

BONCIU ELENA

BONCIU ELENA

**FITOVITROCULTURA ȘI TRANSGENEZA
ÎN CONTEXTUL BIOINGINERIEI
ȘI BIOTEHNOLOGIILOR MODERNE**



Editura UNIVERSITARIA
Craiova, 2019

Referenți științifici:

Prof. univ. dr. PETRESCU IRINA*

Conf. univ. dr. SĂRAC IOAN*

*Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului
„Regele Mihai I al României”, Timișoara

Copyright © 2019 Editura Universitaria

Toate drepturile sunt rezervate Editurii Universitaria

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

BONCIU, ELENA

**Fitovitrocultura și transgeneza în contextul bioingineriei și
biotehnologiilor moderne / Elena Bonciu. - Craiova : Universitaria, 2019**

Conține bibliografie

ISBN 978-606-14-1462-8

57

© 2019 by Editura Universitaria

Această carte este protejată prin copyright. Reproducerea integrală sau parțială, multiplicarea prin orice mijloace și sub orice formă, cum ar fi xeroxarea, scanarea, transpunerea în format electronic sau audio, punerea la dispoziția publică, inclusiv prin internet sau prin rețelele de calculatoare, stocarea permanentă sau temporară pe dispozitive sau sisteme cu posibilitatea recuperării informațiilor, cu scop comercial sau gratuit, precum și alte fapte similare săvârșite fără permisiunea scrisă a deținătorului copyrightului reprezintă o încălcare a legislației cu privire la protecția proprietății intelectuale și se pedepsesc penal și/sau civil în conformitate cu legile în vigoare.

Cuvânt înainte

Motto:

„Tehnologia este natura omului modern”

Octavio Paz (1914-1998)

Știința înregistrează astăzi un progres fără precedent, iar cercetarea modernă presupune dezvoltarea acelor tehnologiilor cu impact în cele mai diverse compartimente ale vieții umane. Revoluția microbiologică și revoluția genetică au deschis calea către extinderea cunoașterii proceselor vieții, oferind noi posibilități de apărare a sănătății omului, de creștere a bazei de materii prime organice dar și crearea de noi plante și animale cu caracteristici de productivitate superioare.

Cunoașterea aprofundată la nivel celular, molecular și atomic a performanțelor și proprietăților sistemelor biologice a determinat o nouă revoluție în biologie, revoluția biotehnologică, cu profunde implicații în majoritatea activităților umane. Principalul său scop îl constituie rezolvarea unor probleme stringente la nivel planetar din domeniul energiei, agriculturii, industriei, sănătății, alimentației și protecției mediului înconjurător. În acest context, obținerea de organisme modificate genetic, cu performanțe biologice și productive superioare, reprezintă obiectivul prioritar al cercetărilor moderne de genetică aplicată, orientată spre elaborarea unor procedee eficiente de sporire a variabilității genetice, conform exigențelor programelor de ameliorare a speciilor de interes economic.

Plantele modificate genetic au interesat până recent doar agricultura și industria alimentară, dar la începutul noului mileniu este deja evidentă tendința utilizării lor în multe alte domenii: industria lemnului și hârtiei, textilă, farmaceutică, etc. Prin modificare genetică, pot fi obținute plante agricole noi, capabile de producții record, nepoluante și cu însușiri de calitate ameliorate. Se anticipează că maximul de valoare potențială adăugată plantelor de cultură transgenice rezidă în modificările produselor finite, cum ar fi, de exemplu: creșterea conținutului de amidon, proteine, uleiuri și zaharuri; modificarea însușirilor de panificație (la grâu); sporirea conținutului de β -caroten; creșterea duratei de păstrare a fructelor sau legumelor, etc.

Elena Bonciu - Fitovitrocultura și transgeneza în contextul bioingineriei și biotehnologiilor moderne

Cunoscând deja comportamentul organismelor simple și pe baza capacității de totipotență a plantelor, cercetătorii au pus bazele fitovitroculturii sau culturii plantelor in vitro, prin creșterea pe medii artificiale a unor porțiuni infime de plante sau chiar celule. Pe de altă parte, în sectorul animalier, rezultatele utilizării biotehnologiilor moderne s-au materializat deja prin creșterea producției de carne, lapte, ouă, lână, diminuarea perioadei neproductive, creșterea rezistenței la anumite boli, etc., așadar îmbunătățirea calitativă a efectivelor și creșterea randamentului și eficienței economice.

Revoluția biotehnologică cunoaște în prezent un avânt fără precedent, iar securitatea alimentară pe termen lung are toate premisele de a fi asigurată, grație utilizării organismelor modificate genetic. In fact, securitatea alimentară durabilă presupune „moștenirea” lăsată urmașilor, iar acest lucru este tradus, în contextul unei creșteri demografice explozive la nivel mondial, prin producții vegetale și animaliere superioare și de calitate, lucru realizabil doar cu ajutorul descoperirilor științifice, aplicând tehnologii bine studiate și reglementate. Biotehnologiile moderne în general și transgeneza în special, dispun de un potential enorm pentru asigurarea securității alimentare, creșterea calității vieții, menținerea biodiversității și protecția mediului înconjurător.

Lucrarea de față se adresează studenților și masteranzilor de la facultățile de profil, cercetătorilor, precum și tuturor acelor interesați de domeniul fascinant al bioingineriei și biotehnologiilor agricole moderne, domeniu transpus în practică prin fitovitrocultură (cultura plantelor in vitro), respectiv plante și animale modificate genetic, via transgeneză. Parafrazându-l pe Octavio Paz, eseist și diplomat mexican, biotehnologiile reprezintă viitorul omului modern și șansa omenirii, o lume în care, să nu uităm, cca 13% din populația globală încă suferă de foame, iar în fiecare oră, 300 de copii mor din cauza inaniției, conform unui raport recent al organizației „Save the Children”.

Autoarea

CAPITOLUL I

NOȚIUNI DE CREȘTERE ȘI ÎNMULȚIRE A PLANTELOR SUPERIOARE

Plantele cultivate sunt rezultatul multor ani de ameliorare, în cursul cărora a fost practică selecția pentru caracterele dorite (producție ridicată, calitatea superioară a produselor, rezistență la boli și dăunători, etc.).

Descifrarea oricărui proces biologic, începând de la originea vieții și evoluția biologică, ajungând la caracterele morfologice, fiziologice și biochimice ale organismelor și terminând cu gândirea și comportamentul uman, nu poate fi realizată decât admițând în sistemul de elemente definitorii, componenta ereditară. Ereditatea și variabilitatea lumii vii sunt trăsături inseparabile, specifice și definitorii ale viețuitoarelor, fiecare specie având propriul sau patrimoniu ereditar sau propria sa zestre genetică și propria sa capacitate de variabilitate.

Primele observații asupra eredității au fost efectuate în antichitate, cu multe milenii î.Hr., atunci când oamenii au reușit să creeze primele soiuri de plante și rase de animale. În mod empiric, ei observaseră deja calea de transmitere la descendenți a caracterelor părinților. Cea mai veche observație asupra transmiterii caracterelor ereditare de la părinți la urmași s-a găsit pe o tablă de piatră veche de peste 6000 de ani. Piatra a fost descoperită în localitatea Elam, la est de orașul Ur din Chaldeea și reprezintă pedigree-ul a 5 generații de cai. Pe tabletă sunt inscripționate indicații referitoare la modul cum se transmit la urmași forma capului și a copitelor. Aceste mărturii demonstrează că în Chaldeea, acum șase milenii, se practica ameliorarea cailor (www.wikipedia.org).

Capacitatea de a sintetiza noi compuși din elementele sau din substanțele acumulate în organismele vii, prin preluarea acestora din mediul înconjurător, grație proceselor de metabolism, constituie un atribut al materiei vii. Organismul vegetal este constituit din sute de milioane de celule care, fiind rezultatul diviziunilor succesive ale unei celule inițiale (zigotul), moștenesc aceeași informație genetică. Deși celulele care alcătuiesc un organism multicelular posedă genomuri identice, ele manifestă o pronunțată diversitate, exprimată atât la nivel morfologic, cât și funcțional, în corelație cu funcțiile specializate pe care le îndeplinesc.

Elena Bonciu - Fitovitrocultura și transgeneza în contextul bioingineriei și biotehnologiilor moderne

Creșterea este fenomenul prin care se produce o mărire ireversibilă a dimensiunii celulelor, organelor și a întregului organism în final. Mărirea și extensia celulelor se face în mod treptat dar definitiv, până la atingerea formei și a dimensiunilor prestabilite genetic. Când celula se apropie de mărimea normală a unei celule adulte, se instalează procesele de metabolism specifice celulelor cu o anumită funcție, localizate în țesuturi și organe.

Nu există nicio etapă de dezvoltare în lumea vegetală care să nu fie legată de caracterul specific al creșterii, ea însăși fiind o latură a dezvoltării. Prin urmare, în afara creșterii, ca însușire fundamentală a materiei vii, nu există dezvoltare. În fiecare stadiu de dezvoltare cresc organe vegetative corespunzătoare; unele dintre ele, așa cum sunt frunzele de exemplu, se formează în toate etapele, iar altele pot fi caracteristice pentru unul sau altul din stadiile de dezvoltare.

Totipotența (omnipotența) celulară definește existența, în fiecare celulă, a capacității de a se reproduce, de a genera o nouă plantă, identică din punct de vedere genetic, cu planta de la care provine celula. Această competență extraordinară a fost sugerată pentru prima dată de austriacul Gottlieb Haberlandt, în 1902. „Teoretic, toate celulele plantelor sunt în măsură să dea naștere la o nouă plantă, completă”, spunea acesta, iar pe baza afirmațiilor sale au fost posibile numeroase descoperiri ulterioare în domeniu, chiar dacă abia după 1920, când a început perioada de pionierat pentru fitovitrocultură.



Figura 1. Haberlandt G. (1854-1945), promotorul fitovitroculturii

Ipoteza vizionară lui Haberlandt admitea ideea că fiecare celulă conține informația ereditară imprimată în genom și, în anumite condiții optime, își poate relua activitatea, poate crește și se poate multiplica, astfel încât se pot genera noi țesuturi, organe și chiar plante întregi.

Elena Bonciu - Fitovitrocultura și transgeneza în contextul bioingineriei și biotehnologiilor moderne

Înșușirea de totipotență ce caracterizează toate celulele vegetale nucleate vii, indiferent de funcțiile specializate pe care acestea le îndeplinesc în organismul multicelular, a fost pe deplin demonstrată odată cu dezvoltarea tehnicilor de cultură *in vitro* la plante (fitovitrocultura). Prin detașarea unui fragment de țesut dintr-un organism vegetal, rețeaua de semnale intra și extracelulare este mult simplificată, iar dacă fragmentul de țesut este plasat în condiții corespunzătoare *in vitro*, se poate realiza atât exprimarea totipotentei morfogenetice, prin reconstituirea unui organism întreg pornind de la celulele somatice, cât și a totipotentei biochimice, prin declanșarea la nivelul celulelor din cultură a întregului potențial al metabolismului secundar caracteristic speciei (Jurcoane și colab., 2004).

Fiecare celulă vie, indiferent de sursa de proveniență, deține în genomul său întreaga informație genetică necesară reproducerii și perpetuării speciei. Această zestre ereditară poate fi însă exprimată doar atunci când plantei îi sunt oferite toate condițiile indispensabile manifestării integrale a totipotențialității, în primul rând prin desprinderea acesteia din sistemul integrat al organismului sau al organului, prin întreruperea legăturilor menite să preîntâmpine dezvoltarea haotică a celulelor unui sistem în ansamblul lui și crearea condițiilor optime exprimării și punerii în valoare a tuturor aptitudinilor deținute de genomul celulei (Cachiță, 1987).

Cunoașterea factorilor care induc modificări previzibile ale stării de diferențiere și de competență celulară este foarte importantă, pentru a putea controla și dirija exprimarea totipotentei celulelor vegetale, ca o condiție de bază a utilizării culturilor de celule și de țesuturi, atât pentru regenerarea de plante, cât și pentru producerea de metaboliți secundari de interes industrial. Diferențierea unor tipuri celulare specifice nu poate fi explicată decât admițând faptul că unele gene funcționează permanent, iar altele doar temporar, în momente specifice din ontogeneză. Într-o celulă specializată sunt active numai genele care controlează funcția respectivă și activitățile generale de întreținere a viabilității celulare, restul genelor având activitatea blocată.

Exprimarea selectivă a unor părți distincte ale informației genetice celulare este rezultatul răspunsului la semnalele din mediul extracelular (nutrienți, hormoni, factori fizici, etc.), semnale recunoscute și prelucrate de către celulele respective. Fluxul de informații din mediul extracelular este filtrat prin sistemele de

Elena Bonciu - Fitovitrocultura și transgeneza în contextul bioingineriei și biotehnologiilor moderne

prelucrare a semnalelor din membranele celulare și din citoplasmă, spre situsurile unde are loc expresia genică. În acest fel, are loc integrarea efectivă a activităților celulare în entitatea structurală și funcțională a organismului, este posibilă supraviețuirea și reproducerea acestuia (Jurcoane și colab., 2004).

În aceeași ordine de idei, cercetătorul american Günter Blobel (laureat al Premiului Nobel pentru Fiziologie și Medicină în 1999) de la Universitatea Rockefeller New York, a formulat așa numita „ipoteză de semnal”, care postulează faptul că proteinele din celulă dețin un semnal intrinsec care le guvernează către și prin membrana reticulului endoplasmatic. Semnalul este alcătuit dintr-o peptidă, adică o secvență de aminoacizi într-o anumită ordine, care constituie parte integrantă a proteinei. Proteinele care urmează a fi exportate din celulă sunt sintetizate de ribozomi.

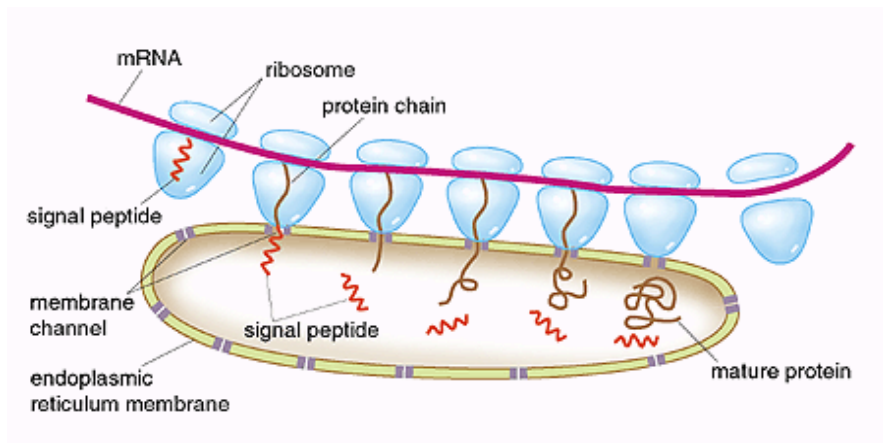


Figura 2. „Ipoteză de semnal” formulată de Blobel

(<http://swrq.jpkc.cc/swrq/newscontent/76>)

Blobel a sugerat că, în primul rând, o peptidă semnal este formată ca o parte a proteinei. Cu ajutorul proteinelor de legătură, peptida semnal direcționează ribozomii la un canal din reticulul endoplasmatic. Lanțul proteic penetrează canalul, peptida semnal este scindată, iar proteina completă va fi eliberată în lumenul reticulului endoplasmatic. Proteina este apoi transportată în afara celulei. Această ipoteză s-a dovedit universală, din moment ce procesele funcționează în același mod în celulele de drojdie, plante sau animale (<http://swrq.jpkc.cc/swrq/newscontent/76>).

Semnale intrinseci similare, care au drept țintă transportul de proteine și exportul lor în exteriorul celulei, sunt primite și de alte organite citoplasmatic. Fiecare proteină poartă în structura sa informațiile necesare pentru a specifica locația corespunzătoare în celulă. Secvențele specifice de aminoacizi (semnale topogenice) determină dacă o proteină va trece printr-o membrană într-un anumit organit, va deveni parte integrantă a membranei, sau va fi exportată în afara celulei. Aceste semnale topogenice au fost comparate de Blobel cu etichetele sau codurile zip destinate să asigure faptul că bagajele unui călător ajung la destinația corectă. Secvența semnal este reprezentată, de fapt, printr-un lanț de aminoacizi diferiți, parte integrantă a proteinei.

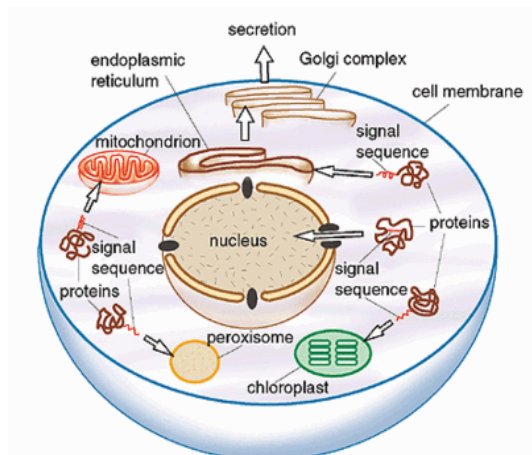


Figura 3. Celula vegetală și transportul proteinelor mediat de secvențele semnal sau semnale topogenice
(<http://swrq.jpkc.cc/swrq/newscontent/76>)

Proteinele nou sintetizate sunt furnizate cu „etichete de adrese” speciale, secvențe semnal sau semnale topogenice, cu ajutorul cărora traversează membranele organelor intracelulare și sunt conduse într-un loc concret din interiorul celulei sau sunt exportate în exteriorul ei (<http://swrq.jpkc.cc/swrq/newscontent/76>).

1.1. Organizarea celulei eucariote vegetale

Celula reprezintă unitatea de organizare a materiei vii și de construcție a oricărui organism viu. Indiferent de modul de reproducere a unui organism, continuitatea vieții se asigură doar prin

Elena Bonciu - Fitovitrocultura și transgeneza în contextul bioingineriei și biotehnologiilor moderne

intermediul celulei sau, altfel spus, viața se manifestă doar în cadrul organismelor cu structură celulară. Celulele izodiametrice sunt numite și celule parenchimatiche, iar cele alungite, prozenchimatiche.

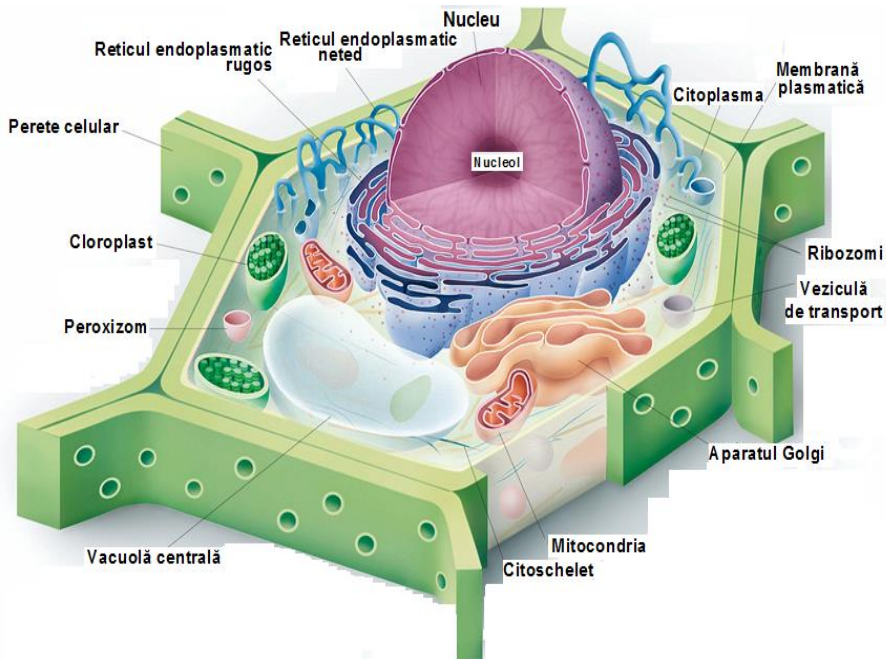


Figura 4. Structura celulei eucariote vegetale

(<https://www.google.ro/search?q=eucariote+cellula>, modificat)

Celula este constituită din protoplast (ansamblul componentelor celulare interne) și perete celular. Protoplastul constă din protoplasmă (totalitatea compușilor vii) și substanțe ergastice (produși pasivi ai protoplastului).

Protoplasma este alcătuită din citoplasma și nucleu. Citoplasma include matrixul citoplasmic (substanța fundamentală), împreună cu entități structurale distincte (plastide, mitocondrii, microtubuli, etc.) și sistemele de membrane (reticulul endoplasmic și dictiozomii), ce sunt suspendate în matrix și pot fi studiate în detaliu cu ajutorul microscopului electronic. Citoplasma este delimitată de peretele celular printr-o membrană plasmatică denumită plasmalema sau membrana celulară. În celula eucariotă vegetală se mai dezvoltă una sau mai multe vacuolele, pline cu suc celular (suc vacuolar), marginite de o membrană plasmatică denumită tonoplast.