomilor, cercetările au arătat că la nivelul nucleolului se produce sinteza componentelor de bază ale acestora (ARN_r și proteine ribozomale), care la nivelul citoplasmei se assemblează în proporție egală.

Ribozomii au mărimi diferite și se pot clasifica după constanta de sedimentare (S) la ultracentrifugare în: categoria de 70 S (140-180 Å) prezenți la bacterii și alge verzi și de 80 S (260-300 Å) prezenți în celulele eucariotelor (plante superioare, criptogame și animale).

Cloroplastele. Sunt organite prezente în citoplasma celulelor vegetale. Ele conțin clorofilă ce imprimă culoarea verde țesutului în care se găsesc, iar prin implicarea lor în procesul de fotosinteză dețin rolul de producători primari.

Prezența cloroplastelor în celule nu este permanentă, ele se formează, ca și mitocondriile, cu care au trăsături comune, din formațiuni submicroscopice, cu dimensiuni de aproximativ 500 Å, numite proplastide.

Studiile de microscopie electronică au evidențiat 3 componente structurale ale cloroplastului: *membrana dublă* la exterior, *stroma* sau substanța fundamentală a cloroplastului și *grana*, un ansamblu de structuri bogate în clorofilă.

Membrana cloroplastului este dublă, între cea externă și cea internă fiind un spațiu liber. Membrana externă este netedă, iar cea internă prezintă o serie de cute duble, care măresc suprafața funcțională a acesteia.

Stroma este alcătuită din substanța fundamentală și o serie de incluziuni, cum ar fi: granule de amidon, nucleotide grupate în fibrile de ADN, ribozomi, plastoglobule osmiofile. Substanța fundamentală este constituită din proteine, în mare parte enzime ce participă la replicarea ADN cloroplastic, sinteza ARN_m (transcripție) și a moleculelor specifice fotosintezei. Pe lângă proteine, substanța fundamentală conține un număr mare de molecule organice, din grupa zaharurilor, aminoacizilor, nucleotidelor, dar și ioni de Mg²⁺ și PO₃⁻.

Grana este un sistem membranar complex alcătuit din particule verzi denumite *granum*, bogate în clorofilă, de diferite tipuri, implicată în fotosinteză.

Prin constanța și continuitatea celulară, cloroplastul îndeplinește caracteristicile de bază ale materialului genetic. ADN cloroplastic este o moleculă bicatenară, circulară, cu o circumferință de 40-50 μ, atașat de membrana cloroplastului asemănător cromozomului bacterian. Pe lângă ADN, ce stochează informația genetică, cloroplastul posedă întregul complex macromolecular necesar replicației, transcripției și translației acesteia. O caracteristică importantă a plastidelor, și deci și a cloroplastelor, este aceea că, de regulă, se transmit pe cale citoplasmatică, cel mai frecvent pe linie maternă.

Aparatul Golgi. A fost descoperit de Camillo Golgi (1844-1926), în anul 1898, mai întâi în celulele nervoase animale. Ulterior, s-a evidențiat în toate celulele animale și vegetale.

Aparatul Golgi este bine dezvoltat în toate celulele active, reducându-și extinderea în celulele aflate în repaus și dispare în celulele bătrâne. Este alcătuit din unități morfologice și structurale denumite *dictiozomi*, complexate cu *vezicule golgiene*.

Dictiozomii sunt formați din elemente de formă tubulară sau veziculară, aplatizate, curbate și dilatate la capete, delimitate de o membrană lipoproteică. Veziculele golgiene, delimitate de membrane lipoproteice rezultă din dictiozomi, printr-un proces de înmugurire laterală a tuburilor sau veziculelor.

Complexul Golgi este localizat în apropierea nucleului, având un rol deosebit de important în transformarea unor substanțe sintetizate la nivelul reticulului endoplasmic și orientarea acestora spre plasmalemă, pentru a fi utilizate în alte sinteze sau pentru a fi eliminate în exteriorul celulei.

În afara rolului deținut de aparatul Golgi în procesele de secreție, la plante, veziculele golgiene participă la formarea fragmoplastului și a lamelei mediane în citokineză și chiar în regenerarea plasmalemei. După Fain-Maurel, 1992, aparatul Golgi, prin interacțiunile sale cu reticulul endoplasmic granular (ergastoplasma), unde are loc sinteza și descompunerea proteinelor de secreție și biogeneza membranelor celulare, constituie "placa turnantă a metabolismului celular și a traficului membranar" (Toma, C. și colab., 1997).

Centrozomul. Este o formație citoplasmică ce se găsește în apropierea nucleului și care apare la microscop sub forma unei zone clare, luminoase, omogene, cu un centru granular opac, alcătuit din doi *centrioli*. El este prezent în toate celulele animalelor și la plantele inferioare (lipsește la angiosperme). În jurul centrozomului se observă filamente radiare ce formează așa-numitul *aster*, precum și tubulii fusului de diviziune. Acestea apar numai în timpul diviziunii mitotice.

Centrozomul joacă rol important în diviziunea celulară. El se divide în doi centrozomi-fii, numiți *sfere directrice*. În jurul fiecăruia se formează câte un aster. Sferele directrice se deplasează apoi spre cei doi poli ai celulei. Datorită autoreplicării, în fiecare centrozom se găsesc doi centrioli. Aceștia sunt înzestrați, în general, cu continuitate genetică. Centriolii se separă în structuri duplex la începutul fiecărei noi diviziuni (profaza următoare).

În citoplasmă se află factorii ereditari responsabili pentru ereditatea extranucleară - ***plasmagenele***.

O schemă generală a structurii celulei, alcătuită după imaginile obținute la microscopul electronic este prezentată în figura 1.2.

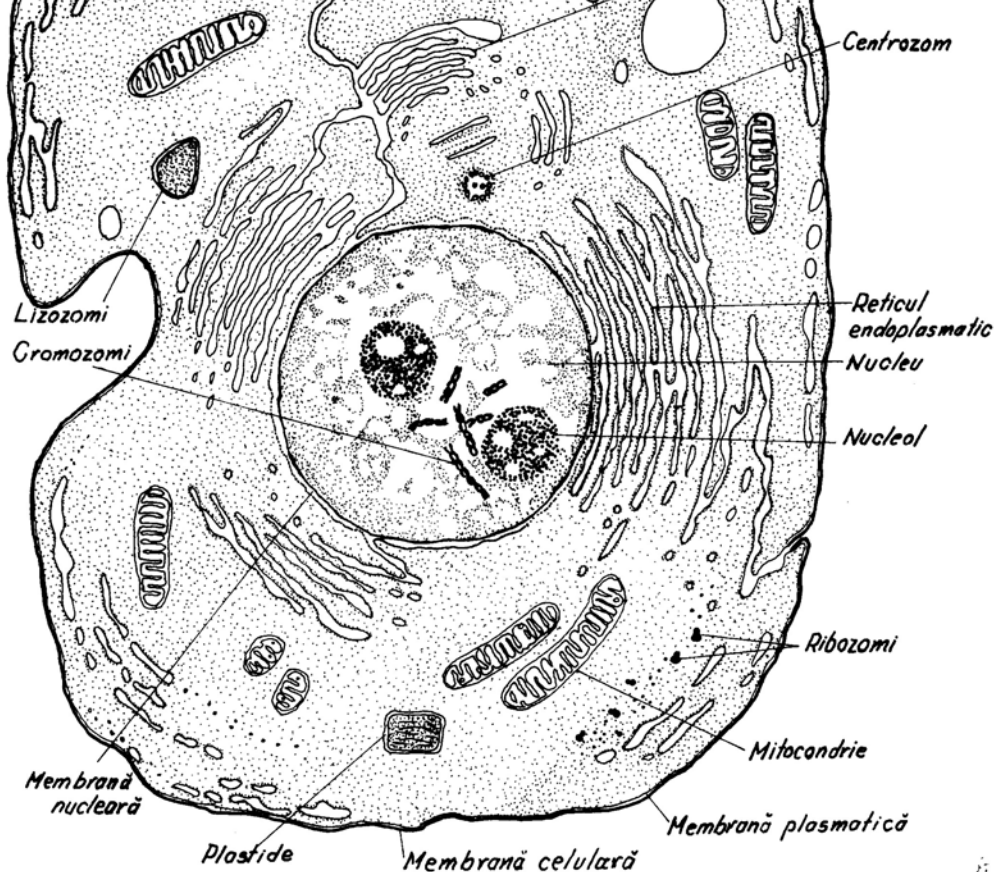


Fig. 1.2. Schema unei celule alcătuită după datele obținute cu microscopul electronic (după Brachet, 1961)

NUCLEUL

Datorită componentelor sale principale, cromozomii, nucleului i s-a acordat o deosebită atenție în cercetările de genetică. De peste 100 de ani de când se studiază acest principal element al celulei s-au acumulat multe date în legătură cu structura lui fizică, chimică și funcțională.

La organismele eucariote, în majoritatea cazurilor, nucleul are o formă ovoidă și ocupă porțiunea centrală a celulei. La celulele cu metabolism intens, nucleul ia contururi foarte neregulate. De exemplu, nucleii din celulele endospermului leguminoaselor au formă spiralată. Forme neregulate iau și nucleii unor țesuturi bolnave, a căror activitate metabolică se mărește (celula canceroasă).

Nucleul ocupă, de obicei, 10-20% din volumul celulei și conține 15-25% din azotul acesteia. Excepție fac spermatozoizii și anterozoizii, la care citoplasma ocupă un volum foarte mic.

Nucleul conține 14% ADN, 12% ARN, 22,5% proteine bazice și 51,5% proteine stabile. Din proteinele bazice fac parte protaminele și histonele, bogate în aminoacizii lizină, histidină și, mai ales, arginină. ADN se găsește în structurile cromatice, în timp ce ARN mai ales în nucleoli. În nucleu se mai găsesc enzime, lipide, ioni de Ca, Mg, Cu etc.

Nucleul este delimitat la exterior de o membrană nucleară și conține în interior nucleoplasma, cromatina și nucleolii.

Așa cum s-a precizat, la procariote, reprezentate de organisme unicelulare, nucleoidul este difuz și fără membrană. Nucleoidul nu este complexat cu proteine bazice de tipul histonelor. Acesta se divide prin amitoză.

Membrana nucleară. Datele actuale cu privire la membrana nucleului au fost obținute cu ajutorul microscopului electronic. Ea apare formată din 2 membrane cu o grosime de 75 Å, separate de un spațiu de 100-300 Å.

Structura membranei nucleare este foarte asemănătoare cu aceea a membranei mitocondriilor și are o compoziție lipoproteică. Spre deosebire de aceasta, ea este prevăzută cu un sistem de pori ce permite schimbul de substanțe între nucleu și citoplasmă și chiar direct cu exteriorul celulei.

Cromatina. Este un complex biochimic constituit din fibre nucleoproteice (proteine și ADN) în proporție de aproximativ 96%, mai multe tipuri de holoproteine și fosfolipide. Unitățile structurale ale cromatinei sunt nucleosomii, alcătuiți din molecule de ADN și 4 fracții de proteine histonice (H_{2A} , H_{2B} , H_3 și H_4). La fiecare nucleosom se asociază fracția histonică H_1 , care joacă un rol important în spiralizarea fibrelor de cromatină.

Cariolimfa. În interiorul nucleului se găsește un lichid în stare de sol numit cariolimfă, nucleoplasmă sau suc nuclear. El conține proteine, lipoizi, enzime, acizi nucleici, o serie de cationi (Na, Ca, Mg) ș.a.

Se cunosc puține date în legătură cu structura filamentului de cromatină, deoarece este prea fină pentru puterea de mărire a microscopului obișnuit și prea mare pentru aceea a microscopului electronic.

Nucleolul. Nucleolii sunt globuli refringenti, vizibili la microscopul obișnuit sau cu contrast de fază, în interfază. Numărul lor variază în funcție de specie, fiind însă constant în celulele aceleiași specii. Dimensiunile nucleolilor depind de mărimea nucleului, durata interfazei, funcția celulelor ș.a.

Nucleolii se formează în zona constricției secundare a cromozomilor, asociați cu o anumită regiune denumită *organizator nucleolar*.

În timpul diviziunii mitotice, nucleolii suferă un ciclu de transformări inverse acelora prin care trec cromozomii. Ei sunt vizibili în interfază, dispar în profază și reapar la sfârșitul anafazei.

Din punct de vedere chimic nucleolii cuprind două grupe de substanțe (proteine și acid ribonucleic), care formează un complex ribonucleoproteic. Pe lângă aceste substanțe, nucleolul mai conține și o cantitate mare de fosfolipide și alte lipide. El sintetizează o mare cantitate de ARN care migrează în citoplasmă.

1.3. ORGANIZAREA GENOMULUI LA EUCARIOTE

Cromozomii sunt structuri permanente în nucleul celulei și constituie materialul genetic de bază. În cromozomi sunt localizate genele. La microscopul fonic cromozomii devin vizibili numai în timpul diviziunii celulare. Cu ajutorul unor tehnici perfecționate de investigație s-a stabilit că ei sunt prezenți tot timpul în celulă, dar suferă unele schimbări în diferitele etape care se succed în viața celulei. Numărul și structura lor genetică rămân însă constante de-a lungul generațiilor.

1.3.1. Morfologia cromozomilor

Aspectul cromozomilor poate fi bine studiat în cursul diviziunii celulare mitotice, în metafază, când se colorează foarte intens. Ei sunt constituiți din perechi identice, dar diferiți ca mărime și formă de la pereche la pereche. La speciile dioice există o pereche de cromozomi, care diferă morfologic de la un sex la altul, denumiți *heterozomi* sau cromozomi ai sexului, având un rol special în determinarea sexului. Celelalte perechi de cromozomi, care alcătuiesc majoritatea cromozomilor poartă numele de *autozomi*. Segmentul cromozomic situat terminal față de constricția secundară a căpătat denumirea de *satelit*. Satelitul servește la identificarea cromozomilor cu organizator nucleolar. Deci, numărul nucleolilor dintr-un nucleu este egal cu numărul cromozomilor cu satelit.

Fiecare cromozom este format din două cromatide unite printr-o formație cu diametrul mai mic numită *centromer*. Deoarece în zona centromerului cromozomul are diametrul mai mic, acestei zone i s-a dat denumirea de *constricție primară* (spre deosebire de constricția secundară din regiunea organizatorului nucleolar).

Centromerul are un rol important în timpul diviziunii celulare deoarece servește la atașarea cromozomilor de fibrele fusului nuclear, este considerat motorul neurochimic ce determină deplasarea cromozomilor în mixoplasma celulei în diviziune, iar în meioză determină sinapsa cromozomilor omologi și constituie locul ce marchează separarea cromatidelor la sfârșitul metafazei și începutul anafazei.

Poziția centromerului în cromozom determină formarea a două brațe egale sau inegale, prin urmare existența mai multor tipuri morfologice de cromozomi:

- *metacentrici*, centromerul este plasat la jumătatea distanței dintre cele două capete, brațele fiind egale;
- *submetacentrici*, centromerul este localizat submedian, brațele fiind inegale;
- *acrocentrici*, centromerul este localizat subterminal, brațele fiind accentuat inegale (fig. 1.3.).

Cromozomii telocentrici, cu centromerul situat strict terminal, nefiind stabili, s-a renunțat la această grupă morfologică (Swanson și colab., 1981, citați de Cîrlan, M.,1996).



Fig. 1.3. Tipuri de cromozomi:
a-metacentric; b-submetacentric; c-acrocentric; d-cromozomi de *Lilium*;
P-constricție primară; S-constricție secundară, zona organizatorului nucleolar

Extremitățile cromatidelor sunt delimitate de formațiuni denumite *telomere*. Telomerele reprezintă zone în care cromatina este puternic condensată, asigurând stabilitatea și individualitatea cromozomilor pe parcursul diviziunii celulare. Telomerele împiedică fuzionarea cromozomilor cap-la-cap în metafază și anafază.

Forma cromozomilor. Este caracteristică fiecărei specii, dar poate varia și în funcție de specializarea celulei în țesut, de starea fiziologică a celulei și de influența diferiților factori externi. O celulă somatică are patru perechi de cromozomi și anume: două perechi de forma literei V, o pereche de formă sferică și o pereche heteromorfă: la masculi, alcătuită dintr-un cromozom sub formă de bastonaș și unul sub formă de cârlig, în timp ce la femelă ambii cromozomi ai perechii sunt identici. Acești cromozomi au rol în determinarea sexului (fig. 1.4.).

În celulele somatice cromozomii sunt perechi. Cromozomii unei perechi au aceeași formă, mărime și aceleași gene alele și se numesc cromozomi omologi. În fiecare pereche de cromozomi omologi, unul este de proveniență maternă, iar celălalt, paternă, caracteristică

determinată de faptul că celula-ou (zigotul), rezultat al fecundării, cumulează setul haploid de cromozomi ai mamei și ai tatălui.

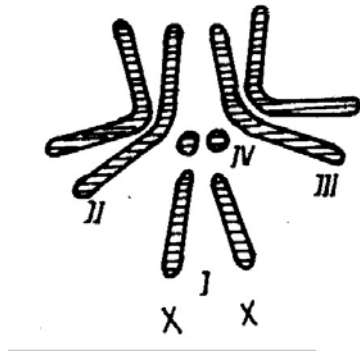


Fig. 1.4. Cromozomii somatici la *Drosophila melanogaster* (♀)

Mărimea cromozomilor. Variaza în funcție de specie și, într-o măsură foarte mică, de unele condiții de mediu. Ca lungime, pot atinge valori cuprinse între 1-25 μ , iar ca grosime valori de 0,1-2 μ . S-ar părea, în general, că mărimea lor este proporțională cu mărimea celulei și invers proporțională cu numărul lor. De asemenea, cercetările arată că lungimea cromozomului este, în general, proporțională cu numărul de gene pe care le conține.

Anumiți factori de mediu pot influența mărimea cromozomilor. De exemplu, scăderea temperaturii face ca în celulele vegetale în plină diviziune să apară cromozomi mai contractați, mai scurți. Prezența alcaloidului colchicină, în timpul diviziunii celulare, scurtează, de asemenea, cromozomii.

Numărul de cromozomi. Este relativ constant pentru indivizii ce alcătuiesc o specie de plante sau animale. Acest număr variaza în limite mari la diferite specii, de la doi câți întâlnim în celulele somatice la *Ascaris megalocephala*, până la câteva sute (*Amoeba proteus*).

În celulele somatice numărul lor este dublu (diploid) și se notează cu $2n$, iar în celulele sexuale este redus la jumătate (haploid) și se notează cu n . În tabelul 1.1. se indică la câteva specii de plante și animale numărul n și $2n$ de cromozomi.

Simbolul x indică numărul haploid de cromozomi ai speciilor diploide strămoșești denumit *număr de bază*, *număr monoploid* sau *genom*.

Deși numărul cromozomilor reprezintă un caracter de specie, se pot întâlni specii cu același număr de cromozomi, cu toate că aparțin unor grupe îndepărtate din punct de vedere sistematic. Acest număr nu este legat deci de poziția sistematică a speciei în lanțul filogenetic.

Tabelul 1.1.

Numărul de cromozomi la diferite specii de plante și animale

Plante	n	2n	Animale	n	2n
Triticum monococcum	99	99	Drosophila melanogaster	99	99
Triticum durum			Culex pipiens		
Triticum aestivum			Bombyx mori		
Zea mays			Plasmodium malariae		
Oryza sativa			Ascaris megalocephala		
Secale cereale			Cyprinus carpio		
Hordeum sativum			Musca domestica		
Medicago sativa			Blatta orientalis		
Trifolium pratense			Apis mellifera		
Trifolium repens			Rana esculenta		
Vicia faba			Gallus domestica		
Pisum sativum			Columba livia		
Solanum tuberosum			Lepus cuniculus		
Helianthus annuus			Mus musculus		
Beta vulgaris			Cannis familiaris		
Cannabis sativa			Capra hircus		
Vitis vinifera			Equus caballus		
Pyrus communis			Sus scrofa		
Malus baccata			Ovis aries		
Neurospora crassa			Bos taurus		
Escherichia coli			Homo sapiens sapiens		

Constanța numărului de cromozomi este totuși relativă. Starea organismului și condițiile externe pot produce modificări asupra numărului de cromozomi în celulă. Numărul de cromozomi poate varia în funcție de țesutul în care se află celula. Astfel, în ficatul animalelor numărul garniturilor de cromozomi este un multiplu al numărului de cromozomi din celulele sexuale ale aceluiași organism (4x, 8x etc.). La speciile de plante angiosperme, nucleii din celulele endospermului, datorită fenomenului dublei fecundări, conțin trei garnituri de cromozomi, fiind simbolizat 3n.

Numărul, forma și mărimea cromozomilor în metafază, din celulele somatice ale unui organism, sunt indicate prin noțiunea de *cariotip*. În figura 1.5. sunt redată cariotipurile la diferite specii.

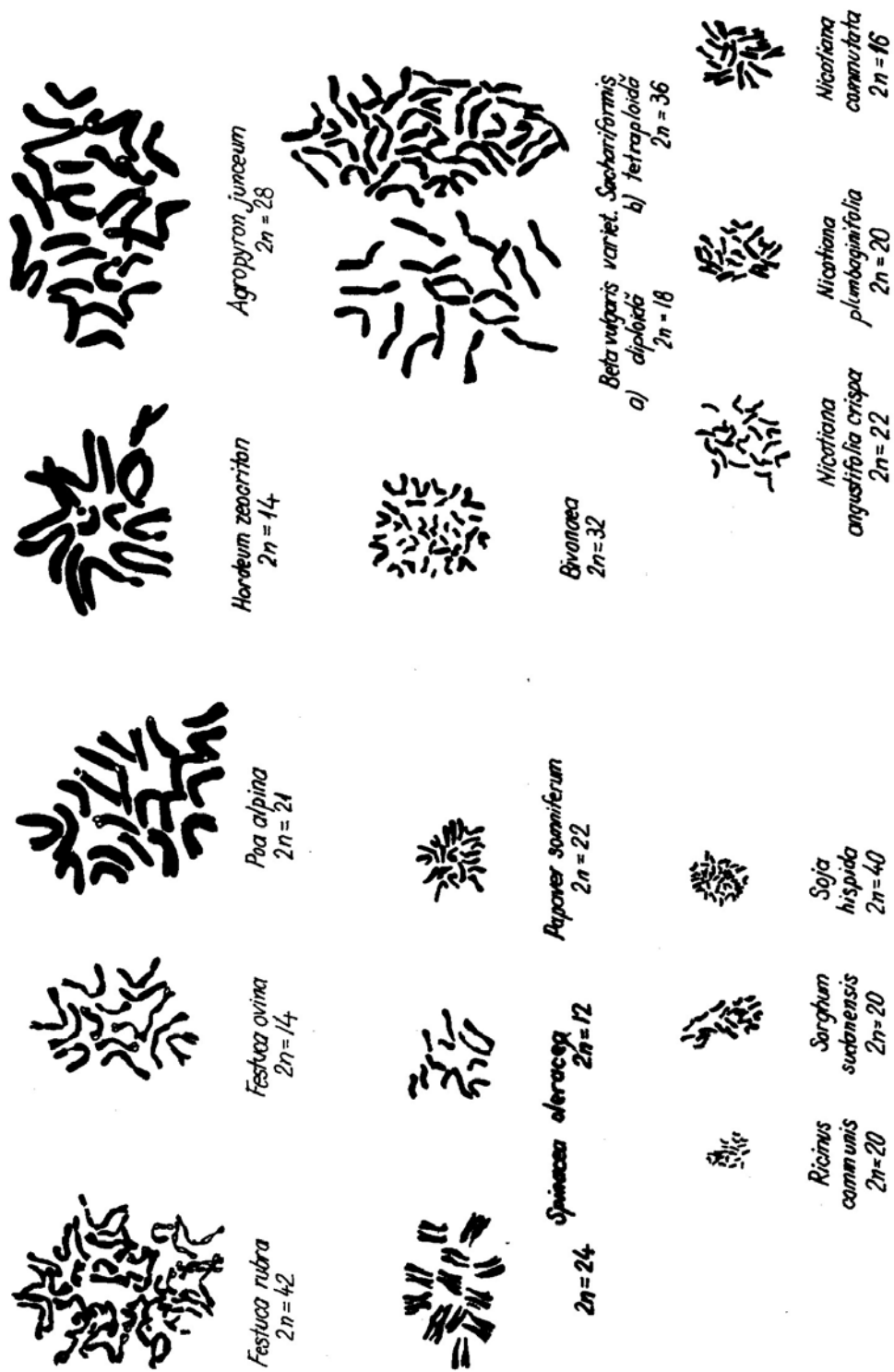


Fig. 1.5. Cariotipul la diferite specii de plante

Structura cromozomului. Cromozomii sunt formați din două unități alipite în lungul lor numite cromatide. Cu ajutorul microscopului electronic s-a descoperit că aceste unități se compun, la rândul lor, din câte două subunități numite *cromoneme*. În fiecare cromozom, două cromoneme alcătuiesc câte o cromatidă. În preajma diviziunii celulare, cromonemele se spiralizează și se scurtează. Spiralizarea este inegală, așa că există zone cu spire mai dense și mai puțin dense. La microscopul optic aceste porțiuni apar ca o succesiune de granule, înșirate ca mărgelile într-un șirag, denumite *cromomere*.

S-a crezut mult timp că aceste cromomere ar reprezenta unități funcționale - gene. În realitate, aceste îngroșări vizibile sunt porțiuni de spirale mai dense, ce dau aspectul de granule de culoare mai închisă. Cromomerele includ un număr variabil de gene.

O structură importantă care joacă un rol în evoluția cromozomului este *heterocromatina*. În legătură cu particularitățile ei s-au adunat multe date, unele contradictorii, așa încât, până în prezent, nu s-a cristalizat o concepție unitară asupra acestei formațiuni. Se știe însă precis că în toate stadiile ciclului mitotic unele sectoare ale cromozomului se colorează intens. Acestea s-au denumit sectoare heterocromatice, spre deosebire de altele eucromatice, care se colorează mai slab. Sectoarele cu heterocromatină se găsesc, în general, în apropierea centromerului. Ele însă, ca localizare, suferă variații determinate de influența diferiților factori externi. Se consideră că regiunile eucromatice conțin, în general, marea majoritate a genelor, în timp ce regiunile heterocromatice sunt practic lipsite de gene.

O schemă generală privind structura microscopică a cromozomului este prezentată în figura 1.6.

Compoziția chimică a cromozomilor. Analiza chimică a cromozomilor a relevat faptul că ei sunt constituiți din macromolecule de ADN și ARN, proteine cu însușiri bazice (histone), proteine acide (nehistone), alături de alte substanțe în cantități mai mici: lipide, magneziu, calciu, enzime. Complexul ADN-histone constituie substanța structurală fundamentală a cromozomului, în timp ce ARN, care se formează la nivelul cromozomului, este transferat în citoplasmă, având rol în procesul de biosinteză a proteinelor.

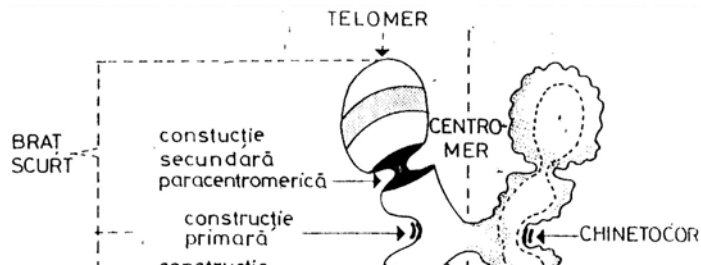


Fig. 1.6. Morfologia și structura unui cromozom

Dintre toți componenții cromozomilor, ADN se găsește în cantitate constantă. În celulele somatice cantitatea lui este dublă față de cantitatea din celulele sexuale ale aceluiași organism, variind însă de la specie la specie. ARN se găsește în cromozomi în cantități foarte variabile, de la 3 la 35%. La fel de variabilă este și cantitatea de proteine nehistonice, aceasta fiind sub dependența activității genelor.

În tabelul 1.2. este prezentată compoziția chimică a cromozomilor.

Tabelul 1.2

Compoziția chimică a cromozomilor (%)

Sursa	ADN	Histone	Ne-histone	ARN	ADN activ în transcripție
Embrion de pasăre	39,0	40,0	11,0	10,0	12,0
Mugure de mazăre	40,0	52,0	4,0	4,0	6,0
Cotiledon de mazăre	43,5	34,5	16,0	6,0	32,0
Ficat de șobolan	47,0	37,0	15,0	1,0	20,0
Timus de vițel	40,2	46,0	13,0	0,3	15,0
Blastulă de arici de mare	39,0	41,0	19,0	1,0	10,0
Larvă de arici de mare	33,4	29,0	35,0	2,6	20,0

1.3.2. Structura moleculară a cromozomului

S-au acumulat multe date în legătură cu compoziția chimică a cromozomilor. Nu același lucru se poate afirma despre structura moleculară a cromozomilor de la organismele eucariote, a configurației structurale a elementelor ce alcătuiesc această compoziție chimică.

Din această cauză, s-a încercat a se crea diferite modele de structură, care să țină seama de prezența unui număr mare de molecule de ADN, de dispunerea unui număr mare de gene pe cromozomi, de posibilitatea dublării unei singure cromatide, de stabilirea structurii cromozomice și de replicația ADN. Până în prezent, s-au conturat mai multe ipoteze privind modelul de structură moleculară al cromozomului: ipoteza polifibrilară, ipoteza structurii monofibrilare, ipoteza fibrei cutate, modelul nucleosomului ș.a. Dintre toate aceste modele, cel mai acceptat până la ora actuală este cel al nucleosomului.

Modelul nucleosomului a fost conceput pe baza cercetărilor de biochimie, de microscopie optică, electronică și de difracție în raze X.

În alcătuirea cromozomului de tip eucariot ADN este în cantitate de 13-15%, ARN 12-13%, iar proteinele de 68-72%. Aceste procente diferă de la specie la specie. La aceeași specie însă, mărirea cantității de ADN se poate realiza prin multiplicarea numărului de garnituri cromozomale, adăugarea unui anumit număr de cromozomi, duplicația genelor și mărirea cantității de ADN repetitiv.

ADN din cromozomii de tip eucariot este format din gene structurale (secvențe unice de nucleotide) și porțiuni care nu dețin informație genetică și au rolul de a ocupa spațiul dintre gene. A doua categorie sunt secvențele de nucleotide intermediar repetitive și care se găsesc în mai multe copii. A treia categorie sunt secvențele de nucleotide înalt repetitive ce se repetă într-un număr mare de copii și sunt localizate în heterocromatină.

Dintre aceste categorii variația cantității de ADN din genom este datorată secvențelor de nucleotide repetitive, care în cea mai mare măsură sunt nefuncționale.

În afară de aceste categorii de secvențe mai există formațiunile denumite *palindroame*. Ele sunt formate din secvențe inversate dând naștere la niște bucle.

Privită la microscopul electronic, cromatina apare formată din granule cu diametrul de 70-100 Å, legate între ele cu o fibră de 20 Å. O granulă este de fapt un nucleosom, care cuprinde un cilindru turtit de natură histică în jurul căruia se înfășoară un filament de ADN format din 100-140 nucleotide.

În nucleu, cromatina formează un filament de 100 Å, alcătuit din aranjarea liniară a nucleosomilor și un filament cu diametrul de 200-300 Å format din răsucirea filamentului subțire (fig. 1.7.).

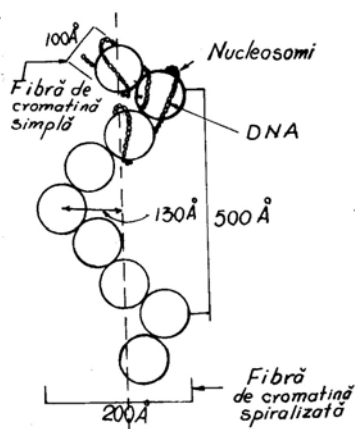


Fig. 1.7. Modelul nucleosomului

1.3.3. Tipuri particulare de cromozomi

În afara tipului obișnuit al cromozomilor din celulele somatice (autozomi și heterozomi), au fost descoperiți în anumite celule și alte tipuri de cromozomi: cromozomi uriași, cromozomi tip "perie de lampă" și cromozomi accesorii sau de tip "B".

Cromozomii uriași au fost puși în evidență de Balbiani (1881) în glandele salivare ale larvelor de *Chironomus*. Ulterior, au fost evidențiați și la *Drosophila melanogaster*, în glandele salivare, în celulele intestinului și a tuburilor lui Malpighi.

Acești cromozomi s-au format prin multiplicarea cromatidelor de peste 1000 de ori, care au rămas însă alipite, neseperate (sinapsă mitotică) și despiralizate, fără ca nucleul să se dividă. Din cauza numărului mare de cromatide, acești cromozomi se mai numesc și *politeni*.

Structura cromozomilor politeni este aceeași ca a celorlalți cromozomi somatici, deosebindu-se de aceștia prin lungimea și grosimea lor mult mai mari. Dimensiunile lor foarte mari permit cercetarea unor detalii de structură.

Configurația cromozomilor uriași este alta comparativ cu aceea a cromozomilor somatici obișnuiți. De exemplu, la *Drosophila melanogaster* formează cinci brațe lungi și unul scurt, unite într-un singur punct, numit **cromocentru**. Cromozomii sexului sunt în prelungire formând un singur braț, cromozomii perechii a doua și a treia formează alte patru brațe, iar cromozomii perechii a patra un singur braț, foarte scurt (figura 1.8.).

De-a lungul lor, aceste brațe formează benzi (discuri) întunecoase, care alternează cu alte benzi, luminoase. Unii autori au presupus că aceste discuri ("discurile lui Balbiani") ar reprezenta locul genelor. Sunt aproximativ 6000 asemenea discuri întunecoase. În anumite locuri, structura densă a lor se deslănțează formând funde în jurul cromozomului, cărora li s-a dat

denumirea de "puff"-uri sau "bulbi" (figura 1.8.). Aici are loc sinteza ARN, sugerând activitatea intensă a genelor ce se găsesc în aceste segmente.

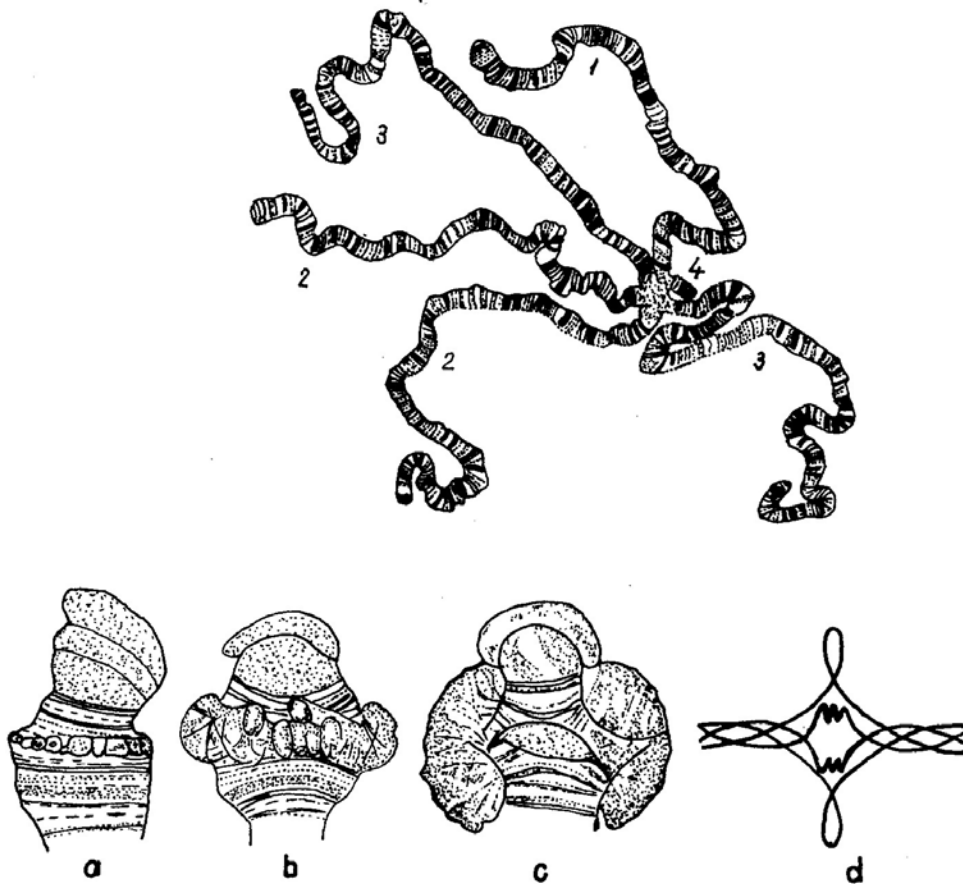


Fig. 1.8. Cromozomii uriași din glandele salivare ale larvelor de *Drosophila melanogaster* și formarea "puff"-urilor: 1-cromozomii sexului; 2-cromozomii II; 3-cromozomii III; 4-cromozomii IV; a-un disc; b-formarea inelului lui Balbiani; c-un "puff"; d-ipoteza lui Beerman despre structura unui "puff".

Cromozomii lampbrush (perie de lampă) au fost puși în evidență în ovocitele vertebratelor în timpul profazei meiozei. Ating lungimea de peste 1000 μ și sunt considerați cei mai lungi cromozomi care se cunosc până în prezent.

Spre deosebire de cromozomii uriași, ei sunt foarte subțiri, ajungând uneori la limita vizibilității microscopice. Cromozomii perie de lampă posedă un ax central, în lungul căruia sunt înșirate cromomerele, din care ies lateral perechi de bucle filiforme, dând aspectul firelor de păr

ale unei perii de lampă (fig. 1.9.). Aceste bucle se presupune că sunt spirale ale cromonemei, active din punct de vedere genetic. Ele cresc în profaza I și descesc către metafaza I a meiozei.

Nu se cunosc cum au apărut acești cromozomi. Noua configurație corespunde unei activități intense, care contribuie la formarea de rezerve viteline în citoplasma ovocitelor.

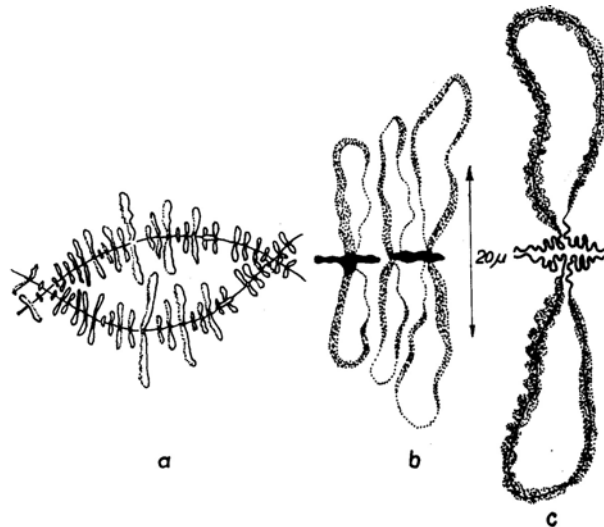


Fig. 1.9. Cromozomii tip "perie de lampă" (lampbrush)
a-schema unui bivalent; b-secțiune printr-un cromozom;
c-structura unei bucle și a cromonemelor

Cromozomii accesorii se găsesc în plus față de cromozomii autozomi și ai sexului. Spre deosebire de cromozomii obișnuiți, notați cu "A", cromozomii accesorii se mai numesc și "cromozomii B". Numărul lor diferă de la un organism la altul și de la un țesut la altul și nu sunt omologi nici între ei și nici cu cromozomii obișnuiți pe lângă care se găsesc. Sunt heterocromatici, mici și inerti din punct de vedere genetic. În meioză și mitoză nu se distribuie în mod egal în celulele în care se formează. Nu se cunoaște încă originea lor, dar după toate probabilitățile s-au format din porțiunile mijlocii ale cromozomilor normali, ale căror extremități s-au atașat altor cromozomi.

Nici rolul lor nu este cunoscut. Ei pot lipsi fără a perturba viața organismelor. Mai curând s-ar putea considera păgubitoare existența lor. Astfel, la secara tetraploidă, atunci când cromozomii "B" sunt prezenți, scade fertilitatea polenului și viabilitatea plantelor. Cromozomii suplimentari au fost puși în evidență la insecte, păsări, porumb, secară ș.a.

1.4. ORGANIZAREA GENOMULUI LA PROCARIOTE (BACTERII ȘI VIRUSURI)

Spre deosebire de eucariote, la procariote cromozomul are o organizare mai simplă, nu însă în ceea ce privește și structura lui moleculară, care este aceeași la toate organismele. Aceasta a favorizat cercetările de genetică, virusurile și bacteriile constituind materialul de bază pentru genetica moleculară.

Virusurile, care sunt cele mai simple forme de viață, conțin ca material genetic un singur cromozom, în care genele sunt dispuse liniar. Cu unele excepții, numărul de gene este destul de mic. La bacteriofagul T₄, de exemplu, sunt prezente cca 200 de gene, în timp ce la fagul Φ2 numărul lor este de 4-5.

La virusuri genomul viral este destul de variat fiind alcătuit fie din ADN, fie din ARN (fig. 1.10.). Acești acizi pot fi monocatenari sau bicatenari. Volumul moleculei este aproximativ egal cu volumul particulei virale, ceea ce denotă că ea este foarte strâns torsionată. Virusurile se reproduc pe seama celulei gazdă și din această cauză manifestă o strictă specificitate.

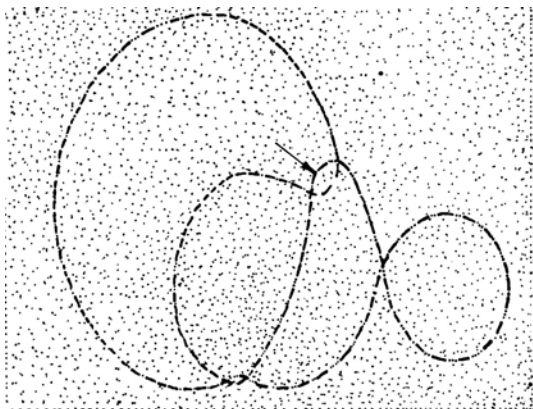


Fig. 1.10. Cromozomul (ADN) fagului λ

Lungimea moleculei de acid nucleic poate fi foarte diferită. La fagul T₂ masa este de $1,3 \times 10^8$ dal, iar lungimea 56μ (2×10^5 perechi de nucleotide). La fagul λ masa este de $3,2 \times 10^7$ dal, iar lungimea 17μ (47000 nucleotide).

La **bacterii**, cromozomul este format din ADN. El este circular și nu este separat de citoplasmă printr-o membrană, încât relațiile lui cu citoplasma sunt directe. Cromozomul bacterian reprezintă cea mai mare moleculă cu rol genetic și conține 2000-3000 de gene. La bacteria *Escherichia coli* masa moleculei este de 2×10^9 dal, iar lungimea de 1 mm. Genele situate în moleculă constituie un grup de înlănțuire.

Tot la bacterii, pe lângă cromozomul circular, mai pot exista și alte molecule de ADN, tot de formă circulară, de dimensiuni mult mai mici, localizate în citoplasmă sau atașate cromozomului, numite **plasmide**. Acestea reprezintă un material genetic accesoriu.

Există și o clasificare a materialului genetic accesoriu în mai multe categorii:

- plasmide propriu-zise, constituite din unități genetice cu replicare (reproducere) autonomă, cum ar fi *factorul col* (care determină sinteza de colicine, cu acțiune bactericidă), *factorul F* (care determină sexualitatea la bacterii și asigură capacitatea lor de conjugare), *factorul R* (care transferă rezistența la antibiotice prin conjugare) etc.
- plasmide care pot funcționa fie sub formă autonomă, fie integrate în cromozomi.

1.5. REPRODUCEREA CELULEI

Una din caracteristicile materialului genetic este continuitatea lui celulară. Aceasta este asigurată prin reproducerea sa cu mare fidelitate, transmițându-se de la celulă la celulă, de la părinți la urmași. La eucariote, materialul din cromozomi care dictează această reproducere este ADN. Procariotele conțin în cromozomul lor fie ADN, fie ARN. Reproducerea acestor acizi nucleici dictează, în ultimă instanță, reproducerea materialului genetic, a celulelor organismului.

1.5.1. Mitoza

Reproducerea cromozomilor are loc odată cu reproducerea celulelor. Dintre formele de reproducere celulară, mitoza ocupă cea mai importantă cale și cuprinde duplicarea cromozomilor și a centrilor mitotici și separarea cromozomilor la cei doi poli ai celulei, în vederea formării a două celule fiice. Dintr-o celulă inițială, prin diviziuni repetate mitotice, se formează în mod succesiv 2, 4, 8, 16 celule cu același număr de cromozomi care există în celula inițială. Prin mitoză, materialul genetic, cromozomii, se mențin în structură și număr constant. În procesul mitozei se desprind două etape de bază: diviziunea nucleului (*kariokineza*) și diviziunea citoplasmei (*citokineza*). În perioada dintre două diviziuni succesive, nucleul se află în *interkineză* (interfază).

Interfaza. În interfază nucleul crește și se pregătește de o nouă diviziune. Cercetările efectuate cu izotopi radioactivi și puse în evidență prin autoradiografiere au demonstrat că, în interfază, la început, cromozomii sunt monocromatidici, iar apoi, fiecare cromatidă își reconstituie cromatida pereche, în urma unui proces de sinteză a elementelor ce o compun. După unele observații, această fază se împarte în trei perioade: G_1 , în care are loc sinteza proteică, S, în care se produce dublarea cantității de ADN din celulă și G_2 , în care încetează sinteza ADN și se desfășoară kariokineza. În interfază cromozomii sunt despiralizați și conțin gene active.

Profaza. Este prima fază a mitozei. În nucleu, structura lui reticulară se transformă în filamente vizibile, încolăcite sub forma unui ghem numit *spirem*. Filamentul, prin răsucire (spiralizare) în jurul axei sale, se scurtează, se îngroașă și, prin fragmentare, dă naștere la cromozomi. Încă de la începutul profazei se observă natura dublă a lor. Prin dizolvarea membranei nucleului, cromozomii rămân liberi în citoplasmă. Se disting bine cele două cromatide ca niște benzi longitudinale, paralele sau încolăcite. De asemenea, se distinge și centromerul, ca un segment ce unește printr-o singură structură, cele două cromatide. Către sfârșitul profazei, în celulă se formează un fus central filamentos, orientat către cei doi poli ai celulei.

Terminarea profazei este indicată de dizolvarea nucleolilor și a membranei nucleare.

Apariția fusului constituie cea mai importantă schimbare structurală a celulei de la sfârșitul profazei. Fusul acromatic este format din fibrile care, privite la microscopul electronic, alcătuiesc microtubuli cu diametrul de 200 Å și din fibre cromozomice ce unesc centromerii de polii fusului. Mitocondriile, microzomii și alte organite citoplasmice nu pătrund în zona din interiorul fusului.

Metafaza. Cromozomii se inseră pe filamentele fusului de diviziune prin câte un punct de inserție din regiunea centromerului. Ei se dispun pe un plan perpendicular la mijlocul fusului, formând *placa ecuatorială*.

În metafază, planul ecuatorial se mărește, iar odată cu el și fusul. În acest timp, cromozomii se îndepărtează ușor unul de altul și manifestă tendința de a-și orienta brațele paralel cu lungimea axului fusului. Întotdeauna ei rămân în interiorul fusului, fără a-l depăși spre citoplasmă. În metafază, cromozomii pot fi bine studiați la microscop, deoarece sunt spiralizați la maximum, compacți și se colorează intens.

Anafaza. Cromozomii își despart cromatidele prin clivarea în lungul lor, după ce, în prealabil, s-a produs diviziunea centromerilor. Ei devin cromozomi monocromatidici și alunecă pe fusul nuclear către cei doi poli ai săi. Simultan cu deplasarea cromozomilor, fusul se strangulează în partea de mijloc, grăbind astfel alunecarea cromozomilor către polii celulei. Centromerii înaintează spre poli și trag după ei brațele cromozomilor. În cazul în care un cromozom își pierde centromerul, el rămâne dezorientat și produce o deviere a mitozei de la mersul normal. Un astfel de cromozom se poate păstra și poate participa la mitoză numai dacă se alocă altui cromozom ce posedă centromer.

Nu se cunoaște astăzi precis care este cauza și mecanismul de mișcare al cromozomilor spre cei doi poli ai celulei. În legătură cu explicația acestor fenomene există diferite ipoteze, dintre care unele pot fi luate în seamă. Astfel, se consideră că fiecare cromozom se deplasează în urma unei atracții dintre poli și centromeri, altele că ar exista o extindere și apoi o contracție a fibrelor fusului, ceea ce ar contribui la deplasarea cromozomilor. Contractarea fibrelor a fost comparată de unii cercetători cu contracția fibrelor musculare.

Telofaza. În cursul telofazei, aparatul mitotic se transformă. Fibrele fusului dispar, iar cromozomii ajung la cei doi poli, se despiralizează, reconstituind filamentele de cromatină, care se subțiază, se alungesc și iau forma unui ghem. Fragmentele membranei nucleare migrează spre poli, se agregă în jurul filamentelor de cromatină, dând naștere câte unei membrane pentru fiecare din cei doi nuclei care se formează. În timpul acesta are loc procesul de reconstituire a nucleolilor în numărul în care au fost prezenți în nucleul inițial. Totodată, corpul celulei se gătuie și, prin formarea unui perete despărțitor numit *fragmoplast*, iau naștere două celule.

În figura 1.11. este redată schema mitozei.

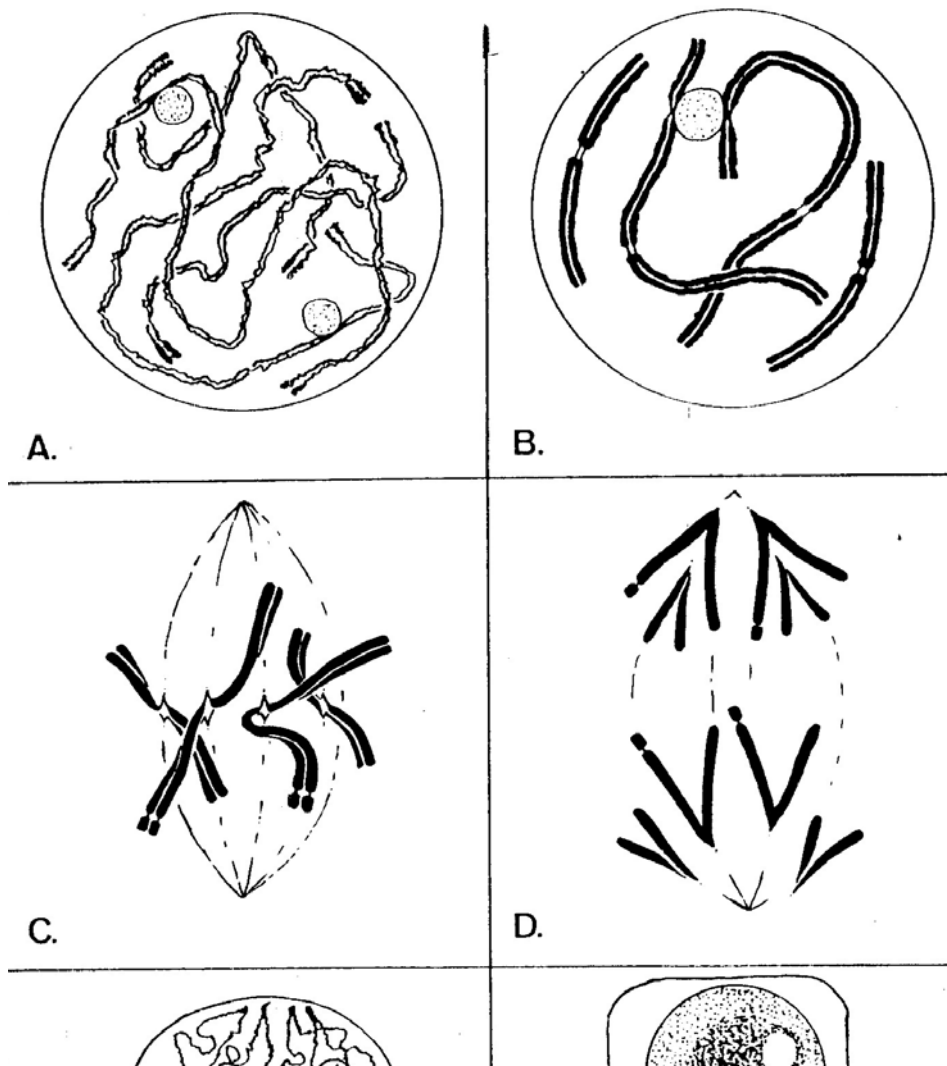


Fig. 1.11. Reprezentarea schematică a mitozei la un organism
cu $2n=4$ cromozomi
A-profază timpurie; B-profaza; C-metafaza; D-anafaza; E-telofaza
F-interfaza.

Timpul în care are loc mitoză depinde de țesutul în care se găsește celula, de starea fiziologică a organismului și de anumiți factori externi. Ea poate dura de la câteva minute până la 200 minute. S-a stabilit, de asemenea, că mitoză este mai activă în timpul odihnei și somnului la animale sau întunericului la plante.

Dintre toate fazele din tot ciclul mitotic, profaza este cea mai lungă (cca 60%), telofaza mai scurtă (cca 30%), iar metafaza și anafaza sunt și mai scurte (cca 5%).

1.5.2. Meioza

Meioza reprezintă o formă de diviziune celulară caracteristică organismelor ce se înmulțesc pe cale sexuală și în urma căreia din celulele somatice cu $2n$ cromozomi se formează celulele sexuale cu n cromozomi. Reducerea numărului de cromozomi este fenomenul invers procesului de dublare al lor, care are loc în urma fecundării. Dacă organismele ar forma celule sexuale cu același număr de cromozomi ca în celulele somatice, cu fiecare generație numărul de cromozomi din celulele organismelor s-ar dubla.

Meioza asigură, deci, menținerea constantă a numărului de cromozomi de-a lungul generațiilor la organismele ce se înmulțesc sexual.

Meioza cuprinde două diviziuni succesive: meioza primară, numită și *heterotipică* sau reducțională, în care din celulele diploide se formează celule haploide și meioza secundară sau *homeotipică*, în care din celulele haploide se formează tot celule haploide.

În meioza primară, fazele prin care trece diviziunea celulară sunt aceleași ca la diviziunea mitotică, numai că profaza este mult mai complexă și cuprinde mai multe stadii: leptonem, zigonem, pachinem, diplonem și diachineza.

Profaza I. În stadiul de **leptonem**, nucleul se mărește în volum. Cromozomii apar inițial sub forma unor filamente foarte fine, în lungul cărora se pot distinge niște îngroșări, cromomerele, ca urmare a unor zone mai dense de spiralizare a lor. Aparent, filamentul este format dintr-o singură cromatidă, din care cauză cromozomii se numesc *monovalenți*, iar numărul lor este egal cu $2n$.

Stadiul de **zigonem** corespunde cu împerecherea cromozomilor omologi, doi câte doi, formând perechi sau cromozomi *bivalenți*. Fenomenul de alăturare a celor doi cromozomi în lungul lor poartă numele de *sinapsă*. În fiecare pereche se găsește un cromozom de origine maternă și unul de origine paternă.

Sinapsa începe într-un anumit punct de pe lungimea cromozomului și se continuă apoi în tot lungul acestuia, fiind atât de perfectă, încât toate segmentele omoloage se alătură față în față. Prin omologie se înțelege similitudinea structurală și funcțională a cromozomilor. Dacă dintr-un cromozom lipsește un segment, porțiunea corespunzătoare a cromozomului pereche face o buclă, asigurând sinapsa pentru celelalte regiuni ale cromozomilor.

În stadiul de **pachinem**, cromozomii se scurtează, se îngroașă, iar legătura dintre perechi devine din ce în ce mai intimă, fapt care a determinat denumirea de *gemeni cromozomali*.

În stadiul de **diplonem**, la fiecare dintre membrii bivalentului se pot observa câte două cromatide surori, astfel că perechea de cromozomi este constituită din patru cromatide care alcătuiesc așa numita *tetradă cromozomică*. Cromozomii omologi au tendința de a se îndepărta unul de altul; cromatidele nesurori sunt însă reținute în mai multe puncte de contact numite *chiasme*. Chiasma este considerată ca reprezentând manifestarea citologică a crossing-over-ului. Acest fenomen va fi analizat într-un capitol următor, el prezentând o mare importanță în studiul eredității.

În stadiul de **diachineză**, cromozomii ce alcătuiesc perechile se îndepărtează, scurtarea lor devenind și mai accentuată. Spațiile dintre chiasme se lărgesc, acestea se deplasează către extremitățile perechilor de cromozomi, așa încât, la sfârșitul acestui stadiu, ei apar conectați numai la extremitățile lor. Cu aceasta se încheie profaza primară.

Metafaza I. Membrana nucleară dispare și se formează fusul de diviziune. Tetradele cromozomice se repartizează în planul ecuatorial al celulei. Fiecare cromozom omolog alcătuit din două cromatide surori se atașează la nivelul centromerului de firele fusului, pentru a conduce cromozomii la polii celulari. Odată cu îndepărtarea lor dispar și ultimele chiasme.

Anafaza I. Cromozomii bicromatidici migrează la polii celulei. Ei pot însă diferi din punct de vedere genetic, în urma schimbului de segmente care a avut loc în stadiile anterioare.

Telofaza I. Cromozomii ajunși la cei doi poli ai celulei formează câte un nucleu cu un număr haploid de cromozomi. Fenomenul care duce la separarea celor două celule poartă numele de *plasmodiereză*, iar cele două celule haploide formează o *diadă*.

Odată cu încheierea acestei faze nucleii intră în *interchineză*. Cromozomii prezintă cromatidele perechi separate, dar unite numai prin centromeri, aspect caracteristic numai meiozei. După un interval scurt începe a doua fază a diviziunii meiotice, homeotipică, care cuprinde următoarele faze:

Profaza II și metafaza II. Cromozomii apar formați din cromatide surori, care se orientează în planul ecuatorial al fusului de diviziune, ce apare la sfârșitul profazei secundare. Cromozomii se clivează imediat după clivarea centromerilor.

Anafaza II și telofaza II. Cele două cromatide se îndepărtează spre cei doi poli, unde constituie doi nuclei. Din diada inițială cu celule haploide s-au format, deci, patru celule haploide ce formează o *tetradă* celulară.

Aceste celule, în urma unor procese, vor da naștere la gameți.

În figura 1.12. este redată schema generală a meiozei.

Test de autoevaluare

1. Dezoxiribovirusurile au un cromozom reprezentat de o moleculă de:
 - a. ARN_m ?
 - b. ARN_s ?
 - c. ARN_t ?
 - d. ADN ?
2. Ribovirusurile au un cromozom reprezentat de o moleculă de :
 - a. ADN ?
 - b. ARN_v ?
 - c. ARN_t ?
 - d. ARN_m ?

3. Cromozomul bacterian (genoforul) este reprezentat de:
 - a. o moleculă de ADN, bicatenar, circular, cu lungimea de 1000μ ?
 - b. o moleculă de ADN monocatenar, liniar ?
 - c. mai multe molecule scurte de ADN ?

4. Mezzozomul este un accesoriu al cromozomului bacterian implicat în:
 - a. infecția bacteriană ?
 - b. recombinarea bacteriană ?
 - c. activitatea respiratorie ?
 - d. replicarea semiconservativă – ADN ?
 - e. diviziunea celulei bacteriene ?

5. Celula eucariotă, vegetală sau animală, posedă:
 - a. nucleu delimitat de membrană ?
 - b. nucleoid ?
 - c. mai mulți nucleii poliploizi ?

6. O celulă vegetală căreia i s-a îndepărtat membrana pecto-celulozică, poartă numele de :
 - a. oosferă ?
 - b. anterozoid ?
 - c. protoplast ?
 - d. meiocită ?

7. Mitocondriile sunt organite citoplasmice cu rol în:
 - a. reproducere ?
 - b. poliploidizare ?
 - c. respirație ?
 - d. fotosinteză ?

8. Ribozomii sunt corpusculi submicroscopici alcătuiți din:
 - a. ADN ?
 - b. ARN_v ?
 - c. proteine ribozomale ?
 - d. ARN_r și proteine ribozomale (50:50) ?

9. Nucleolul este un corpuscul refrigent, vizibil la microscopul obișnuit în:
 - a. metafază ?
 - b. telofază ?
 - c. profază ?
 - d. interfază ?

10. Cromozomul eucariot poate fi de mai multe tipuri, în funcție de poziția centromerului:
 - a. policentric ?
 - b. metacentric ?
 - c. submetacentric ?
 - d. subtelocentric ?
 - e. metafazic ?

11. Numărul, forma și mărimea cromozomilor unei specii vegetale sau animale, poartă numele de:
 - a. haplofază ?
 - b. condriom ?
 - c. cariotip ?
 - d. plasmotip ?

12. În celulele somatice și respectiv, în cele sexuale, numărul cromozomilor este:
 - a. $2n$ și n ?
 - b. $4x$ și $2x$?

- c. n și $2n$?
d. n și n ?
13. Mitoza este diviziunea specifică celulelor:
a. poliploide ?
b. sexuale ?
c. meristematice ?
d. somatice ?
14. În interfază, replicarea materialului genetic are loc în subfaza :
a. G_1 ?
b. G_2 ?
c. F_2 ?
d. S ?
15. Cantitatea de ADN ($2c$) se dublează ($4c$) în urma:
a. sintezei proteice ?
b. replicării de tip semiconservativ ?
c. anafazei ?
d. gametogenezei ?
16. Cromozomii se atașează de fibrele fusului nuclear cu ajutorul :
a. telomerilor ?
b. centromerilor ?
c. regiunii eucromatice ?
17. În anafaza timpurie a mitozei, cromozomii sunt :
a. bicromatidici, în număr $2n$?
b. monocromatidici, în număr n ?
c. monocromatidici, în număr $4n$?
d. bicromatidici, în număr $4n$?
18. În care dintre cele cinci stadii ale profazei primare are loc recombinația genetică intercromosomică:
a. leptonema ?
b. zigonema ?
c. pachinema ?
d. diplonema ?
e. diachineza ?
19. Între anafaza mitozei și anafaza meiozei primare există o diferență majoră, sub aspectul structurii cromozomilor care migrează spre cei doi poli ai celulei:
a. bicromatidici în mitoză și monocromatidici în meioză ?
b. bicromatidici în mitoză și bicromatidici în meioză ?
c. monocromatidici în mitoză și bicromatidici în meioză ?
d. monocromatidici în mitoză și tetracromatidici în meioză ?
20. La sfârșitul meiozei primare, rezultă:
a. două celule fiice cu n cromozomi în nucleu ?
b. patru celule fiice cu $2n$ cromozomi în nucleu ?
c. patru celule fiice cu n cromozomi în nucleu ?
d. două celule fiice cu $2n$ cromozomi în nucleu ?
21. La sfârșitul diviziunii homeotipice rezultă:
a. două celule fiice cu $2n$ cromozomi ?
b. două celule fiice cu n cromozomi ?
c. patru celule fiice cu $2n + 1$ cromozomi ?
d. patru celule fiice cu n cromozomi ?



A.



B.

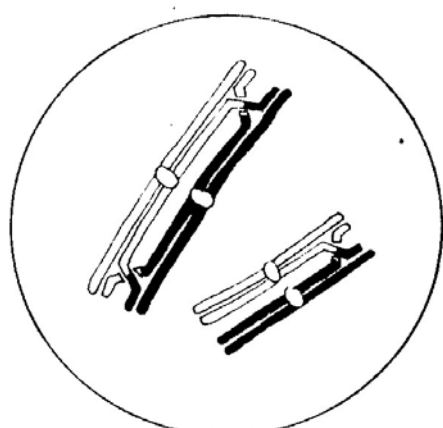
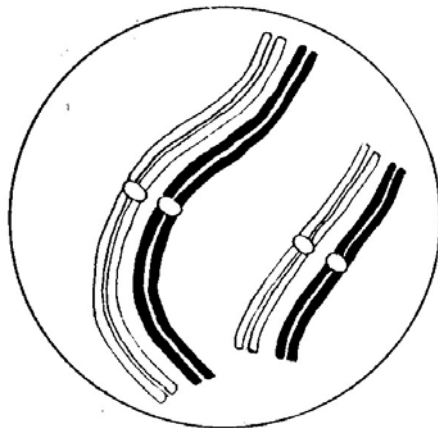


Fig. 1.12. (partea I) - Schema meiozei la un organism cu $2n=4$ cromozomi
A-leptonem; B-zigonem; C-pachinem; D-diplonem
E-metafaza I; F-anafaza I.

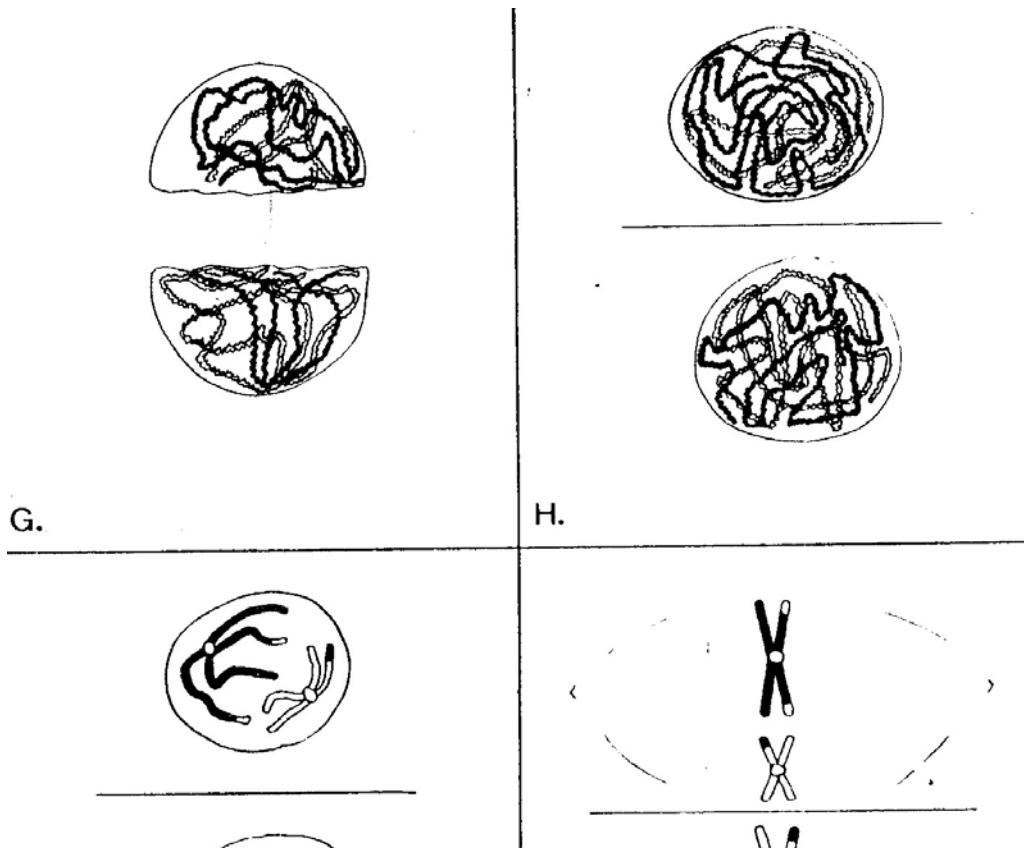


Fig. 1.12. (continuare) - Schema meiozei la un organism cu $2n=4$ cromozomi
G-telofaza I; H-interfaza; I-profaza II; J-metafaza II;
K-anafaza II; L-telofaza II

CAPITOLUL 2

BAZELE MOLECULARE ALE EREDITĂȚII

Motto:

"Genetica moleculară a luat naștere când s-a recunoscut că gena este subdivizibilă"

Salvador Luria

"Structura ADN trebuie înțeleasă în raport cu toate funcțiile sale, așa cum înțelegerea funcției necesită o cunoaștere a structurii. Fiecare funcție trebuie descompusă, apoi reconstituită în detaliile sale moleculare și, în final, orientată în arhitectura și economia celulară"

Progresele înregistrate în genetica clasică au ridicat, ulterior, numeroase probleme legate de natura biochimică a materialului genetic, respectiv a genelor.

Identificarea și studierea aprofundată a materialului genetic ridicau numeroase probleme, de aceea nu au putut fi rezolvate decât prin cercetări interdisciplinare de genetică, biochimie, medicină, fiziologie, fizică, matematică și altele.

Aceste cercetări constituie realizările cele mai importante ale științei contemporane și au pus bazele **geneticii moleculare**, care studiază ereditatea și variabilitatea organismelor la nivelul moleculelor.

2.1. DOVEZI PRIVIND ROLUL GENETIC AL ADN

Teoria cromozomică a eredității a atribuit cromozomilor și genelor rolul principal în ereditate, deși nu se cunoșteau încă prea multe despre structura chimică a materialului genetic.

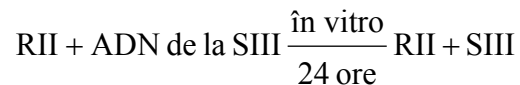
Identificarea materialului genetic constituie imperativul geneticii în perioada de la mijlocul secolului nostru. Pentru aceasta trebuiau descoperite și dovedite structurile chimice care dețin caracteristicile de bază ale materialului genetic: de a stoca și transmite informația ereditară și de a-și menține stabilitatea cantitativă și calitativă pe parcursul diviziunii celulare.

Prima ipoteză a legăturii dintre o genă și sinteza unei enzime a fost elaborată în anul 1908 de către medicul englez Garrod care a studiat maladiile ereditare umane ce afectează metabolismul intermediar al fenilalaninei.

2.1.1. Transformarea la procariote

În anul 1928, bacteriologul englez F. Griffith a efectuat mai multe experiențe cu pneumococi (*Diplococcus pneumoniae*), o bacterie care produce la mamifere boala numită pneumonie. Virulența ei este determinată de existența unei capsule formată din polizaharide care împiedică fenomenul de fagocitoză. Coloniile acestor bacterii sunt netede și vâscoase, motiv pentru care s-au notat cu S (engl. smooth = neted). După reacția imunologică, determinată de tipul de polizaharide ce alcătuiesc capsula, există mai multe tipuri de pneumococi S: SI, SII, SIII etc. Tipul S poate da naștere prin mutații spontane la forme lipsite de capsulă, a căror colonii au suprafața rugoasă, notată cu R (engl. rough = aspru, rugos), care sunt nevirulente. Pneumococii de tip R pot fi: RI, RII, RIII, în funcție de tipul S din care provin. F. Griffith a injectat la șoareci pneumococi nevirulenți de tip RII împreună cu pneumococi virulenți de tip SIII, însă aceștia din urmă fuseseră omorâți prin căldură. Surprinzător a fost faptul că șoarecii au murit de pneumonie, iar din aceștia s-au separat atât pneumococi de tip RII cât și pneumococi de tip SIII. Concluzia care s-a desprins a fost că pneumococii de tip RII s-au transformat în pneumococi de tip SIII. Mutația este exclusă în acest caz deoarece tipul RII ar fi trebuit să muteze în tipul SII.

Cauza transformării pneumococilor necapsulați și nevirulenți în pneumococi capsulați și virulenți a rămas necunoscută până în anul 1944, când un grup de cercetători americani, O.T. Avery, C.M. MacLeod și M. McCarty, au reluat experiențele făcute de Griffith cu scopul de a identifica substanța chimică ce induce transformarea. Ei au extras ADN de la pneumococii de tip SIII și l-au introdus în mediul de cultură al pneumococilor de tip RII. În cultură, pe lângă pneumococii de tip RII au apărut și un număr mic de pneumococi de tip SIII, dovedindu-se că agentul transformator este ADN de tipul donor. Această experiență poate fi redată sintetic astfel:



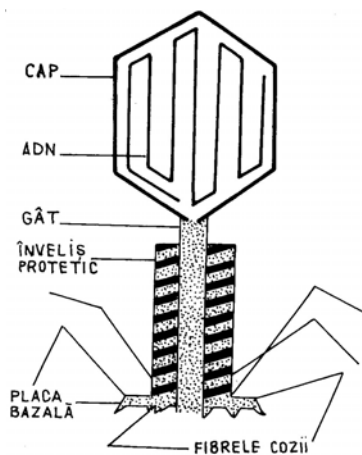
Înșușirea de virulență sau nevirulență este legată de prezența sau absența capsulei polizaharidice ce înconjoară pneumococul. ADN transformator a indus pneumococilor nevirulenți, acapsulați, înșușirea de virulență, de formare a acestei capsule.

Frecvența transformărilor genetice depinde de cantitatea de ADN utilizată și starea fiziologică a bacteriei, denumită și starea de *competență* a acesteia. Cercetările recente au demonstrat că starea de competență a celulelor bacteriene depinde de numărul de celule în mediu și nu de rata înmulțirii bacteriilor. Starea de competență este maximă când în mediu, concentrația

atinge 10 milioane celule/cm³. Această stare de competență este indusă de o proteină care, probabil, modifică într-un anumit fel membrana celulară, făcând posibilă pătrunderea ADN exogen.

2.1.2. Transfecția la procariote

Rolul genetic al ADN a fost pus în evidență și printr-o serie de experiențe cu bacteriofagi (virusuri ce atacă și distrug bacteriile). Importante în acest sens sunt experiențele efectuate de A. Hershey și M. Chase (1952) privind infecția virală, constituind și primele experiențe de transfecție, care constă în introducerea de ADN exogen în celule receptor. Ei au folosit bacteriofagii din seria T și în special bacteriofagul T₂, unul din cei mai mari bacteriofagi (2400-2500 Å). Bacteriofagul este constituit din cap și coadă. Capul conține în interior ADN iar învelișul (capsida) și coada sunt constituite din proteine (figura 2.1). Fagii se reproduc numai în celulele bacteriene cu ajutorul aparatului enzimatic al acestora.



Infecția virală are loc astfel: fagul se prinde cu filamentele codale de membrana bacteriei. Enzimele fagului dizolvă în acest punct membrana bacteriei, iar ADN fagic este introdus prin coada acestuia în celula bacteriană. Într-un interval de timp destul de scurt, în interiorul bacteriei se formează câteva sute de bacteriofagi, bacteria fiind distrusă (liza bacteriei) și fagii sunt eliberați putând infecta alte celule.

reproduc în interiorul bacteriei, denotă că ADN fagic are capacitatea de a se autoreproduce (funcția autocatalitică) și în același timp deține informația genetică necesară sintezei proteinelor proprii necesare constituirii capsidei pe baza aminoacizilor liberi din celula bacteriană (funcția heterocatalitică).

Se pune întrebarea dacă, pe lângă ADN fagic, în interiorul bacteriei nu pătrund și proteinele virale. Pentru a clarifica acest aspect A. Hershey și A. Chase au folosit izotopii radioactivi P³² și S³⁵. Fosforul radioactiv marchează molecula de ADN iar sulful radioactiv marchează proteinele.

S-au cultivat bacterii *E. coli* pe un mediu la care s-a adăugat fosfor radioactiv (P³²). Dacă se infectează cultura cu bacteriofagi T₂, vor rezulta bacteriofagi marcați radioactiv, deoarece

ADN fagic încorporează izotopul P^{35} . Cu acești bacteriofagi marcați s-au infectat alte bacterii neradioactive. ADN fagic radioactiv a pătrund în interiorul bacteriilor, în timp ce capsida fagilor, nemarcată, a rămas la nivelul peretelui celular bacterian.

Dacă bacteriile au fost infectate cu bacteriofagi marcați cu S^{35} , bacteriile nu devin radioactive pentru că în acest caz izotopul S^{35} s-a localizat numai la nivelul proteinei din capsidă. Și într-un caz și în altul capsidă au rămas aderente de suprafața bacteriei, putând fi izolate prin agitare. În interiorul bacteriei pătrunde numai ADN fagic, care realizează procesul de transfecție.

2.1.3. Transformarea la eucariote

Transformarea genetică la organismele superioare a evidențiat rolul genetic al ADN. Primele experiențe de transformare genetică la eucariote au fost realizate în anul 1959 de J. Benoit, P. Leroy, R. și C. Vendreley. S-a extras ADN din spermatozoizii și eritrocitele masculilor din rasa de rațe *Khaki Campbell* și s-a introdus intraperitoneal la bobocii de rațe din rasa *Pekin*. Adulții din rasa *Pekin*, rezultați din bobocii tratați au prezentat o serie de modificări morfologice privind culoarea penajului, a ciocului și picioarelor, a taliei, realizându-se un nou tip de rasă denumit *Blanche-neige*.

În anul 1971, C.R. Merrill și colab. au transferat gene de la *Escherichia coli* în celulele umane. Astfel, gena ce metabolizează galactoza la *E. coli* a fost preluată de fagul *lambda* și apoi transferată de acesta în celulele fibroblastice umane ce proveneau de la un bolnav de galactosemie (nu putea metaboliza galactoza).

Fenomenul de transformare a fost realizat și la alte organisme superioare: *Drosophila melanogaster*, *Bombyx mori*, *Petunia hybrida*, *Hordeum vulgare* ș.a.

La noi în țară, P. Raicu și colab. (1963), au introdus prin vacuum infiltrație ADN de la *Triticum durum* în boabe de grâu de la specia *Triticum aestivum*. Plantele rezultate din boabele tratate cu ADN exogen prezentau modificări privind culoarea și ritmul de creștere.

La plante, obținerea protoplaștilor (celulele lipsite de membrana rigidă pecto-celulozică) deschide noi căi pentru introducerea ADN în celule.

2.1.4. Materialul genetic al ribovirusurilor

Astăzi se consideră că virusurile constituie sisteme complexe alcătuite din două componente: învelișul proteic care nu are rol genetic și ADN sau ARN ce dețin mesajul genetic. Învelișul proteic denumit și capsidă conține unități mai simple denumite **capsomere**.

Există două categorii de virusuri, unele au ca material genetic ADN și sunt denumite deoxiribovirusuri, iar altele conțin ARN și sunt denumite ribovirusuri. Ribovirusurile cele mai cunoscute sunt: virusul mozaicului tutunului (VMT), poliomielitei și encefalitei și altele.

Rolul genetic al ARN a fost pus în evidență la virusul mozaicului tutunului de C.P. Conrat și R. Williams (1955) și A. Gierer și G. Schramm (1956). Virusul mozaicului tutunului conține aproximativ 6% ARN și 94% proteine. Ei au izolat ARN de proteina virală și au făcut infecții cu ambele componente pe frunze sănătoase de tutun. S-a constatat că boala denumită mozaicul sau arsura frunzelor de tutun s-a manifestat numai la frunzele infectate cu ARN. Se poate afirma că la ribovirusuri, ARN este deținătorul informației genetice necesare sintezei proteinelor virale proprii și transmiterii ei prin replicare.

2.2. ACIZII NUCLEICI ȘI ROUL LOR GENETIC

2.2.1. Structura moleculară a acidului dezoxiribonucleic (ADN)

Structura moleculară a acidului dezoxiribonucleic (ADN) a fost descoperită în anul 1953 de cercetătorii J.D. Watson și F.H.C. Crick care au studiat structura ADN prin difracție în raze X, reușind să precizeze poziția atomilor. Cei doi cercetători au studiat ADN "in vitro", neștiindu-se dacă structura lui corespunde cu cea existentă în materia vie. Tot în anul 1953, M. Wilkins și colab. au efectuat cercetări asupra ADN "in vivo" confirmând structura stabilită de Watson și Crick.

În anul 1962, cei trei cercetători Watson, Crick și Wilkins au fost distinși cu premiul Nobel pentru medicină și biologie, pentru contribuțiile aduse la elucidarea structurii moleculare a materialului purtător al informației genetice.

Structura chimică a moleculei de ADN

Molecula de ADN este formată din unități simple denumite **nucleotide**. În componența unei nucleotide intră următoarele tipuri de molecule: o bază azotată, un zahar și un radical fosforic (figura 2.2.).

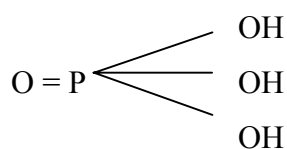
Bazele azotate ce intră în alcătuirea de ADN sunt de două tipuri: baze **purinice** și **pirimidinice**.

Purina este o bază azotată alcătuită dintr-un heterociclu ce cuprinde cinci atomi de C și patru atomi de N iar pirimidina este o bază ce derivă din inelul benzenic, cuprinzând patru atomi de C și doi atomi de N.

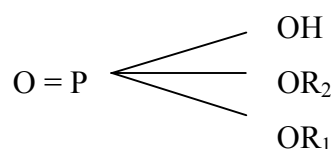
Bazele azotate purinice care intră în constituția moleculei de ADN sunt adenina (A) și guanina (G), iar bazele pirimidinice sunt citozina (C) și timina (T).

Zaharul se numește dezoxiriboză (β - D - 2 dezoxiribofuranoză), fiind o pentoză.

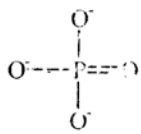


Radicalul fosforic ce intră în alcătuirea acizilor nucleici are trei hidroxili liberi care pot fi esterificați. În cazul acizilor nucleici se esterifică doi hidroxizi, deci acizii nucleici sunt fosfodiesteri:



Radical fosforic



Fosfodiester

		
1 Grupul fosfat	2 Deoxiriboza	Riboza
Pentoze		

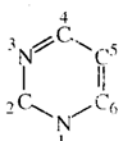
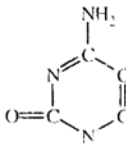
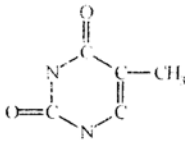
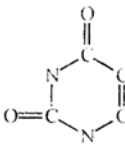
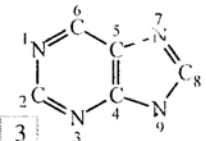
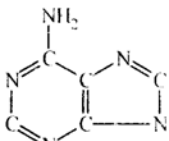
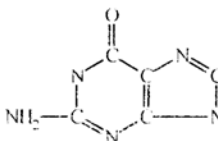
			
Pirimidine	Citozină	Timină Numai în ARN	Uracil Numai în ADN
			
3	Adenină	Guanină	

Fig. 2.2. Bazele azotate, zaharurile și radicalul fosforic din acizii nucleici

Prin unirea unei baze azotate purinice sau pirimidinice cu un zahar rezultă un **dezoxiribonucleosid** iar prin atașarea la acesta a unui radical fosforic rezultă un **dezoxiribonucleotid**. Atașarea radicalului fosforic se face în mod obișnuit prin intermediul carbonului 5' al dezoxiribozei, prin pierderea unei molecule de apă.

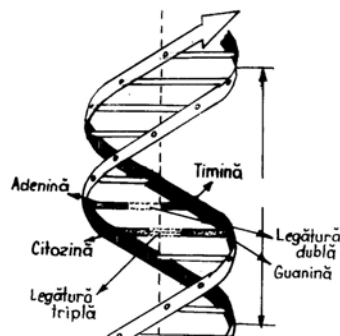
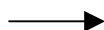
Radicalul fosforic al unui nucleotid, prin grupările acide libere, poate să se lege fie cu alți radicali fosforici, fie cu alte nucleotide prin carbonul 3' al dezoxiribonucleotidului. Dacă grupările libere ale radicalului fosforic se leagă de alți radicali fosforici, dezoxiribonucleotidele pot apare sub formă de monofosfat, difosfat sau trifosfat, purtând următoarele denumiri: adozin 5'-fosfat (AMP), guanozin 5'-fosfat (GMP), citidin 5'-fosfat (CMP), timidin 5'-fosfat (TMP), ADP, GDP, CDP, TDP, ATP, GTP, CTP, TTP.

Când nucleotidele (dezoxiribonucleotidele) se leagă unele de altele, această legătură se realizează astfel: un nucleotid se leagă de nucleotidul vecin inferior prin C 3', iar de nucleotidul vecin superior prin C 5'.

Se realizează un lanț polidezoxiribonucleic, cu o formă de zig-zag, ce constituie structura primară sau monocatenară a moleculei de ADN.

La majoritatea organismelor molecula de ADN este constituită din două lanțuri (catene) polinucleotidice complementare, aceasta fiind structura secundară a ADN stabilită de către J.D. Watson și F.H.C. Crick. Răsucirile pe care le suferă o catenă sau molecula bicatenară alcătuiesc structura terțiară iar interacțiunea dintre două sau mai multe molecule bicatenare alcătuiesc structura cuaternară a acizilor nucleici.

Watson și Crick au stabilit că macromolecula de ADN este alcătuită din două catene polinucleotidice, paralele, înfășurate elicoidal în jurul unui ax comun imaginar, o catenă având un sens ascendent (3' → 5') iar cealaltă un sens descendent (5' → 3').



Distanța dintre două nucleotide succesive este de 3,4 Å iar pasul elicei este de 34 Å, ceea ce corespunde la 10 nucleotide. Diametrul macromoleculei de ADN este de 20 Å (figura 2.3.).

Molecula de ADN are dimensiuni foarte mari fiind cea mai mare moleculă biologică, cu o masă moleculară ce poate ajunge la $12-16 \times 10^6$ daltoni (1 dalton = 1/12 din masa atomului de C).

Cele două catene din molecula de ADN se leagă între ele prin punți de hidrogen ce se realizează între o bază azotată purinică de pe un lanț și o bază azotată pirimidinică de pe celălalt lanț. Prin urmare în macromolecula de ADN există următoarele tipuri de legături: adenină-timină (A-T), timină-adenină (T-A), guanină-citozină (G-C) și citozină-guanină (C-G).

Cele două catene polinucleotidice din molecula de ADN sunt complementare, în sensul că ordinea nucleotidelor de pe o catenă determină ordinea nucleotidelor de pe cealaltă catenă. Legăturile de hidrogen dintre bazele azotate, duble, între adenină și timină ($A = T$) și triple între guanină și citozină ($G \equiv C$), deși sunt legături slabe, sunt destul de numeroase de-a lungul macromoleculei de ADN pentru a-i asigura stabilitatea și coeziunea. Macromolecula de ADN este stabilă la temperaturile fiziologice, datorită atât numărului mare de legături chimice, cât și faptului că moleculele de baze azotate se găsesc în interiorul moleculei și contactul lor cu apa este limitat.

2.2.2. Acidul ribonucleic (ARN)

Structura chimică a moleculei de ARN. Acidul ribonucleic (ARN) are o structură chimică asemănătoare cu cea a acidului dezoxiribonucleic (ADN). În structura chimică a ARN intră trei componente: bazele azotate, zaharul și radicalul fosforic. Bazele azotate sunt: purinice, adenina (A) și guanina (G) și pirimidinice, citozina (C) și uracilul (U). Deci, o primă deosebire

structurală între ADN și ARN este prezența uracilului în locul timinei. Uracilul are o structură destul de apropiată de cea a timinei (fig. 2.2.).

Zaharul care intră în structura moleculei de ARN este riboza care are o formă ciclică. Combinarea unei baze azotate cu zaharul dă naștere unui **ribonucleosid** iar prin adăugarea unui radical fosfat rezultă un **ribonucleotid**.

O altă deosebire importantă între ADN și ARN este faptul că macromolecula de ARN este monocatenară, fiind formată dintr-un singur lanț poliribonucleotidic. Acest fapt face ca bazele azotate purinice să nu fie în cantitate egală cu cele piridimice.

Ținând seama de rolul pe care îl îndeplinește ARN se apreciază că sunt două categorii: *acidul ribonucleic viral* (ARN_v) și *acidul ribonucleic celular*, implicat în sinteza proteinelor.

Acidul ribonucleic celular este de trei tipuri: acidul ribonucleic mesager (ARN_m), acidul ribonucleic de transport sau solubil (ARN_t) și acidul ribonucleic ribozomal (ARN_r).

Acidul ribonucleic viral (ARN_v) constituie materialul genetic al unor ribovirusuri cum ar fi: virusul mozaicului tutunului (VMT), virusul gripal, virusul poliomielitei, virusul stomatitei veziculare, bacteriofagii F₂, R17, QB și altele.

Studiindu-se molecula de ARN_v de la virusul mozaicului tutunului s-a determinat că este alcătuită din aproximativ 6.000 ribonucleotide, într-o anumită ordine, determinând conținutul mesajului genetic. La mai multe virusuri molecula de ARN_v este formată din două catene complementare înfășurate elicoidal în jurul unui ax imaginar. Molecula de ARN_v este în general liniară, cu excepția virusului encefalomielitei șoarecilor, la care molecula de ARN_v este circulară.

Acidul ribonucleic mesager (ARN_m). A fost descoperit în celulele bacteriene infectate cu bacteriofagi, apoi în toate celulele organismelor. A.D. Hershey și colab. (1953) au ajuns la concluzia că sinteza ARN_m este dependentă de ADN. Ei au identificat într-o celulă bacteriană infectată, pe lângă ADN și o mică cantitate de ARN, care era complementar ADN. Acest tip de ARN are rolul de a copia informația ereditară de pe o porțiune din molecula ADN și de a o transmite în citoplasmă la ribozomi, organite citoplasmatiche la nivelul cărora are loc sinteza proteinelor. De aceea, acest tip de acid ribonucleic a fost denumit ARN mesager (messenger ARN), prescurtat ARN_m (F. Jacob și J. Monod, 1961).

Acidul ribonucleic mesager se sintetizează în procesul de transcripție a informației genetice.

Acidul ribonucleic solubil sau de transfer (ARN_s sau ARN_t). Acest tip de acid ribonucleic are o structură chimică asemănătoare cu a celorlalte tipuri de ARN. Are o greutate

moleculară mică și anume 25.000 daltoni, având 75-90 nucleotide, este solubil în soluție de NaCl, de aceea i s-a dat numele de ARN solubil.

Rolul ARN_s este de a transporta aminoacizii din citoplasmă la ribozomi, în procesul de sinteză a proteinelor.

Molecula de ARN_s are la un capăt tripleta citozină-citozină-adenină (CCA), iar la celălalt capăt are un nucleotid ce conține guanina (G). Molecula ARN_s este monocatenară, dar are și porțiuni bicatenare datorită legăturilor de hidrogen dintre A-U și G-C, dându-i forma caracteristică a unei frunze de trifoi.

R.W. Halley de la Universitatea Cornell (SUA) a determinat, în anul 1965, ordinea nucleotidelor unui ARN_s care transportă alanina la ribozomi, la drojdia de bere (*Saccharomyces cerevisiae*) (figura 2.4).

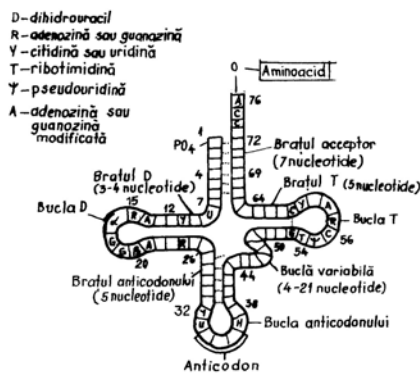


Fig. 2.4. Structura ARN_s ce transportă alanina la ribozomi la drojdia de bere (*Saccharomyces cerevisiae*)

Macronutrienții sunt necesari pentru creșterea și reproducerea organismelor și pentru recunoașterea moleculelor sau structurilor celulare:

a) Regiunea pentru recunoașterea aminoacidului este situată pe brațul cu codonul CCA de la un capăt al moleculei. Aminoacidul se fixează de această regiune cu ajutorul enzimei aminoacil - ARN_s - sintetaza, care are o structură foarte variată de la un organism la altul, existând câte o enzimă pentru fiecare aminoacid.

b) Regiunea anticodonului este formată dintr-o tripletă de nucleotide complementară unui codon din ARN_m. Numărul anticodonilor este egal cu cel al codonilor.

c) Regiunea pentru recunoașterea ribozomului este alcătuită dintr-o secvență de cinci nucleotide: G-T-P-C-G (P-pseudouracilul). Această regiune realizează legătura cu ribozomul în timpul procesului de sinteză a proteinelor.

Sinteza ARN_s este determinată de genele din cromozomi, gene care se găsesc într-un număr mare de copii. Teoretic ar trebui să existe atâtea tipuri de ARN_s câte tipuri de codoni

există, dar, în realitate, numărul lor este mai mic deoarece sunt și codoni care servesc pentru punctuație sau sunt sinonimi.

Acidul ribonucleic ribozomal (ARN_r). Acidul ribonucleic ribozomal (ARN_r) reprezintă aproximativ 85% din cantitatea totală a ARN din celulă, fiind localizat numai în ribozomi. O caracteristică importantă a ARN_r este aceea că se găsește întotdeauna asociat cu proteinele. ARN_r a fost izolat din ribozomii purificați de *Escherichia coli* și s-a stabilit că are o greutate moleculară de 5×10^6 , nefiind purtător al informației genetice.

Acidul ribonucleic ribozomal are o structură bicatenară în proporție de 60-70% iar restul are o structură monocatenară.

Sinteza ARN_r se realizează prin genele din ADN specializate în acest sens și a căror număr este foarte mare datorită necesității de a se sintetiza o cantitate mare de ARN_r într-un timp scurt.

2.2.3. Denaturarea și renaturarea ADN

Încălzirea unei soluții de ADN la temperaturi de peste 65°C, determină ruperea legăturilor de hidrogen dintre bazele azotate, cele două catene se separă rezultând un ADN monocatenar, iar fenomenul se numește **denaturare**.

Temperatura la denaturare variază de la o specie la alta, de exemplu la *Drosophila melanogaster* este de 86°C, la *Escherichia coli* 90°C, *Mycobacterium phlei* 97°C. Dacă soluția respectivă este răcită brusc, ADN rămâne monocatenar, fiind numit ADN denaturat. Dacă soluția se răcește treptat, legăturile de hidrogen se refac, rezultând un ADN renaturat, iar fenomenul se numește **renaturare**.

Aceste două fenomene au o importanță deosebită pentru realizarea de hibrizi moleculari ADN-ADN sau ADN-ARN.

Hibrizii moleculari ADN-ADN, dar de la specii diferite, ne dau informații despre gradul de înrudire al speciilor respective. Hibridarea ADN-ARN permite localizarea pe cromozomi a genelor ce intervin în sinteza diferitelor tipuri de ARN.

2.2.4. Replicația ADN

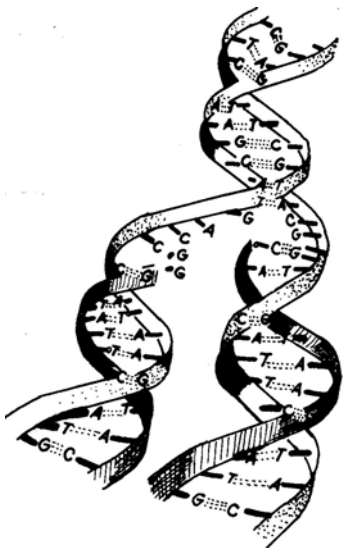
Una dintre însușirile de bază ale macromoleculii de ADN este cea de replicație sau autoreplicație, constituind funcția autocatalică a materialului genetic. La eucariote replicarea

ADN și deci a genelor care nu sunt decât segmente de ADN, are loc în timpul diviziunii mitotice, asigurându-se transmiterea exactă de la o generație la alta a caracterelor ereditare.

J.D. Watson și F.H. Crick (1953) în urma elaborării modelului structural al moleculei de ADN au emis și ipoteza replicării acestuia după tipul **semiconservativ**. Acest tip de sinteză constă în ruperea punților de hidrogen dintre cele două catene complementare. Fiecare catenă servește ca matriță pentru sinteza unei catene noi. În final, dintr-o moleculă veche de ADN vor rezulta două molecule, dar care sunt noi numai pe jumătate.

Modelul replicării după tipul semiconservativ, asigură o mare fidelitate în sinteza noilor molecule de ADN. Termenul de replicare derivă de la faptul că în acest proces fiecare catenă servește ca matriță pentru catenele noi sintetizate, informația genetică fiind transmisă fidel noilor molecule.

Sinteza ADN după tipul semiconservativ se realizează astfel: la o extremitate sau într-un punct oarecare al macromoleculei de ADN, punțile de hidrogen se rup, fenomen ce continuă pe toată lungimea moleculei, asemănător desfacerii unui fermoar. Fiecare catenă se răsuțește în spațiu cu 180° , prin rotirea nucleotidelor în planul exterior, în jurul radicalului fosforic. În citoplasmă se găsesc sintetizate cele patru tipuri de nucleotide, care conțin bazele azotate purinice și pirimidinice: adenină, guanină, citozină și timină. Pe baza fenomenului de complementaritate dintre bazele azotate purinice și pirimidinice, o nucleotidă care conține adenină se va lega prin punți de hidrogen de una ce conține timină, iar una ce conține guanină se va lega de una ce conține citozină. În final, paralel cu catenele vechi s-au sintetizat două catene noi, rezultând două molecule fiice, identice cu molecula mamă (figura 2.5.).



Replicarea macromoleculei de ADN se realizează în trei etape:

- în prima etapă are loc sinteza precursorilor nucleotidelor ce intră în alcătuirea ADN de tipul acidului uridilic și acidului inosinic;
- în etapa a doua are loc sinteza nucleotidelor propriu-zise ce intră în structura ADN: dezoxiadenozintrifosfat, dezoxiguanozintrifosfat, dezoxicitidintrifosfat și dezoxitimidintrifosfat;

Fig. 2.5. Modelul replicării semi-conservative a macromoleculii de ADN

- în etapa a treia are loc polimerizarea nucleotidelor sub controlul enzimei ADN-polimeraza.

Enzima ADN-polimeraza determină esterificarea oxidrilului de la carbonul 3' al catenei polinucleotidice de către fosfatul ce esterifică oxidrilul de la carbonul 5' al nucleotidei, așa încât dacă catena veche are polaritatea 5' - 3', catena nou sintetizată va avea polaritatea inversă 3' -5'.

2.3. CODUL GENETIC

După descoperirea structurii macromoleculii de ADN și a însușirii ei de a se replica cu mare fidelitate, mulți geneticieni și-au pus întrebarea dacă informația genetică nu este codificată într-un anumit fel prin secvența de nucleotide, ce relații se stabilesc între cele patru tipuri de nucleotide și aminoacizii din lanțurile polipeptidice.

Ciberneticianul G. Gamow (1954) este primul care a descoperit legătura dintre secvența de nucleotide din ADN și ordinea aminoacizilor, emițând ipoteza că în macromolecula de ADN se găsește codificată biochimic informația genetică, necesară sintezei moleculelor proteice.

Prin schemă teoretică a unui cod genetic a fost elaborată de G. Gamow (1954). Potrivit concepției acestuia, codificarea celor 20 de aminoacizi nu se poate realiza de un singur nucleotid ($4^1=4$) și nici de grupe formate din câte două nucleotide ($4^2=16$), pentru că, în ambele cazuri, numărul total de combinații este mai mic decât numărul aminoacizilor. Ca urmare, el a considerat că numai secvențe de câte trei nucleotide ($4^3=64$) pot realiza codificarea celor 20 de aminoacizi (Tabelul 2.1.). Grupul de trei nucleotide care codifică un aminoacid a primit denumirea de **codon**. În cazul codului de tip triplet, numărul codonilor este 64, depășind de trei ori numărul aminoacizilor, fapt ce conferă o mare eficiență și plasticitate în recunoașterea aminoacizilor.

În perioada care a urmat, o serie de geneticieni au adus numeroase dovezi experimentale privind codificarea informației ereditare, deci a relației nucleotide-aminoacizi, culminând cu descifrarea în totalitate a codului genetic.

Descifrarea codului genetic a fost posibilă și prin folosirea unor ARN_m sintetizați artificial, care conțineau o secvență cunoscută de nucleotide, pe baza cărora au fost sintetizate proteine. Experiențe de acest fel au fost realizate de M.W. Nirenberg și J.H. Matthey (1961). Ei

au reușit să sintetizeze o catenă de polifenilalanină, folosind un ARN_m artificial care conținea numai nucleotide cu uracil (U), dovedind că tripleta (UUU) codifică aminoacidul fenilalanină.

Tabelul 2.1.

Diferite tipuri teoretice de coduri

Codul monotipic (4 combinații)	Codul cu dublete (16 combinații)				Codul cu triplete (64 combinații)			
A	AA	AG	AC	AU	AAA	AAG	AAC	AAU
G	GA	GG	GC	GU	AGA	AGG	AGC	AGU
C	CA	CG	CC	CU	ACA	ACG	ACC	ACU
U	UA	UG	UC	UU	AUA	AUG*	AUC	AUU
					GAA	GAG	GAC	GAU
					GGA	GGG	GGC	GGU
					GCA	GCG	GCC	GCU
					GUA	GUG*	GUC	GUU
					CAA	CAG	CAC	CAU
					CGA	CGG	CGC	CGU
					CCA	CCG	CCC	CCU
					CUA	CUG	CUC	CUU
					UUA*	UAG*	UAC	UAU
					UGA*	UGG	UGC	UGU
					UCA	UCG	UCC	UCU
					UUA	UUC	UUC	UUU

* codoni inițiatori ai sintezei unei catene polipeptidice

• codoni nonsens, care nu codifică nici un aminoacid reprezentând codonii terminali ai sintezei unei catene polipeptidice

S-au folosit apoi ARN_m artificiali ce conțineau o secvență de două nucleotide cunoscute. De exemplu ARN artificial ce conține secvența UGUGUG, determină sinteza unui lanț polipeptidic în care alternează cisteina și valina, deci cisteina este codificată de codonul UGU iar valina de GUG (figura 2.6.).

Prima nucleotidă a codonului 5'	A doua nucleotidă a codonului								A treia nucleotidă a codonului 3'
	U		C		A		G		
U	UUU	Fen	UCU	Ser	UAU	Tir	UGU	Cis	U C A G
	UUC		UCC		UAC		UGC		
	UUA	Leu	UCA		UAA	Non 2	UGA	Non 3	
	UUG		UCG		UAG	Non 1	UGG	Tri	
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U C A G
	CUC		CCC		CAC		CGC		
	CUA		CCA		CAA	Glu	CGA		
	CUG		CCG		CAG		CGG		
A	AUU	Ileu	ACU	Tre	AAU	Asp	AGU	Ser	U C
	AUC		ACC		AAC		AGC		

	AUA		ACA		AAA	Liz	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG		AAG		AGG		G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Ac.asp	GGU	Gli	U
	GUC		GCC		GAC		GGC		C
	GUA		GCA		GAA	GGA	A		
	GUG	f-Met	GCG		GAG	Ac.glu	GGG		G

Fig. 2.6. Codul genetic

Problema cea mai grea, ce a trebuit rezolvată, a fost precizarea poziției nucleotidelor în cadrul codonului, pentru că cele două nucleotide pot forma trei combinații: GUU, UGU și UUG. Există mai multe căi pentru precizarea ordinii nucleotidelor în cadrul codonului, cea mai folosită fiind studiul mutațiilor de substituție a unor aminoacizi din unele proteine mai bine cunoscute: hemoglobina, proteina virusului mozaicului tutunului, triptofan-sintetaza din *Escherichia coli* ș.a.

Caracteristicile codului genetic

Informația genetică este codificată în acidul dezoxiribonucleic (ADN) sau în acidul ribonucleic viral (ARN_v) la unele virusuri, sub forma unor secvențe de trei nucleotide (codoni). Informația genetică este copiată prin procesul de transcripție de către ARN_m iar apoi tradusă, prin procesul de translație, într-o secvență de aminoacizi, în catena polipeptidică.

În prezent sunt cunoscuți toți codonii de ARN_m, care codifică diferiți aminoacizi (fig. 2.6). Codul genetic cuprinde 64 de codoni. Doi codoni marchează începutul sintezei unei catene polipeptidice și anume **AUG** și **GUG** iar trei codoni sunt nonsens: **UAA** (ocru), **UAG** (ambră) și **UGA** (azur). Acești codoni au rolul de a marca terminarea sintezei unei catene polipeptidice (codoni stop).

Codul genetic are următoarele caracteristici: este universal, degenerat, ambiguu, neacoperit și fără virgule.

Prin **universalitatea** codului genetic se înțelege faptul că un anumit codon, codifică același aminoacid la orice organism, indiferent de gradul său de evoluție. Dovada cea mai evidentă a universalității codului genetic a fost următoarea: s-a izolat ARN_m ce răspunde de sinteza hemoglobinei la iepure și s-a injectat în ovocitele de broască. S-a constatat că în ovocitele de broască se sintetizează hemoglobina, deși în mod normal, ovocitele nu sintetizează niciodată hemoglobină.

Codul genetic este **degenerat**, în sensul că mai mulți codoni codifică același aminoacid. De exemplu, arginina este codificată de următoarele triplete: GGU, GGC, GGA, AGA și AGG.

În ceea ce privește importanța nucleotidelor din codon s-a constatat că primele două sunt cele mai semnificative, în timp ce a treia poate fi ușor înlocuită. Dacă cea de a treia nucleotidă este o bază purinică ea poate fi înlocuită tot cu o bază purinică sau dacă este o bază pirimidinică, poate fi înlocuită tot printr-o bază pirimidinică. Diferiți codoni, care au primele două nucleotide identice, pot codifica același aminoacid. Numai metionina și triptofanul sunt codificați de câte un singur codon (AUG și respectiv UGG).

În mod obișnuit fiecare codon (tripletă) codifică un singur aminoacid. S-a constatat, în unele cazuri, că un codon poate codifica mai mulți aminoacizi. Așa este cazul codonilor GCG care codifică alanina și arginina; CGG-prolina și arginina; GGA-glicerina și acidul glutamic; AGG-glicina și fenilalanina. Se afirmă că această însușire reprezintă un avantaj evolutiv, deoarece înlocuirea unui aminoacid cu altul printr-o mutație, într-o catenă polipeptidică este mai puțin dăunătoare, dacă cei doi aminoacizi au proprietăți asemănătoare, conferindu-i codului genetic caracterul de **ambiguu**.

Codul genetic este **neacoperit** în sensul că doi codoni vecini nu au nucleotide comune și este **fără virgule**, între doi codoni nu există spații sau alți codoni care să joace rolul unor semne de punctuație.

S-a demonstrat că citirea mesajului genetic începe dintr-un punct fix, se realizează într-un singur sens, astfel că, absența unui nucleotid (deleție) sau adăugarea altuia (adiție), schimbă sensul mesajului.

2.4. BIOSINTEZA PROTEINELOR

Procesul de biosinteză a proteinelor este mult mai complex decât cel de sinteză a acizilor nucleici și cuprinde două etape importante: transcripția informației genetice și translația informației genetice.

2.4.1. Transcripția informației genetice

Transcripția constituie fenomenul prin care informația genetică de pe o porțiune din catena de ADN este transcrisă (copiată) într-o moleculă de ARN_m. Transcripția mesajului genetic din molecula de ADN pe cea din ARN_m se face într-o formă care servește ca matriță pentru sinteza proteinelor. Sinteza ARN_m este catalizată de enzima ARN-polimeraza, enzimă universală ce a fost identificată în celulele bacteriene, vegetale și animale.

Mecanismul propriu-zis al transcripției informației genetice din ADN în molecula de ARN_m se realizează astfel: enzima ARN-polimeraza se leagă specific într-o poziție a moleculei de ADN, ce corespunde cu începutul unei gene. Legăturile de hidrogen se rup pe porțiunea genei respective, segmentul respectiv de catenă se rotește cu 180° în spațiu, servind ca matriță pentru sinteza catenei de ARN_m.

ARN-polimeraza asigură încatenarea corectă a ribonucleotidelor existente în nucleu. După ce s-a realizat transcripția, se refac legăturile de hidrogen între catenele moleculei de ADN.

De o foarte mare importanță este descoperirea că procesul de transcripție la nivelul unei gene se realizează pe o singură catenă de ADN. Așa se explică faptul că o genă deține informația genetică necesară sintezei unei singure proteine.

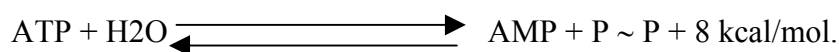
În sens mai larg, transcripția se referă și la sinteza celorlalte două tipuri de ARN implicate în procesul de biosinteză a proteinelor.

Acidul ribonucleic solubil sau de transfer (ARN_s) se sintetizează tot pe o matriță de ADN. Fiecare tip de ARN_s este codificat de câte o singură secvență de nucleotide din ADN, deci de câte o genă. Acidul ribonucleic ribozomal (ARN_r) este produsul direct al mai multor gene. Detalii despre ARN_s și ARN_r au fost precizate într-un paragraf anterior.

2.4.2. Translația informației genetice

Translația este mecanismul prin care secvența codonilor din ARN_m este tradusă într-o anumită succesiune de aminoacizi ce intră în constituția unui lanț polipeptidic. Realizarea procesului de translație implică participarea mai multor componente celulare ce alcătuiesc un aparat de translație. Aparatul de translație cuprinde următoarele elemente: diferite tipuri de ARN_s corespunzătoare tipurilor de aminoacizi, aminoacizii, ribozomii, enzimele activatoare ale aminoacizilor, cofactorii energetici, ATP și GTP, factori de inițiere, alungire și terminare a sintezei lanțului polipeptidic.

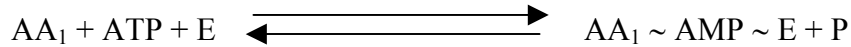
Pentru sinteza celulară a proteinelor este necesară o anumită cantitate de energie, formarea unei singure legături peptidice necesitând 0,5 kcal/mol. Această energie este asigurată de acidul adenozintrifosforic (ATP) care, prin hidroliză, pune în libertate unul sau doi radicali fosforici eliberând energia corespunzătoare:



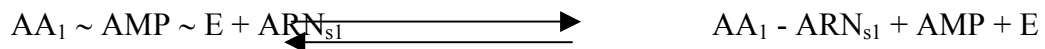
Sinteza proteică se desfășoară concomitent cu hidroliza ATP și AMP și doi radicali fosforici din care rezultă 8 kcal/mol din care 0,5 kcal/mol sunt folosite pentru realizarea legăturii

peptidice iar restul de 7,5 kcal/mol pentru menținerea echilibrului reacției în favoarea sintezei proteice și nu a hidrolizei.

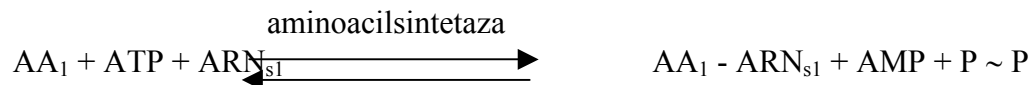
O primă etapă în sinteza proteinelor o constituie **activarea aminoacizilor** și formarea complexului aminoacil-ARN_s. Activarea aminoacizilor se realizează cu ajutorul energiei rezultate din hidroliza ATP și în prezența enzimei aminoacilsintetaza (E). Reacția de activare a aminoacizilor poate fi redată astfel:



Aminoacizii, după ce au fost activați, se pot atașa de molecula unui ARN_s specific:



Cele două reacții au loc succesiv, sunt catalizate de aceeași enzimă (aminoacilsintetaza) și ca atare se poate scrie reacția generală:



În următoarea fază complexul aminoacil-ARN_s se atașează de poliribozomi, la nivelul cărora are loc inițierea sintezei lanțului proteic. Ribozomul asigură de așa manieră asocierea acestor elemente încât zona anticodon a ARN_s să poată recunoaște codonul corespunzător din ARN_m, ducând astfel la o descifrare corectă a mesajului genetic. După fixarea aminoacidului, ARN_s devine liber putând transporta alte molecule de aminoacid la nivelul ribozomului. Încătenarea aminoacizilor se realizează de către enzima peptidiltransferaza și constă în realizarea legăturilor peptidice între gruparea carboxil a unui aminoacid și gruparea aminică a celui alt (figura 2.7.).

Reacția de încătenare a aminoacizilor poate fi redată astfel:

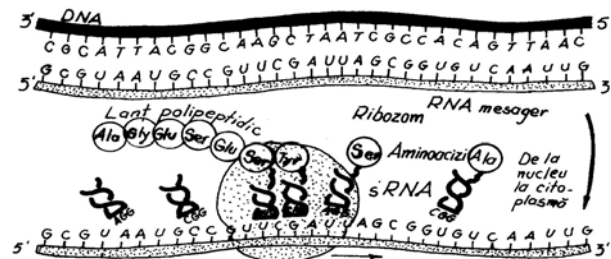
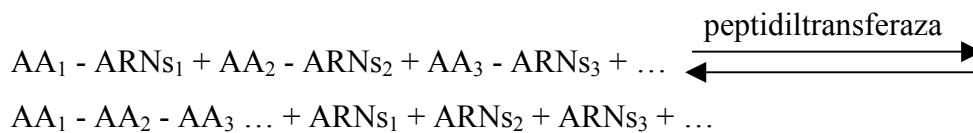


Fig. 2.7. Reprezentarea schematică a procesului de translație (după Kimball, 1978)

Încheierea sintezei catenei polipeptidice se realizează cu ajutorul a doi factori proteici care sunt activați în prezența codonilor de încheiere UAA, UAG și UGA. Ca urmare, catena polipeptidică se detașează de ribozomi și de ARN_s care a adus ultimul aminoacid. În prezent s-a reușit sinteza unor substanțe proteice într-un sistem celular liber (populații de celule la care s-a distrus membrana celulară), folosind ARN_m artificial (M.W. Nirenberg, 1961).

Test de autoevaluare

1. Transcripția constituie fenomenul prin care informația genetică de pe o porțiune dintr-o catenă de ADN este transcrisă (copiată) într-o moleculă de:
 - a. ADN monocatenar ?
 - b. ARN viral ?
 - c. ARN solubil ?
 - d. ARN mesager ?
 - e. ARN ribozomal ?
2. Transcripția mesajului genetic se realizează cu ajutorul unei enzime universale denumită:
 - a. ARN polimeraza ?
 - b. ADN polimeraza ?
 - c. reverstranscriptaza ?
 - d. aminoacil - ARN_s - sintetaza ?
 - e. fosforilaza ?
3. Enzima aminoacilsintetaza intervine, cu rol catalitic, în următoarele etape ale translației informației genetice:
 - a. legarea aminoacidului de ARN_s specific ?
 - b. activarea aminoacidului de o moleculă de ATP ?
 - c. polimerizarea aminoacizilor în cadrul lanțului polipeptidic ?
4. Enzima peptidiltransferaza catalizează următoarele etape ale translației informației genetice:
 - a. activarea aminoacidului de o moleculă de ATP ?
 - b. polimerizarea aminoacizilor într-un lanț polipeptidic ?
 - c. atașarea aminoacidului de un ARN_s specific ?
5. Încheierea sintezei lanțului polipeptidic se realizează cu ajutorul a doi factori proteici, activați în prezența codonilor STOP. Aceștia sunt:
 - a. CAA, CUA, CGG ?
 - b. UAA, UAG, GUG ?
 - c. CAC, UAG, GUG ?
 - d. UAA, UAG, UGA ?
6. În molecula de ADN, cele patru tipuri de baze azotate se găsesc în următoarele combinații corecte:
 - a. A = T
 - b. A = A
 - c. T = A
 - d. G ≡ C
 - e. G ≡ G
 - f. C ≡ C
7. Bazele azotate pirimidinice din ADN sunt ?
 - a. Adenina și Timina ?
 - b. Citozina și Timina ?
 - c. Adenina și Guanina ?

- d. Adenina și Uracilul ?
 - e. Citozina și Guanina ?
8. O nucleotidă este alcătuită din:
- a. o bază azotată, un radical fosforic și un aminoacid ?
 - b. un zahar, un radical fosforic și o baza azotată ?
 - c. un radical fosforic, o capsomeră și un aminoacid ?
 - d. un zahar, un aminoacid și radical fosforic ?
9. Denaturarea și renaturarea ADN sunt determinate de un anumit factor de mediu extern; să se precizeze acest factor:
- a. radiația electromagnetică ?
 - b. colchicina ?
 - c. substanțele chimice alkilante ?
 - d. temperatura ?
 - e. acidul nitros ?
10. ARN_s are trei regiuni distincte; care dintre acestea este responsabilă de recunoașterea unui anumit codon din molecula de ARN_m:
- a. regiunea pentru recunoașterea ribozomului ?
 - b. regiunea anticodon ?
 - c. regiunea pentru recunoașterea aminoacidului ?
 - d. regiunea nodoc ?
11. În sinteza replicativă a ADN este implicată enzima:
- a. ARN polimeraza ?
 - b. ADN polimeraza ?
 - c. ARN replicaza ?
 - d. ARN fosforilaza ?
 - e. transcriptaza inversă ?
12. O moleculă de ARN_m, formată numai din uracil (UUUUUU.....) codifică aminoacidul:
- a. Triptofan ?
 - b. Arginină ?
 - c. Fenilalanină ?
 - d. Serină ?
 - e. Tirozină ?
13. O moleculă de ARN_m, formată din două nucleotide, uracil (U) și guanină (G), (UGUGUG.....) codifică aminoacizii:
- a. Fenilalanina și Leucina ?
 - b. Tirozina și Histidina ?
 - c. Metionina și Valina ?
 - d. Cisteina și Valina ?
 - e. Serina și Lizina ?
14. În codul genetic, trei codoni nu codifică aminoacizi ci marchează sfârșitul unui mesaj genetic (codoni STOP); aceștia sunt:
- a. UUU, UAA, UAG ?
 - b. UAA, UAA, UGA ?
 - c. UAA, UAG, UGG ?
 - d. UAG, UAC, UCC ?
 - e. UAA, UAG, UGA ?

2.5. RECOMBINAREA GENETICĂ LA BACTERII

Recombinarea genetică la bacterii se realizează pe următoarele căi: transformare, conjugare, sex-ducție și transducție.

Transformarea. Prin transformare se înțelege transferul intracelular al unui segment de ADN de la o bacterie donator, în genomul unei bacterii receptor. Frecvența cu care se realizează transformarea este foarte redusă, sub 1%, iar dimensiunea minimă a segmentului de ADN transformat este de 450 perechi de nucleotide.

Procesul de transformare se realizează atunci când este o cantitate mare de ADN implicată în proces și în starea de **competență** a celulelor bacteriene (modificări ale membranei ce permit pătrunderea ADN).

După ce ADN exogen de la tipul donator a pătruns în bacteria receptoare are loc un fenomen de **sinapsă** între cele două molecule de ADN, în zona complementară, apoi ADN exogen se integrează în cromozomul bacteriei receptor, în procesul de replicare al acestuia.

Transformarea realizează, de obicei, transferul unei singure gene, iar în cazuri mai rare, două sau trei gene linkate, în cel din urmă caz dovedindu-se că genele respective sunt dispuse alăturat pe cromozom.

Transformarea genetică se realizează cu o frecvență mai mare la sușe diferite ale aceleiași specii de bacterii și mai rar între specii diferite, dar înrudite.

Conjugarea. Fenomenul de conjugare a fost descoperit în anul 1946 de J. Lederberg și E. L. Tatum, fiind considerat un fenomen de parasexualitate, similar oarecum cu reproducerea sexuată de la organismele eucariote. Conjugarea se realizează numai între două bacterii de sex opus, iar sexul este determinat de o *plasmidă*, denumită *factor de fertilitate* sau *sex-factor*, notat cu F. Celulele care posedă acest factor sunt "mascul", notate cu F⁺, iar cele ce nu posedă acest factor sunt "femele", F⁻. Factorul de fertilitate se poate găsi liber în citoplasmă și în acest caz se replică independent de cromozomul bacteriei, dar în acest caz fenomenul de conjugare se produce cu o frecvență destul de redusă și anume de 10⁻⁵. În unele cazuri, factorul de fertilitate poate fi integrat în cromozomul bacterian, iar aceste celule masculine au fost notate cu Hfr (high frequency of recombination). Între celulele Hfr și celulele F⁻, conjugarea are loc cu o frecvență mult mai mare și anume 10⁻¹.

Conjugarea a fost studiată la microscopul electronic, descoperindu-se că bacteriile Hfr și F⁺ posedă un apendice filamentos, denumit **F-pilus** care este absent în celulele femele (F⁻). Acești F-pilus (sau sex-pili) realizează legătura dintre două bacterii de sex opus, fiind un fel de tuburi prin care materialul genetic al unei bacterii (F⁺ sau Hfr) trece total sau parțial în celulele F⁻.

Fenomenul de conjugare este strâns legat de sinteza ADN.

Sex-ducția (F-ducția sau transducția F-mediată) este o altă cale de recombinare genetică la bacterii, descoperită de F. Jacob și E.L. Wollman (1960).

Cercetările care au dus la descoperirea acestui tip de recombinare s-au făcut la *E. coli*, la o sușă Hfr, care avea factorul de fertilitate inserat lângă gena lac^+ . În procesul de conjugare dintre o bacterie Hfr lac^+ și alta $F^+ lac^-$ ar fi trebuit să apară recombinanți pentru gena lac^+ , foarte târziu, aproape de sfârșitul transferului de material genetic. S-a constatat că au apărut câțiva recombinanți lac^+ , foarte devreme. Concluzia a fost următoarea: factorul F este eliberat din cromozomul bacterian, dar printr-un proces de crossing-over, între cromozom și factorul F are loc un schimb de material genetic, rezultând un factor de fertilitate *recombinat*, notat cu F' .

Prin trecerea factorului F' într-o celulă F^- , el poate fi inclus în cromozomul bacterian într-o regiune omoloagă cu regiunea cromozomală pe care o poartă, orientând procesul de conjugare la fel ca în cazul bacteriei Hfr inițiale.

Sex-ducția poate fi definită ca fiind procesul prin care gene ale cromozomului bacterian sunt încorporate în factorul de fertilitate F și pe care le transferă la celulele F^- prin procesul de conjugare.

În factorul F pot fi incluse diferite gene, deoarece factorul F poate fi integrat în diferite regiuni ale cromozomului.

Celulele bacteriene ce prezintă factorul F' pot fi transformate în celule Hfr, prin inserția factorului F' în cromozomul bacterian.

Transducția este procesul prin care bacteriofagii temperați realizează transferul de informația genetică de la o bacterie la alta. Acest fenomen a fost descoperit de N.D. Zinder și J. Lederberg în anul 1952, la bacteria *Salmonella typhimurium*, cu ajutorul bacteriofagului P_{32} . Experiența efectuată de cei doi cercetători a constatat în următoarele: într-un tub Davis, separat la mijloc printr-un filtru de sticlă poroasă ce permite trecerea bacteriofagilor dar nu și a bacteriilor, a introdus în cele două brațe două sușe bacteriene diferite (figura 2.8).

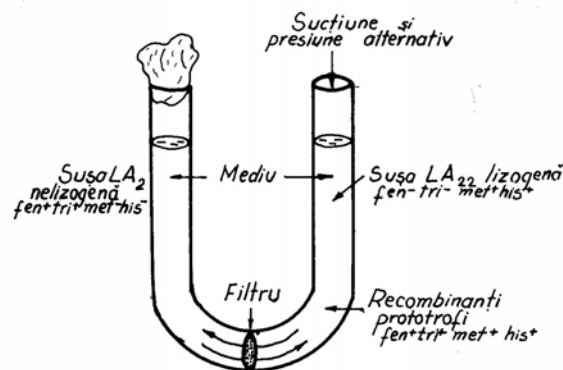


Fig. 2.8. - Evidențierea transducției bacteriene

Sușa LA₂₂ este auxotrofă dar cu genotipul fen⁻tri⁻met⁺his⁺, deci prezintă concomitent două mutații biochimice, neputând sintetiza aminoacizii fenilalanină și triptofan, iar sușa LA₂ este tot auxotrofă dar cu genotipul fen⁺tri⁺met⁻his⁻ pentru alte două gene, neputând sintetiza aminoacizii metionină și histidină. Sușa LA₂₂ este lizogenă, în sensul că, în cromozomul său era integrat profagul P₂₂. Unii bacteriofagi sunt eliberați din cromozomul bacteriei și produc liza acesteia. Bacteriofagii pot trece prin filtrul de sticlă, produc liza bacteriei LA₂, apoi pot reveni în tubul în care se găsește bacteria LA₂₂ cu care pot stabili din nou relații lizogene în urma cărora pot apare indivizi recombinanți prototrofi (de tip sălbatic) pentru toate cele patru gene, fen⁺tri⁺met⁺his⁺.

Explicația acestui fenomen este următoarea: bacteriofagul P₂₂ producând liza bacteriei LA₂ include, cu o mică frecvență, 1 la 10⁵-10⁷, segmentul de cromozom cu genele fen⁺tri⁺ de la această sușă. Stabilind relații lizogene cu sușa LA₂₂, bacteriofagul P₂₂ transferă acest segment în cromozomul acestuia rezultând recombinanți genetici de tip sălbatic (fen⁺tri⁺met⁺his⁺).

Cercetările privind transducția au arătat că de obicei se transferă o singură genă, în cazuri rare două gene și niciodată trei gene. În cazul transferului a două gene, se demonstrează că cele două gene sunt foarte apropiate pe cromozomul bacteriei, servind la stabilirea precisă a locilor acestora, deci la alcătuirea hărților genetice cu ajutorul transducției.

Transferul concomitent a două gene prin fenomenul de transducție a fost denumit **cotransducție**.

Transducția este de două tipuri: transducție **specializată**, când un bacteriofag transferă numai o anumită genă și **generalizată** când un bacteriofag poate transfera oricare genă dintr-un cromozom bacterian.

În cazul transducției generalizate se poate realiza transferul oricărei gene de la o bacterie donor la o bacterie receptor, deci bacteriofagul transductant poate încorpora oricare genă și o transferă altei bacterii.

CAPITOLUL 3

EREDITATEA MENDELIANĂ

Motto:

"...Gregor Mendel, o figură cu care se poate mândri întreaga omenire..."

C. Sandu Aldea

"Odată cu Mendel, fenomenele biologiei au dobândit dintr-o dată rigoarea matematicienilor. Metodologia, tratarea statistică și reprezentarea simbolică, impun eredității o întreagă logică internă"

Francois Jacob

Apariția lucrării "Versuche Über Pflanzenhybriden" în 1866, a naturalistului și matematicianului ceh Gregor Johhan Mendel (1822 – 1884) a constituit un moment important în istoria biologiei. Gregor Mendel este considerat unul din fondatorii geneticii, datorită teoriei factorilor ereditari, sinteză a celor două legi ale eredității: legea segregării caracterelor (legea purității gameților) și legea segregării independente a perechilor de caractere (legea liberei combinații a factorilor ereditari).

3.1. TERMINOLOGIA FOLOSITĂ ÎN GENETICA MENDELIANĂ

În cercetările sale, G. Mendel a folosit în mod deosebit mazărea, *Pisum sativum*, plantă autogamă, care prezintă caractere distincte de la o varietate la alta. Caracterele luate în studiu au fost următoarele: talia plantelor (înaltă sau pitică), culoarea păstăilor nemature (galbenă sau verde), culoarea cotiledoanelor (verde sau galbenă), suprafața semințelor (netedă sau zbârcită), culoarea tegumentului boabelor (albă sau cenușie), poziția florilor (axială sau terminală), forma păstăilor (dreaptă sau găuită între semințe). Aceste perechi de caractere au fost numite mai târziu *alelomorfe* (W. Bateson și E. R. Saunders, 1902), din care a rezultat termenul de *alele*.

Determinanții ereditari au fost numiți și factori ereditari (indicați ulterior prin noțiunea de *genă*).

Înainte de a analiza mecanismul de transmitere a caracterelor în procesul de hibridare este necesar să fie definite câteva noțiuni de bază, care vor servi pentru înțelegerea lui.

Hibridarea este încrucișarea dintre doi indivizi, care se deosebesc prin una sau mai multe perechi de caractere. Părinții (genitorii) care participă la hibridare se notează cu P (lat. *parentes* – părinți) iar urmașii (descendenții) se notează cu F (lat. *-fillii*-copii).

În funcție de numărul de perechi de caractere prin care se deosebesc părinții, există mai multe tipuri de hibridare: *monohibridarea* (o pereche de caractere), *dihibridarea* (două perechi de caractere) etc.

În concepția lui G. Mendel, determinanții genetici au fost numiți *factori ereditari*, în genetica modernă fiind înlocuiți prin termenul de *gene*. *Gena* este unitatea elementară ce deține informația genetică a unui caracter ereditar, transmis de la părinți la urmași. Gena ocupă un loc precis în cromozom (locus). În celulele somatice, cromozomii omologi, unul de origine maternă, celălalt de origine paternă, vor avea și *loci* omologi, ocupați de gene alele. Dacă alelele sunt identice (AA sau aa) indivizii se numesc *homoziгоți* pentru această pereche de gene, iar când alelele sunt diferite (Aa) indivizii sunt considerați *heterozigoți*. Ereditatea mendeliană presupune, în principal, interacțiunea dominanță-recesivitate între genele alele: alela care se manifestă fenotipic la hibridii F₁ este *dominantă*, iar perechea sa, care nu se exteriorizează prin caracterul respectiv, este *recesivă*.

Hibridările de orice nivel, oferă posibilitatea unei duble analize: sub aspect genotipic și sub aspect fenotipic.

Genotipul reprezintă totalitatea genelor unui individ sau constituția genetică a acestuia. Noțiunea de genotip se utilizează însă și în sens restrâns, numai pentru una sau câteva perechi de gene alele (AA, Aa, aa, AABB, AaBb etc).

Fenotipul reprezintă totalitatea caracterelor morfologice, fiziologice, biochimice și comportamentale ale individului, care rezultă din interacțiunea genotipului cu mediul.

3.2. LEGILE MENDELIENE ALE EREDITĂȚII

În lucrările și manualele care s-au ocupat de opera lui Mendel, rezultatele la care a ajuns el au fost prezentate de diferiți autori în mod diferit. În legătură cu legile lui Mendel sunt menționate diferite formulări: legea uniformității hibridilor în prima generație, legea dominanței, legea purității gameților, legea segregării caracterelor, legea liberei combinări a caracterelor numită și legea independenței caracterelor. După părerea noastră din lectura lucrării lui Mendel “Experiențe asupra hibridilor de plante”, se desprind două legi:

1. Legea segregării sau a disjuncției caracterelor în generația a doua hibridă (F_2) (datorită separării sau segregării în meioza hibridului F_1 a alelelor dominante și recesive și unirii întâmplătoare a gameților pentru formarea generației F_2).

2. Legea combinării libere a caracterelor sau a segregării independente a acestora (apariția la încrucișarea polihibridă, în urma segregării și combinării libere a caracterelor, a unor noi combinații la descendenți).

3.2.1. Legea segregării caracterelor (legea purității gameților)

Gregor Mendel a efectuat un număr impresionant de mono, di și trihibridări la mazăre (*Pisum sativum* L.) și la alte specii din genurile: *Phaseolus*, *Mirabilis*, *Cirsium*, *Melandrium*, *Zea*, *Antirrhinum*, *Hieracium* etc.

Segregarea caracterelor ereditare a fost formulată, în urma analizei fenotipice și genotipice a unor monohibridări, deși poate fi demonstrată și în cazul celorlalte tipuri de hibridare.

Monohibridarea este încrucișarea între indivizi ce se deosebesc printr-o singură pereche de caractere.

G. Mendel a încrucișat o varietate de mazăre cu semințe galbene, cu o varietate cu semințe verzi, ambele homozigote (pure din punct de vedere genetic). În generația F_1 , au rezultat numai plante cu semințe galbene.

Caracterul culoare galbenă a fost numit dominant, iar perechea sa, culoare verde, recesiv (lat. *recesere* – ascuns).

În urma autofecundării plantelor din generația F_1 , a rezultat generația F_2 , în care, s-au obținut două grupe fenotipice: $\frac{3}{4}$ (75%) semințe galbene și $\frac{1}{4}$ (25%) semințe verzi, prin urmare, un raport de segregare fenotipică de 3:1.

Notând caracterul culoare galbenă cu A, iar verde cu a, în figura 3.1. se pot analiza sub aspect fenotipic și genotipic, părinții, generațiile F_1 , F_2 și F_3 .

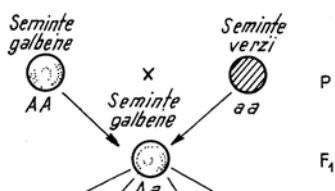


Fig. 3.1. – Structura genotipurilor și a fenotipurilor în cazul monohibridării

G. Mendel a explicat segregarea factorilor ereditari astfel: în celulele somatice, factorii ereditari se găsesc sub formă de pereche (AA, Aa, aa). În urma meiozei, factorii ereditari segregă, astfel că, gameții vor avea numai câte un singur reprezentant din fiecare pereche (A sau a), deci sunt puri din punct de vedere genetic.

Părinții sunt homozigoți (AA și aa) și vor produce câte un singur tip de gameți (A sau a). În generația F₁ toți indivizii sunt identici fenotipic (semințe galbene) și genotipic (Aa). Indivizii generației F₁, heterozigoți, vor forma două tipuri de gameți pentru fiecare sex: 50% A și 50% a. Combinarea probabilistică a gameților de sex diferit, face ca în F₂ să rezulte trei combinații genotipice, 1/4 (25%) AA, 2/4 (50%) Aa și 1/4 (25%) aa (raportul de segregare genetică 1:2:1) și două grupe fenotipice 3/4 semințe galbene și 1/4 (25%) semințe verzi (raportul de segregare fenotipică 3:1).

R. R. Punnett imaginează un șah de combinații a gameților celor două sexe, dând posibilitatea identificării rapide a tuturor genotipurilor și fenotipurilor din generația F₂:

Gameți ♀	Gameți ♂	
	50% A	50% a
50% A	25% AA	25% Aa
50% a	25% Aa	25% aa

Gregor Mendel a efectuat monohibridări și cu alte perechi de caractere, constatând același lucru: în generația F₁ au rezultat indivizi asemănători unui părinte, iar în generația F₂, segregarea s-a realizat într-un raport foarte apropiat de 3:1 (tabelul 3.1.).

Tabelul 3.1.

Rezultatele monohibridărilor la mazăre (obținute de G. Mendel)

Caracterul	Însușiri				Raportul D/r
	Dominante (D)	Recesive (r)	Dominante	Recesive	
Forma semințelor	Netedă	Zbârcită	5.474	1.850	2,98:1,01
Culoarea cotiledoanelor	Galbenă	Verde	6.022	2.001	3,01:0,99
Culoarea tegumentului	Colorată	Albă	705	224	3,03:0,96
Consistența păstăilor	Tare	Moale	862	299	2,98:1,02
Culoarea păstăilor	Verde	Galbenă	428	152	2,95:1,05
Dispoziția florilor	Axilară	Terminală	651	207	3,03:0,96
Forma plantei	Înaltă	Pitică	187	277	2,95:1,04
Total	-	-	14.949	5010	2,99:1,01

Monohibridările efectuate de Gr. Mendel, au fost denumite mai târziu monohibridări de tip *Pisum*.

După redescoperirea legilor mendeliene, imediat după anul 1900, s-au realizat monohibridări și la diferite specii de animale. Obținându-se rezultate asemănătoare celor de la plante, s-a demonstrat, universalitatea legilor mendeliene.

În anul 1901, Bateson W. a încrucișat diferite rase de găini, care se deosebeau prin forma crestei: “mazăre”, “trandafir” și “simplă”. Formele de creastă “mazăre” și “trandafir” sunt dominante față de forma "simplă", iar în generația F₂ segregarea s-a produs în raportul 3:1 (Raicu P. – 1980).

Zoologul francez Cuénot L. (1902) a încrucișat șoareci cu blana de culoare gri cu șoareci de culoare albă, obținând în generația F₁ șoareci gri, iar în generația F₂ segregarea s-a produs în raportul 3:1.

Experiențe similare s-au făcut apoi la foarte multe specii de animale, întărind ideea de universalitate a legilor mendeliene.

3.2.2. *Legea segregării independente a perechilor de caractere*

Cea mai simplă formă de polihibridare este dihibridarea, denumire introdusă pentru prima dată de către Hugo de Vries (1900). În acest caz, sunt urmărite două perechi de caractere.

La încrucișarea a două soiuri de mazăre: plante cu semințe galbene și netede x, plante cu semințe verzi și zbârcite, în F₁, G. Mendel a obținut plante cu semințe galbene și netede. În F₂, perechile de caractere analizate separat, au segregat după raportul de 3:1 și anume: 75% semințe

galbene și 25% semințe verzi, precum și 75% semințe netede și 25% semințe zbârcite. Analizând însă modul cum apar împreună cele două perechi de caractere, G. Mendel a constatat că raportul dintre ele este:

- 56,25% semințe galbene și netede;
- 18,75% semințe galbene și zbârcite;
- 18,75% semințe verzi și netede;
- 6,25% semințe verzi și zbârcite.

Din această analiză, ajunge la concluzia că pentru fiecare pereche de caractere segregarea se produce independent, iar raportul fenotipic pentru ambele caractere este de 9:3:3:1. Caracterele s-au separat în timpul formării gameților și s-au combinat în timpul fecundării în toate modurile posibile, formând cele patru grupe fenotipice.

Aceste rezultate i-au permis lui Mendel să emită **legea independenței caracterelor** sau a **liberei combinări a factorilor ereditari**. După părerea lui, cei doi gameți care participă la fecundare nu-și contopesc caracterele în hibrid, ci ele stau alăturate unele de altele, pentru ca apoi să se despartă din nou în meioză spre a produce, prin fecundare, generația a doua (F_2).

Pe baza celor arătate la monohibridare se poate alcătui în mod analog, un șah de combinații luând în considerare, de data aceasta, două perechi de caractere care se pot nota cum urmează:

A = neted	a = zbârcit
B = galben	b = verde

Mecanismul șahului devine simplu dacă se are în vedere faptul că în gameți numărul de cromozomi, respectiv de caractere alele, este pe jumătate decât în celulele somatice.

Pentru încrucișarea mazării cu semințe netede și galbene cu mazăre cu semințe zbârcite și verzi, având în vedere că individul este rezultatul fecundării a doi gameți, formula părinților va fi: AABB x aabb.

Gameții părinților formați prin reducerea cromatică vor avea formula: AB și ab. Din combinarea lor se va naște generația F_1 , cu formula AaBb.

Hibridul F_1 formează patru tipuri de gameți pentru fiecare sex, din combinarea cărora, doi câte doi, rezultă generația F_2 . Gameții se formează în număr egal atât pentru sexul femel, cât și pentru sexul mascul. Din combinarea întâmplătoare a celor patru grupe de gameți, apar 16 combinații de caractere, 9 genotipuri și 4 fenotipuri (fig. 3.2.).

Fenotipurile apar în raportul de 9:3:3:1, adică:

9/16 indivizi – neted galben (AABB, AABb, AaBB, AaBb, AABb, AaBb,
AaBB, AaBb, AaBb);

3/16 indivizi – verde neted (AAbb, Aabb, Aabb);

3/16 indivizi – zbârcit galben (aaBB, aaBb, aaBb);

1/16 indivizi – zbârcit verde (aabb).

Din analiza celor 16 combinații de caractere rezultă că acestea reprezintă 9 genotipuri, care segregă în raportul: 1/16 AABB:2/16 AABb:2/16 AaBB:4/16 AaBb:1/16 AAbb:2/16 Aabb:1/16 aaBB:2/16 aaBb:1/16 aabb (sau 1:2:2:4:1:2:1:2:1)

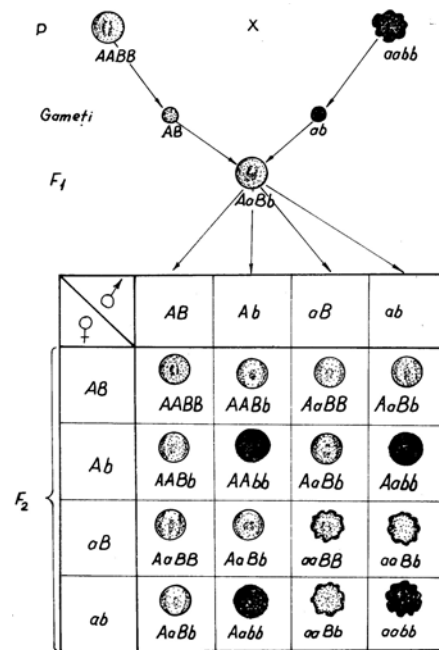


Fig. 3.2. – Dihibridare între un soi de mazăre cu bobul galben-rotund și unul cu bobul verde-zbârcit

Ceea ce îi atrage atenția lui G. Mendel în mod deosebit în această experiență, este apariția combinațiilor noi de caractere AAbb și Aabb (semințe netede și verzi) precum și aaBB și aaBb (semințe zbârcite și galbene). Acesta este motivul care îl conduce la formularea celei de a doua legi cu privire la independența caracterelor sau combinarea liberă a caracterelor.

Aceleași constatări se pot face analizând și o trihibridare. Dacă se consideră, de exemplu, că părinții au genotipurile AABBCC și aabbcc, hibridul din F₁ cu genotipul AaBbCc va forma 8 tipuri de gameți: ABC, ABc, AbC, aBC, Abc, aBc, abC, abc.

Grupând combinațiile hibride în F₂ se constată că cele 64 de combinații genotipice segregă în opt grupe fenotipice, după cum urmează:

27 posedă trei caractere dominante (A,B,C)

9 posedă două caractere dominante și unul recesiv (A,B,c)

9 posedă două caractere dominante și unul recesiv (A, b, C)

9 posedă două caractere dominante și unul recesiv (a, B, C)

3 posedă un caracter dominant și două recesive (A, b, c)

3 posedă un caracter dominant și două recesive (a, B, c)

3 posedă un caracter dominant și două recesive (a, b, C)

1 posedă trei caractere recesive (a, b, c)

Rezultă deci opt fenotipuri, repartizate în raportul: 27:9:9:9:3:3:3:1.

Rezultatele obținute în urma trihibridării de tip Pisum, confirmă legea segregării independente a caracterelor.

3.3. ÎNCRUCIȘAREA ANALIZATOARE

În experiențele pe care le-a executat G. Mendel la încrucișarea mazărei cu semințe de culoare galbenă cu mazărea cu semințe de culoare verde s-au obținut în F_2 , așa cum s-a arătat, semințe de culoare galbenă și semințe de culoare verde în raportul 3:1. Semințele de culoare galbenă din F_1 au produs, deci, în F_2 plante cu semințe atât de culoare galbenă cât și de culoare verde. Aceasta dovedește că ele aveau structură genetică heterozigotă. Pentru a analiza structura genetică a descendenților hibridi cu fenotip dominant se folosește *retroîncrucișarea* sau *backcrossarea* cu părintele recesiv sau cu un tester recesiv, metodă care poartă numele de *testcross*. În fond, testcross-ul ajută la descoperirea felurilor de gameți formați de un individ dominant, precum și dacă el este homozigot sau heterozigot pentru anumite caractere.

Homozigoții dominanți produc o descendență cu fenotipul parental, în timp ce heterozigoții dominanți în descendența testcross segregă (figura 3.3).

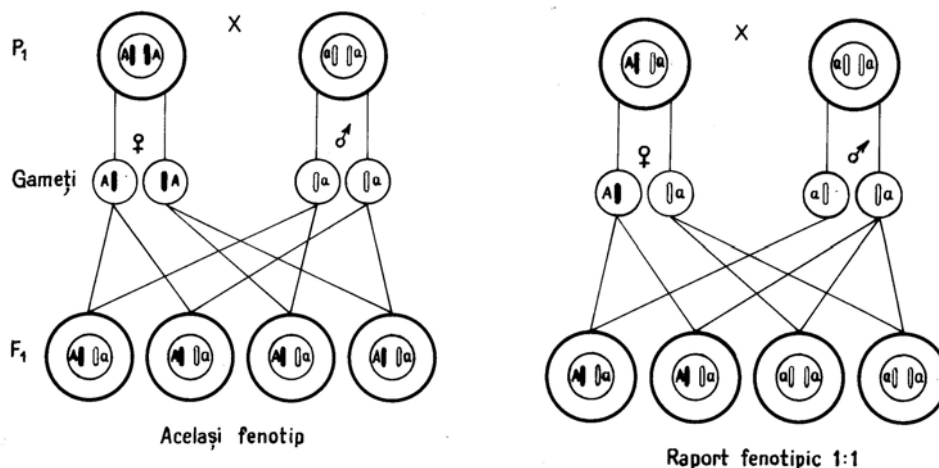


Fig. 3.3. Schema segregării în cazul testcross-ului unor descendenți hibridi cu fenotip dominant (AA sau aa)

CAPITOLUL 4

TEORIA CROMOZOMICĂ A EREDITĂȚII

4.1. GENE ȘI CROMOZOMI

Elaborarea teoriei celulare de către M. J. Schleiden și T. Schwann (1838) a marcat începutul unor noi descoperiri la nivel celular. După descoperirea și descrierea mecanismului mitozei (W. Fleming, 1882) și a meiozei (E. van Beneden, 1883), W. Waldeyer (1888), descoperă că în momentul diviziunii nucleului, acesta se împarte într-un anumit număr de corpusculi pe care i-a numit *cromozomi*.

Cercetările efectuate de W. S. Sutton (1902) la cosaș (*Brachystola magna*), aduc dovada localizării factorilor ereditari mendelieni pe cromozomi, constatând că fiecare cromozom are o anumită caracteristică, care se păstrează constantă în timpul mitozei și meiozei. Sutton a fost primul citolog care a atras atenția asupra asemănării dintre disjuncția cromozomilor în meioză și segregarea caracterelor alelomorfe în procesul de formare a gameților.

În 1902, T. Boveri face aceleași constatări la ariciul de mare (*Paracentrotus lividus*). El studiază și evoluția ovulelor fecundate concomitent de 2 spermatozoizi din care rezultă gameți triploizi ($2n=54$), constatând că numai indivizii diploizi ($2n=36$) sunt normali. Boveri ajunge la concluzia că dezvoltarea normală a indivizilor este condiționată de prezența unor garnituri complete de cromozomi, pe care se află localizați factorii ereditari.

E. B. Wilson (1905) studiind meioza la insectele din genul *Protenor*, constată că la masculi $2n=13$ cromozomi, iar femelele posedă în celulele somatice $2n=14$ cromozomi. Femelele vor produce gameți identici cu $n=7$, în timp ce masculii vor avea două tipuri de gameți, cu $n=7$ și $n=6$. Dacă un ovul va fi fecundat de un spermatozoid cu 7 cromozomi, va rezulta o femelă, iar când spermatozoidul are $n=6$ cromozomi va rezulta un mascul.

Aceste constatări au dovedit că sexul organismelor este determinat ereditar, de gene localizate în anumiți cromozomi.

T.H. Morgan și școala sa a preluat această ipoteză, dezvoltând-o și aprofundând-o, formulând o teorie unitară denumită *teoria cromozomică a eredității*.

În concepția lui Morgan, genele sunt plasate în cromozomi în anumite poziții denumite *loci* (singular *locus*), sub formă de pereche, determinând însușiri contrastante ale aceluiași caracter.

Prin mutația unei gene normale (sau de tip sălbatic) a apărut o genă nouă, dar care ocupă același locus în cromozomii omologi. Acest cuplu de gene ce determină însușirea normală și cea mutantă a unui caracter, a primit denumirea de *gene alele*. Genele ce determină caracterul normal se notează cu literă mare sau cu literă mică și cu semnul + (de exemplu A sau a⁺) iar gena alelă cu literă mică (a).

Gena este considerată unitate ereditară funcțională, mutațională și de recombinare genetică. Studiind un număr mare de masculi și femele de *Drosophila melanogaster*, Morgan a arătat că femelele au o pereche de cromozomi identici (XX) iar masculii, un singur cromozom X sub formă de bastonaș și unul neomolog numit cromozom Y sub forma unui bastonaș frânt. Descoperirea cromozomilor sexului constituie o altă dovadă că genele sunt plasate în cromozomi.

Tot la *Drosophila melanogaster*, s-a constatat că la unii indivizi poate lipsi un cromozom sau poate exista un cromozom în plus. Aceasta fiind corelată cu absența unui caracter sau prezența unui caracter, constituie încă un argument că genele sunt plasate în cromozomi (C. B., Bridges, 1921).

În urma acestor rezultate experimentale s-au elaborat cele trei teze ale teoriei cromozomice a eredității:

1. - plasarea liniară a genelor pe cromozomi;
2. - transmiterea înlănțuită a genelor (linkage);
3. - schimbul reciproc de gene între cromozomii omologi (crossing-over).

4.2. PLASAREA LINIARĂ A GENELOR PE CROMOZOMI

În experiențele sale, Mendel a analizat, în mod întâmplător, caractere ce erau localizate în perechi diferite de cromozomi, fapt ce permite segregarea și combinarea independentă a caracterelor. Morgan a urmărit într-un număr foarte mare de încrucișări, transmiterea de la o generație la alta a unor gene localizate în același cromozom.

S-a constatat că există un număr mult mai mare de gene decât cromozomi, chiar dacă în unele cazuri, o genă poate determina mai multe caractere. Rezultatele analizelor genetice nu se pot explica decât dacă se admite că genele sunt plasate linear în cromozomi, ocupând un loc precis denumit locus.

4.3. TRANSMITEREA ÎNLĂNȚUITĂ A GENELOR (LINKAGE)

Segregarea independentă a caracterelor și libera combinare a acestora rezultă din faptul că în timpul meiozei cromozomii omologi se despart și se distribuie întâmplător, într-un gamet sau altul. Potrivit acestor legi genele alele sunt localizate în perechi diferite de cromozomi.

T. H. Morgan și colaboratorii săi au efectuat o experiență la *Drosophila melanogaster* (fig. 4.1). S-a încrucișat o femelă cu corp gri și aripi normale (b^+vg^+/b^+vg^+) cu un mascul ce prezenta caractere mutante, corp negru și aripi vestigiale (bvg/bvg). În prima generație au rezultat indivizi cu corp gri și aripi normale.

Dacă un mascul heterozigot din generația F_1 este retroîncrucișat cu o femelă homozigotă dublă mutantă, în generația F_2 au rezultat numai două grupe fenotipice de indivizi, ca în cazul unei monohibridări, în raport de 1:1 și nu patru câte ar fi trebui să apară, în raport de 1:1:1:1. Rezultatele acestei experiențe au arătat că genele ce determină culoarea corpului și forma aripilor sunt plasate pe același cromozom și se transmit împreună la descendenți, fenomen pe care în denumește *linkage*

În acest exemplu se poate vorbi de un linkage complet fenomen rar întâlnit în natură. La *Drosophila melanogaster*, la mascul, fiind sexul heterogamet (XY) ,nu are loc recombinarea genetică deoarece cromozomii X și Y nu sunt omologi iar între ceilalți cromozomi somatici nu se realizează în profaza meiozei chiasme (C. D. Darlington, 1935).

Fenomenul acesta se mai întâlnește și la alte specii de diptere la care sexul mascul este heterogamet sau la unele specii de lepidoptere, la care sexul femel este heterogamet.

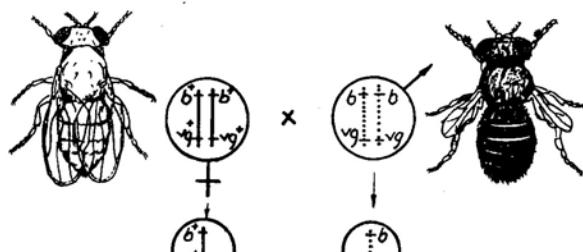


Fig. 4.1. Înlănțuirea completă a genelor la *Drosophila melanogaster*

Studiul linkage-ului la cele 500 de mutante de la *Drosophila*, studiate de T. Morgan, manifestă tendința de a se grupa în patru grupe: grupa I – 141 mutante; grupa II – 228 mutante; grupa III – 156 mutante și grupa IV – 12 mutante.

Existența a patru grupe de înlănțuire este încă o dovadă că genele sunt plasate în cromozomi și în plus, există o corelație evidentă între lungimea cromozomilor și numărul de gene pe care le conțin.

Linkage-ul constituie o teză de bază a teoriei cromozomice a eredității, conform căreia genele localizate pe același cromozom se transmit la descendenți în bloc, formând o singură grupă de linkage.

4.4. SCHIMBUL RECIPROC DE GENE ÎNTRE CROMOZOMII OMOLOGI (CROSSING-OVER)

Bateson și Punnett au elaborat teoria cuplării și repulsiei, prin care căutau să demonstreze că în procesul de hibridare pot avea loc fenomene de cuplare și recombinare a genelor. T. H. Morgan a înlocuit termenul de cuplare cu cel de linkage iar cel de repulsie cu termenul de crossing-over.

Fenomenul prin care se realizează schimbul de gene alele sau segmente cromatidice nesurori între cromozomii omologi în timpul meiozei se numește crossing-over. Existența acestui fenomen dovedește că linkage-ul nu este întotdeauna complet, ca atare, crossing-over-ul este un linkage incomplet. Pentru a demonstra schimbul de gene între cromozomii omologi, Morgan a folosit următoarea experiență: a încrucișat un mascul de culoare neagră și cu aripi vestigiale cu o femelă cu corpul de culoare gri și aripi normale (figura 4.2).

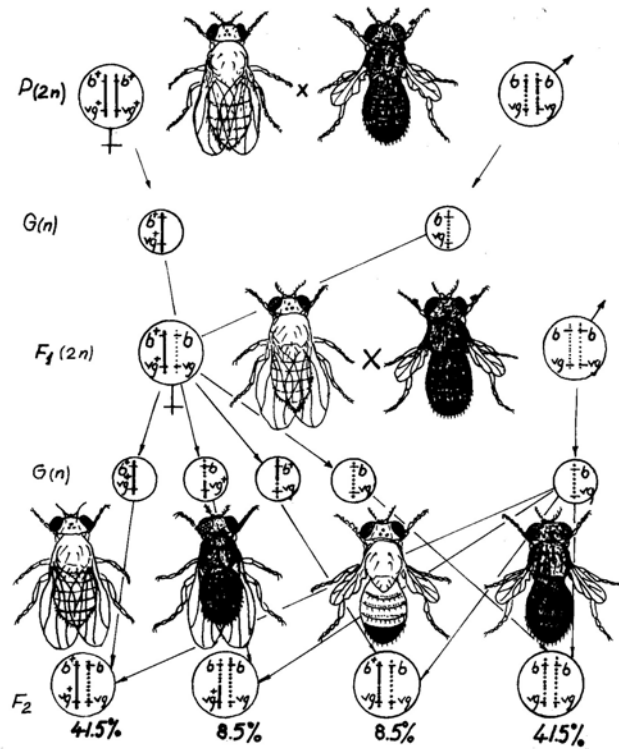


Fig.4.2.-Fenomenul de crossing-over la *Drosophila melanogaster*

În generația F₁ a obținut o descendență uniformă fenotipică, cu corpul de culoare gri și aripi normale și genotipic heterozigotă. Dacă se retroîncrucișează o femelă din generația F₁ cu un mascul cu ambele caractere mutante, rezultă în generația F₂ patru grupe fenotipice: două grupe fenotipice parentale și două grupe fenotipice noi, în următoarele proporții: corp gri-aripi normale, 41,5%, corp negru-aripi vestigiale, 41,5%, corp gri-aripi vestigiale, 8,5%, și corp negru-aripi normale, 8,5%.

Se observă că raportul de segregare nu este cel așteptat în urma unei retroîncrucișări 1:1:1:1. Formele noi rezultate, în proporție mult mai mică decât cele parentale, sunt determinate de schimbul de gene între cromatidele nesurori ale cromozomilor omologi, fiind denumite și forme recombinante.

Raportul de segregare , deosebit de cel mendelian , se datorește faptului că femela heterozigotă formează patru tipuri de gameți , două de tip parental (b^+vg^+ și bvg) și două de tip nou (b^+vg și bvg^+) , care se fecundază cu unicul tip de gameți ai masculului (bvg).

Valoarea crossing-over-ului se exprimă în % și ne arată cu cât forța de înlănțuire a genelor este mai mică , frecvența crossing-over-ului este mai mare. Valoarea procentuală cu care se manifestă crossing-over-ul se mai numește și *valoare de schimb* sau **forța înlănțuirii**.

4.5. HĂRȚILE CROMOZOMICE

Tezele teoriei cromozomice a eredității au constituit baza teoretică și practică pentru elaborarea hărților cromozomice sau genetice.

Hărțile cromozomice constituie reprezentarea grafică a cromozomilor și a genelor care alcătuiesc diferite grupe de linkage, genele fiind plasate pe cromozomi la distanțe relative exprimate în procente de crossing-over.

Alcătuirea hărților cromozomice presupune trei etape de lucru:

- obținerea mutantelor de la caracter normal sau sălbatic;
- stabilirea grupelor de linkage;
- determinarea ordinii și distanțelor dintre gene în cadrul fiecărei grupe de linkage.

După ce s-au realizat un număr cât mai mare de forme mutante, genele respective se repartizează în grupe de înlănțuire. Pentru a stabili aceste grupe se efectuează un număr mare de încrucișări și retroîncrucișări între indivizi normali și mutanți sau între indivizi mutanți. Dacă segregarea se face după raporturile mendeliene, se trage concluzia că genele respective se găsesc în grupe diferite de înlănțuire, iar dacă în urma retroîncrucișărilor se obțin în proporție mai mare fenotipurile parentale, între genele respective se manifestă linkage, complet sau incomplet, deci ele sunt plasate în același cromozom.

Pentru determinarea ordinii și distanței dintre gene s-a plecat de la constatarea că frecvența crossing-over-ului este o funcție direct proporțională cu distanța dintre gene. Distanțele dintre gene se exprimă în unități de recombinare, denumite unități Morgan sau morganide. Fiecare unitate de recombinare corespunde cu 1% crossing-over, iar 1% crossing-over este egal cu 1 unitate de pe harta cromozomică.

Prima hartă cromozomică s-a întocmit la *Drosophila melanogaster* iar apoi la *Zea mays*, *Antirrhinum majus*, *Lathyrus odoratus*, *Hordeum vulgare* etc.

Frecvența crossing-over-ului nu poate depăși valoarea maximă de 50%. Dacă se observă cele două hărți cromozomice, se constată că pe hartă apar și distanțe mai mari de 50 unități. Acest lucru se explică astfel: între genele îndepărtate apar crossing-overe duble și în acest caz distanțele mari se calculează prin însumarea distanțelor mai mici dintre genele intermediare.

În concluzie, distanțe dintre gene figurată pe harta cromozomică nu corespunde cu procentul de crossing-over decât în cazul genelor apropiate între care nu pot avea loc crossing-overe duble.

4.6. HĂRȚILE CITOLOGICE

Localizarea genelor pe cromozomi s-a putut stabili prin determinarea procentului de crossing-over, alcătuindu-se hărțile cromozomice. Se pune întrebarea dacă nu se pot localiza genele pe cromozom, folosind elementele de structură ale acestuia, mai precis, diferențele de structură ce apar de-a lungul lui și care să corespundă genelor. Acest lucru a devenit posibil, prin descoperirea și studierea cromozomilor gigantiți din celulele glandelor salivare ale larvelor de *Drosophila melanogaster*, deoarece au dimensiuni mari și pot fi studiați ușor în interfază. La acești cromozomi, s-au evidențiat microscopic o serie de benzi transversale, unele heterocromatice (dense) și altele eucromatice (clare). La nivel molecular, cromozomii gigantiți pot fi priviți ca o multiplicare de câteva sute sau mii de ori a macromoleculii de ADN, locii suprapunându-se în paralel și deci, un locus de pe acești cromozomi reprezintă o amplificare a unicului locus de pe fibra de ADN din cromozomii somatici. Acest lucru a permis studierea amănunțită a cromozomilor gigantiți, la care s-au identificat peste 5000 de benzi transversale, iar fiecare fiind alcătuită din 16 puncte. Localizarea acestor benzi este constantă pe cei patru cromozomi, fapt ce a permis identificarea și numerotarea lor.

Lungimea totală a cromozomilor gigantiți (1180 μ) a fost împărțită în 100 de diviziuni, repartizate astfel: cromozomul I, 0 – 20 diviziuni; cromozomul II, 20 – 60 diviziuni; cromozomul III, 60 – 100 diviziuni. Cromozomul IV fiind foarte mic nu a intrat în această împărțire. Fiecare diviziune a fost împărțită în șase subdiviziuni notate cu literele: A, B, C, D, E, F. Fiecare subdiviziune cuprinde un anumit număr de benzi transversale.

C. B. Bridges (1944) a stabilit o corespondență între genele localizate pe cromozomii obișnuiți și benzile transversale de pe cromozomii gigantiți.

Distanța dintre genele de pe harta cromozomică și cea citologică nu coincide întotdeauna, mai ales în regiunile centromerice.

Hărțile genetice au o importanță deosebită din punct de vedere teoretic și practic. Elaborarea hărților genetice a permis să se cunoască o serie de aspecte cum ar fi: neomogenitatea funcțională liniară a cromozomilor, explicarea unor aberații cromozomice, importanța genetică a fiecărui cromozom, în funcție de felul genelor și numărul lor.

Cunoașterea precisă a locilor genelor pe cromozomi deschide perspective mari în cunoașterea modului de transmitere a unor caractere și în modificarea constelației genetice a organismelor prin metode de manipulare a materialului genetic.

CAPITOLUL 5

DETERMINISMUL GENETIC AL SEXULUI

5.1. GENERALITĂȚI

Sexualitatea a apărut pe o anumită treaptă a evoluției plantelor și animalelor, reprezentând un avantaj, deoarece asigură reproducerea organismelor, recombinația genetică, vigoarea hibridă a descendenței și trecerea de la starea haploidă la cea diploidă. Aspectele pe care le ridică acest domeniu al biologiei sunt pe cât de variate, pe atât de complexe. Este vorba de biologia, de transmiterea și diferențierea sexului, precum și de posibilitatea de dirijare a lui.

Determinarea și dirijarea sexelor prezintă un deosebit interes pentru practică. Deși s-a lucrat mult în direcția găsirii unor posibilități pentru a putea dirija raportul dintre sexe, s-au făcut puține progrese. Cât de important ar fi pentru noi să putem dirija raportul dintre sexe la plante sau animale, după necesități de ordin economic? Să putem, de exemplu, reduce la animale numărul de masculi, mărinđ numărul de femele în scopul înmulțirii mai rapide a acestui sex (pentru producția de lapte, ouă ș.a.). Pentru plantele de cultură ar prezenta importanță, de exemplu, transformarea unor plante dioice în plante monoice sau invers; să putem obține, cum ar fi la cânepă, prin tratarea seminței, numai cânepă masculă (de vară), care să facă posibil recoltatul ei mecanic. Faptul că, în culturile obișnuite de cânepă, ambele sexe sunt intercalate, recoltatul plantelor masculine se face manual. În direcția acestor probleme s-ar putea găsi multe exemple.

Diferențierea sexelor, atât în regnul vegetal cât și animal, este legat de modul de înmulțire sexual. Din acest punct de vedere organismele se pot clasifica în: *organisme unisexuate*, cu diferențe exclusiv masculină și feminină; *organisme bisexuate (hermafrodite)* cu diferențiere ambigenă, care produc atât gameți masculi cât și femeli; *organisme pseudohermafrodite* cu diferențiere ambigenă care, deși posedă organe pentru producerea gameților de ambele sexe, produc gameți numai de un sex.

Sub aspectul diferențierii sexuale, lumea vie este atât de variată, încât o încercare de clasificare a lor nu este chiar atât de ușoară.

Deosebirea dintre sexe se numește *gonochorism* și este diferențiată prin două categorii de caractere: *caractere sexuale primare* și *caractere sexuale secundare*. Primele sunt datorate

prezenței glandelor sexuale, care produc un anumit tip de celule sexuale, diferite la mascul față de femelă și anexele acestor glande sexuale. Caracterele sexuale secundare se evidențiază sub aspect morfologic și fiziologic diferit de cele două sexe; sunt determinate de hormonii secretați de glandele genitale și nu asigură direct procesul gametogenezei, dar joacă un rol în înmulțirea sexuală.

Caracterele sexuale secundare, spre deosebire de cele primare, apar într-o anumită perioadă, în cursul dezvoltării individuale. Totalitatea caracterelor sexuale secundare, care fac ca cele două sexe să se deosebească între ele, poartă numele de *dimorfism sexual*.

Dimorfismul sexual este mai accentuat la organismele inferioare și mai puțin accentuat la cele superioare. El poate merge atât de departe la unele specii, încât masculii, față de femele, pot să aibă dimensiuni foarte mici. Așa de exemplu, la viermele marin *Bonellia viridis*, femela are formă de sac, cu o prelungire în formă de trompă și o lungime până la 0,3 m. Masculul este de forma unui filament de 1-2 mm (aproape de 300 ori mai mic decât femela) și trăiește ca parazit în esofagul sau oviductul femelei.

În general, la speciile inferioare și la unele insecte, femela este mai bine dezvoltată decât masculul. La pești, reptile, dimorfismul sexual este aproape imperceptibil. El se accentuează în favoarea masculului la vertebratele superioare. La păsări, deosebirile sunt de culoare, formă, mărime etc.; la mamifere aceste deosebiri se referă la mărime, păr, coarne etc.

5.2. DETERMINISMUL CROMOZOMIC AL SEXELOR

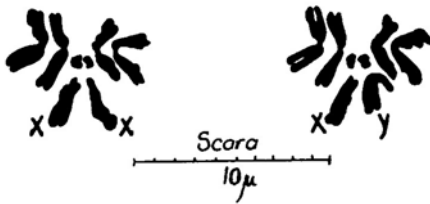
Observațiile cu privire la proporția dintre sexe, atât la plante cât și la animale, au dus la acumularea de date, din care s-a dedus că, în natură, indivizii masculi și femeli sunt în număr aproximativ egal.

La sfârșitul secolului trecut, cercetându-se meioza la unele insecte, s-a constatat că există o distribuție neuniformă a cromozomilor; (spermatozoizii aveau un număr inegal de cromozomi). Această repartiție inegală a substanței cromatice în unele celule germinale, a fost sesizată de *Henking (1891)*, *Mac Clung (1901)*, *Castle (1903)* și *Wilson (1905 – 1940)*. Ei și-au exprimat totodată părerea că, cromozomul impar, deosebit ca formă și mărime poate fi pus în legătură cu determinarea sexelor.

Repartiția inegală a substanței cromatice duce la stabilirea raportului de 1:1 între sexe, iar mecanismul de distribuție inegală a cromozomilor este o problemă ereditară. Din cauza

distribuirii inegale a cromozomilor, în meioză nu toți au pereche sinaptică. Cromozomul unic migrează singur la unul din polii celulei, fără ca la celălalt pol să meargă omologul său. Din această cauză se nasc celulele sexuale cu un număr par sau impar de cromozomi.

Cromozomii sexului pot alcătui în celulele somatice perechi în care unul să fie diferit sau la fel cu celălalt: La *Drosophila melanogaster* unul este drept, iar celălalt puțin curbat. Cromozomii normali au fost notați cu litera X, iar cei curbați cu Y (fig. 5.1.). Sexul care are cei doi cromozomi sexuali identici s-a notat cu XX, iar celălalt, la care ei sunt inegali, cu XY sau XO, când Y lipsește.



Fig

În procesul de gametogeneză sexul XX formează un tip de gameți (cu cromozomul X) și este denumit sex *homogametic*, iar sexul XY sau XO formează două tipuri de gameți

ogaster (cu cromozomul X sau Y sau

cu cromozomul X și fără cromozomul sexual Y) și

este denumit *heterogametic*.

Se cunosc două tipuri principale de determinare cromozomică a sexelor: tipul *Drosophila* și tipul *Abraxas*.

Tipul *Drosophila*. Așa după cum arată și numele, acest tip cromozomal de determinare a sexului a fost studiat mai întâi la *Drosophila*. El se întâlnește însă și la alte insecte, viermi, moluște, echinoderme, pești, batracieni, mamifere și la unele plante.

La organismele ce se încadrează în acest tip de determinare a sexului, când are loc reducerea cromatică în timpul maturăției celulelor sexuale, toate ovulele primesc un cromozom X, pe când spermatozoizii, 50% primesc cromozomul X, iar 50% cromozomul Y. Oul ce va rezulta din fecundarea cu un spermatozoid ce posedă cromozomul X va fi femel (XX), pe când din ovulul fecundat de un spermatozoid cu cromozomul Y va rezulta un mascul XY. Schematic aceasta se poate prezenta în felul următor:

P ₁ (2n).....	♀ XX	x	♂ XY
Gameți (n).....	X		X și Y
F ₁ (2n).....	♀ XX	și	♂ XY

Tipul *Drosophila* cuprinde trei subtipuri:

- Subtipul *Lygaeus*, la care femela posedă doi cromozomi XX, iar masculul, unul X și altul Y. Este de fapt tipul clasic, cunoscut sub numele de tipul *Drosophila*;

- Subtipul *Protenor*, la care femela posedă cei doi cromozomi XX, iar masculul un singur cromozom X. Se întâlnește la ortoptere, miriapode, la viermii nematozi ș.a.

- Subtipul *Ascaris*, la care femelele posedă doi cromozomi XX, iar masculii un singur X, care nu este independent, ci atașat autozomilor.

Tipul *Abraxas*. Numele vine de la genul de fluturi la care s-a descoperit și studiat acest tip de determinare a sexului. În acest caz, sexul femel este heterogametic XY, iar cel mascul homogametic XX. Femelele (XY) formează ovule cu X și ovule cu Y, în timp ce masculii un singur fel de spermatozoizi, care primesc câte un cromozom X. După cum spermatozoidul, care posedă un cromozom X, va întâlni un ovul cu X sau Y va lua naștere un mascul (XX) sau o femelă (XY).

Determinarea schematică a sexului se poate nota astfel:

P_1 (2n).....	♀ XY	x	♂ XX
Gameți (n).....	X și Y		X
F_1 (2n).....	♀ XY	și	♂ XX

Tipul *Abraxas* cuprinde și el două subtipuri:

Subtipul *clasic* descris mai sus, la care femelele sunt heterogametice XY și masculii homogameticii XX;

Subtipul *deficiens*, la care, la sexul femel lipsește cromozomul Y și rămâne un singur X; masculii posedă cromozomii XX.

Acest tip de determinare a sexului îl întâlnim la păsări, la fluturi, la fragi ș.a. și este mult mai rar decât primul. Se mai numește și tipul *pasăre*.

Aceste două tipuri de determinare cromozomică a sexului au fost studiate mai bine. În afară de ele au mai fost descrise și alte tipuri întâlnite mai rar. Astfel, la unele insecte au fost descrise până în prezent existența unui număr mare de subtipuri.

5.3. SEXUL ÎN CAZUL ÎNMULȚIRII PARTENOGENETICE

Prin partenogeneză se înțelege dezvoltarea ovulului într-un individ complet, fără o fecundare prealabilă. La albină din ovulele nefecundate rezultă masculi, iar din cele fecundate mătcă și albine lucrătoare.

Determinarea sexului în cazul de față se face prin întreaga serie de cromozomi autozomi: $n = \text{♂}$, $2n = \text{♀}$. În procesul de formare a celulelor sexuale, reducerea numărului de cromozomi se

face numai la femele, de la 32 la 16. Pentru partenogeneză, determinarea sexului pentru femele s-a numit *diplogenetipică*, iar pentru masculi *haplogenetipică*.

5.4. DETERMINISMUL GENETIC AL SEXULUI LA PLANTE

Majoritatea plantelor superioare sunt hermafrodite, iar formarea elementelor sexuale este dictată de genele care se găsesc pe cromozomii autozomi.

La *Zea mays*, plantă tipic unisexuat monoică, s-au identificat mai multe gene care determină sexul. *W. R. Singleton și D. F. Jones (1930)* au identificat gena **ms₁**, situată pe cromozomul 6, ce determină *androsterilitatea*. Studiile ulterioare de genetică a porumbului au avut ca rezultat descoperirea altor gene implicate în determinarea sexului: - gena normală **Ts** determină formarea paniculului normal în timp ce gena recesivă mutantă **ts** în stare homozigotă (**ts₂ts₂**), inhibă formarea florilor masculine, paniculul transformându-se într-o inflorescență cu flori femele; - gena **Sk**, controlează formarea pistilului, alela **sk** în stare homozigotă (**sksk**) inhibă formarea acestuia; - gena **Ba** răspunde de formarea știuletelui, iar alela sa **ba** în stare homozigotă (**baba**) supresează formarea știuletelui.

Prin combinarea acestor gene pot rezulta o serie de genotipuri și fenotipuri, unele având importanță deosebită în procesul de ameliorare a porumbului.

De exemplu, genotipul **Ts₂ts₂sksk** produce plantă masculă cu panicul normal, știulete steril, fără pistile; genotipul **Ts₂Ts₂baba**, plante masculine cu panicul normal, dar fără știulete; **ts₂ts₂sksk**, plantă femelă cu pistile în panicul și știulete fără pistile; **ts₂ts₂baba** – plantă femelă cu pistile în panicul și fără știulete.

Dioicizarea plantelor monoice poate avea o importanță teoretică și practică deosebită.

La plantele dioice însă, mecanismul care asigură determinarea sexelor, separate pe indivizi deosebiți, este asemănător animalelor. La baza acestuia stă prezența cromozomilor sexului, descoperiți pentru prima dată de *C.E. Allen (1917)* la plantele de mușchi dioici *Sphaerocarpus donelli*. Indivizii femeli posedă în celulele somatice 14 cromozomi autozomi și cromozomii sexului XX, în timp ce acei masculi, 14 cromozomi autozomi și cromozomii sexului XY.

Mai târziu, cromozomii sexului au fost puși în evidență și la plantele superioare, cum sunt: *Melandrium album*, *Humulus lupulus*, *Elodea gigantea*, *Rumex acetosella* ș.a.

În ceea ce privește repartizarea cromozomilor sexului la cele două sexe, plantele se pot clasifica în mai multe categorii. După *Westergaard (1958)* mecanismele determinării sexelor se pot încadra în următoarele tipuri:

- Plante cu sexul mascul heterogametic (XY) și sexul femel homogametic (XX), situație întâlnită la tipul *Drosophila*. Din acest tip fac parte specii ca: *Melandrium album*, *Cannabis sativa*, *Humulus lupulus* ș.a.

- Plante cu sexul mascul heterogametic (XO) și sexul femel homogametic (XX) întâlnit la speciile *Discorea sinuata*, *Vallisneria spiralis* ș.a.

- Plante cu sexul mascul heterogametic, cu un cromozom în plus față de cel femel, întâlnit la speciile *Phoradendron villosum*, *Phoradendron flavescens* ș.a.

- Plante cu sexul femel heterogametic (XY) și sexul mascul homogametic (XX) aparținând speciilor *Fragaria elatior* ș.a.

- Plante cu sexul mascul heterogametic și sexul femel homogametic cu un cromozom sexual compus din mai mulți cromozomi legați sub formă de lanț cu formula, de exemplu, XY_1Y_2 și XX întâlnit la speciile *Humulus japonicus*, *Rumex hastatulus* ș.a.

Față de cele arătate mai sus trebuie menționat că unisexualitatea plantelor superioare nu este absolută. O analiză în acest sens a fost făcută de *C. Correns (1907)* folosind două specii de *Bryonia*: *Bryonia dioica* cu sexele separate, cu formula pentru sexul femel XX și sexul mascul XY și *Bryonia alba*, hermafrodită, cu formula XX.

Din încrucișarea intraspecifică a plantelor femele de *Bryonia dioica* cu plantele masculine tot cu *Bryonia dioica* a obținut 50% plante femele și 50% plante masculine, adică un raport între sexe de 1:1. Aceasta a dus la concluzia că la *Bryonia dioica* un sex este homogametic și altul heterogametic.

Încrucișând *Bryonia alba* (hermafrodită) ca formă maternă cu *Bryonia dioica* ca formă paternă a obținut în descendență plante dioice în raport de 50% plante femele și 50% plante masculine. Din încrucișarea inversă, folosind *Bryonia dioica* ca formă maternă și *Bryonia alba* ca formă paternă, a rezultat aproape exclusiv numai plante femele.

Rezultatele acestor încrucișări demonstrează că la *Bryonia dioica* sexul femel este homogametic, iar cel mascul heterogametic.

Spre deosebire de animale și în special la animalele superioare, unde există o strictă determinare a sexelor, la plantele superioare există specii dioice la care raportul de segregare între

sexe variază în limite relativ mari. Așa de exemplu, la *Humuls japonicus* sau *Humulus lupulus* predomină indivizii femeli. La cânepă, în anumite condiții, apare fenomenul de dublă sexualitate. Raportul dintre sexe poate fi favorabil unuia sau altuia dintre ele. Analizându-se inflorescențele la cânepă s-a constatat că plantele masculine pot forma și flori femele sau diferite forme tranzitorii între cele două sexe.

5.5. EREDITATEA CARACTERELOR LEGATE DE SEX

La hibridări, în general, nu are importanță dacă un caracter homozigot urmărit se găsește în autozomii mamei sau tatălui. Ei nu afectează într-un anumit mod segregarea caracterelor în descendență.

În cazul în care aceste caractere (gene) se găsesc în cromozomii sexului, caracterul eredității și al segregării este condiționat de mediul de comportare a cromozomilor sexului în meioză și mai apoi în procesul fecundării.

Deoarece cromozomul Y este inert – nu conține gene, genele care se găsesc în cromozomul X nu au pereche alelică. Ca urmare, distribuția lor este legată de distribuția acestor cromozomi.

Moștenirea caracterelor, care sunt localizate în cromozomii sexului se mai numește și ereditate legată de sex și ea se comportă diferit după cum organismele se încadrează în diferite tipuri de determinare a sexelor: *Drosophila* sau *Abraxas*.

Ereditatea legată de sex în cazul heterogamiei sexului mascul (*Drosophila*)

Pentru a ilustra în ce constă la organismele care au sexul mascul heterogametic și sexul femel homogametic, mecanismul de transmitere a caracterelor legate de sex, ne vom folosi de o experiență efectuată de T. Morgan la *Drosophila*.

El încrucișează masculul cu ochi albi (o formă mutantă) cu femelele cu ochi roșii (de tip sălbatic) și obține în prima generație în proporții egale, masculi și femele cu ochi roșii caracter dominant, culoarea albă fiind un caracter recesiv. Încrucișăți între ei, indivizii din F₁ produc în F₂ o segregare: după sex 50% femele și 50% masculi, iar după caracterul studiat, la trei indivizi cu ochi roșii se obține un individ mascul cu ochi albi (raportul 3:1). Notând cu w⁺ culoarea roșie a

ochilor, cu w culoarea albă a ochilor, iar cu linii verticale cromozomii sexului putem obține următoarea schemă (fig. 5.2.).

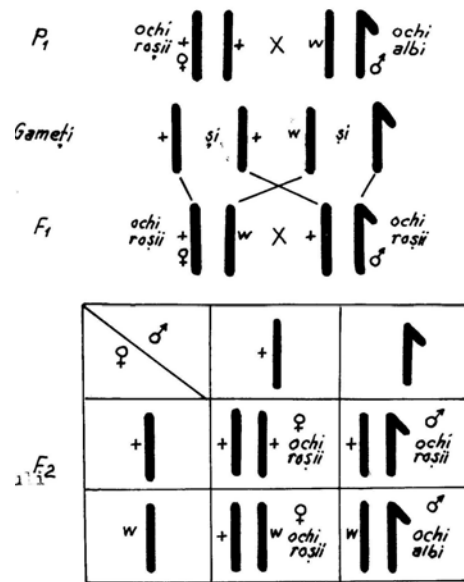


Fig. 5.2. Ereditatea caracterelor cuplate cu sexul (culoarea ochilor) în cazul heterogamiei sexului mascul.

Faptul că în această experiență apar masculi atât cu ochi roșii cât și cu ochi albi de dovedește că ei sunt heterogametici și formează două tipuri de gameți.

Să vedem ce se întâmplă când se încrucișează femelele cu ochi albi, cu masculii cu ochi roșii. Segregarea are loc deja în F_1 , unde se produc toate combinațiile posibile. Raportul între sexe pentru fiecare culoare a ochilor a fost 1:1. Prin încrucișarea între ei a indivizilor din F_1 , apar în F_2 femele și masculi 50% cu ochi roșii și 50% cu ochi albi (fig. 5.3.). În experiențele descrise se poate sesiza că genele care determină culoarea ochilor sunt situate în cromozomii X.

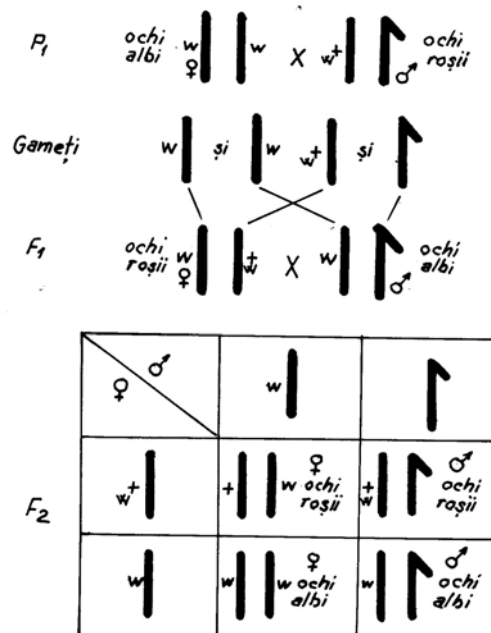


Fig. 5.3. Ereditatea caracterelor cuplate cu sexul la *Drosophila melanogaster* (încrucișarea reciprocă).

Din schemele prezentate reiese că dacă femela este homozigotă pentru gena dominantă a ochilor roșii aflată în cromozomul X, atunci culoarea roșie a ochilor se transmite în F_1 și masculilor. Femelele din F_1 primesc cromozomul X cu gena recesivă a culorii albe a ochilor de la tată, iar de la mamă al doilea cromozom ce conține gena dominantă a culorii roșii.

Sub influența genei ce produce culoarea roșie a ochilor toate femelele au ochii roșii. În F_2 prin combinarea diferită a gameților apar combinații arătate la prima experiență.

În cazul celei de a doua experiențe cu încrucișarea reciprocă, femelele primesc de la tată un cromozom cu gena dominantă a culorii roșii a ochilor și de la mamă un cromozom cu gena recesivă a culorii albe a ochilor.

Din această cauză femelele din F_1 au ochi roșii. Masculii din F_1 au ochi albi, deoarece primesc de la tată cromozomul Y care este inert, iar de la mamă un cromozom ce conține gena recesivă a culorii albe a ochilor. Gena, deși este recesivă se exteriorizează nefiind dominată de alte gene. Ea se găsește într-o singură doză, stare numită **hemizigotă**.

Moștenirea caracterelor legate de sex, de la mamă la fiu și de la tată la fiică, poartă denumirea de "*criss-cross*".

Schemele date pentru ereditatea culorii ochilor legată de sex la *Drosophila* sunt valabile și pentru alte caractere și alte specii a căror gene sunt situate pe cromozomul X la organismele la care sexul heterogamic se prezintă la mascul. Au fost studiate asemenea cazuri la insecte, pești, păsări, mamifere.

La om se cunosc unele încrucișări cuplate cu sexul: daltonismul, hemofilia ș.a. Deoarece sexul mascul la om este heterogamic, aceste boli se manifestă frecvent la acest sex.

CAPITOLUL 6

EREDITATEA EXTRANUCLEARĂ

Încă din secolul XX, cercetările au arătat că, alături de nucleu, și citoplasma prezintă un rol important în transmiterea caracterelor ereditare.

Prin fenomenul de ereditate extranucleară se înțelege moștenirea caracterelor și însușirilor organismului prin elementele citoplasmatic.

Pentru a pune în evidență rolul citoplasmei în ereditate, trebuie să arătăm care elemente anume posedă aceste însușiri, dacă au sau nu proprietatea de a se reproduce, de a se modifica și a transmite aceste modificări la generația următoare și care sunt metodele de cercetare.

S-a arătat într-un capitol anterior că în citoplasma celulei se găsesc diferite structuri care au rol genetic, fără a analiza însă în ce constă acest rol și cum poate fi pus el în evidență. Vom căuta să lămurim aceste probleme în capitolul de față.

6.1. METODE DE EVIDENȚIERE A EREDITĂȚII EXTRANUCLEARE

Ereditatea extranucleară se poate pune în evidență prin mai multe căi:

- fecundarea unui ovul anucleat cu un spermatozoid din altă specie (merogonie);
- hibridarea reciprocă;
- prin intermediul incluziunilor și organitelor citoplasmatic;
- testul heterocarion;
- segregarea nemendeliană.

6.1.1. Fenomenul merogoniei

Prin merogonie se înțelege formarea unui embrion prin fecundarea unui ovul anucleat cu un spermatozoid normal. Din fecundarea unui ovul anucleat cu un nucleu străin rezultă un zigot haploid, deoarece posedă nucleul patern, haploid și citoplasma maternă. Este foarte greu de a se obține, în astfel de cazuri, organisme mature deoarece zigoții, din cauza perturbării raportului dintre nucleu și citoplasmă, mor într-un stadiu timpuriu.

Primele indicații asupra existenței acestui fenomen au fost experiențele embriologului T. Boveri (1899). El s-a folosit de ovule de arici de mare, pe care le-a centrifugat puternic, astfel încât membrana lor s-a rupt, făcând loc nucleului să iasă afară. Aceste ovule anucleate au fost fecundate cu spermatozoizi de la o specie înrudită - crinul de mare. Larvele obținute erau haploide și conțineau, pe lângă caracterele tatălui și caracterele materne, transmise prin intermediul citoplasmei ovulului.

În afară de metoda centrifugării, nucleii din ovul pot fi îndepărtați și cu ajutorul micromanipulatorului, prin operații de microdisecție, sau cu ajutorul unei micropipete, prin aspirare.

O altă metodă folosită este distrugerea nucleilor din celule cu ajutorul șocurilor de temperatură, a radiațiilor ionizante, raze ultraviolete sau unor substanțe chimice.

Folosind unele din aceste metode I. Danielli și colab. (1957) au înlocuit nucleii de la *Amoeba discoides* cu nucleii de la *Amoeba proteus*. Nucleii transplantați au suferit influența citoplasmei străine, modificându-și forma în sensul nucleilor de la *Amoeba discoides*.

Cercetări interesante de acest gen s-au efectuat și cu specii din genul *Triton* (*Triton palmatus* și *Triton cristatus*) de către Paula Hertwig (1936, 1942), V. Curry (1931) ș.a., în care nucleii din ovule au fost distruși prin iradiere. Ereditatea citoplasmatică a fost pusă în evidență la embrionii proveniți prin fecundarea acestor ovule cu nucleii de la altă specie. Embrionii însă se dezvoltă numai până în faza de blastulă, apoi mureau.

Elvețianul E. Hadorn (1955) a reușit să înlăture acest neajuns procedând în felul următor: fecundează ovule anucleate de *Triton palmatus* cu spermatozoizi de la specia *T. cristatus*. Din embrionii rezultați a desprins o porțiune de epidermă și a transplantat-o pe embrionii unei specii de *T. alpestris*. Indivizii rezultați aveau porțiunea de epidermă transplantată, asemănătoare ca aspect și culoare cu aceea a lui *T. palmatus*. Citoplasma ovulului de *T. palmatus* și-a imprimat deci caracterele, epidermei transplantate la embrionul nou format.

6.1.2. Ereditatea extranucleară în hibridarea reciprocă

În încrucișările formelor îndepărtate (interspecifică și intergenerice), apare foarte frecvent fenomenul de matroclinie, prin care se înțelege transmiterea cu precădere a caracterelor materne. De aceea, la astfel de hibridări nu este indiferent care dintre cele două specii constituie forma maternă sau paternă.

Practica a demonstrat că la hibridarea dintre *Equus caballus* și *Equus asinus* se obțin hibridi a căror mărime și constituție este mai mult asemănătoare formei materne. Din hibridarea

dintre ♀*Equus caballus* și ♂*Equus asinus* rezultă catârul (*Equus mullus*), de mărimea și conformația lui *Equus caballus*, iar din hibridarea dintre ♀*Equus asinus* și ♂*Equus caballus* rezultă bardoul (*Equus hinnus*), de mărimea și conformația lui *Equus asinus*. Cei doi hibridi se deosebesc foarte mult prin mărime, culoare, forță ș.a., deși în celulele somatice au același număr de cromozomi ($2n=63$).

6.1.3. Testul heterocarion

Prin heterocarion se înțelege o celulă în care, pe lângă nucleul propriu, mai există inclus un nucleu străin. În urma includerii nucleului străin se formează un dicarion, o celulă cu doi nuclei. Fenomenul a fost pus în evidență la ciupercile inferioare, care se înmulțesc asexuat.

Realizări în această direcție au fost obținute de către R. E. Wright și J. Lederberg (1957) la drojdia de bere, *Saccharomyces cerevisiae*. Dacă notăm la o primă celulă nucleul cu A și citoplasma cu α , iar la a doua celulă nucleul cu B și citoplasma cu β , dicarionul format prin transferul nucleului B în celula α va deveni AB. În descendența acestuia vor rezulta celule cu A α și B α . Cu această ocazie se constată că celulele B manifestă caracteristici ale celulei A. Rezultă că aceste caracteristici sunt transmise prin citoplasma α și nu de nucleu (figura 6.1.).

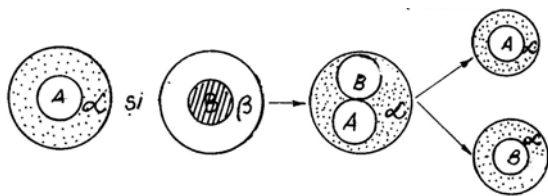


Fig. 6.1. Schema formării celulelor heterocarion

6.2. MANIFESTAREA EREDITĂȚII EXTRANUCLEARE

Tipurile de manifestare ale eredității extranucleare îmbracă diferite forme și ele depind de structurile din citoplasmă, care poartă și transmit caractere.

6.2.1. Ereditatea prin plastide

Primii cercetători care au pus în evidență ereditatea prin plastide au fost C. Correns (1909) și E. Baur (1910).

E. Baur a studiat ereditatea culorilor mozaiccate la *Pelargonium zonale*. Această plantă posedă frunze pestrițe (alb-gălbui cu verde). Observând la microscop secțiuni din aceste frunze se

constată existența unor grupe de celule cu plastide necolorate în epiderma și subepiderma frunzei, în timp ce în partea centrală a ei se găsesc plastide verzi (cloroplaste). La această plantă pot să apară, uneori, atât ramuri cu frunze pestrițe, cât și ramuri cu frunze cu frunze verzi sau albe. Executând polenizări încrucișate între flori de pe ramuri cu frunze diferite, el obține semințe care produc plante ce au caracterele frunzelor de la forma maternă.

Aceste încrucișări ne arată că transmiterea cloroplastelor la urmași se realizează prin citoplasma celulei-ou și într-o mică măsură de către spermatic, care are o cantitate mică de citoplasmă.

C. Correns descrie un caz de ereditate citoplasmatică la *Mirabilis jalapa*. Această plantă are ramuri cu frunze verzi, albe și mozaicate. El a efectuat polenizarea florilor de pe ramurile verzi, albe și pestrițe, cu polenul de la florile acestor trei tipuri. Plantele pe care le obține din semințe au purtat numai caracterul mamei în ceea ce privește culoarea frunzelor. Fenomene asemănătoare au fost observate la gura leului, patlagină, hamei ș.a.

O dovadă grăitoare că într-adevăr cloroplastele se transmit numai pe cale citoplasmatică este faptul că ele posedă un mecanism de autodedublare și o continuitate celulară. Plantele la care au fost distruse plastidele dau urmași fără plastide, nefiind capabile de a le sintetiza "de novo".

6.2.2. Ereditatea mitocondrială

Primele dovezi asupra localizării unor structuri ereditare (mutante) la nivelul mitocondriilor de la *Neurospora crassa* aparțin lui Mitchell (1952), iar la *Saccharomyces cerevisiae* lui Ephrussi (1953) și Slonimski (1953). Ulterior, s-au descoperit și alte tipuri de mutante, cum ar fi acelea ce conferă rezistența la antibiotice de la *Saccharomyces cerevisiae*.

Au fost studiate mai bine două mutante și anume: "petite" la *Saccharomyces cerevisiae* și "poky" la *Neurospora*. Aceste mutante se caracterizează printr-o creștere insuficientă a coloniilor, din cauza unor alterări ale enzimelor din mitocondrii implicate în procesele de respirație.

Analiza genetică a mutantelor de tip "petite" a dus la concluzia că, în cazul de față, acționează un factor citoplasmatic **R** (normal) sau **r** (deficiență respiratorie) și un factor nuclear **P** (normal) sau **p** (deficiență respiratorie). Acești factori acționează împreună. În stare normală o celulă haploidă va conține **RP**. După constituția lor genetică, coloniile "petite" pot fi de două

feluri: primele se numesc "*petite vegetative*" (**rP**). În stare diploidă, ele nu formează ascospori, dar hibridii rezultați din încrucișarea haploizilor normali și haploizi de tip "*petite vegetative*", se comportă normal și dau ascospori, fără a da prin segregare tipul "*petite*". S-a explicat acest rezultat presupunându-se că în citoplasma celulelor normale se găsesc factori ce lipsesc din citoplasma cu deficiență respiratorie. Hibridul haploid primește acești factori de la tipul normal; al doilea tip de colonii se numește "*petite segregante*". În acest caz, coloniile au fenotip identic cu acelea "*vegetative*", dar ele s-au format prin mutațiile genei nucleare **P** și au genotipul **Rp** sau **rp**. Prin încrucișarea unui haploid normal cu un haploid mutant "*petite*", prin formarea sporilor se produce o segregare de două celule normale la două celule "*petite*". Fenomenul poate fi explicat presupunând că factorul **Rp** din citoplasma celulei respective, în prezența genei nucleare **p** este nefuncțional, iar în prezența genei dominante **P** devine funcțional. O genă nucleară influențează deci, genele extranucleare.

6.2.3. Androsterilitatea citoplasmatică și nucleo-plasmatică

Androsterilitatea (sterilitatea masculă) este o însușire a plantelor de a nu produce polen sau de a produce polen steril. Fenomenul acesta este studiat foarte mult la porumb și are importanță pentru producerea hibridilor simpli și dubli, obținuți din încrucișarea liniilor consangvinizate.

Se cunosc trei tipuri de androsterilitate: nucleară (cromozomică), citoplasmatică și nucleo-plasmatică. Prima se cunoaște de multă vreme și a fost sesizată la multe plante. La porumb, Emerson, Beadle și Frase (1935) comunicau existența a mai mult de 25 gene ce produc androsterilitatea.

Această sterilitate nu a putut fi folosită în lucrările de ameliorare, deoarece, din cauza segregării, în descendență, apar și plante fertile.

Androsterilitatea ce se moștenește pe calea citoplasmei se transmite în descendență de către partenerul femel și ea se folosește în lucrările de ameliorare. A fost descoperită la o plantă sterilă de porumb de Peru de către Rhoades (1931, 1933). Încrucișând repetat descendențele cu aceeași formă paternă, nu s-a modificat în descendență caracterul de androsterilitate. S-a ajuns la concluzia că, în acest caz, androsterilitatea este determinată exclusiv de citoplasmă.

Totuși, Rhoades dă unele date, care ne arată că în unele cazuri, în urma polenizării libere la porumb, pot apărea în descendențe și plante fertile sau parțial fertile. Deci, acest caracter depinde și de genele nucleare, care intră în acțiune cu genele din citoplasmă (androsterilitate nucleo-plasmatică).

Numeroase linii care posedă polen fertil, prin încrucișare, produc forme cu polen steril. În aceste cazuri, genotipul nu influențează asupra caracterului de androsterilitate, moștenirea ei realizându-se pe calea citoplasmatică. Au fost totuși găsite linii cu factori genotipici capabili de a restabili fertilitatea polenului, în urma încrucișării cu forme, care dețin însușirea citoplasmatică de sterilitate.

Restaurarea fertilității. Se întâlnesc cazuri rare când androsterilitatea la porumb se moștenește numai prin citoplasmă, în mod independent față de genotip. Există cazuri când genotipul inhibă acțiunea citoplasmei ce produce sterilitatea polenului, precum și cazuri când, din contra, citoplasma poate influența genotipul, provocând androsterilitatea nucleară. Caracterul de androsterilitate este condiționat deci de interacțiunea dintre genotip și citoplasmă.

Cercetătorii Jones (1950), Rogers (1954) ș.a. au emis ipoteza că restabilirea fertilității polenului se datorește prezenței a două gene dominante prezente la linia care își restabilește fertilitatea.

După comportarea lor față de liniile sterile, liniile consangvinizate pot fi clasificate:

1. Linii fixatoare de sterilitate;
2. Linii restauratoare de fertilitate;
3. Linii semirestauratoare de fertilitate (semifixatoare de sterilitate).

Trebuie menționat că liniile consangvinizate de porumb se comportă în mod deosebit față de diferite tipuri de sterilitate. Uneori, aceeași linie poate fi restauratoare pentru un tip de androsterilitate și fixatoare pentru alt tip.

Pentru a urmări comportarea plantelor față de androsterilitate în funcție de acțiunea genelor din citoplasmă și nucleu, vom nota cu S gena ce produce sterilitatea, cu F gena ce asigură fertilitatea și cu R gena restauratoare de fertilitate (figura 6.2.)

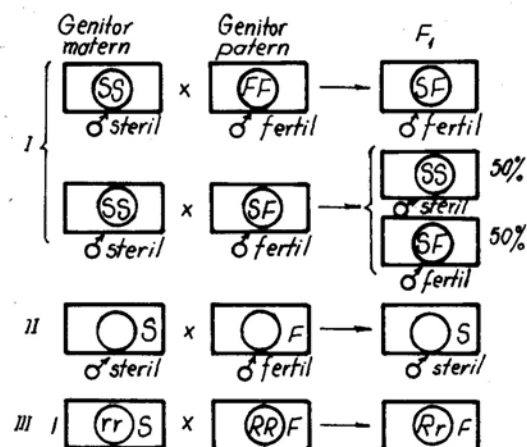


Fig. 6.2. Cele trei tipuri de androsterilitate: nucleară (I), citoplasmatică (II) și nucleo-plasmatică (III)

Folosirea androsterilității în producerea de hibrizi reduce lucrările de castrare a plantelor și cheltuielile de producție. Pentru producție se lucrează la obținerea de linii consangvine, acestea se încrucișează și formează hibrizi simpli, iar aceștia din urmă încrucișați produc hibrizi, dubli cultivați în producție.

În figura 6.3. este redată schema pentru obținerea de hibrizi dubli pe bază de androsterilitate.

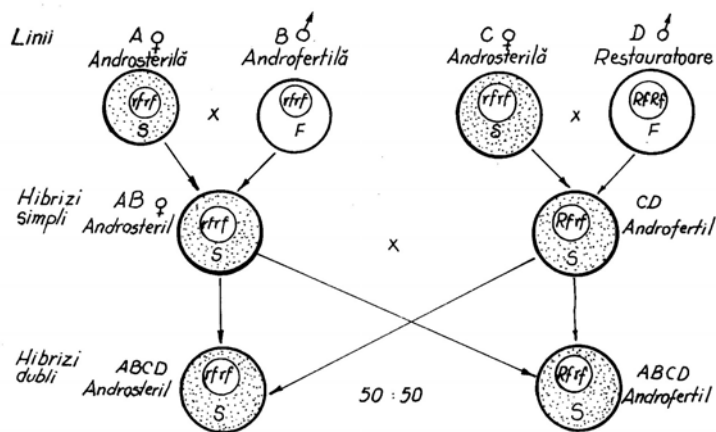


Fig. 6.3. Schema pentru obținerea de hibrizi dubli pe bază de androsterilitate

CAPITOLUL 7

MUTAȚII GENETICE

Noțiunea de mutație a fost introdusă de Hugo de Vries, înțelegând prin aceasta, o schimbare bruscă a însușirilor ereditare. E. Baur o definește drept o modificare ereditară, care a apărut în afara hibridării, iar E. Guyenot, o variație bruscă și ereditară, ce poate apare spontan sau sub influența unor factori experimentali.

Mutația este o însușire a materialului genetic și este tot atât de importantă ca și stabilitatea lui. Ea apare la toate organismele și alături de recombinarea genetică este principala sursă de variabilitate a lor.

7.1. CLASIFICAREA MUTAȚIILOR

Mutațiile se pot clasifica în mai multe tipuri, fiecare având la bază un anumit criteriu:

După modul de apariție, ele se împart în mutații naturale și mutații artificiale: mutațiile naturale, numite și spontane, apar în condițiile din natură, fără nici o influență din partea omului. Datorită faptului că mediul totalizează o mare complexitate de factori ce influențează organismul este foarte greu de a descoperi cauzele ce determină apariția acestor mutații; mutațiile artificiale, numite și induse, sunt provocate de om cu ajutorul diferiților agenți mutageni.

După capacitatea de expresie fenotipică (mărimea lor), ele pot fi mari sau mici: mutațiile mari (macromutațiile) se deosebesc prin caracterul lor net vizibil, ceea ce face ca ele să fie foarte ușor sesizate; mutațiile mici (micromutațiile), spre deosebire de primele, sunt greu perceptibile, dar mai frecvente și cu un rol important în evoluție.

După acțiunea genei mutante, mutațiile pot fi morfologice, fiziologice sau biochimice: mutațiile morfologice afectează trăsăturile morfologice ale organismelor, de formă, mărime, culoare etc. și sunt ușor detectabile vizual; mutațiile fiziologice produc schimbări în procesele fiziologice, cum ar fi ritmul de creștere, perioada de vegetație, rezistența la boli ș.a.; mutațiile biochimice determină modificarea cantitativă sau calitativă a componentilor chimici din organism, organisme ce acumulează anumite substanțe de rezervă sau toxice, organisme ce nu pot sintetiza anumiți compuși ș.a.

După natura substratului material al eredității, mutațiile sunt: genice, cromozomice, de genom, citoplasmatic: mutațiile genice (punctiforme) provoacă modificarea genei fără a produce o schimbare în morfologia cromozomului. Ele se referă la schimbări de structură chimică. O alelă se transformă în alta, fără a schimba locus-ul în cromozom; mutațiile cromozomice se referă la restructurările ce pot avea loc în cromozom (deficiență, deleție, inversie, translocație, translație); mutațiile de genom privesc variația numărului de cromozomi; plasmomutațiile sunt mutațiile plasmonului, a structurilor ereditare din citoplasmă.

După originea lor, mutațiile pot fi germinale și somatice: mutațiile germinale apar în celulele sexuale și ele se manifestă în zigoții la a căror formare participă; mutațiile somatice apar în celulele somatice. Cu cât ele apar mai devreme, cu atât vor afecta o porțiune mai mare de organism. Pentru organismele la care țesutul reproducător se diferențiază foarte devreme, aceste modificări nu pot deveni ereditare și dispar odată cu individul. La organismele cu înmulțire vegetativă ele se pot menține pe cale vegetativă și pe cale sexuată când din țesuturile somatice afectate se dezvoltă celule sexuale, purtătoare a acestor mutații.

După direcția lor, mutațiile pot fi progresive (mutații înainte) și mutații de reversie (mutații înapoi): mutațiile progresive conțin o modificare nouă față de materialul inițial; în mutațiile de reversie, mutantul revine la caracterul normal.

7.2. MUTAȚIILE SPONTANE

Apariția bruscă a unor indivizi deosebiți, în cadrul unei populații cu posibilități de a transmite modificarea lor la urmași, a fost sesizată încă de foarte mult timp. Unele mutații, mai deosebite, au rămas înscrise în diferite lucrări. Așa este cazul unei mutații descoperită în sec. XVI de către farmacistul german Sprenger din Heidelberg, la planta *Chelidonium majus*. Un individ avea frunzele și petalele laciniate (spintecate), caracter care a apărut brusc și s-a transmis ca atare. Noua formă a fost denumită *Chelidonium laciniatum* și a fost menținută prin autofecundare. La fragi există o mutație descoperită de Duchesne (1763), care are frunza compusă dintr-o singură foliolă, numită și fragul monofil.

Darwin, în lucrarea sa "Variația animalelor și plantelor sub influența domesticirii" (1868), descrie diferite mutații pe care le denuște *sporturi*. Se folosește de apariția unui piersic, care avea frunzele netede, de apariția unui prun cu fructe de culoare galbenă ș.a. La animale citează numeroase mutații: rasa de vite Nistos, cu maxilarul superior mai scurt decât cel

inferior, asemănător câinilor buldogi, rasa de oi Ancona cu picioare foarte scurte, păuni cu umeri ce au pene de culoare neagră ș.a.

În afară de aceste mutații, există foarte multe exemple acumulate în literatura de specialitate: câinii basseți, cunoscuți cu 3000 de ani î. C., merinosul de Maüchamp cu lâna puțin ondulată, dispariția coarnelor la oi, taurine și capre, porcii solipezi, care au o singură copită și nu se îmbolnăvesc de febra aftoasă, rasa de oi chineză Yang-ti, fără urechi, porumbeii rotați, gulerăți, moțați, fluturi de culoare neagră ș.a.

7.3. MUTAȚIILE ARTIFICIALE

Odată cu descoperirea unor factori ce pot fi folosiți de om în obținerea de mutații, interesul oamenilor de știință pentru studiul acestora și a efectelor pe care le produc asupra organismelor a crescut foarte mult. Paralel cu acest studiu s-au elaborat și s-au perfecționat și metodele pentru producerea de mutații, denumite și induse.

Dintre factorii mutageni folosiți de către om pentru prima dată au fost razele X. În anul 1925, G.A. Nadson supunând ciuperci inferioare la acțiunea razelor X a obținut mutații.

O dovadă mai convingătoare a acțiunii mutagene a razelor X și gamma a fost obținută de G. Muller în 1927 și 1928 la *Drosophila*. Rezultatele le publică în lucrarea "Transmutația artificială a genei". Tot în această perioadă, L. J. Staddler, în 1927-1929 obține tot cu ajutorul radiațiilor, mutații la orz, porumb și tutun.

Descoperirea efectului mutagen al radiațiilor a deschis calea unor bogate cercetări științifice, cu însemnătate atât din punct de vedere teoretic, cât și practic.

T. H. Morgan și școala sa au obținut la *Drosophila* peste 500 de forme mutante (figura 7.1.)

Dintre agenții mutageni folosiți de om și mai bine studiați fac parte: radiațiile, temperatura și unele substanțe chimice. Ultimele au fost folosite mai mult și cu succes în obținerea de mutații.

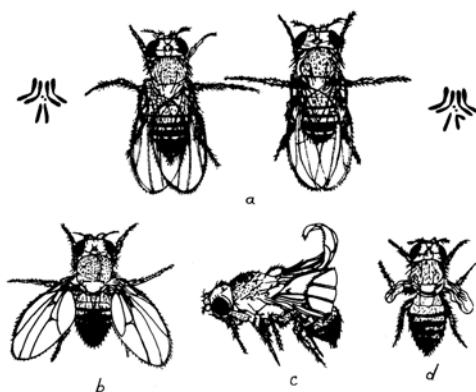


Fig. 7.1. Indivizi normali de *Drosophila melanogaster* (a) și diferite mutante (b, c, d)

7.3.1. Radiațiile mutagene

Radiațiile electromagnetice au o gamă de lungimi de undă foarte întinsă care variază de la 10^{-3} m cât au razele gamma, până la peste 1 m, cum este cazul undelor herțiene. Între aceste limite se găsesc razele X, razele ultraviolete (UV), razele infraroșii.

Radiațiile mutagene sunt radiațiile care produc mutații și din ele fac parte: radiații ionizante electromagnetice (razele X și gamma); radiații ionizante corpusculare (raze α , β , protoni, neutroni, diferite particule grele); radiații neionizante (razele ultraviolete).

Razele X și gamma, prin energia lor absorbită, provoacă ionizări în țesuturile plantei și modifică metabolismul celular. Razele X sunt foarte mult folosite, deoarece aparatele Röntgen sunt mai ușor utilizabile. Pentru iradierea cu raze gamma se folosește cobaltul radioactiv. Razele gamma sunt mai penetrante decât razele X.

Razele beta (β) sunt formate din electroni eliberați de radioizotopi de P^{32} și S^{35} . Cu aceștia se realizează soluții radioactive, în care se introduc semințe uscate sau germinate.

Neutronii sunt particule neutre din punct de vedere electric, rezultați din dezintegrarea atomilor. Ei acționează prin curentul dens și ionizant de protoni de hidrogen. Efectul iradierii cu neutroni este mai puternic, cu cât elementele celulei au o structură mai densă (plastide, nuclei și cromozomi).

Razele ultraviolete (UV) fac parte din spectrul solar invizibil, sunt constituite din fotoni cu o lungime de undă între 136 Å și 4000 Å. Absorbite de organism, transformă energia lor în reacții chimice, provocând diferite efecte genetice. Ele au o mică putere de pătrundere și sunt absorbite la suprafața țesuturilor.

În lucrările de genetică se folosește mai frecvent acțiunea mutagenă a razelor X, gamma și a neutronilor termici. Studiul și folosirea radiațiilor în genetică a dus la fundamentarea unei noi ramuri a biologiei - radiogenetica - care, în ultimul timp, a căpătat o amploare foarte mare.

7.3.2. Temperatura

Temperatura este un agent mutagen slab. Acțiunea ei a fost sesizată în special la *Drosophila*. Odată cu ridicarea temperaturii la care sunt crescute muscuțiile, frecvența mutațiilor crește. Dar cu creșterea sau scăderea treptată a temperaturii, frecvența mutațiilor crește neînsemnat. Mult mai eficiente sunt șocurile de temperatură, aplicate pentru o perioadă scurtă de timp.

Prin tratarea larvelor de *Drosophila* cu temperaturi de 36-38°C timp de 12-24 ore, frecvența mutațiilor letale crește de două ori față de acele crescute la temperaturi normale. Dacă șocul corespunde temperaturilor scăzute de -6°C timp de 25-40 minute, frecvența mutațiilor crește de trei ori față de acele crescute la temperaturi normale.

7.3.3. Substanțele chimice mutagene

Acțiunea mutagenă a unor substanțe a fost pusă în evidență mai ales în ultimele decenii. Oehlkers, în 1943 descoperă acțiunea de dezintegrare a cromozomilor de *Oenothera* prin tratarea acesteia cu uretan. Primele rezultate s-au obținut prin tratarea *Drosophilei* cu iperită (gaz muștar), prin înregistrarea letalelor legate de sex. S-a obținut până la 24% spor de letalitate. Ulterior, s-au obținut rezultate și la plantele superioare, la ciuperci și microorganisme.

Principalii agenți mutageni chimici sunt: agenții alkilanți, acidul nitros, hidroxilamina, acridinele etc.

Agenții alkilanți, dintre care face parte și iperita, se numesc astfel, deoarece conțin un radical numit alkil (metil, etil, propil), care poate fi transferat nucleotidelor. Majoritatea lor opresc diviziunea mitotică, de aceea sunt folosiți și în tratamentul cancerului. Ei intră în reacție cu molecula de ADN, unde pot produce următoarele modificări: ruperea coloanei glucido-fosforice, alkilarea bazelor azotate, depurinizările moleculei de ADN, blocarea mitozei prin formarea unei legături transversale intercatenare. Efectul mutagen al agenților alkilanți a fost pus în evidență la bacterii, *Drosophila melanogaster*, *Neurospora crassa*, *Vicia faba* ș.a. Substanțele alkilante acționează în perioada S a ciclului mitotic.

Acidul nitros (HNO₂) este un agent mutagen care acționează asupra bazelor purinice și pirimidinice, dezaminându-le. S-a arătat că prin tratarea ARN din virusul mozaicului tutunului cu acid nitros, se produce dezaminarea bazelor azotate și adenina a trecut în hipoxantină, guanina în xantină și citozina în uracil.

Aceste treceri au repercusiuni asupra blocării biosintezei unei enzime și în consecință asupra unei proteine.

Hidroxilamina (NH_2OH) acționează în special asupra citozinei, care face parte din bazele pirimidinice. Ea provoacă o dezaminare a citozinei și transformarea ei în uracil. A fost experimentată asupra virusului mozaicului de la tutun, asupra fagului T_4 .

Acridinele sunt coloranți bazici care produc mutații, acționând asupra moleculelor de ADN, dar ale căror mecanisme nu sunt încă bine elucidate.

În afară de substanțele arătate mai sus se mai cunosc și altele cu acțiune mutagenă: hidrazina, formaldehida, clorura de mangan, peroxizii organici, apa oxigenată, clorura feroasă ș.a.

7.3.4. Factorii mutageni biologici

Cercetările care s-au efectuat în ultimii ani la microorganisme au scos în evidență că virusurile și micoplasmele produc mutații la plante și animale. Se cunosc ribovirusurile care produc sarcomul la găini și leucemia la păsări și mamifere. Dintre dezoxiribovirusuri pot fi menționate: virusul poliomei sau virusul oncogen.

Teoria virotică a cancerului uman câștigă tot mai mult teren. Este vorba de ribovirusuri defective, care se integrează în cromozomii umani. Dar pătrunderea virusurilor în celulă determină restructurări cromozomice, pulverizări cromozomice. Sunt citate chiar și apariții de mutații genice.

Micoplasmele, cele mai mici organisme, de dimensiuni cuprinse între cele mai mari virusuri și cele mai mici bacterii, capabile și de viață independentă, introduse în culturi de celule produc restructurări și pulverizări cromozomice. La nivel molecular sinteza ADN micoplasmic oprește sinteza ADN din celula gazdă.

7.4. MECANISMUL MOLECULAR AL MUTAȚIILOR

Deoarece, un anumit tip de secvență este purtătorul unei anumite informații ereditare, orice influență care ar schimba această secvență, schimbă și conținutul informației. În procesul de diviziune al celulei această schimbare se va transmite și celulelor fiice.

Se cunosc astăzi unele substanțe chimice, care, venind în contact cu organismele sau numai cu acizii nucleici extrași din ele, modifică structura acestora și fac să apară mutații. Schimbările se produc în anumite regiuni ale moleculei și nu au nimic comun cu restructurările cromozomice ce se produc la cromozomi.

Schimbarea secvenței nucleotidelor se referă de fapt la schimbarea bazelor azotate, acestea constituind elementul mobil. Există mai multe modalități de schimbare a lor: substituția, deleția, adiția și inversia.

Prin substituție, se înțelege înlocuirea unei baze purinice sau pirimidinice printr-o altă bază purinică sau pirimidinică. Dacă această înlocuire are loc numai într-o catenă, odată cu replicarea moleculei, înlocuirea se va transmite și în catena complementară. Înlocuirea este și ea de două tipuri: a) când o bază purinică este înlocuită tot cu o bază purinică, iar una pirimidinică tot cu una pirimidinică, ea mai poartă numele de *tranziție* (de exemplu se înlocuiește adenina cu guanina sau timina cu citozina); b) când o bază purinică este înlocuită cu o bază pirimidinică sau invers, poartă numele de *transversie*.

Deleția este pierderea unuia sau mai multor nucleotide, modificând mesajul genetic. Adiția este adăugarea unuia sau mai multor nucleotide în cadrul secvenței inițiale, iar inversia este schimbarea ordinii unui număr de baze într-un segment al catenei din molecula de ADN.

Pentru a da o explicație diferitelor tipuri de modificări structurale a ADN, Watson și Crick au emis teoria copierii greșite în procesul de replicare a ADN. Schimbarea de secvență a unei baze va comanda în procesul de sinteză, baza corespunzătoare, cu care se va lega catena nouă, complementară. Această nouă ordine va fi copiată și la o nouă replicare a moleculei de ADN.

Mutații ale acizilor nucleici s-au obținut prin acțiunea cu diferiți agenți mutageni, fie asupra organismului, fie direct asupra acizilor nucleici. În cazul radiațiilor ionizante, mecanismul de obținere a mutațiilor la nivel molecular nu este încă complet elucidat. Există numai ipoteze, care susțin că acestea produc ruperi ale moleculei de ADN, urmate de realipirea fragmentelor în diferite poziții. Razele ultraviolete cu lungimea de undă de 2600 Å acționează asupra bazelor purinice și pirimidinice. S-a demonstrat acest lucru, acționându-se direct asupra acestor baze. S-a constatat că acestea sunt sensibile la tratamentul cu raze ultraviolete și se descompun în mod diferențiat. Temperaturi anormale pot produce alterări în molecula de ADN: disocierea și depurinizarea catenelor de ADN.

PARTEA II

AMELIORAREA PLANTELOR

CAPITOLUL 8

NOȚIUNI INTRODUCATIVE

8.1. OBIECTUL, CONȚINUTUL ȘI IMPORTANȚA AMELIORĂRII PLANTELOR

Din momentul în care agricultura a devenit o activitate conștientă, omul a sesizat neuniformitatea plantelor în cadrul unor populații luate în cultură, fiind tentat să *selecteze* pentru viitorul ciclu de cultură indivizii cu o productivitate sporită, rezistenți la boli și dăunători, secetă sau temperaturi coborâte etc. Pentru satisfacerea nevoilor sale, omul a fost preocupat în permanență de îmbunătățirea formelor pe care le cultiva.

După apariția geneticii ca știință de sine stătătoare, omul și-a dat seama că unele caractere ereditare pot fi recombinate, reunite la nivelul unui individ, obținând o formă care întrunește mai multe caractere utile, deci o formă ameliorată, conturându-se o nouă știință denumită *ameliorarea plantelor*.

Termenul "amelioare" provine din latină (*ad*-"la" și *melior*-"mai bine"), fiind folosit cu sensul de îmbunătățire.

Obiectul ameliorării plantelor este crearea de forme noi, superioare celor existente la un moment dat, exploatând variabilitatea și ereditatea caracterelor, dar și multiplicarea acestora pentru menținerea unei valori biologice ridicate și satisfacerea cerințelor cultivatorilor.

Formele noi la care facem referire sunt soiurile și hibridii existente în cultură, la majoritatea speciilor cultivate. În sens strict, ameliorarea plantelor este știința creării de soiuri (hibridi) și înmulțirea (multiplicarea) lor.

Soiul este o grupare de indivizi asemănători morfologic, fiziologic, biochimic și reacție la factorii de mediu, cu o stabilitate genetică cât mai mare în timp.

Hibridul este o sumă de indivizi cu caracteristici comune, obținut prin încrucișarea a două forme parentale, caractere care, în generația F₁, manifestă *heterozis*.

Fiind o disciplină agrobiologică aplicativă, conținutul ameliorării plantelor este un ansamblu de principii, metode și tehnici folosite în crearea de soiuri și hibrizi, producerea de semințe și particularitățile ameliorării principalelor specii cultivate.

Importanța ameliorării plantelor este unanim recunoscută și argumentată astfel:

- noile soiuri și hibrizi contribuie la sporirea producției agricole, fără investiții suplimentare, micșorându-se prețul de cost;
- soiurile și hibrizii nou creați valorifică superior elementele chimice din sol, apa și factorii ce țin de mecanizare;
- însușirile fiziologice superioare, plasticitatea ecologică superioară, permit extinderea în cultură a soiurilor și hibrizilor, în noi regiuni;
- asigură o nutriție mai abundentă și rațională a omenirii;
- se economisesc importante surse energetice și se combate poluarea mediului înconjurător.

8.2. Legătura ameliorării plantelor cu alte discipline

Ca știință agrobiologică, ameliorarea plantelor este indisolubil legată de majoritatea științelor biologice, dar vine în contact și cu altele, cum ar fi matematica.

Legile eredității și variabilității organismelor, modul de reproducere al acestora, au stat la baza elaborării metodelor proprii de cercetare a ameliorării plantelor, încât se poate afirma că aceasta este o *genetică aplicată*.

Identificarea formelor cu rezistență genetică la boli și dăunători presupune cunoașterea ciclului biologic al acestora, modul de atac, pagubele posibile, ceea ce presupune o interacțiune între ameliorare, fitopatologie și entomologie.

Cunoștințele generale referitoare la creșterea și dezvoltarea plantelor, determinismul elementelor de productivitate, metabolismul, rezistența la factorii de stres, sunt furnizate amelioratorului de fiziologie și biochimie.

Botanica și ecologia sunt științe indispensabile pentru ameliorare, deoarece furnizează informații privind taxonomia și originea materialului biologic, biologia înfloritului, modul de reproducere al plantelor.

Tehnologia de cultură, diferențiată pentru un anumit soi (hibrid), precum și cea pentru producerea seminței, domeniul fitotehnicii, nu este neglijată de ameliorator.

În procesul de ameliorare, valorile individuale ale măsurătorilor biometrice sunt interpretate științific cu ajutorul metodelor elaborate de matematică (biometrie).

8.3. Scurt istoric al ameliorării plantelor

Plantele de cultură își au originea în specii sălbatice, care s-au format în așa numitele centre de origine, noțiune introdusă de N. I. Vavilov (1935). Frecvent se folosește și noțiunea de centru genic, prin care înțelegem acele zone ale Terrei cu o mare diversitate de forme cu o frecvență maximă pentru o anumită specie cultivată.

S-au conturat două etape în ameliorarea plantelor: etapa ameliorării empirice și cea a ameliorării științifice.

Etapa ameliorării empirice, a început acum 7000-8000 de ani, când omul a făcut primele alegeri ale plantelor, după criteriile morfologice, păstrând pentru cultură "planta mai bună". Rezultatul acestor selecții artificiale s-a concretizat prin crearea *soiurilor locale* sau *autohtone*, la speciile cultivate într-o anumită zonă.

Etapa ameliorării științifice, a început în secolul al XIX-lea, prin crearea în mod deliberat, prin metode științifice a unor forme noi, cu o mai bună capacitate de producție, cu o bună rezistență la factorii de stres.

În timp, omul a constatat că variabilitatea naturală a caracterelor este limitată și a început să provoace variabilitatea artificială prin diverse metode, hibridarea fiind prima folosită.

Descoperirea legilor transiterii ereditare a caracterelor de Gregor Mendel (1822-1884), a constituit piatra de temelie a geneticii, contribuind și la perfecționarea lucrărilor de ameliorare.

Un alt moment hotărâtor în dezvoltarea ameliorării, l-a constituit teoria cromozomică a eredității elaborată de T. H. Morgan (1866-1945). Au început să fie inițiate alte metode moderne de ameliorare: consangvinizarea și utilizarea heterozisului, crearea artificială a formelor mutante (mutații genice, cromozomice și de genom), transferul interspecific al genelor pentru realizarea de organisme modificate genetic sau organisme transgenice.

În zilele noastre s-au elaborat metode moderne de studiu a fondului de germoplasmă, mergându-se până la secvențializarea nucleotidelor din ADN, deci identificarea genelor responsabile de determinarea caracterelor ereditare.

Problema conservării genetice a speciilor vegetale, identificarea și colectarea unui imens material inițial de ameliorare a fost o altă realizare a oamenilor de știință prin crearea a unor

unități speciale denumite bănci de gene. În România, prima bancă de gene s-a înființat la Suceava, în anul 1985.

CAPITOLUL 9

OBIECTIVELE AMELIORĂRII PLANTELOR

Soiuri (hibridi) care să întrunească un număr nelimitat de însușiri favorabile și cu o durată de conservare foarte îndelungată nu există. De aceea, crearea unui soi (hibrid) nou cere, în primul rând, depășirea sortimentului existent, cu o serie de caracteristici, care să-l facă competitiv. Aceste caracteristici, care-i conferă competitivitate, reprezintă obiective de ameliorare, care alcătuiesc programe de ameliorare.

Principalele obiective de ameliorare a plantelor agricole sunt: capacitatea de producție, calitatea, rezistența la boli și dăunători, durata perioadei de vegetație, rezistența la cădere și scuturare, rezistența la temperaturi coborâte, rezistența la secetă, reacția la irigare, la lucrările mecanice.

9.1. AMELIORAREA CAPACITĂȚII DE PRODUCȚIE

Sporirea capacității de producție este cel mai important obiectiv al ameliorării, deoarece potențialul biologic al *cultivarului** condiționează nivelul întregii producții agricole.

Capacitatea de producție este o însușire complexă, determinată de factori intrinseci și de factori de influență.

Factorii intrinseci sunt reprezentați de elementele capacității de producție, caracteristice fiecărei specii, condiționate de procese fiziologice și biochimice (capacitatea de asimilare, depunerea asimilatelor, sintetizarea substanțelor utile, conținutul acestora etc.)

Factorii de influență, reprezentați de rezistența la boli și dăunători, la factorii nefavorabili de mediu, condiționează în mare măsură valoarea cantitativă și calitativă a elementelor de productivitate.

* Cultivar - soiuri și hibrizi.

Mărirea intensității de exprimare a elementelor de productivitate determină, în final, sporirea capacității de producție.

Elementele de productivitate, în majoritate caractere cantitative, sunt determinate poligenic, fiind influențate într-o măsură mai mare sau mai mică de factorii de mediu, prin urmare, ameliorarea capacității de producție este anevoioasă și de durată.

Idealul ar putea fi atins în sporirea capacității de producție și stabilitatea acesteia, dacă odată cu realizarea unor genotipuri noi, cu valori ridicate ale elementelor de productivitate, acestea să aibă și o bună rezistență la factorii de influență.

Ameliorarea capacității de producție, obiectiv mereu în actualitate, presupune o activitate complexă pentru studiul germoplasmei mondiale, pentru identificarea de noi gene responsabile de valoarea elementelor de productivitate, crearea unor gene noi, prin mutație sau sinteză artificială, acumularea genelor valoroase prin hibridare, transferul de gene, mărirea

plasticității ecologice, ruperea unor corelații negative dintre unele caractere cantitative și cele calitative.

9.2. AMELIORAREA CALITĂȚII

Calitatea produselor agricole este la fel de importantă, dacă nu chiar mai importantă, decât capacitatea de producție.

Înșușire complexă, calitatea este dată de conținutul în substanțe utile, natura compușilor biochimici, însușirile tehnologice, însușirile culinare.

Principalele grupe de substanțe utile, urmărite în procesul de ameliorare sunt: proteinele, lipidele și hidrații de carbon. Sursa principală de proteină, cu condiția realizării și a unei capacități de producție ridicate, o constituie crearea de cultivare, care să acumuleze în producția finită o cantitate cât mai mare la unitatea de suprafață.

Conținutul proteic este determinat genetic, dar influențat în mare măsură de condițiile ecologice și tehnologice. Este posibilă creșterea conținutului de proteină brută prin inducerea unor mutații, care rup corelația negativă dintre conținutul de proteine și capacitatea de producție.

Conținutul de lipide este dependent, în mare măsură, de factorii de mediu, însă există o mare variabilitate genetică în cadrul speciilor vegetale, care poate fi folosită în direcția creșterii acestuia.

Ridicarea conținutului în hidrați de carbon prezintă importanță la cerealele destinate fabricării amidonului, dextrinei, alcoolului etilic, berei etc.

În ameliorarea conținutului în substanțe utile amelioratorul se lovește de existența unor corelații genetice negative între producția de semințe și conținutul chimic (procentul de proteină mare din grâu-producție mică, nivel proteic ridicat la porumb-producție mică, conținutul de proteine-conținutul de ulei la porumb, floarea soarelui, soia etc.).

Calitatea depinde și de natura compușilor chimici, cum ar fi tipurile de aminoacizi esențiali din proteina brută (lizină, metionină, triptofan etc.), dar și de însușirile tehnologice și culinare. O mare importanță pentru grâu, prezintă însușirile de morărit și panificație, la orzul pentru bere, conținutul în amidon, la floarea soarelui, sporirea conținutului în acid linolenic, la leguminoasele pentru boabe, procentul de tegumente, capacitatea și uniformitatea de fierbere etc.

9.3. AMELIORAREA REZISTENȚEI LA BOLI ȘI DĂUNĂTORI

Rezistența la boli este condiționată genetic, oligogenic sau poligenic, la fel și reacția patogenului.

Rezistența la boli este de două tipuri: rezistența verticală și rezistența orizontală.

Rezistența verticală se manifestă atunci când un nou cultivar manifestă o rezistență activă la o anumită rasă fiziologică a patogenului, față de o altă rasă a aceluiași patogen. De obicei controlul genetic este oligogen, mai rar poligen. Rezistența verticală are o durabilitate redusă, în sensul că se menține până când agentul patogen nu dezvoltă o nouă rasă fiziologică.

Rezistența orizontală, denumită și permanentă sau rezistență stabilă, se realizează pe parcursul filogenezei plantă-parazit, când planta, în contact permanent cu parazitul, și-a creat o rezistență la materialul inițial, neameliorat, din flora spontană, fiind slabă la formele nou create. Determinismul genetic este poligenic, uneori fiind implicate sute sau mii de gene.

Proliferarea rapidă a agenților patogeni are numeroase cauze (N. Ceapoiu, 1977):

- introducerea în cultură a cultivarelor intensive, la care se exprimă la nivel înalt capacitatea de producție și mai puțin rezistența la boli;

- cultivarea pe suprafețe mari a unui număr mic de soiuri, care poate favoriza răspândirea rapidă a unei noi rase a patogenului;

- migrarea din zonele cu inocul primar a noilor rase fiziologice;

- apariția de noi rase fiziologice prin recombinații genetice, mutații etc;

- nerespectarea asolamentelor, aplicarea de doze mari de îngrășăminte cu azot;

- utilizarea pe scară largă a rezistenței verticale, în detrimentul celei orizontale.

Pentru evitarea pagubelor produse de boli sunt două soluții:

- perfecționarea mijloacelor de combatere chimică;

- crearea de noi cultivare cu rezistență sporită.

Desigur, optăm pentru cea de-a doua soluție, fiind economică și nepoluantă.

Dăunătorii cei mai redutabili ai plantelor agricole sunt insectele, care cuprind aproape 700000 specii, au o mare capacitate de adaptare, prolificitate extraordinară, adaptabilitate la mediu.

Insectele dăunătoare s-au răspândit foarte mult datorită unor cauze cunoscute:

- distrugerea unor ecosisteme naturale;

- cultivarea unui număr mic de specii pe arii întinse;

- folosirea irațională a unor cantități mari de insecticide care duc la proliferarea unor forme mai bine adaptate și mai virulente;

- "importul" unor insecte, fără a se aduce și inamicii lor naturali.

Ameliorarea rezistenței la dăunători este dificilă, dar justificată economic. Mari companii producătoare de insecto-fungicide sunt preocupate de crearea unor soiuri transgenice, rezistente sau imune la boli și dăunători.

9.4. AMELIORAREA PRECOCITĂȚII

Scurtarea perioadei de vegetație prezintă importanță pentru unele zone ale țării și pentru majoritatea speciilor cultivate:

- soiurile de grâu mai precoce nu șiștăvesc și nu sunt atacate de rugina neagră;
- hibridii de porumb mai precoci pot fi extinși în zonele mai răcoroase și constituie o mai bună premergătoare pentru grâu;
- soiurile de fasole pentru boabe formează bobul în condiții de temperaturi moderate atunci când perioada de vegetație este mai mică;
- cartoful timpuriu contribuie la completarea alimentației pentru perioada de vară.

Durata de vegetație este o însușire complexă, care cuprinde mai multe componente elementare, în ontogeneza fiecărei specii.

Perioada de vegetație a plantelor se comportă de cele mai multe ori ca o însușire transgresivă. Cea mai bună cale de cercetare genetică a precocității o constituie hibridările dintre formele precoce și cele tardive, formele care apar putând fi intermediare, dar pot depăși limitele celor doi părinți.

9.5. AMELIORAREA REZISTENȚEI LA CĂDERE ȘI SCUTURARE

Mecanizarea lucrărilor de recoltare presupune sporirea rezistenței la cădere, respectiv la frângere și la scuturare, mai ales că chimizarea și irigațiile pot favoriza aceste aspecte nedorite.

La cerealele păioase, căderea favorizează grefarea unor patogeni, întârzie și neuniformizează maturizarea, depreciază producția.

La porumb, frângerea tulpinilor împiedică recoltarea mecanizată și producția scade. Pierderi mari prin scuturare și cădere se înregistrează și la leguminoasele pentru boabe (fasole, mazăre, linte etc.)

Rezistența la cădere și scuturare sunt însușiri de soi, depinzând de talia plantei și de structura anatomo-morfologică a tulpinii.

9.6. AMELIORAREA REZISTENȚEI LA IERNARE ȘI LA ÎNGHEȚURILE TÂRZII DE PRIMĂVARĂ

La cerealele de toamnă, în anii cu ierni aspre și fără zăpadă, rezistența la ger este un obiectiv de importanță majoră.

Înghețurile târzii din primăvară pot produce pagube mari la porumb, floarea-soarelui, fasole, ceea ce necesită crearea de forme biologice capabile să germineze și să reziste, în faza de plantulă, la temperaturi coborâte.

Rezistența la ger este o însușire genetică și fiziologică complexă.

Ereditatea rezistenței la ger este de tip poligenic, fiind o ereditate cantitativă. Majoritatea cercetărilor susțin că rezistența la ger este o însușire recesivă, dar sunt și cercetări care reliefează posibilitatea apariției de transgresiuni.

9.7. AMELIORAREA REZISTENȚEI LA SECETĂ ȘI ȘIȘTĂVIRE

Este un obiectiv de mare interes pentru zonele din sudul și estul țării.

La cerealele păioase, seceta din perioada formării primordiilor florale, determină sterilitatea, iar seceta din perioada umplerii bobului duce la șiștăvire, reducându-se puternic masa a 1000 de boabe. La leguminoasele pentru boabe, seceta din timpul înfloritului duce la avortarea florilor.

Rezistența la secetă are la bază factori genetici și se apreciază pe baza coeficientului de ofilire și a producției obținute în anii secetoși. Este o însușire genetică complexă, controlată de gene multiple, hibridarea putând duce la apariția formelor segregante transgresive.

9.8. AMELIORAREA REACȚIEI FAVORABILE LA IRIGARE ȘI MECANIZARE

Genotipurile cultivate în condiții de irigare trebuie să îndeplinească câteva condiții: capacitate mare de producție, să valorifice cât mai bine apa și elementele nutritive din sol, rezistență foarte bună la cădere și boli. Pentru mecanizarea integrală a tehnologiilor de cultivare,

noile genotipuri trebuie să îndeplinească o serie de condiții: să aibă portul erect și compact, sistem radicular profund și puternic, maturizare uniformă, rezistență la scuturare și cădere etc.

CAPITOLUL 10

MATERIALUL INIȚIAL DE AMELIORARE

Ameliorarea plantelor agricole se desfășoară în Stațiunile de Cercetări Agricole, având drept scop crearea de noi soiuri și hibrizi. Amelioratorul are obligația să producă și sămânța noilor genotipuri, pentru ca aceasta să ajungă la unitățile agricole.

În etapa creării de noi soiuri sau hibrizi se obține un material inițial cu o diversitate genetică pronunțată, din care se rețin prin selecție, genotipurile care corespund obiectivelor urmărite. Acestea se compară cu soiurile și hibridii zonați și dacă se dovedește superior este *omologat* și zonat pe teritoriul țării.

Producerea de sămânță presupune reproducerea genotipului nou creat, urmărind mărirea progresivă a cantității de sămânță cu condiția menținerii tuturor caracteristicilor pozitive avute în momentul omologării.

10.1. IMPORTANȚA MATERIALULUI INIȚIAL

Materialul inițial de ameliorare, denumit mai nou germoplasmă, reprezintă un material biologic diversificat genetic, care posedă genele responsabile de transmiterea unor caractere, ce constituie, în final, obiective de ameliorare.

Valoarea, diversitatea și ansamblul genelor valoroase a materialului inițial sunt hotărâtoare în desfășurarea cu succes a programelor de ameliorare. Rolul hotărâtor al materialului inițial în procesul de ameliorare presupune colectarea, studiul, conservarea și alegerea judicioasă pentru oricare plantă de cultură.

10.2. FORMELE MATERIALULUI INIȚIAL

Materialul inițial trebuie să aibă o variabilitate pronunțată. Aceasta poate fi naturală sau artificială, indusă de ameliorator.

Materialul inițial folosit în ameliorarea plantelor poate fi clasificat astfel (A. Crețu, 2000):

1. Material inițial de bază:

- a. Material inițial din flora spontană;
- b. Populațiile locale;
- c. Soiurile locale;
- d. Soiurile ameliorate.

2. Material inițial creat de ameliorator:

2.1. Folosind metode convenționale:

- a. Populațiile hibride;
- b. Liniile consangvinizate;
- c. Formele mutante;
- d. Formele poliploide.

2.2. Folosind metode neconvenționale:

- a. Materialul folosit în tehnologia ADN-recombinat;
- b. Materialul rezultat prin culturi de celule și țesuturi "in vitro";
- c. Materialul folosit în obținerea haploizilor;
- d. Materialul folosit în hibridările somatice.

Materialul inițial din flora spontană

Este reprezentat de speciile sălbatice înrudite cu specia ce urmează a fi ameliorată.

Speciile sălbatice au o serie de avantaje, majoritatea caracteristicilor fiind rezultatul selecției naturale: rezistența la ger, secetă și boli și o mare plasticitate ecologică. Unele caractere, utile pentru forma sălbatică sunt însă defecte pentru formele ameliorate: producție redusă, calitate inferioară, slabă rezistență la scuturare, maturare eșalonată a fructelor și semințelor.

Având o variabilitate pronunțată a caracterelor, supus selecției, acest material poate constitui baza unor soiuri noi. La fel de utilă este hibridarea formelor spontane cu cele cultivate, acestora din urmă transmițându-li-se caractere de rusticitate.

Populațiile și soiurile locale, au fost create în cea mai mare parte prin selecție naturală și selecție empirică aplicată de om. Aceste forme de material inițial s-au format în timp și, prin urmare, au o plasticitate ecologică foarte mare, rezistență foarte mare la factorii nefavorabili de mediu, variabilitate mare (alcătuite din numeroase biotipuri). Prin selecție artificială la plantele autogame se pot izola linii (soiuri noi), iar la cele alogame se pot obține linii consangvine, folosite apoi ca genitori în procesul de hibridare.

Soiurile ameliorate, obținute prin metode științifice de ameliorare, cu o structură genetică cunoscută, constituie materialul inițial cel mai valoros. Având o bună capacitate de

producție, calitate superioară, rezistente la factorii nefavorabili de mediu, soiurile ameliorate se pot folosi în procesul de hibridare la plantele autogame sau pentru obținerea liniilor consangvine la cele alogame.

Populațiile hibride, în curs de segregare constituie o sursă importantă de variabilitate genotipică la plantele autogame, deoarece pe lângă indivizi ce păstrează caracterele genitorilor, apar și așa numitele forme transgresive, valoroase pentru ameliorare. Genitorii trebuie să fie cât mai diferențiați genetic. Pot fi folosite hibridările apropiate (intraspecifice), dar și cele îndepărtate (interspecifice și intergenerice).

Liniile consangvinizate reprezintă un valoros material inițial de ameliorare al plantelor alogame. Ajungând la prag foarte ridicat de homozigoție, în urma hibridării, hibridii din generația F₁ exteriorizează la maximum vigoarea hibridă (heterozis).

Formele mutante și formele poliploide pot constitui noi soiuri, când au însușiri valoroase sau pot fi folosite în diferite programe de ameliorare.

În ultimul timp se extind metodele neconvenționale de creare a materialului inițial, prin tehnologii specifice ingineriei genetice, bazate pe tehnologia ADN recombinat.

Izolarea genei sau a unui grup de gene înlănțuite, transferul acestora prin intermediul unui vector a dus la obținerea de soiuri transgenice, care câștigă din ce în ce mai mult teren. Culturile "in vitro" de celule și țesuturi vegetale au creat posibilități imense de multiplicare a materialului biologic, a unui material liber de viroze.

Obținerea formelor *haploide*, prin androgeneză și ginogeneză experimentală, constituie o altă realizare a ingineriei genetice, deoarece liniile izogene se obțin într-un timp scurt și sunt complet homozigote.

Realizarea protoplaștilor (celule vegetale fără membrana pecto-celulozică) a deschis calea hibridărilor somatice, înlăturându-se barierele de specie și a obținerii unor genotipuri noi, superioare celor existente.

CAPITOLUL 11

METODELE DE AMELIORARE A PLANTELOR AGRICOLE

11.1. ALEGEREA METODEI DE AMELIORARE

Alegerea uneia sau a mai multor metode de ameliorare depinde de o serie de aspecte legate de modul de reproducere al speciei. Plantele de cultură după modul de reproducere pot fi: autogame, alogame și cu înmulțire vegetativă.

Plantele autogame se fecundază cu polen propriu, realizând un grad ridicat de *homozigotie*, în urma selecției rezultând liniile pure, care pot constitui noi soiuri. Principalele specii cultivate autogame sunt: grâul, orzul, orzoaica, ovăzul, mazărea, fasolea, soia, lintea, lupinul, inul, sorgul, meiul, iarba de Sudan etc.

Plantele alogame se fecundază cu polen străin, fiind în mare măsură *heterozigote*. În acest mod se reproduc: porumbul, floarea soarelui, sfecla pentru zahăr și cea furajeră, secara, cânepa, o serie de leguminoase furajere (lucerna, trifoi, sparțetă), graminee perene furajere (obsigă, golomăț, raigras). Pentru plantele alogame, hibridarea dirijată pentru realizarea hibrizilor valoroși, presupune obținerea liniilor consangvinizate, după 7-8 generații de autopolenizare forțată, când rezultă linii pure, homozigote. Aceste linii, dacă îndeplinesc caractere dorite de ameliorator sunt hibridate, rezultând hibrizi F_1 , la care se manifestă fenomenul heterozis.

Câteva specii de cultură (cartoful, trestia de zahăr) se înmulțesc *vegetativ*, ceea ce asigură o constanță a caracterelor ereditare, în timp, variațiile ce apar fiind cauzate de mutații genice.

Metoda de ameliorare folosită trebuie să fie simplă, exactă, științifică, să permită, în final, realizarea obiectivului de ameliorare propus.

11.2. CLASIFICAREA ȘI CARACTERIZAREA METODELOR DE AMELIORARE

Metodele de ameliorare a plantelor agricole s-au conturat odată cu descoperirile realizate în genetică, astfel că putem să distingem o primă categorie de metode clasice și o alta de metode moderne.

Metodele clasice de ameliorare sunt: selecția, hibridarea, consangvinizarea, mutageneza (genică, cromozomică și de genom).

Metodele moderne, de o mai mare complexitate, necesită și o dotare tehnică deosebită: tehnologia ADN recombinat, culturi de celule și țesuturi "in vitro", haploidia prin androgeneză sau ginogeneză, hibridarea somatică.

11.3. Selecția în procesul de ameliorare

Importanța selecției

Selecția este metoda cea mai veche de ameliorare și în același timp cea mai răspândită, mai ușor de aplicat, indispensabilă și în celelalte metode de ameliorare, clasice sau moderne.

Selecția este un proces natural sau artificial, care favorizează supraviețuirea sau înmulțirea preferențială a unor indivizi.

În ameliorarea plantelor se practică numai selecția artificială - separarea și înmulțirea plantelor care corespund obiectivelor de ameliorare.

Orice lucrare de selecție începe cu alegerea genotipurilor valoroase din materialul inițial, denumite plante elită și continuă cu observarea și trierea lor.

Baza teoretică a selecției

Prin selecție nu se realizează forme noi, ci se rețin doar plantele valoroase din materialul inițial. Din cauza aceasta, eficiența selecției este determinată de: variabilitatea genotipică și eritabilitatea caracterelor și însușirilor.

Variabilitatea materialului inițial

În sens larg, variabilitatea este neasemănarea dintre indivizii aceleiași unități sistematice. Concret, variabilitatea materialului inițial de ameliorare constă în variabilitatea caracterelor și însușirilor acestuia.

Caracterele ereditare sunt particularități morfologice, individuale, ce exprimă forma, mărimea, greutatea, structura etc. Distingem două tipuri de caractere, caractere calitative și caractere cantitative.

Caracterele calitative sunt determinate, în cele mai multe cazuri, monogenic, se transmit mendelian și permit gruparea indivizilor în clase distincte cum ar fi: prezența sau absența unui caracter, culoarea florilor, semințelor (fructelor) etc.

Caracterele cantitative (metrice) sunt determinate poligenic, putând fi exprimate în unități de măsură (lungime, greutate, capacitate, număr). Participarea unui număr mare de gene,

cu acțiune minoră, separat, face ca aceste caractere să aibă toată gama de valori intermediare între valorile extreme ale genitorilor sau chiar să-i depășească (variabilitate transgresivă).

Înșușirile ereditare cuprind particularități fiziologice, biochimice și comportamentale (de adaptare) față de condițiile de mediu.

Noțiunea de fenotip cuprinde totalitatea caracterelor și însușirilor, determinate de genotip în interacțiune cu factorii de mediu.

Genotipul reprezintă totalitatea genelor unui individ, transmise de părinți (genitori).

Interacțiunile complexe ale zestrei ereditare cu factorii de mediu, duc la apariția variațiilor individuale și deci a variabilității.

Variabilitatea fenotipică este determinată de variațiile genotipice și cele datorate influenței condițiilor de mediu.

Variațiile genotipice determinate de constituția ereditară a indivizilor provin din mutații și recombinări genetice.

Variațiile provocate de condițiile de mediu pot fi caracterizate ca fiind fenotipuri diferite ale aceluiași genotip. Aceste variații denumite și modificării, nu afectează genotipul și nu sunt ereditare.

În lucrările de ameliorare sunt urmărite variațiile genetice utile, punctul de plecare pentru obținerea unui nou soi.

Studiul variabilității. Eritabilitatea

Pentru studiul variabilității caracterelor calitative și selecția acestora este necesară stabilirea proporției de indivizi homozigoți dintr-o populație segregantă.

Se poate aplica formula:

$$X_n = \left(\frac{2^{n-1} - 1}{2^{n-1}} \right)^m, \text{ în care:}$$

X_n - proporția homozigoților în generația n de autopolenizare
 m - numărul locilor la care se urmărește homozigotarea

Pentru studiul caracterelor cantitative, variabilitatea fenotipică se exprimă statistic prin: varianță (s^2), abaterea standard (s) și coeficientul de variabilitate ($s\%$).

Varianța (s^2) este un indice statistic al dispersiei valorilor individuale, exprimând variabilitatea într-un grup de indivizi. Se calculează folosind mai multe formule de calcul, în

funcție de mărimea probei medii. Cele mai uzuale formule de calcul, folosesc datele individuale, negrupate în șiruri de variație:

$$s^2 = \frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1} \text{ sau } s^2 = \frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n - 1}, \text{ în care:}$$

x - valorile individuale;

\bar{x} - media aritmetică;

n - numărul de indivizi din proba medie.

Varianța calculată astfel reprezintă varianța fenotipică totală (s^2_F), care cuprinde atât varianța genotipică (s^2_G), cât și varianța mediului (s^2_M).

Prin urmare, $s^2_F = s^2_G + s^2_M$.

Când materialul genetic este uniform, varianța fenotipică este dată de varianța mediului în cea mai mare măsură, deci $s^2_F = s^2_M$. Varianța genotipică, se poate descompune în mai multe componente.

Având în vedere sarcina amelioratorului de a crea soiuri stabile în timp, trebuie izolate variațiile fenotipice stabile, determinate în mare măsură de genotip.

Pentru a distinge cota de participare a genotipului și a mediului se calculează coeficientul de eritabilitate, notat cu h^2 , după formula:

$$h^2 = \frac{s^2_G}{s^2_F} = \frac{s^2_G}{s^2_G + s^2_M}$$

Acest coeficient are valori cuprinse între 0 și 1. Cu cât valoarea sa este mai mare, mai apropiată de 1, varianța genetică contribuie mai mult la varianța totală, iar selecția este mai eficientă.

11.3.1. Efectul selecției în funcție de modul de reproducere al plantelor

Modul de reproducere al plantelor este hotărâtor în privința manifestării, transmiterii variațiilor genotipice și a celor determinate de mediu. Distingem două categorii de plante, funcție de modul de reproducere: plante cu reproducere vegetativă și plante cu reproducere sexuată, acestea fiind de două tipuri: autogame și alogame.

În cadrul reproducerii vegetative, indivizii se dezvoltă din organele vegetative sau porțiuni ale acestora. În absența mutațiilor, caracterele ereditare se transmit constant, nemodificat, un număr mare de generații. Se utilizează frecvent termenul de **clonă** - o grupare de indivizi rezultați din multiplicarea vegetativă a unui individ, identici din punct de vedere genetic. Variațiile ereditare sunt rare, datorate mutațiilor spontane.

Selecția aplicată în cazul acestor plante este nulă, deoarece variabilitatea genotipică este inexistentă, indivizii sunt identici genetic, coeficientul de eritabilitate (h^2) este egal cu zero.

Reproducerea sexuată presupune participarea, la formarea oului (zigotului) a doi gameți identici sau diferiți genetic, rezultând organisme homozigote sau heterozigote.

În cazul plantelor autogame, în urma autofecundării organismelor homozigote rezultă indivizi identici genetic, care alcătuiesc o *linie pură*. Variabilitatea fenotipică ce se observă în cadrul liniilor pure se datorește modificațiilor. Variația genotipică și coeficientul de eritabilitate sunt egale cu zero și deci, selecția în cadrul liniilor pure este ineficientă.

Variațiile genotipice ce pot apare în cadrul liniilor pure se datoresc mutațiilor și hibridărilor, caz în care, dacă sunt utile, amelioratorul le separă (selectează). Chiar și la plantele autogame soiurile nu sunt constituite dintr-o singură linie pură, ci din mai multe, așa numitele biotipuri, descendențe homozigote, deci alcătuiesc *populații*, cu o plasticitate ecologică mai mare.

Plantele alogame se reproduc în urma polenizărilor străine, recombinarea genetică fiind continuă, rezultând un amestec de indivizi heterozigoți.

Ca urmare a acestui fapt, variația genotipică deține o mare pondere, coeficientul de eritabilitate are valori mari, selecția este eficientă.

11.3.2. Metodele de selecție

Procesul de selecție constă în alegerea plantelor **elită** din materialul inițial (de bază sau nou creat).

Planta elită este o plantă sau porțiune din ea ce întrunește unul sau mai multe caractere și însușiri, care corespund obiectivelor de ameliorare. Plantele elită se aleg din *câmpul de alegere* și se analizează în laborator.

În câmp, elitele se aleg în momentul în care elementele de productivitate și însușirile fiziologice sunt evidențiate și corespund obiectivelor de ameliorare.

În laborator, elitele sunt analizate cantitativ și calitativ, sunt înregistrate, iar în momentul trierii, în vederea însămânțării, se rețin cele ce corespund criteriilor propuse de ameliorator.

Indivizii rezultați din semințele unei singure plante alcătuiesc o descendență.

Descendențele unei plante elită la care semințele au fost obținute prin autopolenizare se numesc *linii genealogice* sau *linii*. Linia pură este descendența identică genetic a unei elite homozigote, obținută la plantele autogame.

Autopolenizarea forțată, repetată, la plantele alogame duce la obținerea *liniei consangvinizate*.

Arborele genealogic sau *pedigriul* este o succesiune de generații prin care trece o linie genealogică pentru a fi înmulțită.

La plantele alogame, descendența unei elite obținute prin polenizare liberă se numește *familie genealogică* sau *familie*.

Clona sau linia vegetativă este descendența unui individ, uniformă genetic, înmulțit vegetativ.

În procesul de selecție se disting câteva etape obligatorii: câmpul de alegere (C.A.), câmpul de selecție (C.S.), câmpul de control (C.C.), câmpul de culturi comparative de orientare (C.C.O.), câmpul de culturi comparative de concurs (C.C.C.), câmpul de înmulțire (C.Î.), câmpul de testare în rețeaua Inspecției de Stat pentru Testarea și Introducerea Soiurilor (câmpul ISTIS).

Câmpul de alegere (C.A.) - parcela din care se aleg primele elite dintr-o populație, soi, hibrid.

Câmpul de selecție (C.S.), cuprinde descendențele elitelor extrase la întâmplare din câmpul de alegere. În acest câmp se urmăresc cu atenție descendențele și se elimină cele necorespunzătoare.

Câmpul de control (C.C.), alcătuit din descendențele reținute din anul anterior, care sunt comparate cu materialul inițial.

Câmpul de înmulțire (C.I.), se realizează pentru formele valoroase din ultimul câmp, pentru a avea sămânța necesară înființării viitorului câmp cu materialul ce urmează a fi promovat.

Câmpul de culturi comparative de orientare (C.C.O.) se înființează pentru noile forme, stabile, după regulile tehnicii experimentale, în mai multe repetiții (cel puțin trei), alături de soiul/hibridul zonat. Experimentările durează minimum trei ani, după care materialul valoros este verificat în rețeaua ISTIS, cel puțin trei ani, în trei Centre de Încercare a Soiurilor (CIS).

Când materialul experimentat depășește cu minimum 10% soiul zonat poate fi omologat, ca soi/hibrid nou, amelioratorul dându-i și un nume.

11.3.3. Clasificarea metodelor de selecție

După modul de însămânțare și urmărire a elitelor și a descendențelor, selecția este de două tipuri: selecția în masă și selecția individuală.

A. Selecția în masă

Se aleg elitele după criteriile cunoscute, sămânța tuturor se amestecă și se însămânțează pentru înmulțire. De aici și denumirea de selecție în masă - urmărirea în amestec, în masă a descendenței elitelor.

Selecția în masă are două variante: selecția în masă negativă și selecția în masă pozitivă.

Selecția în masă negativă, constă în eliminarea plantelor cu caractere nedorite a celor atipice cultivarului rămânând plantele valoroase, tipice. Acest tip de selecție se aplică în producerea semințelor, când se fac de obicei purificări biologice.

Selecția în masă pozitivă constă în alegerea din câmpul de alegere a celor mai valoroase plante elită în proporție de 5-10% și înmulțirea lor în amestec.

Selecția în masă pozitivă la rândul ei are două variante: selecția în masă simplă și selecția în masă repetată anual.

Selecția în masă simplă constă într-o singură alegere de plante elită din câmpul de alegere (CA) și înmulțirea acestora în amestec. În paralel, descendența obținută se compară ca valoare cu materialul inițial.

Selecția în masă repetată anual presupune alegerea plantelor elită mai mulți ani consecutiv și înmulțirea în amestec a elitelor din anul în curs. Lucrările desfășurându-se în fiecare an, ca în cazul selecției în masă simple, valoarea biologică a câmpului de alegere se va îmbunătăți ca urmare a unei valori biologice mai ridicate a descendențelor.

Selecția în masă are o serie de avantaje, dar și dezavantaje motive pentru care amelioratorii o practică pe scară restrânsă, mai ales în procesul de producere de sămânță (ameliorare conservativă).

Avantajele sunt evidente atunci când: acționează în același sens cu obiectivele selecției naturale, când se aplică în populații locale, neprelucrate, bogate în biotipuri, când caracterele urmărite sunt homozigote recesive.

Dezavantajele sunt: acționează cu precădere asupra fenotipului prezent în momentul alegerii, neștiindu-se cât este condiționat genetic; amestecul elitelor împiedică urmărirea separată a descendențelor, ca urmare unele forme valoroase se pierd, altele inferioare scad valoarea întregului material biologic.

B. Selecția individuală

Selecția individuală este o metodă modernă de ameliorare, aplicată în orice fel de material inițial, atât pentru crearea de forme noi cât și pentru producerea de sămânță.

Față de selecția în masă, selecția individuală are avantajul că pe lângă aprecierea fenotipică a fiecărei elite se stabilește și valoarea genotipică a descendenței.

Selecția individuală are multe variante, în funcție de modul de alegere a elitelor (simplă și repetată anual), cu o serie de particularități, legate de modul de reproducerea plantelor (autogam, alogam, vegetativ).

1. Selecția individuală simplă la plantele autogame

Baza teoretică a selecției

Soiurile locale sunt alcătuite dintr-un număr mare de biotipuri, fiecare cu o anumită frecvență, ce determină o mare variabilitate genotipică. Dacă frecvența acestor biotipuri nu se modifică, structura genetică a soiurilor rămâne constantă. Când asupra lor intervine selecția naturală sau artificială (mutațiile sau migrația genelor), se modifică structura genetică a acestora.

Soiurile ameliorate autogame au un număr mai mic de biotipuri cu diferențe mici între ele și cu un echilibru mai pronunțat între biotipuri și factorii modificatori (selecție, mutație, migrație etc).

Soiurile locale și ameliorate ale plantelor alogame prin autopolenizare sunt alcătuite în cea mai mare parte din biotipuri homozigote. Datorită acestui fapt selecția individuală simplă asigură identificarea și înmulțirea biotipului valoros, iar selecția individuală repetată nu are efect (nu se justifică biologic și economic).

Acest fapt a fost demonstrat de W. Johannsen în cazul fasolei în anul 1903, formulând teoria liniei pure, conform căreia selecția la plantele autogame este eficientă numai până la obținerea liniei pure.

Tehnica selecției

În cadrul soiurilor locale și ameliorate în care există o variabilitate genotipică, selecția individuală simplă este cea mai folosită, denumită și selecție genotipică deoarece selecția liniilor (descendențelor) se face pe baza elitelor homozigote. Soiurile obținute dintr-o singură linie homozigotă se numesc soiuri monolineale iar cele care provin din amestecul mai multor linii homozigote foarte asemănătoare, soiuri multiliniale.

În figura 11.1. este redată tehnica selecției individuale simple (I. Gologan, 1981).

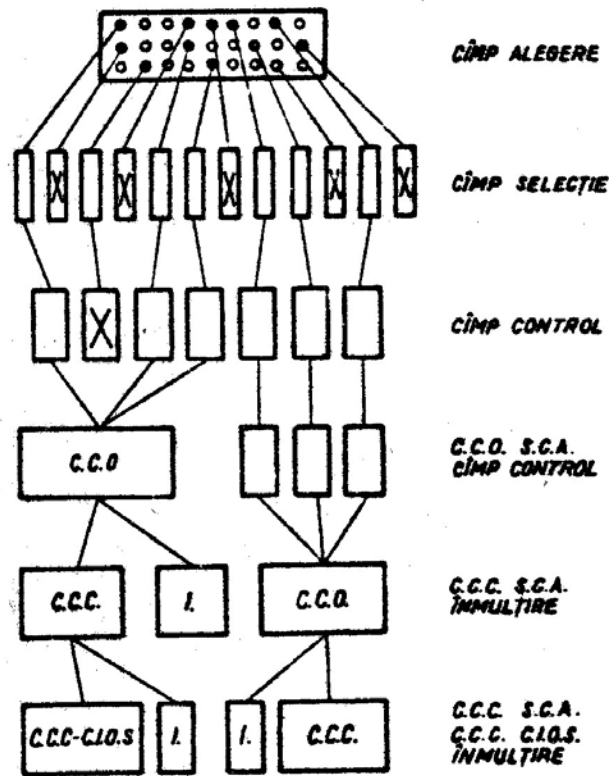


Fig. 11.1: Selecția individuală simplă

În anul I se aleg elitele din câmpul de alegere sau din altă verigă a procesului de ameliorare pe baza obiectivelor de ameliorare propuse, urmând analiza, înregistrarea și selectarea, în final, a celor care întrunesc complexul de caractere și însușiri urmărite.

În anul II descendențele reținute se înscriu în registrul de prime descendențe, primind un număr cu ajutorul căruia se identifică până la sfârșitul procesului de ameliorare. Elitele se însămânțează separate, pe câte un rând, în câmpul de selecție, în ordinea numerotării $D_1 \dots D_n$, la fiecare a IX-a descendență intercalând soiul zonat folosit ca martor. În perioada de vegetație se fac observații referitoare la uniformitatea răsăritului, ritmul și uniformitatea creșterii, rezistența la diverși factori de mediu, toate notându-se într-un registru de observație. Toate descendențele necorespunzătoare se elimină. Cele reținute se recoltează separat fără să mai fie extrase alte elite.

În anul III în câmpul de control (C.C.) se seamănă descendențele secundare (D_2), în trei repetiții alături de soiul martor. Se vor reține descendențele valoroase sub aspectul capacității de producție, însușirile de calitate și alte însușiri fiziologice.

În anii IV și V cele mai bune descendențe (linii) se însămânțează în culturi comparative de orientare (C.C.O.) în stațiuni experimentale (universități agronomice), rezultatele de producție, rezistența la boli și dăunători, elementele calității interpretându-se statistic prin analiza varianței.

Cele mai bune linii începând din anii V și VI în paralel cu verigile normale ale procesului de ameliorare sunt supuse unui proces de înmulțire preliminară a seminței. Linia superioară soiului zonat (cu un spor de minimum 10%) este verificată în rețeaua ISTIS, iar dacă superioritatea ei este verificată se propune pentru omologare, autorul atribuindu-i un nume. Din momentul omologării autorul are obligația de a produce sămânța elită pentru soiul respectiv.

Prin această metodă de selecție în țara noastră s-au creat numeroase soiuri de grâu, ovăz, fasole etc.

În unele cazuri selecția individuală simplă se practică și în cadrul soiurilor ameliorate, când, în sânul lor apar variații genotipice, prin mutații spontane sau hibridări naturale.

Selecția individuală simplă este metoda de bază pentru producerea de sămânță la soiurile de plante autogame, păstrându-le caracteristicile pentru o perioadă de mai mulți ani. Pentru aceasta, se aleg cât mai multe elite, se însămânțează în câmpul de selecție (C.S.) apoi în câmpul de control (C.C.), obținându-se sămânța pre-bază. Prin purificări biologice (selecție în masă negativă) în anii următori se obține sămânța bază și în final sămânța certificată, livrată cultivatorilor.

2. Selecția la plantele alogame

Baza teoretică a selecției la plantele alogame. La plantele alogame soiurile locale și ameliorate sunt alcătuite din indivizi heterozigoți deoarece la originea lor este fecundarea a doi gameți diferiți genetic în urma căreia se realizează un număr enorm de recombinări genetice. Într-o populație alogamă alegerea plantei elită se face numai pe baza genitorului matern ceea ce face ca genotipul descendenților să poată fi într-o mică măsură cunoscuți.

În fiecare generație au loc numeroase recombinări genetice, iar fixarea genelor valoroase într-un singur genotip este anevoioasă. Selecția în cadrul soiurilor alogame diferă mult de cea practică la autogame. Fiecare soi alogam constituie o populație cu un fond de gene comun. Totalitatea genelor unei populații poartă numele de ***genofond***.

Fondul de gene se modifică frecvent prin recombinări genice, ceea ce duce la apariția diferitelor genotipuri. În condițiile în care nu intervin factori modificatori (genetici și de mediu), frecvența genelor și genotipurilor au o tendință de stabilitate, exprimată prin ***echilibrul genetic***.

Fondul genetic și echilibrul genetic rămân nemodificate atâta vreme cât frecvența genelor și genotipurilor rămân constante (*legea Hardy-Weinberg*).

La plantele alogame echilibrul genetic se modifică datorită următorilor factori: abaterile de la panmixie, mutația, migrația, driftul genetic și selecția.

Abaterile de la panmixie - micșorarea șanselor ca un individ dintr-o populație să primească polen de la oricare individ din acea populație.

Mutația, determină modificarea uneia sau mai multor gene în alelele lor având ca efect modificarea frecvenței genelor, genotipurilor și echilibrului genetic.

Migrația genelor se realizează datorită schimbului de gameți (polenul) între două populații învecinate. Migrația poate fi prevenită prin izolarea spațială și evitarea amestecului mecanic.

Driftul genetic (deriva genetică) are loc în populațiile foarte mici, când o anumită combinație a gameților se realizează întâmplător cu o frecvență mai mare decât altele, modificând echilibrul genetic.

Selecția este factorul care modifică cel mai rapid echilibrul genetic al populației eliminând din populație indivizii cu fertilitate redusă sau cu slabă rezistență la factorii de mediu. Având în vedere natura heterozigotă a populațiilor alogame cu un anumit fond de gene, cu un anumit echilibru genetic ameliorarea acestora are loc în două direcții:

- eliminarea prin selecție a genelor nefavorabile mărinđ frecvența genotipurilor valoroase;
- obținerea liniilor consangvinizate prin autopolenizare forțată, repetată, homozigote, care printr-o hibridare dirijată să dea naștere la hibridi cu o vigoare cât mai mare (heterozis).

Efectul selecției este în concordanță cu determinismul genetic al caracterului asupra căruia acționează. În cazul în care un caracter este determinat de o alelă dominantă, pentru a-l îndepărta va fi nevoie de o singură generație, prin îndepărtarea genotipurilor homozigote dominante (AA) și a celor heterozigote (Aa). De exemplu la floarea soarelui, gena ce determină ramificarea tulpinii este o genă dominantă notată Br (branch-ramură), care diminuează producția. Prin eliminarea din lan înainte de înflorit a genotipurilor homozigote (BrBr) și a celor heterozigote (Brbr) gena Br se elimină total, într-o singură generație.

Eliminarea unei gene recesive prin selecție este un proces mai lung, deoarece gena se manifestă numai în stare homozigotă (aa). Calculele matematice demonstrează că eliminarea definitivă a unei gene recesive este imposibilă; în practică nu se justifică acest efort (conform legii Hardy-Weinberg).

Tehnica selecției în populațiile alogame. Se practică diferite forme de selecție: selecția în masă, simplă sau repetată și selecția individuală, cu o singură alegere sau repetată anual.

Selecția în masă are o utilizare din ce în ce mai redusă aplicându-se doar în procesul de producere de sămânță.

Metoda presupune alegerea elitelor care posedă anumite caractere cantitative și calitative și îndepărtarea plantelor necorespunzătoare, înainte de înflorit pentru a nu poleniza elitele.

Sămânța plantelor elită se amestecă pentru a fi însămânțată în anul următor. Selecția în masă poate fi cu o singură alegere sau repetată anual. Această metodă de selecție dă rezultate bune în populații cu variabilitate mare, pentru caracterele cantitative.

Selecția individuală cu o singură alegere constă în alegerea elitelor, verificarea primei descendențe și amestecul familiilor rezultate.

La multe plante alogame se practică o variantă denumită "*jumătate de sămânță pe rând*". Sămânța plantelor elită se împarte în două. Jumătate din sămânță se însămânțează iar cealaltă se păstrează în magazie. Pe baza rezultatelor obținute în câmpul de selecție, în anul următor se va amesteca numai sămânța de rezervă a celor mai bune elite.

Selecția individuală repetată anual, prezintă unele particularități ce țin de biologia înfloritului speciei cu care se lucrează.

La plantele alogame alegerea elitelor se face exclusiv după genitorul matern, cel patern nefiind cunoscut, dacă polenizarea este nederijată. Polenizarea controlată de ameliorator, în cadrul familiilor sau grupelor de familii aere o importanță deosebită. Pentru menținerea purității biologice în cadrul familiilor se impun o serie de măsuri tehnice: izolarea în spațiu a familiilor, pentru a nu primi polen străin; izolarea în timp, ceea ce înseamnă însămânțarea familiilor în epoci diferite, pentru a evita coincidența înfloritului și izolarea indivizilor din familii cu izolatori speciali.

Menținerea sau ridicarea valorii genetice a familiilor de către ameliorator pot fi realizate prin îndepărtarea familiilor necorespunzătoare sau a indivizilor necorespunzători din familie înainte de înflorit, reținându-se numai materialul valoros. Sub aspect tehnic, selecția individuală repetată anual constă în următoarele operațiuni:

- în anul I, se aleg elitele din câmpul de alegere;
- în anul II elitele se însămânțează în câmpul de selecție, eliminându-se descendențele (familiile) și plantele necorespunzătoare de la polenizare; se continuă extragerea de elite ce se vor însămânța în anii următori în câmpuri de selecție cu familii;

- în anul III familiile provenite din aceeași plantă elită se fac grupe de familii a căror valoare va fi verificată în culturi comparative;

- aceste operațiuni continuă, în paralel, timp de 6-7 ani până la obținerea noului soi.

Metoda selecției individuale repetate anual necesită un volum mare de muncă, urmărirea unui material biologic voluminos, motive pentru care au făcut ca în timp, să fie mai puțin folosită, câștigând teren metoda consangvinizării.

3. Selecția individuală în cadrul speciilor cu înmulțire vegetativă

Înmulțirea vegetativă se caracterizează prin faptul că informația genetică transmite nemodificată de la o generație la alta. Dintr-o singură plantă prin fragmentarea diferitelor organe vegetative, rezultă un număr de indivizi identici genotipic și fenotipic, ce constituie o descendență denumită *clonă*.

În cadrul descendenței pot apare, cu o frecvență redusă, variații genetice prin mutații spontane sau induse.

Selecția în cazul plantelor cu înmulțire vegetativă este eficientă numai până la obținerea clonelor, deci în urma unei selecții individuale simple, ca în cazul plantelor autogame. Clonele care depășesc soiul zonat sunt propuse pentru omologare.

11.4. HIBRIDAREA CA METODĂ DE AMELIORARE

11.4.1. Importanța și baza teoretică a hibridării

Hibridarea este cea mai veche metodă de creare a materialului inițial nou, primele hibridări artificiale realizându-se la mijlocul secolului XVIII.

Bazele științifice ale hibridării au fost puse de Gr. Mendel, în urma descoperirii modului de transmitere al caracterelor de la părinți la urmași, prin legile care-i poartă numele: legea segregării caracterelor și legea segregării independente a perechilor de caractere.

Hibridarea constituie principala metodă de creare a variabilității genotipice, în cadrul materialului inițial, deoarece hibridul întrunește potențialul ereditar a doi sau mai mulți părinți, diferiți genetic.

Hibridarea este aplicată, în prezent, la majoritatea plantelor de cultură, nelipsind din programele moderne de ameliorare.

Apariția genotipurilor noi, în urma hibridării se explică astfel:

- în procesul de meioză, când se formează gameții, cromozomii omologi segregă, deci segregă și genele alele;
- în procesul de fecundare, când se reface numărul diploid ($2n$) de cromozomi, au loc recombinări ale genelor (recombinări intercromozomice);
- apariția formelor transgresive - în cazul eredității polimere - când începând din generația F_2 , un individ este superior celui mai bun părinte, în privința unuia sau mai multor caractere.

Valoarea materialului inițial creat prin hibridare constă în superioritatea unor genotipuri reprezentând combinații, recombinări și transgresiuni genice, ce apar în generațiile hibride segregante.

Valoarea hibridării ca metodă de ameliorare a crescut și mai mult după descoperirea efectului *heterozis* (hibridul din generația F_1 este superior celor doi părinți).

11.4.2. Clasificarea metodelor de hibridare

Există mai multe criterii de clasificare a hibridării: după modul de realizare al polenizării, după numărul genitorilor (părinților), după gradul de înrudire al părinților etc.

1. După modul de realizare al polenizării, hibridarea este de două tipuri: naturală și artificială (dirijată).

Hibridarea naturală, întâlnită ca un fenomen natural la plantele alogame, care se polenizează liber, a dus la apariția de noi combinații hibride, omul le-a identificat și luat în cultură dacă au fost valoroase.

Hibridarea artificială, dirijată de om, presupune cunoașterea celor doi părinți și obligat genitorul matern să primească polen numai de la un anumit genitor patern.

2. După numărul de genitori (părinți) ai hibridului, distingem două tipuri de hibridare: simplă și complexă.

3. În funcție de gradul de înrudire dintre genitori, hibridarea este: intraspecifică (apropiată), când părinții aparțin aceleiași specii și interspecifică (intergenerică sau îndepărtată), când genitorii sunt două specii sau chiar genuri diferite.

Hibridarea simplă, constă în faptul că hibridul este rezultatul fecundării numai a doi părinți. Hibridarea simplă are mai multe variante: hibridarea directă, hibridarea reciprocă, de tip back-cross, hibridarea ciclică și dialelă.

Notând cu A și B cei doi părinți, într-o hibridare AxB sau BxA, genitorul matern ocupă întotdeauna prima poziție, iar cel patern a doua. Hibridarea AxB este hibridare directă, iar cea de tip BxA este reciprocă.

Valoarea celor doi hibridi (direct și reciproc) este de cele mai multe ori apropiată, deoarece părinții participă cu informații genetice identice. În unele cazuri, când caracterele sunt determinate de gene cloroplastice sau mitocondriale, hibridul are unele caractere preponderent maternel, transmise prin citoplasma gametului femel.

La plantele autogame, hibridarea simplă stă la baza creării materialului inițial, deoarece din generațiile segregante (F_2 , F_3 , ...) se pot selecta genotipuri valoroase.

În cazul plantelor alogame, hibridarea simplă se aplică în încrucișarea liniilor consangvinizate, hibridii F_1 manifestând heterozis.

Când se folosește hibridarea simplă ca metodă de ameliorare, ambii părinți trebuie să fie valoroși (capacitate bună de producție, rezistență bună la factorii de mediu etc.). În practică, se întâlnesc situații în care un părinte are valoare agronomică mai mică, dar este folosit pentru introducerea în hibrid a uneia sau a câtorva gene valoroase, caz în care nu se mai folosește hibridarea simplă, ci hibridarea de tip backcross.

Hibridarea de tip backcross se mai numește și hibridare regresivă, hibridare recurentă, hibridare repetată, retroîncrucișare, încrucișare analizatoare.

Forma parentală cu valoare agronomică redusă, dar care prezintă 1-2 însușiri valoroase se numește donator, iar cealaltă, care este valoroasă, dar este deficitară în privința însușirilor valoroase ale donatorului se numește recurent.

Metoda backcross constă în încrucișarea repetată (5-6 ori) a hibridului din generația F_1 cu părintele recurent. Amelioratorul va avea grijă ca la fiecare încrucișare să folosească indivizii asemănători fenotipic formei recurente, dar care au moștenit de la donator, însușirea ce urmează a fi transferată. Schema de lucru care se aplică în cazul hibridării de tip backcross este: $(AxB)xB$; $[(AxB)xB]xB$ etc, în care A este donatorul, iar B este recurentul.

Metoda backcross dă rezultate bune la plantele autogame, mai ales când se urmărește transmiterea rezistenței la boli, de la un donator ce posedă gena pentru rezistență, la un recurent valoros sub aspect agronomic, dar deficitar în privința rezistenței.

Folosind același părinte recurent încrucișat cu mai multe forme donator pentru rezistența la boli se pot obține mai multe linii izogenice asemănătoare morfologic, dar diferite sub aspectul genelor de rezistență la boli și dăunători. Aceste linii se amestecă, rezultând un soi multiliniar, cu o rezistență orizontală sporită, cu o mai mare plasticitate ecologică.

Metoda backcross este eficientă în cazul caracterelor determinate de un număr mic de gene, cu acțiune dominantă, deci cu eritabilitate ridicată. Pentru transferul genelor recesive se impune ca genele recesive să devină homozigote. Indivizii homozigoți recesivi pot fi apoi identificați fenotipic.

La plantele alogame, de obicei heterozigote, la fiecare backcross trebuie folosit un amestec de polen de la mai multe plante ale părintelui recurent.

În cazul liniilor consangvinizate, care sunt homozigote, metoda backcross se aplică ca și la plantele autogame, cu scopul de a le îmbunătăți pentru transferul androsterilității citoplasmice și a factorilor de restaurare ai fertilității.

Metoda backcross, în cercetările de genetică se aplică pentru analiza structurii genetice a unui individ prin încrucișări cu părintele recesiv (test-cross).

Hibridarea ciclică este o încrucișare succesivă a formelor ce urmează a fi folosite ca genitori (A, B, C, D, ...) cu o formă a cărei valoare genetică este cunoscută, denumită **tester** (T). Hibrizii obținuți, AxT, BxT, CxT etc se urmăresc în culturi comparative pentru stabilirea valorii agronomice a fiecăruia. Formele ce reacționează cât mai bine în încrucișarea cu testerul au o *capacitate combinativă generală* bună și se rețin ca forme parentale pentru următoarele hibridări. Selecția liniilor consangvinizate după capacitatea combinativă generală se bazează pe existența unei corelații pozitive accentuate, între aceasta și capacitatea medie de combinare a unor linii în viitorii hibridi simpli.

Hibridarea dialelă constă în hibridarea fiecărei forme parentale dintr-un grup cu toate formele incluse în grupul respectiv. Hibridarea dialelă poate fi directă și reciprocă. Dacă într-un grup sunt patru forme parentale A, B, C, D, hibridările dialele directe vor fi: AxB, AxC, AxD, BxC, BxD și CxD, iar cele reciproce, BxA, CxA, DxA, CxB, DxB și DxC.

Hibridarea dialelă se folosește pentru selecția formelor parentale după *capacitatea combinativă specifică*, care se reflectă în valoarea maximă a producției hibridului în generația F₁. Dacă, de exemplu, forma A a dat cea mai mare producție în hibridul AxD, spunem că forma A manifestă cea mai mare capacitate combinativă cu forma D.

Pentru realizarea hibridilor simpli la plantele agricole, criteriul de bază în alegerea formelor parentale îl constituie capacitatea combinativă specifică.

Hibridarea complexă, constă în încrucișările la care participă mai multe forme parentale, care permite obținerea unei populații hibride ce întrunește genele favorabile ale părinților.

La plantele autogame, hibridările complexe se realizează în mai multe etape, între două sau mai multe soiuri cu origine hibridă, rezultând soiuri cu origine hibridă complexă.

La plantele alogame, hibridările complexe se pot realiza prin următoarele metode: hibridarea în masă (testul polycross), hibridarea dublă, hibridarea trilineară și hibridările pentru obținerea soiurilor sintetice.

Hibridarea în masă se folosește la gramineele perene, alogame, care se pot clona (dintr-o tufă-plantă se obțin mai multe plante identice). Încrucișarea mai multor genotipuri, în culturi comparative, permit stabilirea genotipurilor cu cea mai mare capacitate combinativă generală, care vor compune viitorul soi.

Hibridările duble, constau în încrucișarea a patru linii consangvinizate, componente a doi hibridi simpli: $[(A \times B) \times (C \times D)]$.

Hibridarea trilineară, presupune participarea a trei linii, respectiv un hibrid simplu și o linie consangvinizată: $(A \times B) \times C$.

Un *soi sintetic* rezultă în urma hibridărilor dintre mai multe linii parentale.

11.5. CONSANGVINIZAREA LA PLANTE

Consangvinizarea (lat. *consanguineus* - înrudit prin sânge) constă în autopolenizarea forțată, repetată, a plantelor alogame.

La plantele autogame autofecundarea este modul natural de reproducere, fiind lipsită de efecte nocive asupra organismului, în timp ce plantele alogame autofecundate, prezintă o serie de anomalii (vitalitate scăzută, caractere negative prin manifestarea unor gene recesive etc.).

În anii 1908-1909, geneticienii americani Shull și East au constatat efectele negative ale consangvinizării plantelor alogame. În urma încrucișării a două linii consangvinizate, ei au descoperit fenomenul heterozis la hibridii din generația F_1 , ce se traduce printr-o vigoare sporită a acestora față de părinți, fenomen exploatat azi la majoritatea plantelor alogame (porumb, floarea-soarelui, seară, sfeclă pentru zahăr etc).

11.5.1. Efectele consangvinizării

Consangvinizarea se manifestă prin trei efecte principale: micșorarea vitalității plantelor, reducerea variabilității caracterelor și segregarea biotipurilor componente ale populației.

Micșorarea vitalității se manifestă prin reducerea creșterii și dezvoltării plantelor consangvinizate, prin reducerea taliei, a elementelor capacității de producție, a unor însușiri fiziologice influențate mai puternic de factorii de mediu.

Reducerea vitalității plantelor se manifestă mai puternic în primele generații de consangvinizare, iar după 5-6 generații se menține constantă, plantele ajungând la un *minimum de consangvinizare*.

Sub aspect genetic, depresia liniilor consangvinizate se datorește homozigotării unui număr mare de gene și în special a genelor recesive, care de obicei sunt responsabile de caractere nefavorabile speciei. La plantele alogame, polenizarea străină asigură o stare permanentă de heterozigoție, selecția naturală favorizând combinațiile genice favorabile speciei.

Scăderea variabilității se manifestă printr-o mare uniformitate fenotipică a indivizilor unei linii consangvine, după mai multe generații de autofecundare.

Această uniformitate fenotipică este determinată de creșterea gradului de homozigoție a perechilor de gene alele. Calculele matematice demonstrează că, după 7-8 generații de autopolenizare, liniile sunt homozigote pentru majoritatea locilor și pot fi folosite în programele de hibridare pentru obținerea heterozisului.

Segregarea biotipurilor componente ale populației este o consecință a consangvinizării de mare importanță pentru lucrările de ameliorare, deoarece permite izolarea unor biotipuri homozigote valoroase.

Genotipurile separate pot fi homozigot recesive sau homozigot dominante. Marea majoritate a genotipurilor homozigot recesive, determină caractere dăunătoare sau inferioare, încât ele se elimină prin selecție. Într-o mică proporție, unele gene recesive homozigote, pot avea efecte favorabile (tulpină scurtă, rezistență la cădere, rezistență la boli etc.), genotipurile respective fiind reținute de ameliorator.

Genotipurile homozigot dominante sunt cele mai valoroase, deoarece caracterele lor se transmit dominant la hibrizi.

Odată obținute, liniile consangvinizate se testează pentru a le determina capacitatea combinativă generală și specifică, cu ajutorul selecției recurente, după care vor fi folosite în producerea hibrizilor simpli, dubli, triliniari etc. capabili de o producție și calitate superioare.

11.6. MUTAȚIILE ÎN AMELIORAREA PLANTELOR

11.6.1. Definiție și clasificare

Prin mutație se înțelege o schimbare detectabilă și ereditară, care afectează constituția chimică sau fizică a materialului genetic, o alterare a mesajului genetic al ADN, care poate avea loc prin adăuția, deleția, substituția sau inversia nucleotidelor sau prin transferul lor în alte poziții și care nu se datorește recombinării genetice intra și extracromozomice (Herskovitz, 1965).

În capitolul 7 s-a prezentat clasificarea mutațiilor, factorii mutageni și mecanismul molecular al mutațiilor, încât în acest capitol vom prezenta aspecte legate de selecția mutantelor și folosirea lor în ameliorarea plantelor.

11.6.2. Selecția mutantelor

La plantele cu reproducere sexuată, apariția mutațiilor la nivelul țesuturilor de reproducere sau chiar la nivelul gameților, constituie o mare șansă ca ele să se transmită ereditar și să fie detectate.

În urma tratamentelor cu agenți mutageni (fizici, chimici sau biologici) se realizează o anumită variabilitate genotipică, care poate fi exploatată.

În anul 1954, N. Nyborn (după Gologan, I., 1981) elaborează metoda de selecție a mutantelor, introducând o serie de simboluri care au devenit universale în literatura de specialitate.

În cazul în care se acționează cu mutageni asupra seminței, aceasta se simbolizează cu M_0 sau X_0 (notația vine de la radiațiile X). Plantele rezultate din sămânța iradiată, vor fi generația M_1 (X_1), descendentele acesteia se vor nota cu M_2 (X_2), M_3 (X_3) etc. Când se iradiază plantele, acestea se notează cu X_1 , iar descendentele succesive cu X_2 , X_3 , ... X_n .

Sămânța tratată cu agenți mutageni, notată cu M_0 (X_0) se seamănă în câmpul de experiență, la distanțe mai mari, pentru a putea urmări individual, plantele.

În anul I, plantele din generația M_1 (X_1) sunt heterozigote în cazul mutațiilor induse. Modificările morfo-fiziologice din această generație, denumite *radiomorfoze*, de obicei nu se transmit ereditar.

Semințele fiecărei plante M_1 (X_1) se recoltează separat, iar în anul II se însămânțează separat, rezultând generația M_2 (X_2). În acest an o parte din mutațiile recesive se pot homozigota, iar dacă sunt valoroase se vor reține. În anii următori, frecvența mutantelor homozigote se mărește, astfel că, se continuă selecția pentru a reține mutantele valoroase.

În procesul de mutagenază, trebuie avut în vedere următorul aspect: mutațiile folositoare apar cu o frecvență redusă, motiv pentru care, selecția trebuie să se facă într-un material cât mai numeros.

11.6.3. Utilizarea mutațiilor în ameliorare

Mutațiile pot fi utilizate în ameliorare în trei moduri: ca soiuri noi, ca material inițial de ameliorare și în diferite tehnici de ameliorare.

Cel mai eficient mod de utilizare a mutațiilor este pentru obținerea de noi soiuri, atunci când sunt valoroase sub aspectul capacității de producție, al calității și rezistenței la factorii de mediu.

Ca material inițial, mutațiile pot fi folosite în hibridări: hibridarea a două mutante, hibridarea între un soi normal și o mutantă.

Mutațiile pot fi folosite și în unele tehnici de ameliorare, pentru realizarea unor obiective speciale: corectarea unor însușiri negative a unor soiuri, mărirea variabilității în cadrul unor populații hibride, ruperea unor corelații negative nedorite, mărirea conținutului în proteine, mărirea rezistenței la boli și dăunători sau la alți factori de mediu.

11.7.POLIPLOIDIA (MUTAȚIILE DE GENOM)

11.7.1. Definiție și clasificare

Numărul de cromozomi din celulele somatice ($2n$) și din celulele sexuale (n) este constant pentru fiecare specie în parte.

În cadrul unui gen, pot exista specii care în celulele somatice prezintă un multiplu al unui anumit număr de bază de cromozomi. Numărul de cromozomi din gameții strămoșului diploid comun al speciilor poliploide se numește **număr de cromozomi de bază** și se notează cu " x ". Numărul de cromozomi din gameți, notat cu " n " se numește **genom**, și poate fi egal cu " x ", sau poate fi un multiplu al acestuia.

Poliploidia este o multiplicare a numărului de cromozomi de bază sau a numărului de genomuri, fiind considerată o mutație de genom.

Poliploidia, ca variație numerică a cromozomilor poate fi clasificată, după mai multe criterii:

1. După gradul de multiplicare a numărului de genomuri (x), organismele pot fi: **triploide** ($3x$), **tetraploide** ($4x$), **pentaploide** ($5x$), **hexaploide** ($6x$) etc. Poliploidii cu un număr par de genomuri ($2x$, $4x$, $6x$ etc.) sunt numiți *artioploizi*, iar cei cu un număr impar ($3x$, $5x$, $7x$ etc.), *perisoploizi*.

2. În funcție de originea garniturilor cromozomice, organismele pot fi: **autopoliploide**, când multiplicarea se realizează pe baza unui genom propriu și **alopoliploide**, când multiplicarea se realizează în urma hibridărilor intra sau interspecificice. Organismele care înglobează genomurile a două sau mai multe specii, urmată de dublarea numărului de cromozomi se numesc *amfiploizi*.

Poliploidia este însoțită de multiplicarea cantității de ADN/nucleu, în timp ce **pseudopoliploidia** este o multiplicare a numărului de genomuri, dar cantitatea de ADN rămâne neschimbată.

Unele organisme eucariote pot avea în nucleul celulelor somatice un set haploid de cromozomi, fenomen denumit **monoploidie** sau **haploidie**. Aceste forme sunt de obicei sterile. În cazul în care provin de la forme tetraploide ($2n=4x$), se numesc *dihaploizi*, sau dacă gradul de poliploidie este mai ridicat se numesc *polihaploizi*.

3. Există organisme la care, la numărul cromozomilor din celulele somatice, există unul sau mai mulți cromozomi în plus sau lipsesc unul sau mai mulți cromozomi, forme denumite **aneuploide**.

Aneuploizii de tipul $2n+1$ (trisomie), $2n+2$ (tetrasomie) sunt forme *hiperploide*, iar cei de tipul $2n-1$ (monosomie), $2n-2$ (nulisomie) sunt forme *hipoploide*.

4. În funcție de modul de apariție, poliploidii pot fi naturali sau artificiali. Apariția poliploidizilor naturali este determinată de o serie de cauze (Serra, A. I., 1968):

- Endomitoza - pe parcursul acesteia nu se formează fusul de diviziune, membrana nucleară nu se fragmentează, nucleul diploid devine $4n$, $8n$ etc.

- Mitoze anormale, în care, deși membrana nucleară se dezintegrează, nu se formează fusul nuclear, iar după clivarea longitudinală a cromozomilor în anafază cromozomii nu se separă în cei doi nuclei fii, și deci se reface un singur nucleu, *nucleul de restituție*, cu un număr dublu (multiplu) de cromozomi.

- Meioze anormale, când nu are loc reducerea la jumătate a numărului de cromozomi în celulele sexuale (gameți).

11.7.2. Obținerea poliploidizilor

Poliploizii naturali există în cadrul unor genuri cu o frecvență destul de mare, mai ales în zonele geografice cu condiții extreme de viață: deșerturi, altitudini mari, regiuni nordice. După identificarea, descrierea și cultivarea poliploizilor naturali s-a constatat că aceștia au o valoare economică ridicată: cantitate mai mare de biomasă, conținut mai mare de proteine, lipide, zaharuri, o mai mare plasticitate ecologică.

Pentru inducerea artificială a poliploidiei s-au experimentat un număr mare de metode: fizice (radiațiile, centrifugarea, șocurile termice), chimice (tratarea cu substanțe chimice ce inhibă formarea fusului nuclear) și biologice (regenerare, hibridările sexuate interspecifice, hibridările somatice).

În prezent, se apreciază drept cea mai eficientă metodă chimică folosirea substanțelor de tipul colchicinei, α -bromonaftalenului, gamexanului, chinoleinei, care blochează fusul de diviziune și duce la multiplicarea numărului de genomuri.

Colchicina, alcaloid extras din *Colchicum autumnale* (brândușa de toamnă) a fost experimentată pe un număr mare de specii vegetale, în diferite concentrații (0,01-0,5%). Aplicată asupra țesuturilor meristematice sau celor de reproducere a stat la baza obținerii a numeroase forme autopoliploide (secară, sfeclă pentru zahăr) sau la dublarea numărului de cromozomi la hibridii interspecifici pentru realizarea amfiploizilor.

Metoda regenerării, destul de ușor de aplicat, constă în secționarea zonei de calusare a altoiului cu portaltoiul din unele celule lezate putând apare țesuturi și organe poliploide.

O atenție deosebită se acordă obținerii de forme haploide, care, în urma dublării numărului de cromozomi, constituie modalitatea obținerii unor linii complet homozigote (linii izogenice), care pot fi folosite în diverse programe de hibridare.

11.7.3. Folosirea mutațiilor de genom în ameliorare

În funcție de tipul de poliploidie, formele respective pot fi folosite diferențiat.

Utilizarea direct în producție a tetraploizilor, sub formă de soiuri noi este mai restrânsă, fiind întâlnită numai la secară și trifoi. La secară, soiurile tetraploide prezintă o masă a 1000 de boabe mult superioară formelor diploide, dar un număr redus de boabe în spice.

Poliploizii sunt implicați într-un proces de hibridare, fie pentru realizarea triploizilor, fie a amfidiploizilor.

Cea mai frecventă utilizare dată în prezent poliploizilor este în crearea formelor triploide. Triploizii sunt sterili și ca atare sunt folosiți în practică numai la plantele la care produsul principal urmărit nu este sămânța (ex. la sfecla pentru zahăr, pepeni verzi etc).

Tot printr-un procedeu de hibridare se realizează îmbinarea genomurilor de la specii diferite în amfidiploizi utili pentru practica agricolă. Așa este cazul formei triticale, hibrid îndepărtat între grâu și secară, a cărei fertilitate se realizează prin dublarea numărului de cromozomi.

Formele haploide au o largă utilizare în studiile de genetică și ameliorarea plantelor. Ele sunt folosite pentru studiul mutațiilor de gene și a omologiei dintre cromozomi. Liniile strict homozigote se obțin prin haploidie în 2-3 ani, pe când realizarea homozigoției prin consangvinizare durează 6-8 ani. Liniile dublu haploide, care manifestă o capacitate combinativă ridicată sunt utilizate pentru obținerea diferitelor tipuri de hibridi pentru producție.

Formele aneuploide prezintă pentru genetică și ameliorare un interes deosebit, deoarece permit precizarea rolului genetic al cromozomilor și localizarea genelor pe cromozomi. Absența sau schimbarea anumitor caractere la formele nulisomice demonstrează, în mod evident, că genele care condiționează caracterele respective sunt situate pe cromozomii care lipsesc.

În această direcție au fost făcute lucrări interesante la grâu de către Sears (1953), care a obținut seria completă de 21 de nulisomici și de 21 de monosomici la soiul Chinese Spring. Pe baza analizei nulisomilor, Sears a precizat rolul genetic al fiecărui cromozom în transmiterea caracterelor și însușirilor.

11.8. Metode moderne utilizate în ameliorarea plantelor

În afara metodelor considerate clasice pentru provocarea unei variabilități genotipice pronunțate - hibridare, consangvinizare, mutații de gene și de genom - atenția specialiștilor a fost concentrată în ultimul timp spre alte posibilități de creare a unor forme biologice noi. Ingineria genetică, utilizată în acest scop, cuprinde totalitatea metodelor de manipulare genetică, fără participarea proceselor sexuale, prin care se realizează organisme cu combinații noi de caractere ereditare.

Sfera de activitate a ingineriei genetice cuprinde domeniul celular, care include cultura organismelor haploide și hibridarea directă a celulelor somatice și domeniul molecular, care se ocupă cu manipularea ADN.

Practicată la nivel celular, ingineria genetică cuprinde, ca primă etapă, culturile de celule și de țesuturi "in vitro" și ca a doua etapă - fuziunea protoplaștilor și hibridarea somatică (parasexuată).

Prin cultura de celule și țesuturi se conturează unele posibilități practice de mare perspectivă pentru ameliorarea plantelor, cum ar fi înmulțirea și producerea materialului liber de viroze, utilizarea haploizilor din culturile de antere și de polen, selecția de mutante rezistente la boli sau la diferite condiții de stres (clone celulare rezistente la temperaturi ridicate, la erbicide, la substanțe poluante, la concentrații ridicate de săruri etc.), izolarea și selecția mutantelor cu conținut ridicat de aminoacizi, perfecționarea metodologiei de ameliorare a plantelor (cultura embrionilor hibridi neviabili, polenizarea și fecundarea "in vitro", testarea rezistenței la boli la nivel celular etc.).

Fuziunea protoplaștilor deschide perspectiva realizării hibridilor somatici interspecifici și intergenerici, care vor contribui considerabil la diversificarea genetică.

Protoplaștii reprezintă celule la care pereții celulari au fost îndepărtați prin metode mecanice sau enzimatic. În cazul cultivării pe medii speciale, protoplaștii au capacitatea de a regenera plante întregi sau de a fuziona, pentru a forma hibridi somatici, interspecifici. De asemenea, protoplaștii au posibilitatea de a absorbi organite și material genetic, care să determine schimbări importante în genotipul plantelor cultivate.

Se estimează că ameliorarea plantelor va beneficia, de pe urma culturii și fuziunii protoplaștilor, de unele realizări deosebit de importante, cum ar fi:

- creșterea variabilității genetice necesare programelor de ameliorare;
- inducerea rezistenței la boli prin încorporarea unui genom de la o plantă rezistentă într-un protoplast sensibil;
- transplantarea cloroplastelor străine în plantele cu sistem fotosintetic deficitar;
- regenerarea de "cibrizi" (hibridi citoplasmatici) prin fuziunea protoplaștilor de la plante neînrudite sau incompatibile sexual;
- introducerea de plasmide, alge albastre-verzi, bacterii fixatoare de azot etc. în speciile neleguminoase, îndeosebi la cereale, pentru intensificarea sintezei proteinelor.

Utilizarea protoplaștilor izolați în studiile de fiziologie, biochimie și genetică va permite dezvoltarea, la nivel superior, a cercetărilor fundamentale și aplicate din domeniul ameliorării plantelor.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ANTOHI, ST., GAVRILĂ, L., 1981 - Progrese în genetica moleculară, Edit. științif. și encicloped., București.
2. BUTNARU, GALLIA, 1985 - Genetică, vol. I și II, Lito, Inst. Agr. Timișoara.
3. COLES, N., 1974 - Genetică, Lito, Universitatea Craiova.
4. CRĂCIUN, T., 1970 - Genetică, Ed. Did. și Ped., București.
5. CRĂCIUN, T., PĂTRAȘCU, MINODORA, 1978 - Mecanismele eredității.
6. CRĂCIUN, T., 1981 - Genetică plantelor horticole, Edit. Ceres, București.
7. CRĂCIUN, T., TOMOZEI, I., COLES, N., BUTNARU, GALLIA, 1991 - Genetică, Ed. Did. și Ped., București.
8. CÎRLAN, M., 1996 - Elemente de genetică animală normală, Edit. Polirom, Iași.
9. DIACONU, P., 1971 - Ereditatea și factorii mutageni, Edit. Ceres, București.
10. DRACEA, I., 1972 - Genetică, Edit. Did. și Pedag., București.
11. DRACEA, I., 1973 - Genetică, Edit. Did. și Pedag., București.
12. GAVRILĂ, L., DABALA, I., 1975 - Genetică diviziunii celulare, Edit. Dacia, Cluj-Napoca.
13. GAVRILĂ, L., DABALA, I., 1981 - Descifrând tainele eredității, Edit. Dacia, Cluj-Napoca.
14. LINTS, F., 1991 - Genetique 3, Office International de Librairie, Bruxelles, Technique et Documentation, Paris.
15. MAXIMILIAN, C., IOAN, DOINA MARIA, 1984 - Dicționar enciclopedic de genetică. Edit. științif. și encicloped., București.
16. MENDEL, GR., 1945 - Experiențe asupra hibridilor de plante. Buletinul cultivării și fermentării tutunului nr. 3-4.
17. PANFIL, C., 1974 - Genetică, Edit. Did. și Pedag., București.
18. RAICU, P., 1980 - Genetică, Edit. Did. și Pedag., București.
19. TOMA, C., NIȚĂ, MIHAELA, 1995 - Celula vegetală, Edit. Universității "Al. I. Cuza", Iași.
20. ȚÎRDEA, GH., 1996 - Genetică, Lito, USAMV, Iași.
21. WATSON, J.D., CRICK, F.H.C., 1953, - The structure of DNA, Cold Spring Harbor Symp., Quant. Biol., 18.
22. WATSON, J.D., 1974 - Biologia moleculară a genei, Edit. științif., București.
23. WILKINS, M.H.F., 1961 - The molecular structure of DNA, J. Chim. Phys. 58.
24. WILKINS, M.H.F., 1963 - Molecular configuration of nucleic acids. Science, 140.
25. ZOLYNEAC, C.C., 1982 - Genetică și ameliorarea plantelor și animalelor. Partea I. Xerox, Univ. "Al. I. Cuza", Iași.