

CUPRINS

INTRODUCERE	9
1. SINCRONIZAREA DIVIZIUNII CELULARE. DURATA CICLULUI MITOTIC ȘI A MEIOZEI	11
1.1. Sincronizarea diviziunii celulare și determinarea duratei ciclului mitotic în meristemele radiculare.....	13
1.1.1. <i>Metoda populațiilor sincrone de celule 4n (după Van't Hof și Colan, 1960)</i>	13
1.1.2. <i>Metoda creării artificiale de populații sincrone de celule 4n printr-un tratament continuu cu 0,5% colchicină</i>	15
1.1.3. <i>Metoda de sincronizare a diviziunii unei populații celulare cu 5-aminouracil (după Prenskey și Smith, 1965)</i>	15
1.1.4. <i>Metode microautoradiografice de determinare a duratei ciclului mitotic</i>	16
1.1.5. <i>Determinarea lungimii ciclului mitotic prin inhibarea formării plăcii ecuatoriale (după Kihlman și Levan, 1949)</i>	18
1.2. Sincronizarea diviziunii celulare și determinarea duratei ciclului mitotic în culturi de celule vegetale.....	19
1.2.1. <i>Sincronizarea parțială a diviziunii celulare în culturi celulare în suspensie (după Eriksson, 1966)</i>	19
1.2.2. <i>Durata ciclului mitotic în culturi de celule vegetale</i>	20
1.3. Determinarea duratei meiozei la plantele superioare.....	21
1.3.1. <i>Durata meiozei în celulele-mamă polinice</i>	21
1.3.2. <i>Durata meiozei determinată prin marcarea cu timidină tritiată (după Bennet, Chapman și Riley, 1971)</i>	24
1.3.3. <i>Durata meiozei în celulele-mamă ale sacului embrionar (după Bennet, Finch Smith și Rao, 1973)</i>	25
2. METODE PENTRU STUDIUL CROMOZOMILOR LA PLANTE	26
2.1. Metode pentru evidențierea cromozomilor în mitoză.....	26
2.1.1. <i>Metoda de includere în parafină, secționare și colorare a cromozomilor</i>	26
2.1.2. <i>Metoda Feulgen de colorare a cromozomilor pe preparate squash</i>	28
2.1.3. <i>Recomandări pentru speciile cu cromozomi mici și greu colorabili</i>	30
2.2. Metode pentru evidențierea cromozomilor în meioză.....	30
2.2.1. <i>Metoda carmin acetică</i>	30
2.2.2. <i>Metoda Feulgen</i>	31
2.3. Tehnici pentru realizarea de preparate semipermanente și permanente.....	32
2.4. Metode de bandare.....	32
2.4.1. <i>Metode de bandare Q (benzi Q)</i>	33
2.4.2. <i>Metode de bandare C (benzi C)</i>	36
2.4.3. <i>Bandarea cu Giemsa a cromozomilor meiotici (după Marks, 1974)</i>	38
2.4.4. <i>Metode de evidențiere a centromerilor</i>	38
2.4.5. <i>Metoda de evidențiere a kinetocorilor în meioză (benzi Cd)</i>	39
2.4.6. <i>Metoda de bandare N (benzi N)</i>	40
2.4.7. <i>Metoda de bandare T (benzi T)</i>	40

2.4.8. Evidențierea heterocromatinei centromerice și telomerice cu ajutorul extensilinei.....	41
2.4.9. Metoda de colorare diferențiată după tratamentul cu acid clorhidric (benzi Hy)	41
2.5. Evidențierea structurii spiralizate a cromozomilor	42
2.6. Metoda de izolare a cromozomilor metafazici	42
3. CARIOTIPUL ȘI STANDARDIZAREA SA.....	44
3.1. Identificarea cromozomilor și alcătuirea cariotipului.....	44
3.1.1. Cariotipul la câteva specii de plante	48
4. METODE DE CREȘTERE, STUDIU CITOGENETIC ȘI ANALIZĂ GENETICĂ LA DROSOPHILA MELANOGASTER.....	53
4.1. Metoda de creștere în laborator	53
4.2. Metode pentru studiul cromozomilor mitotici	57
4.3. Metode pentru studiul cromozomilor uriași.....	58
4.4. Principalele mutante și linii folosite în studiile de genetică	60
4.5. Analiza genetică.....	62
4.5.1. Monohibridarea.....	62
4.5.2. Retroîncrușișarea (back-cross).....	63
4.5.3. Dihibridarea	63
4.5.4. Încrușișări trihibride.....	63
4.6. Interpretarea matematică a rezultatelor încrușișărilor experimentale.....	64
4.7. Evidențierea fenomenului de înlănțuire a genelor (linkage)	65
4.8. Evidențierea fenomenului de interacțiune a genelor	66
4.9. Evidențierea fenomenului de crossing-over	67
4.10. Evidențierea fenomenului de sex-linkage.....	68
5. METODE DE INDUCERE ȘI DE IDENTIFICARE A MUTAȚIILOR	69
5.1. Metode de inducere a mutațiilor la plante	70
5.2. Metode de identificare a mutațiilor la plante	75
5.2.1. Identificarea mutațiilor recesive în polen, endosperm și la plantele haploide	75
5.2.2. Identificarea mutațiilor la plantele autogame.....	77
5.2.3. Identificarea mutațiilor la plantele alogame.....	77
5.2.4. Identificarea mutațiilor la plantele poliploide	78
6. METODE DE TESTARE A POTENȚIALULUI MUTAGEN AL DIFERITELOR SUBSTANȚE CHIMICE LA PLANTE	81
6.1. Teste pentru mutageneză utilizate la plantele superioare	81
6.1.1. Testul aberațiilor cromozomiale	81
6.1.2. Testul schimburilor între cromatidele-surori.....	85

7. METODE PENTRU INDUCEREA POLIPLOIDIEI LA PLANTE. DETERMINAREA GRADULUI DE POLIPLOIDIE.....	87
7.1. Metode biologice pentru inducerea poliploidiei	88
7.2. Metode fizice pentru inducerea poliploidiei	89
7.3. Metode chimice pentru inducerea poliploidiei	89
7.4. Metode pentru obținerea de amfidiploizi interspecifici și intergenerici la plante	98
7.5. Metode indirecte de determinare a gradului de ploidie la plante	99
7.6. Caracteristici anatomomorfologice ale plantelor poliploide	100
7.7. Metode pentru inducerea de poliploizi la ciuperci	105
8. CULTURI DE CELULE ȘI ȚESUTURI	107
8.1. Tehnica de cultură in vitro a celulelor și țesuturilor vegetale	108
8.1.1. <i>Mediul de cultură</i>	108
8.1.2. <i>Materialul vegetal</i>	115
8.2. Regenerarea de plante în culturi de celule și țesuturi	116
8.2.1. <i>Inducerea și creșterea calusului</i>	116
8.2.2. <i>Diferențierea calusului în cultură</i>	117
8.3. Tehnici de obținere a plantelor haploide și a liniilor izogene	119
8.3.1. <i>Tehnici de cultură a anterelor</i>	119
8.3.2. <i>Tehnica de izolare și cultură a microsporilor</i>	120
8.3.3. <i>Diploidizarea plantelor haploide</i>	124
8.3.4. <i>Obținerea plantelor haploide la tutun</i>	125
9. METODE DE IZOLARE ȘI CULTURĂ A PROTOPLAȘTILOR	128
9.1. Metode de izolare a protoplaștilor	128
9.2. Metode de cultură a protoplaștilor	130
9.2.1. <i>Condițiile necesare pentru realizarea culturilor</i>	131
9.2.2. <i>Cultura protoplaștilor și regenerarea de plante</i>	133
9.3. Izolarea protoplaștilor din frunze	133
9.4. Izolarea protoplaștilor din suspensii celulare.....	135
9.5. Izolarea protoplaștilor din polen	135
9.6. Izolarea și cultura protoplaștilor la <i>Nicotiana tabacum</i>	136
10. METODE DE HIBRIDARE CELULARĂ	140
10.1. Hibridarea celulară la plante prin fuziune de protoplaști.....	143
10.1.1. <i>Metode de inducere a fuzionării protoplaștilor</i>	143
10.1.2. <i>Identificarea protoplaștilor fuzionați și a hibrizilor somatici</i>	149
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	155