

Biotehnologii nepoluante in agricultura

Definiție:

Biotehnologia este un domeniu de activitate relativ nou, care pune într-un tot unitar științele biologice cu tehnologiile, în care se utilizează

- ▶ procese biologice,
- ▶ organisme biologice,
- ▶ sau sisteme biologice

în scopul obținerii de produse și servicii destinate creșterii calității vieții societății umane.

Biotehnologia include:

- ▶ cunoștințe și tehnici utilizate în scopul îmbunătățirii caracterelor importante din punct de vedere economic la plante, animale și micro-organisme (caractere utile pentru producția vegetală, animală, pentru industria alimentară)
- ▶ manipularea organismelor vii la nivel molecular (tehnologiei ingineriei genetice, sau tehnologia ADN recombinant)

Biotehnologia cuprinde mai multe sub-discipline:

- ▶ biotehnologii medicale și terapia genică
- ▶ biotehnologii farmaceutice (pentru obținerea compușilor bioactivi – vitamine, proteine, anticorpi);
- ▶ biotehnologii agricole (pentru obținerea de noi organisme cu caractere economic valoroase (rezistență și toleranță la factori biotici și abiotice, caractere importante pentru comercializare, pentru industria alimentară) și obținerea de plante modificate genetic
- ▶ biotehnologii marine (pentru studiul compușilor activi și posibilitatea utilizării lor in industrie, producere de medicamente, coloranți);
- ▶ biotehnologii ecologice (pentru obținerea de compuși biodegradabili).

Ca urmare, in sens larg, biotehnologia presupune valorificarea în practică a proceselor biologice și a fost definită de Organizația pentru Cooperare și Dezvoltare Economică astfel:

Biotehnologia cuprinde totalitatea tehnicilor care utilizează organisme vii, sau componente ale acestora în scopul obținerii de produse, sau a obținerii de produse modificate, pentru a ameliora plante și animale, sau pentru a produce microorganisme cu utilizări specifice.

Biotehnologia este considerată știință a viitorului care va asigura obținerea de produse naturale prin sisteme și proceduri chimice și industriale. Acest domeniu ar trebui să revoluționeze viața oamenilor și să dovedească cum putem trăi mai bine și cu mai puțin stres.

Scurt istoric al biotehnologiilor moderne

Deși am avea tendința de a considera biotehnologia ca fiind o știință nouă, rădăcinile sale vin urmă cu peste 6.000 de ani:

- ▶ încă de acum 4.000 ani IC se utiliza laptele și diferite produse lactate de către crescătorii de animale pentru obținerea de produse lactate (fermentatia lactică)
- ▶ egiptenii foloseau drojdiile la prepararea de pâine și obținerea vinurilor (fermentația acetică)
- ▶ acum 2.000 ani IC egiptenii, sumerienii și chinezii au perfecționat metodele de fermentare pentru obținerea berii și a produselor din brânză
- ▶ 1.500 IC se folosea tehnica fermentației acetice pentru obținerea iaurtului, iar aztecii preparau un fel de prăjituri din alge

- ▶ în 1861 chimistul francez Louis Pasteur descoperă și explica principiul care sta la baza pasteurizării și al sterilizării prin încălzire
- ▶ Rol deosebit de important în evoluția cunoștințelor l-au avut:
 - Teoria evoluției enunțată de Charles Darwin în 1859 și
 - Legile enunțate de Gregor Mendel în 1865
- ▶ 1902 formularea ipotezei totipotenței celulei vegetale de către Gottlieb Haberlandt și care a efectuat primele încercări de culturi *in vitro* (1921), este considerat fondatorul tehnicii de cultură *in vitro*
- ▶ 1910 Thomas Hunt Morgan descoperă faptul că genele sunt localizate în cromozomi
- ▶ 1914 Gerry Fitz Gerald obține primul produs de antitoxină de la diptere, ceea ce a permis înființarea primului Laborator de antitoxine în cadrul Universității din Toronto. Ulterior, acest laborator a devenit cel mai mare producător de vaccinuri din lume.
- ▶ 1921 descoperirea insulinei la Universitatea din Toronto de către Banting, Best, Collip și MacLeod - din 1922 se utilizează insulina în tratarea diabetului.
- ▶ 1925 Se realizează primele culturi de embrioni proveniți de la hibridi inter-specifici la genul *Linum*
- ▶ 1928 Frederick Griffith descoperă procesul de transformare genetică și explică modul în care are loc în mod natural transferul unei gene de la o sușă bacteriană la alta
- ▶ 1934 White P. a reușit să mențină pe termen foarte lung o cultura de rădăcini de tomate
- ▶ 1936 alți cercetători reușesc să mențină pe termen lung în medii artificiale diferite tipuri de țesuturi (calus) – Gautheret, Nobecourt și White
- ▶ 1941 microbiologul danez Jost A. Introduce termenul de inginerie genetică într-o lucrare despre reproducerea sexuală la drojzii
- ▶ 1943 Oswald Avery, Colin MacLeod and Maclyn McCarty într-un experiment cu bacterii au demonstrat că ADN poartă informația genetică a celulei
- ▶ 1953 James Watson și Francis Crick descriu structura dublu-helix a ADN
- ▶ 1953 s-au obținut primele plante pornind de la o celulă (Muir)
- ▶ 1956 realizarea culturilor în suspensie pentru producerea de metaboliți secundari
- ▶ 1957 se descoperă faptul că este posibilă reglarea formării organelor vegetale prin modificarea raportului dintre auxine și citochinine (Skoog și Miller)
- ▶ 1958 regenerarea embrionilor somatici în suspensii celulare la *Daucus* (Reinert și Steward)
- ▶ 1960 realizarea primelor fecundări *in vitro* la *Papaver rhoeas* (Kanta)
- ▶ 1960 Olah Hornykiewicz care descoperise cauza bolii Parkinson, pune la punct terapia cu L-Dopamină
- ▶ 1961 sunt descoperite celulele stem hematopoetice
- ▶ Propagarea vegetativă *in vitro* la plante, pornind de la meristeme, este utilizată tot mai mult în scop industrial – Orhidee (Morel)
- ▶ 1964 obținerea primelor plante haploide din cultura de antere la *Datura* (Guha și Maheshwari)
- ▶ 1971 Regenerarea primelor plante întregi din cultura de protoplaști (Takebe)
- ▶ 1970-4 Paul Berg, Stanley Cohen and Herbert Boyer descoperă modul de tăiere a moleculelor de ADN cu enzime de restricție și introduc tehnica ADN recombinant
- ▶ 1972 realizarea primei hibridări interspecifice prin fuziunea protoplaștilor la tutun (Carlson)
- ▶ 1977 integrarea ADN plasmidial de la bacterii (*Agrobacterium tumefaciens*) la plante (Chilton)
- ▶ 1981 introducerea termenului de variație somaclonală (Larkin și Scowcroft)
- ▶ 1982 obținerea primului produs prin inginerie genetică, respectiv insulina umană în culturi de *Escherichia coli* modificate genetic.
- ▶ 1984 Kary Mullis descoperă principiul PCR de polimerizare în lanț a fragmentelor de ADN
- ▶ 1986 eliberarea în cultură a primelor plante modificate genetic la tutun
- ▶ 1987 permiterea pentru prima dată să se utilizeze microorganismele modificate genetic în scop experimental

- ▶ 1990 primul proiect internațional HUMAN GENOME PROJECT care a avut ca scop identificarea și secvențierea genelor genomului uman
- ▶ numeroase proiecte internaționale care au drept scop secvențierea integrală a genomului printrilelele plante și animale, de interes pentru om.

1994 Administrația pentru Alimente și Medicamente ale Statelor Unite (FDA) a aprobat pentru comercializare primul produs modificat genetic: *the Flavour Saviour tomato* (suc de tomate) a fost introdus în supermarket-urile din Marea Britanie. Reacția cumpărătorilor din magazine a fost violentă, ca urmare produsul a fost scos rapid din magazine.

1996 FDA a aprobat medicamentul Biogen's Avonex, un interferon utilizat în tratamentul sclerozei multiple în plăci, venitul realizat era de 1 milion \$ anual.

1996 A fost clonată oaia Dolly.

1998 S-a reușit obținerea de culturi stabile de celule umane Stem.

2000 S-a anunțat terminarea secvențierii genomului uman – 3,15 miliarde de nucleotide.

2003 S-a permis finanțarea proiectelor de cercetare care au ca obiect de studiu genomul uman în scopul înțelegerii bazelor moleculare ale bolilor la om.

2007 Craig C. Mello, de la University of Massachusetts și Andrew Fire de la Stanford University au primit Premiul Nobel pentru descoperirea unui tip special de ARN care dezactivează genele.

Biotehnologia integrează în procese productive

⇒ cunoștințele și principiile generale ale disciplinelor fundamentale (citologie, biologie celulară și moleculară, genetică, biochimie, embriologie)

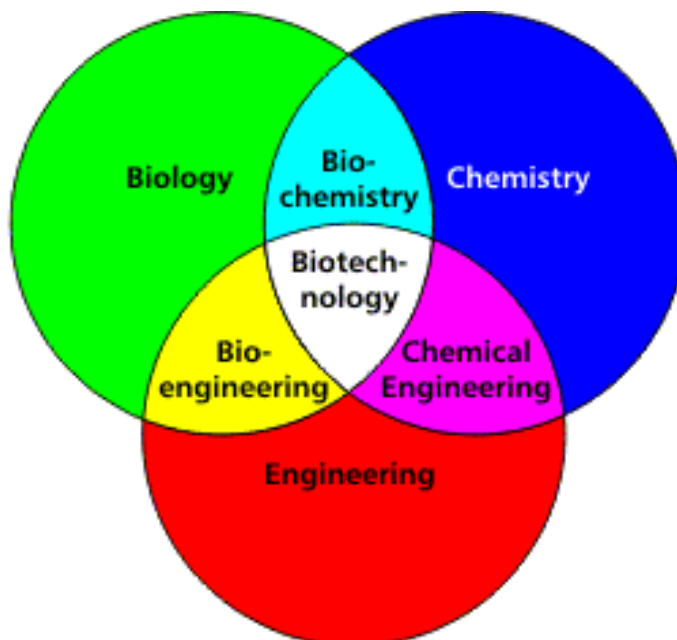
⇒ cunoștințele și principiile generale ale disciplinelor aplicative (ingineria chimică, tehnologia, robotica, bioinformatica).

În concluzie, biotehnologia reprezintă un domeniu care îmbină cunoștințele despre:

- ▶ sistemele biologice
- ▶ utilizarea organismelor biologice
- ▶ utilizarea unor sisteme artificiale și a unor compuși chimici

în scopul obținerii unor produse biologice noi, sau îmbunătățite, în cantitate suficientă și de calitate incontestabilă.

Biotehnologie înseamnă – utilizarea organismelor vii, sau a produselor lor în scopul îmbunătățirii condițiilor de viață și sănătate ale oamenilor, precum și al menținerii și îmbunătățirii condițiilor de mediu.



Societatea umană a învățat în timp despre tot ceea ce este viu și ne înconjoară și cum să utilizăm acest viu. Am învățat și am înțeles treptat despre organismele vii, cum funcționează acestea, cum se realizează controlul de la nivel celular la organism ca întreg.

Din acest domeniu vast, în Biotehnologiile vegetale se utilizează organismele vegetale, care își exprimă totipotența celulară în sisteme și condiții artificiale. Dintre aplicațiile practice ale biotehnologiilor vegetale, cele care până în prezent și-au demonstrat eficiența, pot fi nominalizate :

- obținerea plantelor libere de virusuri
- obținerea plantelor hibride între specii sau genotipuri incompatibile, imposibil de obținut prin metodele tradiționale de încrucișare
- obținerea plantelor haploide și dihaploide, imposibil de realizat prin metodele clasice
- obținerea plantelor transgenice care exprimă strict caractere de interes economic (cantitate, calitate, aroma, conținut în compuși-nutrienți utili, aspect comercial, rezistență la factori fizici și biologici)
- obținerea eficientă a plantelor în procesul ameliorării prin controlul procesului de încrucișare și selecția asistată de markeri a plantelor valoroase
- creșterea producției agricole prin multiplicarea clonală a soiurilor și varietăților importante pentru societatea umană.

În concluzie putem spune că biotehnologia vegetală (agricolă) are importanță deosebită pentru viața noastră în prezent și în viitor, iar datoria noastră este să perfectăm continuu acest domeniu.

Noțiuni și principii de bază ale biotehnologiei vegetale

Plantele sunt

Organisme eucariote (*eu* = adevărat, *carion* = nucleu)

Capabile de fotosinteză = convertesc energia luminoasă în energie chimică

Autotrofe = sintetizează compuși organici complecși pornind de la compuși anorganici simpli - apă, CO₂ și săruri minerale

Sunt organisme multicelulare complexe, alcătuite din diferite tipuri de celule și țesuturi

Se pot reproduce sexuat și asexuat (vegetativ)

Sunt organisme care nu se deplasează, ca urmare depind de un anumit mediu de viață și sunt foarte sensibile la variațiile factorilor de mediu. Orice modificare a acestor factori determină modificarea programelor de dezvoltare și de diferențiere celulară. Celulele vegetale au un program de diferențiere foarte flexibil, fiind apte, în anumite condiții să regenereze organisme complete, aptitudine cunoscută sub numele de "totipotență celulară".

Totipotența celulei vegetale – proprietatea unei celule de a genera orice alt tip de celulă, până la organism întreg.

Etapele diferențierii, creșterii și dezvoltării plantelor

A. De la celula inițială la plantulă

Corpul unei plante, format din milioane de celule specializate structural și funcțional, ia naștere dintr-o singură celulă ca urmare a reproducerii vegetative, sau sexuate.

a) La plantele cu capacitate de reproducere vegetativă, celula inițială este în meristemele din organele preexistente. Aceste celule meristemice parcurg mitoze repetate (diviziuni egale și repetate ale celulelor, fără modificarea cantității de ADN), rezultând noi celule, țesuturi și ulterior o nouă plantă.

b) Meristemele sunt localizate

- la vârfurile de creștere ale lăstarilor și rădăcinilor (meristeme apicale)
- în cambiul tulpinii și scoarței (meristeme laterale)
- în frunze și fructe.

Celule meristemice inițiale (activate) → diviziuni mitotice → organe noi
→ plantulă nouă

Ex: formarea *de novo* a rădăcinilor și/sau a lăstarilor din butași de tulpină, rădăcină, frunză.

În cazul reproducerii vegetative

→ diferențierea de noi țesuturi și regenerarea de noi plante pornește de la un singur părinte (planta donatoare de organ)

→ noul organism (planta nouă regenerată) este rezultatul diviziunilor mitotice

→ iar noile plante (descendența) rezultate sunt identice atât între ele, cât și cu planta de origine.

b) La plantele cu reproducere sexuată, celula inițială numită ou, sau zigot este rezultatul unirii gameților în procesul fecundării. Această celulă parcurge mai multe diviziuni (prima asimetrică, urmată de mai multe diviziuni simetrice) rezultând formarea embrionului prin procesul numit embriogeneză zigotică.

Embrionul parcurge mai multe etape de dezvoltare:

- globular – o sferă multicelulară în care încep procesele de histogeneză
- inimă – diviziunile celulare se direcționează și încep să fie vizibile cele două cotiledoane
- torpedo – se alungesc cotiledoanele și axul principal
- cotiledonar – cotiledoanele sunt complet dezvoltate, iar la cele două extremități se găsesc meristemul apical al tulpinii și cel apical al rădăcinii
- maturare – se sintetizează proteinele de rezervă
- deshidratarea și latența, proces care are loc simultan cu transformarea ovulului în sămânță).

Caracteristic pentru plante este faptul că se pot forma embrioni și din celule somatice, care nu sunt produsul fuziunii gameților de sex opus. Procesul se numește embriogeneză somatică și implică parcurgerea aceluiași stadii de dezvoltare (globular, inimă, torpedo, cotiledonar, alungire și maturare). Procesul embriogenezei somatice poate fi indus în condiții experimentale de cultură în anumite tipuri de celule și prezintă anumite particularități biochimice, fiziologice și genetice.

Pentru ca meristemele apicale să se activeze și embrionul să-și reia creșterea, sămânța trebuie să germineze. Germinarea are loc în anumite condiții de temperatură și umiditate, pe seama rezervelor de hrană din endosperm și cotiledoane.

Celula ou (rezultat al meiozei și fecundării) ➔ embrion ➔ stadii globular- inimă – torpedo – cotiledonar – maturare – latență ➔ germinarea seminței ➔ plantula

În cazul reproducerii sexuate

- ➔ la originea noi plante sunt doi părinți, fiecare cu zestrea sa genetică (gameți haploizi de la ♀ și de la ♂ rezultați ca urmare a diviziunii meiotice)
- ➔ noul organism este rezultatul diviziunilor mitotice din embrion
- ➔ noile plante (descendența) rezultate manifestă variabilitate datorită recombinării genetice din timpul formării gameților și al fecundării. Fiecare individ reprezintă rezultatul combinării întâmplătoare a gameților în procesul de fecundare.

B. De la plantulă la planta matură

Corpul unei plante este alcătuit în principal din trei organe: rădăcină, tulpină și frunză. Aceste structuri complexe se formează prin activarea meristemelor care se formează în cursul proceselor de diferențiere. Celulele meristemate își păstrează capacitatea de a se divide prin mitoză pe tot parcursul perioadei de dezvoltare a plantei. Celulele meristemate au următoarele caracteristici:

- nucleul mare, dispus central, cu nucleol voluminos
- valoare mare a raportului nucleu/citoplasmă
- vacuom redus
- mitocondrii numeroase
- plastide nediferențiate

Pe măsură ce planta crește și se dezvoltă, celulele meristemate se specializează, formând țesuturi, care alcătuiesc organe: rădăcină, tulpină, frunză, flori și fructe.

Un țesut este alcătuit din dintr-unul, sau mai multe tipuri de celule specializate. Diferențierea celulară presupune o serie de modificări structurale corelate cu îndeplinirea unor funcții specifice. Aceste modificări constau în:

- creșterea volumului celulelor
- reducerea raportului nucleu/citoplasmă
- dezvoltarea vacuomului
- diferențierea plastidelor

- diferențierea peretelui celular.

Culturile *in vitro* la plante se caracterizează prin faptul că:

- ➔ celulele meristematice își continuă, sau își reiau activitatea mitotică.
- ➔ celulele diferențiate, (care în planta, în condiții normale, nu se divid), stimulate prin rănire (în timpul manipulării), sau de hormoni adăugați la mediul de cultură, se dediferențiază și dobândesc capacitatea de a se divide. Această capacitate de *dediferențiere* este specifică plantelor. Ulterior, *unele celule dediferențiate se pot rediferenția, devenind celule specializate.* Specializarea lor poate fi însă diferită de cea a celulelor din care provin.