

Ioana Virginia Berindean

**Evaluarea eroziunii genetice în
vederea conservării biodiversității
cultivarelor**

**Editura Bioflux
Cluj-Napoca, 2024**

Copyright 2024

Toate drepturile rezervate. Nicio parte din această lucrare nu poate fi reprodusă sub nicio formă, prin niciun mijloc mecanic/electronic sau stocată într-o bază de date, fără acordul prealabil, în scris, al autorilor.

Referenți științifici:

- **Prof.univ.dr. Leon Munteanu** - Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca;
- **Prof.univ.dr. Duda M. Marcel** - Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca.

eISBN 978-606-9736-26-5 CD

CUPRINS

	Pag.
Cap.1. EROZIUNEA GENETICĂ ȘI BIODIVERSITATEA	5
1.1 Noțiuni introductive despre eroziune și biodiversitate.....	5
Cap.2. MECANISMELE SAU CAUZELE EROZIUNII GENETICE.....	13
2.1 Selecția	13
2.1.1 Tipuri de selecție	13
2.1.2. Efectul selecției naturale asupra modificării frecvenței genotipurilor într-o populație autogamă.....	19
2.1.3. Efectul selecției naturale asupra modificării frecvenței alelice într-o populație alogamă	21
2.1.4. Teoria neutralistă a evoluției	23
2.2. Driftul genetic	27
2.3. Distrugerea și fragmentarea habitatului	32
2.4. Îngustarea populației (population sau genetic bottleneck).....	34
CAP. 3. INFLUENȚA REGIMULUI DE REPRODUCERE ȘI A SUBDIVIZĂRII UNEI POPULAȚII ASUPRA STRUCTURII GENETICE A ACESTEIA	38
3.1. Influența regimului de reproducere	38
3.2. Analiza nivelului de heterozigoție a populațiilor	41
CAP. 4. EXTINCȚIA - LIMITA EXTREMĂ A EROZIUNII GENETICE	46
4.1 Ce este extincția, situația actuală și principalii factori ai extincției	46
4.2 Situația extincției la nivel mondial.....	50
4.2.1 Norme care reglementează transferul taxonilor între categorii	55
4.3 Influența factorului antropic asupra extincției	58
CAP. 5. ESTIMAREA EROZIUNII GENETICE PE BAZA MĂSURĂRII VARIABILITĂȚII ȘI DIVERSITĂȚII GENETICE	62
5.1. Caractere calitative și cantitative- caracteristici.....	62
5.2. Măsurarea variabilității genetice prin metode specifice geneticii cantitative	65
5.3 Modele ce se bazează pe analiza genetică a sistemelor de încrucișări	77
5.3.1 Modele bazate pe încrucișări ciclice	77
5.3.2 Modele bazate pe analiza încrucișărilor dialele	83

CAP. 6. METODE DE ANALIZĂ A DIVERSITĂȚII GENETICE PRIN CALCULAREA DISTANȚELOR GENETICE PE BAZA MARCHERILOR MOLECULARI.....	89
6.1 Utilizarea markerilor moleculari în analiza diversității genetice	89
6.2 Metode specifice markerilor moleculari dominanți	89
6.3 Metode specifice markerilor moleculari codominanți.....	91
6.4 Generarea dendrogramelor	93
6.4.1 Generarea dendrogramelor prin metoda UPGMA	94
6.4.2 Generarea dendrogramelor prin metoda Neighbor-Joining	97
CAP. 7. MODALITĂȚI DE CONSERVARE A DIVERSITĂȚII GENETICE, ÎN VEDEREA LIMITĂRII EFECTELOR EROZIUNII GENETICE	102
7.1 Progresele din agricultura modernă în defavoarea biodiversității agricole	102
7.2 Obiectivele și strategia conservării biodiversității	105
7.2.1 Protejarea biodiversității	106
7.3. Organizații și centre cu rol în conservarea biodiversității.....	107
7.4 Băncile de gene	111
7.4.1 Importanța și obiectivele băncilor de gene.....	111
7.4.2 Organizarea și funcționarea băncilor de gene	115
7.5 Tipuri de bănci de gene	116
7.5.1 Bănci de gene internaționale	116
7.5.2 Bănci de gene naționale.....	121
7.6 Modalități de conservare în bănci de gene	122
7.6.1. Condiții de conservare a resurselor genetice vegetale	123
7.6.2 Conservarea ex situ a resurselor genetice vegetale	126
7.6.3 Conservarea resurselor genetice vegetale sub formă de sămânță	128
7.6.4 Conservarea colecțiilor în câmp.....	130
7.6.5 Conservarea ex situ prin culturi in vitro.....	131
7.6.6 Depozitarea polenului	139
7.6.7 Conservarea materialului genetic	140
7.7 Conservarea in situ a resurselor genetice vegetale.....	142
CAP. 8. EVOLUȚIA POLITICILOR MONDIALE ȘI EUROPENE CU PRIVIRE LA CONSERVAREA BIODIVERSITĂȚII	146
8.1. Politica guvernelor cu privire la conservarea biodiversității.....	146
8.2 Obiectivele și politicile Convențiilor asupra protecției biodiversității.....	147
8.2.1 Surse de finanțare în vederea conservării biodiversității	151
8.3 Domeniile de acțiune stabilite de UE în vederea conservării resurselor....	154
LISTA BIBLIOGRAFICĂ	156

Cap. 1 EROZIUNEA GENETICĂ ȘI BIODIVERSITATEA

1.1. Noțiuni introductive despre eroziune și biodiversitate

Eroziunea genetică este un proces prin care fondul genetic deja limitat al unei specii de plante și animale, aflate în primejdie de extincție, se diminuează și mai mult când indivizii ce aparțin unei populații mor fără a avea șansa să se încrucișeze cu alți indivizi din populație.

În sens restrâns, eroziunea genetică se referă la pierderea diversității genetice în cadrul unei specii, incluzând gene individuale sau combinații de gene (blocuri de gene), existente în populațiile locale adaptate condițiilor de mediu în care s-au format. În sens larg, eroziunea genetică se poate referii la pierderea varietăților sau chiar a speciilor, adică la reducerea biodiversității.

Evaluarea gradului de eroziune genetică se determină cu ajutorul diversității genetice, care este reprezentată, după caz, de diversitatea genetică a populației subspeciilor, soiurilor sau hibridilor, raselor sau tulpinilor.

Diversitatea genetică reprezintă tendința caracteristicilor genetice individuale de a fi diferite la nivel populațional, respectiv potențialul unui genotip de a se modifica, în situația în care este supus acțiunii unor factori de mediu sau genetici; modurile de manifestare a diversității constă de regulă în polimorfism, heterozigoție și varietate alelică. Diversitatea genetică este generată de mutații, sau introdusă prin migrație și frecvența alelelor se schimbă sub influența selecției naturale, a migrației și a fenomenului de drift genetic (Tormann și Engels, 2015).

Diversitatea genetică se referă, deci, la toate caracteristicile genetice ale unei specii sau populații, adică la fondul genetic al unei specii sau populații și este reprezentată de un set de alele unice ce aparțin fiecărui membru al populației, alele care se pierd atunci când individul moare fără a avea șansa să se împerecheze și să le transmită în populație.

Variabilitatea genetică se referă la tendința caracteristicilor genetice de a varia. Diversitatea genetică joacă un rol crucial în stabilitatea ecosistemelor și deci asigură menținerea biodiversității.

Biodiversitatea se referă la multitudinea de forme de viață din cadrul unui ecosistem sau chiar de pe întregul pământ (totalitatea viețuitoarelor de pe pământ mai este cunoscută și sub denumirea de *biosferă*).

Biodiversitatea prezentă astăzi pe pământ se apreciază că, constă în cca. 40 milioane de specii dintre care doar 1,7 milioane sunt cunoscute și reprezintă rezultatul a aproape 3,5 miliarde de ani de evoluție. Dintre acestea cca. 75% sunt insecte, iar cca. jumătate se găsesc în pădurile tropicale. Între specii s-au stabilit, în decursul evoluției, relații de interacțiune foarte complexe, fiecare specie având un rol precis în cadrul ecosistemului și biosferei. Prin mecanisme de autoreglare, biodiversitatea asigură stabilitatea ecosistemelor, menținerea fertilității solurilor, reciclarea azotului și carbonului, puritatea aerului și apei. Pe lângă unele cauze naturale activitățile umane conduc la eroziunea genetică sau reducerea diversității genetice, reducere ce poate să determine dispariția unor specii, dispariție care, prin efectul de domino poate conduce la dispariția altor specii.

În cadrul Convenției asupra Biodiversității adoptate la Summitul Națiunilor Unite de la Rio de Janeiro (1992) s-a exprimat explicit necesitatea unirii eforturilor tuturor, la nivel instituțional, pentru conservarea biodiversității, ca cel mai important bun al omenirii. Pentru a se realiza acest lucru nu sunt suficiente, însă, eforturile la nivel instituțional ci și educarea maselor de oameni în spiritul grijii pentru păstrarea biodiversității. În acest sens, anul 2010 a fost declarat *anul internațional al biodiversității*.

Prin biodiversitate se înțelege atât varietatea tuturor formelor de viață (totalitatea animalelor, a microorganismelor, a plantelor, suma genelor pe care le conțin acestea precum și ecosistemele pe care le formează), cât și toate variabilitățile existente în cadrul speciei umane (Ghidra și colab., 2004).

Există patru tipuri de biodiversitate:

1. Biodiversitate genetică (intraspecifică) care reprezintă variabilitatea genofondului și genotipurilor din populațiile unei specii.

2. Biodiversitatea specifică (interspecifică) care este constituită din totalul speciilor dintr-un biotop, o anumită zonă geografică, prin prisma importanței biogeografice, a efectivelor populațiilor și a suprafețelor ocupate de acestea.

3. Biodiversitatea ecologică (a ecosistemelor) care este specifică unor comunități de organisme integrate într-un anumit biotop, dar și de relațiile funcționale de la nivelul acestora.

4. Biodiversitatea culturală reprezentând toată gama de tradiții, obiceiuri, creații umane, care au la bază viața și elementele viului, în complexitatea lor.

Valoarea biodiversității este atât una globală recunoscută, cât și una potențială, care va fi exploatată și descoperită de generațiile viitoare.

După Cristea (2001) și Cristea și Micle (2002), valoarea biodiversității se încadrează în patru categorii:

1. Valoarea de folosință sau valoarea directă, unde resursele biologice reprezintă materii prime pentru diferite acțiuni și care cuprinde:

- valoarea de producție (pentru industrie - materii prime);
- valoarea de consumație (în stare proaspătă sau prelucrată);
- valoarea recreativă (pentru odihnă, tratament, recreație);
- valoarea cognitivă (pentru instruire, educație a populației, etc.).

2. Valoarea ecologică sau valoarea de protecție (reglaj) a mediului natural înconjurător.

3. Valoarea de opțiune viitoare, care presupune aportul intrinsec al viitoarei generații, pentru transmiterea biodiversității următoarelor generații.

4. Valoarea intrinsecă sau valoarea de existență - care reprezintă de fapt dreptul la viață și existență a fiecărei ființe.

Una din marile controverse iscate de biodiversitate este reprezentată de modul în care se poate integra conservarea acesteia cu nevoile societății (<http://www.cbd.int/2010-target/>).

De asemenea, încă sunt discutate anumite nuanțări ale termenului în literatura de specialitate. De exemplu, Lévêque și Mounoulou (2001) consideră biodiversitatea referitoare doar la aspectele ce reprezintă interacțiunea om - natură, în timp ce „diversitatea biologică ar trebui să definească evaluarea și inventarierea speciilor. În sfera biodiversității este cuprins și omul, prin diversitatea de rasă și de cultură, tradiție, civilizație. Această idee este cuprinsă în discursul fostului președinte al Programului Biologic Internațional, J. Baer, care în 1968 spunea: „... să dorim să avem în vedere o conservare a naturii fără Om ar fi absurd și imoral ... ”.

Termenul de biodiversitate este utilizat uneori cu sensul de „viață”, de „sălbăticie”, sau chiar pentru a include tot ceea ce ține de conservarea acestora. Sarkar (2005), susține că interpretarea biodiversității la toate nivelele biologice, de la gene la ecosisteme, considerând toate entitățile biologice, face ca aceasta să „devină întreaga biologie”.

O anumită pierdere a diversității genetice poate să apară în condiții naturale și ca efect al selecției naturale, dar mai ales ca efect al driftului genetic în urma micșorării dimensiunii unei populații și ca urmare a fragmentării habitatelor. Dimensiunea redusă a unei populații tinde să diminueze, ca urmare a efectului de drift genetic, variabilitatea genetică dintr-o populație, iar datorită consangvinizării (ce o implică), dimensiunea redusă poate duce la slăbirea sistemului imunitar și chiar la extincție. Ca efect al consangvinizării apar malformații, reducerea fertilității și reducerea ratei natalității.

Toate speciile aflate, în prezent, în primejdie de extincție manifestă eroziune genetică în diferite grade. Cu cât populația este mai mică, cu atât este mai mare gradul de manifestare al eroziunii genetice. Populațiile erodate genetic sunt mai puțin competitive cu speciile noi invazive. O populație de dimensiuni mari, cu o variabilitate genetică ridicată, este mai robustă, se adaptează mai bine și poate supraviețui indefinit.

Printre factorii care contribuie la eroziunea genetică, cu consecințe asupra biodiversității agricole, menționăm: tendința spre uniformitatea genetică și ecologică impusă de dezvoltarea agriculturii moderne, intensive, înlocuirea populațiilor locale cu soiuri mai productive, defrișările, degradarea mediului, supraexploatarea pășunilor.

Dintre acestea, principalul factor se referă la, înlocuirea populațiilor locale cu varietăți noi, comerciale, inclusiv OMG-uri. Uniformitatea genetică tinde să sporească vulnerabilitatea genetică a cultivarelor cu consecințe dramatice, atunci când apar noi forme virulente de agenți patogeni sau dăunători.

De asemenea unele activități manageriale, cum ar fi supraexploatarea unor specii cu recoltarea excesivă a anumitor forme din cadrul speciei ce au trăsături speciale chiar activitățile ce vizează eforturile de supraviețuire a unor specii cum ar fi plantarea de material dintr-o colecție cu o bază genetică foarte îngustă poate contribui la eroziunea genetică.

De exemplu, în încercările de salvare a speciei *Zostera marina* din sudul Californiei, analiza genetică a demonstrat că formele transplantate au avut o diversitate genetică semnificativ mai mică decât formele naturale.

Potrivit Organizației Națiunilor Unite pentru Alimentație și Agricultură, 75% din toată diversitatea genetică a culturilor s-a pierdut din secolul trecut, în principal din cauza schimbărilor din sistemele alimentare agricole care valorizează uniformitatea. Din cele 25% rămase, o treime se estimează că va dispărea până în 2050. Diversitatea genetică reprezintă numărul total de caracteristici genetice din genomul unei specii (<https://www.europarl.europa.eu>).

Conservatorii diversității genetice a culturilor includ băncile de semințe, băncile de gene și instituțiile de cercetare agricolă care păstrează colecții de semințe și material vegetativ. Aceste colecții reprezintă unelte esențiale pentru a face față noilor provocări din sistemul nostru alimentar. Diversitatea genetică agricolă este vitală pentru a asigura un sistem robust de securitate alimentară,

capabil să se adapteze la dăunători și factori de stres din mediu. Diversitatea genetică permite amelioratorilor de plante și animale să se adapteze la variabilele în schimbare (<https://medium.com>).

Spre diferență de soiurile moderne, soiurile vechi și varietățile locale de plante de cultură au fost dintotdeauna și încă sunt afectate de eroziunea genetică. (Giuliani, 2007).

Resursele vegetale tradiționale pot fi definite ca fiind varietăți sau soiuri locale sau tradiționale, respectiv semințele acestora - semințe tradiționale, locale sau țărănești. Varietățile locale sunt considerate *soiuri cu o capacitate mare de a tolera factorii de stres biotici și abiotici, cu un randament ridicat și constant, iar în cadrul sistemelor agricole cu inputuri scăzute nivelul randamentului este unul intermediar* (Zeven, 1998).

Soiurile locale sunt considerate populații de cultură aflate în echilibru cu mediul lor de dezvoltare și care rămân, relativ, stabile o perioadă lungă de timp. Un soi local este o populație dinamică a unei plante cultivate de origine istorică, identitate distinctă și lipsită de ameliorarea formală a culturilor, precum și de multe ori genetic diversă, adaptată la nivel local și asociată cu sistemele agricole tradiționale (International Board for Plant Genetic Resources, 1982, chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNAAP057.pdf).

Potrivit Centrului Internațional de Cercetare pentru Dezvoltare, aprovizionarea globală cu alimente „depinde de aproximativ 150 de specii de plante”. Dintre acestea, doar 120 asigură trei sferturi din hrana lumii. Mai mult de jumătate din produsele alimentare ale lumii provin dintr-un număr limitat de varietăți ale „mega-culturilor”: orez, grâu și porumb” (www.fao.org/agriculture).

Aprovizionarea globală cu alimente este din ce în ce mai amenințată de schimbările climatice, creșterea populației mondiale și extinderea sau introducerea bolilor și a insectelor. Diversitatea genetică este necesară pentru a proteja trăsături potențial vitale care ar putea fi utilizate pentru a combate un

dăunător neașteptat în viitor sau pentru a se adapta nevoilor aprovizionării globale cu alimente.

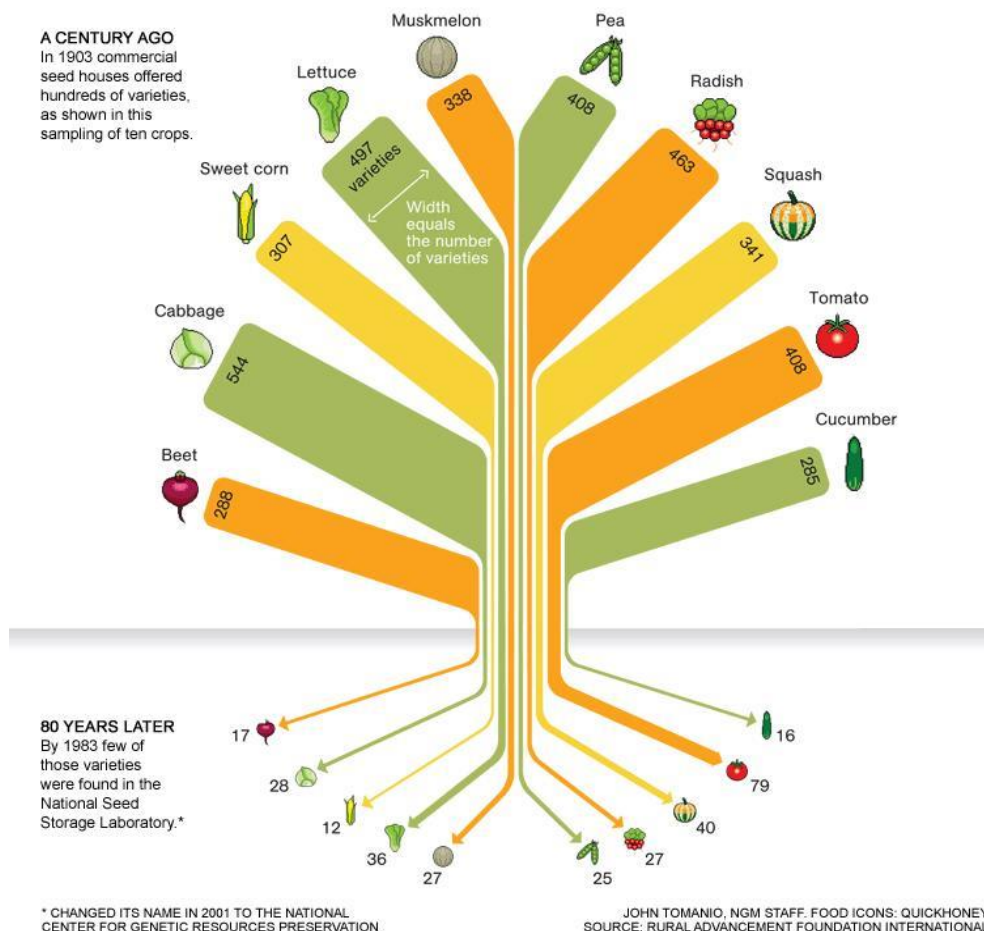


Fig. 1.1. Eroziunea genetică la unele soiuri cultivate, în perioada 1903-1983 (sursa: <https://medium.com>)

Amelioratorii de plante utilizează diversitatea genetică pentru a crea varietăți de culturi îmbunătățite, cu trăsături precum productivitate, rezistență la dăunători și adaptabilitate la stresul de mediu.

Riscul eroziunii genetice poate fi diminuat în încercările de repopulare dacă se respectă câteva reguli simple. Materialul de plantare colectat, semințe sau butași, să fie reprezentativi pentru diversitatea genetică a zonei geografice

din care este colectat și pentru care este destinat. O astfel de colectare trebuie să ia în considerare și numărul de plante parentale, numărul de semințe (propagule) de la fiecare plantă și distanța de la o plantă la alta.

De asemenea trebuie ținut cont de particularitățile biologice de reproducere. În cazul speciilor dioice, de exemplu, dacă se colectează mai ales material vegetativ, trebuie să existe un echilibru între numărul de plante masculine și numărul de plante femele. În cazul în care plantele se reproduc asexuat este important ca materialul să fie recoltat de la cât mai multe clone și nu de la o singură clonă sau un număr redus de clone.

Trebuie manifestată prudență atunci când se plantează material reprezentat de cultivare pentru repopulare, mai ales dacă cultivarul are o bază genetică îngustă și este plantat în număr mare alături de plantele populației originare.

Cap. 2. MECANISMELE SAU CAUZELE EROZIUNII GENETICE

2.1. Selecția

Selecția acționează asupra fenotipului, fenotip condiționat genetic și deci, prin selecție se modifică și genotipul, reducându-se frecvența genelor ce controlează caractere improprii condițiilor de mediu (selecție negativă) și favorizând genele ce controlează caractere ce asigură o mai bună adaptare, gene ce se fixează în populație (selecție pozitivă). Prin ea însăși, selecția, limitează variabilitatea genetică, limitând astfel posibilitățile ulterioare de evoluție în condiții de mediu schimbate. Dacă așa se prezintă, problema selecția poate fi considerată ca un mecanism de eroziune genetică. Fenomenul de eroziune este mai pregnant în cazul anumitor tipuri de selecție naturală, cum ar fi: selecția stabilizatoare, selecția direcțională și mai ales selecția artificială, prin care se limitează semnificativ variabilitatea genetică (Tămaș și Botez, 2013).

2.1.1. Tipuri de selecție

În funcție de intervenția omului în procesul de selecție, aceasta poate fi naturală sau artificială.

Selecția naturală reprezintă un mecanism al evoluției prin care anumite caractere ereditare care asigură o mai bună șansă de supraviețuire și reproducere indivizilor care le poartă, devin mai comune în populația respectivă pe parcursul diferitelor generații, putând fi punctul de plecare pentru o nouă specie. O primă condiție pentru ca selecția naturală să aibă loc este existența variabilității genetice. A doua condiție este existența unei presiuni de selecție reprezentate de anumite condiții de mediu. A treia condiție este adecvarea acestei variabilități condițiilor concrete de mediu.

După efectul ei asupra variabilității fenotipului selecția naturală poate fi: stabilizatoare; direcțională, disruptivă și balansată.

Selecția stabilizatoare favorizează indivizii cu caractere intermediare, în jurul valorilor medii, eliminând formele extreme (se mai numește și selecție ambidirecțională). În consecință variabilitatea genetică se reduce, populația stabilizându-se în jurul unui anumit caracter particular. Acest tip de selecție manifestă o distribuție normală a variabilității, de tip gaussian, grafic putând fi reprezentată printr-o curbă simetrică cu modulul la mijloc.

Selecția direcțională favorizează un singur fenotip, frecvența alelelor schimbându-se în direcția fenotipului respectiv, alele ce se fixează în populație. Selecția direcțională, spre deosebire de selecția balansată, care favorizează alelele multiple, presupune reducerea variabilității alelice, prin eliminarea alelelor cu valoare adaptivă mai scăzută. Acest tip de selecție manifestă o distribuție asimetrică a variabilității, grafic putând fi reprezentată printr-o curbă asimetrică cu modulul spre stânga sau spre dreapta.

Selecția disruptivă favorizează indivizii cu caractere extreme, frecvența alelelor schimbându-se în direcția celor două fenotipuri extreme, ce se abat față de medie, alele ce se fixează în populație. Acest tip de selecție manifestă o distribuție bimodală a variabilității.

Selecția balansată se caracterizează prin menținerea unei variabilități alelice într-o stare de echilibru, la o frecvență intermediară, fără să se ajungă la fixarea uneia dintre ele. O astfel de situație se întâlnește atunci când heterozigoții au o valoare adaptivă mai ridicată comparativ cu ambii homozigoți, situație ce poate fi considerată o formă de supradominanță. O astfel de situație este reprezentată de alela mutantă Hb^s ce determină, în stare homozigotă, *Anemia falciformă* la om, boală de cele mai multe ori letală. O astfel de genă în stare heterozigotă, deci alături de alela normală, asigură o mai bună rezistență a indivizilor la malaria produsă de parazitul *Plasmodium falciparum*, comparativ cu ambele forme homozigote. În condițiile din Africa, în care parazitul este foarte răspândit, heterozigoții, având o valoare adaptivă mai ridicată, mențin

alela mutantă într-o stare de echilibru, deși, având în stare homozigotă o valoare adaptivă apropiată de zero, ar trebui să fie eliminată din populație.

În cazul *selecției dependente de frecvență* valoarea adaptivă a unui anumit fenotip depinde de frecvența relativă a altor fenotipuri din populație. Selecția dependentă de frecvență poate fi pozitivă și negativă.

- În cazul *selecției pozitive dependente de frecvență*, valoarea adaptivă a unui fenotip crește, în condițiile în care, fenotipul devine mai comun, adică are o frecvență relativă mai ridicată în populație.

- În cazul *selecției negative dependente de frecvență*, valoarea adaptivă a unui fenotip scade, în condițiile în care, fenotipul devine mai comun, adică fenotipurile cu o frecvență relativă mai scăzută au o valoare adaptivă mai ridicată decât fenotipurile mai frecvente.

Un caz interesant de selecție pozitivă și negativă, dependentă de frecvență, se referă la relația gazdă-parazit, ce suferă o evoluție ciclică. Selecția naturală va favoriza acele genotipuri ale parazitului care vor reuși să evite mecanismul de rezistență cel mai comun al gazdei. În aceste condiții scade capacitatea de adaptare a gazdei ce poartă mecanismul de rezistență cel mai comun, deci care are cea mai mare frecvență, selecția naturală favorizând alelele de rezistență mai rare, prezente la un număr redus de indivizi. În continuare alelele mai rare cresc în frecvență devenind comune și ciclul se reia. În astfel de condiții, nici una dintre alele nu se fixează, polimorfismul menținându-se în populație.

Un alt caz se referă la menținerea polimorfismului în relația pradă-prădător. Astfel, prădătorul preferă tipul comun de pradă, tipul mai rar fiind astfel avantajat, frecvența alelelor tipului mai rar tinzând să crească, până ce acesta devine tipul comun. O situație, mai generală, se referă la competiția pentru resurse. Cu cât mai frecvent devine un anumit fenotip ce exploatează o anumită resursă cu atât capacitatea lui de adaptare este mai redusă comparativ cu capacitatea de adaptare a unui fenotip alternativ mai eficient în exploatarea resurselor, eventual alternative.

Un alt exemplu se referă la selecția negativă dependentă de frecvență în cazul speciilor ce mimează speciile veninoase (mimetismul Batesian). De exemplu, unele specii inofensive de șerpi mimează specii de șerpi foarte periculoase, cum ar fi cobra sau șarpele de coral.

Se cunosc de asemenea, unele molii care mimează viespile. Acest mimetism este avantajos doar în condițiile în care cei care mimează sunt mai puțin frecvenți decât cei care sunt mimați. Dacă frecvența celor care mimează crește peste frecvența celor ce sunt mimați avantajul selectiv scade.

În raport cu importanța factorilor de mediu în procesul de selecție specific regnului animal, selecția naturală poate fi de două feluri: selecție sexuală și selecție ecologică.

Selecția sexuală se referă la faptul că anumite trăsături apărute în decursul evoluției se datorează luptei intraspecifice între indivizii de același sex sau de sexe diferite, și nu influenței condițiilor de mediu. De fapt, se poate distinge *selecția intrasexuală*, ce vizează de regulă masculii și *selecția intersexuală* ce se referă de regulă la femele, acelea care aleg masculii. Caracteristicile care contribuie la lupta între masculi se mai numesc *caractere sexuale secundare*, iar caracteristicile care contribuie la alegerea masculilor se mai numesc *ornamente*.

Selecția intrasexuală poate lua și forma competiției între spermatozoizi. Se pare că masculii care dezvoltă mai bune capacități de luptă și poartă ornamente preferate de femele, manifestă și o mai bună rezistență la boli și un metabolism mai eficient, fapt ce contribuie la menținerea caracteristicilor respective în populație.

Selecția ecologică se referă la faptul că anumite trăsături apărute în decursul evoluției se datorează exclusiv condițiilor de mediu, fără a fi implicată, în mod direct, competiția sexuală. Cu alte cuvinte selecția ecologică cuprinde selecția naturală minus selecția sexuală. Factorii de mediu pot, uneori, supresa competiția sexuală, selecția ecologică fiind preponderentă.

Un exemplu în care factorul ecologic a dus la dispariția unei specii la care elementele morfologice (coarnele), erau posibil utile în impresionarea femelelor, este reprezentat de specia fosilă *Ceratogaulus* cu coarne, rozător de dimensiuni reduse (cca 30 cm), ce își făcea vizuina în pământ și care a trăit în Olegocen (fig. 2.1). Se apreciază că deși coarnele ofereau un anumit avantaj în lupta pentru femelă, pe măsură ce coarnele au crescut în dimensiune s-au dovedit a fi neadaptate nișei ecologice, împiedecând animalul la fugă, pentru evitarea prădătorilor, creând în același timp dificultăți la traiul în vizuină.



Fig. 2.1. Exemplare de *Ceratogaulus*, rozător fosil din Oligocen cu coarne
(sursa: <https://www.deviantart.com/willemsvdmerwe/art>)

În societatea umană, factorii de mediu de natură economică, pot influența, de asemenea, alegerea partenerului de viață, deci pot influența și selecția sexuală naturală.

De asemenea, în condiții nefavorabile de mediu și în condiții de izolare, dacă supraviețuiesc, sau ajung la maturitate sexuală, un număr redus de indivizi masculi, selecția sexuală este suprimată, participând la încrucișare toți indivizii supraviețuitori, adaptați ecologic.

Din contră, în condiții de mediu foarte favorabile, chiar de abundență, prezente de exemplu în grădinile zoologice, predominantă este selecția sexuală.

Selecția artificială se referă la intervenția omului în procesul selecției naturale a unor populații în scopul obținerii în mod deliberat a unor noi forme, cu caracteristici dorite.

Selecția artificială poate fi o *selecție de creație*, ce face obiectul disciplinelor de ameliorare a plantelor și animalelor și își propune obținerea de noi cultivare (soiuri de plante, populații sau hibrizi), și rase de animale. De exemplu, procesul de ameliorare a porumbului (Fig. 2.2), în care s-a pornit de la forma sălbatică, Teosinte (cu circa 10.000 ani în urmă) și s-a ajuns de la diverse forme intermediare, până la porumbul din ziua de astăzi (porumbul modern).

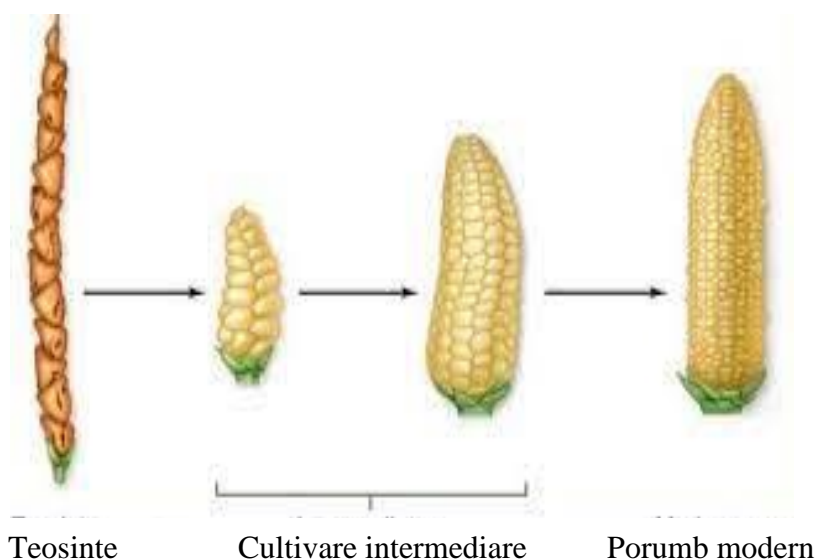


Fig. 2.2. Selecția artificială aplicată la porumb
(sursa: www.pobschools.org/cms/lib/)

Selecția artificială mai poate fi o *selecție conservativă*, care face obiectul producerii de sămânță și de material săditor cu menținerea caracteristicilor soiurilor create, în cazul plantelor sau menținerii caracteristicilor de rasă, în cazul animalelor.

Se pare, deci, că nu există deosebiri fundamentale între selecția naturală și selecția artificială. De fapt, în cadrul procesului de selecție artificială trebuie să se țină cont de legitățile specifice evoluției populațiilor naturale, cum ar fi necesitatea adaptării la condițiile concrete de mediu. Trebuie însă menționat faptul că nu întotdeauna “interesul biologic al speciei” este în concordanță cu obiectivele economice ale amelioratorului care realizează selecția artificială.

De pildă, în cazul sfeclei de zahăr sau a plantelor cultivate pentru ulei, se urmărește un conținut cât mai ridicat în zahăr sau ulei, conținut care depășește necesarul biologic al speciilor respective, plantele cu un conținut prea ridicat având o valoare adaptivă scăzută. De aceea în procesul selecției artificiale, și mai ales în contextul selecției conservative, se au în vedere măsuri care să asigure menținerea unui conținut ridicat în zahăr sau ulei, cum ar fi dirijarea polenizării cu respectarea unor spații de izolare față de alte soiuri sau populații cu un conținut mai scăzut, precum și selecția în masă negativă a plantelor netipice, înainte de înflorit, în cazul plantelor alogame.

În ceea ce privește rezistența la boli, dăunători sau condiții de stress abiotic, “interesul biologic al speciei” este în deplină concordanță cu interesul amelioratorului, selecția naturală favorizând aceste caracteristici, valoarea lor adaptivă fiind ridicată. Modificarea structurii genetice a unui soi, în privința acestor caracteristici, se poate datora unor greșeli de metodologie printre care, amintim, dimensiunea redusă a populației, cu efectele driftului genetic specifice, reprezintă un factor important.

2.1.2. Efectul selecției naturale asupra modificării frecvenței genotipurilor într-o populație autogamă

Autogamia presupune polenizarea, în mod natural, cu propriul polen. O populație autogamă este alcătuită din mai multe genotipuri homozigote.

Selecția naturală acționează în mod direct asupra fenotipului, fenotip condiționat de un anumit genotip. În acest fel se modifică frecvența genotipurilor și implicit frecvența genelor. În general, selecția are tendința de a

reduce variabilitatea genetică în populație. Linkage-ul concură la tendința de stabilizare, tinzând să conserve blocurile de gene ce condiționează același caracter și care oferă o mai bună adaptare (de exemplu, blocurile de gene ce condiționează rezistența la factorii de stres).

În cazul populațiilor naturale, prin selecție se elimină genotipurile mai puțin adaptate. Efectul selecției depinde de valoarea *coeficientului de selecție* (s) care exprimă, *măsura în care un anumit genotip este eliminat de la reproducere*. Coeficientul de selecție poate avea valori cuprinse între 0 și 1, unu reprezentând eliminarea totală. În antiteză cu coeficientul de selecție este *valoarea adaptivă* sau *valoarea selectivă* (w) ce exprimă *măsura în care un genotip este favorizat la reproducere*. Trebuie precizat că valoarea adaptivă variază, de asemenea, între 0 și 1 și este descrisă de următoarea relație:

$$w = 1 - s$$

Pentru a vedea evoluția frecvenței genotipurilor într-o populație autogamă, în raport cu valoarea adaptivă a acestora, să considerăm, pentru simplificare, o populație alcătuită din două genotipuri (A_1 și A_2) a căror proporție în populația de plecare este (după Allard, 1960):

$$P_0 = Q_0 = 0,5$$

iar valoarea adaptivă a celor două genotipuri este:

$$w_p = 1; \quad w_q = 0,9$$

Proporția genotipului cu valoare adaptivă mai ridicată în generația următoare este dată de relația:

$$P_1 = w_p \cdot P_0 / (w_p \cdot P_0 + w_q \cdot Q_0) = 1 \cdot 0,5 / (1 \cdot 0,5 + 0,9 \cdot 0,5) = 0,526$$

Proporția genotipului cu valoare adaptivă mai scăzută, deci a competitorului mai slab, este:

$$Q_1 = 1 - P_1 = 0,474.$$

2.1.3. Efectul selecției naturale asupra modificării frecvenței alelice într-o populație alogamă

Alogamia, în cazul plantelor, se referă la polenizarea, în mod natural, cu polen străin. Ca un caz ideal, o populație alogamă s-a format în urma acțiunii selecției naturale în condiții de panmixie (polenizare liberă, nediscriminatorie între indivizi). În cazul panmixiei, gameții se unesc randomizat sau, altfel spus, cuplurile se formează pe bază de hazard, referitor la gena considerată și ca urmare nu există nici o corelație între genotipuri. Ca urmare, o populație alogamă este alcătuită dintr-un amestec de genotipuri homozigote și heterozigote într-o stare de echilibru dinamic.

Conform **legii Hardy-Weinberg** (după Botez și Raica, 2007, 2008), dacă se consideră într-o populație diploidă doar două alele: A și a , a căror frecvență este p_0 și q_0 (unde $p_0 + q_0 = 1$), populație izolată, cu efectiv nelimitat și care nu a fost supusă selecției și nu a suferit mutații, frecvența alelelor și a genotipurilor rămâne constantă din generație în generație, frecvența genotipurilor fiind dată de relația:

$$p_0^2 AA + 2 p_0 q_0 Aa + q_0^2 aa = 1$$

Efectul selecției depinde de caracterul dominant sau recesiv al alelei afectate de selecție, de valoarea adaptivă a genotipului supus selecției și de sensul selecției. Astfel, poate fi vorba de selecția împotriva genotipului homozigot recesiv, împotriva genotipului homozigot dominant sau împotriva genotipului heterozigot (Tabelul 2.1).

Tabelul 2.1

Factorii principali de care depinde efectul selecției

Modul de acțiune a genelor	Sensul selecției	Valoarea adaptivă pentru diferite genotipuri:		
		AA	Aa	aa
Dominanță completă	Împotriva genotipului homozigot dominant	1	1	1-s

Dominanță completă	Împotriva fenotipului dominant	1-s	1-s	1
Dominanță incompletă	Împotriva heterozigoților	1	1-s	1
Dominanță incompletă	Împotriva alelei (<i>a</i>)	1	1-s/2	1-s
Supradominanță	Împotriva homozigoților (pentru genotipul heterozigot)	1-s _A	1	1-s _a

Selecția împotriva genotipului homozigot recesiv.

În cazul în care se face o *eliminare parțială* a genotipului homozigot recesiv, coeficientul de selecție este subunitar ($s < 1$), iar valoarea adaptivă a acestuia este: $w = 1-s$. Pentru celelalte genotipuri care nu sunt supuse selecției, coeficientul de selecție este zero, deci valoarea adaptivă este egală cu 1.

Să considerăm structura genotipică a unei populații panmictice pentru perechea de alele *Aa*. Astfel vom avea:

- Genotipuri în cadrul populației inițiale:	<i>AA</i>	<i>Aa</i>	<i>aa</i>
- Frecvența genotipurilor înainte de acțiunea selecției:	p_o^2	$2p_oq_o$	q_o^2
- Valoarea adaptivă a genotipurilor (<i>w</i>):	1	1	1-s
- Frecvența genotipurilor participante la reproducere, în urma acțiunii selecției:	p_o^2	$2p_oq_o$	$q_o^2(1-s)$

În continuare, se calculează frecvența alelelor participante la formarea gameților, în urma acțiunii selecției.

Pentru alela recesivă, vom avea frecvența:

$$q' = [q_o^2(1-sq_o) / [p_o^2 + 2p_oq_o + q_o^2(1-s)]],$$

de unde, dacă se fac produsurile, se scoate în factor (q_o) la numărător, iar la numitor se ține cont de faptul că suma genotipurilor este egală cu 1, vom obține:

$$q' = q_o(1-sq_o)/(1-sq_o^2)$$

Apoi se determină valoarea lui p' prin diferență: $p' = 1 - q'$.

În continuare, se determină frecvența genotipurilor în generația filială:

$$(p')^2AA + 2p'q'Aa + (q')^2aa$$

În cazul în care se face o *eliminare totală* a genotipului homozigot recesiv, coeficientul de selecție (s) este egal cu 1, iar valoarea adaptivă a acestuia este egală cu zero. Ca urmare, frecvența alelei recesive, în generația următoare acțiunii selecției, va fi:

$$q' = q_0(1-q_0)/(1-q_0^2),$$

iar după simplificare cu $1 - q_0$, vom avea:

$$q' = q_0/(1-q_0),$$

După (n) generații de selecție, frecvența alelei recesive va fi dată de relația:

$$q_n = q_0 / (1 + nq_0),$$

din care se poate deduce numărul de generații (n) necesare pentru modificarea frecvenței alelei recesive de la q_0 la q_n :

$$n = (q_0 - q_n) / q_0 q_n$$

De aici se poate deduce numărul de generații necesare pentru înjumătățirea frecvenței alelei recesive:

$$n = 1/q_0$$

Din această relație se poate înțelege dificultatea eliminării unei alele recesive dintr-o populație alogamă. Cu cât frecvența alelei recesive este mai mică cu atât crește numărul de generații necesare pentru eliminarea ei. Acest lucru se datorează faptului că, pe măsura reducerii frecvenței alelei recesive, ca urmare a eliminării tuturor indivizilor care o manifestă (genotipurile homozigot recesive) se modifică raportul între homozigoții recesivi ce manifestă alela și heterozigoții care o maschează, în favoarea heterozigoților.

2.1.4. Teoria neutralistă a evoluției

Kimura (1968), fondatorul teoriei neutraliste a evoluției, a presupus că majoritatea polimorfismului observat la nivel molecular este neutru în raport cu selecția și de aceea dinamica frecvenței lui în populație este determinată, în primul rând, de driftul genetic. Polimorfismul se referă la coexistența într-o

populație a două sau mai multor alele, cu o frecvență de același ordin de mărime.

La nivel molecular, polimorfismul se datorează heterogenității structurale a ADN-ului, datorate, de cele mai multe ori, unor substituții neutre atât la nivelul secvențelor codificatoare cât și la nivelul secvențelor necodificatoare. Majoritatea acestor modificări, mai ales cele de la nivelul secvențelor necodificatoare, intronice, nu influențează capacitatea de adaptare a organismului la mediu. În același timp, aspectul degenerat al codului genetic, ce se referă la faptul că doi sau mai mulți codoni pot specifica același aminoacid, face ca unele dintre aceste modificări să nu aibă consecințe la nivelul fenotipului. Astfel, atât codonul GCC și codonul GCA specifică alanina, iar codonii ACC și ACG specifică treonina. În consecință, astfel de substituții nu au nici un efect asupra proteinei codificate și deci nici asupra fenotipului. Se apreciază că din totalul celor 349 substituții posibile la cei 61 de codoni sens, 134 sunt codoni sinonimi care ar trebui să fie neutrali în raport cu selecția. Este, de asemenea, posibil ca unele modificări de la nivelul ADN-ului ce se traduc chiar prin schimbarea unor aminoacizi în cadrul lanțului polipeptidic, să nu aibă efecte majore la nivelul fenotipului și deci să fie selectiv neutre (King și Jukes, 1969).

Pe de altă parte, Ohta (1996), consideră că majoritatea substituțiilor nu sunt strict neutrale, însă din cauza efectului lor redus asupra fenotipului, predomină efectul de drift genetic, în ceea ce privește fixarea lor în populație, mai ales în populațiile mici. Wagner (2008), consideră că regimul neutralist contribuie la acumularea unei mari rezerve de variabilitate genetică în populație, în timp ce regimul selecționist, în condițiile în care apare un fenotip cu o capacitate ridicată de adaptare, genotipul respectiv ce îl controlează se fixează în populație, concurând la diminuarea diversității genetice.

Subliniem faptul că, **concepția neutralistă** nu contestă rolul selecției naturale în evoluția organismelor ci consideră, doar că, *în cantitatea polimorfismului evidențiable la nivel molecular cea mai mare parte este neutră*

și doar o mică parte este reprezentată de polimorfismul selecționabil. Procesul mutațional este un proces continuu, parte din mutații sunt defavorabile și sunt eliminate prin selecție, o mică parte sunt favorabile, care dacă nu sunt pierdute în primele generații vor înlocui vechile alele, mai puțin favorabile. Cea mai mare parte dintre mutații, însă, nu sunt nici favorabile nici nefavorabile deci neutre, în raport cu selecția naturală. O parte din acestea sunt pierdute, datorită întâmplării, iar o parte vor fi fixate în populație doar tranzitoriu, urmând să fie înlocuite de noi mutații. În această perioadă de înlocuire, care durează destul de mult, se poate manifesta polimorfismul.

Dacă notăm cu μ rata mutațiilor neutrale într-o populație de N indivizi ($2N$ gene), în fiecare generație se vor produce, probabilistic, $2N\mu$ noi gene neutre. Fiecare din cele $2N$ gene din populație, mutante sau nu, vor avea aceeași probabilitate de a se fixa, probabilitate egală cu $1/2N$. Dintre acestea, gena nouă mutantă dintr-o anumită generație va avea probabilitatea μ de a se fixa, valoare ce rezultă din produsul probabilităților:

$$(1/2N \times 2N\mu).$$

Cu alte cuvinte, rata de fixare a unei mutații neutrale, per specie și per generație, este egală cu rata mutației neutrale, per specie și per generație, independent de mărimea populației. Deoarece acest lucru este valabil pentru fiecare generație putem spune că o nouă alelă neutră, destinată de a o înlocui pe cea veche apare la fiecare $1/\mu$ generații (este vorba de ritmul de înlocuire).

În același timp Kimura (1968), a arătat că durata de timp necesară ca o mutație neutră să se fixeze într-o populație corespunde cu $4N$ generații, N fiind mărimea populației diploide. Într-o populație mare, dacă $4N > 1/\mu$, adică dimensiunea populației este mai mare decât ritmul de înlocuire, înseamnă că, în același timp există în populație cel puțin două alele polimorfe. Cu cât populația este mai mare cu atât crește posibilitatea existenței unui număr mai mare de alele polimorfe. Remarcăm faptul că ritmul de înlocuire ($1/\mu$) nu depinde, însă, de mărimea populației. La o rată a mutației neutrale egală cu 10^{-6} , ritmul de

înlocuire este de 10^6 generații, ceea ce reprezintă o perioadă destul de lungă în cadrul căreia se poate manifesta polimorfismul alelic.

Dacă ne referim la alelele ce codifică proteine, ritmul de înlocuire, care se traduce în ritmul de evoluție a unei proteine, sau la nivelul ADN-ului a unei anumite secvențe ADN, este relativ constant în timp și se numește *ceas molecular*. Acest ritm este însă foarte diferit de la o proteină la alta. Acest ritm este de 8,3 substituții per aminoacid la un miliard de ani pentru fibrinopeptide (polipeptidă care în procesul de coagulare a sângelui este separată de fibrină în timpul clivajului enzimatic al fibrinogenului sub acțiunea trombinei); 1,2 pentru hemoglobină; 0,3 pentru citocrom (un transportor de electroni în cadrul lanțului respirator din mitocondrii); 0,01 pentru histona H₄ (proteină ce participă la structura cromozomului eucariot). Asta nu înseamnă neapărat că gena pentru fibrinopeptidă suferă mai multe mutații decât gena pentru histona H₄, ci mai degrabă, este vorba de proporția mutațiilor neutre, foarte diferită la cele două gene. Gena pentru histonă este înalt conservativă, histona H₄ fiind aceeași la diferite grupe de organisme. Acest fapt asigură o mai mare stabilitate structurii cromozomale. Ca urmare, majoritatea mutațiilor la nivelul genei pentru histona H₄ nu pot fi considerate neutrale și sunt contra-selecționate.

În cazul fibrinopeptidei stabilitatea nu este așa importantă, iar majoritatea mutațiilor pot fi considerate neutre sub raport adaptiv. În general, mutațiile care determină schimbări fără importanță funcțională semnificativă, evoluează mai rapid, cum se întâmplă la nivelul secvențelor intronice comparativ cu secvențele exonice, sau în cazul ADN-ului repetitiv, necodificator ce evoluează mai rapid. Totuși secvențele cu importanță adaptivă vor evolua, de asemenea mai rapid, dar pe o bază selecționistă.

2.2. Driftul genetic

Driftul genetic este o importantă cauză a eroziunii genetice, deoarece conduce la reducerea variabilității genetice prin pierderea unor alele și genotipuri, indiferent de valoarea adaptivă a acestora.

Driftul genetic este o schimbare a frecvenței alelelor într-o populație datorită întâmplării. Această schimbare se manifestă, mai pregnant, generație de generație, în populațiile mici ca urmare a erorilor de eșantionaj în privința alelelor purtate de gameții care participă la formarea descendenților. Ca urmare, datorită întâmplării, o anumită genă (alelă) nu este inclusă în structura genetică a generației filiale.

Driftul genetic este un proces evolutiv important care determină, în timp, schimbări majore în frecvența genelor, schimbări ce se produc, probabilistic, randomizat, indiferent de valoarea lor adaptivă. Astfel se pot fixa în populație gene neutre față de selecție, gene cu valoare adaptivă ridicată sau gene cu valoare adaptivă scăzută.

Pentru înțelegerea fenomenului, să considerăm (după Hartl și Clark, 2007), într-o populație de dimensiuni mari, o pereche de alele A și a , a căror frecvență este $p=q=1/2$.

Conform legii Hardy-Weinberg frecvența genotipurilor este:

$$1/4AA; 1/2Aa; 1/4aa$$

Să presupunem că numai 4 indivizi au supraviețuit pentru a forma generația următoare. Este posibil ca acest eșantion să aibă toți genotipul AA , cu o probabilitate de $(1/4)^4$, adică $1/256$. Cu aceeași probabilitate toți indivizii pot fi aa .

Orice altă combinație de genotipuri poate să rezulte a cărei probabilitate se poate determina. Dacă în fiecare generație rămân doar 4 indivizi, acest mod de eșantionare apare în fiecare generație. În fiecare ciclu de reproducere există posibilitatea unei schimbări dramatice în frecvența genotipurilor și implicit a frecvenței genelor. În final, populația poate fi constituită numai din alele A , caz

în care alela a este pierdută, sau numai din alela a , caz în care alela A este pierdută. Odată ajunsă în stare de fixare, presupunând că nu apar noi alele prin mutație sau migrație, evoluția populației este blocată.

În exemplul anterior, eșantioanele au fost reprezentate din 4 indivizi. Dacă încrucișarea acestora se face randomizat, în loc de 4 indivizi putem considera eșantioane reprezentate din 8 gameți haploizi. Dacă se consideră 8 gameți, luați la întâmplare dintr-o populație în care frecvența celor două alele este egală ($p=q=1/2$), probabilitățile diferitelor combinații în generația următoare se obțin prin dezvoltarea binomului $(1/2A + 1/2a)^8$.

Probabilitatea de fixare a alelei A în generația următoare este egală cu $(1/2)^8$, adică $1/256$, egală cu probabilitatea de a obține 4 genotipuri AA .

Dacă considerăm într-o populație cu N indivizi diploizi cu frecvența p_0 , aceștia produc, practic, un număr infinit de gameți pentru care frecvența unei anumite alele (A) este aceeași ca în populația de adulți (p_0). Dintre aceștia $2N$ gameți se unesc la întâmplare pentru a forma zigoții și mai apoi descendenții generației următoare în care, însă, frecvența alelei respective este modificată (p_1) deoarece eșantioanele de dimensiuni mici nu sunt reprezentative.

Să presupunem că dintr-o populație de gameți, ce poartă alelele A și a , a căror frecvență este p și q , unde $p+q = 1$, se iau la întâmplare $2N$ gameți pentru a produce zigoții generației următoare, probabilitatea ca aceștia să conțină exact j alele de tip A este dată de relația:

$$[(2N)!/j!(2N-j)] \times p^j q^{2N-j}, \quad (2.2.1.),$$

unde: j poate avea orice valoare între 0 și $2N$.

Această relație, cunoscută ca modelul Wright-Fisher, exprimă distribuția așteptată a frecvenței alelelor în subpopulații. Relația se mai poate scrie:

$$C_{2N}^j \times p^j q^{2N-j}$$

unde, termenul C_{2N}^j se mai numește *coeficient binomial*.

După o generație de eșantionare conform relației 2.2.1., frecvența alelei A , notată p_1 , este dată de raportul:

$$j/2N,$$

deoarece frecvența alelei A este egală cu numărul de alele A (în acest caz j) raportată la numărul total (în acest caz $2N$).

În generația următoare, procesul de eșantionare are loc, de asemenea, conform relației 2.2.1., p fiind înlocuit cu p_1 , iar q cu $1-p_1$. Astfel frecvența alelelor se schimbă la întâmplare, generație de generație. Dacă frecvența unei alele ajunge la 1 se spune că alela s-a fixat în populație, iar dacă frecvența alelei este 0 se spune că alela respectivă a fost pierdută din populație.

Probabilitatea ca o alelă să se fixeze în populație este egală cu frecvența alelei în populație. Astfel, dacă pentru alela A frecvența p este de 75%, iar pentru alela a frecvența q este de 25%, în cele din urmă, într-un interval de timp nelimitat, probabilitatea ca alela A să se fixeze în populație este de 75%, iar probabilitatea ca alela a să se fixeze este de 25%.

Timpul necesar pentru fixare, măsurat în generații și estimat în termenii probabilităților, este proporțional cu mărimea populației, fixarea având loc mult mai rapid în populațiile mici. Pentru determinarea acestor probabilități se are în vedere numărul efectiv de indivizi în populație (N_e), care este diferit de numărul total (real) din populație, la determinarea lui se ține cont de numărul indivizilor care sunt prea bătrâni sau prea tineri pentru a lăsa urmași, de probabilitatea redusă ca doi indivizi prea îndepărtați să se încrucișeze, precum și de nivelul de consangvinizare.

Timpul necesar pentru ca o alelă neutrală să se fixeze în populație este dat de relația:

$$T_{\text{fix.}} = [-4N_e(1-p)\ln(1-p)]/p, \quad (2.2.2.)$$

unde: $T_{\text{fix.}}$ - este numărul de generații necesare pentru fixare,

N_e - este mărimea efectivă a populației iar

p - este frecvența inițială a unei anumite alele.

Numărul de generații necesare pentru ca o alelă neutrală să fie pierdută este dat de relația:

$$T_{\text{pierd.}} = [-4N_e p \ln x p]/(1-p), \quad (2.2.3.).$$

Aceste relații se mai utilizează pentru a înțelege impactul driftului genetic asupra unei noi alele apărută prin mutație. În acest scop, relațiile pot fi simplificate deoarece frecvența mutației este de regulă foarte mică.

$$\text{Astfel avem: } T_{\text{fix.}} = 4N_e \text{ și } T_{\text{pierd.}} = 2(N_e/N) \times \ln(2N), \quad (2.2.4.).$$

În cazul în care N_e și N se presupune că au valori similare, raportul între timpul de fixare și timpul de pierdere este: $2N/\ln(2N)$.

În figura 2.2, se prezintă graphic simularea efectului driftului genetic timp de 20 generații, asupra unei alele (A) a cărei frecvență inițială a fost 0,5 în două populații de dimensiuni diferite și anume: $N = 9$ (sau $2N$ alele = 18) și $N = 50$ (sau $2N$ alele = 100).

Pentru fiecare dimensiune s-a calculat frecvența alelelor posibil a fi obținute în diferite populații, prin dezvoltarea binomului $(1/2A + 1/2a)^{18}$.

În cazul dimensiunii reduse a populației (fig. 2.2A) comportamentul populațiilor individuale poate fi foarte neregulat. În 7 populații alela A se fixează ($p = 1$), în 5 populații alela A este pierdută ($p = 0$), iar în alte 8 populații se manifestă segregarea, atât pentru alela A cât și pentru alela a .

În final, frecvența alelelor în populațiile segregante vor lua o valoare sau alta. În cazul dimensiunii mai mari a populației (fig. 2.2B), rata cu care populațiile tind spre fixarea sau pierderea alelei A este evident mai redusă.

Trebuie menționat faptul că, driftul genetic nu este total izolat de acțiunea selecției. Astfel, deși modificarea frecvenței mutațiilor neutrale este aleatorie datorită driftului genetic, selecția poate influența această frecvență în urma asocierii, prin linkage, cu gene mutante a căror valoare adaptivă este scăzută.

Acest fenomen reprezintă, de fapt, o formă de manifestare a dezechilibrului de înlănțuire prin, așa numitul *autostop genetic*.

Dezechilibrul de înlănțuire reprezintă o asociere nealeatorie dintre două gene într-o populație, și poate avea și alte cauze, în afara fenomenului de linkage.

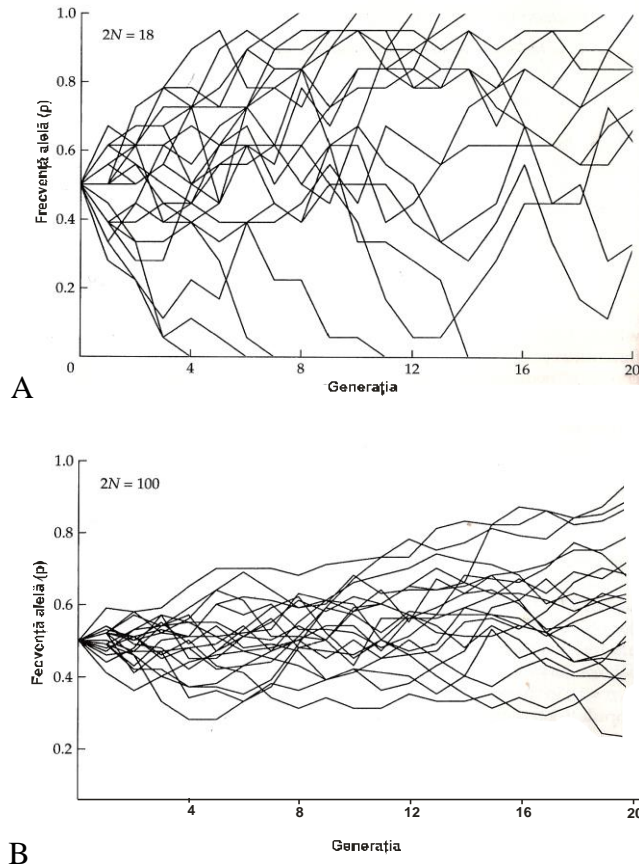


Fig. 2.2. Simularea efectului driftului genetic (A) în cadrul unei populații reprezentate din 9 indivizi, cu $2N$ alele = 18 și (B) în cadrul unei populații reprezentate din 50 indivizi, cu $2N$ alele = 100 (după Hartl și Clark, 2007).

Pentru a înțelege și mai bine acest fenomen, mai luam un exemplu, mai scurt, și anume: dacă în populațiile mari variațiile numărului copiilor produși de indivizi cu genotipuri diferite nu influențează semnificativ frecvența genelor, în populațiile mici asemenea variații pot modifica, uneori considerabil, această frecvență.

Astfel, dacă într-o astfel de populație gena A este mai frecventă decât alela ei a și, din întâmplare, indivizii cu gena A nu au copii sau nu o transmit la descendenți, atunci, după câteva generații, gena A va dispărea, iar gena a se va fixa mai puternic, deci se va produce o modificare considerabilă în frecvența genică (Roffe, 2017) (fig. 2.3).

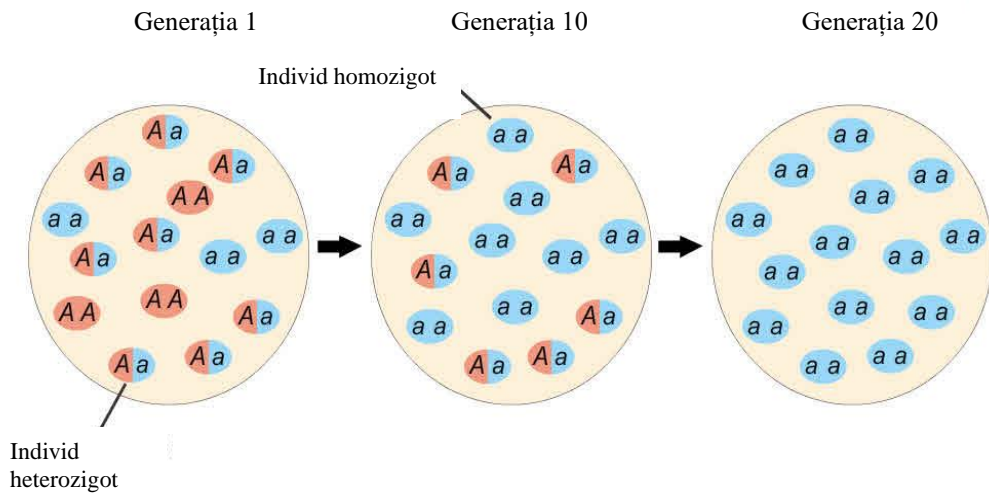


Fig. 2.3. Mecanismul driftului genetic într-o populație după 10 generații și după 20 de generații (sursa: <https://www.pol2e.com>)

2.3. Distrugerea și fragmentarea habitatului

Habitatul reprezintă mediul natural în care trăiește o specie sau o populație. Distrugerea și fragmentarea habitatului sunt factori importanți ce determină reducerea numărului de indivizi într-o populație și implicit reducerea diversității genetice, adică eroziunea genetică care poate merge chiar până la extincție.

Reducerea numărului de indivizi din populație contribuie și prin efectul de drift genetic la reducerea diversității genetice. Incendiile produse de erupții vulcanice, de furtuni dar și de om, uneori în mod deliberat, cu scopul de a dobândii noi terenuri pentru agricultură, reprezintă principala cauză ce determină distrugerea habitatului.

Defrișările și supraexploatarea mediului natural (păduri, pășuni etc) contribuie, de asemenea la distrugerea habitatului (fig. 2.4). Fragmentarea habitatului cauzată de procese geologice pe suprafețe mari poate constitui un factor implicat în apariția de specii noi. În schimb, fragmentarea habitatului de către om, în suprafețe mici, separate de culturi agricole, sau alte suprafețe cu alte

destinații și chiar noi localități sau autostrăzi poate să conducă relativ rapid chiar la extincția unor specii.

Distrugerea și fragmentarea habitatului constituie una din cele mai mari amenințări la adresa biodiversității, speciile care ocupau habitatul fiind alingate sau eliminate (Hanski, 2011).

Cauzele pot fi:

a) naturale

- fenomene naturale violente
- evenimente geologice

b) antropice

- agricultura (la scară largă și intensivă)
- exploatările forestiere
- minerit
- poluarea (inclusiv poluarea sonoră)
- extinderea așezărilor umane
- extinderea infrastructurii (turistică, de transport etc.)



Fig. 2.4. Defrișarea unei păduri în zona Madagascar
(sursa: <https://afabego.fr/en/actualites/la-deforestation-a-madagascar/>)

În urma reducerii habitatului crește și efectul de margine, caracterizat prin schimbări de microclimat, temperatură, lumină, comparativ cu interiorul habitatului, favorizând alte specii decât cele din interior.

Proximitatea animalelor domestice ar putea favoriza răspândirea bolilor. Mici fragmente de habitat pot să suporte populații foarte mici, mult mai vulnerabile. Mici fluctuații de climat sau resurse care au efecte ne semnificative în populațiile mari, pot avea consecințe catastrofale în populațiile mici. Fluxul de gene de la populațiile vecine, în cazul unor habitate de mari dimensiuni, care ar putea contribui la sporirea fondului de gene din populațiile mici, nu poate avea loc, mai ales în situația în care acestea sunt separate prin distanțe mari. Prin plantarea de coridoare specifice vegetației native s-ar putea diminua efectul izolării și dimensiunii reduse a populației.

2.4. Îngustarea populației (population/genetic bottleneck)

Bottleneck, este un termen englezesc ce se traduce prin *gât de sticlă*. ”*Population bottleneck*” se referă la *reducerea semnificativă a dimensiunii unei populații* (ca și cum ar trece printr-un *gât de sticlă*), într-un timp relativ scurt, datorită unor factori de mediu (fig. 2.5). Fenomenul determină reducerea radicală a frecvenței alelelor, independent de valoarea lor adaptivă.

Reducerea *polimorfismului* cu apariția de forme monomorfe, fenomen specific driftului genetic, care se manifestă și în generațiile următoare, poate avea consecințe negative în privința genelor implicate în răspunsul imun.

Reducerea *variabilității*, deci eroziunea genetică, face populația mai vulnerabilă presiunii de selecție a mediului, cum ar fi diferite boli, schimbări de climat, sursă de hrană, deoarece răspunsul adaptiv cere existența variabilității genetice asupra căreia să acționeze selecția.

Krishnan și colab. (2014), a realizat un studiu cu privire la rolul unui blocaj pre-domesticare indus de selecția naturală (fig. 2.5), asupra unor specii

sălbatică de orez din diferite zone ale Australiei și a Asiei. În urma secvențierii întregului genom, utilizând metoda *shotgun*, a alinierii secvențelor obținute cu genomul de referință al orezului cultivat, *O. sativa* ssp. *japonica* cv. Nipponbare, dar și pe baza analizei variațiilor în polimorfismele ADN-ului pe întregul genom al orezului, s-a reușit identificarea de „deșerturi de polimorfism” în regiunile genomice care conțin gene pentru trăsături adaptive. Această analiză ne arată că reducerea polimorfismului nu este limitată doar la speciile cultivate de *Oryza*, ci se regăsește și în speciile sălbatică de *Oryza* din Australia.

În imaginea din figura 2.5, se pot observa diferitele clase de gene reprezentate prin forme diferite: forma de romb indică genele pentru trăsături adaptive, cercurile indică genele implicate în domesticire, iar forma de stea indică genele pentru ameliorarea culturilor. Formele alelice ale genelor sunt reprezentate prin culori diferite. Un blocaj genetic pre-domesticare, posibil indus de stresul de mediu, a dus la pierderea polimorfismelor în genele adaptive în cazul orezului sălbatic.

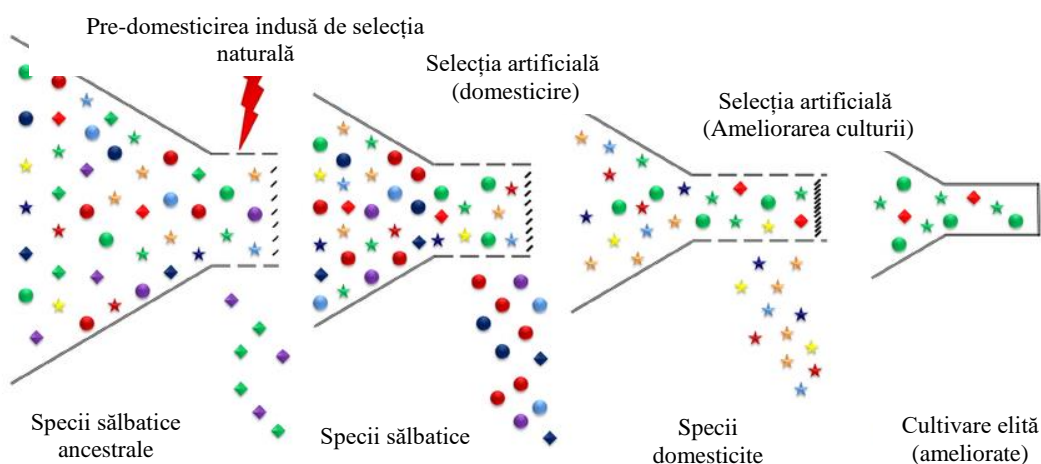


Fig. 2.5. Fenomenul de îngustare a populației (blocaj de pre-domesticire), indus de selecția naturală, asupra unor specii sălbatică de orez (sursa: Krishnan și colab., 2014)

Presiunea suplimentară de selecție în timpul domesticirii și ameliorării culturilor a dus la epuizarea și mai accentuată a polimorfismelor, generând „deșerturi de polimorfism”, precum cel identificat pe cromozomul 5 al orezului. Selecția artificială în timpul domesticirii orezului asupra unor gene precum *sh4* și *PROG1* a redus diversitatea în regiunile genomice adiacente, din cauza efectului de selecție asociat cu aceste gene. Dar selecțiile suplimentare efectuate în timpul ameliorării culturilor asupra altor gene, precum *GS3*, *Bh4*, *qSW5*, *wx* și *Rc* au redus, de asemenea, polimorfismele în regiunile asociate acestor gene. Deși selecțiile din timpul ameliorării culturilor au ajutat la păstrarea alelelor favorabile în acești loci, blocajul genetic suplimentar pre-domesticire a dus la pierderea variației genetice în genele responsabile pentru trăsături adaptive, de pe cromozomul 5.

Datorită reducerii dimensiunii populației, se manifestă fenomenele specifice consangvinizării, deoarece încrucișarea se realizează, practic, între rude, cu reducerea potențialului de reproducere, depresia de consangvinizare și apariția de malformații, ca urmare a homozigotării unor gene recesive nefavorabile.

Exemple în acest sens sunt: *lupul de preerie* din America de Nord, a cărui număr s-a redus, datorită vânatului excesiv și distrugerii habitatului, de la sute de milioane la numai 50 exemplare în ultimii ani. De asemenea, situația *elefantului de mare* din emisfera nordică sau situația *ghepardului* (fig. 2.6), a cărui variabilitatea genetică este așa redusă că grefele de piele sunt compatibile între indivizi.

O consecință demografică a reducerii numărului de indivizi dintr-o populație poate fi creșterea probabilității ca toți indivizii să fie de același sex. Probabilitatea ca toți indivizii să fie masculi este $1/2^n$, egală cu probabilitatea ca toți indivizii să fie femele, de unde probabilitatea ca toți indivizii să fie de același sex este egală cu $1/2^{n-1}$. Aceasta poate fi o problemă în populațiile foarte mici.

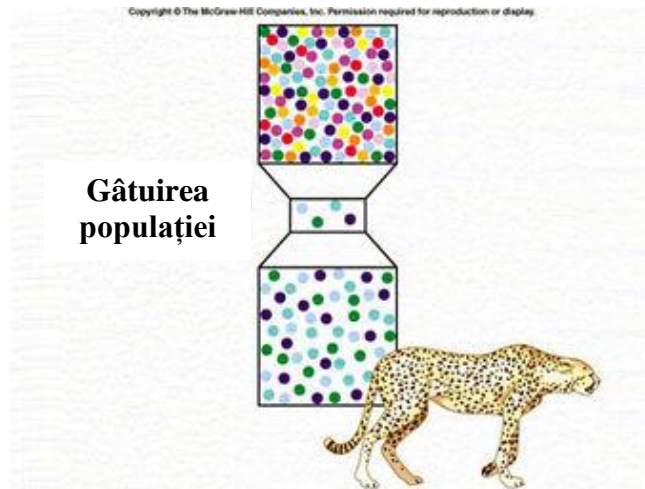


Fig. 2.6 Manifestarea fenomenului de reducere a populației în cazul ghepardului, datorită vânatului excesiv (sursa: <https://cheetah.org/>)

Un alt exemplu este dat de faptul că în 1977 ultimii 18 papagali de noapte, Kakapo (*Strigopos habroptila*), într-o insulă din Noua Zeelandă au fost toți masculi, motiv pentru care populația din insula respectivă, într-un timp destul de scurt, s-a stins.

CAP. 3. INFLUENȚA REGIMULUI DE REPRODUCERE ȘI A SUBDIVIZĂRII UNEI POPULAȚII ASUPRA STRUCTURII GENETICE A ACESTEIA

3.1. Influența regimului de reproducere

Regimul de reproducere se referă la maniera în care se unesc gameții pentru a forma generația următoare. La animale, se poate spune că este vorba de felul cum se formează cuplurile. La plante se pot lua în considerare plantele mamă și grăunciorii de polen care le fecundează. Din acest punct de vedere există trei tipuri de regimuri de reproducere: panmixia, regimul închis și regimul deschis. Despre panmixie s-a vorbit deja. Panmixia se caracterizează prin unirea randomizată a gameților și ca urmare frecvența heterozigoților este egală cu $2pq$ (Felsenstein, 2016).

În cazul împerecherii asortative, gameții nu se mai unesc randomizat și ca urmare proporția heterozigoților este diferită de $2pq$. În cazul împerecherii asortative se disting două regimuri de reproducere: regimul închis și regimul deschis.

În cazul regimului închis vom vorbi despre consangvinizare cu formele ei extreme, autogamia și homogamia, regim ce se caracterizează prin faptul că proporția heterozigoților este inferioară valorii $2pq$.

*În cadrul regimului deschis vom vorbi despre heterogamie, ce se caracterizează prin faptul că proporția heterozigoților este superioară valorii de $2pq$. Homogamia se mai numește, *homogamie pozitivă*, iar heterogamia se mai numește *homogamie negativă*.*

Consangvinizarea reprezintă încrucișarea între rude apropiate, cum ar fi încrucișarea frate-soră (SIB), încrucișarea între veri primari, ș.a. Cea mai stânsă formă de consangvinizare este autopolenizarea forțată a plantelor alogame.

Gradul de consangvinizare poate fi cuantificat cu ajutorul **coeficientului de consangvinizare (F)** introdus de Wright (1922), definit ca fiind probabilitatea ca un descendent să fie homozigot pentru o pereche alelică prin ascendență, adică ambele alele să provină de la un strămoș comun. La nivel populațional, în cazul consangvinizării, frecvența genotipurilor pentru o pereche de alele (*Aa*) poate fi determinată cu ajutorul următoarelor relații (după Falconer, 1967):

$$\begin{array}{ll} AA & p_o^2 + p_oq_oF \\ Aa & 2p_oq_o - 2p_oq_oF \\ aa & q_o^2 + p_oq_oF. \end{array}$$

În cazul autopolenizării, proporția heterozigoților și homozigoților este dată de relațiile:

$$(1/2^x)^n \text{ și } [(2^x - 1)/2^x], \text{ cunoscute deja de la autogame.}$$

Pentru o pereche alelică proporția heterozigoților se reduce la jumătate cu fiecare generație de autopolenizare. Cu timpul populația se desface în genotipuri homozigote stabile, numite *linii pure*.

Din punct de vedere fenotipic, în primele generații de consangvinizare are loc o creștere puternică a variabilității individuale, ca urmare a procesului de homozigotare a genelor recesive, mascate de regulă în stare heterozigotă în populația alogamă. Acest fenomen poate fi exploatat în munca de selecție.

Tot ca urmare a reducerii heterozigoției, în urma consangvinizării se manifestă fenomenul de depresie de consangvinizare, fenomen ce reprezintă scăderea vigoriei medii a populației. Această scădere se accentuează în generațiile successive de consangvinizare până la realizarea minimumului de consangvinizare.

Minimumul de consangvinizare reprezintă cea mai scăzută vigoare medie a unei populații supusă consangvinizării care se menține la un nivel constant în cazul continuării consangvinizării.

În generațiile avansate de consangvinizare se constată o reducere a variabilității individuale, datorită homoziigoției ce caracterizează liniile pure. Liniile pure rezultate de la o populație alogamă pot fi, însă, foarte diferite genetic și fenotipic, dar indivizii care alcătuiesc fiecare linie sunt foarte asemănători.

Homogamia reprezintă un regim de reproducere în care se încrucișează doar indivizii fenotipic asemănători. Prin homogamie se reduce proporția heterozigoților în fiecare generație, ca în cazul consangvinizării. Ritmul reducerii este diferit în funcție de relațiile de alelism care există la nivelul unui locus. Să presupunem că la un locus există o genă cu două alele (A și a) ce pot forma trei genotipuri: AA , Aa , aa .

- dacă nu există dominanță, acestor genotipuri le corespund trei fenotipuri, iar încrucișarea se face între indivizii asemănători, având același genotip. Rezultatul este identic cu autopolenizarea, proporția heterozigoților reducându-se la jumătate cu fiecare generație. Menționăm faptul că, spre deosebire de autopolenizare, situația este valabilă doar pentru locusul considerat, pentru care se manifestă homogamie.

- dacă există dominanță completă, heterozigoții (Aa) nu se deosebesc fenotipic de homoziigoții dominanți (AA). Ca urmare, indivizii homoziigoți recesivi (aa), fiind asemănători, se încrucișează între ei rezultând descendenți identici, homoziigoți recesivi. Indivizii fenotipic dominanți, de asemenea se încrucișează între ei, dar în acest caz există trei tipuri de încrucișări: $AA \times AA$; $AA \times Aa$; $Aa \times Aa$. Ultimul tip produce și indivizi aa care se alătură homoziigoților recesivi. Ca urmare se reduce frecvența alelei a în cadrul grupului fenotipic dominant, dar per ansamblu frecvența alelelor rămâne constantă. Proporția heterozigoților scade, dar într-un ritm mai lent decât în cazul în care nu există dominanță. Totuși, în final, nu rămân decât homoziigoții AA și aa , cu frecvențele p și q .

Heterogamia reprezintă un regim de reproducere în care încrucișarea se face între indivizi fenotipic diferiți. Aceasta antrenează un nivel al heterozigoției

superior lui $2pq$. Acest regim se referă, în special, la genele de pe cromozomii sexului. Astfel, la mamifere sexul mascul are formula cromozomală XY, iar sexul femel are formula cromozomală XX. Dacă considerăm că aceștia reprezintă, de fapt, gene, frecvența lui X este de $\frac{3}{4}$, iar frecvența lui Y este de $\frac{1}{4}$, iar proporția heterozigoților în condiții de panmixie ar fi $(2) \times (\frac{3}{4}) \times (\frac{1}{4}) = \frac{3}{8}$. În realitate, frecvența heterozigoților (adică a masculilor XY) este mult mai mare și anume $\frac{1}{2}$.

La plante, sistemele de autoincompatibilitate gametofitică și sporofitică împiedică încrucișarea între indivizi ce poartă aceleași gene de incompatibilitate, fapt ce antrenează un nivel al heterozigoției mai ridicat pentru acel locus.

Heterogamia nu modifică numai structura genotipurilor, dar modifică și frecvența alelelor în populație, deoarece antrenează o formă specială de selecție care favorizează genele mai rare, fapt ce le menține la un anumit nivel de echilibru.

3.2. Analiza nivelului de heterozigoție a populațiilor

Cunoașterea nivelului de heterozigoție ne oferă informații cu privire la structura genetică a populației și șansele ei de evoluție. O heterozigoție redusă în privința genelor ce controlează aloenzimele, cum se întâlnește în cazul *ghepardului*, de exemplu, indică o variabilitate genetică redusă, ca urmare a manifestării efectelor de drift genetic apărute datorită dimensiunii reduse a populației. Ca urmare a dimensiunii reduse se manifestă și efectele specifice consangvinizării cu reducerea frecvenței genotipurilor heterozigote sub valoarea așteptată.

Reducerea heterozigoției este evidentă în cazul *subdivizării unor populații* mari în subpopulații de dimensiuni reduse. În cadrul fiecărei subpopulații frecvența heterozigoților scade treptat până la zero, diferitele alele prezente inițial în populația de plecare ajung în stare de fixare (devin

homozigote). Șansa de fixare este direct proporțională cu frecvența alelelor în populația de plecare. În același timp, reducerea frecvenței heterozigoților pentru o pereche alelică Aa , per total populație ca un întreg, este cu atât mai evidentă cu cât este mai mare diferențierea subpopulațiilor sub aspectul frecvenței alelice. Acest fenomen este cunoscut ca *efectul Wahlund*.

Acest fapt este ilustrat prin relația ce exprimă *frecvența așteptată pentru heterozigoți*:

$$E\{Aa\} = 2pq - 2\text{Var}_p$$

respectiv *frecvența așteptată pentru homozigoți*:

$$E\{AA\} = p^2 + \text{Var}_p$$

Se observă faptul că din valoarea frecvenței heterozigoților, conform legii Hardy-Weinberg ($2pq$), se scade de două ori varianța pentru alela A , în timp ce la valoarea frecvenței homozigoților se adaugă varianța pentru alela A .

Reducerea heterozigoților este influențată și de regimul de polenizare, în sensul că regimul închis (consangvinizarea cu forma ei extremă autopolenizarea și homogamia), favorizează reducerea heterozigoților sub valoarea așteptată teoretic, conform legii Hardy-Weinberg. Acest lucru poate fi exprimat prin *coeficientul de consangvinizare F_{IS}* care este raportul diferenței între frecvența heterozigoților așteptată în subpopulații (H_S) și frecvența heterozigoților observată în subpopulații (H_I), față de frecvența heterozigoților așteptată în subpopulații (H_S):

$$F_{IS} = (H_S - H_I) / H_S$$

Aceiași relație se poate scrie:

$$F_{IS} = 1 - H_I/2pq,$$

relație pe care o explicităm, în ceea ce privește limitele valorice ale lui F_{IS} , cu un exemplu.

Să considerăm în două subpopulații (1 și 2) o pereche alelică (A și a), cu frecvența $p=q=0,5$ în fiecare subpopulație.

Să presupunem că populația 1 nu are heterozigoți, deci frecvența observată ($H_I = 0$), atunci $F_{IS} = 1 - 0$, adică +1, ceea ce înseamnă că este complet consangvină.

Dacă în populația 2 toți indivizii sunt heterozigoți, deci frecvența observată ($H_I = 1$), iar frecvența așteptată $2pq = 2.0 \times 0,5 \times 0,5 = 0,5$. Atunci $F_{IS} = 1 - 1/0,5$, adică -1, ceea ce înseamnă că subpopulația este de natură hibridă, rezultată probabil în urma hibridării a două populații, una homozigotă pentru alela A, iar cealaltă homozigotă pentru alela a.

Evident că acestea sunt limitele extreme între care poate să varieze valoarea lui F_{IS} .

Varianța din cadrul subpopulațiilor (F_{ST}) comparativ cu varianța așteptată per total populație ($H_T = 2x pq$), luând în considerare media frecvenței genelor din total subpopulații, este dată de relația:

$$F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T,$$

unde H_S - reprezintă frecvența medie a heterozigoților din subpopulații.

Această relație se mai poate scrie:

$$F_{ST} = 1 - H_S/H_T,$$

relație din care se pot înțelege limitele valorice între care poate să varieze această varianță, adică între 0 și 1.

Dacă toate subpopulațiile au aceeași frecvență genică, atunci frecvența medie a heterozigoților din subpopulații este egală cu frecvența așteptată, calculată pe baza mediei frecvenței genelor din total subpopulații, adică raportul

$$H_S/H_T = 1.$$

De unde, $F_{ST} = 1 - 1 = 0$, ceea ce înseamnă că populația nu este genetic diferențiată la nivelul subpopulațiilor.

Dacă, din contră, fiecare subpopulație a fixat câte o alelă diferită de cealaltă, adică la o populație avem $p=0, q=1$, iar la cealaltă populație avem $p=1, q=0$, atunci heterozigoția subpopulațiilor este egală cu zero, iar varianța din cadrul subpopulațiilor $F_{ST} = 1$, în ceea ce privește diferențierea genetică este maximă. De regulă, nu se întâlnesc valorile extreme, însă cu cât valoare lui F_{ST}

este mai apropiată de 1 cu atât diferențierea genetică este mai mare, dar heterozigoția este mai mică, aserțiune ce este conformă și cu efectul Wahlund.

Pentru interpretarea nivelului de diferențiere genetică în funcție de valoarea lui F_{ST} , Wright, 1978 (după Hartl și Clark, 2007), propune următoarea scară de interpretare:

- între 0 și 0,05 diferențierea genetică este redusă;
- între 0,05 și 0,15 diferențierea genetică este moderată;
- între 0,15 și 0,25 diferențierea genetică este mare;
- peste 0,25 diferențierea genetică este foarte mare.

În continuare, vom prezenta un exemplu simplu, pentru calcularea valorilor F_{IS} și F_{ST} plecând de la trei subpopulații pentru care numărul de indivizi ce aparțin fiecărui genotip, pentru perechea alelică A și a , este dată în tabelul 3.1.

Reamintim faptul că, numărul de alele este dublu față de numărul de indivizi dintr-un anumit genotip. De asemenea, fiecare homozigot are două alele de același fel, în timp ce fiecare heterozigot are o singură alelă.

Tabelul 3.1

Numărul de indivizi pe genotipuri (AA , Aa și aa) la trei subpopulații (1, 2 și 3)

Subpopulația	G e n o t i p u l			
	AA	Aa	aa	Total
1	125	250	125	500
2	50	30	20	100
3	100	500	400	1000

Se determină frecvența alelelor, p și q , pentru fiecare subpopulație:

$$p_1 = (2 \times 125 + 250) / 1000 = 0,50; \quad q_1 = 0,50$$

$$p_2 = (2 \times 50 + 30) / 200 = 0,65; \quad q_2 = 0,35$$

$$p_3 = (2 \times 100 + 500) / 2000 = 0,35; \quad q_3 = 0,65.$$

Se determină heterozigoția observată pentru fiecare subpopulație:

$$H_{obs1} = 250 / 500 = 0,5$$

$$H_{\text{obs}2} = 30/100 = 0,3$$

$$H_{\text{obs}3} = 500/1000 = 0,5$$

Se determină heterozigoția așteptată ($2pq$) pentru fiecare subpopulație:

$$H_{\text{exp}1} = 2 \times 0,5 \times 0,5 = 0,5 \text{ (observat = așteptat)}$$

$$H_{\text{exp}2} = 2 \times 0,65 \times 0,35 = 0,46 \text{ (observat < așteptat)}$$

$$H_{\text{exp}3} = 2 \times 0,35 \times 0,65 = 0,46 \text{ (observat > așteptat)}$$

Se determină coeficientul de consangvinizare pentru fiecare subpopulație:

$$F = (H_{\text{exp}} - H_{\text{obs}})/H_{\text{exp}}$$

$$F_1 = (0,5 - 0,5)/0,5 = 0 \text{ (populația este în echilibru H-W).}$$

$F_2 = (0,46 - 0,3)/0,46 = 0,341$ (mai puțini heterozigoți decât așteptat, fapt ce indică consangvinizare);

$F_3 = (0,46 - 0,5)/0,46 = -0,099$ (mai mulți heterozigoți decât așteptat, fapt ce indică un surplus de outcross).

Se determină frecvența alelei A per total populație:

$$\begin{aligned} p\text{-bar} &= (2 \times 125 + 250 + 2 \times 50 + 30 + 2 \times 100 + 500)/(1000 + 200 + 2000) \\ &= 1330/3200 = 0,4156; \end{aligned}$$

$$q\text{-bar} = 0,5844$$

Se determină indicii de heterozigoție per total populație:

H_I , pe baza frecvenței observate a heterozigoților din subpopulații:

$$H_I = (0,5 \times 500 + 0,3 \times 100 + 0,5 \times 1000)/1600 = 0,4875$$

H_S , pe baza frecvenței așteptate a heterozigoților din subpopulații:

$$H_S = (0,5 \times 500 + 0,46 \times 100 + 0,46 \times 1000)/1600 = 0,4691$$

H_T , sau heterozigoția așteptată per total populație, pe baza frecvenței medii a alelelor ($p\text{-bar}$ și $q\text{-bar}$):

$$H_T = 2 \times p\text{-bar} \times q\text{-bar} = 2 \times 0,4156 \times 0,5844 = 0,4858$$

Se determină valorile F_{IS} și F_{ST} :

$F_{IS} = (H_S - H_I)/H_S = (0,4691 - 0,4875)/0,4691 = -0,0393$, fapt ce indică un exces de outcross.

$F_{ST} = (H_T - H_S)/H_T = (0,4858 - 0,4691)/0,4858 = 0,0344$, fapt ce indică o diferențiere genetică redusă între subpopulații.

CAP. 4. EXTINCȚIA - LIMITA EXTREMĂ A EROZIUNII GENETICE

4.1. Ce este extincția, situația actuală și principalii factori ai extincției

De la apariția vieții pe Terra (în urmă cu 3.500 milioane de ani) și până în prezent, biodiversitatea a fost supusă efectelor fenomenelor naturale (factori climatici, tectonici, genetici, astronomici), care au avut diferite influențe asupra acesteia. Astfel, în timp ce unele specii s-au adaptat și au evoluat, altele au dispărut.

Ecologia conservacionistă este ramura științifică care studiază fenomenul speciilor de plante și animale periclitare, având drept scop reabilitarea sustenabilă a populațiilor și ecosistemelor (Iwasa și colab, 2000).

O specie este considerată ca fiind pe cale de dispariție, doar când un număr restrâns de indivizi supraviețuiesc, dar aceștia nu se pot reproduce din diferite cauze, cum ar fi: sănătate precară, vârstă, distribuție rară în spațiu, lipsa indivizilor de ambele sexe (la unele specii), sau alte motive.

Speciile care nu sunt declarate ca fiind dispărute, sunt numite *existente*, iar cele care sunt amenințate de dispariție se numesc *specii amenințate* sau pe cale de dispariție. În prezent multe specii se găsesc în pericol de extincție.

Extincția reprezintă încetarea existenței unei specii sau grup de taxoni și de cele mai multe ori, când nu este vorba de fenomene naturale ce au condus la extincția în masă, are la origine reducerea diversității genetice, sau eroziunea genetică.

Termenul *extincție* se utilizează cu multiple sensuri, astfel:

- *extincție funcțională* - când doar câțiva indivizi supraviețuiesc, și nu se află în incapacitate de a se reproduce datorită vârstei, stării de sănătate, distribuției spațiale, lipsei partenerilor de ambele sexe etc.

- *extincția locală* - când o anumită specie dispare dintr-o anumită regiune, dar ea poate exista în altă regiune. Există, de asemenea, noțiunea de *extincție în sălbăticie*, în cazul speciilor care mai supraviețuiesc doar în grădinile zoologice, în condiții artificiale. Deși nu este întotdeauna posibil, se încearcă reintroducerea în sălbăticie a unor specii păstrate în condiții artificiale.

În decursul evoluției, unele specii dispar și apar unele specii noi. Dispariția unor specii apare și în condițiile în care specia nu mai este capabilă să supraviețuiască în condiții noi de mediu sau în noi condiții de competiție. De multe ori extincția unei specii este urmată de extincția altor specii cu care este în relație, fenomen cunoscut sub denumirea de *lanț al extincției*.

- *extincțiile în masă* - sunt fenomene mai rar întâlnite, față de extincțiile locale. Cele mai multe situații ale speciilor aflate pe cale de dispariție nu sunt documentate din punct de vedere științific.

- *coextincția* - se referă la pierderea unei specii datorită unei alte specii extinse; de exemplu, dispariția insectelor parazite ca urmare a pierderii gazdelor lor, sau când o specie își pierde polenizatorii, sau când animalele de pradă își pierd principala hrană din lanțul alimentar. Coextincția dintre specii este un fenomen de interconexiune a organismelor în sistemele biologice naturale (Koh și colab., 2004).

- *pseudoextincția* - reprezintă extincția unei specii parentale, dar din care au derivat și au supraviețuit unele specii noi. Cu alte cuvinte, termenul se referă la evoluția unei specii într-o formă nouă, totodată producându-se extincția formei ancestrale (Newman și Palmer, 2003).

Unul din cele mai cunoscute exemple este cel al *Archaeopteryx*, un dinozaur de dimensiuni reduse din perioada mezozoică (fig. 4.1), din care se consideră că au evoluat păsările moderne.

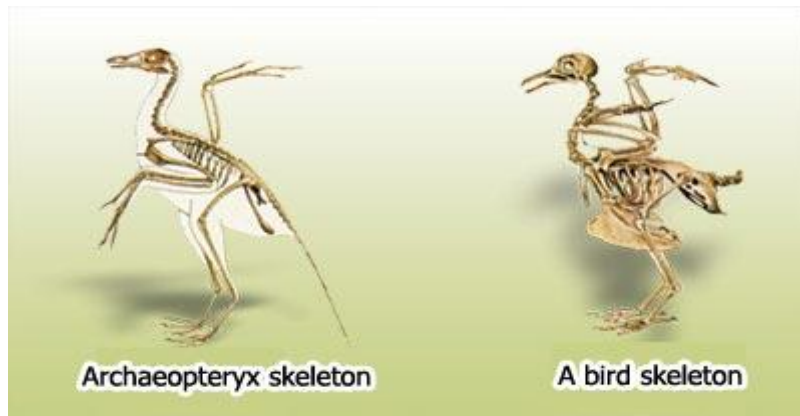


Fig. 4.1 Comparație între scheletul de *Archaeopteryx* și pasărea modernă
(Sursa: <https://www.socratic.org>)

Speciile noi păstrează majoritatea informației genetice a speciei parentale. Foarte cunoscut este cazul speciei dispărute *Hyracotherium*, strămoșul calului, de la care au derivat speciile de *Equus*, incluzând calul, zebra și asinul (fig. 4.2).

Se consideră că speciile „fiice” (formele evoluate), care evoluează dintr-o „specie mamă” (specie sălbatică), păstrează cele mai multe informații genetice. Dispariția „speciei mamă”, chiar dacă forma evoluată încă există, duce la fenomenul de pseudoextincție. Dinozaurii sunt considerați specii pseudoextincte de la care au derivat păsările.

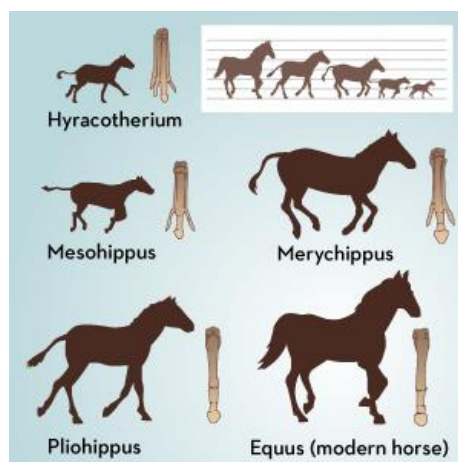


Fig. 4.2. Evoluția speciei *Hyracotherium*, strămoșul calului
(sursa: <http://openstudy.com>)

Momentul extincției este considerat, din punct de vedere teoretic, moartea ultimului individ dintr-o anumită specie, deși tendința spre extincție se manifestă cu mult înainte, situație în care speciile se consideră în pericol de extincție. Evident că, practic, momentul extincției este greu de stabilit și se face de multe ori retrospectiv.

Un astfel de studiu realizat în cadrul Universității Concordia din Montreal, Canada, se bazează pe un model matematic, care arată modul în care actuală distribuție a caracteristicilor morfo-fiziologice ale speciilor, ne poate ajuta la explicarea modului în care evoluția acestora s-a desfășurat de-a lungul timpului. "Istoria completă a procesului evolutiv al unei anumite specii, poate fi descrisă în detaliu cu ajutorul unui arbore genealogic, numit Yule Tree (arborele Yule)" (Popovic Lea și Mariolys Rivas, 2016) (Fig. 4.3).

Aceste modele matematice ne pot ajuta în determinarea diferitelor elemente ale acestui proces de evoluție/involuție și/sau extincție al speciilor. „Reconstituind procesul evolutiv al unei specii, a fost o provocare majoră, pentru oamenii de știință, de zeci de ani, rezultând astfel mult mai multe necunoscute, mai ales asupra fenomenului de extincție totală al acestora,, (Lea Popovic și Mariolys Rivas, 2016).

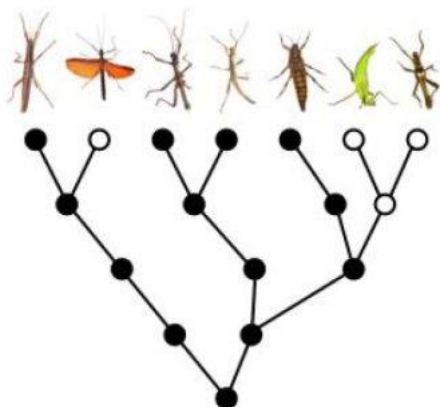


Fig. 4.3. Proces evolutiv al unei specii de insecte, descris cu ajutorul arborelui genealogic - Yule Tree (specie existentă – punct negru; specie dispărută – punct alb), (sursa: Popovic și Rivas, 2016)

4.2 Situația extincției la nivel mondial

Apariția și ulterior evoluția omului a constituit un nou factor destabilizator al biodiversității. Astfel, în prezent, principalii factori responsabili de reducerea biodiversității sunt, distrugerea habitatelor naturale și poluarea.

Conform „The Nature Conservancy” (1992), numai 13% din cele aproximativ 14 milioane de specii de pe Pământ sunt descrise de oamenii de știință, iar dacă omul va interveni continuu asupra resurselor biologice necontrolat, rata de dispariție a speciilor va crește și se va accelera.

Până în momentul de față, aproximativ 44% din pădurile umede tropicale au fost distruse, cu o rată de peste 100.000 km² pe an. Un procent de 15 - 20 din totalitatea speciilor dispărute se datorează distrugerii pădurii tropicale. Această rată este de aproape 10.000 de ori mai ridicată decât cea existentă înaintea apariției omului (Ghidra și colab., 2004, citat de Pop, 2008).

Cei mai mulți oameni de știință, consideră că rata de dispariție a speciilor este mai mare în prezent, decât în orice alt moment din istoria Pământului. Se estimează că până la jumătate din speciile de plante și animale existente în prezent, ar putea dispărea până în 2100 (Wilson, 2002).

Deasemenea, Leakey și Lewin (1995), sunt de părere că, circa 50% din totalul speciilor vor dispărea în termen de 100 ani, iar o astfel de dispariție dramatică, în masă, va amenința continuarea vieții pe Terra, chiar și a omului (cel responsabil pentru această criză).

Cu toate că extincția, este considerată ca fiind un fenomen natural, ea are loc la o rată de fond de aproximativ una până la cinci specii pe an. Dar, oamenii de știință estimează că pierderile, de fapt, sunt mult mai mari, de la 1.000 până la 10.000 ori rata de fond, astfel, speciile pierdute zilnic sunt de ordinul zecilor (Chivian și colab., 2008).

„În fiecare zi, aproximativ 100 de specii de plante și animale sunt pierdute în urma defrișărilor"... "O estimare conservatoare a ratei de extincție actuală, indică faptul că aproximativ 27.000 de specii se pierd anual" (Federația

National Wildlife, www.nwf.org).

Problema nu este doar pierderea de specii. Fenomenul extincției atrage după sine și pierderea diversității genetice în cadrul speciilor, precum și pierderea diversității diferitelor tipuri de ecosisteme, care pot contribui la grăbirea dispariției întregii specii.

Pentru cunoașterea speciilor rare, amenințate cu dispariția și pentru a se putea lua măsuri preventive pentru salvarea lor, **IUCN** (Uniunea Internațională pentru Conservarea Naturii) a elaborat așa numita „Lista roșie” a speciilor amenințate (disponibilă pe site-ul www.redlist.org).

Fiecare stat a întocmit lista roșie a sa, cu speciile vulnerabile sau periclitare de dispariție, cu scopul explicit de a permite luarea celor mai adecvate măsuri pentru salvarea sau evitarea dispariției speciilor proprii la nivel național cuprinse în această listă (Pop, 2008).

Conform „listei roșii” a speciilor în pericol de extincție, dată de IUCN în 1963, în funcție de rata de declin, mărimea populației, aria de distribuție geografică și gradul de fragmentare a populației și a distribuției, pot fi identificate nouă categorii (<http://www.iucnredlist.org>) (Fig. 4.4):

- Specii extinse (EX) – specii dispărute din flora sau fauna unei țări.
- Specii extinse în sălbăcie (EW) – specii ai căror unici indivizi sunt menținuți în captivitate.
- Specii foarte periclitare (CR) – specii a căror număr de indivizi s-a redus, sau se va reduce cu 80% în decursul a trei generații.
- Specii periclitare (EN) – specii ai căror indivizi prezintă riscul de a dispărea deoarece sunt în număr mic sau sunt amenințați de schimbările de mediu sau de numărul mare de prădători specifici.
- Specii vulnerabile (VU) – specii care pot deveni periclitare în cazul în care nu încetează acțiunea factorilor care le amenință supraviețuirea și nu se ameliorează rata de reproducție din cadrul lor.
- Specii amenințate (NT) – specii care pot fi amenințate cu extincția în viitorul

apropiat, deși în prezent nu se încadrează ca periclitate.

- Specii cu prioritate redusă (LC) – specii care, în urma evaluării, nu se încadrează în altă categorie (amenințate, vulnerabile etc.)
- Specii indeterminate sau incerte (DD) – specii cu privire la care informația existentă nu este suficientă pentru a se putea decide statusul de conservare.
- Specii neevaluate (NE) – specii care nu au fost încă evaluate pentru a fi incluse în una din categoriile de mai sus.

În figura de mai jos, se poate observa clasificarea speciilor în cele nouă categorii de status de conservare.

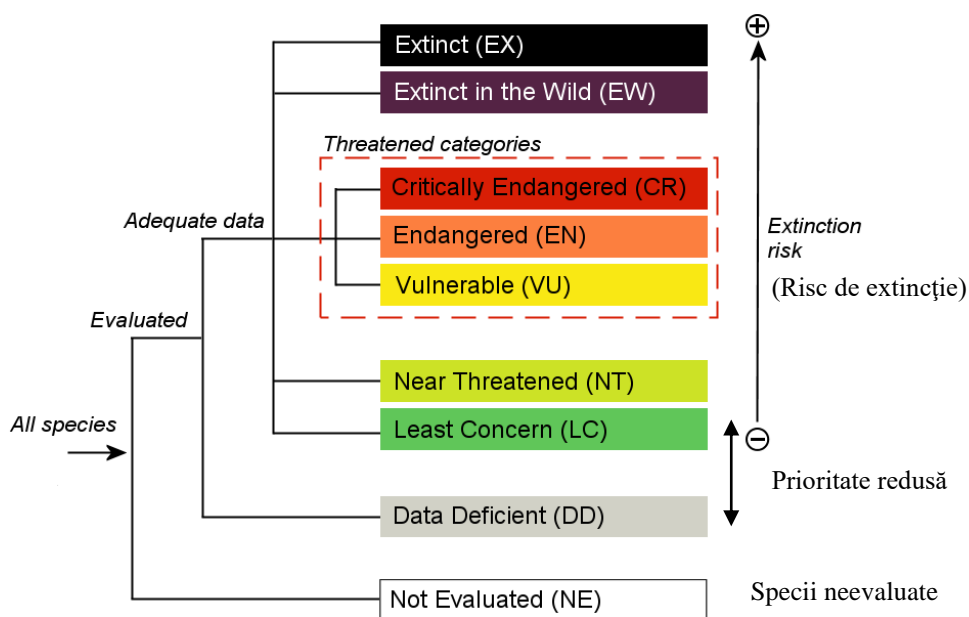


Fig. 4.4. Cele nouă categorii de status de conservare al speciilor, după lista roșie a IUCN (sursa: www.iucnredlist.org)

Listele roșii se întocmesc periodic (din zece în zece ani) și se urmărește evoluția speciilor, trecerea lor dintr-o categorie în alta sau ieșirea lor de sub amenințare cu dispariția, ori din contră intrarea altor specii pe listă. Listele roșii se pot face pe plan național, provincial, județean etc. Listele pot cuprinde specii

de plante și animale sau numai specii vegetale sau numai specii de animale. Ele pot fi și mai înguste, în sensul că pot include anumite încrângături sau clase de animale și plante (ex. cormofite și talofite sau alge, ciuperci, licheni, mușchi ori vertebrate și nevertebrate ori mamifere, păsări, reptile, batracieni, pești, fluturi, coleoptere, gasteropode, lamelibranhiate etc.) (Curtean Angela, 2007).

Pentru a aborda problemele menționate mai sus, proporția speciilor amenințate este raportată doar pentru grupurile mai complet evaluate (adică, >80% din specii au fost evaluate). De asemenea, procentajul raportat de specii amenințate pentru fiecare grup este prezentat ca o estimare optimă într-un interval de valori posibile, delimitat de estimări inferioare și superioare.

Estimare inferioară – reprezintă procentul de specii existente amenințate și EW dacă toate speciile DD nu sunt amenințate, adică raportul dintre $(EW + CR + EN + VU) / (\text{total evaluate} - EX)$.

Estimare optimă – reprezintă procentul de specii existente amenințate și EW dacă speciile DD sunt amenințate în aceeași proporție ca speciile pentru care există suficiente date, adică $(EW + CR + EN + VU) / (\text{total evaluate} - EX - DD)$.

Estimare superioară – reprezintă procentul de specii existente amenințate și EW dacă toate speciile DD sunt amenințate, adică $(EW + CR + EN + VU + DD) / (\text{total evaluate} - EX)$.

De reținut că, deoarece riscul de extincție a fost evaluat pentru mai puțin de 5% din speciile descrise la nivel mondial (vezi tabele 1,2 de pe pagina www.iucnredlist.org), IUCN nu poate oferi o estimare precisă a numărului de specii amenințate de pe planetă.

În graficul de mai jos (fig. 4.5), sunt reprezentate procentele speciilor existente (excluzând cele dispărute) din Lista Roșie a Speciilor Amenințate a IUCN, Versiunea 2024-2, evaluate în fiecare categorie pentru grupurile evaluate mai cuprinzător (adică, cel puțin 80% din grup a fost evaluat) care conțin ≥ 150 specii. Speciile sunt grupate în clase (cu excepția coralilor care formează recifuri, peștilor de apă dulce și arborilor, care includ specii din mai multe clase)

și sunt ordonate conform liniilor roșii verticale, care indică cea mai bună estimare a proporției speciilor existente considerate amenințate (CR, EN sau VU) sau dispărute în sălbăticie (EW).

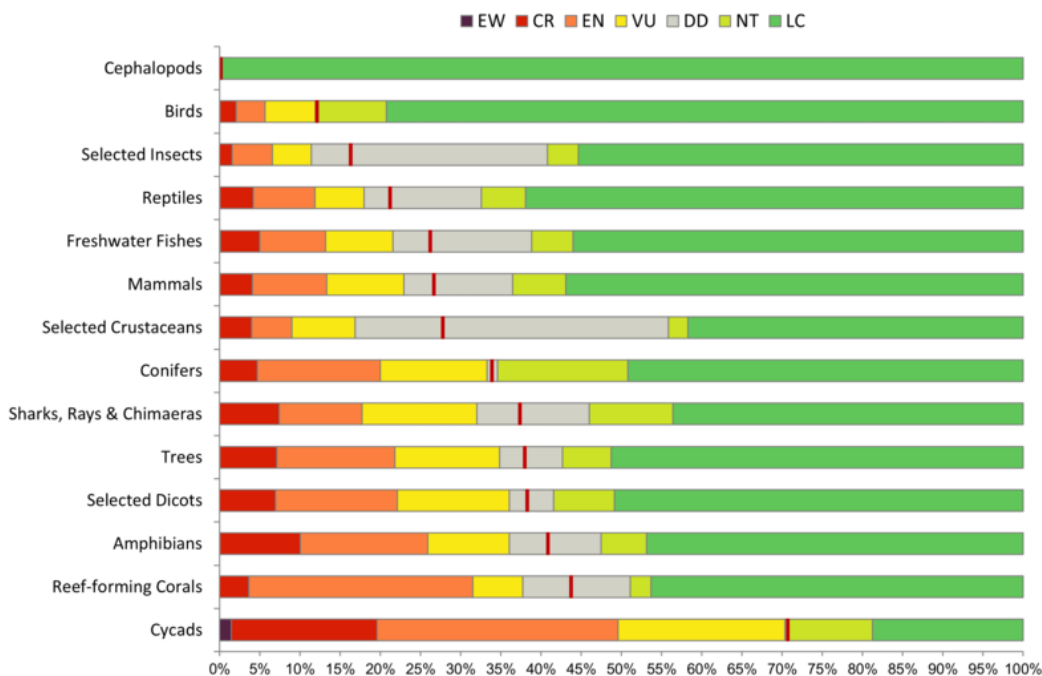


Fig. 4.5. Proporția speciilor existente (adică, excluzând cele dispărute) din Lista Roșie a Speciilor Amenințate a IUCN, Versiunea 2024-2. Numerele din dreapta fiecărei bare reprezintă numărul total de specii existente evaluate pentru fiecare grup. **EW** - Dispărut în sălbăticie, **CR** - Critic Periclitat, **EN** - Periclitat, **VU** - Vulnerabil, **NT** - Aproape Amenințat, **DD** - Date Insuficiente, **LC** - Risc Scăzut.
(sursa: <https://www.iucnredlist.org/>)

Cele mai bune estimări ale procentajului de specii amenințate (cu estimări inferioare și superioare) pentru fiecare grup sunt: cicade 71% (70-71%); corali care formează recifuri 44% (38-51%); amfibieni 41% (36-47%); dicotiledonate selectate¹ 38% (36-42%); arbori 38% (35-43%); rechini, raze și chimere 37% (32-46%); conifere 34% (34-35%); crustacee selectate² 28% (17-56%); mamifere 27% (23-36%); pești de apă dulce 26% (22-39%); reptile 21% (18-33%); insecte selectate³ 16% (11-41%); păsări 12% (12-12%); cefalopode⁴ 1,5% (1-57%).

4.2.1 Norme care reglementează transferul taxonilor între categorii

Pentru ca un taxon să fie mutat dintr-o categorie de status de conservare în alta, trebuie să îndeplinite următoarele norme de transfer:

- Mutarea unui taxon dintr-o categorie mare de risc, spre o categorie mică de risc, se poate realiza doar atunci când nici unul dintre criteriile categoriei superioare nu a fost îndeplinit pe o perioadă de minimum cinci ani. Astfel, în cazul în care taxonul urmează să fie mutat de la categoria (EW - Specii extinse în sălbăticie), ca urmare a restabilirii populației, această perioadă trebuie să fie de minim cinci ani, sau chiar mai mult, până când se produc urmași viabili.
- În cazul în care se constată că, clasificarea unui taxon a fost realizată eronat, acesta poate fi transferat într-o categorie potrivită lui, sau eliminat imediat din orice categorie cu risc de amenințare, dar nu înainte de a fi revizuite criteriile de evaluare a acestuia.
- Transferul din categoriile mai mici într-o categorie cu un risc mai mare, trebuie să se realizeze fără întârziere.

Criteriile pentru realizarea transferului unui taxon dintr-o categorie în alta, se bazează pe următoarele informații:

1. **Date actuale despre categorii:** Schimbarea în categorie este rezultatul unei schimbări reale de stare, care a avut loc de la evaluarea anterioară. Adică se prezintă schimbări reale, față de evaluarea anterioară. De exemplu, schimbare la nivelul ratei de declin, scăderea dimensiunii unei populații, a habitatului sau a ariei de acoperire a acesteia, toate acestea fiind evaluate luându-se în considerare criteriile de clasificare deja existente.
2. **Reevaluarea categoriei.** Se realizează o reevaluare a taxonilor de cel puțin trei ori. Acest lucru este necesar pentru a aduce modificări criteriilor de evaluare a unei categorii, într-o anumită perioadă de timp corespunzătoare pentru a recalcula Indexul Listei Roșii. Schimbarea criteriilor de evaluare din cadrul categoriei, se bazează pe noi informații bine documentate și reale.

3. **Informații reactualizate.** Schimbarea din categorie se bazează pe noi informații actuale aduse taxonului respectiv (de exemplu: estimari mai bune despre mărimea și dimensiunea populației, despre rata de declin a acesteia).
4. **Reîncadrare taxonomică.** Se bazează pe informații noi referitoare la încadrarea taxonomică a unui taxon. Se realizează o nouă evaluare și o nouă reîncadrare taxonomică, diferită față de cea anterioară. Aceste modificări se bazează pe următoarele: o nouă încadrare a taxonului (taxonul este clasificat ca și specie); o nouă descriere (datorită noii încadrări, taxonul este descris ca și specie), se realizează o nouă catalogare a taxonului; se consideră invalide datele legate de descrierea anterioare, datorită reconsiderării acestuia ca nouă specie, hibrid sau variantă.
5. **Greșeli de încadrare.** Categoria anterioară a fost aleasă din eroare, deoarece evaluatorul a înțeles greșit criteriile IUCN Red List.
6. **Date incorecte.** Categoria anterioară a fost aleasă dintr-o eroare, deoarece s-au utilizat date incorecte pentru taxon (de exemplu, datele menționate aparțin unui alt taxon).
7. **Alte motive.** Schimbarea în altă categorie depinde de alte motive, dar care nu pot fi încadrate la nici unul dintre punctele anterioare și necesită explicații suplimentare (Guidelines for using the IUCN Red List categories and criteria. Version 12).

Motivația potrivită pentru a realiza o schimbare și/sau un transfer între categoriile Listei Roșii, a unui taxon, necesită o analiză foarte atentă. Majoritatea transferurilor între categorii se bazează pe informații actuale, reale și complexe legate de starea de deteriorare sau de îmbunătățire a unei populații. Astfel, termenul de “original” (se referă la o schimbare originală, reală, care poate fi operată în cadrul Listei Roșii), se utilizează în situația în care calitatea și cantitatea informațiilor (de exemplu, schimbarea mărimii populației, declinul ratei de supraviețuire datorită unor noi factori, intervalul de schimbare a dimensiunii populației), sunt suficiente și relevante, încât să se poate trece peste pragul categoriei aferent Listei Roșii.

De exemplu: o anumită specie a fost clasificată ca fiind *specie periclitată* (EN), având o populație de 150 de indivizi. După o reevaluare s-a stabilit că poate fi trecută într-o altă categorie, și anume la *specii vulnerabile* (VU), deoarece populația ei este în acest moment estimată la 400 de indivizi. Noua estimare se bazează pe rezultatul descoperirii unei noi subpopulații de 50 indivizi; astfel populația a crescut de la 150 la 350 de indivizi. Această informație, legată de creșterea numărului de indivizi în populația respectivă, este suficientă pentru ca populația să fie transferată la o altă categorie din Lista Roșie și să fie codificată ca fiind "originală" (actuală) (Guidelines for using the IUCN Red List categories and criteria. Version 12).

Un *alt exemplu* de transfer între categoriile Listei Rosii, este situația speciei *Mauritius Kestrel* (*Falco punctatus*) (fig. 4.6), o specie de pasăre din pădurile Mauritius, care a fost transferată de la categoria Specii foarte periclitare (CR) stabilită în 1988, la categoria Specii periclitare (EN) după o reevaluare a acestei populații, în 1994.

Această informație a fost codificat ca fiind „originală” (actuală) având următoarea nota explicativă: "Populația a crescut de la opt perechi înregistrate în 1987-1988 la 56-68 de perechi în 1994, ca urmare a interdicției privind vânătoria lor" (Guidelines for using the IUCN Red List categories and criteria. Version 12).

După eforturi considerabile de conservare pionierate de Carl G. Jones și Abdool Wahab Owadally, numărul păsărilor a crescut până la aproximativ 400 în 2019. Această realizare în domeniul conservării este considerată unul dintre cele mai de succes și mai bine documentate proiecte de restaurare a unei specii de păsări din lume. În martie 2022, a fost declarată pasărea națională a Mauritius (<http://wildlifepreservation.ca/blog>).



Fig. 4.6 Aspecte ale speciei Mauritius kestrel (*Falco punctatus*)
(sursa: <https://en.wikipedia.org/>)

4.3 Influența factorului antropoc asupra extincției

Primele semnale legate de fenomenul de extincție, au fost lansate în urmă cu peste 100 de ani, iar după cel de-al doilea război mondial, preocuparea pentru biodiversitate și salvarea ei a devenit mai consistentă, cu implicații și rezultate pozitive în țări ca SUA, Franța, Anglia, Germania, Suedia, intrând în atenția internațională a centrelor politice: Organizația pentru Agricultură și Alimentație (FAO) de pe lângă ONU, Institutul Internațional pentru Resurse Genetice IPGRI, UNESCO etc.

Mills Scott (2009) este de părere că „atât timp cât unele specii au evoluat, alte specii au fost pe cale de dispariție”. Se estimează că peste 99,9% din toate speciile care au trăit vreodată sunt dispărute. Durata medie de viață a unei specii este de 1-10 milioane de ani.

După cum afirmă Ghidra și colab. (2004), principalele activități care afectează echilibrul natural și biodiversitatea sunt: agricultura, defrișările, vânătoarea și pescuitul și poluarea mediului. Efectele negative ale acestor activități pot fi *directe*, asupra speciilor, prin faptul că mediul devine toxic, sau *indirecte*, prin limitarea capacității speciei de a concura eficient pentru resursele diminuate sau împotriva noilor specii apărute în acel areal.

În fața omenirii s-a ivit o nouă problemă globală, de o complexitate deosebită, privind menținerea vieții și asigurarea continuității acesteia pe planetă, datorită accentuării dramatice a fenomenului de dispariție a speciilor.

Principalele cauze fundamentale ale degradării și pierderii speciilor sunt, cauzate de factor antropic, omul. Astfel:

- *Supraexploatarea* de către oameni, amenință circa 25% din speciile de vertebrate periclitare din SUA și aproape 50% din speciile de mamifere aflate în pericol (Wilcove și colab., 1999).

Supraexploatarea resurselor a fost rapidă atunci când s-au dezvoltat piețe dedicate unor anumite specii (comerțul internațional cu blănuri a determinat reducerea numărului de exemplare ale speciilor de chinchilla *Cinchilla* sp.), lama vigonia (*Vicugna vicugna*), vidra uriașă (*Pteronura brasiliensis*) și a felinelor sălbatice (Primack și colab., 2002).

- *Distrușgerea, fragmentarea și degradarea* habitatelor atrag după sine restrângerea sau chiar extincția speciilor care le populează (resursele de hrană sunt distruse odată cu habitatul, situație care forțează speciile să migreze spre noi medii, la care nu sunt adaptate. În acest context, speciile în cauză sunt defavorizate de la selecția naturală).

- *Agricultura mecanizată și chimizată* (utilizarea pesticidelor și a fungicidelor) a provocat în unele cantoane din Elveția, reducerea masivă și chiar dispariția unui număr însemnat de specii de fluturi diurni (în ultimii 150 de ani, aceste specii au dispărut în proporție de cca. 49% din regiunea Bernei, 28% în cantonul Thurgovie, 11% în regiunea Seeland Chasseral și 7% în împrejurimile Genevei).

- *Globalizarea și numărul redus al consumatorilor de produse tradiționale.* Agricultură de tip intensiv este dominată de marile companii transnaționale, care folosesc doar câteva tipuri de semințe pe tot mapamondul, afectând diversitatea biologică a Terrei.

- *Dispariția continuă a comunităților tradiționale.* Generația mai tânără are tendința de a părăsi zonele rurale, și odată cu pierderea vechilor generații se pierd și vechile obiceiuri legate de practici tradiționale, plante și semințe de plante, dar și informațiile referitoare la cultivarea semințelor tradiționale și deci, are loc sărăcirea agrobiodiversității.

- *Situația financiară a cultivatorilor de semințe tradiționale.* În cazul legumelor în special, eroziunea genetică a acționat foarte violent, țăranii din zonele producătoare nerezistând pe piață cu semințele lor tradiționale.

- *Insuficienta promovare a importanței soiurilor tradiționale.* Un exemplu ilustrativ este cel al soiurilor de viță de vie românești - părăsirea vechilor soiuri românești în favoarea unor soiuri noi, importate, odată cu care vin și dăunătorii specifici.

În 1884 a apărut în țara noastră o insectă dăunătoare a viței de vie, care atacă rădăcinile din sol - Filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*) - care a dus la distrugerea podgoriilor și, odată cu acestea și a soiurilor vechi românești. Ca urmare, au fost făcute cu ușurință și la întâmplare importuri de vițe străine din toate colțurile lumii, în paralel cu părăsirea vechilor soiuri românești.

În urma pagubelor filoxerice și după haosul replantărilor ce au avut loc în România, soiurile tradiționale au fost din ce în ce mai puțin cultivate, unele dintre ele dispărând pentru totdeauna din cultură.

- *Probleme la nivelul băncilor de gene.* În lipsa terenurilor pentru cultivarea periodică a semințelor și din cauza unei slabe colaborări cu cultivatorii din regiunile de unde provin semințele, de multe ori, semințele conservate zeci de ani în depozitele băncilor s-au degradat, nemaiputând fi însămânțate. Pe lângă păstrarea semințelor în bănci de gene, este esențială și

cultivarea lor pe câmp, în zonele de origine. Acolo unde ele se adaptează la factorii de stres: la secetă, la temperaturi scăzute, la boli și dăunători.

Gebhard Rossmann, producător agronom de semințe tradiționale de cereale, fructe și legume din Germania, este de părere că “*Sănătatea și gustul specific al legumelor, fructelor și cerealelor provine din interacțiunea lor cu mediul de origine*”.

- *Poluarea fizică, chimică și biologică* poate afecta, de la caz la caz, într-o mică sau mare măsură, speciile vegetale și animale, inclusiv mediile de viață ale acestora; astfel, unele specii de licheni pot avea sensibilități diferite la emisiile atmosferice ale surselor industriale; acidifierea lacurilor din Scandinavia, datorată poluării atmosferice provenită de la surse industriale din țări ale Europei și din America de Nord, a condus la dispariția progresivă a speciilor acvatice (moluște, insecte, crustacee, pești și amfibieni).

- *Poluarea genetică*. Evoluția speciilor sălbatice, în specii cultivate, datorită proceselor de ameliorare, de hibridizare necontrolată, a inginerie genetice, tendința de omogenizare a speciilor, duc la reducerea variabilității speciilor. Populațiile endemice se pot confrunta cu fenomenul de extincție atunci când sunt înlocuite de noi specii sau varietăți de plante create prin programele de ameliorare (Rhymer și Simberloff, 1996).

De reținut: Varietatea mare de informații genetice în cadrul unei populații, denotă un fond genetic bogat, lucru specific populațiilor puternice, care pot supraviețui unor factori de stres. Spre diferență de populațiile cu o diversitate genetică redusă (datorită hibridărilor sau a reducerii dimensiunii populației), rata de supraviețuire scade, iar șansa de extincție este ridicată (Lindenmayer și colab., 2003).

CAP. 5 ESTIMAREA EROZIUNII GENETICE PE BAZA MĂSURĂRII VARIABILITĂȚII ȘI DIVERSITĂȚII GENETICE

5.1. Caractere calitative și cantitative- caracteristici

Prin măsurarea eșalonată a variabilității genetice se poate estima măsura în care este diminuată variabilitatea genetică în timp, deci se poate estima eroziunea genetică.

Măsurarea variabilității genetice poate să vizeze, la nivelul unei populații, caractere calitative sau caractere cantitative. În cazul caracterelor calitative, ce se referă la particularități individuale ce nu pot fi măsurate, cum ar fi culoarea bobului la mazăre, caractere ce sunt controlate monogenic sau oligogenic, se operează cu frecvențe (frecvențe ale genotipurilor sau frecvența alelelor). Genele ce controlează caracterele calitative se mai numesc și gene majore, deoarece acestea au, fiecare în parte, un efect major asupra fenotipului. Datorită determinismului genetic relativ simplu și datorită faptului că mediul are o influență relativ redusă asupra caracterelor calitative, variabilitatea acestora este discontinuă, alternativă (Tămaș și Botez, 2013).

În cazul caracterelor cantitative, ce se referă la particularități individuale ce pot fi măsurate, cum ar fi numărul de boabe pe știulete la porumb, caractere ce sunt controlate poligenic, se operează cu valori medii și varianțe. Poligenele ce controlează caracterele cantitative se mai numesc și gene minore deoarece, fiecare în parte, au un efect minor și interschimbabil asupra fenotipului. La fiecare locus pot să existe două alele, una ce poate contribui semnificativ la manifestarea fenotipului, considerată alelă contribuitoare. Alelele contribuitoare de la diferiți loci au, de cele mai multe ori, un efect cumulativ sau aditiv. Cealaltă alelă este considerată neutrală, efectul acestora de la diferiți loci nefiind aditiv asupra fenotipului. Între alelele contribuitoare și neutrale se pot stabili

relații intraalelice de dominanță și recesivitate, după cum, alelele contribuitoare pot manifesta, la rândul lor, efecte pleiotrope, iar între alelele contribuitoare de la diferiți loci se pot stabili relații de interacțiune nealelică sau de epistazie. Efectul fenotipic al poligenelor, prin alelele lor contribuitoare, nu este întotdeauna aditiv. Din acest punct de vedere există mai multe sisteme poligenice:

- sistemul polimer, pentru care efectul fenotipic al poligenelor este egal și aditiv;
- sistemul anizomer, pentru care efectul fenotipic al poligenelor este inegal dar aditiv;
- sistemul opozițional, pentru care efectul fenotipic al poligenelor este inegal și antagonic;
- sistemul multiplicativ, pentru care efectul fenotipic rezultă în urma interacțiunii poligenelor, ce își pot amplifica sau diminua reciproc activitatea;
- sistemul oligo-poligenic, pentru care poligenele pot acționa ca gene modificatoare asupra oligogenelor, având ca efect exprimarea graduală, în intensități diferite, a unor caractere calitative (Tămaș și Botez, 2013).

Datorită determinării complexe a caracterelor cantitative nu se poate stabili valoarea individuală a fiecărei gene și de aceea, analiza variabilității caracterelor cantitative se face la nivelul manifestării fenotipice a complexului de gene prin metode statistice și reprezintă obiectul geneticii cantitative. Parametrii statistici sunt reprezentați de efecte medii și varianțe. Datorită complexității determinismului genetic caracterele cantitative sunt, în mare măsură, influențate și de condițiile de mediu și ca urmare prezintă o variabilitate de tip continuu.

În continuare vom prezenta câteva particularități ale transmiterii ereditare, sub aspectul valorilor medii și ale varianței în descendențele filiale, în cazul tipului polimer. Dacă considerăm două forme parentale a căror valori medii în privința unui caracter sunt:

\bar{X}_1 și \bar{X}_2 cu varianțele s^2_1 și s^2_2 ,

- valoarea medie a caracterului precum și varianța în generația F_1 va fi egală cu media valorilor formelor parentale;

- valoarea medie a caracterului în generația F_2 este, în continuare egală cu media formelor parentale, în schimb varianța generației F_2 cuprinde limitele de variație a celor două forme parentale.

Transgresiunea. În cazul în care formele parentale nu reprezintă formele extreme, în sensul că unei forme parentale, deși cu majoritatea alelelor contribuitoare, îi lipsesc câteva care se găsesc în schimb la forma parentală ce are majoritatea alelelor neutrale, pot să apară forme transgresive a căror valori depășesc limitele de variație a formelor parentale, fie în minus în cazul transgresiunilor negative, fie în plus în cazul transgresiunilor pozitive.

Efectul dominanței. Datorită dominanței, genotipuri diferite pot manifesta fenotipuri identice ($AA BB$) = ($Aa Bb$). Dacă părinții sunt diferiți în privința numărului de alele cu efecte dominante, în generațiile filiale se constată o deviere spre părintele cu mai multe alele dominante.

Efectul selecției în relație cu dominanța. Să presupunem că într-o populație supusă selecției, pentru care valoarea medie a unui caracter este \bar{P}_1 , se aleg 5% indivizi cu valori mari ale caracterului urmărit (presiunea de selecție de 5%), indivizi ce se constituie ca părinți, media părinților selecționați fiind \bar{P}_p . Diferența dintre valoarea medie a părinților selecționați și valoarea medie a populației supusă selecției reprezintă diferența de selecție ($S = \bar{P}_p - \bar{P}_1$).

Valoarea medie a descendenței părinților selecționați se notează cu \bar{P}_2 . Câștigul de selecție (R) reprezintă diferența între valoarea medie a celor două populații ($R = \bar{P}_2 - \bar{P}_1$). Datorită dominanței, valoarea medie a descendenței părinților selecționați este, de regulă, mai mică decât media valoarea medie a părinților selecționați și anume: $\bar{P}_2 < \bar{P}_p$ fenomen cunoscut și sub denumirea de regresie.

5.2. Măsurarea variabilității genetice prin metode specifice geneticii cantitative

Fenotipul reprezintă rezultatul interacțiunii dintre genotip și mediu. La nivelul efectelor medii acest lucru se poate scrie: $P = G + E$.

Componenta genetică este la rândul ei foarte complexă, fiind alcătuită din componenta aditivă, de dominanță, de interacțiune, citoplasmatică și nucleocitoplasmatică: $G = A + D + I + C + NC$

Componenta aditivă se datorează însumării efectelor poligenelor de la locii homozigoți: $A = KK + nn + \dots$, fiind stabilă în descendență.

Componenta de dominanță se datorează însumării efectelor poligenelor de la locii heterozigoți: $D = Ll + Mm + \dots$, fiind instabilă în descendență datorită segregării.

Componenta interacțiunii se datorează efectelor medii ce rezultă în urma interacțiunii dintre genele nealele sau epistaziei, ca abatere de la aditivitate. Aceasta, la rândul ei poate fi:

- interacțiune aditiv – aditiv: ce rezultă în urma interacțiunii locilor homozigoți:

$$I_{AA} = KK \times nn \times \dots, \text{ fiind relativ stabilă în descendență.}$$

- interacțiune dominant – dominant: ce rezultă în urma interacțiunii locilor heterozigoți:

$$I_{DD} = Ll \times Mm \times \dots, \text{ fiind relativ instabilă în descendență, datorită segregării.}$$

- interacțiune aditiv – dominant: ce rezultă în urma interacțiunii locilor homozigoți cu cei heterozigoți:

$$I_{AD} = (KK + nn + \dots) \times (Ll + Mm + \dots).$$

Componenta citoplasmatică se datorează însumării efectelor materne, iar componenta nucleo-citoplasmatică se datorează însumării efectelor de interacțiune între componenta nucleară și cea citoplasmatică.

La nivelul varianțelor, vom avea varianța genetică cu componentele ei: aditivă, de dominanță, de interacțiune, citoplasmatică și nucleo-citoplasmatică și reprezintă variabilitatea rezultată în urma diferitelor efecte, exprimată prin varianțe:

$$V_G = V_A + V_D + V_I + V_C + V_{NC}$$

Modelele matematice utilizate pentru determinarea diferitelor componente ale varianței genetice depind de particularitățile biologice și genetice ale materialului de analizat, legat mai ales de modul de polenizare (autogam sau alogam), precum și de gradul de aprofundare dorit, modele ce pot fi încadrate în următoarele grupe:

1. Modele ce se bazează pe analiza varianței unor descendențe genetic omogene;
2. Modele ce se bazează pe analiza genetică a populațiilor biparentale;
3. Modele ce se bazează pe analiza asemănărilor dintre părinți și descendenți (analiza regresiiilor);
4. Modele ce se bazează pe analiza genetică a sistemelor de încrucișări (ciclice sau dialele).

1. Analiza varianței (ANOVA) unor descendențe genetic omogene.

Modelul are o utilizare limitată deoarece se poate aplica doar în cazul unor descendențe omogene, cum ar fi liniile consangvinizate sau liniile clone pentru care varianța din interior este exclusiv de natură ecologică sau de mediu, iar varianța dintre linii fiind de natură genetică și de mediu. În același timp modelul permite doar determinarea varianței genetice totale.

Ca exemplu, se va analiza varianța privind lungimea știuletelui la trei linii consangvinizate de porumb (A, B, C). Pentru fiecare linie au fost măsurați 10 indivizi ($n=10$) și deci numărul total de măsurători $N=30$ (tabelul 5.1, după Botez și colab., 1995).

Tabelul 5.1

Datele brute privind lungimea știuletelui (cm) la trei linii consangvinizate de porumb (A, B, C)

Nr. crt.	Lungimea știuletelui (cm)			
	A	B	C	Σ
1	8,0	12,0	15,0	35,5
2	7,5	12,5	15,0	35,0
3	8,5	13,5	16,0	38,0
4	8,0	14,5	16,5	39,0
5	7,0	14,0	15,0	36,0
6	9,0	12,5	16,0	37,5
7	7,5	13,5	17,0	38,0
8	8,0	14,0	17,0	39,0
9	9,0	14,0	16,5	39,5
10	7,0	14,0	15,5	36,5
Σ	79,5	134,5	160,0	374,0

Pe baza datelor brute se calculează suma patratelor abaterilor pentru total (SPA_T), pentru linii (SPA_l) și între plante, în interiorul liniilor (SPA_i).

$$SPA_T = \sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{N} = 8,0^2 + 12,5^2 + 15,5^2 + \dots + 15,5^2 - \frac{374,0^2}{30} = \mathbf{354,47}$$

$$SPA_l = \frac{1}{n} (\sum X^2) - \frac{(\sum X_i)^2}{N} = \frac{1}{10} (79,5^2 + 134,5^2 + 160,0^2) - \frac{374,0^2}{30} = \mathbf{338,52}$$

În acest caz X reprezintă sumele pe linii.

SPA_i se obține prin diferența dintre total și lungime:

$$SPA_i = SPA_T - SPA_l = 15,95$$

Gradele de libertate corespunzătoare sunt:

$$GL_T = l \times n - 1 = 3 \times 10 - 1 = 29$$

$$GL_l = l - 1 = 3 - 1 = 2$$

$$GL_i = l(n-1) = 3(10-1) = 27$$

Prin raportarea sumei pătratelor abaterilor la gradele de libertate se obțin varianțele estimate și se poate trece la întocmirea tabelului de analiză a varianței (tabelul 5.2).

Tabelul 5.2

Tabel de analiză a varianței privind lungimea știuletelui la trei linii consangvinizate de porumb (model random)

Cauza variabilității	SPA	GL	Varianța	
			Estimată	Așteptată
Linii (l)	338,52	2	169,26	$\sigma_l^2 + n \sigma_1^2$
Între plante în interiorul liniilor (i)	15,95	27	0,59	σ_i^2
Total (T)	354,47	29	-	-

Varianța așteptată explică parametrii sau componenții observaționali ai varianței din care este constituită varianța estimată. Varianța estimată în interiorul liniilor, corespunde varianței așteptate ca și component observațional al varianței și estimează varianța datorată mediului sau varianța ecologică (V_E) ca și component cauzal al varianței.

Prin punerea în ecuație a varianței estimate cu varianța așteptată se poate determina componentul observațional al varianței dintre linii, degrevat de influența mediului, component ce estimează varianța genetică (V_G) ca și component cauzal al varianței.

$$s_i^2 = \sigma_i^2 = 0,59 = V_E$$

$$s_l^2 = \sigma_l^2 + n \sigma_1^2 = 169,26 \text{ de unde}$$

$$\sigma_1^2 = \frac{169,26 - 0,59}{10} = 16,87 = V_G$$

În continuare, se poate calcula varianța fenotipică (V_P) și coeficientul de heritabilitate în sens larg (h^2).

$$V_P = V_G + V_E = 16,87 + 0,59 = 17,46$$

$$h^2 = \frac{V_G}{V_P} = \frac{16,87}{17,46} = 0,97$$

Valoarea coeficientului de heritabilitate apropiată de unu, ne indică faptul că lungimea știuletelui este un caracter cu un puternic determinism genetic, fiind în același timp relativ puțin influențat de condițiile de mediu.

Dacă interesează interacțiunea genotip – mediu, se organizează experiențe în localități diferite. Astfel, să presupunem că s-au făcut măsurători în „L” localități la câte „n” indivizi aparținând la „l” linii. În acest caz tabelul de analiză a varianței va cuprinde următoarele (tabelul 5.3).

Tabelul 5.3

Tabel de analiză a varianței (după Căbulea, 1975)

Cauza variabilității	SPA	GL	s²
Linii (l)	SPA _l	l-1	V1
Localități (L)	SPA _L	L-1	V2
Interacțiune (Lxl)	SPA _{Lxl}	(l-1)x(L-1)	V3
Eroare (e)	SPA _e	lxL(n-1)	V4
Total (T)	SPA _T	lxLxn-1	-

De unde:

$$V_E = V4$$

$$V_G = \frac{V1 - V3 - V4}{n.L}$$

$$V_{G \times E} = \frac{V4 - V3}{n}$$

2. Analiza genetică a populațiilor biparentale

Populațiile biparentale rezultă în urma încrucișării a două forme parentale homozigote, ce se deosebesc evident în privința unui caracter cantitativ.

Se va prezenta un exemplu numeric referitor la lungimea paniculului la porumb (după East, 1913, citat de Căbulea, nepublicat). Fără a da datele primare, în tabelul 5.4 se prezintă valorile medii și varianțele pentru cei doi părinți (P_1 și P_2), pentru generațiile filiale F_1 și F_2 , precum și backcross-urile generației F_1 cu cele două forme parentale (F_1Bc_1 și F_1Bc_2).

Tabelul 5.4

Valorile medii și varianțele pentru lungimea paniculului la două forme parentale de porumb (P_1 și P_2), la descendenții F_1 și F_2 precum și la backcrossurile generației F_1 cu cele două forme parentale (F_1Bc_1 și F_1Bc_2)

Specificare	P_1	P_2	F_1	F_2	$F_1 Bc_1$	$F_1 Bc_2$
Media (\bar{X} în cm)	6,632	16,802	12,116	12,888	11,302	14,410
Varianța (s^2)	0,6658	3,5568	2,3073	5,0715	4,1732	4,5498

În cazul analizei genetice a populațiilor biparentale există trei niveluri de analiză ce permit diferite grade de aprofundare.

- Primul nivel permite separarea acțiunilor genetice (G) și de mediu (E).

În acest caz nu mai sunt necesare măsurătorile efectuate la backcross-urile generației F_1 cu cele două forme parentale.

Pe baza datelor din tabelul 5.4 se calculează influența mediului și a genotipului la nivelul efectelor medii și al varianțelor.

La nivelul efectelor medii avem:

- Influența mediului:
$$\bar{E} = \frac{\bar{X}P_1 + \bar{X}P_2 + \bar{X}F_1}{3} = 11,85$$

- Influența genotipului:
$$\bar{P} = \bar{G} + \bar{E}$$

Se știe că fenotipul reprezintă rezultatul acțiunii mediului asupra genotipului fapt ce este descris de relația de mai sus.

Dar valoarea medie a fenotipului (\bar{P}) corespunde valorii medii a generației F_2 deoarece valoarea medie a generației F_2 se datorează atât genotipului, ca urmare a segregării, cât și influenței mediului. De unde se poate obține contribuția genotipului la manifestarea fenotipului:

$$\bar{G} = \bar{P} - \bar{E} = 12,888 - 11,85 = 1,038.$$

La nivelul varianțelor avem:

$$V_E = \frac{VP1 + VP2 + VF1}{3} = 2,178$$

$$V_P = V_G + V_E$$

$$V_G = V_P - V_E = s_{F_2}^2 - V_E = 5,0715 - 2,178 = 2,8935$$

Și în acest caz se poate calcula *heritabilitatea în sens larg*.

$$h^2 = \frac{V_G}{V_P} = \frac{2,8935}{5,0175} = 0,57$$

Valoarea coeficientului de heritabilitate ne indică faptul că, acțiunile genetice determină 57% din variabilitatea caracterului, mediul având o contribuție de 43%.

b. Cel de al doilea nivel permite separarea componentelor aditive (A) și de epistazie (D + I) ale genotipului. În acest caz sunt necesare și măsurătorile efectuate la backcross-urile generației F_1 cu cele două forme parentale (vezi tabelul 4.4).

- Varianța fenotipică (V_P) este estimată de varianța generației F_2 care include:

$$V_P = s_{F_2}^2 = \frac{1}{2} V_A + \frac{1}{4} V_{(D+I)} + \frac{1}{4} V_E = 5,0715$$

Din datele prezentate în tabel vom avea:

$$V_E = \frac{VP1 + VP2 + VF1}{3} = 2,178$$

$$\frac{1}{2}V_A = 2 \cdot s_{F2}^2 - (s_{F1BC1}^2 + s_{F1BC2}^2) = 2 \cdot 5,0715 - (4,1732 + 4,5498) = 1,42$$

$$\frac{1}{4}V_{(D+I)} = s_{F2}^2 - \frac{1}{2}V_A - V_E = 5,0715 - 1,42 - 2,178 = 1,47$$

În continuare se pot calcula *coeficientul de heritabilitate în sens restrâns*, care ia în considerare varianța genetică aditivă, adică acea parte din varianța genetică totală transmisibilă la descendenți.

$$h^2 = \frac{(1/2)A}{V_p} = \frac{1,42}{5,0715} = 0,2799$$

Valoarea obținută a coeficientului de heritabilitate în sens restrâns ne arată că, în urma încrucișării celor două forme parentale, 27% din variabilitatea generației F₂ este fixabilă și transmisibilă ereditar.

c. Nivelul trei de aprofundare permite descompunerea varianței genetice neaditive în componentele ei (după Gamble, 1962).

Cu „a” se notează aditivitatea, cu „aa” se notează interacțiunea aditiv-aditiv, cu „ad” se notează interacțiunea aditiv-dominant și cu „dd” se notează interacțiunea dominant-dominant.

Se pleacă de la populația F₂ de referință, față de care celelalte populații au anumite structuri.:

$$F_2 = m;$$

$$F_1 = m + \frac{1}{2}d;$$

$$F_1Bc_1 = m + \frac{1}{2}a + \frac{1}{4}aa;$$

$$F_1Bc_2 = m - \frac{1}{2}a + \frac{1}{4}aa, \text{ dacă } P_2 \text{ este antagonist cu valori mai mici;}$$

$$P_1 = m + a - \frac{1}{2}d + aa - ad + \frac{1}{4}dd,$$

$$P_2 = m - a - \frac{1}{2}d + aa + ad + \frac{1}{4}dd;$$

La nivelul efectelor medii vom avea:

$m = \bar{F}_2$ și corespunde valorii medii a fenotipului;

$a = \overline{F_1 B_{c1}} - \overline{F_1 B_{c2}}$ și corespunde efectului mediu aditiv;

$d = \frac{1}{2}\bar{P}_1 - \frac{1}{2}\bar{P}_2 + \bar{F}_1 + 4\bar{F}_2 + 2\overline{F_1 B_{c1}} + 2\overline{F_1 B_{c2}}$ și corespunde efectului mediu de dominanță;

$aa = -4F_2 + 2\overline{F_1 B_{c1}} + 2\overline{F_1 B_{c2}}$ și corespunde efectului mediu de interacțiune aditiv-aditiv, între locii homozigoți;

$ad = -\frac{1}{2}\bar{P}_1 + \frac{1}{2}\bar{P}_2 + \overline{F_1 B_{c1}} - \overline{F_1 B_{c2}}$ și corespunde efectului mediu de interacțiune aditiv-dominant, între locii homozigoți și locii heterozigoți;

$dd = \bar{P}_1 + \bar{P}_2 + 2F_1 + 4F_2 - 4\overline{F_1 B_{c1}} - 4\overline{F_1 B_{c2}}$ și corespunde efectului mediu de interacțiune dominant-dominant, între locii heterozigoți.

La nivelul varianțelor vom avea:

$$V_m = V_{F2};$$

$$V_a = V_{F1Bc1} - V_{F1Bc2};$$

$$V_d = \frac{1}{4}V_{P1} + \frac{1}{4}V_{P2} + V_{F1} + 16V_{F2} + 4V_{F1Bc1} + 4V_{F1Bc2};$$

$$V_{aa} = 16V_{F2} + 4V_{F1Bc1} + 4V_{F1Bc2};$$

$$V_{ad} = \frac{1}{4}V_{P1} + \frac{1}{4}V_{P2} + V_{F1Bc1} + V_{F1Bc2};$$

$$V_{dd} = V_{P1} + V_{P2} + 4V_{F1} + 16V_{F2} + 16V_{F1Bc1} + 16V_{F1Bc2};$$

Cu ajutorul testului „t”, cunoscând varianțele, se poate estima și semnificația efectelor medii calculate, cum ar fi:

$$t_m = \frac{m}{\sqrt{V_m}}$$

3. Modele ce se bazează pe analiza asemănărilor dintre părinți și descendenți (analiza regresiiilor).

Modelul se bazează pe calcularea coeficientului de regresie (b) care indică valoarea cu care se modifică caracterul la descendenți atunci când, la părinți, se modifică cu o unitate de măsură. Această relație poate fi descrisă printr-o ecuație de *gradul I* cunoscută ca ecuația dreptei de regresie:

$$(y = a + bx)$$

În ecuație, „a” reprezintă nivelul la care dreapta taie axa OY

iar „b” indică panta dreptei de regresie.

Regresia se poate calcula între media părinților (\bar{X}) și media descendenților (\bar{Y}), sau între un părinte și media descendenților (atunci când caracterul urmărit se manifestă numai la un părinte ca în cazul producției de conuri la hamei). Aceasta reprezintă unul dintre cele mai simple modele pentru determinarea potențialului genetic din cadrul unei populații, cu mențiunea că, în dezvoltarea relației dintre covarianță și varianță, gradele de libertate au fost simplificate.

$$b_{x/y} = \frac{\text{cov}_{xy}}{V_x} = \frac{SPr A_{xy}}{SPA_x} = \frac{\sum XY - \frac{\sum X \sum Y}{N}}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}},$$

Ca și *exemplu* se poate da, regresia descendenților față de părinți privind profunzimea bobului la o populație de porumb (Tabelul 5.5). Profunzimea bobului este exprimată prin valoarea raportului între diametrul știuletelui cu boabe și diametrul coceanului în mm.

Tabelul 5. 5

Valorile medii privind profunzimea bobului de porumb la părinții și descendenții de la 10 cupluri parentale (după Căbulea, nepublicat)

Cuplul parental (perechi de plante)	Media părinților (\bar{X})	Media descendenților (\bar{Y})	X ²	Y ²	X:Y
1	2,9	2,9	8,41	8,41	8,41
2	3,0	3,0	9,00	9,00	9,00
3	3,2	3,1	10,24	9,61	9,92
4	2,9	3,0	8,41	9,00	8,70
5	3,0	3,0	9,00	9,00	9,00
6	3,1	3,0	9,61	9,00	9,30
7	3,1	3,1	9,61	9,61	9,61
8	3,0	2,9	9,00	8,41	8,70
9	3,0	3,0	9,00	9,00	9,00
10	3,0	2,9	9,00	8,41	8,70
Σ	30,2	29,9	91,28	89,45	90,34

$$\text{Cov}_{xy} = 90,34 - \frac{30,2 \cdot 29,9}{10} = 0,042 = \text{covarianța descendenți părinți}$$

(COV_{OP}) ce reprezintă $\frac{1}{2} V_A$, adică jumătate din varianța aditivă.

$$V_x = 91,28 - \frac{(30,2)^2}{10} = 0,076 = \text{varianța părinților (V}_P\text{) ce reprezintă}$$

$\frac{1}{2} V_P$, adică jumătate din varianța fenotipică.

$$\text{De unde avem: } b_{x/y} = \frac{0,042}{0,076} = 0,55 = \frac{V_A}{V_P} = h^2$$

Așadar, coeficientul de heritabilitate în sens restrâns, este de 0,55 ceea ce înseamnă că 55% din variabilitatea genetică a caracterului analizat este transmisibilă ereditar.

Dacă se urmărește analiza potențialului genetic în cadrul unui *policross*, ce presupune hibridarea în masă, mama este cunoscută, dar tata nu, în consecință se calculează coeficientul de regresie dintre un părinte (mama) și media

descendenților. În acest caz, varianța părinților (a mamelor) estimează varianța fenotipică (V_P), în timp ce covarianța descendenților față de părinți estimează jumătate din varianța aditivă. În consecință, coeficientul de regresie estimează jumătate din valoarea coeficientului de eritabilitate. În acest caz, calculându-se regresia față de părintele matern, se determină acea parte din varianța genetică aditivă atribuită mamei.

Ca exemplu, se va lua analiza numărului de lăstari pe plantă, în cadrul unei experiențe policross la *Lolium multiflorum* (Tabelul 5.6).

Tabelul 5.6

Numărul de lăstari pe plantă la zece plante mamă de *Lolium perenmultiflorum* dintr-o experiență policross (X), alături de valorile medii ale descendenților (\bar{Y}), (după Căbulea, nepublicat)

Planta mamă (X)	Valoarea medie la descendenți (\bar{Y})	X ²	Y ²	XY
12	14	144	196	168
11	15	121	225	165
12	14	144	196	168
10	14	100	196	140
13	13	169	169	169
11	14	121	196	154
12	14	144	196	168
10	13	100	169	130
12	14	144	196	168
11	13	121	169	143
Σ 114	139	1308	1937	1588

$$\text{Cov}_{xy} = 1588 - \frac{114 \cdot 139}{10} = 3,4$$

$$V_x = 1308 - \frac{(114)^2}{10} = 8,4; \quad b_{x/y} = \frac{3,4}{8,4} = 0,40 = \frac{1}{2} h^2$$

5.3 Modele ce se bazează pe analiza genetică a sistemelor de încrucișări

5.3.1 Modele bazate pe încrucișări ciclice

Modelele au fost puse la punct de Robinson și colab. (1952), de la Universitatea din Carolina de Nord și sunt cunoscute ca modele North Caroline (NC I, II și III), în funcție de modul în care se fac încrucișările în cadrul sistemului de analiză genetică.

a. Modelul NC I.

În cadrul acestui model câte un tată se încrucișează cu mai multe mame diferite din cadrul aceleași populații segregante. Se formează în acest fel mai multe familii de descendenți half SIB, ce provin de la câte un tată încrucișat cu mai multe mame. În acest fel, se caracterizează potențialul genetic al masculilor folosiți pe baza testării performanțelor descendenților cu diferite mame. Modelul este utilizat mai mult la animale, dar se poate utiliza și la populațiile de plante alogame, cum ar fi în cazul unor populații sintetice de porumb.

Să presupunem că s-au încrucișat „m” tați, fiecare cu „f” mame. Sămânța rezultată în urma încrucișărilor a fost semănată în „r” repetiții.

În acest caz, tabelul de analiză a varianței se prezintă după cum urmează (Tabelul 5.7).

Tabelul 5.7

Tabel de analiză a varianței pentru modelul de analiză NC I

Cauza variabilității	GL	Varianța estimată (s^2)
Total	$m \times f \times r - 1$	-
Repetiții	$r - 1$	-
Tați	$m - 1$	V_1
Mame	$m (f - 1)$	V_2
Rest	$(m \times f - 1)(r - 1)$	V_3

Componența, în parametrii genetici, a varianțelor estimate, este următoarea:

$$V_3 = \frac{1}{4} V_A + \frac{1}{16} V_{(D+I)} + V_E$$

$$V_{\text{masculi}} = \frac{V_1 - V_2}{r \cdot f} = \frac{1}{8} V_A$$

$$V_{\text{femele}} = \frac{V_2 - V_3}{r} = \frac{1}{8} V_A + \frac{1}{16} V_{(D+I)}$$

În cele din urmă, se determină heritabilitatea transmisă de masculi:

$$h^2 = \frac{4V_1}{V_1 + V_2 + V_3}$$

b. Modelul NC II

În cadrul acestui model, câte un tată se încrucișează cu aceleași mame. Este aplicabil pentru analiza capacității combinative generale a unor linii consangvinizate (f), utilizate ca mamă, ce se încrucișează cu mai mulți masculi (m), utilizați ca testeri.

Pentru a înțelege mai bine modul de calcul și analiza genetică, vom lua un exemplu numeric. Să presupunem că trei testeri au fost încrucișați cu șapte linii consangvinizate, iar descendenții au fost semănați în două repetiții. Rezultatele măsurătorilor privind producția de boabe (q/ha) sunt prezentate în Tabelul 5.8.

Tabelul 5.8

Producția de boabe (q/ha) a 7 linii consangvinizate de porumb (mame: f=L=7) încrucișate cu 3 testări (tați: m= T=3), obținută în două repetiții (r = 2), (după Căbulea, nepublicat)

Tester Linii	Repetiție	A	B	C	Σ Linie (ΣL)
1	I	70,2	75,6	72,0	217,8
	II	74,6	76,4	75,3	226,3
	Σ	144,8	152,0	147,3	444,1
2	I	82,6	78,9	83,3	244,8

	II	83,4	79,2	85,0	247,6
	Σ	166,0	158,1	168,3	492,4
3	I	77,4	82,1	78,5	238,0
	II	79,2	81,3	79,3	239,8
	Σ	156,6	163,4	157,8	477,8
4	I	68,7	75,2	69,3	213,2
	II	72,3	76,3	71,4	220,0
	Σ	141,0	151,5	140,7	433,2
5	I	90,2	85,5	83,4	259,1
	II	89,5	88,3	85,7	263,5
	Σ	179,7	173,8	169,1	522,6
6	I	65,0	72,0	68,0	205,0
	II	70,3	75,3	70,7	216,3
	Σ	135,3	147,3	138,7	421,3
7	I	81,3	83,4	82,5	247,2
	II	85,6	84,5	83,3	253,4
	Σ	166,9	167,9	165,8	500,6
Σ Tester ($\Sigma \cdot T$)		1090,3	1114,0	1087,7	$\Sigma\Sigma=3292,0$ $\Sigma RI=1625,1$ $\Sigma RII=1666,9$

$\Sigma \bullet T$ reprezintă suma tuturor hibridilor de la același tată, dar de la mame diferite.

$\Sigma L \bullet$ reprezintă suma tuturor hibridilor de la aceeași mamă, dar de la tați diferiți

În vederea analizei statistice a varianțelor se calculează, mai întâi, suma pătratelor abaterilor (SPA).

$$SPA_t = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N} \quad (\text{SPA pentru total})$$

$$SPA_t = 70,2^2 + 74,6^2 + \dots + 83,3^2 - \frac{(3292,0)^2}{42} = 1673,13$$

Unde,

$$\frac{(3292,0)^2}{42} = 258030,09 \text{ reprezintă termenul de corecție (TC) care}$$

rămâne constant.

$$SPA_r = \frac{(\sum r_i)^2 + (\sum r_{ii})^2}{m.f} - TC$$

$$SPA_r = \frac{(1625,1)^2 + (1666,9)^2}{3.7} - TC = 41,61$$

$$SPA_m = \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{r.f} - TC$$

$$SPA_m = \frac{(1090,3)^2 + (114,0)^2 + (1087)^2}{2.7} - TC = 30,01$$

$$SPA_f = \frac{(\sum f_1)^2 + (\sum f_2)^2 + \dots + (\sum f_7)^2}{r.m} - TC$$

$$SPA_f = \frac{(444,1)^2 + (492,4)^2 + \dots + (500,6)^2}{2.3} - TC = 1443,65$$

$$SPA_{f,m} =$$

$$\frac{(\sum A.1)^2 + \dots + (\sum A.7)^2 + (\sum B.1)^2 + \dots + (\sum B.7)^2 + (\sum C.1)^2 + \dots + (\sum C.7)^2}{r}$$

$$TC - SPA_m - SPA_f$$

$$SPA_{f,m} = \frac{(144,8)^2 + (152,0)^2 + \dots + (165,8)^2}{2} - 258030,09 - 30,1 - 1443,65 =$$

$$130,55$$

În acest caz, tabelul de analiză a varianței se prezintă după cum urmează (Tabelul 5.9).

Tabelul 5.9

Tabel de analiză a varianței pentru modelul de analiză NC II

Cauza variabilității	SPA	GL	Varianța (s ²)
Total (t)	1673,13	r x m x f-1 2x3x7-1=41	-
Repetiții (r)	41,61	r-1	41,61

		2-1=1	
Masculi sau tați (m)	(30,01)	$\frac{m-1}{3-1=2}$	15,00* V ₁
Femele sau mame (f)	(1443,65)	$\frac{f-1}{7-1=6}$	240,61* V ₂
Mame x tați (f x m)	(130,55)	$\frac{(m-1)(f-1)}{2 \times 6 = 12}$	10,88* V ₃
Rest (eroare)	27,31	$\frac{(m \times f - 1)(r - 1)}{(3 \times 7 - 1)(2 - 1) = 20}$	1,36 V ₄

Varianța pentru SPA din paranteză se referă la varianța hibrizilor ce s-a descompus în varianța atribuită taților, varianță semnificativă în raport cu varianța erorii (15,00*); varianța atribuită mamelor, care este semnificativă (240,61*); varianța atribuită interacțiunilor neaditive rezultate în urma încrucișării mamelor cu tații, care este de asemenea semnificativă (10,88*).

Din aceste date se poate calcula:

- Varianța aditivă atribuită locilor homozigoți ai taților:

$$\frac{1}{8}V_{Am} = \frac{V_1 - V_3}{r \cdot f} = \frac{15,00 - 10,88}{2 \cdot 7} = 0,29$$

- Varianța aditivă atribuită locilor homozigoți ai mamelor:

$$\frac{1}{8}V_{Af} = \frac{V_2 - V_3}{r \cdot m} = \frac{240,61 - 10,88}{2 \cdot 3} = 38,29$$

- Varianța neaditivă atribuită locilor heterozigoți ai taților și mamelor:

$$\frac{1}{16}V_{(D+I)} = \frac{V_3 - V_4}{r} = \frac{10,88 - 1,36}{2} = 4,76$$

- Varianța mediului este $V_E = V_4 = 1,36$

În cele din urmă, se poate determina *coeficientul de heritabilitate în sens restrâns*:

$$h^2 = \frac{\frac{1}{8}V_{Am} + \frac{1}{8}V_{Af}}{\frac{1}{8}V_{Am} + \frac{1}{8}V_{Af} + \frac{1}{16}V_{(D+I)} + V_E} = \frac{0,29 + 38,29}{0,29 + 38,29 + 4,76 + 1,36} = 0,86$$

Concluzii:

Liniile mamă au introdus o variabilitate genetică aditivă, deci transmisibilă ereditar, mult mai ridicată decât tații. Cea mai valoroasă linie mamă se pare a fi linia 5 care are cea mai mare contribuție la realizarea producției (522,6). Această linie a transmis la toți trei hibridii o producție ridicată și deci are cea mai bună capacitate combinativă generală. Această linie are și o capacitate specifică de combinare ridicată, datorată interacțiunilor, deoarece în combinație cu tații A și B a dat cele mai ridicate producții. Cea mai slabă este linia 6 cu cea mai slabă producție (421,3) și deci cu cea mai slabă capacitate combinativă generală. Linia 6 are și o capacitate specifică de combinare scăzută deoarece în combinație cu tații A și C a dat cele mai slabe producții.

Între tați nu există diferențieri genetice mari. Datele obținute ne permit să realizăm și prognoza pentru cel mai bun hibrid trilinear (HTL). În cazul unui hibrid trilinear (HTL) prognoza se face pe baza performanțelor de producție a hibridilor simplii neparentali. În cazul combinației (5 x 7) x B vom avea pentru hibridul simplu neparental 5 x B, producția de 86,9 q/ha, iar pentru hibridul simplu neparental 7 x B producția de 83,95 q/ha. De unde prognoza hibridului trilinear ar fi:

$$\frac{86,9 + 83,95}{2} = 85,42 \text{ q/ha.}$$

Modelul NC III se bazează pe retroîncrușarea plantelor din populația segregantă F₂ cu părinții din care provine populația. Modelul, deși este mai rar folosit, permite descompunerea varianței genetice totale în varianță aditivă și de interacțiune, interacțiunea alelică împreună cu interacțiunea nealelică.

În acest caz, tabelul de analiză a varianței se prezintă după cum urmează (Tabelul 5.10).

Tabel de analiză a varianței pentru modelul de analiză NC III

Cauza variabilității	GL	Varianța estimată (s^2)
Total		-
Repetiții	r-1	-
Linii parentale (două grupe)	P-1 = 1	-
Plante tată	m-1	V_1
Tați x linii parentale	(m-1)x1 = m-1	V_2
Eroare	2(m-1)(r-1)	V_3

Componența genetică a parametrilor va fi:

$$V_E = V_3$$

$$\frac{1}{8}V_A = \frac{V_1 - V_3}{2r}, \quad 2 \text{ de la numitor pentru că sunt două seturi de încrucișări.}$$

$$V_{(D+I)} = \frac{V_2 - V_3}{r}$$

5.3.2 Modele bazate pe analiza încrucișărilor dialele

Prin încrucișări dialele se înțelege sistemul care cuprinde hibridii F_1 de la toate încrucișările posibile a „P” forme parentale. Există mai multe modele după cum sunt incluși sau nu hibridii reciproci, pe lângă cei direcți, sau după cum sunt incluși sau nu părinții în analiza genetică, modelele au fost fundamentate de Hayman (1954) și Griffing (1956):

- Model de dialelă completă cu P^2 variante, ce include alături de hibridi direcți și reciproci și formele parentale.

- Model de dialelă completă cu $P(P-1)$ variante, ce include hibridii direcți și reciproci, fără formele parentale.

- Model de dialelă incompletă cu $\frac{P(P+1)}{2}$ variante, ce include alături de hibridii direcți și formele parentale.

-Model de dialelă incompletă cu $\frac{P(P-1)}{2}$ variante, ce include doar

hibrizii direcți, fără formele parentale.

Vom lua ca exemplu numeric modelul de analiză dialelă completă cu $P(P-1)$ variante (Tabelul 5.11). În tabel sunt prezentate producțiile de boabe la porumb exprimate în q/ha, rezultate de la hibrizii F_1 obținuți prin hibridări dialele între șapte linii parentale, hibridi semănați în doi ani consecutiv (1968 și 1969). Menționăm faptul că, datele recoltate din câmp pot fi la nivel de individ, la nivel de parcelă repetiție sau la nivel de medie anuală, ca și în cazul nostru. Numărul de variante este: $7(7-1) = 42$.

Mai întâi se face o analiză generală a datelor primare sub aspectul varianțelor. Pentru aceasta se calculează sumele patratelor abaterilor pentru total (t), ani (a), genotipuri (G) și eroare (e).

Tabelul 5.11

Producția de boabe (q/ha), a hibrizilor F_1 rezultați de la 7 linii consangvinizate de porumb încrucișate în sistem dialel complet, producție obținută în doi ani consecutiv (1968 și 1969), (după Căbulea, nepublicat)

Tată Mamă	1=A	2=B	3=C	4=D	5=E	6=F	7=G	Anul	Σ i.
A	X	39,9	35,9	37,4	35,2	48,3	42,4	1968	239,1
		51,2	55,3	52,2	58,2	58,0	58,0	1969	332,9
		91,1	91,2	89,6	93,4	106,3	100,4	Σ	572,0
B	44,9	X	41,0	46,2	30,5	40,7	37,3	1968	240,6
	55,5		58,0	50,4	59,4	59,4	61,4	1969	344,6
	100,4		99,0	96,6	89,9	100,6	98,7	Σ	585,2
C	38,5	39,3	X	41,3	31,2	22,5	42,0	1968	214,8
	57,5	60,9		57,2	51,2	29,5	60,7	1969	317,0
	96,0	100,2		98,5	82,4	52,0	102,7	Σ	531,8
D	35,6	32,8	39,4	X	30,4	33,3	31,3	1968	202,8
	47,3	47,0	62,3		61,4	56,0	65,3	1969	339,8
	83,4	79,8	101,7		91,8	89,3	96,6	Σ	542,6
E	38,0	27,8	25,1	29,3	X	35,8	27,6	1968	183,6
	56,2	56,0	56,3	58,4		49,9	53,0	1969	329,8
	94,2	83,8	81,4	87,7		85,7	80,6	Σ	513,4
F	46,4	40,8	23,9	36,5	38,3	X	32,7	1968	218,6
	61,2	61,9	31,2	61,0	55,3		60,2	1969	330,8
	107,6	102,7	55,1	97,5	93,6		92,9	Σ	549,4

G	42,5	43,2	33,5	27,5	32,2	28,6	X	1968	207,5
	60,8	65,4	59,5	59,3	58,2	58,4		1969	361,6
	103,3	108,6	93,0	86,8	90,4	87,0		Σ	569,1
Σx_j	584,9	566,2	521,4	556,7	541,5	520,9	571,9	$\Sigma.. = 3863,5$	
$\Sigma x_j + \Sigma i.$	1156,9	1151,4	1053,2	1099,3	1054,9	1070,3	1141,0	$2\Sigma.. = 7727,0$	
$\frac{\Sigma i.}{\Sigma x_j}$	-12,9	19,0	10,4	-14,1	-28,1	28,5	-2,8	$\Sigma 1968 = 1507,0$ $\Sigma 1969 = 2356,5$	

$$SPA_t = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N} = 39,9^2 + 51,2^2 + \dots + 58,4^2 - \frac{(3863,5)^2}{84} = 12411,21$$

$$SPA_a = \frac{(\sum 1968)^2 + (\sum 1969)^2}{P(P-1)} - TC = \frac{1507,0^2 + 2365,5^2}{42} - TC = 8591,08$$

$$SPA_G = \frac{(\sum AxB)^2 + (\sum AxC)^2 + \dots + (\sum GxF)^2}{ani} - TC = \frac{91,1^2 + \dots + 87,0^2}{2} - TC = 2705,12$$

$$SPA_c = SPA_t - (SPA_a + SPA_G) = 12411,21 - (8591,08 + 2705,12) = 1115,01$$

Tabelul de analiză a varianței se prezintă în continuare (Tabelul 5.12).

Tabelul 5.12

Tabel de analiză a varianței pentru producția de boabe la hibridii de porumb F₁ rezultați în urma hibridărilor dialele a 7 linii consangvinizate în doi ani consecutivi (1968 și 1969), model de dialelă completă P(P-1)

Cauza variabilității	SPA	GL	Varianța (s ²)
Total (t)	12411,21	P(P-1) x ani-1 42 x 2 -1 = 83	-
Ani (a)	8591,08	ani - 1 2-1 = 1	-
Genotipuri	2705,12	P(P-1) -1 = 41	65,98***
Eroare	1115,01	$[P(P-1)][a-1]$ 41.1 = 41	27,20

Analiza varianței indică existența unor diferențieri foarte semnificative între genotipuri.

În continuare se procedează la separarea varianței genotipurilor în elementele ei componente: varianța aditivă (V_A), varianța de interacțiune neaditivă, alelică și nealelică (V_{D+I}) sau V_{NA} , varianța datorată mamei sau varianța maternă, de natură citoplasmatică (V_M), varianța datorată interacțiunilor nucleo-citoplasmatică (V_R). Pentru aceasta se lucrează cu valorile medii ale hibrizilor (tabelul 5.13).

Mai întâi se calculează suma pătratelor abaterilor în vederea determinării varianțelor.

$$SPA_A = \frac{\sum (i. + .i)^2}{2(P-2)} - \frac{2X_{..}^2}{P(P-2)} = \frac{578,45^2 + \dots + 570,5^2}{2.5} - \frac{2.1931,75^2}{7.5} = 314,9$$

Tabelul 5.13

Valorile medii ale hibrizilor din cei doi ani experimentali, hibrizi F_1 rezultați de la 7 linii consangvinizate de porumb încrucișate în sistem dialel complet

Tată \ Mamă	A	B	C	D	E	F	G	$\Sigma i.$
A	X	45,55	45,60	44,80	46,70	53,15	50,20	286,00
B	50,20	X	49,50	48,30	44,95	50,30	49,35	292,60
C	48,00	50,10	X	49,25	41,20	26,00	51,35	265,90
D	41,70	39,90	50,95	X	45,90	44,65	48,30	271,30
E	47,10	41,90	40,70	43,85	X	42,85	40,30	256,70
F	53,80	51,35	27,55	48,75	46,80	X	46,45	274,70
G	51,65	54,30	46,50	43,40	45,20	43,50	X	284,55
$\Sigma i.$	292,45	283,10	260,70	278,35	270,75	260,45	285,95	1931,75
$\Sigma i. + \Sigma .i$	578,45	575,70	526,60	549,65	527,45	535,15	570,50	3863,50
$\Sigma i. - \Sigma .i$	-6,45	9,5	5,2	-7,05	-14,05	14,25	-1,4	$\Sigma = 0$
$X_{ij} - X_{ji}$	X	-4,65	-2,4	3,1	-0,4	-0,65	-1,45	
	
	-2,95	

$\sum i.$ = suma tuturor hibrizilor care au o anumită linie (de exemplu linia A) în calitate de mamă.

$\sum .i$ = suma tuturor hibrizilor care au o anumită linie (de exemplu linia A) în calitate de tată .

$\sum i. + \sum .i$ = suma tuturor hibrizilor direcți și reciproci care au aceleași linii parentale în calitate de tată, respectiv mamă, de exemplu $292,45 + 286,00 = 578,45$.

$\sum i. - \sum .i$ = diferențele între sumele hibrizilor direcți și reciproci care au aceleași linii parentale în calitate de mamă, respectiv tată, de exemplu $286,00 - 296,45 = -6,45$.

$X_{ij} - X_{ji}$ = diferențele între hibrizii direcți și reciproci, pentru fiecare combinație parentală, prima linie fiind considerată linia mamă, de exemplu pentru hibridul AB avem 45,55, iar pentru BA avem 50,20 și deci, diferența este $45,55 - 50,20 = -4,65$.

La ultima combinație hibridul GF are 43,50 hibridul FG are 46,45 și deci diferența este $43,50 - 46,45 = -2,95$.

$$\begin{aligned} SPA_{NA} &= \frac{\sum (X_{ij} + X_{ji})^2}{2} - \frac{\sum (i. + .i)^2}{2(P-2)} + \frac{X_{..}^2}{(P-1)(P-2)} = \\ &= \frac{(50,2 + 45,55)^2}{2} + \frac{(48,00 + 45,6)^2}{2} + \frac{(43,5 + 46,45)^2}{2} - \frac{578,45^2 + \dots + 570,50^2}{2.5} + \\ &\frac{1931,75^2}{6.5} = 904,6788 \end{aligned}$$

$$SPA_M = \frac{\sum (i. - .i)^2}{2(P-2)} = \frac{(-6,45)^2 + 9,5^2 + \dots + (-1,4)^2}{2.5} = 61,102$$

$$SPA_R = \frac{\sum (X_{ij} - X_{ji})^2}{2} - \frac{\sum (i. + .i)^2}{2(P-2)} = \frac{(-4,65)^2 + \dots + (-2,95)^2}{2} -$$

$$61,102 = 102,679$$

Tabelul de analiză a varianței se prezintă în continuare (Tabelul 5.14).

Tabelul 5.14

Analiza varianței pentru separarea varianței genotipice, privind producția de boabe, în elementele componente, într-o experiență cu hibridii de porumb F₁ rezultați în urma hibridărilor dialele a 7 linii consangvinizate

Cauza variabilității	SPA	GL	Varianța (s ²)	Proba F (semnificația)	
				Model random	Model fix
Genotip (G)	2705,12	P(P-1)-1 7x6-1 =41	65,98	65,98:27,2=2,43***	
Acțiunea aditivă (A)	(314,09)	P-1 7-1=6	(52,35)	52,35:64,62=0,81	52,35:13,6=3,85**
Acțiunea neaditivă (NA)	(904,6788)	P(P-3):2 7x4:2=14	(64,62)	64,62:13,6=4,75**	
Acțiunea maternă (M)	(61,102)	P-1 7-1=6	(10,18)	10,18:6,84=1,49	10,18:13,6=0,75
Interacțiunea nucleocitoplasmatică (R)	(102,679)	(P-1)(P-2):2 6x5:2=15	(6,84)	6,84:13,6=0,50	
Eroare (e)	1115,01:2= 557,50	$[P(P-1)-1][a-1]$ (7x6-1)1=41	13,6	-	

Testarea semnificației varianțelor calculate se face cu ajutorul probei F, în relație cu modul de stabilire a variantelor în cadrul graduării factorilor experimentali. Din acest punct de vedere există trei modele de analiză: model random, model fix și model mixt, în funcție de care și posibilitățile de generalizare a rezultatelor sunt mai largi sau mai reduse.

În cazul *modelului random*, variantele, reprezintă eșantioane întâmplătoare dintr-o populație ca și cum, în cazul nostru, părinții și condițiile de experimentare provin în urma unei alegeri întâmplătoare, posibilitățile de generalizare fiind mai largi.

În cazul *modelului fix*, variantele se stabilesc deliberat, pe baza unui anumit criteriu ce ține de logica experimentului. În acest caz, posibilitățile de generalizare a rezultatelor sunt mai limitate.

În cazul *modelului mixt* variantele se stabilesc deliberat pentru un factor și randomizat pentru celălalt factor ca și cum, în cazul nostru, părinții au fost luați deliberat dar condițiile de experimentare (din cei doi ani) sunt întâmplătoare. În funcție de model se analizează și semnificația varianțelor pentru diferite tipuri de acțiune a genelor.

Astfel, în cazul *modelului random și mixt*, proba F se calculează după cum urmează: $V_A/V_{(D+I)}$; $V_{(D+I)}/V_e$; V_M/V_R ; V_R/V_e .

În cazul *modelului fix* toate varianțele se raportează la varianța erorii. Pentru analiza genetică, varianța erorii corespunde cu jumătate din varianța erorii determinată în cazul analizei generale a varianței ($V_e = 27,31$), deoarece în cazul separării varianței genotipice în componentele ei s-a lucrat cu valori medii ale hibridilor.

Din tabelul de analiză a varianței se observă că, deși varianțele datorate acțiunilor aditive și neaditive ale genelor sunt distinct semnificative, în cazul modelului random, varianțele datorate acțiunilor genetice aditive sunt ne semnificative. De asemenea, varianțele datorate acțiunilor materne și interacțiunii nucleo-citoplasmatică sunt ne semnificative.

CAP. 6 METODE DE ANALIZĂ A DIVERSITĂȚII GENETICE PRIN CALCULAREA DISTANȚELOR GENETICE PE BAZA MARCHERILOR MOLECULARI

6.1 Utilizarea markerilor moleculari în analiza diversității genetice

Diversitatea genetică la nivel populațional, poate fi analizată cu ajutorul markerilor moleculari, aceștia prezentând o serie de avantaje comparativ cu alte metode de analiză precum: existența în număr nelimitat, independența față de mediu sau fenofază, sau neutralitatea față de selecție.

Din punct de vedere al modului de manifestare markerii moleculari pot fi dominanți (atunci când genotipurile homozigot dominant și cel heterozigot nu pot fi diferențiate) sau codominanți când toate genotipurile pot fi evidențiate). Din prima categorie fac parte markerii de tip RAPD, AFLP, SRAP, DAF, ș.a., iar din cea de a doua markerii de tip RFLP, SSR, CAPS, ș.a. (Botez și colab., 2013).

Metodele de analiză statistico-matematice a diversității genetice pe baza markerilor moleculari trebuie să țină cont de natura dominantă sau codominantă a metodei de marcarea moleculară utilizate.

6.2 Metode specifice markerilor moleculari dominanți

Metodele de marcarea moleculară de tip dominant sunt caracterizate prin capacitatea de a reda structura genetică a unui număr mare de loci simultan, obținându-se astfel amprente genetice ale materialului biologic studiat. Ampretele genetice sunt reprezentate de profilurile electroforetice ale produșilor de amplificare și/sau restricție enzimatică. Prezența sau absența unei

benzi cu o anumită dimensiune moleculară în gelul electroforetic denotă prezenta sau absența unei alele la un anumit locus.

Analizarea variabilității genetice cu ajutorul markerilor dominanți prezintă dezavantajul unui nivel scăzut al informației obținute comparativ cu cea obținută prin utilizarea markerilor de tip codominant. Acest dezavantaj este însă compensat prin numărul mare de loci analizați atât în cazul utilizării markerilor AFLP cât și în cazul markerilor RAPD. Cu toate acestea analiza matematică a rezultatelor este mai dificilă și se bazează pe o serie de prezumții.

În vederea analizei diversității genetice cu ajutorul markerilor moleculari dominanți se utilizează în general metode de analiză care implică calcularea unor distanțe genetice între taxonii analizați. Metodele de calcul a distanțelor genetice urmăresc stabilirea nivelului de asemănare/deosebire dintre taxonii analizați, pe baza prezenței/absenței alelelor.

În vederea calculării distanțelor genetice dintre indivizi, necesare întocmirii dendrogramelor pot fi utilizați diferiți coeficienți de distanță (D) sau de similaritate (S) relația dintre aceștia fiind: $D=1-S$. Distanțele sunt calculate pentru fiecare pereche de taxoni analizați pe baza prezenței/absenței alelelor dominante (benzilor în gelurile electroforetice). Cel mai des utilizați coeficienți de similaritate sunt coeficientul de similaritate simplă (simple matching) [5.1] (Sneath, și colab., 1973), coeficientul Jaccard [5.2] (Jaccard, 1908), și coeficientul Nei Li/Dice [5.3] (Nei și colab., 1979).

$$D_{sm} = 1 - \frac{n11 + n00}{n} \quad [5.1]$$

$$D_J = 1 - \frac{n11}{n - n00} \quad [5.2]$$

$$D_D = 1 - \frac{2n11}{(2n11) + n01 + n10} \quad [5.3]$$

unde: n = numărul total de benzi, $n11$ = Numărul de poziții unde $x=1$ și $y=1$, $n00$ = Numărul de poziții unde $x=0$ și $y=0$, $n01$ = Numărul de poziții unde $x=0$ și $y=1$, $n10$ = Numărul de poziții unde $x=1$ și $y=0$.

Datorită incertitudinilor privind identitatea alelelor nule cei mai mulți autori recomandă evitarea utilizării coeficientului de similaritate simplă [5.1], care consideră identici locii la care ambii indivizi prezintă alela nulă. Datorită cauzelor multiple care pot concura la lipsa unui fragment amplificat (lipsa situsului F sau R de atașare, inserții sau deleții în interiorul secvenței amplificate), este recomandată evitarea considerării lor ca un indicator al identității. Coeficienții Jaccard și Dice [5.1, 5.2] nu includ în calculul similarității benzile absente (alelele nule) și astfel reduc din erorile care pot fi induse din considerarea acestor alele ca fiind identice.

6.3 Metode specifice markerilor moleculari codominanți

Metodele de calcul a distanțelor genetice pe baza markerilor moleculari codominanți pot fi împărțite în două categorii: metode de calcul a distanțelor geometrice (fără prezumții biologice) și metode bazate pe prezumții biologice.

Din prima categorie fac parte Analiza Principalelor Coordonate (PCA), coeficienții de distanță Euclidiană [5.4], Rogers [5.5], Cavali Sfortza [5.6], sau cel descris de Peakal și Smouse (2009). Distanțele genetice în acest caz sunt calculate ca distanțe geometrice dintre puncte situate în spații multidimensionale și nu țin cont de modelele evolutive ale acestora.

$$D_{EU} = \sqrt{\sum_u (X_u - Y_u)^2} \quad [5.4]$$

$$D_R = \sqrt{\frac{\sum_u (X_u - Y_u)^2}{2}} \quad [5.5]$$

$$D_{CH} = \frac{2}{\pi} \sqrt{2(1 - \sum_u \sqrt{X_u \cdot Y_u})} \quad [5.6]$$

Unde X_u este frecvența alelei u la populația 1, iar Y_u este frecvența alelei u la populația 2.

Coeficientul de distanță, descris de Peakal și Smouse (2009), pleacă de la o distanță geometrică calculată ca pătratul distanței dintre puncte într-un spațiu multidimensional. Pentru exemplificare, considerăm un locus codominant cu trei alele A, B și C. Cele trei alele diferite pot forma un număr de șase genotipuri (AA, BB, CC, AB, AC și BC), dacă genotipurile homozigote sunt dispuse în spațiu ca trei puncte care formează un triunghi echilateral la o distanță de două unități, iar cele heterozigote sunt dispuse la mijlocul distanței dintre cele homozigote cu respectarea corespondenței (Fig. 6.1), pătratele distanțelor dintre puncte vor fi cele din tabelul următor (Tabelul 6.1):

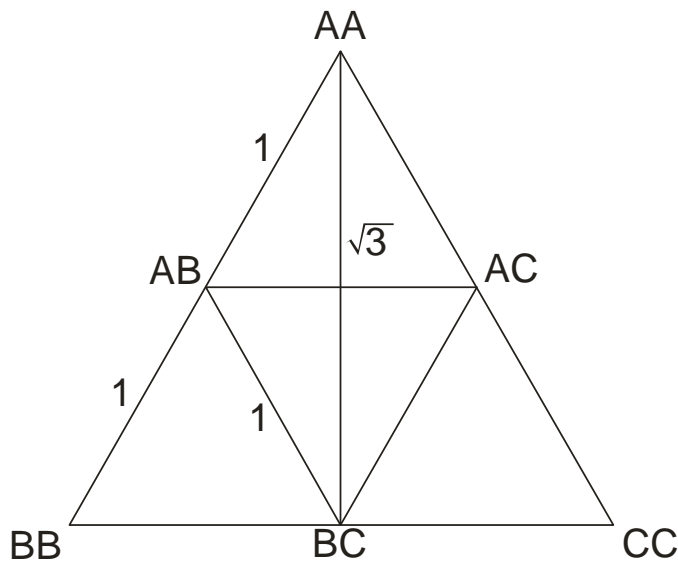


Fig. 6.1. Forma de triunghi echilateral format de trei alele aflate la un singur locus

Tabelul 6.1**Pătratele distanțelor dintre puncte**

	AA	BB	CC	AB	AC	BC
AA	0	4	4	1	1	3
BB	4	0	4	1	3	1
CC	4	4	0	3	1	1
AB	1	1	3	0	1	1
AC	1	3	1	1	0	1
BC	3	1	1	1	1	0

Acest model poate fi extins mai departe considerând patru alele (formând un tetraedru echilateral), cinci alele (formând un pentaedru echilateral) etc.

Din cea de a doua categorie fac parte coeficienții Raynolds și Nei, care i-au în considerare influențele unor forțe evolutive precum mutația sau driftul genetic. Aceste modele mai complexe care în baza unor prezumții i-au în calcul forțe evolutive, pot induce erori de calcul atunci când prezumțiile nu sunt respectate.

6.4 Generarea dendrogramelor

Pentru a facilita vizualizarea și interpretarea distanțelor genetice, calculate pe baza informațiilor obținute în urma analizei markerilor moleculari, acestea pot fi reprezentate grafic sub forma unor dendrograme. Deși există o multitudine de metode prin care se pot obține dendrograme, cel mai des utilizate sunt metoda UPGMA și metoda Neighbour Joining.

6.4.1 Generarea dendrogramelor prin metoda UPGMA

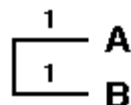
Metoda UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) (Sokal, 1958), este cea mai simplă metodă pentru construirea unei dendrograme, dezvoltată inițial pentru construcția fenogramelor, dar care poate fi utilizată și pentru generarea de arbori filogenetici, atunci când rata evoluției este egală pentru toate liniile analizate.

Metoda utilizează un algoritm secvențial care începe cu obținerea unui taxon compozit din perechea de taxoni care au cel mai mare indice de similaritate (cea mai mică distanță). Utilizând în continuare acest taxon compozit se trece mai departe la obținerea unei noi matrice de distanțe (prin calcularea mediilor aritmetice), în care intră taxonul compozit și restul taxonilor rămași. Pe baza acestei noi matrice de distanțe se caută următorul taxon compozit și așa mai departe până în momentul în care rămân doar doi taxoni.

Să presupunem că avem șase taxoni, distanțele dintre ei fiind prezentate în următorul tabel.

	A	B	C	D	E
B	2				
C	4	4			
D	6	6	6		
E	6	6	6	4	
F	8	8	8	8	8

Primul pas este de a grupa taxonii cu cea mai mică distanță (A și B). Nodul dintre ramuri va fi marcat la jumătatea distanței dintre A și B ($2/2=1$)



Prin gruparea celor doi taxoni se obține un taxon nou, compozit. Se trece mai apoi la calcularea unei noi matrice de distanțe, după cum urmează:

$$\text{dist}(A,B),C = (\text{dist}AC + \text{dist}BC) / 2 = 4$$

$$\text{dist}(A,B),D = (\text{dist}AD + \text{dist}BD) / 2 = 6$$

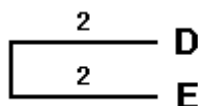
$$\text{dist}(A,B),E = (\text{dist}AE + \text{dist}BE) / 2 = 6$$

$$\text{dist}(A,B),F = (\text{dist}AF + \text{dist}BF) / 2 = 8$$

Cu alte cuvinte distanța dintre un taxon simplu și unul compozit este egală cu media distanțelor dintre taxonul simplu și fiecare dintre taxonii componenți ai acelu compozit. Întregul pas se repetă pentru matricea nou generată (tabelele de mai jos)

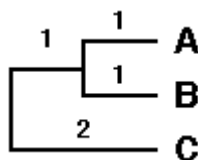
Pasul 2

	A,B	C	D	E
C	4			
D	6	6		
E	6	6	4	
F	8	8	8	8



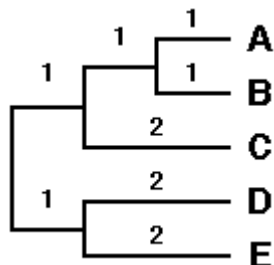
Pasul 3

	A,B	C	D,E
C	4		
D,E	6	6	
F	8	8	8



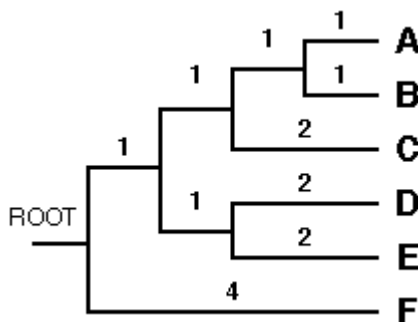
Pasul 4

	AB,C	D,E
D,E	6	
F	8	8



Pasul 5

	ABC,DE
F	8



Deși metoda conduce spre un arbore neîn rădăcinat, ea presupune rate egale ale evoluției, deci rădăcina teoretică trebuie să fie echidistantă față de toți taxonii. Astfel, putem aplica metoda punctului de mijloc și deci se va aplica la o distanță de:

$$(ABCDE),F / 2 = 4.$$

Dezavantajele metodei:

- Metoda este foarte sensibilă la ratele de evoluție inegale. Astfel, în cazul în care un taxon a avut o rată mai mare a mutației (evoluției) decât ceilalți taxoni aceasta va conduce la obținerea unor arbori eronați.

- Metoda va funcționa doar în cazul distanțelor ultrametrice (cu respectarea condiției celor trei puncte)

6.4.2 Generarea dendrogramelor prin metoda Neighbor-Joining

Neighbor-joining (Saitou and Nei, 1987) este o metodă de grupare care nu cere ca datele să fie ultrametrice și deci nu presupune că taxonii au o rată egală a evoluției.

În cazul acestei metode se pornește de la un arbore de tip stea, urmărindu-se, spre deosebire de metoda precedentă, distanțele dintre noduri și nu cele dintre taxoni sau grupuri de taxoni. Datele brute sunt de asemenea reprezentate de o matrice binară, după care se calculează o a doua matrice modificată, în care distanța dintre fiecare două noduri este ajustată în funcție de distanța medie față de toate celelalte noduri. Construcția începe prin gruparea celor mai apropiate două noduri și adăugarea la arbore a nodului ancestral comun lor. După aceasta nodurile terminale sunt înlăturate din analiză, astfel nodul ancestral devine nod terminal, într-un arbore cu dimensiuni mai mici. Practic în fiecare pas al analizei două noduri terminale sunt înlocuite cu unul terminal nou. Procesul se încheie atunci când în analiza rămân doar două noduri separate printr-o singură ramură.

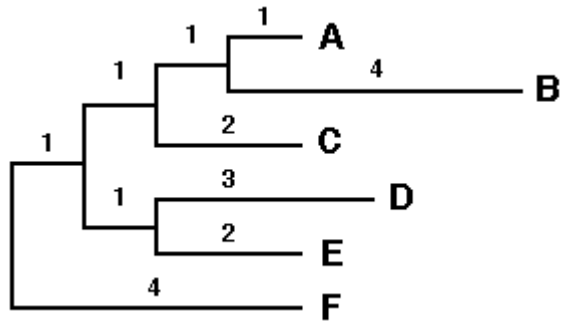
Algoritmul permite apariția ramurilor cu valoare negativă. Dacă acest fenomen apare atunci lungimea ramurii respective se setează la zero, valoarea ei fiind adăugată la valoarea ramurii adiacente, astfel că distanța totală dintre cele două noduri adiacente rămâne neschimbată, și topologia generală nu este afectată.

Avantajele și dezavantajele metodei Neighbor-Joining

- Avantaje
 - Este o metodă rapidă și deci compatibilă cu seturi mari de date și pentru analize de tip bootstrap;
 - Permite construirea de arbori cu lungimi diferite ale brațelor;

- Permite corecții în cazul substituțiilor multiple;
- Dezavantaje:
 - Generează un singur arbore posibil;
 - Foarte dependentă de modelul de evoluție utilizat.

Exemplu:



Să presupunem că avem cinci OTU, distanțele dintre ele fiind prezentate în tabel.

	A	B	C	D	E
B	5				
C	4	7			
D	7	10	7		
E	6	9	6	5	
F	8	11	8	9	8

N=6

Pasul 1: Se calculează distanța neta $r(i)$ pentru fiecare OTU față de toți ceilalți OTU, prin însumarea distanțelor lui față de ceilalți:

- $r(A) = 5+4+7+6+8=30$
- $r(B) = 7+10+9+11+5 (BA)=42$
- $r(C) = 7+6+8+4+7=32$
- $r(D) = 5+9+7+10+7=38$

- $r(E) = 34$
- $r(F) = 44$

Pasul 2: Se calculează o nouă matrice de valori M după formula:

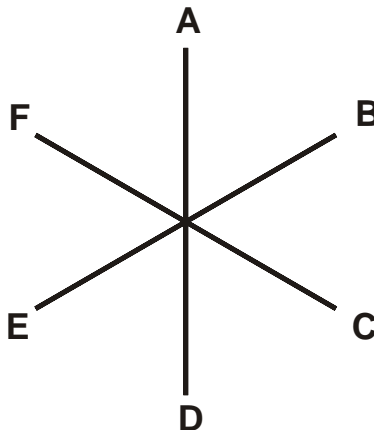
$$M(ij) = d(ij) - \frac{[r(i) + r(j)]}{N - 2} \quad [5.7]$$

Pentru perechea A,B:

$$M(AB) = d(AB) - \frac{[r(A) + r(B)]}{N - 2} = 5 - \frac{30 + 42}{4} = -13$$

	A	B	C	D	E
B	-13				
C	-11.5	-11.5			
D	-10	-10	-10.5		
E	-10	-10	-10.5	-13	
F	-10.5	-10.5	-11	-11.5	-11.5

Pasul 3: Pornind de la un arbore stea:



Se alege pentru grupare acea pereche de OTU pentru care $M(ij)$ are cea mai mică valoare. În cazul nostru acestea sunt A,B respectiv D,E. Luăm la întâmplare perechea A,B și vom forma un nou nod (intern) pe

care îl denumim U . Calculăm lungimile ramurilor de la nodul U la A respectiv B după formulele:

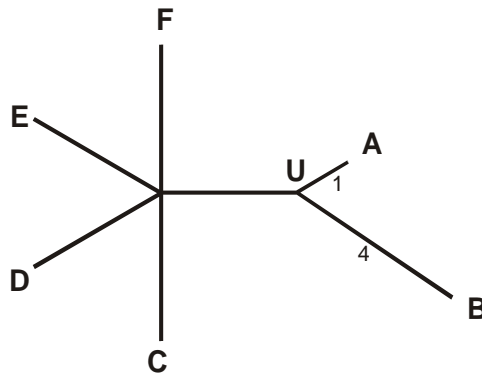
$$S(iU) = \frac{d(ij)}{2} + \frac{[r(i) - r(j)]}{2(N-2)} \quad [5.8]$$

$$S(jU) = d(ij) - S(iU) \quad [5.9]$$

$$S(AU) = \frac{d(AB)}{2} + \frac{[r(A) - r(B)]}{2(N-2)} = \frac{5}{2} + \frac{-12}{8} = 1$$

$$S(BU) = d(AB) - S(AU) = 5 - 1 = 4$$

Arborele rezultat va fi:



Pasul 4: Se calculează distanțele fiecărui nod terminal față de nodul U:

$$d(CU) = \frac{d(AC) + d(BC) - d(AB)}{2} = 3$$

$$d(DU) = \frac{d(AD) + d(BD) - d(AB)}{2} = 6$$

$$d(EU) = \frac{d(AE) + d(BE) - d(AB)}{2} = 5$$

$$d(FU) = \frac{d(AF) + d(BF) - d(AB)}{2} = 7$$

și se creează o nouă matrice:

	U	C	D	E
C	3			
D	6	7		
E	5	6	5	
F	7	8	9	8

$$N = N - 1 = 5$$

Se repeta întreaga procedura pentru noua matrice.

CAP. 7. MODALITĂȚI DE CONSERVARE A DIVERSITĂȚII GENETICE ÎN VEDEREA LIMITĂRII EFECTELOR EROZIUNII GENETICE

7.1. Progresele din agricultura modernă în defavoarea biodiversității agricole

În Europa, culturile agricole au fost înființate pentru prima dată în urmă cu circa 8.000 de ani, din Orientul Apropiat. Primele culturi înființate au fost cerealele, leguminoasele, inul, urmate de legume, plante aromatice și pomii fructiferi. După descoperirea Americii, în urmă cu circa 500 de ani, au fost introduse în cultură, porumbul, tomatele și cartofii. Multe din varietățile locale, prezente încă și astăzi în cultură, au fost domesticite din specii sălbatice printr-o selecție empirică. Louette și colab. (1997) susțin că aceste soiuri pot fi considerate „locale” dacă au fost cultivate într-o zonă o perioadă de minimum 30 de ani.

Extinderea metodelor de ameliorare în agricultură, la jumătatea secolul al XIX-lea, a făcut ca cele mai importante resurse genetice, soiuri și populații locale, să fie utilizate pentru obținerea unor hibrizi cu valențe superioare. Acest lucru i-a determinat pe cercetătorii Proskowetz (1890) și Schindler (1890), citați de Hammer și Diederichsen (2009), să atragă atenția asupra importanței varietăților locale și să semnaleze riscul dispariției acestora. Astfel, au propus ca varietățile locale să fie descrise și introduse în cataloage agricole; prefigurând, de fapt, activitatea băncilor de gene din ziua de astăzi.

Progresele în “agricultura modernă” sunt destinate în principal, creșterii producției de alimente, pentru a rezolva problemele unei populații umane în creștere. Cu toate acestea, pentru a beneficia de alimente sănătoase și pentru a preveni apariția bolilor umane, siguranța alimentară rămâne încă o problemă majoră. Dar, de cele mai multe ori aceste două tendințe nu coincid. În prezent,

programele de ameliorare selectivă folosesc soiurile de cereale bine consolidate genetic, care au un randament ridicat, atât în ceea ce privește producția, masa vegetativă, dar și rezistența mare la boli (Akhalkatsi și colab., 2012).

Având la bază conceptul globalizării, deținătorul Premiului Nobel pentru Pace în 1970, Norman Borlaug, a inițiat, în perioada 1930 -1960, programe de introducere a unor noi soiuri agricole ameliorate, în întreaga lume. William Gaud (administrator USAID), denumește această perioadă “Revoluția verde” (Green revolution).

Conceptul a fost propus cu ideea de a salva peste un miliard de oameni de la foamete, implicând dezvoltarea unor soiuri de cereale cu un randament ridicat al producției, extinderea infrastructurii de irigare, modernizarea tehnicilor de management, distribuția de semințe hibrid, a îngrășămintelor sintetice și a pesticidelor către agricultori. Toate aceste măsuri au fost văzute ca un „pachet de practici”, care să înlocuiască tehnologia „tradițională” și care urmau să fie adoptate în ansamblu (Farmer, 1986).

Dacă până la începutul secolului XX, populația europeană era în mare măsură rurală, iar agricultura s-a bazat pe sisteme tradiționale, unde majoritatea factorilor de producție, inclusiv semințele, proveneau din ferma proprie, în prezent, agricultura ține ocupată circa 4% din populația activă a Europei. Astfel, a devenit un proces industrializat, unde cei mai mulți factori de producție sunt din afara fermei: utilaje, combustibil, îngrășămintă chimice, pesticide, chiar și semințe obținute prin tehnici moderne de ameliorare.

De regulă, în sistemele agricole industrializate sunt folosite semințe din soiuri hibrid, uniforme din punct de vedere genetic, care treptat au înlocuit soiurile tradiționale, denumite și „soiuri primitive”, „soiuri locale”, „populații locale”, „varietăți locale” sau „soiuri țărănești”. Din fericire, aceste soiuri tradiționale nu au fost distruse în totalitate și este recunoscută existența și necesitatea conservării lor. Agricultorii au selectat de-a lungul timpului plantele producătoare de sămânță, după diferitele caracteristici urmărite: rezistență la ger,

la păstrare, la boli și dăunători, conținut în zahăr și altele (Maxim și colab., 2010).

Zeven (1998) a definit varietățile locale ca fiind “soiuri cu o capacitate mare de a tolera factorii de stres biotici și abiotici, cu un randament ridicat și constant, iar în cadrul sistemelor agricole cu inputuri scăzute, nivelul randamentului este unul intermediar”.

Un *soi local* - este o populație dinamică a unei plante cultivate de origine istorică, identitate distinctă și lipsită de ameliorarea formală a culturilor, precum și de multe ori genetic diversă, adaptată la nivel local și asociată cu sistemele agricole tradiționale (www.svgenebank.ro).

Tipuri de soiuri locale (Platon, 2012):

- “*soi primar*: nu a fost niciodată supus reproducerii formale, s-a dezvoltat datorită selecției agricultorilor;

- *soi autohton*: un soi cultivat în locația originală, unde acesta și-a dezvoltat caracteristici unice;

- *soi alohton*: un soi cultivat într-o altă locație decât cea de origine;

- *soi secundar*: a fost dezvoltat în sectorul formal de creștere a plantelor, dar de câțiva ani este menținut prin cultivare *in situ* și selecție de semințe ale plantelor cultivate *in situ*”

Aceste soiuri, populații locale sau varietăți locale, au avantajul că prezintă o diversitate genetică mare în interiorul populațiilor, ceea ce corespunde necesității agricultorilor din zona de cultură specifică. Chiar dacă anumiți factori de stres, biotici sau abiotici, cum ar fi, seceta și umiditate exagerată, atacul de boli și dăunători, vor afecta cultura, o mare parte dintre genotipuri vor rezista.

Extinderea sistemelor de agricultură de tip industrial, după a doua jumătate a secolului XX, a determinat înlocuirea treptată a soiurilor de culturi tradiționale, iar rezultatul a avut un efect dramatic asupra agrobiodiversității în multe țări, datorită reducerii variabilității genetice a genotipurilor cultivate, fiind afectate în special soiurile locale tradiționale, pe care localnicii (fermierii) le

foloseau de sute de ani, iar acest lucru a afectat sănătatea acestor comunități. Înlocuirea diverselor cultivari sau soiuri, care dețineau o bază ereditară heterozigotă cu unele noi, omogene din punct de vedere genetic, reprezintă una din cele mai importante cauze ale vulnerabilității genetice și ale eroziunii genetice.

Din păcate, legislația europeană a favorizat acest fenomen, prin condiționarea introducerii soiurilor în cataloagele naționale și în cel european și de îndeplinire a criteriilor DUS (distincție, uniformitate, stabilitate) (Maxim, 2010).

Astfel, majoritatea varietăților locale și tradiționale de semințe au fost expuse fenomenului de eroziune genetică, de pierdere a diversității genetice în cadrul unei populații, inclusiv pierderea strictă a unor gene sau combinații de gene, aflate în organisme adaptate la anumite habitate zonale. Altfel spus, eroziunea genetică poate fi asociată cu sărăcirea bazei genetice, pierderea de gene, iar în sens larg, cu pierderea unor soiuri de cele mai multe ori valoroase (Ghidra și colab., 2004).

7.2 Obiectivele și strategia conservării biodiversității

Obiectivele care trebuie atinse în vederea conservării biodiversității sunt în principal:

1. evaluarea biodiversității specifice fiecărei țări și recunoașterea valorii naționale a acesteia, coroborată cu a lumii întregi;
2. descoperirea și înlăturarea pericolelor antropice pentru conservarea speciilor și a ecosistemelor;
3. descoperirea celor mai favorabile condiții pentru restabilirea echilibrului mediului și a conservării biodiversității;
4. îmbunătățirea continuă a metodelor de evaluare a biodiversității, concomitent cu monitorizarea acesteia;

5. folosirea rațională a resurselor biologice și perfecționare a cadrului legislativ privind valorificarea și conservarea resurselor biologice;

6. perfecționarea sistemului de management din domeniul conservării biodiversității;

7. informarea și educarea ecologică a populației și atragerea ei spre luarea de decizii în ceea ce privește conservarea și folosirea rațională a biodiversității (Curtean, 2007).

La baza elaborării strategiilor de conservare a biodiversității stau fundamentele teoretice furnizate de științe ca ecologia, genetica populațiilor, biogeografia, economia, sociologia, antropologia etc.

Conservarea biodiversității necesită o abordare complexă, având două aspecte, unul politic, la nivelul factorilor de decizie și altul tehnic, la nivelul specialiștilor. Aceste aspecte sunt de actualitate și fac obiectul cercetărilor în domeniul conservării biodiversității (Curtean, 2007).

Diferitele strategii de conservare a biodiversității trebuie să realizeze: reabilitarea și reconstrucția biodiversității, raționalizarea eficientă a diversității biologice și a peisajului, pentru perpetuarea vieții pe Pământ și a dezvoltării culturale economico-sociale în viitorul apropiat, dar și cel îndepărtat (Ghidra și colab., 2004).

Din păcate, toate aceste strategii care trebuiesc abordate pentru conservarea biodiversității necesită o perioadă îndelungată de implementare, de peste 10 ani.

7.2.1 Protejarea biodiversității

Preocupări în domeniul conservării biodiversității, au fost consemnate încă din secolele XVIII și XIX, în special în rândul speciilor de animale, însă cu puține rezultate remarcabile, datorită condițiilor limitate în această perioadă istorică.

Protecția biodiversității reprezintă activitățile complexe desfășurate de

om pentru a salva de la pierdere genofondul. La nivel internațional, prin „protecția” biodiversității se înțelege „conservarea” sau „păstrarea” biodiversității.

Necesitatea conservării biodiversității este obiectivă și stringentă deoarece comunitățile umane nu pot trăi și nu se pot dezvolta în afară și independent de ecosistemele naturale (Curtean, 2007).

În scopul evaluării resurselor biologice existente pe Terra și a determinării importanței biodiversității pentru omenire, abordarea problemei biodiversității a fost direcționată spre două aspecte:

1. Biodiversitatea folosită în agricultură - în mod direct sau indirect - pentru hrana omenirii;
2. Biodiversitatea păstrată *in situ* în cazul rezervațiilor naturale și a parcurilor.

În ambele cazuri, concluzia a fost reprezentată de importanța biodiversității pentru viitorul omenirii.

Protecția biodiversității se referă în primul rând la conservarea acesteia, printr-o serie de metode și tehnici dirijate, care asigură condițiile necesare supraviețuirii organismelor aflate în pericol de dispariție. În funcție de locul în care se realizează această serie de metode, conservarea poate fi:

1. Conservarea „in situ” - cuprinde toate măsurile de conservare a speciilor în habitatul lor natural.
2. Conservarea „ex situ” - preconizează luarea tuturor măsurilor necesare conservării speciilor în afara habitatului natural al acestora.

7.3. Organizații și centre cu rol în conservarea biodiversității

În țări dezvoltate ca: Rusia, Germania, Anglia, SUA, începând cu secolul XX, au fost întreprinse acțiuni pentru conservarea biodiversității, dar insuficiente și fără suport guvernamental. Abia în 1930, s-a tras primul semnal de alarmă, odată cu dezvoltarea industriilor, în paralel cu creșterea riscului

disparițiilor mai multor specii, precum și cu riscul insecurității alimentare pe plan mondial, datorită creșterii demografice (Ghidra și colab., 2004).

Intensificarea agriculturii după cel de-al doilea război mondial, a dus la pierderea într-un ritm rapid a populațiilor locale, varietăților „primitive” și selecționate, dar și a materialului nou ameliorat, ducând astfel la o îngustare a resurselor genetice vegetale. Astfel, preocuparea pentru biodiversitate și salvarea ei a devenit mai consistentă, creându-se astfel așa zisele „bănci de gene”. Tot în această perioadă, aceeași preocupare pentru grija biodiversității a avut implicații cu rezultate pozitive în țări ca SUA, Franța, Anglia, Germania, Suedia, intrând în atenția internațională a centrelor politice: Organizația pentru Agricultură și Alimentație (FAO) de pe lângă ONU, Institutul Internațional pentru Resurse Genetice IPGRI, UNESCO etc.

O intensificare a manifestărilor internaționale, cu privire la necesitatea conservării resurselor genetice vegetale, a avut loc puțin mai târziu, între anii 1957 – 1961. Doi ani mai târziu, în 1963, comisiile reprezentative ale FAO au stabilit și avizat proiectul intitulat „Organizarea internațională și setul ghid pentru colectarea, conservarea și schimbul de germoplasmă”. Proiect, care a continuat și s-a extins în 1968 și pentru resursele genetice forestiere (Pop, 2009).

La începutul anilor 70 au avut loc o serie de acțiuni legate de conservarea resurselor genetice vegetale: fondarea Băncii de Gene din Bari (Italia), apoi Braunschweig (Germania de Vest) și Lund (Suedia) pentru țările nordice.

Înființarea Grupului Internațional Consultativ pentru Agricultură (CGIAR), în 1971, din care face parte și România, pe lângă alte 34 țări, a atras după sine înființarea „Consiliului Internațional pentru Resurse Genetice de Plante” (IBPGR), organism cu sediul la Roma din 1973. Astfel, au început să se organizeze bănci de gene la nivel internațional, național sau regional. Grupul CGIAR, în 1994, s-a transformat în Institutul Internațional pentru Resurse Genetice la Plante (IPGRI), institut cu rol de a coordona operațiunile de

colectare, de conservarea materialului și de utilizare a diversității genetice pentru bunăstarea generațiilor prezente și viitoare.

IPGRI este, în prezent un Centru al Grupului Consultativ pentru Cercetarea Agricolă Internațională (GCRAI). Din decembrie 2006, IPGRI operează sub numele de Bioversity International sau Bioversity (www.bioversityinternational.org).

În decembrie 1979 la Geneva a fost înființat „Programul European de Cooperare pentru Resursele Genetice Vegetale”. După schimbările politice majore din anii '90, Comitetul băncilor de gene din cadrul EUCARPIA a coordonat și a sprijinit procesul de cooperare în domeniul resurselor genetice vegetale în același registru se înscrie și crearea Sistemului european de documentare pentru colecțiile din băncile de gene (EURISCO), în anul 2008. Conform datelor EURISCO, în băncile de gene europene sunt conservate aproximativ 268.013 de varietăți locale, adică 25% din totalul de 1.082.212 probe. Baza de date europeană privind resursele genetice vegetale (EURISCO), cu datele specifice României (Banca de Gene Suceava, fiind partener) cuprinde un număr de 43.574 înregistrări (Primack și colab., 2008).

De asemenea, în 1983, în cadrul Conferinței FAO, s-au luat hotărâri cu privire la realizarea unei noi strategii de conservare și de utilizare a resurselor genetice, astfel a avut loc înființarea Comisiei Interguvernamentale pentru Resurse Genetice la Plante. Mai târziu, în cadrul Conferinței pentru Agricultură și Alimentație a ONU, din 1991, s-a recunoscut necesitatea și importanța înființării Resurselor Genetice la Plante pentru Alimentație și Agricultură (PGRFA). Iar în anul 1992, la Conferința Națiunilor Unite pentru Mediu și Dezvoltare (UNCED), s-au înființat programele internaționale de conservare și utilizare susținută a resurselor genetice vegetale pentru hrană și agricultură durabilă, cu rol de bază biologică, direct sau indirect, pentru asigurarea securității alimentare pentru fiecare om al planetei (Pop, 2009).

Convenția asupra Diversității Biologice (CDB), s-a înființat în același an,

1992, având rol deosebit în conservarea biodiversității, prin faptul că asigură acoperirea costurilor provenite din conservarea „*ex situ*” și „*in situ*”. O serie de țări au ratificat această convenție.

În România, în anul 1937 a fost înființat Institutul de Cercetări Agronomice al României (ICAR), iar după anul 1967 s-au înființat Institutul de Cercetări pentru Cereale și Plante Tehnice (ICCPT Fundulea) și stațiunile aferente acestuia. Aceste instituții de specialitate, aveau rolul de a colecta și păstra, în colecții adecvate peste 60.000 varietăți de diferite cereale și plante tehnice.

Deasemenea, preocupările din domeniul științific, în special cel al ameliorării plantelor, și-au conturat caracterul sistematic, orientat către conservarea genetică a resurselor vegetale pentru alimentație și agricultură în același timp cu înființarea unei bănci de resurse vegetale. Astfel, la ora actuală, unica bancă de resurse genetice vegetale de interes național, din România este Banca de gene de la Suceava (BRGVS).

Eforturile care se depun pentru exploatarea plantelor pot fi puse în valoare numai atunci, când resursele colectate sunt protejate de degradare sau pierdere și bineînțeles, când aceste resurse sunt valorificate la adevărata lor valoare. În consecință, exploatarea nu are nici o importanță, dacă resursele nu sunt conservate, iar conservarea rămâne un scop în sine, dacă resursele nu sunt evaluate și folosite.

Un obiectiv important al politicilor de conservare, care urmărește asigurarea disponibilității resurselor pentru a putea fi utilizate în repopularea sau restructurarea agriculturii, este *menținerea diversității genetice a speciilor amenințate* (Vallee și colab., 2004).

Maxim A. (2010), este de părere că „în peisajul agricol, o adevărată provocare, pentru această perioadă istorică a umanității este acțiunea de conservare a biodiversității, provocare ce rezultă - din necesitatea înțelegerii

funcțiilor combinate ale agrobiodiversității – ecologice și sociale – a contribuțiilor pe care le are, atât pentru ecosistem, cât și pentru societate”.

7.4 Băncile de gene

7.4.1 Importanța și obiectivele băncilor de gene

Banca de gene reprezintă o instituție în care se realizează depozitarea, păstrarea și reproducerea germoplasmei. Băncile de gene asigură atât securitatea pe termen lung, cât și punerea la dispoziția solicitanților (fermieri, amelioratori, cercetători), a speciilor cu importanță economică și alimentară (<http://www.bioversityinternational.org/Themes/ Genebanks/index.a.sp>).

Băncile de gene sunt numite și „centre de resurse genetice pentru plante”.

Principalele obiective ale unei banci de gene sunt: explorarea, inventarierea, colectarea și studierea resurselor fitogenetice în vederea conservării adecvate, precondiție a securității alimentare, eradicării sărăciei și protejării mediului (www.svgenebank.ro).

Conservarea resurselor genetice constituie, în prezent, o preocupare importantă a omenirii, decât în urmă cu 50-60 ani. Crearea unor bănci de gene dotate cu echipamente moderne de conservare și de regăsire a informațiilor genetice, a constituit și încă constituie, o măsură de mare importanță, deoarece, aici, se pot asigura sursele de germoplasmă, împotriva eroziunii genetice (Cristea, 1981). Înființarea Băncilor de Gene a înlesnit conservarea resurselor genetice vegetale, fiind cea mai nouă și modernă formă de păstrare a germoplasmei.

În cadrul băncilor de gene, există diferite activități complexe, importante, atât din punct de vedere științific, dar și practic, în perspectiva viitorului umanității (Painting și colab., 1995, citat de Ghidra și colab., 2004)

Activitățile care se desfășoară în cadrul băncilor de gene includ:

- colectarea și achiziționarea de germoplasmă;
- primirea și înregistrarea germoplasmei;
- documentarea în legătură cu materialul săditor;
- uscarea semințelor și conservarea germoplasmei
- regenerarea periodică a materialului săditor;
- efectuarea testelor de viabilitate asupra sămânței;
- servicii de informare a utilizatorilor;
- managementul sămânței;
- distribuirea și evaluarea colecțiilor de material genetic.

Dintre acestea, cele mai importante sunt:

➤ *Colectarea/achiziția de material genetic*: este de fiecare dată însoțită de dialoguri cu localnicii, deținători de terenuri agricole, care conservă cultivările tradiționale, în încercarea de a obține cât mai multe informații cu privire la probele colectate și la condițiile pedo-climatice ale zonelor ecologice, condițiile socio-economice existente la nivelul gospodăriilor țărănești din comunitățile izolate, informații cuprinse în descriptorii “*on farm*” (www.svgenebank.ro/);

Asigurarea viabilității pe termen cât mai lung, concomitent cu păstrarea calității noilor probe. Probele sunt monitorizate în vederea păstrării viabilității. Viabilitatea minimă a semințelor trebuie să se regăsească între 75-80% și se realizează printr-un test inițial de semințe, care trebuie să cuprindă minimum 200 semințe, iar pentru următoarele teste sunt suficiente 50-100 de semințe. Testarea de face între 5 și 10 ani, în funcție de specificul colecției (colecție activă sau de bază). Ca și metode, se utilizează testul de germinație conform normelor ISTA (Institutul Internațional de Testare a Semințelor), testul cu tetrazoliu, analize enzimatic (Maxim, 2010).

➤ *Regenerarea și multiplicarea resurselor genetice vegetale* fiind esențiale în menținerea probelor din colecții, la nivele calitativ (viabilitate) și

cantitativ (număr de semințe) corespunzătoare standardelor internaționale. Reproducerea (regenerarea) germoplasmei, are loc la intervale bine definite pentru a se înlătura riscul pierderii acesteia. Constă în reînnoirea unei probe prin cultivarea acesteia în câmp, pentru obținerea unui lot proaspăt de semințe cu aceleași caracteristici ca și populația originală. De regulă, se execută atunci când viabilitatea scade sub 85%, în timp ce multiplicarea are loc în momentul epuizării stocurilor.

Frecvența operației de multiplicare este în funcție de gradul de utilizare a probei de semințe și de cantitatea (numărul de semințe) la introducerea în colecție, numărul de semințe utilizat pentru regenerarea unei probe poate fi estimat din mărimea standard a eșantionului de regenerat (30 - 100 de plante).

Pentru a asigura utilizarea resurselor biologice stocate (de către ferme, programe de ameliorare sau de cercetare), băncile de gene trebuie să dispună de o caracterizare și o documentare adecvate a colecțiilor, care trebuie să fie puse la dispoziția utilizatorilor (www.bioversityinternational.org/Themes/Genebanks/index.asp).

Principalele *obiective* ale băncilor de semințe sunt următoarele:

- conservarea resurselor genetice naționale;
- regenerarea periodică a germoplasmei și evitarea pierderii unor genotipuri;
- caracterizarea și evaluarea germoplasmei specifice;
- organizarea explorărilor și colectarea germoplasmei la nivel național;
- introducerea de noi resurse și îmbogățirea continuă a germoplasmei;
- schimburi informaționale și de germoplasmă la nivel național și internațional etc.

O sarcină importantă a băncilor de semințe este aceea de a strânge diverse soiuri de plante cultivate și de plante înrudite cu ele. Astfel, se formează un fond genetic din care se poate lua material genetic pentru combaterea unor noi boli sau a unor dăunători ce distrug cultura respectivă. Prin încrucișare selectivă, cercetătorii pot aduce îmbunătățiri producției, precum și valoarea

nutritivă și rezistența la boli și la dăunători a plantelor cultivate. Acest fond genetic devine din ce în ce mai important.

Pentru a accentua valoarea băncilor de semințe agricole, în continuare se prezintă un exemplu: În Africa, la un moment dat, culturile de orez au fost devastate de un virus. Pentru că nici un tratament nu a fost valabil în combaterea aceluși virus, pentru a găsi o soluție la această problemă, mulți agronomi au testat și cultivat diferite soiuri de orez (de ordinul miilor de tipuri de semințe), obținute din colecții din întreaga lume. Doar un singur tip de semințe de orez sălbatic din Gonda, India, conținea o genă ce conferea rezistență la acea boală. Orezul sălbatic, a fost, imediat, introdus într-un program de creștere pentru transferul genei de rezistență la boala virală, de la planta sălbatică la varietățile de orez crescute intensiv. Astfel, dacă sămânța de orez sălbatic nu ar fi fost colectată într-un sistem specializat, ar fi murit înainte de a fi descoperită valoarea lui, iar viitorul culturilor de orez din Africa ar fi fost incert (Primack și colab., 2008).

Dezavantajele colectării și depozitării de material genetic. Dincolo de acest succes de renume, în colectarea și depozitarea de material genetic, băncile de gene au câteva *limitări importante*.

- colecțiile sunt adesea slab documentate din punct de vedere al locației colectării și condițiilor de creștere;

- multe din semințe sunt de calitate necunoscută și pot să nu germineze;

- speciile de cultură, de importanță regională, ale unor plante, precum cele medicinale, pentru fibre și alte plante utile nu sunt destul de bine reprezentate, chiar dacă ele au o importanță deosebită, mai ales în țările tropicale (Primack și colab., 2008).

- riscul pierderii colecției de semințe congelate, în cazul întreruperii furnizării energiei electrice sau a defectării echipamentelor;

- pierderea capacității de germinare a semințelor chiar și în condițiile păstrării la rece;

- apariția de mutații dăunătoare;
- necesitatea reîntineririi mostrelor de semințe la intervale regulate de timp (Maxim, 2010).

De reținut, este faptul că, pe întregul glob, peste 90% din necesarul de calorii al omenirii este asigurat în prezent de numai 103 specii de plante, dar mai bine de jumătate din aportul mondial de energie provine, doar de la trei plante de cultură importante: orezul, grâul și porumbul. De ce constituie acest lucru o problemă?

- Când un tip de cultură larg răspândit prezintă aceleași caracteristici genetice, devine vulnerabil în fața unei singure boli sau a unui singur dăunător. Cel mai cunoscut exemplu, care ilustrează cât de periculoasă e uniformitatea genetică, este cel din Irlanda anilor '40 ai secolului al XIX-lea. În vremea aceea, întreaga recoltă de cartofi a fost compromisă din cauza manei cartofului (*Phytophthora infestans*). Această ciupercă a declanșat Marea Foamete, cum a fost numită uneori și a dus la moartea a 750.000 de oameni.

7.4.2 Organizarea și funcționarea băncilor de gene

Cea mai economicoasă, eficientă și facilă metodă de conservare este cea realizată în spații construite special, cu condiții controlate și care asigură păstrarea și integritatea genetică a probelor conservate, pe o lungă perioadă de timp. În încăperi speciale, la o temperatură și umiditate specifică, se realizează conservarea sub formă de semințe, polen și culturi *in vitro* sau direct în câmp (IPGRI, 1994).

Banca de gene este o construcție special amenajată care cuprinde dotări aferente obiectivelor urmărite. Personalul diverselor departamente are o pregătire de specialitate, cu responsabilități și atribuții de lucru bine precizate (după Ghidra și colab., 2004, citat de Pop, 2008):

Băncile de gene au o dimensiune care variază în funcție de obiectivele

pentru care au fost construite și sunt conduse de un manager. Activitatea băncii de gene este primordial științifică, în fiecare compartiment al băncii lucrează cercetători și personal auxiliar. Toate compartimentele au un obiectiv general pentru că sunt conjugate între ele, iar prin compartimentul de documentare se asigură datele și informațiile necesare celorlalte. Mai nou, în cadrul fiecărei bănci, a apărut un nou compartiment, cel de regenerare a probelor. De asemenea, orice bancă are un compartiment de distribuire a semințelor către alte bănci de gene sau utilizatori (Ghidra și colab., 2004).

7.5 Tipuri de bănci de gene

7.5.1 Bănci de gene internaționale

Băncile de gene internaționale – sunt cele care aparțin unor organisme internaționale sau unui grup de țări (de exemplu: Banca Nordică de Gene aparține Suediei, Norvegiei și Danemarcei) cu scopul de a conserva doar germoplasma folosită pentru programe de cercetare. La nivel mondial există mai mult de 50 de bănci de semințe mari, multe dintre ele localizate în țări dezvoltate. La acestea mai adăugăm circa 1.300 colecții mici, regionale. Băncile de semințe colective mențin în jur de 6 milioane de semințe. Scopul acestor facilități este legat de conservarea resurselor genetice necesare cultivării speciilor (Ghidra și colab., 2004).

De cele mai multe ori, plantele sunt mai ușor de menținut în condiții controlate decât animalele. Mostrele de populații de plante, pot adesea să furnizeze semințe, boboci, rădăcini sau alte părți ale plantelor pentru colecțiile de cultură a țesuturilor. Multe plante au nevoi de bază (lumină, apă și minerale) care pot fi obținute în sere și grădini. Este relativ ușor să ajustăm lumina, temperatura, nivelul de umiditate, tipul și umiditatea solului pentru fiecare specie, întrucât informațiile despre creșterea naturală a acestora sunt disponibile. Chiar dacă plantele nu se mișcă, ele pot trăi adesea în densități foarte ridicate.

Grădinile botanice și institutele de cercetare au dezvoltat colecții de semințe, numite bănci de semințe, din plante sălbatice sau cultivate, care produc resurse cruciale pentru colecțiile de plante vii. Numeroase plante, mai ales cele din zonele temperate, climat arid și acelea din zonele afectate, au semințe care pot dormi câțiva ani sau chiar decenii în frig și condiții de uscăciune (Haș și colab., 2006).

În trecut, aceste organizații denumite astăzi „bănci de gene”, au fost utilizate pentru comercializarea plantelor cultivate. Astăzi, grădinile botanice sunt în poziția de a contribui la eforturile de conservare a biodiversității, deoarece colecțiile vii, din cadrul lor și din ierbarele asociate, reprezintă cea mai bună sursă de informație referitoare la distribuția plantelor și condițiile de habitat necesare acestora. Personalul grădinilor botanice este adesea autoritatea recunoscută pentru identificarea, distribuirea și statutul de conservare. Expedițiile trimise de grădinile botanice descoperă noi specii și determină distribuția și statutul speciilor cunoscute.

Grădinile botanice și-au crescut interesul pentru cultivarea de specii de plante rare și amenințate, specializându-se pe anumite tipuri de plante.

- ***Arnold Arboretum*** al Universității Harvard Arborway, Boston, Statele Unite ale Americii, crește mii de specii de arbori din zone temperate;

- ***New England Wildflower Society*** are o colecție de mii de specii ierboase, perene, din zone temperate.

- ***Millennium Seed Bank Project*** al Grădinii Botanice Regale din Kew, Anglia, este un proiect la care colaborează 80 de țări, are deja o bază de date care deține 11% din cele 250.000 plante estimate la nivel mondial. Colecția acestei bănci, este axată în special pe speciile din climatele uscate ale lumii și pe flora Marii Britanii. Se cunoaște faptul că, în prezent, peste 23.700 semințe de la circa 11.870 specii din 131 țări au fost stocate, incluzând 96% din flora Marii Britanii. Obiectivul principal este ca până în 2020 să salveze 25% din speciile cunoscute (www.kew.org).

Deasemenea în Statele Unite ale Americii, eforturile de conservare din rețeaua de 34 de grădini botanice sunt coordonate de **Center for Plant Conservation**, din cadrul Missouri Botanical Garden. Aceste grădini botanice mențin colecții cu peste 600 de plante rare. Cele mai multe plante provin din zone tropicale. America având singură 3.000 specii care sunt amenințate, mai mult de 450 dintre ele sunt cultivate în grădini botanice. Astfel, se menține un material genetic adecvat și se poate realiza o expertiza necesară pentru reintroducerea speciilor în sălbăticie.

În cadrul acestui centru, se lucrează la crearea unei baze de date online referitoare la plante, care în prezent are listate peste 90.000 de specii și varietăți genetice, crescute în grădini botanice, dintre care 9.000 sunt rare sau amenințate cu dispariția. Aici, se pot identifica grădinile botanice care mențin astfel de plante, există legături hiperlink cu baza de date, care oferă și imagini sugestive ale plantelor (<http://saveplants.org/>).

Alte centre, a căror obiectiv este conservarea biodiversității agricole:

- *United State Departament of Agricultural Research Services* (USDA-ARS) (www.ars.usda.gov)
- *National Center for Genetic Ressources Preservation* (NCGRP), numită formal National Seed Storage Laboratory (NSSL), din Fort Collins, Colorado, păstrează semințe la temperaturi de -196 °C (www.ars.usda.gov). NCGRP depozitează 470.000 semințe aparținând la 11.000 specii de plante.
- *Institute of Crop Germplasm Ressources*, Beijing, China, are peste 370.000 semințe stocate (<http://www.cgris.net/>).

Se consideră că circa 10% din speciile de la nivel mondial, au semințe greu de menținut în colecții, așa numitele „semințe recalcitrante” (acele semințe care nu intră în repaus vegetativ și nu tolerează temperaturile scăzute). Astfel de semințe se întâlnesc mai ales în pădurile tropicale, majoritatea aparținând speciilor importante economic (arborii fructiferi tropicali, arborii pentru lemn, dar și plante de cultură: arborele de cauciuc, arborele de cacao, avocado,

mango), pentru a supraviețui, trebuie să germineze imediat, astfel mor.

Pentru a găsi cea mai potrivită modalitate de conservare a acestor semințe, s-au realizat diferite investigații și cercetări în domeniu, iar concluzia a fost de a stoca embrionul din interiorul seminței.

În acest sens s-au stabilit unele grădini botanice să fie recunoscute ca depozite de clone sau sere de clone, iar variabilitatea genetică a acestor specii să fie preservată prin înmulțire vegetativă, cum ar fi:

- ***International Potato Centre*** (Centrul Internațional al Cartofului), din Peru, Lima și

- ***International Centre for Tropical Agriculture*** (Centru Internațional pentru Agricultură Tropicală), din Columbia.

O metodă alternativă pentru conservarea variabilității genetice, a acestor semințe, presupune preservarea *in situ* a practicilor agricole tradiționale.

Acest tip de înmulțire vegetativă se utilizează și este recomandată și pentru speciile aflate în prag de extincție. Prin utilizarea unei singure părți ale plantei (frunză, mugure, rădăcină), pot fi crescute și obținute prin culturi de țesuturi și celule întreagă plantă.

Pe continentul Africii, există mai mult de 250 de grădini botanice, care mențin rezerve naturale și care pot fi importante pentru conservarea speciilor, se consideră că dețin 25% din speciile de plante de pe teritoriul continentului (Primack și colab., 2008). Cele mai importante sunt:

- ***Makana Botanical Gardens***: înființată în 1853, a doua grădină botanică din Africa de Sud, fiind recunoscută ca monument cultural, prima fiind înființată în anul 1849 în Cape Town;

- ***Free State National Botanical Garden***: ocupă circa 70 ha și include 400 de specii de plante;

- ***Johannesburg Botanical Garden***: înființată în 1964, în cadrul acesteia principala atracție este grădina de trandafiri, cu peste 10.000 de sortimente;

Un proiect de mare actualitate, având ca scop conservarea speciilor, se

derulează începând cu anul 2008, pe insula norvegiană Spitsbergen, parte a arhipelagului Svalbard, în interiorul unui munte din apropierea satului Longyearbyen (Fig. 7.1).

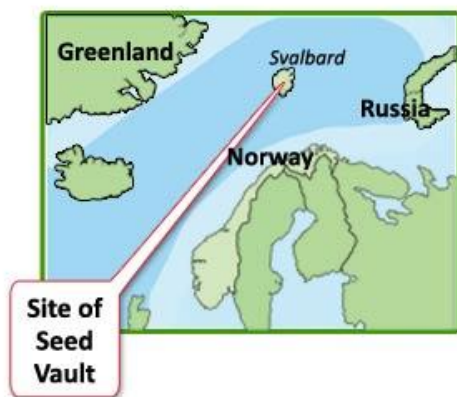


Fig. 7.1. Zona Svalbard, Norvegia

(sursa: www.ctahr.hawaii.edu)

Aici, diferite companii și oameni de afaceri (cum ar fi Fundația Rockefeller, Monsanto Corporation, Fundația Syngenta, Bill Gates și Guvernul Norvegiei), investesc pentru proiectul denumit *Svalbard Global Seed Vault* sau „banca de semințe pentru ziua apocalipsei” (www.croptrust.org) (Fig. 7.2).



Fig.7.2 Banca de semințe Svalbard Global Seed Vault - insula Spitsbergen

(sursa: www.oddcities.com/)

Locația din Svalbard are o capacitate de a adăposti peste 3 milioane de semințe diferite din întreaga lume „astfel încât diversitatea culturilor poate fi

conservată pentru viitor,” conform declarațiilor guvernului norvegian. Semințele vor fi special ambalate, în pungi de aluminiu, pentru a elimina umiditatea și vor fi ținute la temperaturi scăzute în condiții de maximă siguranță.

7.5.2. Bănci de gene naționale

Băncile de gene naționale - sunt acele centre naționale de resurse genetice, în care se păstrează numeroase eșantioane de germoplasmă de interes curent, pentru cei care lucrează în cercetarea națională.

La nivel național, activitatea de colectare și păstrare a materialului genetic vegetal a început odată cu debutul preocupărilor de ameliorare științifică. Aceste preocupări și-au conturat caracterul sistematic, orientat către conservarea genetică a resurselor vegetale pentru alimentație și agricultură simultan cu înființarea Băncii de Resurse Genetice Vegetale Suceava (BRGVS). La inițiativa dr. Mihai Cristea, proiectul a început în anul 1982, iar construcția băncii a început în anul 1985. În perioada 1987-1990 unitatea a funcționat ca laborator specializat în domeniul resurselor genetice vegetale, în cadrul Stațiunii de Cercetare - Dezvoltare Agricolă Suceava.

Banca, în prezent (2024) găzduiește un patrimoniu genetic bogat și divers, alcătuit din 428 de specii de plante, reprezentând mai mult de 18.000 de varietăți diferite (forme sălbatice, populații locale, material de ameliorare etc.), păstrate ca sămânță (peste 17.500 varietăți), plante vii în câmpul experimental (310 genotipuri de cartof, usturoi și ceapă) și ca plantule „in vitro”, în condiții de creștere lentă (110 genotipuri locale de cartof). Aproximativ jumătate din materialul conservat este autohton, rezultat al celor 51 de expediții de colectare, care acoperă geografic 1549 de localități, din toate județele țării (www.svgenebank.ro).

În cadrul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca, se află o bancă de semințe, veche de circa 50 de ani, în care se pot număra aproape 1.000 de soiuri de semințe, în special din flora spontană, culese

de pe teritoriul țării noastre, peste 20 de cultivare de tomate și alte plante de cultură de interes economic (www.usamvcluj.ro).

Se consideră că, în lume există 1.308 bănci de gene, iar în Europa 496 (35% din total). Majoritatea băncilor de gene prezintă instalații care le permit conservarea pe termen lung (60%), pe termen scurt (8%), iar restul prin crioconservare.

7.6 Modalități de conservare în bănci de gene

Conservarea resurselor genetice vegetale este un proces de menținere pe o perioadă cât mai îndelungată de timp, a variabilității și a structurii genetice a speciilor sălbatice și a varietăților rezultate din acestea. Menținerea viabilității plantelor se realizează fie *prin semințe*, fie *prin organele vegetative de înmulțire* (bulbi, tuberculi, rizomi, etc). Păstrarea prin semințe este considerat a fi cel mai utilizat mod de conservare a resurselor genetice vegetale.

În funcție de obiectivele propuse și de însușirile fiziologice ale semințelor, conservarea materialului genetic, în băncile de gene, se realizează pe termen foarte lung, mediu sau scurt (Engels și Visser, 2003, citați de Pop, 2008). Materialul genetic poate fi conservat sub formă de semințe, de culturi *in vitro* sau prin criostocare.

Obiectivele pe termen lung - presupun colectarea materialului genetic amenințat de dispariție și a celui pentru care se prevede o utilizare viitoare.

Obiectivele pe termen mediu - prevăd conservarea materialului destinat umplerii golurilor din colecția deja existentă.

Obiectivele pe termen scurt – sunt reprezentate de conservarea materialului săditor utilizat curent de către fermieri.

Germoplasma conservată pe termen lung nu este destinată utilizării în mod curent. Conservarea pe termen mediu și scurt, la temperatura de 5°C, în încăperi cu umiditatea aerului scăzută, este destinată materialului de uz curent sau celui pe cale de a fi imediat utilizat.

7.6.1. Condiții de conservare a resurselor genetice vegetale

Păstrarea sau conservarea produselor agricole depinde de nivelul proceselor vitale ale acestora, care determină transformările biochimice și, eventual, viabilitatea embrionului. În cazul semințelor, păstrarea sigură se poate face doar din momentul când umiditatea acestora întrunește anumite condiții prevăzute la fiecare grupă de specii în parte.

Păstrarea optimă a produselor agricole are loc în condiții controlate ale factorilor de mediu, în primul rând a umidității și temperaturii, prin reducerea cât mai mult a proceselor vitale din masa de produse agricole. În funcție de felul cum sunt dirijați acești factori, există mai multe metode de păstrare:

- în stare uscată; la temperaturi scăzute;
- prin aerare (naturală sau activă);
- prin asfixiere (păstrare anaerobă);
- cu ajutorul substanțelor chimice sau prin iradiere.

Fiecare dintre aceste metode are o tehnologie specifică. Alegerea uneia dintre aceste metode se face în funcție de zona climatică, cantitatea și calitatea produselor, destinația lor, tipul depozitului, utilajele disponibile și de considerente economice. Frecvent se folosesc combinații între aceste metode, de exemplu uscarea, răcirea și aerarea activă. Semințele și materialul săditor, condiționate, se pot depozita în vrac, în containere sau ambalate. Mărimea și înălțimea vracului de semințe, a stivelor de saci sau a altor tipuri de ambalaj și modul de stivuire se fac în funcție de specie, starea semințelor și tipul de depozitare, pentru a nu afecta calitatea semințelor.

Sămânța vrac din celulele de siloz trebuie să nu stea depozitată mai mult de o lună. Depozitarea seminței condiționate se poate face în vrac pe partide sau loturi, sau ambalată pe loturi, în magazii curate, aerisite, uscate, dezinfectate, ferite de exces de umiditate și dăunători pentru a asigura păstrarea identității și calității semințelor. La unele categorii de material de înmulțire și plantare, depozitarea (păstrarea) se poate realiza prin stratificare (Duda și Timar, 2007).

Există câteva reguli de prelevare a semințelor, stabilite de Centru pentru conservarea plantelor (www.saveplants.org), în vederea conservării variabilității lor genetice, mai ales pentru speciile amenințate cu extincția. Acestea sunt:

1. Prioritatea maximă la colectare o au speciile care:
 - sunt în pericol de extincție. Speciile care înregistrează un declin rapid al numărului de indivizi sau de populații;
 - sunt evoluționar sau taxonomic unice;
 - pot fi reintroduse în sălbăticie;
 - au potențial de conservare în condiții *ex situ*;
 - au valoare economică potențială pentru agricultură, silvicultură sau industrie.
2. Probele mostră, să fie colectate de la cel puțin cinci populații/specie, astfel se poate asigura variabilitatea genetică de la acea populație;
3. Acolo unde este cazul și posibil, se recomandă colectarea unui număr suficient de populații, pentru a acoperii condițiile de habitat specifice speciei, deasemenea pentru acele populații care au cinci sau chiar mai puține populații, se colectează toate populațiile;
4. Probele trebuie să aibe între 10 și 50 indivizi/populație. Dacă sunt colectați mai puțin de 10 indivizi, se pot înregistra gene alele lipsă;
5. Pentru a cunoaște numărul de semințe, bulbi, tuberculi etc., se determină viabilitatea semințelor speciei. La o viabilitate mare a seminței, sunt necesare puține semințe; iar la o viabilitate mică, trebuiesc colectate mai multe semințe per individ;
6. Dacă indivizii speciei au o rată de înmulțire redusă, colectarea mai multor semințe într-un an poate avea un efect negativ asupra populației din care se face colectarea. Aceste probleme pot apărea la plantele anuale sau cu ciclul vegetativ mai redus. În acest caz, cea mai bună strategie este de a prelungi colectarea pe câțiva ani.

Aceste colecții de semințe nu reprezintă scopul final al eforturilor de conservare, dar uneori sunt punctul de plecare în stabilirea colecțiilor vii și eventual reintroducerea plantelor înapoi în sălbăticie (Primack și colab., 2008).

Varietățile tradiționale de semințe, sunt readuse în folosință odată cu începerea promovării diversității lor și a cunoștințelor despre acestea, mai exact, în momentul când se inițiază programele pentru conservarea lor.

Principalele metode utilizate pentru achiziția de germoplasmă nouă sunt:

- **prin colectare directă**- organizarea și desfășurarea unor misiuni de explorare - colectare proprii centrelor de colectare, sau băncilor de germoplasmă. În funcție de zonele de colectare, se disting două tipuri de misiuni de colectare:
 - misiuni de colectare organizate, la nivel național, pe teritoriul României;
 - misiuni de colectare organizate în străinătate, cele care fac obiectul unor proiecte bilaterale sau internaționale.
- **preluare de material biologic** - din colecțiile diferitelor entități (institute/stațiuni de ameliorare, grădini botanice etc.) care au în dotare germoplasmă vegetală;
- **prin schimb de germoplasmă** - sau solicitare de material genetic de la unități similare din străinătate; consultând bazele de date on-line ale diferitelor bănci internaționale. Criteriul principal de selecție este originea probelor, având prioritate materialul de origine românească sau cel din zone geografice similare din punct de vedere pedo-climatic, cu cele din țara noastră.

Dar dintre toate, principala sursă de material genetic o constituie misiunile de colectare, axate pe varietăți tradiționale sau populații locale, soiuri vechi, scoase din cultură, forme cel mai amenințate de fenomenul de eroziune genetică, precum și rude sălbatice ale plantelor de cultură (www.svgenebank.ro).

Există două mari strategii de conservare a resurselor genetice vegetale: conservarea *ex situ* și *in situ*. Diferența fundamentală dintre ele, constă în: conservarea *ex situ* reprezintă prelevarea probelor unei specii și transferul acestora la o distanță destul de mare de locația originală; iar conservarea *in situ* (în habitatul original), constă în gestionarea și monitorizarea unei specii la locul de origine (Negri și colab., 2009).

7.6.2 Conservarea *ex situ* a resurselor genetice vegetale

Conservarea *ex situ* înseamnă conservarea diversității biologice în afara habitatelor lor naturale. Această strategie se realizează prin transferul speciilor în grădini botanice, respectiv bănci de gene și se aplică, în general, speciilor cu risc de extincție.

Printre acțiunile prioritare în acest domeniu se pot menționa:

- înregistrarea și evaluarea plantelor cultivate, a colecțiilor de plante sălbatice, certificarea și asigurarea în spații controlate;
- conservarea speciilor în grădini botanice și bănci de gene, asigurarea supraviețuirii, multiplicării și reintroducerii lor în ecosistemele naturale, în special, a celor rare și periclitate.

Dacă o populație are un număr redus de indivizi și există riscul de extincție, atunci singura cale de prevenire a acestui fenomen rămâne menținerea în condiții artificiale, sub controlul oamenilor, denumită prezervare „*ex situ*”.

„*Arca lui Noe* a devenit o metaforă pentru protecția *ex situ*, sugerând că multe specii nu ar exista astăzi dacă nu ar fi fost luate, din sălbăcie și menținute în captivitate” (Maxim, 2010).

Acest tip de conservare se realizează în: bănci de gene, care pot folosi câteva tehnici specifice:

- stocarea de semințe;
- menținerea de plante vii în colecții de câmp;

- depozitarea *in vitro*;
- păstrarea polenului;
- depozitarea de semințe cu un conținut ultrascăzut de umiditate;
- stocarea de material genetic (ADN, ARN, mitocondrii, etc).

Sau în grădini botanice, care mențin:

- colecții de plante vii în camp;
- colecții de plante vii în sere;
- colecții de semințe.

Avantajele conservării ex situ: pentru conservatorii de resurse genetice vegetale presupun următoarele:

- mostrele sunt relativ ușor de identificat, într-o bancă de gene sau grădină botanică, deoarece materialul este de regulă bine documentat pentru utilizarea lui de către crescătorii de plante și oamenii de știință;

- diversitatea genetică menținută prin această metodă este ușor de controlat, atât timp cât materialul adăugat periodic este păstrat în condiții adecvate și regenerat periodic, posibilitatea de a pierde material este scăzută, iar accesul este relativ ușor (Platon Andreea, 2012);

- în cazul în care germoplasma devine periclitată, aceasta poate fi imediat asigurată prin realizarea colecțiilor *ex situ*.

Dezavantajele conservării ex situ:

- datorită faptului că acest tip de conservare transferă materialul genetic din mediul său natural, se poate opri un anumit proces evolutiv aflat în curs de desfășurare și care ajută la crearea soiurilor locale unice și adaptabile la medii în schimbare;

- în multe cazuri, poate fi un efort mare din punct de vedere financiar, afectând alegerea culturilor pentru conservarea *ex situ*, în acest sens pot fi colectate doar culturile cu valoare economică mare (Platon Andreea, 2012).

7.6.3 Conservarea resurselor genetice vegetale sub formă de sămânță

Stocarea de germoplasmă vegetală sub formă de sămânță reprezintă cea mai practică și, în același timp, cea mai practică metodă de conservare *ex situ*, fiind apreciată ca ieftină și eficientă, permițând conservarea unui mare număr de probe într-un spațiu relativ mic.

„Tehnologia conservării semințelor presupune plasarea acestora, după parcurgerea unei etape de uscare, în încălzi cu temperaturi și, eventual, umidități relative ale aerului controlate”. Atât calitatea semințelor (starea de sănătate, maturitatea fiziologică), cât și conținutul de umiditate al acestora, dar și temperatura de depozitare, sunt factorii esențiali care influențează viabilitatea, stabilitatea genetică și longevitatea probelor conservate (Platon, 2012).

Deoarece nu se pot aplica aceleași condiții de păstrare pentru toate accesunile aflate în conservare, păstrarea semințelor devine mai dificilă pe măsură ce crește perioada de păstrare a lor.

Între viabilitatea semințelor și factorii genetici există o strânsă legătură, astfel cu cât viabilitatea semințelor este mai mare, cu atât eroziunea genetică este mai redusă și invers. Această constatare a făcut-o pentru prima dată De Vries în 1901, care a observat că semințele de *Oenothera biennis* (Luminița), în vârstă de cinci ani, au dat naștere la plante cu o mai mare variabilitate genetică decât semințele de 1-2 ani. Deși, la început, autorii au considerat că genotipurile mutante au fost conținute în masa de semințe, ulterior a fost demonstrat faptul că eroziunea cromozomală apare și se acumulează în semințe în timpul depozitării (Navashin, 1933; Peto, 1933).

În funcție de particularitățile specifice semințelor, prin care ele manifestă o reacție și un comportament diferit, față de reducerea umidității și a temperaturii, acestea se pot clasifica în mai multe categorii:

- **semințe „ortodoxe”** (clasice) – suportă uscarea până la realizarea unor procente reduse de umiditate (până la 5% umiditate), putând fi păstrate la

temperaturi scăzute (sub 0°C), favorizează menținerea viabilității și vigorii pe o perioadă lungă de timp. Din această categorie fac parte speciile de plante, din zonele temperate.

- **semințe „intermediare”** – sunt mai vulnerabile la temperaturi foarte scăzute, deoarece au o capacitate mai redusă de suportare a uscării;

- **semințe „recalcitrante”** – au un conținut ridicat de apă, astfel nu tolerează scăderea umidității și a temperaturii sub anumite limite (temperaturi negative). Se pot păstra doar pe durată medie și mică, semințele trebuie tratate cu fungicide și stocate în mediu umed și cu acces la oxigen. Acest tip de semințe le întâlnim la majoritatea speciilor lemnoase, de cultură tropicală.

Pentru păstrarea semințelor în bănci de gene, sunt necesare o serie de etape de lucru obligatorii, și anume:

- a) colectarea și înregistrarea resurselor genetice;
- b) pregătirea semințelor;
- c) ambalarea semințelor, se face de obicei în pungi de aluminiu sau containere de sticlă atent etichetate (Fig.7.3);
- d) conservarea semințelor, reprezintă un proces complex, care se realizează pe o perioadă mai lungă sau mai scurtă de timp, cu păstrarea viabilității și structurii ereditare a probelor (Pop, 2008).



Fig. 7.3. Păstrarea semințelor în pungi de aluminiu și recipiente de sticlă
(sursa: <http://www.descopera.ro>)

Avantajele conservării sub formă de semințe, constau în:

- este o metodă simplă și economică de a păstra toate plantele care au semințe;
- odată depozitate, semințele nu necesită foarte mare atenție;
- nu necesită spațiu mare de depozitare, într-un flacon se pot menține până la câteva sute, chiar mii de semințe;
- după tratamentele speciale efectuate asupra sămânței, potențialele plante pot fi păstrate în siguranță zeci de ani, chiar sute, un timp mult mai îndelungat decât ar putea ele supraviețui în mediul lor, fără intervenția omului;
- semințele conservate pe termen lung constituie surse genetice care se pot păstra pentru generațiile viitoare, dar și pentru programele de ameliorare a plantelor.

Această modalitate de prezervare, deși este considerată esențială pentru protejarea resurselor genetice vegetale, prezintă și unele *dezavantaje*:

- riscul pierderii colecției de semințe, în cazul întreruperii furnizării energiei electrice sau defectării echipamentelor;
- pierderea capacității de germinare a semințelor chiar și în condițiile păstrării la rece;
- apariția de mutații dăunătoare;
- necesitatea reîntineririi mostrelor de semințe la intervale regulate de timp (Platon, 2012).

7.6.4 Conservarea colecțiilor în câmp

Colecțiile în câmp nu sunt considerate a fi o metodă adecvată de conservare din cauza riscurilor fitosanitare, fiind vulnerabile la atacul paraziților, dar și la calamități naturale (furtuni, seceta atmosferică, uragane, gheață, incendii etc.).

Deasemenea, slaba adaptare a materialului la noile condiții de mediu, climă și sol, poate atrage după sine diverse riscuri. De exemplu, unele specii

care provin din zone cu exces de umiditate, pot să fie sensibile la acarieni și alte insecte dăunătoare, în timp ce speciile adaptate la condiții de secetă tind să aibe sensibilitate ridicată la diverse boli foliare.

Avantajul metodei: acest tip de conservare se pretează pentru speciile cu înmulțire vegetativă și pentru cele care produc semințe recalcitrante.

Dezavantajul constă în faptul că, colecțiile în câmp sunt foarte costisitoare; justificarea lor este doar atunci când există o cerere regulată pentru materialul de plantare, în diverse scopuri, cum ar fi: obținerea unui număr mai mare de semințe, caracterizarea și evaluarea speciilor, sau în scopul înmulțirii *in vitro*. Deasemenea poate fi singura alternativă pentru țările sau instituțiile care nu au disponibile tehnici avansate și sigure de conservare (cum ar fi *in vitro*, sau alte tehnici de conservare) (Mohd și Rao, 2001). Pentru siguranță, se recomandă păstrarea duplicatelor în condiții de creștere lentă, *in vitro*.

7.6.5 Conservarea *ex situ* prin culturi *in vitro*

Colecțiile *in vitro* conservă germoplasma sub formă de celule, țesuturi vegetale sau plantule, în mediu de cultură steril, fiind considerată o modalitate importantă pentru reducerea eroziunii genetice și menținerea potențialelor plante sub formă de culturi.

Conservarea *in vitro*, ca tehnică modernă a conservării *ex situ*, implică tehnici de culturi celulare utilizate pentru menținerea și păstrarea resurselor vegetale cultivate și crescute *in vitro* prin procese ce implică subcultivări succesive.

Menținerea în habitatele de origine, dar și refacerea populațiilor speciilor de plante pe baza tehnicilor *in vitro* devine din ce în ce mai importantă datorită, în principal, schimbărilor climatice accentuate din ultima perioadă, dar și a impactului antropic și popularea unor noi zone.

Selectarea speciilor potrivite pentru acest tip de conservare. Majoritatea speciilor candidate pentru un astfel de program sunt specii caracterizate prin

populații mici, izolate, ce prezintă riscul pierderii rapide a variației genetice prin drift genetic. Screeningul ar trebui aplicat populațiilor care sunt suspectate de a prezenta riscul consecințelor proceselor genetice.

Metodele de screening genetic sunt bazate pe markerii biochimici sau molecular, dar și pe evaluarea caracterelor cantitative exprimate fenotipic de către indivizii unei populație. Diferitele strategii de recoltare a probelor utilizate în conservarea *ex situ* depind în mare parte de cunoașterea locației, distribuția și diversitatea genetică existent în acea zonă.

Conservarea sub formă de țesut somatic, poate fi utilizată doar pentru perioade scurte de timp și doar pentru plantele care nu produc semințe, sau produc semințe recalcitrante. Această metodă se poate realiza doar în condiții de lumină și temperatură controlate, lucru ce ajută la reglarea creșterii celulelor (Frankham și colab., 2011).

În cadrul Băncii de gene din Suceava, una dintre plantele de cultură, care se pretează pentru menținere prin multiplicare pe cale vegetativă și pentru care au fost elaborate proceduri de micropropagare prin culturi de meristeme este cartoful (*Solanum tuberosum L.*) (Fig.7.4) (www.svgenebank.ro).



Fig. 7.4. Micropropagarea prin culturi de meristeme la cartof (*Solanum tuberosum L.*) (A - camera de creștere, B – cartof *in vitro*)
(sursa: www.svgenebank.ro)

Această metodă, deși prezintă riscul apariției variabilității somaclonale, datorată metodelor de regenerare folosite, dar și a menținerii pe termen mediu și lung a culturilor, joacă un rol extrem de important în conservarea speciilor de plante periclitate, acționând împotriva dispariției acestora sau a populațiilor sălbatice și deasemenea reprezintă o sursă continuă de plante utilizate în programele de ameliorare.

Colecțiile *in vitro* pot fi clasificate în (IPGRI Handbooks for genebanks No. 6, 2003):

– **Colecții active:** cuprind exemplare pentru utilizare curentă, multiplicare, cercetare, distribuire, evaluare. Sunt în mod normal duplicate ale colecțiilor de bază și sunt menținute în condiții de conservare pe termen mediu și lung.

– **Colecțiile de bază:** reprezintă un set de exemplare conservate pe termen lung, ce nu sunt utilizate pentru analize de rutină.

– **Colecții pentru securitate:** cuprind exemplare din colecțiile active depozitate în locații diferite față de colecțiile active și cele de bază.

– **Colecțiile de arhivă:** conțin stocuri de germoplasmă depozitată.

În prezent, s-au dezvoltat tehnici de păstrare prin culturi *in vitro* la peste 1.000 de specii vegetale. Modalitatea de prezervare *in vitro* este complementară celorlalte forme de păstrare. Această tehnică de conservare genetică este prohibitivă pentru multe bănci de gene, datorită costurilor ridicate cu echipamentele, mediile de cultură și personalul cu înaltă calificare.

Un alt dezavantaj constă în instabilitatea genetică datorată variației somaclonale care apare în momentul donării. De asemenea, perioada între două subculturi este relativ scurtă (Duda și Timar, 2007; Maxim, 2010).

Etapă de prezervare a culturilor *in vitro* se poate realiza prin două metode:

- prezervare în condiții de creștere lentă;
- prezervare prin criostocare (în azot lichid).

7.6.5.1. *Prezervare în condiții de creștere lentă*

Acest tip de colecție are avantajul că plantulele pot fi propagate și diseminate rapid din banca de gene către diferiți utilizatori. De asemenea, colecția este menținută liberă de virusuri, ciuperci și bacterii patogene.

Scopul metodei este acela de a limita ritmul de creștere al plantelor dezvoltate din minibutași, ceea ce determină o prelungire a duratei dintre două subculturi, concomitent cu o îmbunătățire a ratei de supraviețuire a materialului biologic. Materialul vegetal poate fi păstrat sub această formă 1-4 ani, după care se regenerează (Platon, 2012).

În cadrul acestui tip de micropropagare, ne semnificativi sunt parametrii care influențează etapa de creștere și dezvoltare, deoarece culturile *in vitro* se mențin în camere frigorifice, în condiții de temperatură scăzută (între 4-5°C) și de lumină redusă, în acest fel are loc încetinirea metabolismului celular al acestora. Cu toate că temperatura este cel mai important și eficace factor în creșterea plantulelor, există și alți factori, de exemplu, fotoperioda, compoziția mediului și utilizarea compușilor osmotici activi (cum ar fi sucroză și manitolul), care contribuie la încetinirea creșterii și pot influența semnificativ timpul maxim de depozitare (Lambardi și colab., 2008).

7.6.5.2 *Prezervarea prin criostocare*

Crioconservarea este considerată cea mai bună opțiune pentru stocarea pe termen lung a germoplasmei sub formă de plantule. Tehnicile de crioconservare au început să se dezvolte în ultimii 35 de ani, iar în prezent sunt disponibile diferite tehnici de congelare controlată, cum ar fi: vitrificare, deshidratarea meristemului încapsulat, conservare prin meristeme, dar și combinații ale acestora, la un nivel la care, pot fi puse în aplicare pentru a stoca diferite tipuri de germoplasmă (atât pentru plante, cât și pentru animale) (Reed Barbara, 2004).

Crioconservarea, reprezintă o alternativă pentru conservarea resurselor genetice vegetale pe termen lung, întrucât în aceste condiții, majoritatea proceselor biochimice și fiziologice sunt încetinite sau complet stopate. Materialul genetic criostocat poate fi reutilizat atât în alte experimente, cât și în programele de repopulare a speciilor.

Este singura metodă în care celule sau țesuturi întregi sunt conservate la temperaturi scăzute, prin răcire, mult sub-zero grade, până la -196°C (punctul de fierbere în azot lichid). La o astfel de temperatură scăzută orice activitate biologică, inclusiv reacțiile biochimice, care ar conduce la moartea celulelor, sunt efectiv oprite.

Așa cum se constată, un factor important în cazul acestei metode este temperatura de conservare. S-a constatat că, variabilitatea genetică a explantelor menținute la temperaturi scăzute și ultra scăzute, nu s-a modificat după recultivarea lor pe mediu de cultură. Astfel, o temperatură sub pragul de -136°C , în care orice activitate biologică își încetinește substanțial procesele vitale, este acceptată de către explantele crioconservate. Dar, cea mai recomandată pentru o crioprezervare cu succes a explantelor, este temperatura de -196°C (în azot lichid), deoarece oprește toate activitățile biologice ale acestora (Reed Barbara, 2004).

Datorită acestor temperaturi ultra scăzute, dar și datorită decongelării și în unele cauzi recongelării, explantele pot suferii unele modificări la nivel celular care pot afecta viabilitatea și rata de supraviețuire a acestora. Pentru a reduce aceste efecte negative, explantele sunt supuse unui pretratament cu anumite substanțe cu rol în protejarea peretelui celular și a constituenților celulari, numite crioprotectanți.

Substanțele crioprotectoare, utilizate în mod convențional, în pretratamentul explantelor sunt: etilen glicol, propilen glicol și glicerol. *Etilen glicolul* (antigelul), a fost utilizat cel mai frecvent, urmat de *propilen glicolul*, utilizat inițial pentru a reduce formarea gheții în produsele de cofetărie (cazul

înghețatei). *Dimetil sulfoxid* (DMSO) este deasemenea considerat un crioprotector important, iar împreună cu *glicerolul* au fost, timp de decenii, cel mai des utilizați de către criobiologiști pentru a reduce formarea de cristale de gheață în cazul conservării lichidului seminal, a ovocitelor și a embrionilor la animale (Karlsson și colab., 2014).

Tot pentru a evita distrugerea celulelor, este recomandat ca decongelarea țesuturilor crioconservate, să se realizeze la temperatura camerei, într-un timp mai îndelungat.

Anumite materiale biologice, cum ar fi semințele ortodoxe, pot fi crioconservate fără pretratament, datorită însușirilor naturale de deshidratare. Cu toate acestea, cele mai multe materiale biologice utilizate în crioconservare (meristeme, embrioni, cultura de calus, suspensii celulare) conțin cantități mari de apă, de aceea sunt sensibile și nu tolerează congelarea prin înghețare (Carla Benelli și colab., 2013).

Prin urmare, materiale biologice, trebuie să fie deshidratate în mod artificial, pentru a elimina daunele cauzate de cristalizarea apei intracelulare.

Conservarea explantelor folosind crio-plăci din aluminiu, a fost dezvoltată de către Yamamoto și colab. (2011), pentru a ușura procesul de pretratament a explantelor, care urmează să fie crioconservate, mai ales a etapei de deshidratare a acestora.

Dintre metodele de crioconservare la temperaturi scăzute amintim:

1. **Congelarea treptată** (răcire lentă, congelare indusă): materialul biologic este pretratată cu un crioprotectant, urmat de răcirea lentă prin scăderea temperaturii de la 0,5°C, până la aproximativ -40°C, cu 1°C/minut, apoi imersarea în azot lichid (-196°C) (Sakai și colab., 1978). În acest caz, importante sunt, tipul de explant, crioprotectantul utilizat, temperatura și viteza de răcire.

În cadrul acestei metode, deshidratarea are loc atât înainte cât și în timpul procesului de răcire lentă, pe când la vitrificare, deshidratarea are loc doar înainte de răcirea explantelor (materialelor biologice).

Pentru decongelare, țesutul crioconservat se ține pe baie marină la o temperatură de 30-40°C, apoi se regenerează pe mediu cu agar.

2. **Vitrificarea** (răcirea rapidă): metoda constă în trecerea rapidă a apei din faza lichidă direct într-o fază amorfă sau de “sticlă”, evitându-se astfel formarea cristalelor de gheață intracelular. Pentru această metodă există mai multe protocoale de lucru, iar principiul metodei constă în, pretratarea materialului biologic cu un crioprotectant, pentru o perioadă scurtă de timp (pentru a penetra peretele celular), urmată de imersia fiolelor cu materialul biologic direct în azot lichid (-196°C) (Sakai și colab., 1997).

Avantajele vitrificării sunt date de simplitatea metodei (nu necesită aparatură specială), se pot evita diverse daune datorită formării cristalelor de gheață ca și în cazul altor metode și poate fi aplicată la un număr mare de probe biologice, cum ar fi: protoplaști, celule, țesuturi, embrioni somatici, meristeme încapsulate.

3. **Deshidratarea țesutului încapsulat**: metoda este utilizată în special pentru meristeme apicale și muguri de creștere și se pretează la o gamă largă de plante agricole, mai ales celor care prezintă sensibilitate la etapa de deshidratarea directă. Metoda constă în încapsularea mugurilor sau a meristemelor apicale într-o soluție de alginat, urmată de deshidratarea capsulelor timp de circa 4 ore, în hota cu flux laminar, apoi transferarea acestora în criotuburi de plastic și imersate direct în azot lichid.

Pentru decongelare, capsulele sunt ținute la temperatura camerei (20-25°C), timp de 20 minute și rehidratate pe mediu de agar, apoi recultivate pe mediu de recuperare (Dereuddre și colab., 1990).

4. **Conservarea mugurelui dormind**: este o metodă care se aplică, în special la pomii fructiferi, de la care se colectează ramuri de altoi tinere în perioada de repaus vegetativ (lunile de iarnă). Etapele de conservare sunt următoarele:

- ramurile de altoi colectate sunt deshidratate prin răcire lentă într-o cameră cu aburi de azot lichid, prin scăderea temperaturii de la -5°C , cu 1°C/h , până la -30°C ;

- după 24-48 ore probele sunt transferate în azot lichid, pentru depozitare pe termen lung.

Pentru decongelare, probele cu ramurile altoi sunt încălzite peste noapte, la temperatura de $+4^{\circ}\text{C}$, urmate de rehidratarea lor în pământ de turbă, timp de 15 zile la temperatura de 2°C , aici se pot ține până înmuguresc (Towill și Forsline, 1999). Sau se poate realiza regenerarea mugurilor direct pe ramura, urmată de izolarea meristemelor și realizarea culturilor *in vitro* (Carla Benelli și colab., 2013).

Avantajele și dezavantajele metodei de crioconservare *in vitro*.

Printre *avantajele metodei de criostocare* pot fi enumerate:

- temperatura scăzută oprește degradarea metabolismului celular în timpul depozitării țesuturilor și a semințelor, prelungindu-se astfel viața plantelor;

- materialul este protejat de sursele de contaminare;

- păstrarea nealterată pe termen lung a materialului biologic, este o sursă inepuizabilă de țesuturi și linii celulare genetic stabile;

- spre deosebire de colecțiile în câmp, se elimină riscul instalării eroziunii genetice, iar comparativ cu tehnicile de cultură *in vitro* care sunt mai laborioase și costisitoare, crioconservarea este mai eficientă din cauza costurilor reduse, a spațiului limitat și faptul că nu necesită regenerarea materialului vegetal la anumite perioade de timp;

- metoda utilizează azot lichid în rezervoare autonome, practic refrigerarea nu depinde de o sursă constantă de energie electrică.

- este una dintre cele mai eficiente metode de securizare a resurselor genetice;

- explantele crioconservate trebui să fie însoțite de informații bine documentate referitoare la data prezervării, metoda utilizată, pretratatamentul realizat, metoda de decongelare, mediul de recuperare, deoarece multe dintre ele pot fi recuperat după o perioadă foarte lungă de timp (de la 100 până la 500 ani) (Reed Barbara, 2001).

În ceea ce privește *dezavantajele metodei de conservare prin crioconservare*, această metodă prezintă câteva riscuri, și anume:

- lipsa unui protocol care să poată fi aplicat la toate tipurile de explante;
- necesitatea optimizării fiecăror etape succesive dintr-un protocol, pentru fiecare material vegetal nou;
- nu toate semințele ortodoxe sunt tolerante metodei, anumite semințe de leguminoase care prezintă tegument cu o duritate mai mare, se pot sparge în timpul procesului de congelare;
- pot apărea fenomene care pot aduce modificări la nivelul celulei, datorită în primul rând formării de gheață intra și extracelulară,
- deshidratarea materialului biologic.

Dar aceste riscuri pot fi reduse prin tratarea explantelor cu diferiți crioprotectanți (Pritchard, 2007).

7.6.6. Depozitarea polenului

Această formă de stocare este destul de puțin utilizată în băncile de gene. Păstrarea polenului se face în special de către amelioratori, atunci când există neconcordanțe între data înfloritului la inflorescențele masculine și femele.

Polenul singur are dezavantajul că nu poate conserva diversitatea genetică citoplasmatică a speciei. De asemenea, polenul se regenerează greu, deoarece nu este capabil să dezvolte în mod independent o nouă plantă. De aceea, folosirea pe scară largă a polenului ca mijloc de conservare genetică

depinde de găsirea unor metode de eșantionare care să acopere întregul fond genetic al unei populații (Platon, 2012).

7.6.7. Conservarea materialului genetic

Această strategie nu este una viabilă pentru conservare, este de părere Maxim (2010), „principala destinație a bibliotecilor de gene fiind izolarea de gene în vederea transferului, prin tehnicile ingineriei genetice”.

Cu toate acestea, Arif și colab. (2011), este de părere că utilizarea markerilor moleculari pentru identificarea speciilor protejate, ne pot oferi informații cu privire la diversitatea genetică a plantelor, sălbatice și cultivate, în vederea cunoașterii gradului de eroziune genetică a acestora, dar și pentru a lua măsurile necesare în gestionarea situației conservării și protejării lor. Aceiași autori mai spun că, utilizarea secvențelor de ADN mitocondrial (ADNmt) este un pas important în vederea conservării genetice a speciilor, deoarece putem cunoaște structura unei populații, gradul de heterogenitate dintre taxoni, dar și modul de hibridizare interspecific.

Izolarea și stocarea acizilor nucleici, a mitocondriilor, a cloroplastelor, a ARN-lui și a genelor, se practică la nivel internațional, la multe plante de cultură. Tehnologiile de izolare și stocare sunt puse la dispoziția cercetătorilor pentru a permite depozitarea rapidă și la un cost redus, a acestora în bănci de ADN, fiind considerate „o poliță de asigurare împotriva pierderii diversității culturilor”, dar și pentru a permite o ușoară accesibilitate a materialului genetic, pentru diverse aplicații moleculare (www.cropgenebank.sgrp.cgiar.org).

Avantajele conservării materialului genetic (ADN):

- este o metodă simplă, eficientă ce conferă stocarea informației genetice pe termen lung;
- este foarte utilă pentru acele specii de plante care nu pot fi conservate *ex situ* sub formă de semințe în băncile de gene sau *in situ*;

- necesită spațiu redus de stocare, datorită dimensiunii reduse a eșantionului pentru stocarea de informații genetice, dar și pentru natura stabilă a ADN-ului fiind depozitat la rece (De Vincent și colab., 2006).

Dezavantajele conservării materialului genetic, constau în:

- diferitele probleme care pot apărea în protocolul de izolare a unor gene, de clonare și de transfer de ADN;

- nu permite regenerarea aceluiași taxon ca probă originală (De Vincent și colab., 2006).

Stocarea materialului genetic. După izolare, biomoleculele de ADN sunt stabile, deși uneori poate fi ușor de degradat, mai ales în timpul depozitării. Calitatea acestuia scade, dacă este ținut câteva zile la temperatura camerei sau în frigider. Cea mai potrivită metodă de conservare a ADN-ului este uscarea probei și depozitarea acestuia în congelatoare sau în azot lichid, realizându-se astfel o bună conservare a dimensiunii moleculare, aproape de starea lui inițială. Uscarea rapidă a probelor de ADN se realizează cu silicagel sau prin liofilizare și ajută la păstrarea ADN în condiții optime. Cele mai multe bănci de ADN, stochează și izolează materialul genetic, la cerere (De Vincent și colab., 2006).

Se recomandă ca probele de ADN să fie menținute la temperatura de -20°C doar pentru un termen scurt și mediu de stocare (până la 2 ani, maxim). Iar pentru perioade lungi de păstrare, se recomandă temperatura de -70°C, sau în azot lichid (-196°C). La temperatură scăzută, probele de material genetic se păstrează în tuburi criogene (ependorf), așezate în cutii speciale de 96 de locuri (godeuri), etichetate într-o anumită ordine și însoțite de informații precise despre biotipul din care provin. Deasemenea se recomandă ca aceste probe să fie conservate în duplicat sau triplicat pentru a reduce riscul pierderii lor (De Vincent și colab., 2006).

7.7 Conservarea *in situ* a resurselor genetice vegetale

Conservarea *in situ* sau *on farm* a fost definită ca fiind: „managementul durabil al diversității genetice la plantele de cultură dezvoltate pe plan local, asociat cu speciile și formele sălbatice și cu sistemele tradiționale de cultură agricolă, horticolă sau agrosilvică” (Maxted și colab., 1997). Deasemenea, același autor propune ca „acest mod de conservare a varietăților locale, *in situ* sau *on farm*, să fie obligatoriu asociat cu tehnologiile de cultură tradiționale, vechi, adică cele în care nu sunt preluate avantajele tehnicilor și a echipamentelor moderne”.

O astfel de conservare este considerată ca fiind o metodă de protejare a unei specii de plante aflată pe cale de dispariție, în habitatul său natural și în care sunt foarte bine adaptate la condițiile de mediu. Deasemenea este specifică mai cu seamă speciilor sălbatice de plante, care în general trăiesc în comunități în echilibru cu un mediu relativ stabil, și anume într-o pădure primitivă, sau o zonă expusă pășunatului, chiar și buruienile din culturi sau de pe marginea drumului etc. Dacă acea comunitate este distrusă, parțial sau total, sunt distruse în același timp și resursele genetice din cadrul comunității respective.

Dacă pentru plantele sălbatice, acest tip de conservare este o soluție eficientă de menținere a resurselor genetice, pentru diverse plante de cultură vechi (primitive), metoda prezintă câteva dezavantaje și anume: este deosebit de dificil, uneori chiar imposibil să convingi cultivatorii de terenuri din interiorul rezervației să mențină în cultură varietățile locale, care sunt mai slab productive, în timp de vecinii lor, din afara rezervației, utilizează soiuri moderne mult mai productive. Apoi, prin utilizarea în cultură a suprafețelor mici de teren cultivat cu varietăți locale, nu se poate asigura cuprinderea întregii diversități genetice a speciilor, ceea ce poate duce, în final, la procesul de eroziune genetică a acestora.

Există diverse măsuri de protecție a zonelor declarate „rezervații”, care variază în funcție de scopul și durata aproximativă a acesteia. Pentru ca o rezervație naturală să funcționeze ca o entitate, având o evoluție continuă și să servească și următoarelor generații, trebuie ca durata prevăzută pentru existența lor să fie cât mai mare, iar arealele să fie cât mai extinse și mai reprezentative.

O evoluție continuă a mediului natural, care de cele mai multe ori este în sens distructiv, cere ca populațiile să aibe o mare variabilitate genetică pentru menținerea capacității lor de adaptare. Astfel, pentru conservarea plantelor sălbatice trebuie avute în vedere, atât durata mare de evoluție continuă a acestora în cadrul mediului lor natural, cât și păstrarea acestor populații sălbatice ca sursă potențială pentru viitor.

Multe din programele de conservare *in situ* au în vedere ecosistemele cu mai multe specii, însă, pentru conservare, rețin atenția câteva dintre cele amenințate cu extincția sau în curs de extincție. Deasemenea, aceste programe implică utilizarea unuia sau mai multor areale pentru păstrarea unei specii sau a unei comunități. Aceste areale protejate se aseamănă unor insule izolate, unde nu este exclus schimbul biologic natural sau prin intermediul omului. În funcție de diversitatea speciilor din insule și a cauzelor extincției, se stabilește strategia alegerii locului rezervației, mărimea acesteia, administrarea arealor, precum și planificarea unor acțiuni pe termen lung.

Pentru ca activitățile de conservare *in situ* să fie eficiente și utile, trebuie luate în considerare următoarele considerente:

- asigurarea unor măsuri specifice de conservare, în arile protejate, pentru speciile sălbatice în rudite cu cele de cultură, sau pentru plantele sălbatice care se pot utiliza în scopuri alimentare sau medicinale;
- asigurarea unui management adecvat pentru zonele cu păduri întinse și pentru ecosistemele locuite de oameni;
- conservarea și folosirea susținută a soiurilor locale, respectiv a culturilor tradiționale din fermele autohtone.

Menținerea și conservarea varietăților locale *in situ*, în Europa dar și la nivel mondial, nu a fost la fel de bine organizată ca și cea din băncile de gene. Astfel, în a doua jumătate a sec.XX, în estul Europei, au existat diferențe mari în ceea ce privește conservarea soiurilor locale, menținerea acestora s-a realizat mai eficient în zonele necooperativizate, mai izolate.

Conservarea *on farm* a unui număr de 252 de soiuri vechi de cereale, pomi fructiferi și legume selecționate de micii fermieri agricole, a fost susținută cu suport financiar de către guvernul elvețian, de diverse organizații agricole, dar și de Banca Națională de Gene - Agroscope Changins Wädenswil (ACW), din Elveția. Toate aceste varietăți locale au denumiri protejate și indicație geografică și sunt conservate și cultivate de către micii fermieri și grădinari, cel mai adesea în vârstă (Schierscher și colab., 2009).

Aceeași susținere din partea guvernului Italian o au fermierii din Italia, pentru circa o treime din varietățile locale conservate *on farm*. Dacă sunt utilizate în cultură, fermierii beneficiază de inputuri energetice (îngrășăminte chimice, pesticide, combustibil, irigații etc.) foarte mari.

În Ungaria, odată cu închiderea Institutului Agrobotanic din Tapioszele, angajații au înființat o rețea de eco-sate și s-au asociat inițiativelor existente, fiind în prezent responsabili cu punerea în practică și coordonarea unei bănci civile de gene, ce conține în principal, semințe de legume (Andreea Platon, 2012).

Deasemenea cercetătorii de la Universitatea de la Florența, studiază varietățile de grâu din colecția proprie a Universității și organizează diferite manifestări în care implică foarte mulți fermieri pentru a reconstitui filiera de paste și pâine de la nivel local, incluzând procesarea artizanală a produselor lucra și cultiva (Platon, 2012).

În țara noastră, are loc înființarea unor grupuri, societăți și fundații, a căror obiectiv este același, conservarea varietăților agricole românești. Dintre acestea putem aminti: Eco Ruralis (www.ecoruralis.ro), Bio România

(www.bio-romania.org), Cooperativa gospodarilor ecologici BIOCOOP (www.biocoop.ro), Asociația Slow Food Turda (www.slowfoodturda.ro), Cooperativa gospodarilor ecologici BIOCOOP (www.biocoop.ro), Inițiativa Transylvanian Brunch (brunch.dordeduca.ro), Asociația Hosman Durabil (www.hosman-durabil.org), Fundația ADEPT (www.fundatia-adept.org).

Platon Andreea (2012), este de părere că “Societatea poate beneficia de stabilitatea agroecositemului și a utilizării scăzute a substanțelor chimice în agricultură promovate de utilizarea diverselor varietăți locale”, iar “beneficiile socio-economice ar putea include întărirea comunităților rurale”.

Deasemenea “pentru fermieri, conservarea la nivel de fermă, ar putea servi ca sprijin al tradițiilor culturale, ar putea fi potrivită pentru atenuarea constrângerilor bugetare, atenuarea efectelor dăunătorilor, bolilor și a altor tipuri de stres pentru mediu și să ofere o asigurare de material genetic nou în fața schimbărilor viitoare economice sau de mediu”.

Dintre principalele pericole ale conservării varietăților locale *on farm* putem aminti: utilizarea hibridilor și a soiurilor performante în detrimentul celor locale, îmbătrânirea populației de la sate, desființarea fermelor tradiționale. Cu toate acestea se cunoaște faptul că „agricultura tradițională are dezavantajul că veniturile sunt mici, solicită muncă fizică intensă, iar vânzarea produselor este deseori marginalizată” (Maxim și colab., 2007).

CAP. 8. EVOLUȚIA POLITICILOR MONDIALE ȘI EUROPENE CU PRIVIRE LA CONSERVAREA BIODIVERSITĂȚII

8.1. Politica guvernelor cu privire la conservarea biodiversității

Zonele țintă pentru conservare sunt acelea care dețin resurse de apă curentă și potabilă, sunt situate în proximitatea unor arii urbane dense, includ specii periclitate și se află în proximitatea unor arii protejate existente.

În Statele Unite ale Americii, au fost puse în aplicare mecanisme speciale, cum ar fi Land Legacy Initiative și Land and Water Conservation Fund, pentru a cumpăra teren în scopul conservării lui. Guvernele pot influența puternic conservarea pe terenuri private prin plata unor subvenții în bani și scăderea taxelor proprietarilor ce-și administrează terenurile în scopul conservării diversității biologice.

Înființarea parcurilor naționale reprezintă o importantă strategie de conservare. Parcurile naționale reprezintă în multe țări unica formă de protecție. În afara ariilor protejate despăduririle sunt masive, iar în curând ariile protejate pot deveni singurele spații nemodificate și surse de produse naturale.

Guvernele pot avea un rol important în conservarea diversității biologice prin securizarea granițelor, a porturilor și reglementarea comerțului; își pot folosi veniturile pentru a cumpăra terenuri în vederea conservării. Iar pentru a proteja pădurile, guvernele pot interzice tăierile (exploatările), pot restricționa exportul buștenilor, sau pot amenda companiile forestiere care degradează mediul. Anumite tipuri de minerit cu impact asupra mediului pot fi interzise (Primack și colab., 2008).

Legislația și agențiile guvernamentale sunt principalii factori în dezvoltarea unor politici care să reglementeze poluarea mediului. Legile sunt

implementate de către agențiile guvernamentale sub forma unor reglementări. Legile și reglementările referitoare la emisiile în aer, epurarea apelor uzate, gestionarea deșeurilor și zonele umede sunt adoptate pentru a putea proteja sănătatea umană, terenul dar și resurse ca apă potabilă, pădurile etc. Nivelul de aplicare al acestor legi ilustrează preocupările unei țări de a proteja sănătatea locuitorilor și integritatea resurselor ei naturale. În același timp, acestea protejează comunitățile biologice care altfel ar fi distruse datorită poluării sau altor activități umane.

Conservaționiștii pot oferi oficialilor guvernamentali informații cheie în dezvoltarea cadrului legislativ și instituțional necesar și apoi să folosească legile și reglementările rezultate pentru a conserva biodiversitatea.

Pentru a preveni exploatarea speciilor rare, guvernele pot restricționa deținerea anumitor specii și controla toate importurile și exporturile cu specia respectivă prin intermediul unor legi și convenții, cum este Convenția asupra Comerțului Internațional cu Specii Amenințate (CITES). Guvernele pot reglementa importurile tuturor speciilor exotice și ca o modalitate de a preveni introducerea, accidentală sau intenționată, a unor specii invazive.

În final, guvernele pot identifica speciile amenințate din interiorul granițelor lor și pot lua măsuri pentru protecția lor prin achiziționarea de terenuri, controlul utilizării economice a speciilor, dezvoltarea unor programe de cercetare și implementare a unor programe de refacere *in situ* și *ex situ*. (Primack, 2008).

8.2 Obiectivele și politicile Convențiilor asupra protecției biodiversității

În țările europene, conservarea speciilor amenințate este realizată prin aplicarea internă a convențiilor internaționale ca CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) și Convenția de la Ramsar privind zonele umede. Lista roșie internațională a

speciilor amenințate realizată de IUCN (Uniunea Internațională pentru Conservarea Naturii) și Listele roșii naționale, subliniază de asemenea prioritățile în conservare.

În multe țări, cum ar fi India și Mexic, există o corespondență clară între ariile ocupate de populațiile tradiționale, ariile cu valoare conservativă ridicată și pădurile intacte. Aceste comunități umane tradiționale au stabilit deseori sisteme de drepturi asupra resurselor naturale, care sunt uneori recunoscute de către guverne, fiind astfel parteneri importanți în eforturile de conservare.

Conservarea diversității biologice este un subiect ce se adresează mai multor nivele ale guvernării. Deși mecanismele de control ce există la ora actuală în lume sunt dezvoltate la nivel național, acordurile internaționale sunt din ce în ce mai des folosite pentru a proteja specii și habitate.

Multe probleme de poluare a mediului ce amenință ecosistemele necesită cooperare internațională. Astfel de amenințări includ poluarea atmosferei și ploile acide, poluarea lacurilor, râurilor și oceanelor, emisiile de gaze cu efect de seră și schimbările climatice globale, diminuarea stratului de ozon. În plus, consecințele economice ale acestor fenomene nu sunt distribuite echitabil țărilor, ci în funcție de contribuția lor.

Convențiile și tratatele internaționale privind habitatele le completează pe cele privind speciile, subliniind trăsăturile ecosistemelor și unicitatea comunităților biologice ce trebuie protejate (și în interiorul acestor habitate un număr mare de specii pot fi protejate). Trei dintre cele mai importante sunt: Convenția Ramsar asupra Zonelor Umede, Convenția privind Patrimoniului Cultural și Natural Mondial (Convenția Patrimoniului Mondial) și Programul UNESCO „Omul și Biosfera” (cunoscut și ca Programul Rezervațiilor Biosferei). Țările ce nominalizează arii protejate admit voluntar să le administreze conform prevederilor convențiilor, statele nu își pierd suveranitatea asupra acestor arii și dețin în continuare controlul asupra lor.

Aceste trei convenții stabilesc un consens privind conservarea potrivită a ariilor protejate și a anumitor tipuri de habitate. Există și tratate specifice care protejează ecosistemele și habitatele unice, din regiuni geografice distincte, incluzând Emisfera Vestică, Antarctica, Pacificul de Sud, Africa, Caraibe și Uniunea Europeană.

Alte tratate internaționale au fost ratificate pentru a preveni sau limita poluarea. *Convenția europeană a poluării transfrontaliere a aerului*, recunoaște rolul pe care transportul poluanților din aer pe distanțe lungi îl joacă în formarea ploilor acide, acidifierea lacurilor și degradarea pădurilor.

Măsurile de conservare pot fi punctul de pornire al cooperării dintre guverne. O alternativă este întreținerea parcurilor transfrontaliere ce includ suprafețe mai mari. Personalul parcului din țările implicate poate administra resursele împreună și promova conservarea la o scară mai mare (Primack și colab., 2008).

Problemele legate de *conservarea mediului* pot fi rezolvate la întruniri internaționale. Un pas important în adoptarea unei abordări globale asupra managementului mediului a fost conferința internațională ce a durat 12 zile de la Rio de Janeiro, Brazilia, din iunie 1992. Cunoscută oficial ca și Conferința Națiunilor Unite asupra Mediului și Dezvoltării (UNCED) și neoficial ca Summit-ul Pământului sau Summit-ul de la Rio, această conferință a adunat reprezentanți din 178 de țări, incluzând șefi de state, lideri ai Națiunilor Unite, mari organizații de conservare, și alte grupări reprezentând lideri religioși sau ai indigenilor. Scopul lor era să discute modalități de a combina protecția mediului cu dezvoltarea economică în țările mai puțin dezvoltate.

Conferința a avut succes în creșterea conștientizării crizei mediului, plasând problema în centrul atenției la nivel mondial. De asemenea, s-a stabilit o legătură clară între protecția mediului și nevoia de a elimina sărăcia din țările în curs de dezvoltare printr-un nivel înalt de asistență financiară din partea țărilor dezvoltate.

La Summit-ul Pământului, statele dezvoltate au convenit că vor asista țările în curs de dezvoltare în atingerea obiectivului pe termen lung de a proteja mediul și biodiversitatea. Această înțelegere solicită statelor industrializate să-și reducă emisiile de CO₂ și alte gaze cu efect de seră și să întocmească regulat rapoarte ale evoluției lor. Deși încă nu s-au stabilit limite specifice ale emisiilor, Convenția afirmă că gazele cu efect de seră ar trebui menținute la un nivel care să nu afecteze climatul Pământului.

Statele Unite ale Americii, cel mai mare consumator de combustibili fosili, a continuat să nu respecte prevederile acestei convenții, alături de Australia, Canada, China și țările producătoare de petrol din Orientul Mijlociu.

Convenția asupra Diversității Biologice are trei obiective:

1. protejarea componentelor diversității biologice;
2. utilizarea lor durabilă;
3. împărțirea echitabilă a beneficiilor rezultate din obținerea noilor produse pe baza resurselor genetice ale speciilor sălbatice și domestice.

Primele două obiective recunosc că fiecare stat are obligația în a-și consuma diversitatea biologică și a o folosi într-un mod responsabil. Având obligația de a-și conserva diversitatea biologică, pentru a ajuta țările în curs de dezvoltare, s-a asigurat o finanțare internațională substanțială. Convenția recunoaște și că indigenii ar trebui să obțină o parte din beneficiile valorificării economice a diversității biologice, mai ales atunci când ei au contribuit efectiv cu cunoștințele lor la descoperirea speciilor.

Dezvoltarea unei legislații internaționale de protecție a drepturilor de autor care să împartă echitabil beneficiile financiare între state, companii din domeniul biotehnologiei și localnici se dovedește a fi o provocare majoră pentru convenție.

Datorită îngrijorării asupra modelului de folosire a materialelor biologice, anumite țări în curs de dezvoltare au stabilit proceduri aproape

imposibile pentru a permite oamenilor de știință să colecteze mostre biologice pentru cercetare. Uneori efectul a fost de a opri cercetarea asupra ecologiei, taxonomiei sau biodiversității în general. În alte cazuri, în țările în curs de dezvoltare s-au construit noi facilități, iar localnicii au fost instruiți în procedurile științifice pentru ca mostrele biologice să nu mai trebuiască exportate.

Convenția privind Combaterea Deșertificării. Obiectivele generale ale acestei convenții sunt legate de protecția mediilor uscate, îmbunătățirea practicilor de management în agricultură, creșterea animalelor și a celor forestiere, protecția solului, apei și a viețuitoarelor sălbatice. Peste 130 de țări au ratificat convenția și multe au promis planuri de acțiune pentru combaterea deșertificării și degradării terenurilor asociate. Totuși, finanțarea pentru implementarea acestor planuri nu a fost adecvată.

8.2.1. Surse de finanțare în vederea conservării biodiversității

Tot mai multe grupuri din țările dezvoltate recunosc că dacă vor să conserve diversitatea biologică din țările sărace, dar bogate în specii, nu pot oferi numai consultanță: este necesar și un management financiar. Aproximativ cinci miliarde de dolari/an sunt cheltuiți pentru conservarea biodiversității în întreaga lume de către guverne și organizații de conservare.

Una dintre cele mai importante surse de finanțare pentru conservarea biodiversității este Banca Mondială și băncile asociate. Cel mai mare program pentru finanțarea biodiversității este Fondul Global de Mediu (GEF), cu sediul în Washington DC, creat în 1991, care funcționează în cooperare cu Programul Națiunilor Unite pentru Mediu (UNEP). Activitățile Băncii Mondiale privind biodiversitatea, cuprind înființarea de arii protejate, instruirea personalului, dezvoltarea infrastructurii, gestionarea schimbărilor globale ale climei, protecția stratului de ozon, managementul și protecția pădurilor, reducerea degradării

biodiversității, managementul apelor dulci și resurselor marine (www.gefweb.org).

În Uniunea Europeană, un instrument important de finanțare în domeniul protecției mediului și conservării diversității biologice este reprezentat de Programul **LIFE**. Obiectivul principal al programului este de a contribui la implementarea, dezvoltarea și îmbunătățirea legislației și politicii de mediu a Comisiei Europene și de a integra problemele de mediu în politicile sectoriale ale Uniunii Europene. Promovând abordările practice, programul LIFE susține dezvoltarea de noi soluții pentru rezolvarea problemelor de mediu. Una dintre componentele programului LIFE, respectiv LIFE Nature, susține proiectele demonstrative sau care promovează cele mai bune practici ce contribuie la implementarea Directivelor Habitare și Păsări. De asemenea, Programul LIFE Nature urmărește stabilirea rețelei ecologice NATURA 2000 și protecția habitatelor și speciilor, reprezentative la nivel comunitar. Din 1992, Programul LIFE Nature a susținut desfășurarea a 970 proiecte, contribuind cu circa 840 milioane de euro la îmbunătățirea stării de conservare a habitatelor și speciilor de interes comunitar (<https://liferosalia.ro>).

Exemple reprezentative de proiecte includ reconversia fermelor intensive la sistemul tradițional în Yorkshire Dales National Park, Marea Britanie, restaurarea zonelor umede din Danemarca, protecția focii călugăr din Marea Mediterană, amenințată cu dispariția în Grecia, restaurarea ecologică a zonelor mlăștinoase de coastă de pe litoralul estonian al Mării Baltice.

Obiectivele UE privind strategiile de conservare a biodiversității, prin programul Europa 2020, abordează în special agricultura și pădurile, subliniind cerința de a conserva variabilitatea genetică agricolă a Uniunii, în special prin intermediul politicii de dezvoltare rurală prin propunerea de a încuraja adoptarea de *măsuri de agromediu* pentru conservarea diversității genetice.

Măsurile de agromediu, care fac parte din dezvoltarea rurală, oferă statelor member posibilitatea de a viza nivelul activităților agricole practice pentru a realiza conservarea resurselor genetice în exploatație.

Măsurile de agromediu include posibilitatea de a compensa agricultorii pentru costurile suplimentare și pierderile de venit care rezultă din activitățile de conservare în scopul conservării speciilor aflate pe cale de dispariție și a culturilor agricole aflate în pericol de eroziune genetic (<http://www.cdep.ro/afacerieuropene>).

Propunerea pentru programul Uniunii de cercetare și inovare „Orizont 2020” pentru perioada bugetară 2014-2020 pune accentul pe securitatea alimentară durabilă și acordă o atenție reînnoită activităților orientate spre practică, inclusiv acțiunilor privind investigarea și investițiile în domeniul cercetării legate de resursele genetice agricole

România a avut acces la aceste fonduri din 1999, moment din care au fost derulate 26 proiecte LIFE Nature, cu o valoare totală de 11,89 milioane euro, din care 7,34 milioane Euro reprezintă finanțarea directă prin programul LIFE. Cea mai mare parte a proiectelor s-au derulat în arii protejate naturale din zona montană carpatică, Lunca și Delta Dunării.

Pe lângă granturile directe și împrumuturi, un alt mecanism important folosit pentru a asigura un suport sigur și pe termen lung al activităților de conservare din țările în curs de dezvoltare este Fondul Național de Mediu (NEF). NEF este organizat ca fond sau fundație, cu un consiliu de administrație - compus din reprezentanți ai guvernului, organizații de conservare și agențiile donatoare - ce alocă un venit anual, dintr-o activitate, pentru a ajuta departamentele guvernamentale și ONG-urile insuficient finanțate.

Fondurile Naționale de Mediu s-au înființat în peste 50 de țări în curs de dezvoltare, cu fonduri din partea statelor dezvoltate și a unor organizații majore precum Banca Mondială, Global Environment Facility (GEF) și World Wide Fund for Nature (WWFN).

8.3. Domeniile de acțiune stabilite de UE în vederea conservării resurselor

În cadrul aceluiași Raport către Parlamentul European, Comisia Uniunii Europene, recunoaște importanța și nevoia conservării resurselor agricole, tradiționale și culturale, pe termen lung.

Utilizarea durabilă a resurselor genetice trebuie să evolueze în paralel cu îmbunătățirea viabilității economice a sistemelor agricole implicate în conservarea resurselor genetice. Sunt necesare activități de reproducere care se concentrează la nivel de fermă pe specii insuficient utilizate, pe rase, culturi tradiționale și locale. Acest lucru necesită crearea de rețele la nivelul Uniunii pentru a valoriza astfel de materiale, astfel încât să se promoveze rolul agriculturii în dezvoltarea zonelor rurale, întreținerea de tradiții și practici agricole tradiționale și furnizarea de bunuri publice de mediu.

Deasemenea, trebuie luate măsuri pentru a permite agricultorilor să recupereze cunoștințele tradiționale și să dobândească competențele și cunoștințele de specialitate necesare pentru a lucra cu rase și culturi locale, ținând în același timp seama de condițiile climatice în schimbare. Pentru a oferi o bază viabilă din punct de vedere economic pentru conservarea și utilizarea resurselor genetice, implicarea micii industrii de prelucrare a alimentelor specializate, a restaurantelor orientate local și a formelor alternative de turism poate juca un rol activ în valorizarea resurselor genetice agricole și contribui la revitalizarea economiilor locale.

Cercetările ar trebui să continue pentru a valorifica *evoluțiile științifice și tehnologice* în vederea realizării de progrese în genomică și caracterizare fenotipică, de preferință orientate spre detectarea și evaluarea caracteristicilor relevante asociate, *de exemplu*, cu productivitatea, robustețea, sănătatea, bunăstarea, utilizarea resurselor și calitatea produselor (http://www.cdep.ro/afaceri_europene/CE/2013/COM2013_838_RO_ACTE_f.p

d). Rezultatele evaluării privind resursele genetice, soiurile și rasele ar trebui să fie puse la dispoziția agricultorilor de către autoritățile competente și/sau serviciile de extensie.

LISTA BIBLIOGRAFICĂ

1. Akhalkatsi Maia, Jana Ekhvaia și Zezva Asanidze, 2012. Chapter 3 -Diversity and genetic erosion of ancient crops and wild relatives of agricultural cultivars for food: Implications for nature conservation in Georgia (Caucasus). Book - Perspectives on nature conservation – Patterns, Pressures and Prospects, Edited by John Tiefenbacher. Published by InTech, Croatia. Pg. 51-92.
2. Allard, R.W., 1960, Principles of Plant Breeding. J.Wiley, NY.
3. Arif, I.A., H.A., Khan, A.H. Bahkali, A.A. Al Homaidan, A.H. Al Farhan, M. Al Sadoon, M. Shobrak, 2011. Saudi J. Biol. Sci. Jul; 18(3): 219–225.
4. Benelli, Carla, Anna De Carlo, F. Engelmann, 2013. Recent advances in the cryopreservation of shoot-derived germplasm of economically important fruit trees of Actinidia, Diospyros, Malus, Olea, Prunus, Pyrus and Vitis. Biotechnology Advances 31:175–185.
5. Botez, C., Elena Marin, Elena Tămaș, 1995, Genetica, îndrumător de lucrări practice. Tipo Agronomia Cluj-Napoca
6. Botez, C., P. Raica, 2007-2008, Genetica populațională. Academic Pres, Cluj-Napoca.
7. Botez, C., P. Raica, Ioana Berindean, 2013. Noțiuni de genetică moleculară și inginerie genetică aplicate la plante. Ed. Bioflux, Cluj-Napoca. ISBN 7986068191447
8. Căbulea, I., 1975, Metode statistice pentru analiza componentelor genetice ale variabilității continue. Probleme de Genetică Teoretică și Aplicată, VII, 6:391-420
9. Chivian, E. și A. Bernstein, 2008. Sustaining life: How human health depends on biodiversity. Center for Health and the Global Environment. Oxford University Press, New York.
10. Cristea, M., 1981. Resurse genetice vegetale, Ed. Academiei R.S.R. România, București.
11. Curtean, Angela, 2007. Conservarea biodiversității. Note de curs. Universitatea Lucian Blaga din Sibiu.
12. De Vicente, M.C. și M.S. Andersson, 2006. DNA banks -providing novel options for genebanks? Topical reviews in agricultural biodiversity. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
13. Dereuddre, J., C. Scottez, Y. Arnaud, M. Duron. 1990b. Resistance of alginate-coated axillary shoot tips of pear tree (*Pyrus communis* L. cv. Beurre Hardy) *in vitro* plantlets to dehydration and subsequent freezing in liquid nitrogen. C. R. Acad. Sci. Paris 310:317-323.
14. Duda, M., și A., Timar. 2007. Condiționarea și păstrarea produselor agricole, Ed. Academicpres, Cluj-Napoca.
15. Farmer, B.H., 1986. Perspectives on the “Green Revolution” in south Asia. Modern Asian Studies 20 (01): 175–199.
16. Felsenstein, J., 2016. Book: Theoretical Evolutionary Genetics. Cap. 6, Finite Population Size, University of Washington.
17. Frankham, D., J. Ballou, D. Briscoe, 2011. Introduction to conservation genetics. United Kingdom: Cabridge University Press. pp. 430–471.

18. Ghidra, V., M. Botu, R. Sestraș, I. Botu. 2004, Biodiversitate și bioconservare, Editura AcademicPres - Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Cluj Napoca.
19. Giuliani, A. și International Bioversity, 2012. Developing Markets for Agrobiodiversity. 1st edn. Routledge. Available at: <https://www.perlego.com/book/1684572/developing-markets-for-agrobiodiversity-securing-livelihoods-in-dryland-areas-pdf> (Accessed: 13 Octombrie 2024).
20. Hammer, K. și A. Diederichsen, 2009. Evolution, Status and Perspectives for Landraces in Europe. Journal European landraces: on-farm conservation, management and use. Biodiversity Technical Bulletin No. 15., pg.23. ISBN 978-92-9043-805-2
21. Hanski, Ilkka, 2011. Habitat Loss, the Dynamics of Biodiversity, and a Perspective on Conservation, *Ambio*. vol. 40.
22. Hartl, L.D., A.G. Clark. 2007. Principles of population genetics, Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc.Publishers, Sunderland, Massachusetts.
23. Haș, I., Voichița Haș, Silvia Străjeru, 2006. Some facts regarding maize germplasm in Romania. CIMMYT, Maize Germplasm Conservation Network Meeting, 2-5 May, 2006, El Batan, Mexic.
24. Ibid, Thomas, C.D.A. Cameron, R.E. Green, M. Bakkenes, L.J. Beaumont, Y.C. Collingham, B.F. N. Erasmus, M. Ferreira de Siqueira, A. Grainger, Lee Hannah, L. Hughes, Brian Huntley, A.S. van Jaarsveld, G.F. Midgley, L. Miles, M.A. Ortega-Huerta, A. Townsend Peterson, O.L. Phillips și S.E. Williams. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature*,427: 145-148.
25. Iwasa, Y., H. Hakoyama, M. Nakamaru, J. Nakanishi, 2000. Estimate of population extinction risk and its application to ecological risk management, *Population Ecology*, Vol. 42.
26. Karlsson, J.O., E.A. Szurek, A.Z. Higgins, S.R. Lee, A. Eroglu, 2014. Optimization of cryoprotectant loading into murine and human oocytes. *Cryobiology*, 68 (1): 18–28. doi: 10.1016/j.cryobiol.2013.11.002. Epub 2013 Nov 15. PMID: 24246951; PMCID: PMC4036103.
27. Kimura, M., 1968. Genetic variability maintained in a finite population due to mutational production of neutral and nerly neutral isoalleles. *Genet.Res.*,11:247-269.
28. King, J.L., T.H. Jukes, 1969. Non-Darwinian evolution. *Science* 164:788-798.
29. Koh, L. Pih, N.S. Sodhi, R.R. Dunn, R.K. Colwell, H.C. Proctor, V.S. Smith. 2004. Species coextinctions and the biodiversity crisis. *Science*, Vol 305, Issue 5690, 1632–1634.
30. Krishnan, S.G., D.L.E. Waters, R.J. Henry, 2014. Australian Wild Rice Reveals Pre-Domestication Origin of Polymorphism Deserts in Rice Genome. *PLOS ONE* 9(6):e98843, DOI: 10.1371/journal.pone.0098843
31. Lambardi, M., R. Roncasaglia, A. Previati, A. De Carlo, G. Dradi, F. Da Re, L. Calamai, 2006. In vitro slow growth storage of fruit rootstocks inside gas-tight or gas-permeable containers. *Acta Hort.* 725: 483-488
32. Lea Popovic, Mariolys Rivas. 2016. Topology and inference for Yule trees with multiple states. *Journal of Mathematical Biology*, 73 (5): 1251.
33. Leakey, R. și R. Lewin, 1995. The sixth extinction. Publisher: Doubleday, ISBN: 0-385-42497-3.

34. Lévêque, C. și J.C. Mounoulou, 2001. Biodiversité, Dynamique biologique et conservation. Dunod, Paris.
35. Lindenmayer, D.B., R.J. Hobbs, D. Salt, 2003. Plantation forests and biodiversity conservation. *Australian Forestry*, 66(1).
36. Louette, D., A. Charrier, J. Berthaud, 1997. In Situ conservation of maize in Mexico: Genetic diversity and Maize seed management in a traditional community. *Econ Bot* 51, 20–38, <https://doi.org/10.1007/BF02910401>
37. Maxim, A. 2010, Conservarea diversității genetice la plantele de cultură. *ProEnvironment*, Ed. *BioFlux* 3, 176 – 179
38. Maxim, A., 2010. Agrobiodiversitate și bioconservare. Ed. Risoprint, Cluj-Napoca.
39. Maxted, N., B.V. Ford-Lloyd și J.G. Hawkes, 1997. Complementary conservation strategies. In: Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V. and Hawkes, J.G. (eds.) *Plant genetic conservation: the in situ approach*. Chapman & Hall, London, UK. p. 2055.
40. Mills, L.S., 2009. Conservation of wildlife populations: demography, genetics and management. John Wiley & Sons. p. 13.
41. Mohd, S.S, și V.R. Rao. 2001. Establishment and management of field Genebank, a training manual. IPGRI-APO, Serdang. 121 p.
42. Navashin, M.S. 1933. Ageing of seed is a cause of chromosome mutation. *Planta*, 20, 233-243.
43. Negri, V., N. Maxted, M. Veteläinen, 2009. European landrace conservation: an introduction. *European landraces: on farm conservation, management and use*. Biodiversity Technical Bulletin no 15. European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources. Rome, Italy.
44. Newman, J. și R. Palmer, 2003. *Modeling Extinction*, Oxford University Press
45. Niles, E., T. Frames. 1986. *Rethinking of darwinian evolution and the theory of punctuated equilibria*, Heinemann ISBN 0-434-22610-6;
46. Ohta, T., 1996. The current significance and standing of neutral and nearly neutral theories. *Bioessays* 18:673-677.
47. Peakall, R. și P. Smouse, 2009. *An Introduction to Genetic Analysis for Populations Studies*. Australian National University, Canberra, Australia (GenAlEx Tutorial 1)
48. Peto, H.F., 1933. *Corn. J.Res.*, 9, 261-264
49. Platon, Andreea, 2012. Conservarea resurselor tradiționale vegetale. Raport *EcoRuralis*.
50. Pop, Iulia Francesca. 2009, Utilizarea tehnicilor de analiză moleculară la genurile *Prunus*, *Corylus*, *Juglans* și *Castanea* în vederea conservării în bănci de gene. Teza de doctorat, USAMV Cluj-Napoca, pag. 5-73.
51. Popovic, L. și M. Rivas, 2016. Topology and inference for Yule trees with multiple states. *J. Math. Biol. Nov*; 73(5): 1251-1291. doi: 10.1007/s00285-016-0992-6. Epub 2016 Mar 23. PMID: 27009067.
52. Primack, B. R., Maria Pătroescu, L. Rozyłowicz, C. Iojă. 2002. Conservarea diversității biologice. Editura Tehnică, București.
53. Pritchard, H.W., 2007. Cryopreservation of desiccation tolerant seeds. *Methods in molecular biology*, 368:185-201.
54. Raica, P. 2010. Investigarea variabilității genetice la unele specii de *Gentiana* din flora spontană a României cu ajutorul markerilor moleculari. Teză de doctorat, USAMV Cluj Napoca.
55. Reed Barbara, 2004. Shoot-tip cryopreservation – Manual

56. Reed, Barbara. 2001. Implementing cryogenic storage of clonally propagated plants. *CryoLetters*. 22:97-104.
57. Rhymer, J. M. și D. Simberloff, 1996. Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 27: 83–109.
58. Robinson, H.F., R.E. Comstock, P.H. Harvey, 1955. Genetic Variances in Open Pollinated Varieties of Corn. *Genetics*. 40(1):45-60. doi: 10.1093/genetics/40.1.45. PMID: 17247536; PMCID: PMC1209705
59. Roffe, J., 2017, Genetic drift as a directional factor: biasing effects and a priori predictions, *Biology and Philosophy* vol. 32
60. Saitou, N. și M. Nei, 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*.4(4):406-25. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454. PMID: 3447015.
61. Sakai, A, M. Yamakawa, D. Sakata, T. Harada, T. Yakuwa. 1978. Development of a whole plant from an excised strawberry runner apex frozen to - 196°C. *Low Temp. Sci. Ser. B*, 36: 31-38.
62. Sakai, A, M.K. Razdan, E.C. Cocking, 1997. Conservation of plant genetic resources in vitro, eds. Science Publishers, Inc, Enfield, NH, USA, vol. 1, pp. 53-66.
63. Sarkar, S., 2005. *Biodiversity and Environmental Philosophy: An Introduction*. Cambridge University Press, New York. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511498558>
64. Schierscher, V., B., Kleijer, G. și C. Köhler, 2009. On farm management of vegetables in Switzerland. *Inventories: Nees and Methodologies*. Biodiversity; Technical Bulletin no 15. European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources. Rome, Italy, p. 191-196.
65. Sokal, M., 1958. A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin*. 38: 1409–1438.
66. Tămaș, Elena și C. Botez, 2013. *Genetică*. Ed. Academic Press, Cluj-Napoca
67. Thormann, I., E. Fiorino, M. Halewood, J.M.M. Engels, 2015. Plant genetic resources collections and associated information as a baseline resource for genetic diversity studies: an assessment of the IBPGR-supported collections, *Genetic Resources and Crop Evolution*, Vol 62
68. Towill, L.E. și P.L. Forsline. 1999. Cryopreservation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) using a dormant vegetative bud method. *Cryo-Letters* 20:215-222.
69. Vallee, T., L. Hogbin, B. Monks, M. Makinson, M. Rossetto. 2004. Guidelines for the translocation of threatened plants in Australia. Canberra: Australian Network for Plant Conservation. https://www.anpc.asn.au/wpcontent/uploads/2019/03/Translocation-Guidelines_FINAL-WEB2.pdf
70. Wagner, A., 2008. Neutralism and selectionism: a network-based reconciliation. *Nature Reviews Genetics* 9: 965-974
71. Wilcove, D.S. 1999. *The condor's shadow. The loss and recovery of wildlife in America*. New York: W. H. Freeman.
72. Wilson, E.O., 2002. *The future of life*. ISBN 0-679-76811-4.
73. Wright, S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. *The American Naturalist* 56:330-338.
74. Yamamoto, S., T. Rafique, W.S. Priyantha, K. Fukui, T. Matsumoto, T. Niino. 2011. Development of a cryopreservation procedure using aluminium cryo-plates. *CryoLetters* 32(3):256-265.

75. Zeven, A.C. 1998. Landraces: a review of definitions and classifications. *Euphytica* 104: 127–139. <https://doi.org/10.1023/A:1018683119237>

Pagini de internet accesate pe parcursul anilor 2023-2024:

- Articol: “The end of India's green revolution?”. BBC News. 29 May 2006.
- Banca de gene Suceava : www.svgenebank.ro/public_info_ro.asp
- Baza de date pentru salvarea plantelor: <http://saveplants.org>
- Crop Genebank Knowledge Base: www.cropgenebank.sgrp.cgiar.org
- Food and Agriculture Organization of the United Nation <https://www.fao.org/agriculture>
- Federația National Wildlife: www.nwf.org
- Grădina Botanică Regală, Kew, marea Britanie - proiectul *Millennium Seed Bank Project*: www.kew.org
- Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 12. IUCN Standards and Petitions Subcommittee. 2016. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee: www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf
- Institute of Crop Germplasm Resources, Beijing, China: <http://www.cgris.net/>
- International Board for Plant Genetic Resources, 1982, chrome-extension://efaidnbmninnibpcapjpcgiclfndmkaj/https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PN AAP057.pdf
- IPGRI Handbooks for genebanks No. 6 A guide to effective management of germplasm collections, Engels JMM and Visser L (editors, 2003)
- Lista Rosie: www.redlist.org
- National Center for Genetic Resources Preservation (NCGRP): www.ars.usda.gov.
- Programul LIFE: <https://liferosalia.ro>
- Raport al Comisiei către Parlamentul european, Consiliu și Comitetul economic și social european. Resursele genetice agricole - de la conservare la utilizare durabilă. Bruxelles, 23.11.2013: www.cdep.ro/afaceri_europene/CE/2013/COM_2013_838_RO_ACTE_f.pdf.) - Downloaded dec.2024)
- The Nature Conservancy: <https://www.nature.org/>
- United State Department of Agricultural Research Services (USDA-ARS): www.ars.usda.gov
- Svalbard Global Seed Vault: www.croptrust.org
- <https://afabego.fr/en/actualites/la-deforestation-a-madagascar/>
- www.cdep.ro/afaceri_europene/CE/2013/COM2013838_RO_ACTE_f.pdf
- <http://www.cbd.int/2010-target/>
- www.europarl.europa.eu/
- <https://medium.com/>
- www.deviantart.com/willemsvdmerwe/art/

- www.pobschools.org/cms/lib/
- www.pol2e.com
- <https://cheetah.org>
- <https://www.socratic.org>
- <http://openstudy.com>
- www.iucnredlist.org/
- <http://wildlifepreservation.ca/blog>
- https://en.wikipedia.org/wiki/Mauritius_kestrel
- [http://www.biodiversityinternational.org/Themes/ Genebanks/index.a sp\)](http://www.biodiversityinternational.org/Themes/Genebanks/index.a.sp)
- www.oddcities.com
- www.ctahr.hawaii.edu
- www.descopera.ro/dnews/16008396