

Societatea de Științe Biologice din România

NATURA

Biologie

Seria III

Vol. 59 Nr. 1 (ianuarie-iunie) 2016

Arad – 2016

CUPRINS

<i>I. Referate științifice</i>	5
IULIAN STANA – Culturile de celule și manipularea materialului genetic	5
DORINA CACHIȚĂ-COSMA, AUREL ARDELEAN, CONSTANTIN CRĂCIUN – Aniversarea a 40 de ani de activitate în domeniul culturilor de țesuturi și celule vegetale, în România.....	22
GABRIEL C. CORNEANU, MIHAELA CORNEANU – Specii pre-umane. Apariția genului <i>homo</i> și evoluția sa.....	37
<i>II. Cercetare și documentare științifică</i>	59
CONSTANTIN TOMA, LĂCRĂMIOARA IVĂNESCU, ZENOVIA OLTEANU, VIOLETA TURCUȘ – Uzina chimică vegetală – diversitatea substanțelor naturale.....	59
<i>III. Biologia în școală</i>	70
ION STOICA – Reglarea sintezei proteice	70
RODICA MOHAN – Plante insectivore	89

CONTENTS

<i>I. Scientific papers</i>	5
IULIAN STANA – Handling genetic material and cultured cells ..	5
DORINA CACHIȚĂ-COSMA, AUREL ARDELEAN, CONSTANTIN CRĂCIUN – Anniversary of 40 years of activity in plant cell and tissue cultures in Romania.....	22
GABRIEL C. CORNEANU, MIHAELA CORNEANU – Prehuman species. Emergence of <i>homo</i> genus and his evolution...	37
<i>II. Scientific Research</i>	59
CONSTANTIN TOMA, LĂCRĂMIOARA IVĂNESCU, ZENOVIA OLTEANU, VIOLETA TURCUȘ – Chemical plant factory - the diversity of natural substances.....	59
<i>III. Biology in school</i>	70
ION STOICA – Adjusting protein synthesis	70
RODICA MOHAN – Insectivorous plants	89

I. REFERATE ȘTIINȚIFICE

CULTURILE DE CELULE ȘI MANIPULAREA MATERIALULUI GENETIC

HANDLING GENETIC MATERIAL AND CULTURED CELLS

Iulian STANA*

Abstract

A remarkable achievement for the field of genetics are the animal and plant cell cultures, by which it became possible to manipulate cellular genome and creating somatic cell lines. They are able to divide indefinitely "in vitro" and are homogeneous in terms of phenotypic characters.

Key words: genetics, plants, DNA, RNA.

O realizare remarcabilă a geneticii contemporane o constituie culturile de celule animale și vegetale, cu ajutorul cărora a devenit posibilă manipularea genomului celular și crearea de linii celulare somatice. Acestea sunt capabile să se dividă indefinit „in vitro” și sunt omogene în ceea ce privește caracterele fenotipice. Primele culturi și linii celulare s-au obținut la animale, ca urmare a unor cercetări îndelungate. S-a reușit astfel să se creeze linii celulare pornind de la celule puțin diferențiate (de tip fibroblastic) sau de la celule de tip tumoral, cultivate pe medii artificiale în condiții aseptice.

Există astăzi o multitudine de linii celulare cu tipuri de diferențiere extrem de diverse (musculară, nervoasă, limfocitară, glandulară etc.), precum și linii multipotențiale obținute prin teratocarcinoame. După cum se știe teratocarcinoamele sunt tumori maligne ale gonadelor (testicule și ovare) care de obicei conțin o miriadă de tipuri de celule și țesuturi (muschi, nervi, oase, păr etc.) dispuse haotic.

* Lect. univ. dr. Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad

Celula de mamifer cultivată „in vitro” a devenit astfel similară microorganismelor. Aceste culturi celulare sunt folosite pe scară largă pentru studii de genetică și citogenetică, biologie celulară și moleculară, pentru studiul diferențierii celulare, pentru studiul relației antigene-anticorpi etc. Un aport deosebit a fost adus, la elaborarea metodei culturilor celulare de mamifere, de către medicul și biologul *T. T. Puck* (1956). Acesta a reușit să manipuleze celule de mamifere la fel ca cele bacteriene și astfel să poată produce clone celulare, rezultate din multiplicarea unei singure celule. Cu ajutorul acestor clone celulare se poate studia, printre altele, frecvența mutațiilor apărute sub influența a diverși mutageni fizici și chimici, putându-se astfel izola noi linii celulare mutante.

Primele încercări de cultură „in vitro” a unor țesuturi vegetale au fost efectuate încă din 1902 de către *G. Haberlandt*. Mai târziu, în 1922, *W. J. Robbins* a realizat primele culturi „in vitro” de meristeme, iar în 1938 *R. J. Gautheret* a cultivat țesuturi de morcov pe un mediu nutritiv la care s-au adăugat fitohormoni de tipul auxinelor, fapt care a permis realizarea unor progrese importante în cultura de celule și țesuturi. În 1956 s-a descoperit rolul unui alt grup de fitohormoni, și anume citokininele, în stimularea diviziunii celulare și a organogenezei.

Ulterior, cultura de celule și țesuturi vegetale a înregistrat mari progrese, dintre care enumerăm: elaborarea unor medii de cultură standard cu largă aplicabilitate; obținerea de linii celulare; crearea unor medii de cultură care favorizează organogeneza și, respectiv, regenerarea de plante; descoperirea unor metode eficiente de obținere a plantelor haploide prin cultura de antere și polen, și de realizare, pe cale enzimatică, de protoplaști, adică de celule vegetale lipsite de peretele rigid pectocelulozic; elaborarea unor metode de fuzionare a protoplaștilor care au permis obținerea de hibridi celulari etc.

CLONE CELULARE MUTANTE LA PLANTE ȘI ANIMALE

Izolarea de mutante celulare prezintă mare importanță practică. De pildă, un grup de cercetători de la Universitatea Stanford din SUA (*R. T. Schimke* și colab., 1980) au studiat, experimental, pe culturi de celule de mamifere, modul cum se dezvoltă rezistența la antibiotice și la diferite substanțe chimice toxice (insecticide, raticide, fungicide etc.). Ei au folosit în acest scop celule de hamster și șoarece care, în culturi, deveneau

rezistente la metotrexat, agent chimic folosit în tratamentul cancerului. S-a constatat că, atât în mod natural, cât și experimental, are loc apariția rezistenței la metotrexat, datorită măririi cantității unei enzime (dihydrofolat-reductaza) sintetizată de o genă.

În culturi celulare s-a reușit mărirea rezistenței la metotrexat printr-o metodă de selecție în trepte. La început s-a folosit o concentrație redusă de metotrexat, astfel că majoritatea celulelor mor și numai 1/100 000 supraviețuiesc și se înmulțesc. Aceste celule sunt puse apoi în condițiile unei concentrații mărite de metotrexat, încât, din nou, numai 1/100 000 celule supraviețuiesc și se reproduc. Ca urmare, treptat, s-au selecționat celulele rezistente la acest agent chimic, la care cantitatea de enzimă - ce descompunea metotrexatul - era de 400 de ori mai mare decât cea din celulele normale. Enzima respectivă ajunge să reprezinte 5% din totalitatea proteinelor celulare. Cantitatea mărită de enzimă este rezultatul multiplicării genei ce determină sinteza enzimei, fenomen denumit *amplificare genică*. Un fenomen similar are loc și în cazul apariției celulelor rezistente la alți agenți chimici.

În sfârșit, menționăm că în culturi de celule animale s-a reușit realizarea de hibridări celulare (*G. Barski și colab., 1960*). Acești hibridi celulari pot servi, de pildă, la producția de anticorpi sau la realizarea hărților genetice.

Primele cercetări pentru obținerea de linii celulare la plante prin selecția unor mutante au fost făcute în 1970 de către *P. S. Carson, H. Binding și colab, H. Heimer și P. Filner*.

Schimbările fenotipice ale celulelor vegetale în culturi pot fi de natură genetică și, ca urmare, transmisibile sexual, sau de natură epigenetică. În acest din urmă caz, evident că modificările fenotipice provocate de mediul și condițiile de cultură nu sunt ereditare.

Cultura celulelor vegetale se realizează pe mediu solid cu agar sau lichid, din care trebuie să facă parte micro- și macroelemente, o sursă de carbon, vitamine și fitohormoni, cum sunt auxinele și citokininele. În prezent sunt cunoscute o multitudine de medii de cultură pentru celulele vegetale, care variază în ceea ce privește diversele componente, ele folosindu-se, totodată, diferențiat, în funcție de specia vegetală și de scopul urmărit.

La tutun (*Nicotiana tabacum*) s-au efectuat numeroase studii privind obținerea de mutante în culturi de celule, astfel că s-au izolat linii rezistente

la: streptomycină, 5-bromdezoxiuridină, metionină sulfoximină, valină, carboxin, acid isonicotinic, hidrazină etc. precum și linii auxtrofe (acestea nu își pot sintetiza singure anumiți metaboliți și, ca urmare, mediul lor de cultură trebuie suplimentat cu metaboliții respectivi) pentru hipoxantină, lizină etc. La porumb (*Zea mays*) s-au selecționat linii mutante rezistente la toxina produsă de ciuperca parazită *Helminthosporium maydis*.

În principiu, selecția liniilor celulare rezistente se realizează prin expunerea la compuși toxici și selecția în trepte a celulelor rezistente. Conservarea liniilor celulare mutante se poate face fie prin înghețarea lor la temperaturi scăzute, fie prin regenerarea de plante și păstrarea semințelor.

Pentru inducerea de mutante se folosesc diverși agenți mutageni chimici și fizici, cum sunt: etilmetan sulfonatul, N-metil-N'-nitro-N-nitroso-guanidina, N-etil-N-nitrozoureea, etilenimina, radiațiile UV și X etc. Eficiența tratamentelor cu mutageni se măsoară prin reducerea proporției celulelor capabile să se dividă.

Sensibilitatea la mutageni s-a dovedit a fi mai mare la celulele haploide de *Nicotiana tabacum* și *Datura innoxia*.

Prin folosirea mutagenilor se mărește considerabil frecvența mutațiilor naturale. De pildă, la *Datura innoxia*, frecvența mutațiilor naturale ce determină alterarea pigmentilor clorofilieni este de 10^{-5} , a celor induse cu radiații X este de 4×10^{-4} , iar cu nitrosoguanidină de 2×10^{-4} .

Cercetările de până acum au permis izolarea de linii celulare mutante: rezistente la analogii unor aminoacizi sau a unor baze azotate, ce intră în alcătuirea acizilor nucleici (5-bromdezoxiuridină, 8-azaguanină etc.); la antibiotice (streptomycină, kanamicină, cloramfenicol etc.); mutante caracterizate prin alterarea pigmentilor clorofilieni și antocianici; mutante auxotrofe, sensibile și rezistente la diferite temperaturi; rezistente la erbicide și la toxinele unor paraziți etc.

Pot fi citate liniile celulare provenite de la plante androsterile de *Zea mays*, rezistente la toxinele produse de ciuperca *Helminthosporium maydis*. Din aceste celule s-au izolat plante rezistente la *Helminthosporium maydis* androfertile, care prezintă evident importanță practică (B. G. Gegenbach și C. E. Green, 1975). De asemenea, la tutun s-au izolat, de către P. S. Carlson (1973), linii celulare din care au regenerat plante rezistente la ciuperca parazită *Pseudomonas tabaci*.

La trestia de zahăr s-au izolat linii celulare mutante din care au regenerat plante rezistente la mai multe maladii: *Helminthosporium sacchari*, *Cercospora sacchari* și boala Fiji.

Menționăm, de asemenea, obținerea de linii celulare și de plante rezistente la diverse erbicide.

CULTURI DE CELULE VEGETALE ÎN SUSPENSIE

Evident că metoda culturilor de celule și a inducerii artificiale de mutante, în vederea obținerii de clone celulare cu anumite caracteristici, prezintă o deosebită importanță în primul rând pentru ameliorarea plantelor. De asemenea, această metodă a început să fie folosită pentru realizarea de culturi celulare vegetale în suspensie, prin care se pot obține diverși produși metabolici, cum sunt de pildă substanțele farmacologic active.

Suspensiile celulare sunt culturi de celule în mediu lichid (care continuă să prolifereze și își dublează numărul la 24-72 ore), formate din celule mai mult sau mai puțin egale ca mărime, care aparent nu mai au capacitatea de a regenera plante și se înmulțesc rapid în condițiile unui nivel crescut de dioxid de carbon (CO₂). Aceste culturi în suspensie pot fi realizate în condiții artificiale de mediu, perfect controlate și, ceea ce este extrem de important, celulele ăși mențin capacitatea de sinteză a unor metaboliți caracteristici plantei respective, care pot prezenta importanță practică, de pildă, ca substanțe medicale.

În ultimii ani s-au dezvoltat sisteme de culturi celulare continue, în agitatoare rotatorii sau vibratoare, fitostate speciale pentru cultura continuă a celulelor etc. Indiferent de sistemul de cultură se urmărește realizarea unor condiții optime ale mediului nutritiv, de lumină, temperatură, aerisire, pH, agitare etc., astfel ca celulele să realizeze o rată înaltă de înmulțire și de producție a substanțelor dorite. Desigur că pentru realizarea de culturi celulare foarte productive în anumiți compuși medicinali este necesară cultivarea unor linii celulare cât mai stabile din punct de vedere genetic. Printre altele se urmărește obținerea de noi linii celulare cu ajutorul factorilor mutageni fizici și chimici.

Primele cercetări efectuate în vederea producerii de substanțe farmacologic active sunt promițătoare. S-au obținut, de pildă, prin culturi celulare, diferiți alcaloizi din tutun, *Vinca minor*, *Catharantus roseus*, *Coffea arabica* etc., saponine din plantele *Panax gingseng* și *Radix*

ginseng, *Glycorrhiza glabra* etc., caroteni din morvocol (*Daucus carota*), antibiotice din *Phytolacca americana* etc.

O problemă de mare importanță pentru realizarea de culturi celulare, eficiente din punct de vedere economic, o constituie selecția unor linii celulare de mare productivitate și stabile genetic. De regulă, la plante, culturile celulare prezintă, inițial, un număr normal de cromozomi și totipotență celulară - capacitatea de regenerare a unor plante normale pornind de la celule individuale cultivate pe mediu artificial. Ulterior însă, se constată variații numerice ale cromozomilor de tipul poliploidiei și aneuploidiei, precum și variații structurale ale acestora. Chiar și în cazurile în care se realizează culturi celulare pornindu-se de la o singură celulă, se observă apariția ulterioară de celule poliploide și aneuploide.

Apariția de culturi „in vitro” de celule cu grade variate de ploidie sau aneuploidie permite selecția unor linii celulare mutante fără utilizarea de mutageni. Constituția finală a unei culturi celulare nu depinde de frecvența cu care apar diversele genotipuri, ci de competitivitatea lor. Odată cu stabilizarea genotipică a culturilor respective, prin eliminarea genotipurilor mai puțin adaptate la condițiile culturii „in vitro”, are loc pierderea totipotenței. Aceasta este, de altfel, una dintre caracteristicile de bază a liniilor celulare vegetale folosite pentru culturile în suspensie.

Cultura de celule în suspensie „in vitro” este o alternativă la cultura plantelor, cercetările actuale permițând folosirea celulelor vegetale similar cu microorganismele.

Pe această bază s-au elaborat 3 sisteme de cultură:

1. *În vase cu volum limitat*, în care se introduce mediul nutritiv și se asigură aerarea forțată și, respectiv, agitarea culturii. Odată ce componentii esențiali ai mediului sunt fiși, cultura își încetează creșterea și celulele trebuie recoltate;
2. *Sisteme de cultură semicontinui*, în care mediul este periodic drenat și înlocuit cu altul proaspăt;
3. *Sisteme de cultură continui de tip deschis sau închis*, în care se introduce permanent o anumită cantitate de mediu proaspăt și, concomitent, se elimină o cantitate similară din mediul uzat.

În acest scop există diverse tipuri de aparate de laborator, semiindustriale sau industriale, cu un volum variabil al culturii, cum sunt chemostatele, turbidostatele, fitostatele etc., care, în esență, urmăresc asigurarea unor condiții cât mai favorabile celulelor vegetale pentru

înmulțire și, evident, pentru acumularea metaboliților de interes economic (vezi Fig. 1).

Indiferent de sistemul de cultură folosit o importanță esențială o prezintă linia celulară utilizată, capacitatea ei de înmulțire și de sinteză a metaboliților respectivi. Desigur că acestea sunt determinate genetic și, ca urmare, este necesară selecția unor linii celulare mutante cât mai productive.

ÎNMULȚIREA CLONALĂ „IN VITRO”

Înmulțirea clonală a plantelor prin culturi celulare „in vitro” se bazează pe conceptul totipotenței, concept de bază în teoria celulară elaborată de *Schleiden* și *Schwann*. Conform acestui concept, fiecare celulă somatică a unui organism are capacitatea de a regenera un individ normal. Toți indivizii regenerați din celulele aceluiași organism sunt identici din punct de vedere genetic, alcătuind o clonă. Demonstrarea experimentală a totipotenței s-a realizat însă mult mai târziu, odată cu regenerarea de plante din calus (*R. Reinert*, 1958) și din culturi de celule în suspensie (*F. L. Steward* și colab., 1958).

Înmulțirea clonală a plantelor prin culturi de celule și țesuturi „in vitro” are o importanță practică majoră. Astfel se pot înmulți rapid genotipuri valoroase ale unor plante cultivate în timp scurt, pe scară largă și cu mare eficiență. Cu ocazia înmulțirii clonale se pot elimina unii agenți patogeni, în special virusuri, obținându-se ceea ce se numește „plante libere de viroze”. Relevanța acestei metode este bine cunoscută, în special în cazul unor specii horticole care se înmulțesc vegetativ: vița de vie, pomii, arbuștii fructiferi, unele plante ornamentale etc.

Pentru regenerarea de plante „in vitro” prin culturi celulare, există trei metode de bază.

Prima metodă (1) constă în formarea „de novo” a unor țesuturi meristematice. După cum se știe acestea sunt țesuturi de creștere, care se pot dezvolta la suprafața sau în interiorul calusurilor, dând naștere la muguri și rădăcini din care se dezvoltă apoi plante. În ciuda faptului că metoda permite o înmulțire rapidă a plantelor, ea prezintă dezavantajul că în calusuri au loc modificări genotipice de tipul poliploidiei, aneuploidiei etc., care termină dezvoltarea unor plante care prezintă o anumită variabilitate genetică.

A doua (2) metodă se bazează pe formarea de muguri axilari în axila frunzelor tinere, în muguri sau în meristeme cultivate „in vitro”. În acest

caz, plantele regenerate provin din meristeme preexistente sau nou formate, fără formarea calusurilor. Ca urmare, plantele regenerate sunt foarte uniforme din punct de vedere genetic, alcătuind cu adevărat o clonă. De aceea, metoda are largă aplicabilitate în înmulțirea clonală a plantelor horticole.

A treia metodă (3) constă în inducerea de embrioizi, structuri similare embrionilor, din culturi de țesuturi provenite de la embrioni tineri, de pețiol al frunzelor, de rădăcini etc. Mai recent s-a reușit producerea de embrioizi prin cultura anterelor sau a polenului. Formarea embrioizilor începe de la o celulă și se realizează prin diviziuni celulare repetate. Inducerea embriogenezei „in vitro” se realizează cu ajutorul unor fitohormoni din grupa auxinelor cum este de pildă 2,4-D (acidul 2,4-diclorfe-noxiacetic). Și această metodă este foarte eficientă, deoarece plantele regenerate din embrioizi sunt foarte uniforme genotipic, o caracteristică de bază a unei clone.

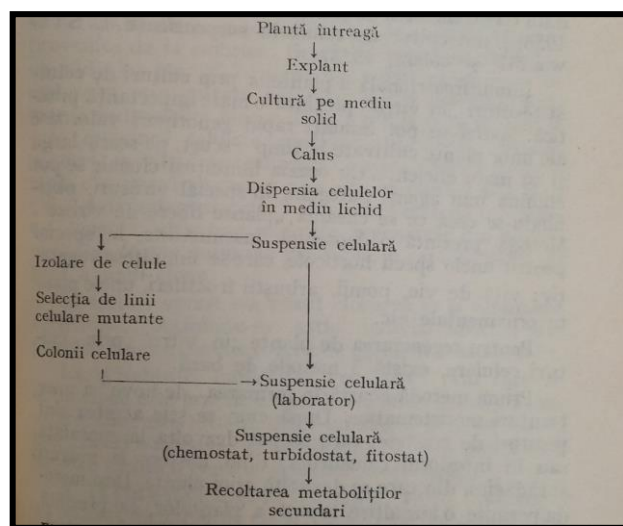


Fig. 1 – Etapele procesului de producție a unor metaboliți prin culturi de celule vegetale – după RAICU P. (1983)

În ultima vreme s-a reușit clonarea și la animalele vertebrate, obținându-se astfel indivizi identici din punct de vedere genetic (o serie de „gemeni monoziți”).

La vertebrate, înmulțirea vegetativă prin care se obțin clone este practic absentă. La unele specii de mamifere, cum este tatu-ul, dintr-un

singur ovul fecundat, prin clivări succesive, se pot obține natural până la 12 indivizi identici genetic (gemeni monoziгоți).

K. Illmensee și *P. Hoppe* (1979) au realizat la Geneva un astfel de clonaj la șoarece. În esență este vorba de transferul unui nucleu (provenit de la un embrion foarte tânăr), în faza de blastocist, într-un ovul fecundat, la care se elimină nucleul propriu sau, mai exact, pronucleii. Ovulul fecundat, la care s-a transferat nucleul, este cultivat „in vitro” până la faza de blastocist, după care este implantat în uterul unei femele gestante până la naștere.

În experiențele citate s-au transferat 343 nucleii de blastociști (de la șoareci gri, tip agouti) și s-au obținut 48 ovule „grefate” la șoareci negri donori de ovule, care au dat naștere la 48 de blastociști. Dintre aceștia, 16 au fost implantați în uterul unor femele gestante (albinos) și au dat naștere la trei indivizi (gri de tip agouti) care reprezintă o clonă (Fig. 2).

De altfel, încă din 1952, *P. J. King* și *R. Briggs*, în Philadelphia, au reușit să trans-planteze nucleii din celule somatice de la broască în ovule fecundate. Ei au folosit nucleii de la embrioni tineri (blastule), obținând astfel 40-50% de reușite. Ulterior, *J. B. Gurdon* la Cambridge a obținut astfel de indivizi prin transfer de nucleu prelevați din celule intestinale, dar reușita reprezintă doar 0,3% (Fig. 3).

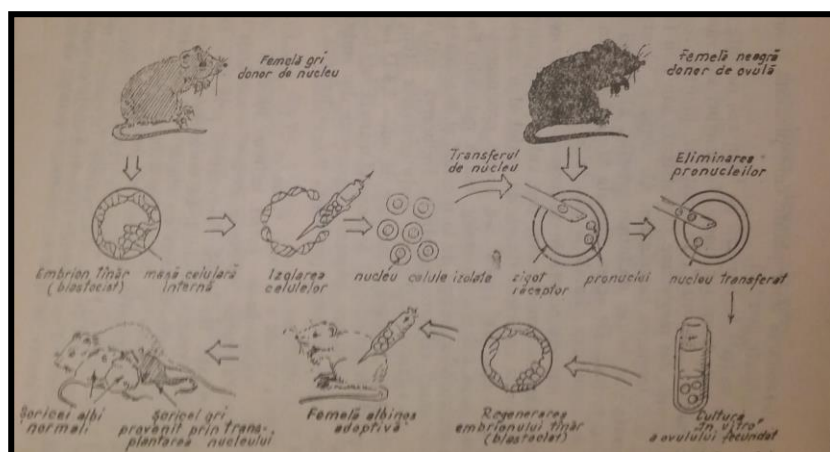


Fig. 2 – Metoda lui *K. Illmensee* și *P. Hoppe* (1979) de obținere a unei clone la șoareci prin transfer de nucleu – după CORNEANU G. (1989)

Pentru reușita transferului este necesară prelevarea de nucleu de la embrionii tineri și nu de la celule diferențiate. În cursul diferențierii celulare are loc o pierdere progresivă a capacității de dezvoltare normală a unui individ în urma grefării nucleului.

În celulele diferențiate are loc o stabilizare a materialului genetic, sub formă de cromatină condensată, acestea divizându-se foarte puțin sau deloc. Prin transferul nucleului unei celule diferențiale într-o citoplasmă ovulară are loc o schimbare profundă a cromatinei, pentru ca celula să se poată divide. În acest proces de decondensare a cromatinei și de evidențiere a cromozomilor, se produc numeroase aberații cromozomiale, care s-au observat efectiv la indivizii dezvoltați din astfel de celule. Este vorba de fenomene de reglaj genetic a activității genelor în celulele diferențiate care nu mai au capacitatea de reversie la starea de totipotență.

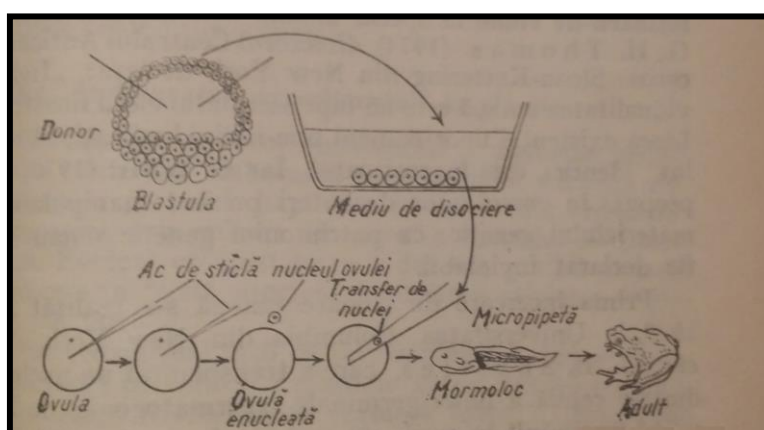


Fig. 3 – Transferul de nucleu la broaște în vederea obținerii unor clone de indivizi identici din punct de vedere genetic – după CORNEANU G. (1989)

Implicațiile etice ale transferului de nucleu și ale formării de clone la specia umană sunt majore. Astfel *G. H. Thomas* (1974), directorul Centrului Anticancer Sloan-Kettering din New York declara: „Individualitatea umană este un fapt esențial al vieții noastre. Ideea existenței unor oameni non-individualizați, absolut identici, este îngrozitoare”. Iar *G. Wald* (1970) a

propus, în cursul unor dezbateri privind manipularea materialului genetic, ca patrimoniul genetic uman să fie declarat inviolabil.

Prima încercare de clonare umană s-a realizat în 1979, la Universitatea Columbia din New York, de către *L. B. Shettles*, care a transplatat un nucleu dintr-o celulă a liniei germinale (spermatogonie) de la un bărbat adult în ovule umane enucleate. S-a obținut un embrion care s-a dezvoltat până în faza de morulă.

O altă metodă de clonare constă în obținerea de animale partenogenetice care provin, de pildă, prin dezvoltarea unor ovule în absența nucleilor spermatozoizilor. Astfel, *K. Illmensee* (1980) a produs șoareci partenogenetici prin fecundarea ovulelor cu spermatozoizi, după care a extirpat nulceii masculi. În acest fel, nucleul activat al ovulei se divide și reconstituie numărul diploid de cromozomi. S-au produs astfel animale partenogenetice pure din punct de vedere genetic.

H. Streisinger și colab. (1981), de la Universitatea din Oregon, au realizat același lucru la pești zebrați. Ouăle au fost fecundate de spermatozoizi la care nucleul a fost distrus cu radiații ultraviolete. Ele și-au reconstituit numărul diploid de cromozomi prin tratamente cu presiune și șocuri termice. O parte din ouă avortează, și anume, cele care prezentau anomalii genetice grave (gene letale, cromozomi în plus sau în minus, restructurări cromozomiale majore etc.). Celelalte dau naștere la indivizi puri din punct de vedere genetic, ce constituie clone. Se pot astfel idnetifica mutante recesive și produce clone utile economic.

ANDROGENEZA EXPERIMENTALĂ LA PLANTE

O realizare cu totul remarcabilă a ingineriei genetice o constituie elaborarea unor metode eficiente de obținere a plantelor haploide, cu un număr redus de cromozomi, prin cultura „in vitro” a anterelor sau polenului. Evident că acest lucru a devenit posibil numai după ce s-au făcut progrese în cultura celulelor vegetale „in vitro”.

Să vedem mai întâi ce sunt haploizii la plante și ce importanță prezintă. La plantele superioare s-a constatat că există o alternanță regulată între o generație sexuată și una asexuată. Astfel, din zigot, prin diviziuni succesive și diferențiere, are loc formarea plantei diploide care conține un număr dublu de cromozomi ($2n$), comparativ cu celulele sexuale (n).

La maturitate, planta diploidă dă naștere, printr-un tip special de diviziune celulară denumită meioză, unor spori haploizi care conțin doar jumătate din numărul de cromozomi (n) caracteristic pentru specia respectivă. Acești spori haploizi dau naștere gametofitelor, capabili să producă gameți masculi și femeli, care au n cromozomi.

Exemplu grație, la porumb (*Zea mays*), unde plantele diploide au $2n = 20$ cromozomi, prin diviziune meiotică sau reduțională se formează spori haploizi, care au $n = 10$ cromozomi. Din aceștia ia naștere, prin trei diviziuni succesive, gametofitul femel, reprezentat de sacul embrionar care conține opt nuclee haploizi. Dintre ei unul este oosfera.

Pe de altă parte, din spori haploizi ia naștere și gametofitul mascul, reprezentat de grăunciorul de polen. În acest caz are loc mai întâi o diviziune celulară mitotică, prin care se formează două nuclee haploide, unul spermatic și altul vegetativ. Întrucât are loc încă o diviziune mitotică, prin care nucleul spermatic se mai divide o dată, apar doi nuclee spermatici. Prin urmare, în procesul fecundației unui nucleu spermatic haploid cu oosfera haploidă rezultă un zigot diploid ($2n$), care dă naștere unei plante tot diploidă. Apoi ciclul se reia.

În mod cu totul excepțional s-a constatat că, spontan sau pe cale artificială, este posibilă formarea de plante haploide dintr-o celulă a gametofitului mascul. Fenomenul poartă denumirea de *androgeneză*.

Încă din 1964, doi cercetători indieni, *S. Guha* și *S. C. Maheshwari*, au cultivat antere de ciunăfaie (*Datura innoxia*) pe un mediu nutritiv în condiții sterile și au observat apariția unor embrioizi haploizi, proveniți prin diviziuni repetate ale unui nucleu haploid al gametofitului mascul. Trei ani mai târziu, cercetătorii francezi *J. P. Bourgin* și *J. P. Nitsch* au obținut plante de tutun haploide prin cultura anterelor. În sfârșit, în 1971, cercetătorii *N. Sunderland* și *M. Roberts* au reușit să elaboreze o metodă foarte eficientă de obținere a plantelor haploide, prin cultura nu a anterelor ci direct a polenului, pe un mediu nutritiv corespunzător. În acest scop, anterele sunt inoculate pe un mediu de cultură lichid, unde unele dintre ele se deschid și eliberează polenul în mediu. Prin transferul repetat al anterelor, la anumite intervale de timp, pe mediu proaspăt, se obțin o serie de culturi de polen, din care se dezvoltă embrioizi și apoi plante haploide. S-a constatat, de asemenea, că tratamentul la rece al anterelor mărește frecvența plantelor androgenetice.

Cultura polenului prezintă un mare avantaj, și anume, posibilitatea obținerii exclusive de plante haploide în timp ce prin cultura anterelor se pot obține și plante diploide din țesuturile acestora. În al doilea rând, metoda permite manipularea polenului similar cu cea a microorganismelor, fapt foarte util pentru cercetările de transformare genetică și pentru inducerea de mutații la nivel haploid.

Prin cultura anterelor sau polenului pe medii nutritive se formează mai întâi embrioizi și apoi plante haploide, aceasta fiind *androgeneză directă*. Formarea plantelor haploide se realizează pornind de la nucleul vegetativ al gametofitului mascul, cel germinativ fiind de obicei eliminat. În unele cazuri, nucleul generativ nu este eliminat, participând și el la formarea lor. În sfârșit, există și cazuri când sporul haploid nu formează prin diviziune un nucleu generativ și unul vegetativ, ci două nuclee identice, din care rezultă, prin diviziuni repetate și diferențiate, o plantă haploidă (Fig. 4).

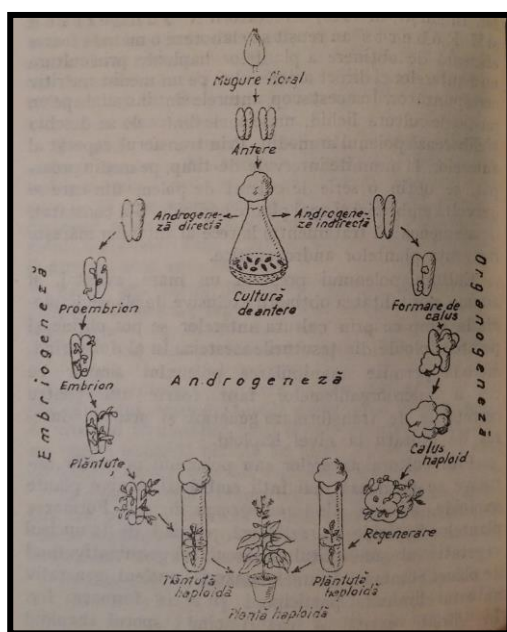


Fig. 4 – Obținerea de plante haploide prin androgeneză directă (embriogeneză) și androgeneză indirectă (organogeneză) – după RAICU P. (1983) și GAVRILĂ L. (1977)

Uneori, prin cultura anterelor nu se formează embrioizi, ci un țesut nediferențiat denumit *calus*, și numai ulterior, prin cultura acestuia pe un mediu de cultură special de diferențiere, se formează fie embrioizi fie lăstari și rădăcini (organogeneză), din care rezultă apoi plante întregi. Ele pot fi haploide sau poliploide datorită unui tip special de mitoză, denumit endomitoză. Ca urmare are loc o multiplicare a numărului de cromozomi și apariția poliploidei. Aceasta este *androgeneza indirectă*.

Să vedem acum care este importanța plantelor haploide obținute prin androgeneză experimentală. În primul rând, plantele haploide, având o singură garnitură de cromozomi manifestă toate genele pe care le posedă, atât pe cele dominante, cât și pe cele recesive. Aceasta înseamnă că la ele constituția genetică (genotipul) corespunde perfect cu caracterele manifestate (fenotipul).

Producerea în masă de plante haploide prin androgeneză are însă și o mare însemnătate practică pentru ameliorarea plantelor. Aceasta deoarece, prin tratamente cu colchicină sau prin alte metode este posibilă diploidizarea plantelor haploide, adică dublarea numărului de cromozomi. Plantele diploide sunt însă pure din punct de vedere genetic deoarece ele posedă aceiași cromozomi și aceleași gene, dedublate. Plantele diploide, obținute din cele haploide, dau naștere așa numitelor *linii izogene*, alcătuite din plante iden-tice, pure genetic. Liniile izogene constituie materialul de bază pentru crearea de soiuri și hibridi la plantele cultivate.

Dacă se ține seama că fiecare grăuncior de polen este diferit genetic de ceilalți, datorită fenomenului de recombinare genetică, adică a unei noi combinații a genelor moștenite de la părinți și strămoși, este ușor de remarcat că plantele haploide prezintă o mare variabilitate genotipică. Prin urmare cele provenite de la același individ sau chiar dintr-o aceeași anteră, sunt diferite genetic unele de altele. În consecință, și liniile izogene rezultate sunt extrem de variate genetic, iar selecționatorul are posibilități vaste de a alege formele interesante din punct de vedere economic.

Haploizii manifestă fenotipic toate genele pe care le conțin, cu toate că le posedă într-un singur exemplar, fenomen denumit *hemizigoție*. Din această cauză ei constituie un material excelent pentru producerea de mutații. Dacă anterele sau polenul care urmează a fi cultivate, în vederea androgenezei, sau chiar plantele haploide sunt tratate cu agenți mutageni fizici sau chimici, toate mutațiile induse se vor manifesta imediat la plantele haploide. Acesta este un foarte mare avantaj, deoarece majoritatea mutațiilor

sunt recesive (nu se manifestă evident) și, la plantele diploide obișnuite, rămân în stare ascunsă. De aceea, la plantele diploide sunt folosite diferite metode foarte dificile care necesită mai mulți ani pentru ca mutantele recesive să fie aduse în stare homozigotă și să se poată manifesta.

Mutațiile care apar la plantele haploide, în urma tratamentului cu agenți mutageni, pot fi imediat selecționate și diploidizate, astfel că pot fi obținute soiuri utile pentru economie extrem de rapid.

Avantajul utilizării haploidiei prin androgeneză în ameliorarea plantelor este foarte mare. Mai întâi se realizează pe această cale o reducere considerabilă a timpului necesar pentru obținerea unor linii pure genetice, de la 7-10 ani la 1-2 ani. Aceasta spre deosebire de plantele diploide unde realizarea homozigotiei, prin consangvinizare, necesită 7-10 ani.

În al doilea rând, numărul de indivizi care trebuie studiat în procesul de ameliorare este mult mai mic. De pildă, în cazul unor caractere importante practic determinate prin interacțiunea a 8 gene, pentru a realiza toate combinațiile posibile și, bineînțeles, pe cea utilă economic sunt necesari $4^8 = 65\,536$ indivizi, în timp ce la plantele haploide sunt necesari numai $2^8 = 256$ indivizi. Ca urmare, are loc o reducere considerabilă a volumului de lucru și o creștere exponențială a șanselor de a selecționa mai rapid și mai precis indivizii homozigoți, care prezintă importanță pentru procesul de ameliorare.

Până în prezent s-au obținut indivizi haploizi, prin androgeneză experimentală, la numeroase specii de plante cultivate, printre care cităm: grâul, secara, orzul, orezul, triticale, cartoful, tutunul, napii, plopul, fresia, petunia etc. Pe această cale au fost deja selecționate mai multe soiuri de plante cultivate. Astfel, în China, s-au obținut mai multe soiuri de orez și grâu, precum și 3 soiuri de tutun de calitate superioară: *Tanyu 1*, *Tanyu 2* și *Tanyu 3*. De asemenea, în Japonia s-a creat un soi de tutun rezistent la bacterioze. În Germania se folosesc haploizii în ameliorarea secarei, cartofului și rapiței, iar în Canada s-au obținut linii izogene la napi (*Brasica napus*) prin diploidizarea haploizilor androgenetici.

La noi în țară colectivul de Genetică de la Universitatea din București (P. Raicu, E. Badea, L. Gregorian, A. Scripcaru) a obținut primii haploizi de tutun, petunia și *Datura innoxia* (1976-1980). La tutun, de pildă, s-au obținut numeroase plante haploide la 3 soiuri (*Virginia RP 1349*, *Havana* și *Wisconsin 38*) și la 28 de hibridi intra- și interspecifici din cadrul genului *Nicotiana*, căreia îi aparțin tutunul cultivat și diferite specii

sălbatică. Plantele haploide și liniile izogene de tutun, obținute la Universitatea din București, au fost folosite în procesul de ameliorare la Stațiunea pentru cultura tutunului de la Băneasa (E. Ioan și colab.).

Colectivul de geneticieni de la Universitatea din București împreună cu un colectiv de la Institutul de Cercetări Chimico-Farmaceutice (E. Nichiforescu și colab.) au utilizat, în aceeași perioadă, tehnica de cultură a anterelor la planta medicinală *Datura innoxia* pentru obținerea de haploizi, linii izogene și poliploizi cu conținut ridicat de scopolamină, un alcaloid folosit în industria farmaceutică.

BIBLIOGRAFIE

RAICU, P. (1983) *Ingineria genetică. Realizări și perspective*. București: Editura Științifică și Enciclopedică.

CORNEANU, G. (1989) *Elemente de radiobiologie vegetală*. București: Ed. Ceres.

CRĂCIUN, T. & PĂTRAȘCU, M. (1978) *Mecanismele eredității*. București: Ed. Albatros.

GAVRILĂ, L. (1977) Ereditatea și variabilitatea. În: TUFESCU, M. et al. *Lucrări practice de biologie generală*. București: Editura Didactică și Pedagogică.

GAVRILĂ, L. (1976) Trepte în cucerirea genei. *Natura*. 2 (XXVII). p. 29-37.

GAVRILĂ L., DĂBALĂ I. (1981), *Descifrând tainele eredității, II*, Editura Dacia, Cluj-Napoca.

GAVRILĂ L., ARDELEAN A: (2009), *Imunogenetica și oncogenetica, partea I, Principii de oncogenetică*, Editura Academiei Române, București.

ANIVERSAREA A 40 DE ANI DE ACTIVITATE ÎN DOMENIUL CULTURILOR DE ȚESUTURI ȘI CELULE VEGETALE, ÎN ROMÂNIA

ANNIVERSARY OF 40 YEARS OF ACTIVITY IN PLANT CELL AND TISSUE CULTURES IN ROMANIA

Dorina CACHIȚĂ-COSMA* Aurel ARDELEAN**
Constantin CRĂCIUN***

Abstract

In 1902, German botanist Haberlandt launched a plant cell hypothesis, according to which it is possible to grow in vitro plant cell, being explanted from the body to which they belonged.

Key words: anniversary, Romania, 40 years, tissue cultures, cell

În anul 1902, botanistul german *Haberlandt* a lansat ipoteza *totipotentialității celulei vegetale*, punct de vedere potrivit căruia este posibilă cultivarea „in vitro” a celulelor plantelor, explantate fiind din organismul cărora le-au aparținut.

Fitovitroculturile, respectiv creșterea „in vitro” a variatelor tipuri de explante, cum ar fi de *protoplaști, celule, calusuri, organe, țesuturi, embrioni, protocormi, propaguli, stoloni* etc., au servit și servesc ca *obiect de studiu*, sau chiar ca „instrument” de cercetare, în variatele ramuri ale biologiei vegetale, în investigații de fitofiziologie și de morfologie vegetală, experimentală, în cele referitoare la regenerare, dediferențiere, histogeneză, diferențiere, organogeneză, embriogeneză, multiplicare și creștere celulară,

* Prof. univ. dr. Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad, Institutul de Științe ale vieții

** Prof. univ. dr. Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad, Institutul de Științe ale vieții

*** Prof. univ. dr. Universitatea „Babeș-Bolyai” Cluj-Napoca, Facultatea de Biologie-Geologie, Centrul de Microscopie Electronică

în cele de morfogeneză, de genetică și de ameliorare, precum și în cercetările legate de micropropagare, de sinteză a produșilor secundari de metabolism, în dependență de condițiile de mediu, și altele.

Progresele realizate în tehnicile de fitovitrocultură, mai ales după cel de al 2-lea război mondial, au facilitat nașterea **biotehnologiei vegetale**. Aceste tehnici au primit denumirea generică de „*revoluția verde*”, fenomen care se poate spune că s-a născut și grație descoperirilor lui *Morel* și *Martin* (1952), care au permis realizarea – la dalii și ulterior la cartof (1955) – de plante libere de *viroze*, prin cultivarea *in vitro* a unor inoculi meristematici, caulinari, apicali, prelevați de la plante mame polivirusate (vezi *Cachiță*, 2003, în volumul celui de al XI-lea simpozion de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale). *Revoluția* privește, însă, și multiple implicații ale vitroculturilor de celule și de țesuturi vegetale nu numai în clonarea rapidă a plantelor prin tehnici de micropropagare, ci și în valorificarea *biomasei* rezultate din culturile de celule, de calus, de rădăcini, de lăstari sau de embrioni somatici, în fitoreactoare, ca materie primă în industria fitofarmaceutică sau în cea alimentară (coloranți, arome, pureuri etc.), ori – în funcție de modul în care este organizată și condusă vitrocultura – culturile de celule pot servi la *bioconversia* unor compuși organici, precursori în prepararea ori în transformarea unor produși *secundari de metabolism*. Culturile de celule, pe de altă parte, sunt utile – prin intermediul embrionilor somatici – și la producerea de *semințe artificiale* sau la transmiterea și exprimarea informației genetice dobândite din afara genomului propriu, prin tehnici de inginerie genetică.

În anul 1972 a luat ființă o asociație internațională de biotehnologie vegetală, intitulată: *The International Association for Plant Tissue Culture* (IAPTC), la care, în anul 1975 – prin intermediul cercetătorului dr. *Cachiță*, la acea dată acea dată corespondentul național al țării noastre la acea asociație – România s-a afiliat la IAPTC.

În anul 1998, la asociația mondială a cultivatorilor de celule și țesuturi vegetale și-a schimbat denumirea în „*The International Association for Plant Tissue Culture and Biotechnology*” (IAPTC & B). Această asociație, periodic, din patru în patru ani, a organizat congrese mondiale în diferite țări afiliate la această activitate, cu care ocazie s-au publicat volume ce au conținut textul lucrărilor expuse în plen, și câte un volum cu rezumatele lucrărilor științifice prezentate în sesiunile de tip *poster*.

Actualmente, pe lângă această asociație există și o organizație europeană – *European Tissue Culture Society* – cu același specific.

În țara noastră, *prima manifestare științifică* axată pe problematica culturilor de țesuturi și celule vegetale a fost organizată în anul 1981, la Cluj-Napoca, sub forma unui simpozion național. Această sesiune a fost organizată de către un colectiv condus de cadre de cercetare de la Centrul de Cercetări Biologice din Cluj-Napoca, reprezentat de directorul unității acad. prof. dr. *Preda Victor* și de către cercet. șt. pr. *Cachiță C.D.*, precum și de prof. dr. *Puia Ioan*, la acea dată rectorul Institutului Agronomic din Cluj-Napoca. La simpozion au participat numeroși cercetători din întreaga țară, iar lucrările prezentate în plen au fost cuprinse într-un volum publicat de către Institutul Agronomic din Cluj-Napoca. Atât simpozionul, cât și volumul editat cu această ocazie s-au intitulat: „*Culturile de țesuturi – instrument de cercetare în biologia vegetală, teoretică și practică*” (lista cu titlurile simpozioanelor de culturi de țesuturi și celule vegetale organizate în țara noastră în perioada anilor 1981-2007 este inserată la finele lucrării).

În decursul anilor, respectiv din anul 1981 și până în anul 2007 simpozioanele de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale au fost organizate în diferite localități din țară și, după posibilități, lucrările susținute în plen, sau cele prezentate sub formă de postere, au fost publicate în volume. În total, au fost organizate 19 simpozioane, dar numai 16 au beneficiat de publicarea lucrărilor în volume independente, întrucât simpozioanele 17, 18 și 19 au fost organizate în cadrul zilelor Academice ale Universității de Vest „V. Goldiș”, din Arad, iar lucrările comunicate au fost publicate în revista „*Studia*” a universității arădene. De altfel, în majoritatea cazurilor tipărirea volumelor cu lucrările susținute la simpozioanele de vitroculturi vegetale a fost asigurată de către rectorul universității arădene, profesor dr. *Ardelean*, actualmente președinte al acestei universități, respectiv a Universității de Vest „V. Goldiș” din Arad.

În multe cazuri, simpozioanele naționale de culturi de țesuturi și celule vegetale, din România, au fost susținute în cadrul manifestărilor anuale organizate de către Societatea Națională de Biologie Celulară (SNBC).

Cel de al „*II-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale*” a fost organizat în anul 1983, la Pitești, de către Institutul de Cercetări și Producție Pomicolă Mărăcineni, prin grija neobositei cercetătoare inginer *Tatiana Coman*. Comunicările științifice prezentate cu

acea ocazie au fost cuprinse în două volume, editate prin grija Academiei de Științe Agricole și Silvicultură, din România. La cea de a doua manifestare națională, cu profil de biotehnologie vegetală, au fost comunicate numeroase lucrări științifice, rezultate în urma studiilor efectuate de către cercetătorii români, studii și experimente făcute de către specialiștii noștri în țara sau în laboratoarele din străinătate, vizând atât sfera evaluărilor cu caracter fundamental, cât și a cercetărilor cu caracter aplicativ.

Între primul și cel de al doilea simpozion național de culturi de țesuturi și celule vegetale s-a intercalat o manifestare științifică organizată la București, axată pe problema *protoplaștilor*, respectiv *simpozionul* intitulat: „*Utilizarea protoplaștilor în cercetarea biologică – realizări și perspective*”, lucrări publicate în anul 1984 într-un volum editat de către Institutul Central de Biologie din București, sub îngrijirea doamnei cercet. pr. dr. *Aurelia Brezeanu*.

Cel de al „*III-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale*” a fost organizat tot la București, în anul 1985, de către mai multe unități ce cercetare din capitală, sub conducerea Societății de Științe Biologice, prin grija profesorului universitar dr. *Ion Anghel* și a doamnei dr. *Aurelia Brezeanu*. Lucrările prezentate la acel simpozion au fost tipărite într-un volum de către Universitatea din București, în care a fost inserată și o listă bibliografică cu lucrările științifice publicate până la acea dată, în domeniul biotehnologiei vegetale (vitroculturi de celule și țesuturi vegetale), de către specialiștii români. Comunicările susținute la acest simpozion au relevat faptul că, cercetătorii români și-au lărgit gama temelor abordate în domeniul biotehnologiei vegetale, cu probleme referitoare la lucrări de inginerie genetică, constând în transfer de gene, mediat de vectori plasmidiali proveniți de la tulpini de *Agrobacterium tumefaciens*, precum și cercetări privind hibridarea parasexuată, indusă chimic sau electric, ori cu cercetări vizând obținerea principiilor farmacologic-active, prin culturi de celule sau de calus, ori cu cercetări de haploidie experimentală, sau prin studii de modulare a proceselor de citodiferențiere și de morfogeneză, ori prin experimente vizând elucidarea mecanismelor responsabile de inducerea variabilității genetice, și altele. În paralel cu lărgirea sferei preocupărilor în aceste direcții de cercetare, trebuie menționat și faptul că, din participarea cu comunicări s-a putut deduce o creștere semnificativă a numărului de laboratoare și de specialiști din țara noastră implicați în astfel de studii.

În primăvara anului 1986, la Grădina Botanică din Jibou a avut loc (grație eforturilor făcute de profesorul *Vasile Fati*, directorul acestei instituții, aparținătoare Ministerului Educației și Cercetării și a dr. *Cachiță*), *Seminarul Științific, cu caracter național*, intitulat: „*Dezvoltarea unor tehnologii – biotehnologii – în țara noastră, în cincinalul revoluției tehnico-științifice 1981 – 1985*”, cu ocazia inaugurării – în acea unitate – a unui laborator de vitroculturi vegetale, care este funcțional și în prezent.

Menționăm și faptul că, în anul 1988 a intrat oficial în funcțiune, la Întreprinderea de Sere Codlea, de lângă Brașov, prima unitate industrială de micropropagare „in vitro” a speciilor horticole (în principal a garoafelor), libere de viroze, instituție la care consultant științific a fost dr. *Cachiță*; la acea dată, laboratorul de biotehnologie vegetală de la Serele Codlea a fost condus de ing. *Cornelia Sandu*, și de biolog *Dana Constantinovici*, doctorandele doamnei dr. *Cachiță*.

Cel de al „*IV-lea Simpozion Național de Culturi de Celule și Țesuturi Vegetale*” a avut loc la Cluj-Napoca, în decembrie 1989. El a fost organizat de către Institutul de Cercetări Biologice din localitate (fost CCB). Simpozionul a fost intitulat: „*In Vitro Explant Cultures – Present and Perspective*”. Lucrările simpozionului au văzut lumina tiparului în anul 1990. Coordonatorul volumului și organizatorul simpozionului a fost tot dr. *Dorina Cachiță-Cosma*. Volumul a cuprins peste 60 de articole științifice, care au abordat un spectru foarte larg de probleme, în principal acestea privind: – regulatorii de creștere ai plantelor și mecanismele lor de acțiune; – biosinteza metaboliților secundari, la fitoinoculi; – transferul interspecific de gene; - vitroculturile fotoautotrofe – micropropagarea „in vitro”; – studii privind influența unor factori ecofiziologici sau a unor compuși cu acțiune bioactivă asupra diferitelor tipuri de vitroculturi; – cercetări vizând utilizarea culturilor de protoplaști ca modele experimentale ș.a.m.d.

În anul 1991, la Cluj-Napoca a luat ființă *Asociația Română de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale (ARCTCV)*, asociație profesională, nonprofit, atestată juridic. La înființare, asociația avea 130 de membri. Până în anul 1995, asociația a editat o publicație proprie – *Buletinul ARCTCV* – cu apariție bianuală. Totodată, asociația s-a implicat direct în organizarea periodică a unor simpozioane naționale de culturi de țesuturi și celule vegetale, precum și în editarea și publicarea volumelor ce cuprindeau lucrările științifice comunicate în plen sau în sesiunea de postere. Scopul principal al acestei asociații a fost, și este, acela de a realiza – la nivel

național – o cât mai strânsă legătură între specialiștii din domeniul biotehnologiei vegetale, din țară, în vederea stimulării colaborărilor între laboratoarele cu acest profil din România, precum și a facilitării contactelor acestora cu specialiștii din alte state. În lipsă de fonduri, buletinul asociației a avut un număr restrâns de apariții, neajuns compensat prin reușita publicării lucrărilor comunicate cu ocazia organizării simpozioanelor naționale de culturi de țesuturi și celule vegetale.

De la înființare, Asociația Română de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale (ARCTCV) – la care președinte a fost prof. dr. *Cachiță* – s-a afiliat la „International Association for Plant Tissue Culture & Biotechnology (IAPTC & B)”, în al cărei evidență suntem cuprinși și în a cărei reviste de specialitate au fost publicate rapoarte sau lucrări informative, care s-au referit la studiile efectuate în domeniul biotehnologiei vegetale de către cercetătorii români. O parte dintre specialiștii români, din domeniul biotehnologiei vegetale (dintre aceștia menționăm pe *Cachiță*, *Pamfil*, *Palada*, *Roșu*, *Onisei*, *Ghiorghiță*, *Toth*, *Zăpârțan*, *Cristea*, soții *Corneanu*, *Petrescu*, *Rakosy* și alții) au participat, cu comunicări științifice, la congresele IAPTC.

Cel de al „V-lea Simpozion Național de Culturi de Celule și Țesuturi Vegetale” a fost organizat la București, în anul 1993, de către: Academia Română, Societatea de Științe Biologice din România, Universitatea din București, Asociația Română de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale (ARCTCV), Fundația România de Mâine și Universitatea „Spiru Haret”, ambele din București. Volumul conținând lucrările simpozionului a fost editat sub îngrijirea regretatului profesor universitar dr. *Ion Anghel*, coordonatorii volumului fiind *Anghel*, *Brezeanu* și *Cachiță*.

În anul 1994, în cadrul manifestărilor jubiliare care s-a intitulat: „Universitatea București, 1694-1994”, a fost organizat „Simpozionul Național de Culturi de Celule și Țesuturi Vegetale” denumit: „*Proceeding of the National Symposium of International Microbiology and Biotechnology*”, de către profesorul universitar dr. *Ion Anghel* și colaboratorii. Cu această ocazie au fost prezentate și publicate, peste 80 de lucrări științifice, din domeniul culturilor de celule și țesuturi vegetale. Simpozionul a scos în evidență o amplificare a preocupărilor cercetătorilor din România față de acest modern domeniu al biologiei vegetale.

Cel de al „VI-lea Simpozion Național de Culturi de Celule și Țesuturi Vegetale” a fost organizat la Băile Felix – Oradea, în vara anului

1996, de către ARCTCV, cu sprijinul Universității din Oradea și al Universității de Vest „V. Goldiș”, din Arad. Lucrările simpozionului au fost tipărite prin grija organizatorilor, sub conducerea editorială a profesorilor universitari: *Cachiță, Ardelean și Crăciun*.

Cel de al „VII-lea Simpozion Național de Biotehnologie vegetală” a fost organizat la Arad, în anul 1997, tot de către Asociația Română de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale (ARCTCV), împreună cu Universitatea de Vest „V. Goldiș” din Arad și cu Universitatea din Oradea.

Următorul simpozion național de biotehnologie vegetală, respectiv cel de al VIII-lea, a avut loc la Buziaș, în vara anului 1998, organizat fiind de ARCTCV, împreună cu Universitatea Agricolă și de Medicină Veterinară a Banatului, din Timișoara. Lucrările științifice comunicate la simpozioanele al VII-lea și al VIII-lea de Culturi de Țesuturi și celule Vegetale, au fost reunite și publicate într-un volum unic, sub coordonarea profesorilor universitari: *Cachiță, Ardelean și Crăciun*, volum intitulat: „*Culturi in vitro la cormofite*”.

În vara anului 1999, la Constanța, Universitatea „Ovidius” din localitate, împreună cu ARCTCV, au organizat cel de al „IX-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale”, simpozion la care au fost prezentate peste 25 de referate, comunicări științifice și postere, lucrări publicate de către Universitatea „Ovidius” din Constanța într-un volum tipărit în anul 2000, intitulat „*Actualități și perspective în biotehnologia vegetală*” (editat sub îngrijirea profesorilor universitari *Cachiță, Bavaru*, în colaborare cu cercet. șt. pr. I dr. *Brezeanu*). La această manifestare națională s-a remarcat participarea cu lucrări științifice a multor tineri cercetători și cadre didactice, din întreaga țară.

În noiembrie 2000, la Universitatea „Babeș-Bolyai” din Cluj-Napoca, la facultatea de Biologie, împreună cu Universitatea din Oradea și cu ARCTCV, a fost organizat cel de al „X-lea Simpozion Național, Jubiliar, de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale”, intitulat: „**25 de ani de Culturi de Țesuturi Vegetale în România**”. La simpozion au fost prezentate 59 de lucrări, referate și comunicări științifice, în plen sau postere. Lucrările simpozionului au văzut lumina tiparului în anul 2001, la Cluj-Napoca (Editura Risoprint), prin grija editorilor coordonatori *Cachiță, Rakosy și Ardelean*.

Cel de al „XI-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale” din țara noastră a avut loc, în anul 2002, la Satu Mare

(organizat de ARCTCV, cu sprijinul Universității de Vest „Vasile Goldiș” din Arad), manifestarea omagială dedicată împlinirii a 100 de ani de la lansarea teoriei totipotențialității celulelor vegetale, și a inițierii de către *Haberlandt* – în anul 1902 – a experimentelor efectuate în această direcție, precum și a 50 de ani (1952) de la publicarea lucrării lui *Morel* și *Martin* cu privire la obținerea de vitroculturi de *datura* „libere de viroze”, prin intermediul culturilor de meristeme, moment crucial în lansarea acestei proceduri ca metodă de mare viitor în biotehnologia vegetală, practică ulterioară în micropropagarea a numeroase specii de plante, în horticultură; volumul a fost publicat în anul 2003, la editura *Daya* din Satu Mare (organizatori și coordonatori ai volumului, profesorii *Cachiță* și *Ardelean*).

În anul 2003, la Grădina Botanică din Jibou a fost organizat – în cadrul sesiunii anuale a SNBC – cel de al XII-lea Simpozion Național Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Fiziopatologia celulei vegetale în regim de vitrocultură*”, manifestare la care au fost prezentate 18 comunicări științifice, care în anul 2004 au văzut lumina „tiparului”, la editura *Daya* din Satu Mare, sub coordonarea profesorilor *Cachiță*, *Ardelean* și *Fati*.

Cel de al XIII-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale a fost organizat la Sighișoara, în anul 2004, ca o manifestare „satelit” pe lângă sesiunea anuală a SNBC; simpozionul a fost intitulat „*Vitroculturile la cormofite, modele experimentale în cercetările de biologie*”, organizatorii manifestării și coordonatorii volumului editat și publicat în același an la editura „*Bion*” fiind prof. dr. *Cachiță* și *Ardelean*. La acest simpozion au fost comunicate, și publicate, 30 de lucrări științifice, în marea lor majoritate prezentate de către membrii ai ARCTCV proveniți de la 16 unități de învățământ superior sau de cercetare, din țara noastră și 4 din alte state europene.

În anul 2005, la Sibiu a fost organizat cel de al XIV-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Conservarea vitroculturilor vegetale*” – ca sesiune satelit a SNBC – lucrări care au fost cuprinse într-un volum publicat în anul 2006 la editura „*Alma Mater*” din Sibiu; organizatorii simpozionului și coordonatorii volumului au fost profesorii dr. *Cachiță* și dr. *Sand*. În volumul menționat anterior au fost publicate 28 de comunicări științifice, și au fost recenzate patru cărți din domeniul biotehnologiei vegetale.

În anul 2006, a fost organizat cel de al XV-lea Simpozion Național al ARCTCV, de către prof. dr. *Cachiță*, președinta acestei asociații, care a fost și coordonatoarea volumului editat și publicat în anul 2007 la editura „Risoprint” din Cluj-Napoca, manifestare la care au fost comunicate 20 de lucrări științifice, și care au fost tipărite în volumul intitulat „*Micropropagarea speciilor vegetale*”.

Cel de al XVI-lea Simpozion Național organizat de către ARCTCV a avut loc la București, în anul 2007, și a fost intitulat „*Biotehnologii vegetale pentru secolul XXI*” (organizatorii și editorii volumului care a văzut lumina tiparului în anul 2008, la editura „Risoprint” din Cluj-Napoca, au fost profesorii *Cachiță*, *Brezeanu* și *Ardelean*). Cele 19 comunicări științifice prezentate cu acea ocazie au fost publicate într-un ultim volum al ARCTCV.

Eforturile întreprinse pe plan național, în direcția popularizării acestui nou domeniu al biologiei vegetale, au făcut ca biotehnologia vegetală din țara noastră să câștige noi și noi adepți, iar „lumea biologică” să se familiarizeze cu acest gen de literatură de specialitate. La cele arătate, trebuie să menționăm lucrările monografice și cărțile de popularizare publicate în decursul timpului, în țara noastră, în domeniul culturilor de țesuturi și celule vegetale, precum și cursurile universitare și postuniversitare, cu acest profil, editate în România. Astfel, în anul 1984 editura Ceres din București a tipărit prima monografie din domeniul vitroculturilor la plante, lucrare intitulată „*Culturi de celule și țesuturi vegetale – aplicații în agricultură*”, autori: *Cachiță*, *Raicu* și *Badea*. Ulterior, în anul 1987, a văzut lumina tiparului, tot la editura Ceres din București, o altă lucrare monografică, din domeniul culturilor de țesuturi și celule vegetale, intitulată „*Metode in vitro la plantele de cultură – baze teoretice și practice*”, autor profesor dr *Cachiță*, lucrare distinsă cu premiul „E. Teodorescu” al Academiei Române.

Între anii 1985-1986, la Institutul Agronomic „N.Bălcescu” din București, s-a organizat primul *curs* (postuniversitar) de biotehnologie vegetală, în scopul formării de specialiști (biologi și agronomi) în domeniul vitroculturilor la plante, cu care ocazie s-a pus la dispoziția cursanților, încă din momentul inițierii orelor de curs (anul 1985), volumul intitulat „*Curs practic de culturi de țesuturi „in vitro”, cu aplicații în legumicultură și floricultură*”, autori: profesorii *Cachiță* și *Petrescu*. La acestea, se adaugă manualul „*Ingenieria Genetică – note de curs*”, publicat de Universitatea din

București, în anul 1988, de profesorul *Anghel*, în calitate de coordonator al volumului.

De asemenea, menționăm și publicarea de către colectivul *Raicu și Badea* (1986) și, separat, de *Ungureanu* (1990), a unor broșuri de popularizare a biotehnologiei vegetale, lucrări care au avut menirea să facă cunoscute, mai ales în rândul neinițiaților, descoperirile din domeniul vitroculturilor vegetale, cu implicațiile teoretice și practice ale acestora în viața cotidiană.

Semnalăm și apariția, în anul 1993, a primei cărți românești de biotehnologie generală scrisă de *Soran* și colaboratorii, intitulată „*Elemente de biotehnologie*”, lucrare în care s-au făcut referiri și la culturile de țesuturi, celule și de protoplaști vegetali.

În domeniul învățământului superior, axat pe biotehnologie vegetală, menționăm publicarea – în anul 1993 – a volumului intitulat „*Curs de Biotehnologie – Culturi de țesuturi in vitro, cu aplicații în horticultură*”, autori, profesorii *Petrescu și Cachiță*, editat de către Academia Universității „Athenaeum” (Facultatea de Științe Horticole și Bioinginerie, din București).

În anul 1994, editura Ceres, din București, a publicat volumul intitulat „*Înmulțirea vegetativă a arborilor forestieri. Metode convenționale. Culturi de țesuturi in vitro*”, autori: *Enescu, Ioniță și Palada*. În această monografie, au fost detaliate cu precădere aspecte teoretice și practice referitoare la înmulțirea vegetativă, naturală și „in vitro”, a plantelor lemnoase.

O mențiune specială merită cursurile de vară organizate între anii 1995-1998 de către Facultatea de Biologie-Geologie a Universității „Babeș-Bolyai” din Cluj-Napoca, disciplina de Genetică (condusă în acea perioadă de profesor universitar dr. *Nicolae Coman*), finanțate printr-un program TEMPUS și PHARE, cu participare internațională, privind implicațiile genetice ale vitroculturilor, în general, și ale culturilor de protoplaști, în special, cursuri care s-au finalizat și prin publicarea în anul 1998 a volumelor „*Utilizarea tehnicilor de electrofuziune în hibridarea somatică a plantelor*” și „*Plant Genetic Engineering – Lab Manual*”, în editura Universitară clujană, de către conferențiar universitar dr. *Lenuța Rákosy-Tican*.

În anul 1999, conferențiar universitar dr. *Ana Roșu* (cadru didactic la Universitatea Agricolă din București, facultatea de Biotehnologie), a

publicat, la editura Ametist-92 din București, monografia „*Elemente de biotehnologie vegetale, aplicații în ameliorare*”, lucrare care s-a adresat în principal, studenților și specialiștilor din domeniul culturilor de țesuturi și celule vegetale, dar și celor interesați de genetică, inginerie genetică și tehnici moderne de ameliorarea plantelor.

În anul 2000, prof. dr. *Cachiță* și *Sand* au publicat monografia intitulată: „*Biotehnologie Vegetală*” vol. I, lucrare adresată în special tinerilor care fac pregătire universitară, în acest domeniu.

Un an mai târziu (2001) dr. *Badea* împreună cu dr. *Săndulescu* (ambele cercet.șt.pr. I de la Institutul de Biologie al Academiei Române, din București) au publicat – prin Fundația BIOTECH – monografia „*Biotehnologie vegetale*”.

În anul 2004, prof. dr. *Cachiță* și colaboratorii au publicat în editura clujană Dacia, în seria biologie, colecția Universitaria volumul I din „*Tratat de biotehnologie vegetală*”, iar în anul 2009 *Cachiță* și *Ardelean* au publicat – în aceeași editură – volumul II din monografia mai sus menționată.

În anul 2005 prof. dr. *Ghiorghită* și colaboratoarea sa *Petrescu Nicuță* au publicat în editura „Junimea”, de la Iași un tratat intitulat „*Biotehnologiile azi*” în care la circa o treime din carte se referă la biotehnologiile utilizate în agricultură.

Alte volume publicate de către autorii clujeni, sau de către alți specialiști din domeniul biotehnologie vegetală, au copertile ilustrate în volumul: „*Aniversarea a patru decenii – 1976-2016 – de la inițierea cercetărilor de biotehnologie vegetală în România*”, editori prof.dr. *Cachiță* și *Sava-Sand*, editura Universității „Lucian Blaga”, din Sibiu, 2016.

O serie de articole de specialitate, axate pe problematica biotehnologiei vegetale, au fost publicate de către cercetătorii din România în reviste de profil din străinătate, sau în volumele editate cu ocazia diferitelor manifestări științifice, cu referire generală la biotehnologii, ori de genetică, ameliorare, de fito- și ecofiziologie vegetală. În această categorie menționăm publicarea de către prof. dr. *Cachiță* și *Crăciun* (în anul 1990) a unui capitol referitor la cercetările privind ultrastructura celulelor fitoinoculilor hiperhidrici – inserat în volumul 5 al primei enciclopedii de culturi de țesuturi și celule vegetale, care s-a intitulat: „*Handbook of Plant Cell Culture*” ce s-a tipărit în SUA, în editura McGraw-Hill Publishing Company, coordonatorii volumului menționat fiind *Ammirato* și

colaboratorii. Capitolul s-a intitulat: „*Ultrastructural Studies on Some Ornamentals*”.

Ulterior, editura germană Springer-Verlag, în anul 1986 a inițiat publicarea unei enciclopedii de biotehnologie vegetală, axată pe cele mai variate domenii de culturi de țesuturi și celule la plante intitulată: „*Biotechnology in Agriculture and Forestry*”, editor *Bajaj Y.P.S.* În volumele 17 și 32 și cercetători de la noi din țară au publicat capitole, respectiv în volumul 17, în anul 1991, prof.dr. *Cachiță* a publicat un capitol: „*The Effect of the Nature and Origin of Explant, on Micropropagation*”, iar în anul 1995 prof.dr. *Cachiță* și *Crăciun*, în vol. 32 al aceleiași enciclopedii, au publicat un alt capitol denumit: „*Cryopreservation of Alfalfa (Medicago sativa L.) and Clovers (Trifolium Species)*”.

Recesiunea economică din România, din ultimii ani, a provocat un declin puternic al cercetării științifice din țara noastră, implicit și în domeniul culturilor de țesuturi și celule vegetale. Totuși, în principalele instituții de învățământ superior din România, laboratoarele de biotehnologie vegetală s-au menținut ca unități în care studenții biologi, agronomi și silvicultori au practicat tehnicile moderne de fitovitrocultură, utilizând explante variate, atât în scopul *micropropagării* (respectiv al multiplicării clonale a speciilor valoroase), cât și al *modificării genetice*, dirijate, a unor specii vegetale, sau al *conservării* fitoinoculilor în *Bănci de gene*, astfel încât, treptat, această disciplină a devenit prezentă în programele analitice ale unor unități de învățământ superior din țara noastră.

Simpozioanele Naționale de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale din ROMÂNIA organizate în perioada anilor 1981-2007, lucrări publicate în volume fie în anul susținerii lor în cadrul simpozioanelor, fie cu unul sau doi ani mai târziu, fie coloționând două simpozioane într-un unic volum:

15-16 decembrie 1981, Cluj-Napoca: -Primul Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale intitulat: „*Culturile de țesuturi-instrument de cercetare în biologia vegetală teoretică și practică*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: *PREDĂ, V. & PUIA, I & CACHIȚĂ, C.D.* (1981) Cluj-Napoca: Tipo Agronomia. 453 p.

15-16 decembrie, 1983, Pitești: - „*Lucrările celui de al II-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi Vegetale „in vitro*”. Vol. I și II,

organizator al simpozionului și editor coordonator al volumelor: Ceaușescu I., Academia de Științe Agricole și Silvici; Institutul de Cercetare și Producție pentru Promocultură Pitești – Mărăcineni; Institutul „Nicolae Bălcescu” București.

19-21 decembrie, 1985, București: - „*Lucrările celui de al III-lea Simpozion Național de Culturi de Celule și Țesuturi Vegetale in vitro*”; organizatori ai simpozionului: Societatea de Științe Biologice; Institutul de Științe Biologice București; Universitatea București; Inst. de Cercetări și Proiectări pentru Valorificarea și Industrializarea Legumelor și Fructelor; coordonatori: Ceaușescu I. și Anghel I., Tipografia Univesității din București, 495 p.

7-9 decembrie 1989, Cluj-Napoca: - Al IV-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*In vitro*” *Explant Cultures - Present and Perspective*”; organizator al simpozionului și editor coordonator al volumului: Cachiță, C.D., Tipocart -Brașov S.A. Ed. I.C.B. Cluj- Napoca, 1991, 159 p.

iunie 1993, Bucuresti: „*Lucrările celui de al V-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: Anghel, L., Brezeanu, A., Cachiță, C.D., Ed.Univ. București, 1993,319 p.

10-11 iunie 1996, Băile Felix – Oradea: -Al VI-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Actualități și perspective în biotehnologiile vegetale*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: CACHIȚĂ, C.D. & ARDELEAN, A. & CRĂCIUN, C. (1997) Arad: „V.Goldiș”. 250 p.

iunie 1997, Arad: - Al VII-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale; organizatori ai simpozionului: Cachiță C.D. și Ardelean A.

iunie 1998, Buziaș: - al VIII-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale., organizatori: Cachiță, C.D., Ardelean, A. Lucrările simpozioanelor de la Arad și de la Buziaș au fost reunite într-

un volum intitulat: „*Culturi „in vitro” la cormofite*”, Editori coordonatori: CACHIȚĂ, C.D. & ARDELEAN, A. & CRĂCIUN, C. (1999) Cluj-Napoca: Risoprint. 407 p.

11-12 iunie 1999, Constanța: Al IX-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Actualități și perspective în biologia vegetală*”; organizatori și editori coordonatori ai volumului: CACHIȚĂ, C.D. & BAVARU, A. & BREZEANU, A. (2000) Constanța: „Ovidius” University Press. 186 p.

10-11 noiembrie 2000, Cluj-Napoca: -al X-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Manifestare jubiliară „25 de ani de culturi de țesuturi vegetale în România*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: CACHIȚĂ, C.D. & RAKOSY-TICAN, L. & ARDELEAN, A. (2002) Cluj-Napoca: Risoprint. 436 p.

6 iunie 2002, Satu Mare: - Al XI-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale intitulat: „*Omagiu dedicat lui G. Haberlandt (100 de ani de la lansarea teoriei totipotentialității celulei vegetale) și lui Morel și Martin (50 de ani de la realizarea de vitroculturi libere de viroze)*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: CACHIȚĂ, C.D. & ARDELEAN, A. (2003) Satu Mare: Daya. 243 p.

5 iunie 2003, Jibou-Sălaj: - al XII-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Fiziopatologia vegetală studiată în regim de vitrocultură*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: CACHIȚĂ, C.D. & ARDELEAN, A. & FATI, V., Satu Mare: Daya. 288 p.

9 iunie 2004, Sighișoara: – al XIII-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Vitroculturile la cormofite, modele experimentale în cercetările de biologie*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: CACHIȚĂ, C.D. & ARDELEAN, A., Satu Mare: Bion. 311 p.

9 iunie 2005, Sibiu: - al XIV-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Conservarea vitroculturilor vegetale*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: CACHIȚĂ, C.D. & SAND, C., Sibiu: Alma Mater. 276 p.

7 iunie 2006, Iași: - al XV-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Micropropagarea speciilor vegetale*” organizator al simpozionului și editor coordonator al volumului: CACHIȚĂ, C.D. (2007) Cluj-Napoca: Risoprint. 266 p.

8 iunie 2007, București: al XVI-lea Simpozion Național de Culturi de Țesuturi și Celule Vegetale, intitulat: „*Biotehnologii vegetale pentru secolul XXI*”; organizatori ai simpozionului și editori coordonatori ai volumului: CACHIȚĂ, C.D. & BREZEANU, A. & ARDELEAN, A. (2008) Cluj-Napoca: Risoprint. 214 p.

SPECII PRE-UMANE. APARIȚIA GENULUI *HOMO* ȘI EVOLUȚIA SA

PREHUMAN SPECIES. EMERGENCE OF *HOMO* GENUS AND HIS EVOLUTION

Gabriel C. CORNEANU* Mihaela CORNEANU**

Abstract

Homo habilis, emergent with 2,000,000 – 1,900,000 years ago, was considered as the first species of the *Homo* genus, with a big brain (550-687 cm³). He was meet in Olduvai Gorge, Tanzania, manufactured the stone tools, of Olduvan type, communication with his fellows creature through speech, and manifest sexual dimorphism differences regarding the size of the two sex, large pelvis at female, a/o. These features conduct to family-tribal organisation, with male and female groups, with concrete role in their biological existence. The ecological conditions from the Great Rift Valley (Africa) as well as from some regions from Asia, with similarly features, offer an optimal advantage for evolution and diversification of the prehuman species (*Homo ergaster*, *Homo erectus*, a/o). The recent investigations (2013 and 2014 years), conduct to identification of a new species, *Homo naledi*, in a geological formation dating from 2.3 million years. The pre-human species which inhabit on Terra, put material proof regarding their social, behaviour or artistic activities. Direct implicate in pre-human activities were the species from *Homo arhaicus* group, from which were *Homo neanderthalensis* ([400,000] 350,000 – 28,000 BCE, meet in Europe, Middle Orient, West of Asia present with over 100,000 years, forward of *Homo sapiens*); *Homo Cro-Magnon*, contemporary with *Homo neanderthalensis* and author of some celebres art capodoper present in different regions from Europe (Iberia peninsula, Romania, a/o); *Homo heidelbergensis* (600,000 – 350,000 BCE), *Homo rhodesiensis* (300,000 – 12,000 BCE), from which are present the anatomic modern humans,

* Prof. univ. dr. Facultatea de Agricultură, Universitatea din Craiova

** Prof. univ. dr. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului “Regele Mihai I al României”

represented through *Homo denisovan* (41,000 BCE), present from Siberia to Papua, New Guinea; *Homo floresiensis* (100,000 – 12,000 BCE, Flores Islas, Indonesia), *Homo sapiens idaltu* (160,000 BCE), *Homo sapiens sapiens* (250,000 – 200,000 BCE) present in the all regions of our planet. The Denisova cave was used as habitat space time of 125,000 years. In the geological niche Denisova cave, from Altai Mountains from Siberia, at the border between China and Mongolia, *Homo denisovan* probably live together with *Homo sapiens sapiens* (modern *Homo*) and with *Homo neanderthalensis*, having hybrids. We mention that many from pre-human species were inter-fertile the molecular biology investigations evidenced the presence of some types: *Homo neanderthalensis* x *Homo denisovan*; *Homo sapiens sapiens* x *Homo neanderthalensis*, a/o. The modern anatomic homo (*Homo sapiens sapiens*), emergence with 200,000 – 250,000 years ago, from archaic homo, in Middle Palaeolithic. This product and use the fire, in alimentation, as well as protection against inclemency and wild animal, a/o, being an essential factor for the homo evolution. Benefit by remake at fire of the nutriments, the pre-human creatures has at our disposal by rich nutriments resources. As result take place the skeleton enhanced implicate of skull and encephala. Thus were developed the practical utilities, followed by thinking and abstracts utilities. Were manage inhabited spaces, developed the language, family and social live. Was emergence and developed the abstract thinking and the pre-human modelling different matter from environment and obtained statuettes, rupestre painting a/o. The emergence of some burial practices, which represent the religion germs and belief in the existence of a new live (in tombs were deposit foods, personal objects, medicinal plants, a/o).

Key Words: pre-human species; *Homo* genus emergence; human evolution.

Grija părinților pentru dezvoltarea descendenței

În mediul ambiant există numeroase exemple care atestă grija părinților pentru dezvoltarea urmașilor. Astfel, la numeroase vertebrate inferioare cu fecundația externă, femela depune gametei cu o mare cantitate de vitelus, care asigură dezvoltarea puietului. De asemenea, la multe specii de pești, amfibieni sau reptile, masculul construiește cuibul în care femela va asigura dezvoltarea progeniturii. Cuibul care prezintă un aspect deosebit, va fi ales de femelă pentru depunerea pontei. Unele specii de insecte

(termite sau altele) amenajează adevărate crescătorii de ciuperci, care vor reprezenta hrana pentru dezvoltarea progenerurii. Multe alte specii de animale fac rezerve de hrană, protejată față de accesul altor specii, sau indivizi. De asemenea, sunt utilizate diferite materiale (piatra, fildeș, lemn, ș.a.), ca resurse de materiale utile, ș.a. În multe cazuri aceste acțiuni au la bază un determinism genetic. Unele specii depozitează hrana atunci când aceasta se află în exces. Astfel unele pasari sau mamifere mici, păstrează hrana în exces în diferite locuri (înfiptă în spini sau îngropată în sol, ș.a. Alte specii folosesc diferite materiale din mediu, pentru extragerea sau separarea părții comestibile a unor materiale diverse (oase sau fragmente vegetale, ș.a.). Evoluția este explicată pe baza mai multor teorii. Teoria informațională a evoluției elaborată de Kordium (1982), poate explica evoluția rapidă a taxonilor în timp geologic scurt, prin circulația pe „orizontală” a informației genetice între indivizi aparținând unor taxoni diferiți (Botnariuc, 1992). Transferul de informație poate fi realizat de virusuri, ș.a.

Great Rift Valley și evoluția hominidelor. The Rift Valley sau Great Rift Valley, este o vastă formațiune geografică și geologică care se întinde pe aproape 6000 km pe direcția nord-sud a circumferinței planetei noastre, din nordul Siriei (Asia de sud-vest) până în centrul statului Mozambic (estul Africii). Lățimea văii variază între 30 și 100 km, iar adâncimea de la câteva sute de metri, până la mai multe mii de metri. Ea a rezultat prin separarea plăcilor tectonice Africană și Arabă, proces care a început acum 35 milioane ani și separarea Africii de est de restul Africii, proces început acum 15 milioane ani. Aceasta regiune a reprezentat o sursă bogată de descoperiri paleo-antropologice, fiind prezervate diferite resturi umane: oase de hominide, ancesori ai speciei umane (*Sahelanthropus tchadensis*, *Ardipithecus ramidus*, *Australopithecus afarensis*, specie reprezentată prin celebra Lucy, care a trăit acum 3,2 milioane ani, ș.a.). Gun (1998) a considerat ca accesul pentru o lungă perioadă de timp la o sursă dietetică bogată în catene lungi poli-nesaturate (LCPUFA), a reprezentat caracteristica principală a evoluției creierului uman (Broadhurst et al., 1998). Condițiile ecologice din Valea Marelui Rift African, au oferit avantaje optime pentru evoluția și diversitatea speciilor pre-humane. In lumea științifică, există o dispută privind factorul principal implicat in evoluția creierului: condițiile de mediu, sau dieta (calitatea și

tipul alimentației). Cele două elemente implicate în evoluția creierului în regiunea Marele Rift African, sunt reprezentate prin: (a) elementele ecologice, respectiv un mediu cu apa curată proto-oceanică și (b) o sursă dietetică bogată în lanțuri lungi poli-nesaturate (LCPUFA; Broadhurst et al., 1998). Pe suprafața planetei Terra, există regiuni cu izvoare cu apă un pH neutru, având conținut scăzut în deuteriu. Populația umană care locuiește în aceste regiuni, manifestă vitalitate înaltă, speranța de viață depășește 120 ani, oamenii de vârstă centenară sunt fertili, manifestând puține boli. În una din aceste regiuni, în peștera Denisova din munții Altai, au co-existat acum 40.000 ani, trei specii ale genului *Homo*: *Homo sapiens sapiens*, *Homo denisovan* și *Homo neanderthalensis*, împreună cu hibrizii lor. O regiune similară se află în zona muntoasă din Tadjikistan, unde se află mulți locuitori de vârstă centenară, izvoare de apă cu un conținut scăzut în deuteriu. Fiind localizată în apropiere de peștera Denisova din munții Altai, cercetări ulterioare vor evidenția existența sau nu a fosilelor umane. Experimentele efectuate cu depleted-deuterium water (DDW), au evidențiat rolul său protector, acționând ca o capcană de radicali liberi (Corneanu et al., 2010).

Hominizi primitivi și utilizarea unor „unelte” primitive în Europa (România).

Se consideră că hominizii primitivi ar fi trait acum 2 – 4 milioane ani în Africa și Asia. Pe teritoriul României (Bugiulești, Tetoiu, județul Vâlcea), au fost gasite urme care denotă prezența unor stramoși ai omului, reprezentate prin fragmente de oase, unelte de lemn, os și piatră brută, care datează de circa 1,8 – 2 milioane ani (C.S. Nicolăescu-Plopșor, 1956, ș.a.). În lipsa prezenței unor fragmente osoase, s-a presupus că acestea reprezintă activitatea unor hominizi denumiți diferit de cercetători: *Australanthropus olteniensis*, *Archanthropus alutensis* sau *A. carpathicus* (Dardu Nicolăescu-Plopșor, 1976; Vasiliu, 1996). Investigatiile efectuate în punctul Valea lui Grăunceanu, satul Bugiulești, comuna Tetoiu (județul Vâlcea), de Constantin S. Nicolăescu-Plopșor și fiul sau Dardu Nicolăescu-Plopșor, au condus la descoperirea, în anul 1962, unui bogat depozit de sedimente osoase, provenite de la 23 specii de mamifere, printre care cai, cerbi, feline, urși, maimuțe, girafă, pangolin, ș.a., având o vechime de 1.800.000 – 2.000.000 ani. Alături de acestea au fost gasite două femure și o tibie protohumană, având pe suprafața ei urme de spargere intenționată cu un

obiect de piatră sau os, pentru extragerea măduvei osoase comestibile (D. Nicolăescu-Plopșor, 1976). Raymond Dart, celebru antropolog din Republica Sud-Africană), venit în România pentru a analiza apartenența acestor oseminte, nu a avut o opinie certă. Ulterior, paleontologul și antropologul belgian Jean-Marie Cordy nu a respins ideea ca un protohumanoid să fi viețuit în această zonă ecologică. Posibilul creator al acestor „unelte” primitive, ar fi fost un individ din specia *Australanthropus olteniensis*, *Archanthropus alutensis* sau *A. carpathicus* (Dardu Nicolăescu-Plopșor, 1976; Vasiliu, 1996). Acesta ar reprezenta o varietate a speciei *Homo habilis*, fiind biped, cu o postură erectă, având capacitatea cutiei craniene de cca. 700 cm³, confecționa unelte și vâna prin hăituire. Ulterior, cercetări efectuate în Peștera cu Oase (pe valea Dunării, lângă Anina, județul Caraș-Severin, România), au condus la descoperirea unor crani și alte oase fosilizate, având o vechime de 37.800 ani (cele mai vechi schelete de Neanderthalian din Europa: Reich et al., 2010; Anderson, 2015).

Specii de pre-hominieni apărute, cu adaptare la condiții ecologice și geologice specifice.

O sinteza privind speciile pre-humane și evoluția în cadrul genului *Homo*, a fost elaborată recent în limba română (Adrian Nicolae, 2015). Caracteristicile unor specii implicate în procesul de umanizare, sunt prezentate în Tabelele 1-3. Întocmirea lor a fost realizată utilizând informațiile din literatura de specialitate recentă (martie 2016).

Homo naledi, descoperit în Africa de Sud, la 50 km de Johannesburg, în straturi având o vechime de 2,3 milioane ani. În cercetările efectuate în anii 2013 și 2014, au fost găsite 1500 oase și fragmente osoase, provenite de la 15 indivizi, de vârste diferite (copii și adulți). Prezentați o deplasare bipedă, piciorul fiind similar cu piciorul de la omul actual, mâna putând fi folosită pentru mânăuirea diferitelor obiecte. Aveau 1,5 m înălțime, 45 kg greutate, însă prezentați o înălțime de 1,5 m, greutatea de 45 kg, însă capacitatea cutiei craniene de numai 500 cm³, comparabilă cu cea a lui *Australopithecus sediba*. Se crede că era rudă cu *Homo heidelbergensis* (Dirks et al., 2015). Tattersall (American Museum of Natural History), a afirmat însă poate nu reprezintă prima specie a genului *Homo*.

Homo habilis, considerat inițial ca fiind prima specie a genului *Homo*, a apărut în urmă cu 2.000.000 – 1.900.000 ani, având un creier mare. Descoperit de Mary și Louis Leakey, la Olduvai Gorge (Tanzania), întâlnit

în sudul și estul Africii și denumită de Richard Leakey ca „being handy” (Leakey et al., 1964; Leakey, 1971). Estimările anterioare au indicat un volum endocranian de 550 – 687 cm³, însă investigațiile efectuate în anul 2015 au indicat o capacitate cranială de 729 - 824 cm³. A trait în Pleistocen. Se consideră că este forma umană timpurie care a produs o cantitate impresionantă de instrumente (scule) de piatră (găsite la Olduvai Gorge, Tanzania). A manifestat bipedism, fiind capabilă să apuce diferite obiecte și să prelucraze piatra. Prezentă în Africa, cu un milion de ani în urmă. A coexistat împreună cu *Homo erectus*. Au fost cei mai scunzi oameni moderni, înălțimea corpului până la 1,3 m și o greutate de 35-55 kg. Deși prezenta o capacitate cranială mai mică decât a oamenilor moderni, prezența sa este asociată cu cele mai primitive unelte, găsite la Olduvai Gorge (Tanzania) și Lake Turkana (Kenya). O fosilă intermediară între *Australopithecus* și *Homo habilis*, a fost găsită în depresiunea Afar, Etiopia, fiind cea mai timpurie evidență a genului *Homo*. *Homo habilis* a rămas în Africa 500.000 ani și a dispărut după 1.400.000 ani. De menționat ca indivizi care au folosit de timpuriu pietrele și fragmentele de os, drept „unelte” pentru extragerea măduvei din oasele lungi, fiind astfel asociate cu prezența lui *Australanthropus oldeniensis*, la o dată mai timpurie (1.700.000 – 2.000.000 ani, Bugiulești, România). Se considera ca *Homo habilis* este un antecesor al speciei *Homo ergaster*, din care a evoluat *Homo erectus*. Aceasta a confecționat circa 11 tipuri de unelte de piatră tip Olduvan și comunica cu semenii săi prin vorbire (avea activă gena *FOXP2*), manifestând și dimorfism sexual. Mersul biped, a condus la eliberarea mâinii de funcția de locomoție, fiind astfel aptă pentru apucare și mănuit obiecte și pentru a confecționa unelte, prin modelarea materiei prime din jur. Dimorfismul sexual a condus la organizarea tribală a grupului de hominieni: diviziunea muncii în grup, organizarea socială și apariția familiei. Dimorfismul sexual este caracterizat prin diferențe de mărime între indivizii celor două sexe. Masculii fiind mai mari, vânau în grup animale de talie mare. Femelele prezentau pelvis larg, care facilita o naștere ușoară, având de timpuriu copii. Organizarea social-tribală, comunicarea verbală și dimorfismul sexual, au condus la diviziunea tribală în muncă a grupului de culegători-vânători. Masculii capturau vânatul mare, femelele nășteau și creșteau copiii, având grijă de ei și de alți membri ai comunității; capturau vânat de talie mică și erau culegători de ierburi și fructe.

Homo ergaster, denumit „working man”, a apărut în Pleistocen în Africa de Sud, fiind cel mai timpuriu hominid, în vecinătatea sa fiind prezentă o cantitate mare de unelte utilizate manual. A trăit între 1.900.000 – 1.400.000 ani (dupa alte surse, între 1.800.000 – 1.300.000 ani). Sunt mai multe ipoteze asupra originii sale: (a) *Homo ergaster* reprezintă varietatea Africană a speciei *Homo erectus*; (b) *Homo ergaster* este ancestor al speciei *Homo erectus*; (c) nu există diferențe distincte între *Homo ergaster* și *Homo erectus*. Avea 60-70 kg și o talie până la 1,90 m, capacitatea cutiei craniale fiind de 700-850 (900) cm³. Unele specimene prezente mai târziu, au avut cutia cranială de 900-1100 cm³. Unii autori consideră că după separarea lui *Homo erectus* de *Homo habilis* (proces care a avut loc acum 1.800.000 ani), a emigrat din Africa, rezultând *Homo erectus*. *Homo ergaster* a dezvoltat o tehnică de confecționare a uneltelor, superioară celei utilizate de *Homo habilis*. În plus, *Homo ergaster* este considerat ca fiind primul hominid care folosea focul (nu se știe însă dacă îl putea produce). Se pare că a avut gena *FOXP2*, care a permis însă numai o conversație vocalizată. Posesia unei tehnici superioare care a permis confecționarea de unelte diverse și mai sofisticate, utilizarea focului care a permis îmbunătățirea și diversificarea alimentației, precum și utilizarea unor elemente de conversație în viața socială, au fost definitorii pentru evoluția sa și a descendenților săi.

Homo erectus, apărut în Pleistocen, întâlnit între 1.900.000 – 70.000 ani. Originar din Africa, s-a răspândit în Eurasia: Georgia, India, Sri Lanka, China, Indonezia. Cele mai vechi exemplare datează de 1,9 – 1,6 milioane ani, iar cele mai recente de 10.000 ani. Caracterizat prin mărirea dimensiunii corpului (talie 180 cm, greutate 60 kg), capacitate cutie cranială între 850-1100 cm³. Dentiția era similară cu cea de la *Homo sapiens*, exemplarele mai timpuri având însă dinții mai mari. Poseda un creier voluminos, producea și utiliza focul, avea o dietă variată și bogată, utiliza membrele anterioare pentru mână unelte și arme, trăia într-o societate de culegători-vânători (Dubois, 1895). În cărțile sacre, se afirmă că după alungarea lor din Grădina Eden, Adam și Eva au întâlnit „alți oameni”, afirmație care susține că aceștia puteau fi reprezentanți ai speciei *Homo erectus*. *Homo erectus* a utilizat pigmenți minerali, pentru pictarea corpului, aspect întâlnit în peștera Twin River. Pictarea corpului uman putea avea aspect sacru, estetic sau servea drept camuflaj.

Referitor la originea sa, sunt mai multe ipoteze: (a) *Homo erectus* este o specie similară cu *Homo ergaster*, fiind ancestor direct pentru *Homo*

heidelbergensis, *Homo neanderthalensis*, *Homo sapiens*; (b) *Homo erectus* este o specie Africană, distinctă față de *Homo ergaster*; (c) *Homo ergaster* este varietatea Africană a speciei *Homo erectus*; (d) sub denumirea *Homo erectus*, au existat mai mulți ancesori în același areal; (e) speciile umane arhaice (*Homo habilis*, *Homo rudolfensis*, *Homo ergaster*, ș.a.) reprezintă varietăți ale aceleiași specii. După unii autori, specia *Homo erectus* a apărut acum 2.400.000 ani, răspândindu-se în toată Eurasia, producând linii evolutive separate.

Descoperirea, păstrarea și utilizarea focului, se presupune că a fost realizată de *Homo erectus*. Focul a fost esențial pentru protecția și apărarea ființelor preumane în fața animalelor mari și față de intemperii, precum și pentru prepararea hranei și asigurarea unei diete optime. Dieta bogată datorită preparării hranei la foc, a condus la mărirea volumului cranial și implicit a encefalului. Prepararea alimentelor la foc a condus la creșterea calității alimentației, proces exprimat în creșterea volumului cutiei craniale și a creierului. Dezvoltarea mărimii encefalului, a fost necesară atât pentru necesități practice (utilizarea resurselor mediului, precum piatra, fildeș, os, ș.a., drept unelte sau arme), cât și pentru reprezentări abstracte, caracterizate prin apariția gândirii, modelarea materialelor din jur și realizarea unor statuete, picturi rupestre, ș.a. Multiple statuete reprezentând femei care personifică fertilitatea și fecunditatea, fenomene (statuete denumite Venus, descoperite în toată aria locuită de triburile de hominieni (Fig. 2), personalități (gânditorul de la Hamangia), picturi rupestre, unelte și arme mai eficiente, cunoștințe de cosmologie prin care explicau lumea din jur (Fig. 1). Se pare că nu a comunicat prin limbaj oral cu semenii săi, deoarece constituția sa anatomică a permis numai procesul de vocalizare.

Pregătirea alimentelor și obținerea de mâncare la foc, de către *Homo erectus* a condus la creșterea valorii resurselor alimentare. Astfel, s-a putut trece de la activități practice (confeccionarea de unelte și arme), la activități abstracte (modelare roci și confeccionarea de unelte și arme mai performante, statuete, picturi parietale), ș.a. Existența unui ceremonial de înmormântare la omul de Neanderthal, precum și prezența unor elemente religioase (credința existenței unei vieti ulterioare, lângă decedați fiind depuse rezerve alimentare, obiecte personale, ș.a.), subliniază aspecte ale gândirii abstracte.

Homo erectus a fost o specie de vânător-culegător.

Avantajele unei populații de oameni culegători-vânători:

- îmbogățirea și diversificarea alimentației;
- producerea și păstrarea focului, a făcut posibilă pregătirea alimentelor prin gatire și obținerea unei surse mai mari de elemente nutritive, proteine, ș.a.;
- dieta obținută a constituit o sursă bogată de hrană, de calitate, care a permis mărirea capacității cutiei craniale și a volumului encefalului, baza dezvoltării inteligenței;
- dezvoltarea gândirii abstracte, a avut la bază mărirea encefalului;
- amenajarea spațiilor de locuit, viața în colectivitate, îngrijirea membrilor grupului care aveau diferite probleme (bolnavi, bătrâni, copii, ș.a.), rezistența în fața intemperiilor;
- realizarea unor obiective artistice: picturi rupestre, modelarea în piatră a unor elemente din jur (animale, zeități, divinități, totem-uri ale forțelor naturii, aspecte cosmologice, ș.a.);
- reprezentarea pe pereții peșterilor a animalelor și a scenelor de vânătoare cu precizarea locurilor vulnerabile pentru capturarea lor, a reprezentat o sursă de învățăminte și instruire a membrilor comunității;
- amplificarea și/sau activarea unor gene (existente în lumea vie la diferite organisme), implicate în activități sociale, pentru protejarea descendenței, ș.a. (construirea cuibului, dotat uneori cu rezerve de hrană pentru protejarea descendenței (pești, păsări, reptile, ș.a.); crescătorii de ciuperci în cuibul termitelor; vânărea și stocarea unor rezerve de hrană (unele păsări, insecte).

Avantajele vânării animalelor:

- hrană de calitate, sursă de proteine;
- gătitul cărnii, mărește calitatea alimentelor și energia primită în organism;
- utilizarea pieilor animalelor vânată pentru confecționarea hainelor, încălțăminte, ș.a.
- prelucrarea ideilor rezultate prin gândirea abstractă și reprezentarea unor aspecte de la vânătoare, utile pentru comunitate, prin statuete sau picturi rupestre care au reprezentat: animale de interes alimentar; scene de la vânătoare cu locul de aplicare a loviturilor pentru capturarea acestora; statuete care reprezentate animalele de interes, personalități, forțe ale naturii, ș.a.;

- utilizarea culorilor minerale pentru pictarea corpului (camuflaj); totem-uri cu redarea animalelor sălbatice, personalităților, divinităților, ș.a;
- mărirea capacității cutiei craniale și a encefalului care au condus la dezvoltarea gândirii abstracte și mărirea inteligenței, ș.a.

O fosilă celebră, descoperită de Eugen Dubois în anul 1891, a fost *Homo (Pitcanthropus) erectus* (Dubois, 1895). Prezența unui creier voluminos, dieta variată și bogată, utilizarea membrilor anterioare pentru mânăuirea uneltelor și armelor, prezența familiei și a unei vieți sociale, au condus la dezvoltarea gândirii și activităților abstracte. Se trece astfel de la activități cu rezultate practice (utilizarea unor materiale din mediul ambiant precum piatră, os, fildeș, lemn, pentru obținerea de unelte și arme), la activități cu rezultat abstract (modelare os, piatră, fildeș, lemn și obținerea de statuete de animale, multiple tipuri de Venus care personalizau fertilitatea și fecunditatea, personalități (gânditorul din Hamangia), zeiți, desene parietale (animale, scene de vânătoare cu precizarea locului de țintire la vânătoare), elemente de cosmologie, ș.a. Cosmologia este veche, precum umanitatea. Cele mai timpurii elemente de cosmologie datează din neolitic (cu 20.000 – 100.000 ani în urmă). În Africa sub-Sahariană a fost găsit un fragment de os, datând de aproape 20.000 ani, reprezentând un calendar lunar. Existența sa subliniază cunoștințele astronomice și cosmologice ale populațiilor umane. Structuri megalitice cu tematică din astronomie, întâlnite în Africa și Europa (complexul Stonehenge din Marea Britanie), apar în jurul anilor 5.000 BC. Ele sunt realizate de diferite populații și culturi umane, care nu au avut contacte directe una cu cealaltă. Reprezentativă este opera **Nebra sky disk** (Pergamon Museum, Berlin), un disc de bronz având circa 30 cm în diametru și o greutate de 2,2 kg, descoperită lângă Nebra, landul Saxonia, Germania. Pe disc sunt reprezentate soarele (sau o lună plină), o semilună și stele (un cluster de stele, considerat că ar reprezenta Pleiadele. "Nebra sky disk constituie cea mai veche reprezentare a cosmosului nostru, fiind considerată drept una din cele mai importante descoperiri arheologice din secolul 20" (Fig. 1).



Fig. 1 – Nebraska sky disc (Pergamon Museum, Berlin;
Wikipedia free Encyclopedia, 2016)

Grup indivizi	Specie	Populație
Oameni	Homo sapiens sapiens (om anatomic modern) Homo sapiens idaltu	Homo sapiens
Neanderthalieni	H.s. neanderthalis	Homo neanderthalensis
Oameni arhaici	H.s. heidelbergensis H. s. rhodesiensis H. s. antecessor	Homo heidelbergensis Homo rhodesiensis Homo antecessor
	H. s. denisovan	

Tabel 1. Relații între grupele de indivizi
și speciile implicate în procesul de
umanizare.

Prelucrarea blocurilor de rocă și obținerea lepezilor de piatră sau a nodulilor de silex, este realizată în prezent în același fel, ca în preistorie. În localitatea Valea Țâței, comuna Pietroșița, județul Dâmbovița, România, la prelucrarea pietrei și obținerea de dale, grupuri de 3 muncitori lucrează câte doi. Drept unelte sunt utilizate ciocane de lemn sau dălți de piatră dură.

Specie	Perioada	Răspândire	Capacitate cutie cranială (cm ³)
<i>Homo erectus</i>	1.800.000–100.000	Africa, Eurasia	850 – 1.100
<i>Homo heidelbergensis</i>	600.000–350.000	Europa, Asia, Africa	1.100 – 1.400
<i>Homo neanderthalensis</i>	350.000–27.000	Europa, Orientu Mijlociu, Asia	1.700
<i>Homo sapiens</i>	250.000–prezent	Toată planeta	1.350
<i>Homo modern anatomic</i>	100.000 – prezent	Toată planeta	1.350
<i>Homo denisovan</i>	40.000	Asia, Oceania	?
<i>Homo floresiensis</i>	100.000–12.000	Indonezia	450

Tabel 2. Specii preumane, răspândire, mărime cutie cranială (compilație după datele din literatură).

Blocurile de piatră care trebuiesc prelucrate (șisturi cristaline, bazalt, ardezie, cremene, ș.a.), sunt așezate în fața lor, pe un plan înclinat al solului. Cu ciocanul și dalta, mânuite ritmic, sunt aplicate lovituri repetate blocului de materie primă, urmărind liniile de slabă rezistență ale pietrei, care este divizată în plăci. Cele trei echipe fuzionează și divizează blocul inițial, obținând plăci de mărimi diferite, adecvate scopului urmărit: plăci de ardezie pentru acoperișuri, plăci de piatră pentru paviment, bucăți de piatră de mărimi diferite din care se vor modela diferite obiecte cu utilități diferite, ș.a. Recent, celebrul om de știință Claude Lévi-Strauss (1986), a comparat obținerea de xilexuri în preistorie, cu banda de producție industrială din epoca noastră.



Fig. 2 – Femeie în societate. Figurină din argilă arsă, Civilizația Cucuteni, 4500 – 3900 BC (din *Wilford*, 2009).



Fig. 3 – Figurină din argilă arsă, Civilizația Cucuteni, 4500 – 3900 BC (din *Wilford*, 2009).

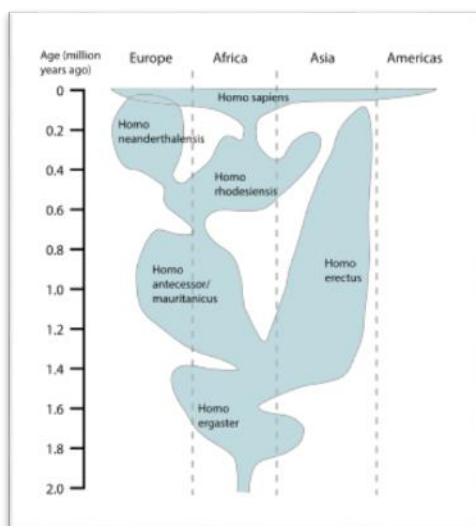


Fig. 4 – Distribuția temporală și geografică a populațiilor de hominide (după *Stringer C.B.*, 2003).

Specie	Perioada de timp. (Mil.ani)	Habitat	Înălțime adult (cm)	Greutate adult kg	Volum craniu cm ³	Fosile existente	Desc/publ.
<i>H.habilis</i>	2,1-1,5	Africa	150	33-55	510-660	Multe	1960/1964
<i>H.erectus</i>	1,0-0,07	Asia, Europa	180	60	850-1100	Multe	1891/1892
<i>H.rudolfensis</i>	1,9	Kenya	-	-	700	2 site	1972/1986
<i>H.ergaster</i>	1,8-1,3	Africa	-	-	700-850	Multe	2010/2010
<i>H.antecessor</i>	1,2-0,8	Spania	175	90	1000	2 site	1997
<i>H.ceprarensis</i>	0,9-0,35	Italia	-	-	1000	1 craniu	1994/2003
<i>H.heidelberg.</i>	0,6-0,35	Europa Asia	180	90	1100-1400	Multe	1908
<i>H.neanderthal</i>	0,35-0,4	Europa Asia	175	55-70	1200-1900	Multe	1829/1864
<i>H.naledi</i>	2,5	Africa	150	45	450-500	15 indiv.	2013/1015
<i>H.tsaichan-genesis</i>	0,19-0,01	Taiwan	-	-	-	1 ind.	2008/2015
<i>H.rhodesiensis</i>	0,3-0,12	Zambia	-	-	1300	Puține	1921
<i>H.sapiens</i>	0,2-act.	Toată planeta	150-190	50-100	950-1800	Prezent	1758
<i>H.floresiensis</i>	0,1-0,012	Indonezia	100	25	400	7 indiv.	2010
<i>H.denisovan</i>	0,04	Rusia	-	-	-	1 site	2010
Red cave deer	0,0145-0,0115	China	-	-	-	Puține	2012
<i>H.idaltu</i>	0,16-0,154	Ethiopia	-	-	1450	Puține	1997

Table 3. Characteristics of some prehuman species (after Brown, Fairfax, Sarao și Anonymous, 2012; completed, modified Corneanu & Corneanu).

Other species on the way of humanization

Distribution in time and space between different pre-human species, is shown in Fig. 4 (after Stringer, 2003).

Homo antecessor. Discovered in Spain in the year 1994. It lived between 1.200.000 – 800.000 BC. It had a height of 1,75 m and a weight of 90 kg. The capacity of the cranial box was 1.000 – 1.150 cm³.

Homo heidelbergensis, was described on the basis of a mandible found in the year 1907 in Heidelberg, Germany. It lived in Africa, Europe and Asia of the West, about 600.000 – 200.000 years ago. Their skulls had characteristics with

craniul lui *Homo erectus* și cel omului modern anatomic. Capacitatea cutiei craniale era de 1100-1400 cm³ (93% din volumul omului modern actual), iar caracteristicile dentale plesiomorfe. Dintii erau mai mici, în comparație cu omul modern actual. A fost un vânător de animale mari, până la 700 kg greutate (cerb, elefant, căprioară, rinocer, cal, ș.a.), folosind unelte de tip Acheulean. *Homo heidelbergensis* a avut relații cu *Homo neanderthalensis*, *Homo denisovan* și *Homo sapiens* (omul modern anatomic). În urmă cu 300.000 – 400.000, un grup de indivizi din specia *Homo heidelbergensis*, au migrat în Europa și Asia de vest, ajungând în Spania, Italia, Franța, Anglia, Germania, Ungaria, Grecia. Un alt grup a ajuns în Asia continentală, având relații cu *Homo denisovan*. Populația africană de *Homo heidelbergensis* (*Homo rhodesiensis*), s-a contopit cu *Homo sapiens*, timp de aproximativ 130.000 ani, după care a migrat în Europa și Asia, în urmă cu 125.000 – 60.000 ani. Unii antropologi susțin că au depistat existența unei asocieri între *Homo heidelbergensis* și *Homo erectus*. Talia era de 1,75 m, greutatea de 60 - 65 kg, iar capacitatea cutiei craniale de 1100 - 1400 cm³. Anatomic, *Homo heidelbergensis* este mai primitiv decât omul modern anatomic, însă arcul dentar este armonios, cu dinți compleți. Dimorfism sexual, bărbații având talia de 1,75 m și greutatea de 62 kg, iar femeile talia de 1,57 m și greutatea de 51 kg. Se pare că *Homo heidelbergensis* a fost primul homanoid care a putut vocaliza. O populație din Olanda a utilizat pigmentul ocru, acum 250.000 ani.

Homo neanderthalensis, a trăit acum 100.000 – 40.000 ani, date recente apreciind prezența lor până acum 27.000 ani. Se adăpostea în peșteri, cavernele de sub stânci sau în colibe amenajate la suprafața solului, sau în bordeie. Folosea blana animalelor vânată pentru protecție la frig. Urme ale acestor populații prehumane au fost descoperite, pe teritoriul României, la Baia de Fier (Oltenia), Cheia și Adam (Dobrogea), Ripiceni-Izvor (Moldova), Ohaba-Ponor (Transilvania), ș.a. A practicat un ceremonial de înmormântare cu elemente religioase, admitând existența unei vieți ulterioare decesului. De aceea în morminte, lângă decedați, erau depuse rezerve alimentare, obiecte personale, ș.a.). Utiliza un pigment roșu-ocru pentru picturile executate pe pereții peșterilor, producea și controla focul, ș.a. De asemenea, în peștera Cioarei din județul Gorj (județ situat tot în zona montană din sudul României, unde se află și Peștera cu Oase), au fost identificați pigmentii roșu și negru, utilizați de omul de Neanderthal. Având organizare social-tribală, a construit structuri utile și adăposturi, utiliza

pielea animalelor pentru vestimentație, executa activități abstracte, prelucrand diferite materiale (roci, os, fildeș, ș.a. din care a confecționat statuete, ș.a. Investigațiile efectuate în unele peșteri din România (Peștera cu Oase, județul Caraș-Severin; peștera Cioarei și peștera Polovraci, județul Gorj), au descoperit în aceste locuri, cele mai vechi fosile ale omului modern din Europa (cca 37.800 ani). Analiza DNA nuclear provenit de la un fragment osos (maxilar) aparținând speciei *Homo neanderthalensis ancestor* (Anderson, 2015), a evidențiat că un procent de 5 – 11% DNA autosomal provine de la omul de Neanderthal. Cercetările de la Peștera cu Oase, au fost efectuate de grupe de reputați specialiști, între care este prezent grupul coordonat de celebrul Pääbo Svante, Germania (Reich et al., 2010; Rougier et al., 2007; Trinkhaus et al., 2003, 2006; Trinkhaus, 2007; Zilhão, 2006; Zilhão et al., 2006, s.a.). Vechimea maxilarului analizat, provenit de la Peștera cu Oase a fost apreciată inițial la 34.000 – 36.000 ani (Anderson, 2015).

Nivelul avansat de dezvoltare atins de populațiile umane existente pe actualul teritoriu al României, este confirmat de aspecte ale gândirii și culturii abstracte. Astfel, în timp ce populația umană din mileniul VI BCE existentă pe acest teritoriu, depunea ofrande minuțios elaborate (coliere, obiecte de podoabă, ș.a.) în urne gen chivot, realizate ca miniaturi ale spațiului de locuit (Fig. 3, comunicare personală Șerbănescu, 2001) alte populații din aceeași regiune geografică acum două milenii aduceau ofrande prin sacrificarea unor animale (berbeci de către vechii greci, ș.a.).

Homo rhodesiensis, descoperit în anul 1921 în Rhodesia (actual Zambia). A trăit în urmă cu 300.000 – 125.000 ani. Se consideră că *Homo rhodesiensis* ar reprezenta o populație locală (de proveniență Africană) a speciei *Homo heidelbergensis*. Indivizii erau robuști, având sistemul osos bine dezvoltat. Capacitatea cutiei craniale era de 1230 cm³ - 1300 cm³.

În cadrul speciei *Homo sapiens*, se consideră că există două grupe de genotipuri:

- (a) **Oameni arhaici**, care au apărut și au trăit acum 500.000 ani, reprezentați prin: *Homo neanderthalensis* (40.000-300.000 ani); *Homo rhodesiensis* (125.000 – 300.000 ani); *Homo heidelbergensis* (200.000 – 300.000 ani); *Homo antecessor* (800.000 – 1.000.000 ani);
- (b) **Oameni moderni anatomic**, reprezentați prin *Homo sapiens idaltu* și *Homo sapiens sapiens*, care au apărut acum 200.000 – 70.000 ani, precum și două specii mai recente, *Homo denisovan* și *Homo floresiensis*.

Homo sapiens idaltu, apărut în Africa (Etiopia) în Pleistocen (Paleoliticul inferior). Au trăit acum 154.000 – 160.000 ani, având capacitatea cutiei craniale de 1450 cm³ (mai mare decât la specia actuală de *Homo sapiens* (1350 cm³)).

Homo sapiens sapiens, *Homo sapiens* (omul modern anatomic) a apărut în urmă cu 100.000 ani, în Africa sub-Sahariană.

Homo denisovan a fost descoperit în anul 2010 în sudul Siberiei (Rusia), acum circa 40.000 ani, în peștera Denisova, fiind reprezentat prin o jumătate de falangă. Cercetările arheologice au relevat a conviețuire în timp și spațiu (au locuit în surs-uri arheologice și geologice apropiate) cu *Homo neanderthalensis* și *Homo sapiens*, unde cele trei genotipuri comunicau între ele.

Homo floresiensis. A trăit acum 100.000 – 12.000 ani, în insula Flores din Indonesia, alături de *Homo sapiens*. Descoperit în anul 2003. Prezenta talia de 1 m, având circa 25 kg greutate și 426 cm³ capacitate cranială. Volumul mic al encefalului, îi apropie mai mult de australopiteci. Datorită taliei reduse și a capacității mici a cutiei craniene, originea lor este controversată: (a) un grup izolat de indivizi cu o malformație sau mutație genetică; (b) urmaș al lui *Homo erectus*; (c) urmaș direct al lui *Homo habilis*. Datorită climei umede și calde (care nu permite conservarea în timp a DNA), nu s-a reușit încă izolarea și analiza DNA-nuclear.

Omul de Cro-Magnon, reprezintă cei mai timpurii oameni moderni, apăruiți acum 43.000 – 45.000 ani. În peștera Muierii, județul Gorj, România, au fost găsite cele mai vechi falange din Europa ale degetelor de la mână (vechime 37.800 BCE).

Homo sapiens idaltu, apăruiți în Africa (Etiopia) în Pleistocen (Paleoliticul inferior). Au trăit acum 154.000 – 160.000 ani, având capacitatea cutiei craniale de 1450 cm³ (mai mare decât la specia actuală de *Homo sapiens* (1350 cm³)).

Homo sapiens, a apărut acum circa 200.000 ani, fiind adaptat și prezent în toate condițiile ecologice de pe Terra. Diferitele populații și rase, prezintă talia cuprinsă între 150-190 cm și o greutate de 50-100 kg. Capacitatea cutiei craniale, variază între 950-1800 cm³. Este o specie bipedală, caracter care îi conferă unele avantaje, dar și dezavantaje. Postura

verticală este eficientă energetic, iar membrele anterioare (mâinile) sunt folosite pentru activități importante (transport obiecte, efectuarea unor lucrări variate, ș.a.). Capacitatea cranială medie este de 1400 cm³, fiind mărită semnificativ comparativ valorile înregistrate la predecesorii săi. Cortexul este împărțit în patru lobi, care sunt divizați în două emisfere. Creierul omului modern, este compus din mai multe structuri, împărțite în trei părți (trei trepte). Prima parte, creierul reptilian, este porțiunea prezentă la toate vertebratele. Aceasta parte controlează instinctele și toate sarcinile implicate în procesul existenței precum respirația și reglarea temperaturii corpului. Cea de a doua parte a creierului, creierul de mamifer, este regiunea prezentă la orice alt mamifer. În această parte se află trei structuri principale: hipotalamus, hipocamp și amigdalele. Hipotalamusul reglează echilibrul fluidelor din organism, temperatura internă a corpului, rația alimentară (dieta) și sexualitatea. Hipocampul este implicat în formarea unei noi memorii și crearea hașurilor mentale ale mediului înconjurător. Amigdalele sunt responsabile pentru simțuri și expresia neliniștii și nemulțumirii. Această parte, denumită creier uman, este cea mai recentă achiziție și definește omul. Cortexul este divizat în patru lobi (frontal, parietal, occipital și temporal), iar aceștia în două emisfere (dreapta și stânga). Lobul frontal este responsabil pentru planificarea strategică și organizațională; lobul parietal este responsabil pentru co-ordonarea informațiilor senzoriale, lobul occipital pentru analizatorul vizual, iar lobul temporal pentru analizatorul auditiv. Hemisfera stângă controlează partea dreaptă a corpului și co-ordonează mai bine producerea și înțelegerea scrisului și limbajul vorbit. Hemisfera dreaptă, care controlează partea stângă a corpului, este mai capabilă să interpreteze muzica și informațiile spațiale (Brown et al., 2006). Similar cu numeroase animale, *Homo sapiens* posedă dinți diferențiați, cu funcții diferite în procesul alimentației. În timpul vieții sale, *Homo sapiens* posedă două feluri de dinți: 20 dinți de lapte și 32 dinți adulți.

Cultura este definită ca „the full range of learned human behaviour patterns” (Brown et al., 2006). Ea include arta, literatura, muzica, obiceiuri și datine, religia. Tematici uzuale în religie includ viața după moarte, reîncarnarea, ș.a. Ceremonialele de înmormântare sunt caracteristice religiei. Omul este răspândit și adaptat la toate mediile de pe planetă.

Ipoteze privind răspândirea speciei *Homo sapiens sapiens* pe planeta Terra

Principalele ipoteze care explică răspândirea omului, sunt: (1) **Ipoteza Out of Africa** și (2) **Ipoteza Multiregională**.

Ipoteza Multiregională stipulează că specia *Homo sapiens* a evoluat independent pe toată planeta pornind de la populațiile native independente. Existența unui flux de gene între aceste populații independente a împiedicat speciația.

Ipoteza Out of Africa, stabilește că *Homo sapiens* a evoluat în Africa timp de 50.000 – 100.000 ani și a înlocuit populațiile native în alte părți ale lumii. Analizele genetice au arătat că variațiile individuale existente între oameni sunt foarte mici. Dacă *Homo sapiens* a evoluat independent, ar trebui să existe o variație genetică mai mare. Evidențele arheologice sprijină ipoteza **Out of Africa**, deoarece artefactele au fost întâlnite mult mai ușor în Africa decât în alte părți ale lumii, deși ele sunt prezente în situsuri arheologice din Europa (situată lângă Africa, unde populația Africană ar putea sosi ușor).

În prezent de un interes deosebit se bucură populațiile umane care au locuit pe actualul teritoriu al României, unde a existat o civilizație avansată. Pe valea inferioară a râului Olt, au fost găsite locuințe din mileniul VI BCE, aparținând culturilor Dudești, Gumelnița, Sălcuța, Glina III, Tei, Verbicioara. În zona de câmpie, aproape de luncile apelor, se aflau case de suprafață, sau case parțial îngropate, având pereții din lemn sau paie, acoperite de obicei cu stuf și paie. Cea mai veche locuință țărănească construită la suprafață, a fost descoperită la Drăgănești-Olt (lunca Oltului), datând din mileniul al 11-lea a. Ch. Urmele arheologice ale acestei locuințe au fost descoperite pe tellul gumelnițean situat în lunca Oltului, la marginea de Drăgănești-Olt. Această casă neolitică avea două încăperi cu utilități diferite: (a) o cameră pentru odihnă cu un pat din pământ acoperit cu rogojini și o vatră pentru foc și (b) o altă încăpere în care se aflau două cuptoare pentru prepararea hranei, o laviță pe care se așezau vasele și locuri unde se depozitau diverse unelte. Între cele două încăperi se aflau două rânduri de pari la un metru distanță. Zidul era din nuiele împletite, lutuite cu pământ și paie, iar acoperișul era în două ape (Zorzoliu, 2011).

BIBLIOGRAFIE

ANDERSON, A. (2015) *Team characterizing DNA from ancient human with recent Neanderthal ancestry*. [Online] 2016. Disponibil la: www.genomeweb.com. [Accesat: 10 mai 2016].

BOTNARIUC, N. (1992) *Evoluționismul în impas?* București: Academia Română.

BROADHURST, C.L. & CUNNANE, S.C. & CRAWFORD, M.A. (1998) Rift Valley lake fish and shellfish provided brain-specific nutrition for early Homo. *Br. J. Nutr.* **79** (1): 3-21.

BROWN, S. & MARTINEZ, M.J. & PARSONS, L.M. (2006) Music and language side by side in the brains: a PET study of the generation of melodies and sentences. *Eur. J. Neurosci.* **23**: 2791 – 2003.

BROWN, G. & FAIRFAX, S. & SARAO, N. & ANONYMOUS, S. (2006) *Human Evolution in Origins and Evolution of Organisms* (J. STONE Ed.). Australia: Origins Institute at McMaster University.

BRUNE, G. & FAIRFAX, S. & SARAO, N. & ANONYMOUS, S. (2012) Fossil traces of the human thought. Paleoneurology and the evolution of the genus Homo. *J. Anthropol. Sci.*, **81**: 129-156.

CORNEANU, C.G. & CORNEANU, M. & CRĂCIUN, C. & ZAGNAT, M. & ȘTEFĂNESCU, I. & POPA, M. (2010) The radioprotective effect of deuterium depleted water and polyphenols. *Environmental Engineering and Management Journal.* **9** (11): 1509-1514.

DIRKS, P.H.G.M. et al. (2015) *Geological and taphonomic context for the new hominid species Homo naledi from the Dinaledi Chamber, South Africa*. DOI. [Online] 2016. Disponibil la: <http://dex.doi.org/10.7554/eLife.09561.001>. [Accesat: 10 mai 2016].

DUBOIS, M.E.F.T. (1895) The place of Pithecanthropus in the genealogical tree. *Nature.* **53**.

GUN, M.I. (1998) Nutrition discussion forum. Dietary lipids and evolution of the human brain. *Brit. J. Nutr.*, **79**: 389-392.

LEAKEY, L.S.B. & TOBIAS, P.V. & NAPIER, J.R. (1964) A new species of the genus *Homo* from Olduvai Gorge. *Nature*. **202** (4927): 7-9.

LEAKEY, M.D. (1971) *Olduvai Gorge*, Vol. 3: Excavations in Beds I & II, 1960–1963. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

LÉVI-STRAUSS, C. (1986) *L'Anthropologie face aux problèmes du monde moderne*. Paris: Editions du Seuil.

NICOLAE, A. (2015) *Revoluția după Darwin*. București: Science and Technology Press.

NICOLĂESCU-PLOPȘOR, C.S. (1956) *Rezultatele principale ale cercetărilor paleolitice în ultimii patru ani în R.P.R., S.C.I.V. II. 1-2*. București.

NICOLĂESCU-PLOPȘOR, D. (1976) *Începuturile societății omenești pe teritoriul României în lumina descoperirilor de la Bugiulești – Vâlcea.* , București: Academia de Științe Sociale și Politice.

REED, D.L. & SMITH, V.S. & HAMMOND, S. L. & ROGERS, A.R. & CLAYTON, D.H. (2004) Genetic analysis of lice supports direct contact between modern and archaic humans. *PLoS Biol.* 2 (11).

REICH D. et al. (2010) Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature*. **468** (1053): 23-30. Macmillan Publ. Ltd.

ROUGIER, H. & MILOTA, Ș. & RODRIGO, R. (2007) *Peștera cu Oase 2 and the cranial morphology of early modern Europeans*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA **104**, 1164–70.

STRINGER C.B. (2003) Out of Ethiopia. *Nature*. **423**: 692-695.

ȘERBĂNESCU D. (2001) Comunicare personala. Muzeul Oltenița.

TRINKAUS, E. & MILOTA, Ș. & RODRIGO, R. & GHERASE, M. & MOLDOVAN, O. (2003) Early Modern Human cranial remains from the Peștera cu Oase. *Romania. J. Human Evol.* **45**: 245-253.

TRINKAUS E. et al. (2006) Peștera cu Oase and early modern humans in southeastern Europe. In: H.J. Conrad (Ed.) *When Neanderthals and modern humans meet*. pp. 145-165. Tübingen. Kerns Vlg.

TRINKAUS, E. (2007) *European early modern humans and the fate of the Neanderthals*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA **104**, 7367–72.

ZILHÃO, J. (2006) Neanderthals and moderns mixed, and it matters. *Evolutionary Anthropology*. **15** (5) 193-185. John Wiley.

ZILHÃO, J. & TRINKAUS, E. & CONSTANTIN, S. & MILOTA, Ș. & GHERASE, M. & SARCINĂ, L. & DANCIU, A. & ROUGIER, H. & QUILÈS, J. & RODRIGO, R. (2006) *The Peștera cu Oase People, Europe's Earliest Modern Humans*. chapter **21**: 249-262.

ZORZOLIU, T. (2011) *Muzeul Câmpiei Boianului*. Drăgănești-Olt.

WILFORD, J.N. (2009) *A lost European culture, pulled from obscurity*. The New York Times, 30 November 2009.

II. CERCETARE ȘI DOCUMENTARE ȘTIINȚIFICĂ

UZINA CHIMICĂ VEGETALĂ – DIVERSITATEA SUBSTANȚELOR NATURALE

CHEMICAL PLANT FACTORY - THE DIVERSITY OF NATURAL SUBSTANCES

Constantin TOMA* Lăcrămioara IVĂNESCU** Zenovia OLTEANU***
Violeta TURCUȘ****

Abstract

As is well known, plants are fixed bodies, they do not move to feed. Using the luminous energy they synthesize a multitude of compounds such as very simple molecules, e. g. carbon dioxide from air, water and various ions in the soil, in order to ensure the growth and reproduction.

Key words: chemical, plants, molecules, substances

Constituenții esențiali ai materiei vii se grupează în două mari clase:

1. **Constituenți minerali:**

- a) apa- totdeauna peste 60 % din greutatea vegetalelor active; are rol fundamental în reacțiile chimice ale vieții (metabolism);
- b) numeroase elemente chimice (potasiu, sodiu, calciu, magneziu, fier, fosfor, clor, bor), cu funcții multiple; sunt prezente sub formă de ioni și/sau asociate constituenților organici (clorofile, enzime, sisteme enzimatic).

* Prof. univ. dr. Facultatea de Biologie, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași

** Conf. univ. dr. Facultatea de Biologie, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași

*** Prof. univ. dr. Facultatea de Biologie, Universitatea „Alexandru Ioan Cuza”, Iași

**** Conf. univ. dr. Facultatea de Biologie, Universitatea de Vest „Vasile Goldiș”, Arad

2. **Constituenți organici:**

- a) glucide (monoglucide, oligoglucide, poliglucide - amidon, celuloză);
- b) lipide (uleiuri, ceruri vegetale, steroli);
- c) protide (enzime și constituenții lor elementari, acizii aminici);
- d) acizii nucleici (ADN, ARN) cu rol fundamental în păstrarea și transmiterea informației genetice (cromosomi), în sinteza de proteine;
- e) alți constituenți (vitamine, hidrocarburi, latexuri, parfumuri - Bournerias și Bock, 1992; Toma și Niță, 1995).

Moleculele organice biosintetizate în celulă în cursul funcționării enzimelor se numesc **metaboliți**. Aceștia pot fi primari și secundari (de care ne vom ocupa în sinteza de față).

Cum bine se știe, vegetalele (cel puțin plantele) sunt organisme fixate, ele nu se deplasează pentru a se hrăni. Utilizând energia luminoasă, ele sintetizează o multitudine de compuși plecând de la molecule foarte simple, precum dioxidul de carbon din aer, apă și diverși ioni (anioni, cationi) din sol, pentru a le asigura creșterea și reproducerea.

La nivelul plantei întregi, această **autotrofie** implică necesitatea ca ea să prezinte **suprafețe mari de schimb** în contact cu mediul extern; acestea sunt frunzele și rădăcinile. Suprafețele de schimb trebuie să fie unite între ele prin structuri de transport, la mari distanțe adesea, adică **sistemul vascular**, ceea ce permite integrarea metabolismului la nivelul întregii plante (Benveniste et al., 2000).

La nivel celular, autotrofia este foarte strâns asociată cu o compartimentare internă sofisticată și mai ales cu prezența de **plastide** în toate celulele vegetale.

Viața fixată a plantei este, de asemenea, intim legată de existența unui **perete celular rigid** – matricea protectoare extracelulară, și de o **vacuolă** enormă, care ocupă cea mai mare parte din volumul celular și care joacă un rol esențial în stocarea (tranzitorie sau definitivă) a numeroaselor molecule, precum și în homeostazia celulei vegetale (Toma și Ivănescu, 2016).

În sfârșit, interacțiunile dintre plantă și mediul său înconjurător, mai cu seamă cel biotic, pun în joc numeroase substanțe naturale sau **metaboliți** ziși **secundari** (în special compuși fenolici, terpeni și alcaloizi), care ilustrează bine formidabilele capacități de sinteză a veritabilei **uzine chimice** care constituie planta (Douce, 2000). În general, plantele sintetizează mai multe zeci de mii de molecule diferite, ce reflectă diversitatea speciilor vegetale și care reprezintă o adevărată mină pentru farmacologie.

Metaboliții primari, cum ar fi fitosterolii, lipidele, nucleotidele, acizii nucleici ori acizii organici, au rol esențial în metabolismul plantelor, fiind asociați cu procese esențiale, precum fotosinteza, respirația, creșterea și dezvoltarea.

Metaboliții secundari sunt substanțe care, în multe cazuri, se acumulează în concentrații surprinzător de mari la anumite specii – în vacuolă. Ignorați multă vreme, metaboliții secundari par a deține roluri esențiale în protecția plantelor împotriva animalelor erbivore și a infecțiilor microbiene, drept atracțanți pentru polenizatori și pentru animale care răspândesc fructele și semințele, drept agenți alelopatici, drept protectori împotriva radiațiilor ultraviolete, drept molecule semnal, de exemplu în formarea nodozităților, fixatoare de azot, ori în diferite industrii (a coloranților, uleiurilor, vopselelor, medicamentelor, parfumurilor), ori ca surse potențiale de droguri naturale, antibiotice, insecticide sau erbicide (Burzo și Toma, 2013; Crozier et al., 2006; Toma și Ivănescu, 2016).

Compușii fenolici, terpenii și alcaloizii constituie cele trei familii chimice majore, reprezentative de produși ai acestei chimii fine, care cuprind fiecare în parte vreo zece mii de structuri chimice diferite. La acestea toate ar putea să se adauge saponinele, betulinele (responsabile de culorile roșu/violet ale sfeclei, florilor de *Bougainvillea*), glucozinolații (care conferă gustul acru al cruciferelor), glucozidele cianogenetice (Douce, 2000).

COMPUȘI FENOLICI

Compușii fenolici, foarte răspândiți în regnul vegetal, au în structura lor cel puțin un nucleu aromatic (benzenic), pe care sunt grefate una sau mai multe grupări hidroxil (Bodea, 1966; Dewick, 2002). Clasele de compuși fenolici sunt foarte diverse din punct de vedere structural, unele

flavonoidice, altele neflavonoidice, deosebite în funcție de numărul și poziția atomilor de carbon din moleculă; sunt în mod obișnuit conjugate cu glucide și acizi organici.

Noi ne vom opri doar la două familii majore: ligninele (biopolimeri) și flavonoidele (compuși care conțin în moleculă un schelet cu 15 atomi de carbon, alcătuit din două nuclee fenil și un heterociclu), care sunt, împreună cu carotenoidele (tetraterpenoide localizate în plastide), adesea responsabile de culoarea multor flori și fructe.

a) **Ligninele.** Plantele superioare pot elabora enzime pentru sinteza acidului ferulic care, împreună cu derivații lui, intervin în formarea cutinei, cerii și suberinei (substanțe lipidice cu rol de apărare împotriva uscăciunii, moderând transpirația), precum și a ligninei (cu rol în susținere). **Lignina**, al doilea polimer ca abundență (după celuloză) pe planetă (25 % din biomasa terestră) ne conduce la conceptul de evoluție biochimică. Într-adevăr, în timp ce alți polimeri, precum amidonul și celuloza, sunt prezenți la toate formele vegetale, chiar mai puțin evaluate, ligninele nu se găsesc decât la plantele vasculare. Primele plante terestre, briofitele (mușchii) nu prezintă lignină. Lignina impregnează pereții vaselor de lemn (ținându-le deschise, circulând astfel ascendent seva brută de la rădăcină la frunze) și ai celulelor de sclerenchim (care, alături de vasele lemnoase, asigură susținerea, deci poziția erectă a plantei). Subliniem faptul că polimerizarea alcoolilor cinamici în lignină necesită prezența de oxigen; or, apariția plantelor vasculare terestre a fost favorizată de creșterea conținutului în oxigen din atmosferă, în urma fotosintezei realizate de alge (Robert și Roland, 1989; Toma, 2002).

Lignina este un polimer amorf și hidrofob care, depunându-se în pereți, ca și celuloza, le conferă o mare rigiditate și rezistență mecanică, măbind și hidrofobia lor. Prin proprietățile pe care le conferă pereților celulari, ligninele au permis o tranziție importantă în evoluția lumii vegetale: trecerea de la un port adesea repent (întâlnit la briofite), la un port erect (întâlnit la gimnosperme și angiosperme). Această nouă arhitectură, ce permite o mai bună ocupare a speciei în spațiul terestru, conferă un avantaj adaptativ evident și formarea unui sistem vascular veritabil la nivelul celulelor cu pereți lignificați (traheide, trahei), facilitează schimburi la mare distanță între diferitele părți ale plantei. Această tranziție a avut loc acum aproximativ 350 milioane de ani și este interesant de subliniat că complexitatea chimică a ligninelor crește în cursul evoluției lumii vegetale.

Formele cele mai avansate ale polimerului sunt întâlnite la angiospermele monocotiledonate, ale căror lignine conțin cele trei unități monomere și ai căror pereți sunt la fel sau chiar mai rigizi decât la dicotiledonate (Douce, 2000).

Dacă ligninele sunt indispensabile strategiilor adaptative ale plantelor cu port erect, omul nu poate sau nu știe, să le exploateze ca și pe ceilalți polimeri vegetali; ligninele constituie doar un obstacol pentru valorizarea optimă a biomasei lemnoase; ele fac rău digestibilității furajelor de către animale (îndeosebi rumegătoare) și trebuie să fie extrase din lemn prin procedee energetice costisitoare și poluante la nivelul industriilor de pastă pentru hârtie. Aceste impacte negative conduc la căutarea producțiilor vegetale cu conținut redus de lignină, sau cu lignină mai ușor de extras din marea lemnoasă.

b) **Flavonoidele** reprezintă o familie de compuși polifenolici la fel de diversificată. Cele de tip quercitină sau kempferol sunt adesea responsabile de culoarea galbenă; antocianii sunt bine reprezentați la numeroase flori și fructe: pelargonidina (culoare roșie cărămizie), cianidina (culoare roșie) sau delphinidina (culoarea albastră).

În grupa flavonoidelor intră: flavonoide, flavonolii, izoflavonele, flavonolele și antocianidinele. Alte flavonoide, mai puțin reprezentate din punct de vedere cantitativ sunt: dihidroflavonele, cumarinele ș.a. (Crozier et al., 2006).

Cunoașterea genelor răspunzătoare de metabolismul flavonoidelor a permis, în numeroase cazuri, o modificare orientată a culorii prin transferul dirijat al genelor care permit o subexpresie sau o supraexpresie a etapelor enzimatiche specifice.

Compușii fenolici au funcții multiple la plante. Pe unele le-am menționat când ne-am ocupat de lignine. Moleculele implicate în colorarea florilor joacă un rol major în atragerea insectelor polenizatoare. Numeroși compuși fenolici intervin în interacțiunile dintre plante și microorganisme. Flavonoidele reprezintă, așa cum arătam mai sus, semnale ale plantei, importante în stabilirea simbiozei dintre bacterii din genul **Rhizobium** și leguminoase. În numeroase cazuri, acești compuși au un rol protector, repulsiv sau toxic, față de microorganisme patogene sau față de insecte (Burzo și Toma, 2013; Douce, 2000).

Dincolo de acestea, compușii fenolici au un impact important asupra proprietăților și caracteristicilor de la numeroase produse vegetale

consumate de om. Compuși simpli volatili sunt responsabili de aroma diverselor produse (vanilina la vanilie, eugenolul la banane, cinamatul de metil la fragi). Flavonoidele conferă culoarea pentru numeroase fructe (coapte), dar uneori și o senzație de astringență (taninul merelor verzi sau al gutuilor) sau de amăreală (naringina la grepfruit). Alți compuși intervin, în mod negativ, în procesele de brunificare enzimatică sau neenzimatică, care apar ca urmare a rănilor sau unor accidente de conservare a produselor consumate de om.

În sfârșit, pe plan nutrițional, proprietățile antioxidante ale flavonoidelor și ale altor compuși fenolici din alimentația noastră ar putea fi legate de rolul protector în cazul marilor patologii, boli cardiace și cancer (Bodea, 1966; Dewick, 2002; Romagnolo D.F. et Selmin O.I., 2012).

TERPENE (IZOPRENOIDE)

Terpenele reprezintă una din clasele cele mai diverse de metaboliți secundari, incluzând în jur de 70.000 compuși, în special de origine vegetală (arome și parfumuri, antibiotice, hormoni animalii și vegetali, lipide membranare, substanțe atractive, mediatori ai proceselor esențiale de transport al electronilor, care sunt etape generatoare de energie în respirație și fotosinteză). Biosinteza acestor molecule este catalizată de diferite enzime. În cazul plantelor există două sisteme enzimatice distincte responsabile de biosinteza terpenelor: un sistem se află în citosol și generează cele mai multe dintre sesquiterpene, triterpene și steroli; al doilea sistem se află în plastide, unde generează uleiurile monoterpenice esențiale, diterpenele și carotenoizii (Crozier et al., 2006; Lamarti et al., 1994).

Terpenele au particularitatea de a prezenta o remarcabilă omogenitate în măsura în care ele provin din structuri rezultate din asamblarea unui număr variabil de unități de bază reprezentate de formele activate izopentenilpirofosfatul (IPP) și dimetilalilpirofosfatul (DMAPP). Această clasă de compuși organici cuprinde molecule numeroase și variate din punct de vedere structural (Douce, 2000; Burzo și Toma, 2013):

- monoterpene și sesquiterpene (pinen, limonen, cedrină), ce dau mirosuri agreabile și sunt utilizate în industria agroalimentară și în parfumerie (Lamarti et al., 1994);

- diterpene din rășina coniferelor (acid abietic), din care unele (taxol) au activități antimitotice utilizate în terapia unor cancere;
- triterpene, tetra – și pentaciclice, care sunt prezente la toate plantele superioare;
- tetraterpene (carotenoide, xantofile), prezente în plastide și implicate, între alte funcții, în protecția clorofililor față de formele active ale oxigenului;
- izoprenoide cu masă moleculară mare, având mai mult de opt unități izoprenice, cum ar fi plastochinona (nouă unități) – transportor de electroni în cursul fotosintezei, dolicol – fosfat (douăzeci de unități) – intervine în biosinteza glicoproteinelor și cauciucul natural (cu peste o sută de unități izoprenice).

Distincția între metaboliți primari și secundari nu este ușor de realizat în cazul terpenelor. În timp ce sterolii (colesterol, campesterol, sitosterol), care sunt triterpenoide, ce relevă fără îndoială metabolism primar (ei sunt implicați în arhitectura și funcționarea membranelor, unii fiind letali la levuri), triterpenele pentaciclice relevă metabolism secundar, cu proprietăți antimicrobiene. Acidul abscizic (sesquiterpenă), giberelinele (diterpene) și brasinosteroidele (triterpenoide) sunt hormoni, cu rol foarte important în diferite procese biologice (rezistența la secetă în cazul acidului abscizic, creștere, germinare, dormanță în cazul giberelinelor, sau de fotomorfogeneză în cazul brasinostroidelor) (Crozier et al., 2006).

Cât privește biosinteza, trebuie subliniată importanța și originalitatea compartimentării biosintezei izoprenoidelor, două căi distincte ce conduc la sinteza difosfatului de izopentenil (Dobrotă, 2013; Lamarti et al., 1994).

Relativ la importanța biologică, trebuie subliniate rolurile pe care le joacă terpenele volatile în relațiile plante-insecte. Astfel, unele sesquiterpene produse de anumite varietăți de cartof sunt analoage fenomenelor de alarmă emise în mod natural de către păduchii de copac și împiedică infestarea acestor varietăți de către insecte. Mai mult chiar, numeroase plante emit, când sunt parazitare de omizi, terpen volatile care atrag viespi prădătoare acestor omizi. Acest semnal chimic volatil, mult mai eficace decât o detecție vizuală a acestor prăzi, este, de fapt, produs în urma interacțiunii complexe dintre plante și omizile parazite. Este evident că o mai bună cunoaștere a acestor mecanisme naturale de apărare a plantelor deschide calea introducerii acestor mecanisme la plantele care nu le posedă, sau pot inspira forme noi de luptă chimică (Douce, 2000; Burzo și Toma, 2013).

ALCALOIZI

Alcaloizii reprezintă un grup foarte mare de compuși organici extrem de complex atât din punct de vedere structural cât și al căilor biosintetice, adesea puțin cunoscute, care au o distribuție limitată printre organismele vii (Surdu et al., 2005) Punctele comune între diferiții alcaloizi sunt de căutat la nivelul:

- prezenței în moleculă a unui atom de azot într-o stare de oxidare negativă (Rosazza et Duffel, 1986);
- reacției alcaline în soluție;
- frecvențelor proprietăți biologice și farmacologice la nivelul diferitelor funcții fiziologice la om (Crozier et al., 2006; Tefas și Stan, 1962)

Localizarea specifică a alcaloizilor benzilzochinolinici a fost stabilită în foarte puține cazuri. În cazul macului (*Papaver somniferum*), enzimele sunt localizate în tuburile ciuruite din sistemul vascular al plantei. Biosinteza **morfinei** în țesutul liberian a spart paradigma conform căreia funcțiile tuburilor ciuruite sunt restricționate la translocarea soluțiilor și macromoleculilor informaționale în plantă. Celulele specializate care însoțesc țesutul liberian, cunoscute sub numele de laticifere, sunt recunoscute ca servind drept loc de acumulare a alcaloizilor benzilzochinolinici și nu ca loc de biosinteză.

La ruțișor (*Thalictrum flavum*) **alcaloidul protoberberină** se acumulează în endoderma rădăcinii, la începutul creșterii secundare, și în scoarța acesteia. Nouă dintre enzimele implicate în biosinteza protoberberinei sunt localizate în endoderma rădăcinii foarte tinere și în parenchimul primordiilor foliare ale rizomului. Enzimele necitosolice, implicate în conversia căilor benzofenantidrinei și morfinanului sunt localizate în reticulul endoplasmatic sau în endomembranele acestuia.

Scopalamina de la măselariță (*Hyoscyamus niger*) și mătrăgună (*Atropa beladonna*) se sintetizează în periciclul rădăcinii și este translocată la organele aeriene prin vasele de lemn. **Nicotina** de la speciile de tutun (*Nicotiana*) este produsă tot în rădăcină, după care este transportată în organele aeriene prin vasele de lemn.

Enzimele implicate în biosinteza alcaloizilor terpenoid indolici (de la *Passiflora*, *Catharanthus*) au diferite localizări: în epiderma organelor

aeriene, în meristemul apical al rădăcinilor, în laticifere și idioblastele frunzelor. La nivel subcelular, aceste enzime sunt localizate în citosol, vacuolă, reticul endoplasmic și membrana tilacoizilor plastidiali.

Cafeina, substanță psihoactivă recunoscută ca stimulator al sistemului nervos central se găsește în plantele de cafea (*Coffea arabica*) și de ceai (*Camellia sinensis*), iar **teobramina**, în semințele plantelor de cacao (*Theobroma cacao*). Cafeinsintaza, enzima care catalizează biosinteza alcaloizilor menționați, se găsește în citosol la cafea și în cloroplaste la ceai.

Alcaloizi **purinici** sunt stocați în vacuole, unde formează substanțe complexe cu acizii clorogenici. Alcaloizii **pirolizidinici** sunt prezenți la aproximativ 3 % din totalul plantelor cu flori (în special la **Boraginaceae**, **Asteraceae**, **Fabaceae** și **Orchidaceae**), fiind produși în rădăcini și transportați apoi în organele aeriene prin tuburile ciuruite.

Exemplul *taxolului*, moleculă cu proprietăți anticanceroase care ilustrează natura mixtă a anumitor alcaloizi (există un compus diterpenic în structura globală), reprezintă un caz interesant. Această moleculă a fost inițial identificată în scoarța unei specii de **tisă** de pe Coasta Pacifică a SUA (*Taxus brevifolia*). Eficacitatea sa a antrenat o cerere importantă în taxol, care putea conduce în scurt timp la distrugerea masivă a acestei specii. Or, sinteza chimică a compusului activ este extrem de complexă. Ea cuprinde 30 de etape și nu pare rentabilă din punct de vedere comercial. Ulterior s-a descoperit că un constituent al frunzișului de tisă europeană (*Taxus baccata*), **baccatina**, ar putea fi convertit pe cale chimică în taxol. În acest caz de semisinteză, planta asigură jumătate din muncă și chimistul cealaltă jumătate.

BIBLIOGRAFIE

BENVENISTE, P. & BOUDET, A.-M. & DOUCE, R. & JOYAR, DJ. (2000) La dynamique du métabolisme. In: *Le monde végétal. Du génome à la plante entière Académie des Sciences*. rst. n° 10. Editions TEC et DOC. Paris – Londres – New York: 57-88.

BODEA, C. (1966) *Tratat de biochimie vegetală*. Partea I. Fitochimie. Vol.III. București: Acad. Rom.

BOURNÉRIAS, M. & BOCK, C. (1992) *Le génie végétal*. Paris: Nathan.

DEWICK, P.M. (2002) *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. 2ndedn. Chichester: John Wiley and Sons.

CROZIER, A. & CLIFFORD, M.N. & ASHIHARA, H. (2006) *Plant secondary metabolites-occurence, structure and role in the human diet*. London: Blackwell Publishing.

DEWICK, P.M. (2002) *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. 2nd edn. Chichester: John Wiley and Sons.

DOBROTĂ, C. (2013) *Fiziologia plantelor*. Vol. 2. Cluj-Napoca: Risoprint.

DOUCE, R. (2000) *Le monde vegetal. Du génome à la plante entière*. TEC et DOC. Londres – Paris-New-York

LAMARTI, A. & BADO, A. & DEFFIEUX, G. & CARDE, J.P. (1994) *Biogénese des monoter pènes. I. Localisation et sécrétion*. Bordeaux: Bull. Soc. Pharm. **133**: 69-78.

ROBERT, D. & ROLAND, J.-C. (1989) *Biologie végétale, Caractéristiques et stratégie évolutive des plantes*. Tome I. Organisation cellulaire. Paris: Doin.

ROMAGNOLO, D.F. & SELMIN, O.I. (2012) *Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence*. J Nutr Gerontol Geriatr. 31(3):206-238.

ROSAZZA, J.P.N. & DUFFEL, M.W. (1986) *The alkaloids – Chemistry and Pharmacology*. Vol. 27. New York: Arnold Brossi, Academic press.

SURDU, S. & OLTEANU, Z. & TRUȚĂ, E. (2005) *Genul Claviceps – Biologie și biotehnologie*. Iași: Cermi.

TEFAS, D. & STAN, T. (1962) *Alcaloizii*. București: Medicală.

TOMA, C. (2002) *Strategii evolutive în regnul vegetal*. Iași: Univ. „Al.I. Cuza”.

TOMA, C. & IVĂNESCU, L. (2016) *Vacuomul – un compartiment multifuncțional al celulei vegetale*. Lohanul (magazin cultural-științific).

TOMA, C. & NIȚĂ, M. (1995) *Celula vegetală*. Iași: Univ. „Al.I. Cuza”.

III. BIOLOGIA ÎN ȘCOALĂ

REGLAREA SINTEZEI PROTEICE

ADJUSTING PROTEIN SYNTHESIS

Ion STOICA *

Abstract

Organisms possess the ability to synthesize specific products they need in the required quantity and at the right time. An organism, eukaryotic or prokaryotic, possesses the same amount of DNA of its cells, the same genetic information (except for the amount of DNA in gametes, which is reduced to half the amount of DNA present in somatic cells).

Key words: cells, DNA, genetic information.

Organismele posedă capacitatea de a sintetiza produșii specifici de care au nevoie, în cantitatea necesară și la momentul potrivit. Un organism, eucariot sau procariot, posedă în celulele sale aceeași cantitate de ADN, aceeași informație genetică (exceptând cantitatea de ADN din gameți, care este redusă la jumătate față de cantitatea de ADN existentă în celulele somatice). Cu toate acestea, la organismele pluricelulare diferențiate, fiecare țesut sintetizează substanțele de care acesta are nevoie pentru menținerea structurii și funcției sale, substanțe diferite de cele sintetizate de alt tip de țesut al aceluiași organism. Deci are loc o citodiferențiere a celulelor și a țesuturilor. La organismele unicelulare eucariote și procariote, celula reprezintă organismul însuși. Astfel bacteria *Escherichia coli* sintetizează o substanță numai atunci când are nevoie și în cantitatea în care este necesară.

Pentru a explica reglajul genetic al sintezei celulare s-au emis mai multe ipoteze privind inducția și represia enzimatică.

- **Reglajul activității genelor la procariote.** *F. Jacob* și *J. Monod* (1961) au elaborat teoria reglajului genetic la procariote, care pornește de la ideea existenței în celulă a mai multor tipuri de gene (Fig. 1).

* Prof.gr. I pens., Colegiul Militar Liceal Breaza

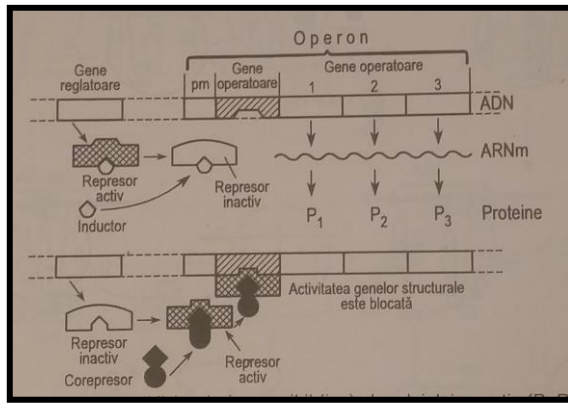


Fig. 1 – Sistemul inductibil (sus) și represibil (jos) al reglajului genetic (*P. Raicu, 1980*)

Gena structurală reprezintă secvența din macromolecula de ADN care conține informația genetică necesară sintezei unei catene polipeptidice. Genele structurale care intervin în sinteza unei substanțe (proteină - enzimă) sunt precedate de o genă operatoare.

Gena operatoare controlează activitatea genelor structurale aflate în subordinea ei. Ea reprezintă un fel de comutator chimic, asupra ei acționând represorul, care împiedică activitatea genelor structurale. Gena operatoare se pare că este formată dintr-un număr mic de perechi de nucleotide (în cazul operonului **lac** de la *Escherichia coli* sunt circa 30 de perechi de nucleotide).

Înainte de gena operatoare se află **promotorul** care reprezintă locul unde acționează enzima ce declanșează biosinteza ARN-m (enzima ARN - polimeraza). Promotorul, gena operatoare și genele structurale aflate în subordinea ei formează împreună **operonul**.

Gena reglatoare controlează activitatea genelor structurale dintr-un operon, prin intermediul unui **represor**.

De exemplu, pentru ca bacteria *Escherichia coli* să poată utiliza lactoza din mediul de cultură, este necesară prezența a trei enzime, sinteza lor fiind determinată de trei gene structurale aflate în alcătuirea operonului **lac**. În prezența lactozei în mediu, cele trei gene sunt funcționale, bacteria metabolizând lactoza. În absența lactozei din mediu, activitatea genelor structurale care determină sinteza celor trei enzime este inactivată de

repressorul care se cuplează cu gena operatoare. Represorul poate exista în celulă în formă activă sau în formă inactivă, în funcție de cuplarea sa cu niște substanțe cu moleculă mică, denumite **inductori** și **corepresori**.

Într-un sistem inductibil, combinat cu inductorul, represorul devine inactiv, se deblochează gena operatoare și se inițiază sinteza proteică. Într-un sistem represibil, represorul se combină cu un corepresor, devine activ și blochează activitatea genei operatoare.

În cazul **modelului Jacob-Monod**, reglajul sintezei proteice are loc la nivelul transcripției genetice de pe ADN pe ARN-m.

Activitatea represorului poate fi explicată prin caracteristicile **enzimelor alosterice**. Enzimele alosterice sunt acele enzime care în urma cuplării cu un inhibitor sau un inductor își schimbă conformația devenind active sau inactive. În figura 2 este prezentată modificarea activității enzimei alosterice în funcție de cuplarea ei cu un inductor sau inhibitor. În cazul cuplării sale cu un inhibitor, ea nu se mai poate cupla cu substratul, pe când în cazul cuplării sale cu un inductor devine funcțională și se poate cupla cu substratul (gena operatoare), blocând sinteza ARN-m.

M. Gruber, R. Campagne (1966), A Clive și R. Black (1966) au elaborat un alt model, în care reglajul genetic al sintezei proteice are loc la nivelul translației informației genetice. În acest caz, represorul se fixează pe subunitatea activă a enzimei în curs de sinteză. Aceasta nu își poate forma structura finală cuaternară, procesul de sinteză fiind blocat.

Retroinhibiția enzimatică, inhibiția prin feedback sau efectul Novick-Szilard, este un alt model de reglaj genetic al sintezei proteice. În cadrul acestui model, se consideră că produsul final acumulat în cantitate mare inhibă enzima (enzimele) care controlează prima etapă a lanțului metabolic și astfel nu mai are loc transcripția informației genetice.

- **Reglajul activității genelor virale.** Bacteriofagul temperat lambda, un virus al bacteriei *Escherichia coli*, conține circa 50 de gene într-o moleculă de ADN formată din circa 47 000 nucleotide. El prezintă un represor format dintr-o proteină cu greutatea moleculară de 27 000 și două gene operatoare OL și OR asupra cărora acționează represorul.

În cazul unei infecții fagice, celula bacteriană poate fi lizată sau genomul viral este integrat în cromozomul bacterian, replicându-se sincron cu acesta, producând deci o populație de *Escherichia coli* care conține un profag. Represia genomului viral este realizată de **gena cl** care produce un

represor ce se cuplează cu cei doi operatori ai genomului viral, blocând activitatea a două seturi diferite de enzime.

- **Reglajul genetic la eucariote.** Cromozomul la eucariote are o compoziție complexă, în alcătuirea sa intrând AND, ARN, proteine histonice și non-histonice, ioni de calciu și magneziu, mici cantități de lipide ș.a. La eucariote, numai o mică parte din genele existente servesc la sinteza proteinelor într-un țesut dat, controlul genetic al sintezei proteice având loc la mai multe niveluri. Un rol important îl prezintă structura fibrei de cromatină.

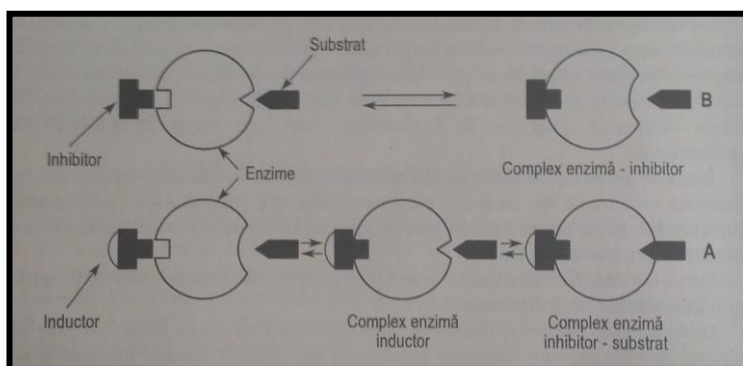


Fig. 2 – Rolul enzimelor alosterice în reglajul sintezei proteice: A. prin cuplarea cu un inhibitor, se decuplează de substrat; B. prin cuplarea cu un inductor, pot metaboliza substratul (P. Raicu, 1980).

Structura moleculară a fibrei de cromatină. Cromatina nucleară are aspectul unor mase mari, condensate, intens colorate (**heterocromatină**), sau sub forma unor zone mai laxe, sub formă de rețea (**eucromatină**). Cromatina este alcătuită din fibrile de 110 Å diametru, înfășurate unele în jurul altora. Ele reprezintă materialul cromozomal decondensat, alcătuit din ADN și proteine. Unitatea structurală a fibrei de cromatină o reprezintă **nucleozomul**. Acesta are forma unui corpuscul cilindric, de 110 Å diametru și 550 Å înălțime.

Nucleozomii au fost descoperiți de A. L. Olins, D. E. Olins (1974) și A. Kernberg (1974), utilizând metodele histochemice (scindarea cromatinei

cu endonucleaza și prin electro-microscopie).

Nucleozomul este un octamer histonic, alcătuit din câte două molecule de histone H2A, H2B, H3 și H4. Fiecare moleculă de histonă este alcătuită din 102-135 aminoacizi. La exterior, este înconjurat de o moleculă de ADN care se înfășoară aproape de două ori în jurul octamerului de histone. ADN-ul este format din circa 200 (146-246) perechi de nucleotide (Fig. 3).

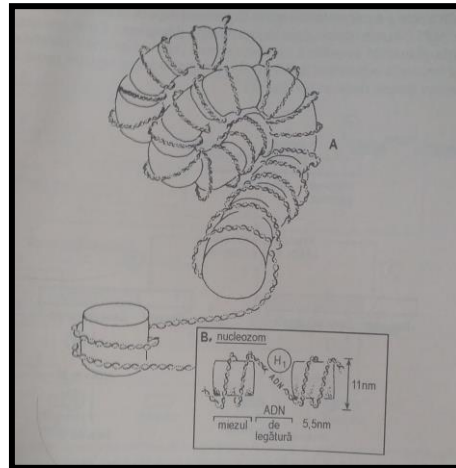


Fig. 3 – Schema structurii nucleosomului (B) și a fibrei de cromatină de 30nm (A) (Gh. Benga, 1985)

Legăturile internucleozomale sunt realizate de un segment de ADN linker, alcătuit din 60 perechi de nucleotide și o moleculă de histonă H1 alcătuită din 220 aminoacizi.

Fibra de cromatină (filamentul de bază) rezultă din înșiruirea nucleozomilor și are un diametru de circa 11 nm. Prin împachetarea nucleozomilor rezultă fibra de cromatină de circa 25-30 nm diametru, vizibilă la microscopul electronic. Această împachetare este dependentă de ionii Mg^{2+} și histonele H1. Are loc, de asemenea, asocierea fibrei de cromatină cu proteine cromozomale non-histonice, unele din ele având rol în reglarea expresiei genelor.

- **Reglajul genetic la nivelul transcripției.** Controlul genetic al sintezei proteice la nivelul transcripției reprezintă, probabil, principalul

mecanism pentru codificarea unui număr mic de copii de ARN-m. Toate celulele unui genom posedă aceleași gene, însă în fiecare tip de țesut sunt activate circa 7-10% din gene, restul de 93-90% fiind inactivate. Se consideră că activitatea genelor are la bază un reglaj pozitiv, existând inductori pentru 7-10% din ADN, restul 93-90% rămânând în stare inactivă.

La eucariote s-a constatat că seturi de gene situate la distanțe mari de molecula de ADN (situate uneori chiar în cromozomi diferiți) pot fi activate simultan. Explicația plauzibilă consideră că fiecare genă dintr-un set este precedată de aceeași secvență reglatoare, astfel încât un singur element reglator poate activa sau inactiva genele dintr-un set (Fig. 4).

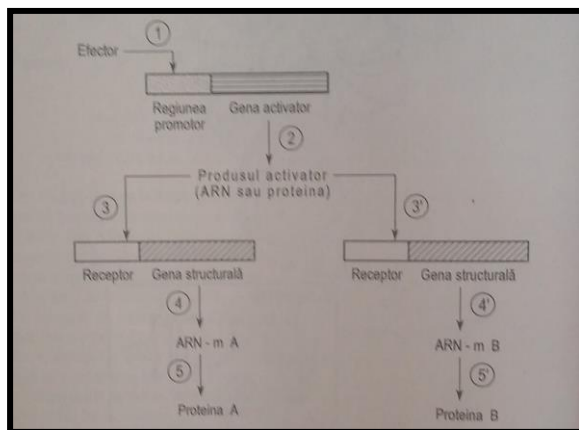


Fig. 4 – O cale simplă prin care poate fi reglată gena la eucariote. Fiecare etapă este numerotată în ordine cronologică. Receptorii pot fi activați fie de un activator ARN-m în etapa 3, fie de o proteină activatoare în etapa 3' (D. Freifelder, 1987).

Pot exista seturi de gene care sunt activate în combinații diferite de semnale diferite. De exemplu, un semnal poate activa genele P și Q, un altul poate activa genele Q și R și un al treilea semnal poate activa genele P și R. Se poate presupune că unele gene sunt adiacente la doi (sau mai mulți) receptori și numai unul dintre ei poate cauza activarea (receptor multicomponent) sau pot exista receptori singulari și molecule semnal multicomponente (Fig. 5).

Controlul transcripției prin hormoni. S-a constatat că mulți dintre

hormonii steroizi (respectiv estrogen, progesteron, aldosteron, glucocorticoizi și hormoni androgeni), precum și hormonii metabolici în general (insulina de exemplu), pot induce transcripția, acționând ca un semnal pentru gena respectivă din ADN. Mecanismul de acțiune al hormonilor este prezentat în figura 6. Un hormon steroid (moleculă hidrofobă) trece liber prin plasmalemă. În citoplasmă acesta se unește cu un receptor citoplasmatic specific (R) formând complexul H-R. Ulterior, receptorul din acest complex suferă unele modificări (conformaționale sau biochimice), rezultând complexul H-R1 care pătrunde în nucleu prin învelișul nuclear. Aici, fie complexul H-R1, fie hormonul singur, se prinde de cromatina nucleară și începe transcripția. Această complexare cu ADN-ul este probabil mediată de proteine specifice sau poate avea loc direct.

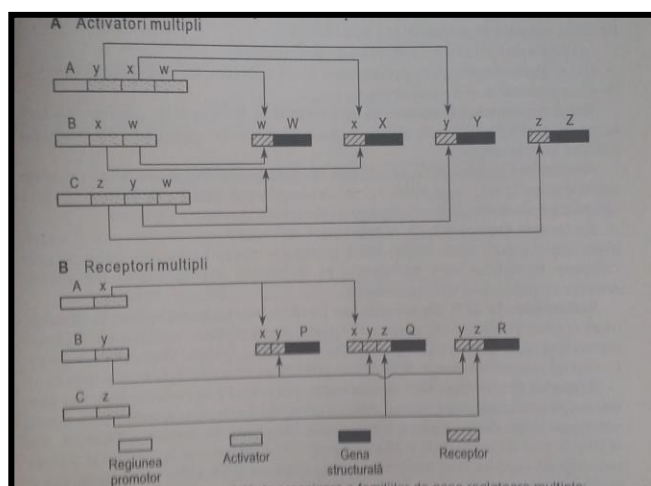


Fig. 5 – O schemă posibilă de organizare a familiilor de gene reglatoare multiple: A. unități având mai multe gene activatoare - ele pot activa mai multe gene structurale; B. un singur activator aflat pe mai multe gene structurale, fiecare având același receptor (D. Freifelder, 1987).

Prin acest mecanism se poate explica stimularea sintezei de ovalbumină în oviductul păsărilor. Atunci când gășile sunt injectate cu estrogen, în țesutul oviductului are loc sinteza ARN-m a ovalbuminei.

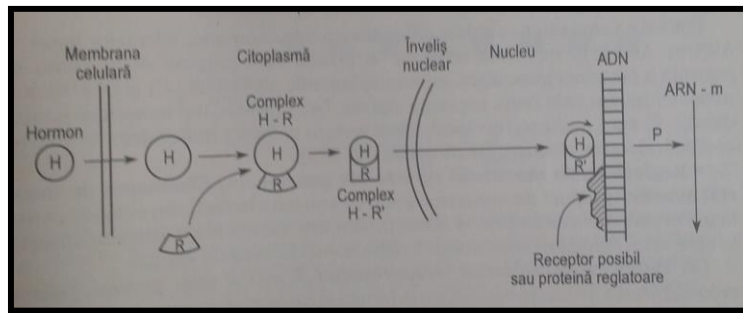


Fig. 6 – Implicarea hormonilor în controlul transcripției (D. Freifelder, 1987).

Reglarea mediată prin factorii transcripției. La multe sisteme eucariote, inițierea transcripției necesită formarea complexelor de transcripție între ADN, ARN-polimerază și una sau mai multe proteine denumite **factori de transcripție**. S-a constatat că se pot întâlni două cazuri:

- (a) reglarea formării complexului de transcripție și
- (b) reglarea legării ARN-polimerazei la un complex de transcripție preexistent, cu ajutorul unei molecule mici.

Rolul proteinelor histonice și non-histonice. Histonele H1 produc condensarea cromatinei; ARN-polimerază nu mai poate acționa la nivelul ADN-ului și nu mai are loc transcripția.

Acetilarea histoanelor din constituția nucleozomilor, legarea a două proteine nonhistonice (HMG 14 și HMG 17) de nucleozomi și legarea de histoanele H2 a ubiquitinei, determină decondensarea cromatinei și activarea genelor.

Proteinele cromozomiale nonhistonice determină genele care vor fi exprimate într-o celulă dată. Astfel, dacă proteinele nonhistonice din celulele precursorare hematiilor sunt transferate în cromatina deproteinizată din creier, aceasta va determina sinteza globinei.

Secvențele de ADN de accentuare („enhancers”), situate uneori la distanțe mari (peste 110 p.b.) de poziția 0 (startul transcripției), potențiază inițierea transcrierii unor gene virale sau celulare (exemplu, genele imunoglobulinelor). La nivelul acestor secvențe de acetilare pot acționa hormonii steroizi și tiroidieni.

Reglarea prelucrării ARN premesager. Secvențele de consens sunt identice sau foarte asemănătoare, pentru diferite gene, fiind situate pe promotor în poziții anterioare cele de începere a transcripției. De exemplu, secvența TATA se află la 30 p.b. față de promotor, o altă secvență TATA aflându-se la 70-90 p.b. Aceste secvențe se pare că sunt implicate atât în inițierea și eficiența transcrierii, cât și în diferențierea celulară.

La eucariote, în urma transcripției, se formează un transcript primar (ARN precursor sau ARN premesager) din care, în urma procesului de maturare, se va forma ARN-m (Fig. 7).

Pot exista mai multe modele alternative pentru formarea diferitelor tipuri de ARN-m. Astfel, în mușchiul scheletic al puiului sunt produse două forme de miosină a proteinei musculare, denumite lanțurile alkali light LC1 și LC3. Genele miosinei pentru cele două secvențe diferite TATA produc doi transcripti primari diferiți. Ei sunt prelucrați în mod diferit pentru a forma moleculele de ARN-m codificând forme distincte ale proteinei (Fig. 8).

- **Reglarea prin modificări directe ale genelor.**

(a) **Eliminarea de material genetic** (porțiuni de cromozomi sau cromozomi întregi) din celulele somatice. Fenomenul este întâlnit la unele protozoare, nematode, crustacee, insecte, la care setul întreg de cromozomi rămâne numai în celulele sexuale.

(b) **Heterocromatinizarea cromozomului X sau a unui genom.** Heterocromatinizarea cromozomului X de la femelele de mamifere este cel mai întâlnit caz de inactivitate genică prin inactivarea unui cromozom.

Heterocromatinizarea unui genom întreg (de origine paternă) a fost semnalată la embrionii masculi de *Planococcus citri* ($2n=10$) în stadiul de blastulă. Genele respective nu vor mai fi transcrise în timpul dezvoltării embrionului mascul. În urma meiozei, vor rezulta gameți funcționali (care conțin cromozomii materni) și gameți nefuncționali (care cuprind cromozomii de origine paternă).

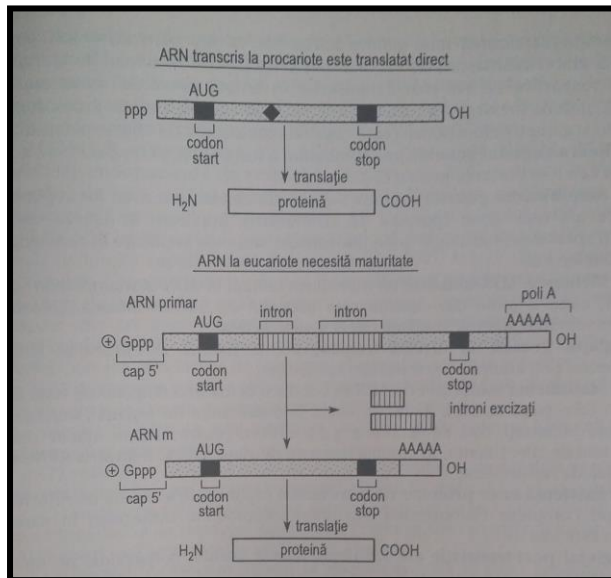


Fig. 7 – Comparație între ARN-m la procariote și eucariote. La eucariote, ARN-m conține și introni care sunt eliminați în timpul maturării sale (P. Raicu, Veronica Stoian, 1989).

(c) **Rearanjamentul genelor pe cromozomi** a fost descoperit de *Barbara McClintock* la porumb, în anul 1940.

(d) **Amplificarea genelor.** În faza S a ciclului celular, pot avea loc replicări repetate ale unor gene (porțiuni de cromozom), implicate în sinteza unor cantități sporite de substanțe: gene ribozomale sau cele implicate în rezistența la antibiotice ș.a.

(e) **Metilarea ADN-ului** este un mecanism întâlnit în ADN-ul mamiferelor (și la om), când o parte din citozină este înlocuită cu 5-metil-citozină. Genele inactive sunt mai puternic metilate decât genele active.

Reglajul genetic la nivelul translației este întâlnit la eucariote, fiind caracterizat prin anumite particularități ale ARN-m.

(a) **Stabilitatea moleculei de ARN-m** conduce la mărirea timpului de viață al ARN-m (ore până la zile). Astfel, în cazul instalării stării de repaus (semințe, embrioni închistați, ouă nefecundate ș.a.), ARN-m poate

rămâne inactiv dar stabil, luni de zile. Ulterior, în condiții normale de viață, au loc activarea ARN-m și sinteza de noi proteine.

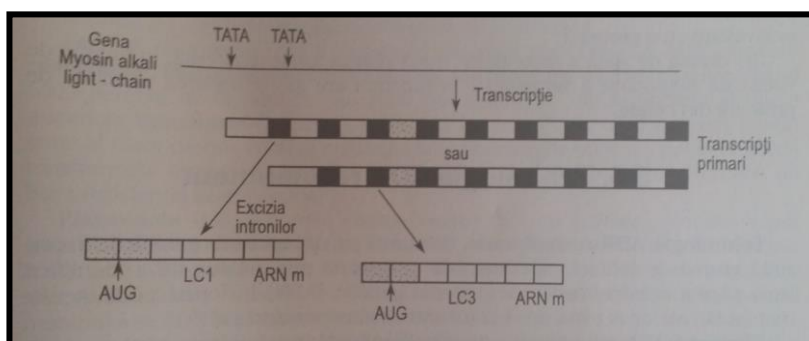


Fig. 8 – Genele pentru miosinele musculare LC1 și LC3 de la pui. Două secvențe distincte TATA conduc la formarea a doi transcripți primari diferiți care conțin aceleași segmente codificate. Două modele a excisiei intronilor conduc la formarea moleculelor distincte de ARN-m care codifică proteina, având regiuni amino-terminale și aceleași regiuni carboxyl-terminale (*D. Freifelder, 1987*).

(b) **Existența unor proteine citoplasmatică** capabile de a se lega de ARN-m formând complexe (informosoni sau ribonucleoproteine mesagere) în care ARN-m este inactiv.

Reglajul post-tranlație are loc după sinteza lanțului polipeptidic pe mai multe căi:

(a) scindarea unui lanț polipeptidic precursor, denumit proproteină sau preproteină, în fragmente finale, sau prin sinteza unei poliproteine, care este reprezentată de un lanț polipeptidic lung ce are mai multe locuri active, fiecare echivalând cu o proteină;

(b) durata de viață a proteinelor, după sinteza lor, este diferită. În funcție de viteza de degradare a proteinelor în lizozomi are loc și reglarea cantității de proteine din celule.

Tehnologia ADN recombinat

Tehnologia ADN recombinat, denumită uzual **inginerie genetică**, reprezintă grupul de tehnici experimentale care oferă posibilitatea de a identifica, izola și propaga fragmente de material genetic (ADN) în formă pură. Aceste manipulări au loc *in vitro*, cu ajutorul unor enzime, virusuri ș.a.

Clonarea ADN este tehnica principală utilizată în tehnologia ADN recombinat. Ea constă în izolarea și multiplicarea (propagarea) unor molecule de ADN identice. Clonarea moleculară cuprinde două etape:

1. **în prima etapă** secvența de ADN, numită **ADN-insert**, este unită cu o moleculă de ADN denumită **vector de clonare** pentru a forma o moleculă de ADN recombinat (**clonă**);

2. **în etapa a doua**, molecula de ADN recombinat este introdusă într-o celulă-gază compatibilă, printr-un proces denumit **transformare**. Celula-gază în care se află molecula de ADN reprezintă o **celula transformată** sau **transformant**. Un transformant va parcurge mai multe cicluri de diviziune celulară, celulele din colonie replicând moleculele de ADN recombinant.

ADN-insert este propagat din ADN izolat din celule și tăiat de enzime denumite **endonucleaze de restricție**, care clivează ADN-ul bicatenar în secvențe specifice de 1000-10 000 perechi de nucleotide. Totodată ele facilitează unirea ulterioară a fragmentelor de molecule de ADN, deoarece atunci când taie molecula de ADN multe endonucleaze creează două regiuni scurte de ADN monocatenar denumite **capete sticky** (lipicioase) (Fig. 9). Atunci când secvența de nucleotide a capătului sticky al unui fragment de ADN este complementară cu secvența de nucleotide a capătului sticky al unei alte molecule de ADN, cele două capete sticky pot împerechea bazele. O dată cu împerecherea bazelor, capetele moleculelor de ADN sunt unite efectiv în urma acțiunii unor enzime denumite **ligaze**. Astfel, clonarea ADN începe de obicei prin tăierea unei anumite secvențe a ADN cu o enzimă de restricție pentru a obține o populație de molecule care ulterior pot fi unite cu un vector de clonare cu aceeași endonuclează de restricție.

Vectorii de clonare sunt molecule de ADN dublu catenar care trebuie să prezinte trei caracteristici:

1. vectorii de clonare trebuie să includă un **replicon de origină**, respectiv o secvență de ADN care permite vectorului ADN să fie replicat în celula-gazdă;

2. vectorii de clonare trebuie să conțină cel puțin un locus de ruptură pentru o endonuclează de restricție. Acest locus (**cloning site**) reprezintă locusul unde ADN-insert este încorporat în vectorul de clonare;

3. vectorii de clonare trebuie să codifice o genă al cărei produs permite distingerea celulei gazdă transformate de celulele netransformate. De exemplu, mulți vectori de clonare posedă o genă care conferă rezistență la un antibiotic. Celulele transformate cu asemenea vectori pot crește pe mediu conținând antibiotice, pe când celulele netransformate vor fi omorâte.

Vectorii de clonare pot fi constituiți din mici molecule de ADN, precum **plasmidele**. **Plasmidele** sunt reprezentate prin molecule de ADN circular, având 5000 de perechi de nucleotide sau chiar mai puțin. Se află la bacterii și unele eucariote unicelulare (ciuperci), se replică autonom și în mod frecvent conțin gene al căror produs conferă rezistență la antibiotice. În acest fel, celulele-gazdă transformate în vectorul plasmid, pot fi distinse de celulele netransformate, pe baza rezistenței la antibiotice.

Plasmidele sunt denumite **shuttle vector** (vectori suveică), deoarece pot transfera ADN clonat între diferite specii: de exemplu de la bacteria *Escherichia coli* (unde ADN poate fi ușor propagat), la ciuperci (unde unele gene eucariote se exprimă ușor). În acest fel, plasmidele reprezintă un material ideal pentru manipularea ADN recombinat atât *in vitro* cât și *in vivo*.

Un alt vector de clonare este reprezentat de ADN viral. De obicei sunt folosiți ca vectori de clonare bacteriofagii care induc gene străine în celulele bacteriene (*Escherichia coli*) sau virusurile celulelor animale, care pot include gene străine în celulele animale. În acest sens este celebră experiența efectuată de *C. R. Merrill*, *M. R. Geier* și *J. C. Petricciani* de la Institutul Cancerului de la Bethesda (S.U.A.) care au transferat gena ce intervine în metabolizarea galactozei de la bacteria *Escherichia coli* în genomul uman al unor culturi de celule provenite de la bolnavii de galactosemie, cu ajutorul bacteriofagului lambda (1971).

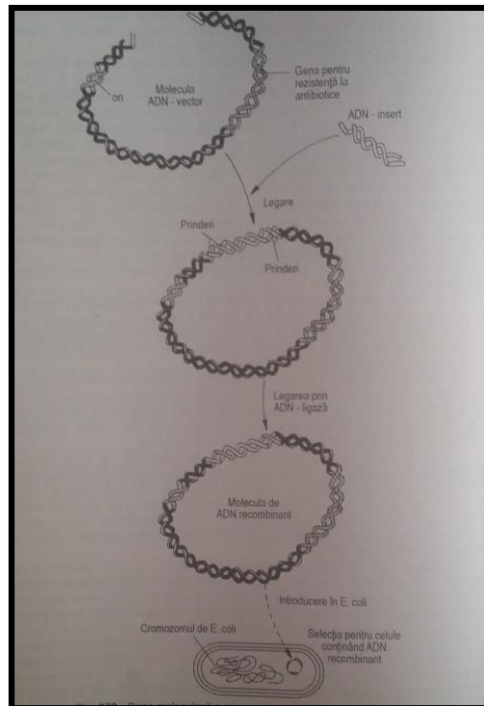


Fig. 9– Baza moleculară a proceselor în formarea ADN recombinat (R. Ogden, D. A. Adams, 1989).

- **Transferul genelor nif fixatoare de azot.** Numeroase specii de bacterii și alge albastre-verzi pot fixa azotul atmosferic. Numeroase specii de plante precum leguminoasele (mazăre, fasole, lupin, trifoi, soia ș.a.), *Digitaria*, *Paspalum notatum*, aninul (*Alnus sp.*) ș.a., trăiesc în simbioză cu diferite specii de bacterii, putând astfel utiliza azotul atmosferic. Algele albastre-verzi fixatoare de azot contribuie la îmbogățirea cu azot a terenului din orezării, precum și în apa mărilor sau oceanelor.

În anul 1960 s-a reușit izolarea enzimei **nitrogenază** de la bacteria *Clostridium pasteurianum*, care catalizează azotul atmosferic la bacterii și alge albastre-verzi. Ea este formată din două molecule proteice: una mare

(notată MoFe), cu greutatea moleculară de circa 220 000 (200 000-250 000 daltoni) și alta mai mică (notată Fe) cu greutatea moleculară de 55 000 - 72 000 daltoni. Se crede că există două gene structurale **nif**: una care determină sinteza moleculei proteice mari și alta care controlează sinteza moleculei proteice mici din constituția enzimei nitrogenază, precum și o genă reglatoare.

Sinteza acestei enzime este determinată de genele **nif** aflate pe cromozomul bacterian într-un locus apropiat de cel al genelor **his** (gene care intervin în metabolismul histidinei).

În ultimul timp s-a reușit transferul genei **nif** de la o bacterie la alta prin fenomenul de conjugare, transformare, transducție și sex-ducție. Astfel, R. Dixon de la Universitatea Sussex (Anglia) a transferat genele **nif** și **his** de la bacteria fixatoare de azot F+ *Klebsiella pneumoniae*, la o bacterie F' *Escherichia coli* (care nu poate fixa azotul atmosferic și nu putea metaboliza histidina), obținând o bacterie *Escherichia coli* care putea fixa azotul și metaboliza histidina.

Pentru transferul genelor **nif** se pot utiliza de asemenea virusurile (bacteriofagii) care pot transporta genele **nif** de la o bacterie la alta (fenomenul de transducție).

Transferul genelor **nif** de la o specie la alta prezintă o deosebită importanță economică. Transferul genelor de la o bacterie la alta creează posibilitatea ca și alte plante, nu numai leguminoasele, care au simbioză cu alte specii de bacterii (în mod natural nefixatoare de azot) să poată utiliza azotul atmosferic. Recent s-a reușit realizarea simbiozei între bacterii mutante de tip *Rhizobium* și culturi de celule de tutun.

În viitor se preconizează transferul genelor **nif** în cromozomul cloroplastelor (ceea ce ar permite celulelor vegetale să utilizeze azotul atmosferic), precum și transferul genelor **nif** de la bacterii în cromozomii celulelor vegetale, plantele devenind capabile să utilizeze direct azotul atmosferic fără a mai fi nevoie de simbioza lor cu bacteriile care posedă gene **nif**.

- **Modificarea genetică a plantelor.** Biologia moleculară vegetală a progresat în ultimii ani prin exploatarea plasmidului Ti de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, plasmid care poate fi transferat la mai multe specii de plante.

ADN-transferat (ADN-T) al plasmidului Ti poate fi subclonat într-un mutant *Escherichia coli* pentru a produce un vector care poate fi propagat

atât la plante, cât și la *Escherichia coli*. ADN străin poate fi inserat în ADN-T într-o regiune neesențială și plasmidul recombinant transferat în *A. tumefaciens*. Când bacteria infectează o plantă, ea transferă ADN-T într-o celulă vegetală, unde ADN-T devine integrat în genomul celulei (Fig. 10).

Celula vegetală conține acum gena străină clonată; expresia genei este controlată de un promotor situat mai sus de locusul de clonare ADN-T. Deși prin această tehnică se inseră ADN străin numai într-o singură genă, ea este aplicată în ameliorarea plantelor, deoarece multe plante pot fi regenerare pornind de la o singură celulă a unui țesut diferențiat.

Modul de lucru, în general, este prezentat în figura 11. Inițial are loc infecția unei frunze a unei plante cu o bacterie a cărei plasmidă prezintă ADN-T recombinat. Ulterior, o porțiune din frunza infectată este utilizată pentru a obține protoplaști și a regenera planta întreagă. Organismele în genomul cărora au fost integrate stabil gene străine sunt denumite **organisme transgenice**.

Tehnologia clonării ADN-T este utilizată pentru proiectarea și transmiterea stabilă a numeroase gene care determină rezistența la erbicide, în genomul plantelor de interes economic. Plantele cultivate pot deveni rezistente la erbicide, fie prin schimbarea enzimelor afectate de erbicide, fie prin introducerea unor gene străine, originare de la bacterii sau plante rezistente natural la erbicide, gene care catabolizează erbicidele. De exemplu, o subspecie de *Klebsiella pneumoniae* poate utiliza erbicidul bromxynil (un derivat benzonitril) ca sursă de azot. Această subspecie conține un plasmid care codifică o enzimă foarte specifică pentru bromxynil. Când această genă a fost transferată la plantele de tomate prin procesul descris anterior, plantele transgenice au devenit rezistente la erbicide.

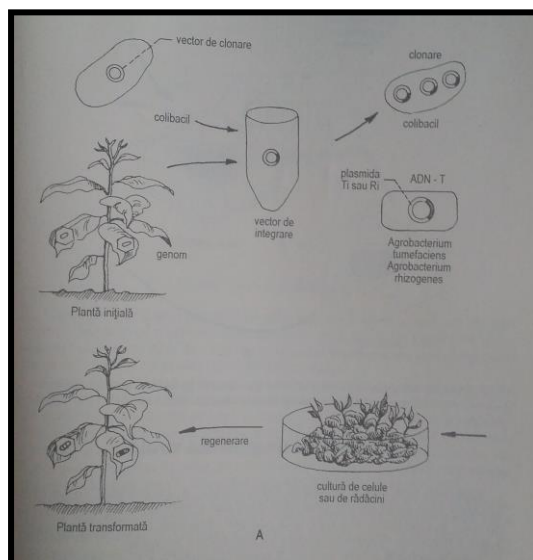


Fig. 11A – Manipularea genetică la plante prin inginerie genetică, realizată cu ajutorul bacteriei *Agrobacterium tumefaciens* (M. Rives, 1984).

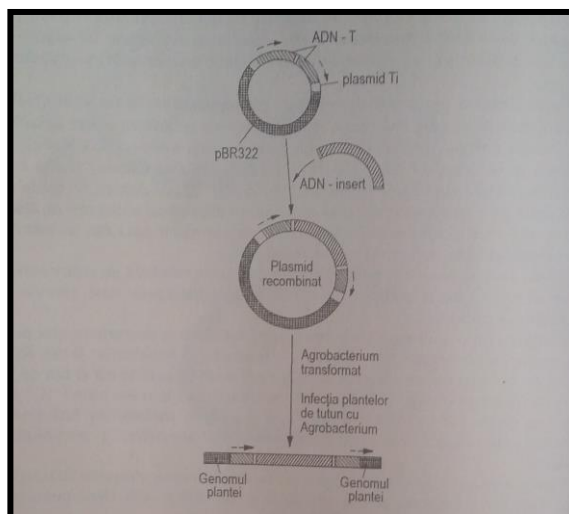


Fig. 10 – Introducerea de ADN exogen în genomul unei celule vegetale (R. Ogden, D. A. Adams, 1989).

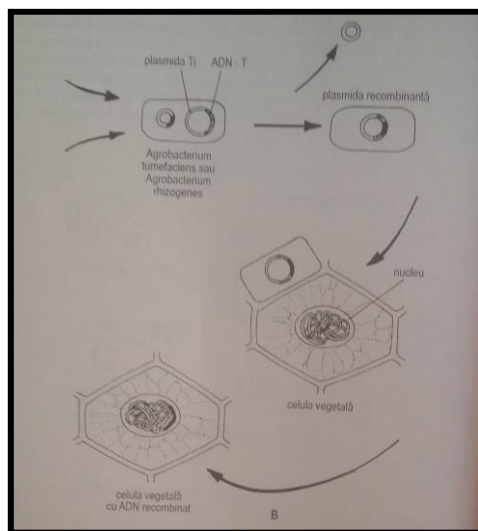


Fig. 11B – Manipularea genetică la plante prin inginerie genetică, realizată cu ajutorul bacteriei *Agrobacterium tumefaciens* (M. Rives, 1984).

BIBLIOGRAFIE

BENGA, GH. (1979) *Biologia moleculară a membranelor cu aplicații medicale*. Cluj-Napoca: Ed. Dacia.

FREIFELDER, D. (1987) *Molecular biology*. Boston Portola Valley, SUA: Jones and Bartlett Publ. Inc.

GAVRILĂ, L. (1976) Trepte în cucerirea genei. *Natura*. 2 (XXVII). p. 29-37.

GAVRILĂ, L. (1977) Ereditatea și variabilitatea. În: TUFESCU, M. et al. *Lucrări practice de biologie generală*. București: Editura Didactică și Pedagogică.

RAICU, P. (1980) *Genetica*. București: Editura Didactică și Pedagogică.

RAICU, P. (1983) *Ingineria genetică. Realizări și perspective*. București: Editura Științifică și Enciclopedică.

RAICU, P. & STOIAN, V. (1989) *Gene și cromosomi*. București: Editura Științifică și Enciclopedică.

PLANTE INSECTIVORE

INSECTIVOROUS PLANTS

Rodica MOHAN*

Abstract

Genetics was founded as a science in 1900 with the "rediscovery" of the laws of heredity, developed by Gregor Mendel in the nineteenth century. In the period since then, efforts made by geneticists have been focused towards the discovery of the hereditary substrate.

Key words: insects, plants.

Plantele verzi își pregătesc singure hrana cu ajutorul fotosintezei. Dioxidul de carbon și energia solară sunt elemente oarecum statornice, cu largă răspândire sub aceeași formă. Compoziția solului, prin caracterul ei divers și variabil, silește planta să treacă la o serie de adaptări. Sunt cazuri când un element de cea mai mare importanță - anume azotul - lipsește; acest fenomen se petrece în medii prea acide sau foarte sărace în compuși azotici, cum ar fi tinoavele, turbăriile, apele stătătoare sau lin curgătoare.

În astfel de medii viețuiesc însă animale mici, turbăriile și tinoavele adăpostind numeroase neamuri de musculițe și țânțari, iar bălțile sunt populate cu milioane de infuzori, ciclopi și dafnii, al căror corp conține din belșug substanțe azotoase.

În aceste condiții, o serie de plante, printr-un uimitor act de adaptare, s-au specializat în prinderea insectelor, sursă sigură și îmbelșugată de azot, căpătând astfel unele obiceiuri care le diferențiază considerabil de restul vegetalelor. Pentru procurarea azotului organic, necesar completării hranei, aceste plante insectivore și-au modificat puțin înfățișarea, împrumutând unele caractere de la animale. Singurul organ afectat a fost frunza; ea a trebuit să devină o capcană ingenioasă, care să atragă insectele, să le imobilizeze și să le digere precum un stomac animal, prin secretarea unui fel de suc gastric, format din acizi și enzime proteolitice (pepsine).

* Prof. biologie la Colegiul Național „Dr. Ioan Meșotă” din Brașov.

Pentru a prinde și reține insectele, cele peste 450 de specii de plante carnivore răspândite pe întreg globul - cu precădere în țările calde - sunt înzestrate cu frunze ale căror părți specializate, formând capcane de tipuri și forme diferite, execută o serie de mișcări mai lente sau mai repezi care pot fi urmărite cu ochiul liber.

Prin tinoavele de munte întâlnim o plantă cu rădăcini firave și un mănunchi de flori albe sau roze. Ceea ce atrage la ea sunt rozetele de frunze, niște talerașe rotunde sau lunguițe pe care strălucesc boabe ca de rouă. Acest amănunt izbitor i-a adus denumirea populară de roua-cerului (*Drosera rotundifolia*) - Fig. 1.

Frunza de *Drosera* e împodobită cu un mănunchi de tentacule senzitive, inegale, mai lungi pe margini, mai scurte la centru. În vârful lor măciucat, ele sunt înzestrate cu celule care secretă un lichid lipicios. Printre aceste tentacule glanduligere se ascund perișori glandulari de origine epidermică cu rol sanitar. Ei absorb substanțele lipicioase ce se preling pe frunză, păstrând astfel suprafața limbului curată, propice pentru respirație.

O insectă atrasă de picăturile strălucitoare aterizează pe frunză, atingând tentacule marginale; acestea se îndoaie și o acoperă, immobilizând-o. Excitația fizică este transmisă și la tentaculele centrale care împreună cu celelalte încep să secrete cu putere sucurile digestive. În 1-2 zile insecta este complet digerată. Nemaexistând substanțe organice, deci înlăturându-se excitația chimică, tentaculele revin la poziția inițială, iar resturile chitinoase ale insectei, împinse de o boare de vânt, cad de pe frunză. Planta așteaptă o nouă pradă.

Taina Droserei a fost lămurită de Darwin, marele savant englez dovedind că lipsa de azot a determinat această plantă să devină insectivoră. Acesta a pus pe frunză bucăți extrem de mici de carne sau albuș de ou, care conțin substanțe azotoase, el a obținut aceleași reacții ca cele explicate mai sus. Înlocuindu-le însă cu un bob de nisip, cu o picătură de grăsime, cu un cristal de zahăr care nu conțin proteine, tentaculele au rămas nemișcate.

Una din podoabele locurilor umede din munții noștri este și iarba grasă (*Pinguicula*), gen reprezentat prin două specii. Una mai mare, cu flori albastre (*P. vulgaris*, Fig. 2), care trăiește prin locurile umede în regiunea subalpină; alta, mai mărunță și cu flori albe, aburite cu galben (*P. alpina*), urcă pe cele mai înalte piscuri la adăpostul crăpăturilor de stânci. Indiferent de specie, ele prezintă o rozetă de frunze ovale și cărnoase din mijlocul

căroră se ridică un lujer împodobit cu o singură floare pintenată, asemănătoare oarecum cu violeta (Fig. 3).



Fig. 1 – *Drosera rotundifolia*

Frunzele lor, cu marginile îndoite, formând un mic jgheab sunt înzestrate cu două feluri de peri: unii cu piciorușe și vezicule, care varsă din 16 celule secretoare mazăga lipicioasă, și alții fără piciorușe, cu 8 celule secretoare, care eliberează un suc digestiv abundent, încărcat cu acizi organici și fermenți. Când insecta poposește pe frunză, substanța cleioasă o înțepenește, iar excitația transmisă marginilor frunzei face ca acestea să se îndoie și să se răsucescă asemenea unei foite de țigară, acoperind prada. Înfășurarea și desfășurarea frunzei se fac atât de încet, încât, ca și Darwin, trebuie să pierdem o zi întreagă pentru a le urmări.

Ciobanii prețuiesc această plantă pe care o folosesc datorită fermenților ei, la închegarea laptelui.

Apele Deltei sau ale lacului Snagov ascund o delicată plantă carnivoră, (Fig. 4).

Ea are înfățișarea unei mici tufe plutitoare cu numeroase frunzulițe subțiri ce ies mai mult din același nod, ca razele unei stele. Din loc în loc întâlnim și frunze modificate, cu două lamine rotunjoare ca două mici scoarțe de carte, deschise în unghi de 90° și unite prin cotorul nervurii principale. Pe marginea laminei se găsesc 60-80 de ghimpi mititei, iar în mijlocul lor o zonă acoperită cu numeroase glande digestive și perișori sensibili.

Când un mic animal acvatic atinge perii sensibili, excitația se transmite la cotor care face să se închidă brusc cartea prin alipirea laminelor. Prada prinsă e digerată, iar substanțele sunt absorbite de glandele digestive.

La fel procedează și vestita vânătoare de muște (Fig. 5), oaspetele pădurilor mlăștinoase din America de Nord (statul Carolina), împodobită cu flori asemănătoare cu ale Droserei, dar mai mari. Frunzele ei, așezate tot în rozete, sunt alcătuite din două părți. Spre baza frunzei sunt lățite ca o lopățică. În continuarea acestei părți foliacee se găsesc două valve pe margine cu dinți lungi, iar pe fața inferioară se găsesc trei peri rigizi, articulați, sensibili, răsăriți printre numeroase glande digestive.

În clipa în care o insectă a coborât pe frunză și a izbit unul dintre cei șase perișori, cei doi lobi acționați parcă de un buton se îndoaie cu iuțeală de-a lungul muchiei, petrecându-și spinii unul pe lână altul, așa cum ne încrucișăm degetele pentru a ne uni mai strâns palmele.

În pădurile umede din insulele dintre Oceanul Indian și Oceanul Pacific (Kalimantan, Java Sulawesi, Irian), alături de uimitoarele orchidacee, atenția cercetătorilor e atrasă de plante cu ulcele (*Nepenthes distillatoria*, Fig. 6) - o epifită care trăiește pe scoarța copacilor unde găsește prea puțină hrană. Ceea ce impresionează la această plantă sunt frunzele deosebit de curioase, alcătuite din trei părți: o parte lată, continuată cu un cârcel, cu care se prinde de suportii înconjurători; în vârful acestuia atârână o cupă înzestrată cu un căpăcel, aidoma unei cofițe.

Această cupă, care la unele specii poate atinge o lungime de o jumătate de metru și un diametru de 15 cm, este o capodoperă picturală a naturii, demnă de a inspira orice cercetător de a o analiza în detaliu.

La gura cofei se găsește un guleraș foarte lunecos sub care este secretat un suc dulce. Atrase de culorile neobișnuit de vii și de nectar, muștele se aseză pe guleraș. Dar acesta fiind neted, umed și înclinat, provoacă în mai toate cazurile alunecarea insectelor în interior. În partea de jos a cofiței le așteaptă lichidul mistuitor, secretat de pereții interiori ai urnei. Transparent la început, lichidul se colorează brusc în gălbui și capătă o reacție acidă în contact cu trupul micului animal. Celulele din fundul cofiței absorb apoi încetul cu încetul substanțele digeratăe.

Același sistem de frunze îl găsim și la *Cephalotus follicularis* - Fig. 7 - o plantă din locurile mlăștinoase ale Australiei, înzestrată cu cofițe roșii mai scunde, dar cu deschiderea mai largă, așezate strâns una lângă alta.

La alte plante exotice carnivore, cofița este înlocuită prin cornete înalte de 60-80 cm, care ies direct din pământ. Aceste cornete aparțin unei palnte din mlaștinile Americii de Nord, *Sarracenia purpurea*. Gura cornetului este păzită de un lob de culoare roșie aprins, care servește drept semafor pentru insecte. Acestea alunecând de pe lobul asemănător unui tobogan cad în lichidul mistuitor din adânc și nu se mai pot întoarce din cauza opreliștei de peri orientați în jos, ce le stau în cale.

Și mai interesantă este (Fig. 8) rudă bună cu *Sarracenia*, descoperită în 1851 în mlaștinile din Sierra Nevada (California). Cornetele sale, care de asemenea ies din pământ, depășesc un metru înălțime și sunt acoperite de un căpăcel în formă de coif împrestrițat de culori. La intrarea în capcană atârână restul frunzei ca o limbă despăcată de șarpe. Insectele atrase de culoarea căștii pătrund în interiorul cornetului care nu are nici nectar, nici baraj de peri. Înapoierea lor este îngreunată de netezimea peretelui și de răsucirea cornetului în formă de tirbușon.

Pe apele tuturor bălților plutesc, în timpul verii, lujerii cu florile glabene și buzate ale otrătelului (*Utricularia vulgaris*, Fig. 9). Tulpina și frunzele filiforme stau ascunse în apă. Sute de săculeți sunt prinși de șesătura fină a frunzelor. Acești săculeți în forma vârșelor de prins pește, nu mai mari de 4-5mm, constituie părți ale frunzelor transformate în capcane. Veziculele au în vârf o mică deschidere mărginită de perișori și acoperită dinspre interior de un căpcel care funcționează ca o supapă. Micile animale de apă dulce (dafniile, ciclopii, rotiferele, infuzorii) ating perișorii care transmit excitația căpăcelului, ce se deschide, lăsându-le să pătrundă. Chiar dacă ar evita acest lucru, ele tot nu reușesc să scape - sacii până atunci goi se destind brusc, absorbind apa cu putere. Ieșirea e cu neputință, deoarece presiunea din interiorul sacului umplut se echilibrează cu cea din afară, ținând închis căpăcelul. După 1-3 zile micile animale mor de foame și apoi sunt digerate de substanțele secretate de perișorii glandulari din interiorul vârșei.

Cu ajutorul capcanelor sale, otrățelul prinde până la o mie de astfel de viețuitoare pe zi.



Fig. 2 – *Pinguicula vulgaris*



Fig. 3 – *Pinguicula alpina*



Fig. 4 – *Pinguicula vulgaris*



Fig. 5 – *Dionaea muscipula*



Fig. 6 – *Nepenthes distillatoria*



Fig. 7 – *Cephalotus follicularis*



Fig. 8 – *Darlingtonia californica*



Fig. 9 – *Utricularia vulgaris*

BIBLIOGRAFIE

MOHAN, R. (2006) Curiozități din lumea plantelor și animalelor în ARDELEAN, A. & MOHAN, GH. *Enciclopedia de biologie*. București: Ed. All.

OPRIȘ, T. (1986) *Bios*. București: Ed. Albatros.

OPRIȘ, T. (1980) *Uzina Flora*. București: Ed. Ioan Creangă.