

ANDROSTERILITATEA CITOPLASMATICĂ LA DIFERITE PLANTE DE CULTURĂ

Duca Maria¹, Port Angela¹, Zgardan Dan²

¹Universitatea Academiei de Științe a Moldovei

²Universitatea Tehnică a Moldovei

Rezumat

Androsterilitatea este un fenomen răspândit în natură, cu largi aplicații în agricultură și posibilități de studii fundamentale în diverse domenii ale biologiei. Sunt caracterizate particularitățile moleculare ale manifestării ASC la diferite plante de cultură. Este prezentată analiza bioinformatică comparativă a genelor și proteinelor asociate cu androsterilitatea citoplasmatică.

Cuvinte-cheie: Androsterilitate citoplasmatică – gene mitocondriale - proteine – recombinări - incompatibilitate nucleu-citoplasmă.

Depus la redacție 05 aprilie 2012

Adresa pentru corespondență: Port Angela, Universitatea Academiei de Științe a Moldovei, str. Academiei 3/2, MD2028, Chișinău, R. Moldova, portang@yahoo.com, tel. (+373 22) 73-74-31

Primul caz de androsterilitate citoplasmatică a fost descris de C. Correns, care a descoperit în anul 1904 plante de cimbru (*Satureja hortensis* L.) cu polen neviabil. În urma polenizării plantelor androsterile cu polen de la plante fertile au fost obținute forme androsterile până în generația F₆, demonstrând astfel că sterilitatea masculină se moștenește pe linie maternă [13]. Ulterior, acest fenomen a fost descoperit și descris la o serie de plante din clasa mono- și dicotiledonatelor, anuale și perene, alo- și autogame. J. Edwardson a remarcat cazuri de androsterilitate necromozomală la 153 specii, ce fac parte din 51 genuri și 22 familii, clasificându-le în funcție de originea lor în felul următor [13]:

- sterilitate apărută în rezultatul încrucișărilor dintre plante cu genom și citoplasmă incompatibilă;
- sterilitate care se manifestă spontan la hibrizii intraspecifici;
- sterilitate determinată de mutații citoplasmatic.

Androsterilitatea a apărut în condiții naturale diferite, fiind observată în populații sau la descendenții obținuți spontan în urma hibridărilor intraspecifice, interspecifice și intergenerice precum și în urma mutagenezei ca rezultat al reorganizării genelor citoplasmatică sau nucleare [19].

Pornind de la multitudinea surselor și diversitatea filogenetică, feno- și genotipică, au fost întreprinse mai multe încercări de a clasifica tipurile cunoscute de androsterilitate. În funcție de factorii care determină expresia acestui fenomen se disting [77]:

- **androsterilitate genică sau nucleară**, cauzată de gene nucleare în stare recesivă *msms* (*msms* – *male sterile*) care se transmit prin ereditate mendelian;
- **androsterilitate citoplasmatică**, determinată de gene citoplasmatică și gene nucleare restauratoare de fertilitate *Rf*;

- **androsterilitate modificalională sau indusă**, determinată de factori abiotici și biotici ai mediului, indusă prin mutageneză sau prin aplicarea exogenă a giberelinelor;
- **androsterilitate cromozomală**, cauzată de diferite tipuri de aberații cromozomale apărute în meioză ca o consecință a hibridărilor îndepărtate.

Fiecare tip de androsterilitate are o importanță teoretică deosebită. Astfel, studierea androsterilității citoplasmatică permite elucidarea mecanismelor de interacțiune a genomului nuclear cu plasmonul, studierea androsterilității genice pune în evidență mecanismele de acțiune a genelor nucleare, iar în cadrul androsterilității modificalionale se examinează acțiunea diferiților factori asupra procesului de microsporogeneză. Pe lângă această, fenomenul de androsterilitate este folosit pe larg la crearea de hibrizi pentru producție, fără a se efectua castrarea manuală a florilor, determinând o creștere a eficienței economice.

Actualmente, se apelează din ce în ce mai des la posibilitatea creării genotipurilor androsterile prin utilizarea tehnicilor moderne de genetică moleculară. Astfel, a fost obținut un nou tip de ASC la *Nicotiana tabacum* L. prin hibridizarea somatică a protoplastelor [76]. Se efectuează selectarea formelor ASC prin metoda androgenezei spontane [23]. La plantele de tutun transgenic au fost obținuți mutanți androsterili prin introducerea în genom a unor gene ce codifică ribonucleaze, restaurarea fertilității fiind determinată, în acest caz, de prezența la liniile restauratoare a unui inhibitor al ribonucleazelor [42]. Astfel, introducerea genei *rolC* de la *Agrobacterium rhizogenes* în formele androfertile de tutun cauzează androsterilitatea acestora [54].

Tipuri de androsterilitate citoplasmatică

ASC poate fi întâlnită atât la plantele monoice, cât și dioice din clasa mono- și dicotiledonate, anuale și perene, cu mod diferit de reproducere (plante alo- și autogame). Varietatea mare de tipuri de ASC, precum și clasificarea diferită a acestui fenomen, implică necesitatea cunoașterii surselor, formelor de ASC, modalitatea de transmitere a acestora și a genelor implicate în disfuncția mitocondrială, soldată cu întreruperea procesului de microsporogeneză, rezultând androsterilitatea plantelor.

În funcție de originea genomului citoplasmatic și nuclear care interacționează, pot exista trei tipuri de androsterilitate citoplasmatică [29]:

- **autoplasmică** – apare când genomul citoplasmatic și cel nuclear fac parte dintr-o populație genetică;
- **homoplasmică** – apare când genomul citoplasmatic și cel nuclear fac parte din populație genetice diferite din cadrul aceleiași specii;
- **aloplasmică** – apare la interacțiunea interacțiunea genomului citoplasmatic cu cel nuclear care fac parte din specii diferite.

Primele două tipuri de androsterilitate reprezintă o consecință firească a proceselor evolutive în natură, de exemplu, cazul ginodioeciei – coexistența indivizilor hermafrodiți și femeli (androsterili), întâlnită frecvent la angiosperme. Natura interacțiunii dintre plasmagene și genele nucleare, inevitabilă în restaurarea fertilității, poate fi explicată în contextul teoriei conflictului genomic [66].

În numeroase populații cu ginodioecie indivizii femeli produc cu mult mai multe semințe viabile decât indivizii hermafrodiți. Acest avantaj al fertilității feminine stă la baza evoluției modelului de ginodioecie. El poate fi cauzat de:

- **efectele sexului matern**, care măresc funcționalitatea sexului femel sau viabilitatea indivizilor androsterili;

- **efectele *inbreeding-lui***, indivizii femeli nu se pot autopoleniza și produc mai multe semințe viabile decât indivizii hermafrodiți. Acest tip de androsterilitate este cunoscut atât la speciile de plante din flora spontană, cât și la plantele de cultură.

Androsterilitatea aloplasmică se obține frecvent din încrucișările interspecifice sau din încrucișările genurilor apropiate. În 1988, Kaul definește aloplasmia ca fenomen în care celulele unui organism conțin citoplasma unei specii și nucleul altei specii. Autorul a semnalat 175 cazuri de aloplasmie asociate cu ASC [29]. Se consideră, că sterilitatea masculină aloplasmică este condiționată de disfuncții în activitatea mitocondriilor, determinate de coordonarea inefficientă dintre genomurile citoplasmatic și nuclear la nivelul transcripților (expresia genelor mitocondriale) sau asamblarea produselor de translație în complexul lanțului respirator.

Expresia fenotipică a androsterilității determinată de interacțiunea dintre citoplasmă și nucleul unei specii donatoare variază destul de larg, fiind asociată uneori și cu conversii homeotice ale staminelor în alte organe florale - structuri carpeloide sau petaloide [5].

Diversitatea moleculară a androsterilității citoplasmatică

Androsterilitatea citoplasmatică se manifestă în prezența genelor nucleare de restaurare a fertilității în stare recesivă – *rfrf* și se moștenește nonmendelian. Restaurarea fertilității polenului în generația F_1 este asigurată de genele *Rf* atât în stare homozigotă dominantă, cât și heterozigotă *Rfrf* [53].

Studiul androsterilității citoplasmatică prin diverse metode de analiză moleculară (cartare fizică comparativă, restricție enzimatică, translație *in vitro*, secvențiere etc.) la diferite specii, precum ASC-T la porumb [53], sorg [3], petunie [69], rapiță [60], orez [27], ridiche [40], floarea-soarelui [31] au demonstrat că acest fenomen apare ca urmare a rearanjamentelor la nivelul genomului mitocondrial, în urma cărora rezultă noi cadre de citire *orf*-uri (*orf* – *open reading frame*) himerice mitocondriale (fig. 1).

Caracteristica moleculară a regiunilor himere asociate cu ASC variază chiar și în cadrul unei specii. Mutațiile mitocondriale sunt depistate în special în regiunea din amonte sau aval a genelor care codifică componentii complexului ATP-azic. Întrucât, în majoritatea cazurilor androsterilitatea este rezultatul expresiei unor noi cadre de citire și nu al întreruperii genelor mitocondriale de bază, fenotipul ASC poate fi considerat mutant cu o nouă funcție (*gain-of-function mutants*). Această particularitate distinge formele ASC de mutații mitocondriale obținute prin silențierea unei gene (*loss-of-function*) care în majoritatea cazurilor prezintă deficiențe de creștere vegetativă.

Afectarea stării fiziologice a mitocondriilor cauzată de prezența noilor *orf*-uri la liniile materne se manifestă în dezvoltarea staminelor și formării polenului în perioada premeiotică, meiotică sau postmeiotică, rezultând tipul ASC de tip gametofit sau sporofit. S-a constatat că în majoritatea sistemelor ASC, inclusiv ale liniilor comerciale formarea polenului este perturbată în meioză și postmeioză.

ASC la porumb (*Zea mays*) poate fi clasificată în trei grupe: ASC tip -T, -C și -S [67].

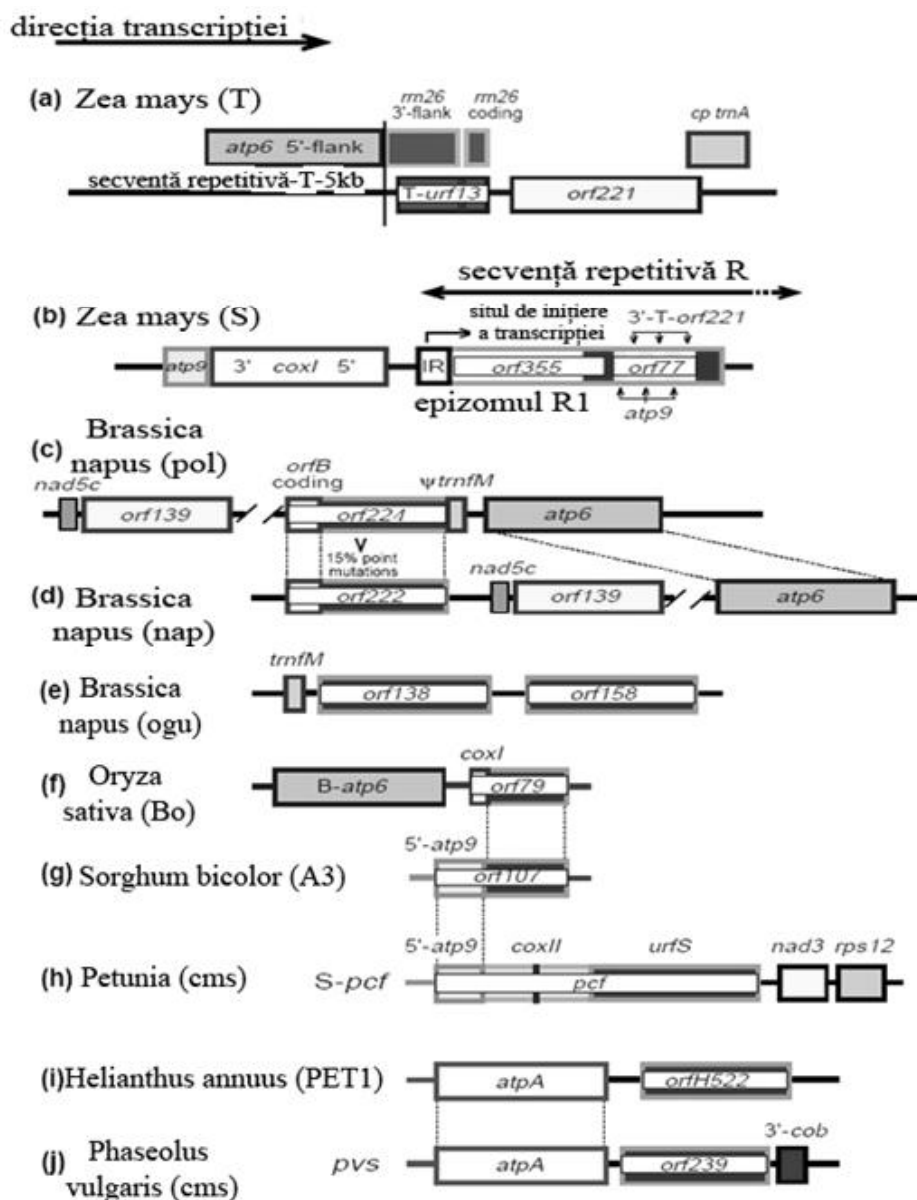


Fig. 1. Genele himere asociate cu ASC la diferite specii de plante [55].

Orf-urile se notează după numărul de codoni, cu excepția unor denumiri convenționale. Liniile paralele punctate indică similaritățile dintre secvențe. Direcția transcripției (5'-3') este indicată în partea de sus a figurii, cu excepția elementului *cox1* în cadrul zonei himerice R la citoplasma de porumb de tip-S.

Prima formă de porumb androsteril folosită în tehnologia porumbului hibrid, a fost tipul-T (*Texas*) identificat de P. Mangelsdorf și V. Edwardson în anii 1951-1953 la soiul de porumb *Mexican june* [13]. Liniile sterile de porumb se deosebeau esențial după structura ADNmt, polimorfismul fragmentelor de restricție, structura ARNmt, produsele mitocondriale de translație [45]. Însă în scurt timp în SUA, s-a renunțat la

folosirea tipului Texas, datorită atacului masiv de *Helminthosporium maydis* observat la hibridii produși pe baza citoplasmei tip-T. În afară de acestea, porumbul cu ASC-T este sensibil și la acțiunea unui alt patogen fungic *Phyllosticta maydis*. Corelația pozitivă între androsterilitatea citoplasmatică tip-T și sensibilitatea la atacul fungic a fost determinată și de faptul că materialul utilizat pentru producerea hibridilor respectivi prezenta o înaltă uniformitate genetică.

Plantele cu ASC-T posedă o genă mitocondrială denumită T-*urf13*, care codifică o proteină de 13 kD ce determină formarea unor pori în membrana internă a mitocondrii [9; 67]. Prin studii de expresie a genei *urf13* în *E. coli* a fost relevat că polipeptidul *urf13* este localizat în membrana citoplasmatică a bacteriei [9], ceea ce este analog cu prezența acestuia în membrana internă a mitocondriilor celulelor cu citoplasma T.

Interacțiunea toxinei *BmT* cu *urf13* se soldează cu permeabilizarea membranei citoplasmatică a bacteriei. Același efect este observat și la porumbul cu ASC-T [22]. Astfel, în prezența toxinei respective, proteina *urf13* formează pori membranari. În același context, gena *urf13* determină sensibilitate la toxine în mitocondriile drojdiilor [16], tutunului transgenic [63], precum și în mitocondriile insectelor. Expresia genei *urf13* în celulele bacteriene a relevat un grad înalt de toxicitate a proteinei *urf13* pentru acestea, precum și pentru celulele insectelor [33]. Polipeptidul *urf13* penetrează membrana mitocondrială internă de trei ori, iar capătul său C-terminal este orientat spre matricea mitocondrială [32]. Această proteină poate exista în membrana mitocondrii sub formă monomă, dimeră sau trimeră.

Gena *urf13* este localizată în amonte de regiunea conservată *orf221* cu care se cotranscrie [52]. *Orf221* codifică o proteină transmembranară din subunitatea *Fo* a ATP-sintetazei. Analiza complexului ATP-sintetazic la arabidopsis a relevat prezența unei proteine similare cu *orf221*, având funcții asemănătoare celor realizate de subunitatea *b* a ATP-azei la diverse organisme. Astfel, omologul acestui cadru de citire deschis este relevat ca fiind gena *atp4* [20].

Constatarea că *urf13* este cauza avortării polenului este confirmată de faptul, că în genomul plantelor cu fertilitatea restaurată se detectează o inserție de 5 kb în *urf13*, ceea ce cauzează apariția unui stop codon prematur, rezultând un polipeptid doar de 74 aminoacizi, nefuncțional [53].

Restaurarea fertilității în plantele cu ASC-T este controlată de două gene restauratoare de fertilitate *Rf₁* și *Rf₂* în stare dominantă. Analiza cantitativă a produsilor de expresie a relevat că gena *Rf₁* afectează în mod direct expresia genei *urf13*, micșorând abundența proteinei *urf13* cu circa 80% în timp ce gena *Rf₂* – nu afectează expresia acestei gene [9; 38].

ASC tip-C la plantele de porumb este asociat cu sinteza unui polipeptid solubil de 17,5 kD, spre deosebire de polipeptidul transmembranar solubil de 15,5 kD, caracteristic mitocondriilor speciilor fertile [45]. A fost determinat că în plantele cu ASC-C genele mitocondriale *atp9*, *atp6* și *coxII* sunt afectate de mutații, rezultat al rearanjamentelor intergenice între ADN-ul mitocondrial și cloroplastic [38].

Restaurarea fertilității polenului la acest tip de ASC este determinată de acțiunea unei singure gene nucleare dominante *Rf₄* [49].

ASC tip-S este asociată cu prezența a două gene noi: *orf355* și *orf77* [70]. *Orf77* este o genă himeră cu secvențe codificatoare similare genei *atp9* și determină sinteza unui

polipeptid de 17 aminoacizi (*orf17*). Polipeptidul *orf17* conține resturile C-terminale similare cu cele ale proteinei *ATP9* [15]. Originea genei *orf355* nu este cunoscută și nici produsul proteic nu a fost identificat.

Genomul mitocondrial în aceste plante se caracterizează prin prezența unor plasmide liniare de ADN notate S_1 și S_2 [50]. Plasmida S_1 are o lungime de circa 6397 pb, iar S_2 – 25453 pb [48]. Relația dintre prezența plasmidelor S_1 și S_2 și sterilitatea polenului în plantele ASC-S nu este pe deplin elucidată. Mitocondriile plantelor cu fertilitate restaurată prin acțiunea genei Rf_3 păstrează plasmidele S_1 și S_2 . Spre deosebire de ASC-T și ASC-C, la plantele cu ASC-S este posibilă revenirea spontană a fertilității. În astfel de plante, nu se detectează plasmide libere S_1 și S_2 [67 ; 70].

ASC la petunie (*Petunia*) se manifestă ca urmare a rearanjărilor la nivelul locusului *atp9* ce cauzează apariția genei himere *pcf* (*petunia CMS-associated fused*) cu 354 de codoni. *Orf pcf* este generat prin fuziunea regiunii 5'-noncodante și regiunii amino-terminale ale genei *atp9*, cu fragmentul de ADN ce codifică gena *coxII* și un cadru de citire neidentificat *urfS* [69]. Locusul conține copiile normale ale genelor *nad3* și *rps12*, precum și nouă codoni proveniți de la o genă necunoscută, *orf143*, depistată și la liniile fertile de petunie [18].

Prin deleția acestui locus se asigură restaurarea fertilității, determinată de acțiunea unei singure gene nucleare dominante *Rf*. Astfel, la liniile cu fertilitate restaurată, transcripția genei *pcf* este finisată prematur [69], micșorându-se esențial conținutul transcriptului.

Proteina de 45 kD codificată de *orf pcf*, este procesată până la o proteină de 19,5 kD, ce prezintă o mobilitate echivalentă cu o polipeptidă de 25 kD în gel de acrilamidă [46]. Proteina lipsește complet la liniile fertile, iar cantitatea acesteia este redusă substanțial la liniile cu fertilitate restaurată.

ASC la ridiche (*Raphanus sativus*) este determinată de apariția unor noi cadre de citire *orf138* și *orf125* care conțin 375 nucleotide [26].

La unele varietăți japoneze de ridiche a fost identificat un tip de androsterilitate ASC-ogu ce se caracterizează prin deosebiri semnificative ale transcripturilor genelor mitocondriale *atp6*, *atpA* și *coxII*. Un cadru nou de citire cu 105 codoni – *orf105*, a fost identificat la capătul 5' al genei *atp6*, fiind cotranscris împreună cu această din urmă. O altă secvență de ADN rearanjată, cu o lungime de 120 pb a fost atestată la capătul 5' al regiunii codante a genei *coxI* [41].

La ridichea Kosena (*Raphanus sativus* cv. *Kosena*) a fost identificată o regiune similară cu *orf138/atp8* din varză, cu excepția unei deleții de 39 de nucleotide, fapt care generează un nou *orf125*. La liniile cu fertilitate restaurată nu se constată prezența transcriptului și nici a proteinei *orf125* [26].

ASC la genul *Brassica* este mult mai variată în comparație cu alte specii de plante. Au fost identificate mai multe tipuri – ASC-ogyra, ASC-nap, ASC-mur, ASC-pol, ASC-tour, ASC-nig și ASC-ana [19], care în majoritatea cazurilor rezultă din hibridizarea interspecifică și incompatibilitatea nucleo-citoplasmică.

La *Brassica ogyra* a fost relevată existența unui cadru de citire *orf133* situat în amonte de gena *atp8* [4]. Acesta codifică un polipeptid de 19 kDa care nu este transcris în prezența genei *Rfo*. La liniile cu fertilitate restaurată se constată și lipsa proteinei de 19 kD – *orf138*, prezentă la liniile sterile [17].

La *Brassica napus* secvențierea genei mitondriale asociate cu androsterilitatea citoplasmatică relevă prezența unui nou cadru de lectură din 222 de codoni (*orf222*), situat după gena *atp6* și în aval de gena *nad5* și *orf139* [6]. Studiul genei *orf263* de la *Brassica tournefortii*, atestă faptul că aceasta, este formată din aproximativ 90 de codoni similari exonului genei *nad5*, urmată de 45 de codoni asemănători genei *atp6*. Tot în acest caz a fost observată prezența proteinei de 32 kDa la liniile sterile, însă asocierea acesteia cu ASC nu este încă pe deplin confirmată [35].

Studiile realizate pe hibridii sterili de *Brassica napus/Brassica oleracea* au relevat prezența unui fragment de 2,5 kb *NcoI* de ADN-ul mitocondrial al ridichii cu ASC-*ogu*, asociat cu apariția ASC-*ogu* în *B. napus*. Cu toate acestea, fragmentul de 2,5 kb *NcoI* nu este lincat cu gena *apt6* sau cu gena *atpA* [67].

ADNmt la liniile sterile cu ASC-pol a fost studiat prin analiza de restricție [68]. Astfel, la aceste linii rearanjamentele ADN din apropierea genei *atp6* generează un cadru de citire de 224 de codoni – *orf224*. Cotranscrierea *orf224* împreună cu *atp6* generează un transcript bicistronic. Genele restauratoare de fertilitate, determină deleția acestui transcript bicistronic, formând un transcript monocistronic [59]. Această genă himeră *orf224* include primii 58 de codoni ai genei *atp8*, 13 codoni ai genei *rps3* și unele secvențe neidentificate.

Prezența alelei *Rfp* sporește cantitatea transcriptului monomeric al genei *atp6*, implicată în manifestarea ASC [59]. Este sugestiv gradul înalt de similaritate între ADNmt nap și pol. Astfel, în citoplasma sterilă tip-nap, s-a identificat o genă himeră *orf222*, care nu este cotranscrisă cu *atp6*. În schimb, *orf222* este cotranscrisă cu exonul c al *nad5* și cu gena *orf139*. Identitatea *orf139* nu este cunoscută, deși prezența ei se atestă la un număr relativ mare de specii. Genele *orf222* și *orf224* prezintă o omologie de 75%. Transcriptul *orf222/nad5c/orf139* este afectat de prezența alelei *Rfn* [6].

ASC la orez (*Oryza sativa*) a fost raportată, pentru prima dată, la specia sălbatică de orez chinezesc *Oryza rufipogon* Griff. Se cunosc mai multe tipuri de ASC la orez: ASC-CW, ASC-Bo, ASC-Ld, ASC-WA și ASC-HL [39].

Cea mai utilizată citoplasmă androsterilă la orez este citoplasma tip-Bo. Genomul mitocondrial cu citoplasma Bo conține două copii ale genei *atp6*. În avalul celei de-a doua copie a genei *atp6* (*B-atp6*) se identifică *orf39* asociat cu ASC. ASC-Bo este asociată cu adăugarea unei gene himere *urf-rmc* plasată la capătul 5' al regiunii noncodante a genei *atp6* [28]. Transcrierea acestei gene, împreună cu gena *atp6*, generează un transcript de 181 aminoacizi codificați de *atp6*, precum și un produs de 9 aminoacizi ai unei regiunii necunoscute. Restaurarea fertilității se realizează de gena *Rf₁*, localizată în cromozomul 10 [57]. De asemenea, s-a relevat prezența unei gene himere *orf79*, similară cu capătul N-terminal al genei *coxI*. Un număr mare de aminoacizi din primii 28 ai *orf79* sunt identici cu *cox1* [47].

Prezintă interes similaritatea de 80% dintre *orf79* și un cadru de citire neidentificat la sorg cu citoplasma A₃ [62]. Deci, la orezul cu citoplasma sterilă tip-Bo II, androsterilitatea este asociată cu prezența unei copii anormale a genei *apt6*, care produce un transcript ARNm aberant cu un cadru de citire adițional notat *orf79* [2].

S-a studiat rolul *orf79* în manifestarea fenotipică a ASC prin mai multe modalități [65]. În primul rând, s-a identificat citotoxicitatea proteinei *orf79* în *E. coli*. În majoritatea cazurilor, expresia genei a fost letală pentru bacterie. Mai mult ca atât, introducerea

genei *orf79* în liniile fertile de orez, utilizând promotorul 35S specific virusului mozaicului tutunului, a generat la plantele modificate genetic o semi-androsterilitate. Acest fapt se datorează prezenței transgenei doar în unele grăuncioare cu polen după realizarea meiozei.

În ceea ce privește celelalte tipuri de ASC la orez, restaurarea fertilității la acestea se realizează de către genele: *Rf₂* pentru ASC-Ld, localizată în cromozomul 2; *Rf₃* și *Rf₄* pentru ASC-WA, amplasate în cromozomul 1 și 10 respectiv; *Rf₅* și *Rf₆* pentru ASC-HL localizată în cromozomul 10; *Rfcw* pentru ASC-CW și *Rf-D₁* pentru ASC-D₁ [72].

ASC la fasole (*Phaseolus vulgaris*) este asociată cu prezența unui nou cadru de citire de 297 pb numit *pvs* (*phaseolus vulgaris sterility*). Regiunea *pvs* conține două *orf*-uri, *orf239* și *orf98* [1].

Restaurarea fertilității este determinată de genele nucleare *Fr* și *Fr₂*. *Fr₂* spre deosebire de gena *Fr*, afectează profilul transcriptului ASC [7].

ASC la grâu (*Triticum aestivum*). La formele sterile regiunea 5' ce flanchează gena *coxI* prezintă un cadru de citire himeric deschis – *orf256*, care codifică un polipeptid de 256 aminoacizi de 7 kDa. Aminoacizii N-terminali codificați de *orf256* și gena *coxI* sunt similari [21]. Secvența codificatoare a genei *coxI* diferă la liniile fertile/sterile doar prin codonul STOP TAA la liniile fertile și TAG la liniile sterile. Secvența unică asociată cu ASC este flancată la capătul 3' și începe de la G al codonului STOP a genei *coxI*.

ASC la sorg (*Sorghum bicolor*) apare în urma rearanjamentelor la nivelul genei mitocondriale *coxI* și al ADN-ului plastidic [8]. Astfel, regiunea codantă a genei *coxI* la plantele sterile este extinsă la capătul 3' cu 303 nucleotide și determină sinteza a 101 de aminoacizi suplimentari la capătul C-terminal al proteinei codificate. Mai mult ca atât, majoritatea liniilor sterile de sorg se caracterizează printr-o deleție în ADN-ul cloroplastidian [8]. Această deleție este situată la mijlocul genei *rpoC2* ce codifică subunitatea β a ARN-polimerazei. Mecanismul apariției deleției încă nu este elucidat și înțeles pe deplin. Gena asociată cu ASC – *orf107* conține 23 din 31 de „resturi” identice cu gena *atp9*, urmată apoi de un segment, la care 28 din 51 de codoni codifică aminoacizi asemănători cu gena *orf79* de la orez, însă produsul de expresie a acestei gene nu este cunoscut [51]. Transcripția acestui *orf107* diferă la liniile cu gena restauratoare de fertilitate *Rf₃* de liniile sterile.

ASC la bob (*Vicia faba*) corelează cu prezența unor particule citoplasmatiche cu diametrul de circa 70 nm, spre deosebire de alte plante androsterile [14]. Particulele conțin o moleculă dublu catenară de ARN de 16,7 kb, capabilă de a codifica o replicază dependentă de ARN [37]. Cu toate acestea, particulele nu sunt localizate în mitocondrii și originea lor este necunoscută. Restaurarea fertilității este asociată cu dispariția acestor particulelor citoplasmatiche.

ASC la sfecla-de-zahăr (*Beta vulgaris*) este provocată de forme diferite ale ADNmt și de variația numărului și tipurilor de plasmide circulare, supraspiralate de ADN.

Genele mitocondriale *coxII* și *atpA* din liniile fertile și liniile sterile prezintă deosebiri în produsele de transcripție [56]. La una din ele se atestă lipsa a două polipeptide mitocondriale cu masa moleculară de 21 kDa și 32 kDa în genomul plantelor cu ASC.

Astfel, la majoritatea sistemele ASC caracterizate, se constată mutații în regiunea codificatoare a genelor mitocondriale pentru subunitățile ATP-sintetazei, indicând

asupra faptului, că dereglările în activitatea ATP-sintetazei determină ASC la numeroase plante de cultură [19].

ASC la floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.). Prima sursă de ASC a fost descoperită de Leclercq în 1969 [36] în urma încrucișării interspecifice dintre *Helianthus petiolaris* și *H. annuus*. Datorită folosirii aproape exclusive a acestei surse de androsterilitate pentru obținerea de semințe hibride, toți hibrizii din cultură sunt strâns înrudiți în baza citoplasmei. Eforturile în domeniul ameliorării vizează în special creșterea variabilității genetice a hibrizilor de floarea-soarelui, prin dezvoltarea de noi sisteme ASC.

Se cunosc cel puțin 62 de surse noi de ASC la floarea-soarelui. Multe din ele sunt derivate din încrucișări interspecifice, altele au apărut spontan în populațiile sălbatice de floarea-soarelui sau au fost obținute prin mutageneză.

Analiza citoplasmei PET₁ la floarea-soarelui a relevat, că liniile androsterile se deosebesc de analogii androfertili printr-o inversie de 11kb și o inserție de 5 kb, fig. 2. Datorită inversiei, *orf* 873 este translocat din poziția sa în fața genei *cob*, iar în poziția *orf* 708 are loc inserția unde se creează un nou cadru de citire cu 522 de nucleotide - *orf*H522 [58; 31]. Primii 19 aminoacizi codificați de această genă sunt identici cu gena *atp8* și prezintă o proteină de 15-16 kDa [43].

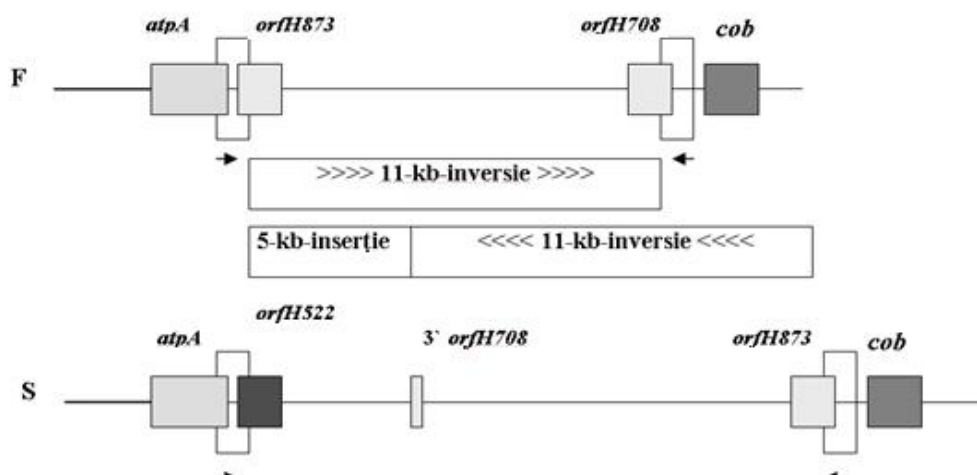


Fig. 2. Organizarea ADN-lui mitocondrial flancat de genele la liniile fertile și sterile
Boxele cu săgeți marchează orientarea secvențelor invers repetitive 261 pb [34].

S-a constatat că regiunea rearanjată a ADN mitocondrial este flancată de repetiții inverse de 261pb și prezintă omologie cu unele secvențe din ADN nuclear sau mitocondrial [31] (fig. 3).

Prezența a 57 de nucleotide de la *orfH708* în aval de gena *atpA*, ca parte a *orfH522* în liniile androsterile și a 223 pb din secvența codificatoare a regiunii 3' *orfH708* de o parte și de alta a inserției de 5 kb demonstrează faptul că inserția a avut loc în *orfH708* după inversia acestei regiuni. Datorită fenomenului de recombinare, cea mai mare parte a *orfH708* a fost deletată sau translocată în altă regiune a genomului mitocondrial [71].

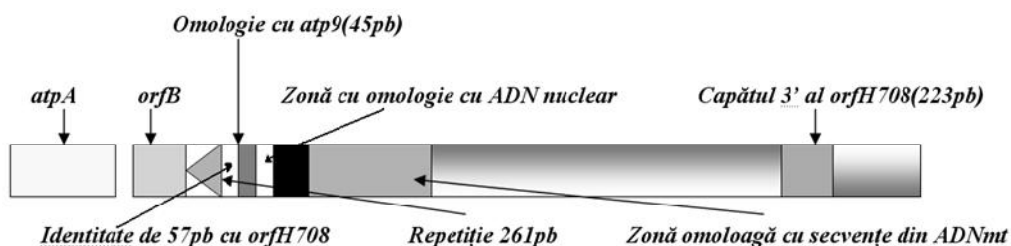


Fig. 3. Organizarea unei regiuni din ADN mitocondrial situată între *atpA* și *cob* la liniile androsterile de *H. annuus* L. (BASO-ASC) [25]

Primele cercetări privind activitatea funcțională a acestor două orf-uri: *H708* și *H873* din regiunea asociată cu ASC, au fost efectuate de Kohler în 1991 [24;31]. Astfel, investigarea a 28 linii sterile și linii fertile n-a constatat prezența transcripților în ARN-ul extras din plantulele etiolate

Spre deosebire de datele obținute la plantule etiolate, analizele efectuate de noi la nivelul transcripților din inflorescență în fazele R_1 și R_2 ale dezvoltării reproductive au pus în evidență expresia *orf 873* atât la liniile fertile cât și sterile [11].

Spre deosebire de proteinele asociate cu androsterilitatea, unele plante, polipeptidul de 16 kD codificat de *orfH522* a fost detectat atât în țesuturile vegetative, cât și în cele generative, rezultate care demonstrează modul constitutiv și nu tisular specific de expresie a genei respective [12]. Totuși în florile de floarea-soarelui cu fertilitatea restaurată, nivelul sintezei acestui polipeptid de 16 kD este mai redus, comparativ cu cel pentru linia androsterilă [43]. S-a constatat, că micșorarea conținutului stoichiometric al cotranscriptului *atpA-orfH522* se datorează poliadenilării, marcându-l astfel ca substrat - ținta pentru *ARN-aza2* [43]. Produsul genei nucleare de restaurare la nivel post-transcripțional destabilizează noul transcript mitocondrial, fenomenul având specificitate tisulară. Nu s-a observat editarea diferențială a *orfH522* ca rezultat al restaurării fertilității de către genele de restaurare [43].

Restaurarea fertilității la liniile androsterile de floarea-soarelui este controlată de aranjamente complexe de gene ce reacționează diferențiat cu liniile ASC. Studiile de transmitere a restaurării fertilității sunt puse în dificultate de genele complementare existente în unele linii parentale femele, dar și de genele prezente în liniile de restaurare a fertilității.

Primele investigații privind genele implicate în restaurarea fertilității liniilor androsterile de floarea-soarelui (linia T66006-2-1) și corelațiile existente între genele corespunzătoare aflate în liniile androsterile respective au fost raportate de către Kinman în 1970. Cercetătorul a indicat prezența unei singure gene dominante de restaurare a fertilității Rf_1 [30]. Puțin mai târziu, s-a stabilit că pentru restaurarea fertilității este necesară încă o genă dominantă complementară cu Rf_1 - gena Rf_2 . Astfel, au fost obținute linii de plante homozigote Rf_2Rf_2 sterile cu citoplasma PET_1 . Vranceanu și Stoenescu (1977) au determinat relațiile alelice între diferite surse de gene de restaurare a fertilității, demonstrând că controlul genetic al restaurării fertilității polenului poate fi determinat de acțiunea cumulativă a 2 gene dominante non-alelice, cu un raport de segregare de 9:6:1 (fertil/parțial fertil /steril). Dominguez-Gimenez și Fick (1975) au

raportat prezența a 4 gene de restaurare ale fertilității printre descendenții de tip sălbatic *H. annuus* și *H. petiolaris*, și a presupus că cel puțin 2 alele dominante trebuie să fie prezente la unul din cei patru loci, pentru a fi exprimată complet restaurarea fertilității [10].

Cercetările întreprinse de Anashchenko, Cucos (1985) și Anashchenko, Duca (1985a) au confirmat existența unui control genetic al restaurării androfertilității la floarea-soarelui [73; 75].

Astfel, s-au studiat 40 de linii restauratoare de fertilitate la liniile androsterile cu citoplasmă PET₁. S-a remarcat faptul că la 5 din ele restaurarea fertilității este controlată de 2 gene dominante, în timp ce la 4 linii restaurarea fertilității este determinată de 2 gene dominante. De asemenea, în urma hibridărilor efectuate s-a descoperit că la liniile androsterile cu citoplasma ANL₁ și PET₁ restaurarea fertilității este controlată de 2 gene nealele [74].

Actualmente, atât prin analize hibridologice cât și marcare moleculară au fost identificate la floarea-soarelui patru gene restauratoare de fertilitate: Rf_1 localizată în grupul de linkage 6; Rf_2 depistată în majoritatea liniilor fertile, inclusiv și în genotipurile menținătoare de sterilitate; Rf_3 restaurează fertilitatea la diverse surse ASC și este diferită de Rf_1 ; Rf_4 identificată la linia *H. maximiliani* 1631, restaurează fertilitatea la ASC-GIG2 [44].

Analiza comparativă a genelor și proteinelor mitocondriale asociate cu androsterilitatea citoplasmatică

În baza de Date National Center for Biotechnology Information (NCBI) au fost identificate 21 de secvențe asociate cu ASC aloplasmică (38,09%) și autoplasmică (61,91%) la diferite specii de plante, inclusiv 14 din clasa Dicotyledonate (ordinea: *Brassicales*, *Asterales*, *Fabales*, *Caryophyllales*, *Solanales* și *Apiales*) și 7 din clasa Monocotyledonate (ordinul *Poales*). O varietate deosebită de tipuri de androsterilitate se constată la plantele din familia *Brassicaceae* (care include șase specii cu ASC), precum și la cele din familia *Poaceae* (șapte specii).

Au fost identificate numeroase gene ASC, cu o structură diferită, neomoloage, cu excepția:

- la rapiță, *Brassica napus*, *orf222* responsabil de ASC *nap* și *orf224* de ASC-pol, posedă o homologie de 79% la nivel nucleotidic [34];
- la cereale, *orf79* responsabil de ASC-Bo la orez și *orf107* a citoplasmei de tip 3A responsabilă de ASC la sorg, posedă o identitate de 53% [61].

O caracteristică comună a acestor gene este transcrierea cu o genă mitocondrială esențială. Transcriptului policistronic a fost identificat în toate cazurile de ASC observate până astăzi. Lungimea *orf*-lor implicate în manifestarea androsterilității variază în limitele de la 54 pb (caracteristic pentru *orf77* al porumbului cu ASC-S), până la 1068 pb (caracteristic pentru *orf355*, specific pentru aceeași linie de porumb). La toate *orf*-urile analizate codonul de inițiere este ATG. Codonul stop variază la diferite specii. Cel mai frecvent s-a atestat în calitate de codon stop TGA (utilizat cu o frecvență de 38,10%), urmat de TAA (33,33%) și de TAG (28,57%). S-a constatat utilizarea codonului TGA, practic, la toate speciile genului *Brassica*, cu excepția *Brassica oleraceae* ASC-ogu, la care acesta este substituit cu TAA. Același codon

TGA se utilizează la toate tipurile sterile de porumb cu excepţia *orf355*, caracteristic pentru ASC-S, care utilizează codonul TAG.

La majoritatea speciilor cercetate se observă o cantitate sporită de perechi de baze adenină-timină (AT), valoarea medie a căreia constituie 56,69%, cu excepţia *orf263*, specific pentru *Brassica tournefortii*, la care conţinutul de AT este mai mic comparativ cu cel de guanină-citozină (GC). Conţinutul de GC la cele 19 specii ale căror *orf*-uri au fost cercetate a înregistrat valoarea medie de 43,31%. Cantitatea maximă de AT a fost atestată la *orf138*, caracteristic pentru *Brassica oleracea* CMS-ogu şi *Raphanus sativus*, înregistrând valoarea de 64,75%, iar cea minimă la *orf263*, de la *Brassica tournefortii*, constituind 47,98%. Respectiv, cantitatea maximă de GC – la *orf236* (52,02%), iar minimă la *orf138* (35,25%), de la aceleaşi specii.

În ceea ce priveşte conţinutul procentual mediu al bazelor azotate, s-a atestat o cantitate esenţială de A (28,15%) şi T (27,62%) şi una mai mică de G (22,97%), şi C (21,25%). Valorile maxime şi minime au fost cuprinse în limitele: pentru A – de la 19,46% (*orf77*, *Zea mays* ASC-S) până la 40,05% (*orf138*, *Brassica oleracea* ASC-ogu şi *Raphanus sativus*); pentru C – de la 11,99% (*orf138*, *Brassica oleracea* ASC-ogu şi *Raphanus sativus*) până la 26,60% (*pvs-orf-1*, *Phaseolus vulgaris*), pentru G – de la 18,52% (*pvs-orf-1*, *Phaseolus vulgaris*) până la 37,13% (*orf77*, *Zea mays* CMS S), iar pentru T – de la 19,76% (*orf77*, *Zea mays* ASC-S) până la 31,00% (*orf256*, *Triticum aestivum*).

Astfel, analiza bioinformatică a datelor a relevat o frecvenţă înaltă a dinucleotidelor AA şi TT, TC, AT, GA şi GG şi una redusă la dinucleotidele CG, GC, CC, GT, etc. În ce priveşte trinucleotidele, sunt mai des întâlnite TTT, AAA, CAA, TTC, ATT spre deosebire de CGC, GAC, etc. Conţinutul sporit de AT a acestor loci himeri asigură o transcriere rapidă şi completă a mesajului ereditar, respectiv şi sinteza polipeptidelor alterate, toxice sau nespecifice pentru celulă, acumularea cărora în citoplasmă este responsabilă de inducerea androsterilităţii.

Analiza secvenţelor proteice codificate de locii himeri asociaţi cu ASC a demonstrat valori ale lungimii ce variază între 77aa (*orf77*, *Zea mays*, ASC-S) până la 355aa (*orf355*, *Zea mays*, ASC-S) şi dimensiuni incluse între 8,8 kDa la *orf79* (*Oryza sativa*) şi 39,8 kDa la *orf355* (*Zea mays*, ASC-S).

Alte particularităţi care pot fi evidenţiate includ:

- valoarea PI, care a variat în limitele: de la 5,24 (*orf355*, *Zea mays*, ASC-S), până la 10,45 (*orf186-1*, *Zea mays*, ASC-S);
- majoritatea polipeptidelor cercetate conţin o cantitate mare de aminoacizi încărcăţi pozitiv (arginină şi lizină), în raport cu aminoacizii încărcăţi negativ (asparagină şi glutamină) cu excepţia *orf355*, *orf263*, *orf456*, *orf256*, ceea ce ar putea favoriza integrarea proteinelor în membrana internă a mitocondriilor.

Studiul proprietăţilor chimice şi a structurii primare a proteinelor codificate de locii himeri asociaţi cu ASC a relevat un nivel înalt de similitudine al acestora, fig. 4.

Generalizarea datelor privind analiza comparativă a genelor şi proteinelor mitocondriale asociate cu androsterilitate citoplasmatică indică:

- un grad sporit de omologie a *orfH522* cu subunitatea a 8-a a ATP-azei la *Beta vulgaris*, mediu cu *orfB* la *Beta vulgaris*, *Brassica juncea* şi *Raphanus sativus* şi redus cu *orfB* la *Arabidopsis thaliana* şi *orf222* la *Brassica napus*;

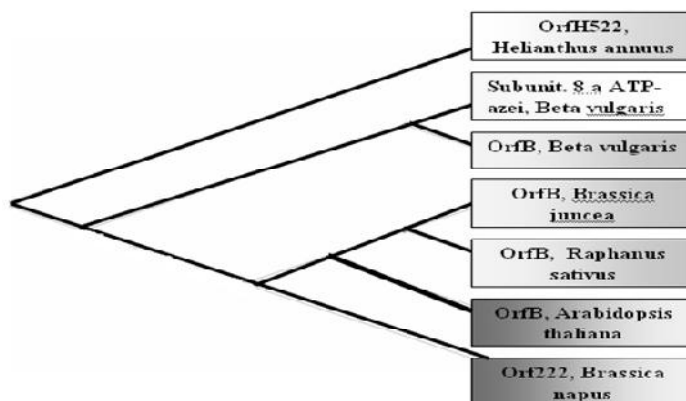


Fig. 4. Arborele filogenetic care reflectă gradul de similitudine a *orfH522*, caracteristic pentru *Helianthus annuus* L., cu alte locusuri din genomurile diferitor specii, construit în baza rezultatelor analizei Blast.

- un punct ancestral comun al subunității a 8-a a ATP-azei și a *orfB* la *Beta vulgaris*;
- originea filogenetică identică a *orfB* la *A. thaliana*, *B. juncea* și *R. sativus*;
- distanța ancestrală semnificativă între *orfH522* la *H. annuus* și *orf222* la *B. napus*, față de punctul filogenetic comun.

Bibliografia

1. Abad, A.R., Mehrrens, B.J., Mackenzie S.A. Specific expression in reproductive tissues and fate of mitochondrial sterility associated protein in cytoplasmic male-sterile bean. Plant Cell, 1995, vol. 7, p. 271–285.
2. Akagi, H., Sakamoto, M., Shinjo, C., Shimada, H., Fujimura, T. A unique sequence located downstream from the rice mitochondrial *atp6* may cause male-sterility. Curr. Genet., 1994, 25, 52–58.
3. Bailey-Serres, J., Dixon, L., Liddell, A., Leaver, C. Nuclear-mitochondrial interaction in cytoplasmic male sterile sorghum. Theor. Appl. Genet., 1986a, 73, 252–260.
4. Bonhomme, S., Budar, F., Lancelin, D., Small, I., Defrance, M.F. and Pelletier, G. Sequence and analysis of *Nco2.5* Ogura-specific fragment correlated with male sterility in *Brassica* cybrids. Mol. Gen. Genet., 1992, 235, 240–248.
5. Bonnett, H.T., Kofer, W., Hakansson, G., Glimelius, K. Mitochondrial involvement in petal and stamen development studied by sexual and somatic hybridizations of *Nicotiana* species. Plant Sci., 1991, vol. 80, p. 119–130.
6. Brown, G. Unique aspects of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in *Brassica napus*. J. Hered., 1999, vol. 90, p. 351–356.
7. Chase, C. Expression of CMS unique and flanking mitochondrial DNA sequences in *Phaseolus vulgaris* L. Genet., 1994, vol. 25, p. 245–251.
8. Chen, Z. et al. A chloroplast DNA deletion located in RNA polymerase genes *rpo C2* in CMS lines of sorghum. Mol. Gen. Genet. 1993, vol. 236, p. 251–259.
9. Dewey, R.E. et al. A mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in the T cytoplasm of maize. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1987, vol. 84, p. 5374–5378.
10. Dominguez, E., Fick, E. Fertility restoration of male sterile cytoplasmic in wild sunflower. Crop. Sci., 1975, vol. 15, nr.5, p.724–726.
11. Duca M., Port A. Transcript analyses for mitochondrial sterile type rearrangement in sunflower. Romanian Biotechnological Letters, vol.13, nr.3, 2008, p.3701–3706.
12. Duca M., Port A., M. Orozco-Cardenas, C. Lovat. Gibberellin-induced gene expression

associated with cytoplasmic male sterility in Sunflower. Bulgaria, Biotechnol. & biotechnol. Equipment, 22, 2008, 2, p. 691-698.

13. *Edwardson, J.R.* Cytoplasmic male sterility//Botan. Rev, 1970, -V.36, -P.341-420.

14. *Edwardson, J.R., Bond, D.A. Christie, R.G.* Cytoplasmic sterility factors in *Vicia faba* L. Genetics, 1976, 82, 443-449.

15. *Gallagher, L.J., Betz, S.K., and Chase, C.D.* Mitochondrial RNA editing truncates a chimeric open reading frame associated with S male-sterility in maize. Curr. Genet., 2002 42, 179–184.

16. *Glab, N., Wise, R.P., Pring, D.R., Jacq, C. & Slonimski, P.* Expression in *Saccharomyces cerevisiae* of a gene associated with cytoplasmic male sterility from maize: respiratory dysfunction and uncoupling of yeast mitochondria. Mol Gen Genet, 1990, 223, 24–32.

17. *Grelon, M. et al.* Ogura cytoplasmic male-sterility (CMS)-associated orf138 is translated into a mitochondrial membrane polypeptide in male-sterile Brassica cybrids. Mol. Gen. Genet., 1994, vol. 243, p. 540–547.

18. *Hanson, M.R. et al.* Mitochondrial gene organization and expression in petunia male fertile and sterile plants. American genetic association, 1999, vol. 90, p. 362–368.

19. *Hanson, M.R., Bentolila S.* Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. The plant Cell., 2004, vol. 16, p. 154–169.

20. *Heazlewood, J.L., Howell, K.A., Millar, A.H.* Mitochondrial complex I from Arabidopsis and rice: orthologs of mammalian and fungal components coupled with plant-specific subunits. Biochim Biophys Acta, 2003, 1604: 159–169.

21. *Hedgcoth, C. et al.* A chimeric open reading frame associated with CMS in aloplasmic wheat with *Triticum timopheevi* mitochondria is present in several *Triticum* and *Aegilops* species, barley, and rye. Curr. Genet., 2002, vol. 41, p. 357–365.

22. *Holden, M. J. and Sze, H.* Dissipation of the membrane potential in susceptible corn mitochondria by the toxin of *Helminthosporium maydis*, race T, and toxin analogues. Plant. Physiol., 1987, 84, 670-676.

23. *Horlow, C., Defrance, M.C., Pollien, I.M, Goujaud L, Delon R., Pelletier G.* Transfer of cytoplasmic male sterility by spontaneous androgenesis in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)// Euphytica, 1992, -V.66, Nr.1-2, -P.45 - 53.

24. *Horn, R., Friedt, W.* CMS sources in sunflower: different origin but same mechanism?Theor. Appl. Genet., 1999, 98:195-201.

25. *Horn, R, Köhler, R., and Zetsche, K.* A mitochondrial 16 kDa protein associated with cytoplasmic male sterility in sunflower; Plant Mol. Biol., 1991, 17, 29–36.

26. *Iwabuchi, M. et al.* Identification and expression of Kosenia radish (*Raphanus sativus* L. cv. Kosenia) homologue of the ogura radish CMS-associated gene, ORF138. Plant Mol. Biol., 1999, vol. 39, p. 183-188.

27. *Iwabuchi, M., Kyojuka, J., Shimamoto, K.* Processing followed by complete editing of an altered mitochondrial atp6 RNA restores fertility of cytoplasmic male sterile rice. EMBO J., 1993, vol. 12, p. 1437–1446.

28. *Kadowaki, K.I., Suzuki, T.* A chimeric gene containing the 5` portion of atp 6 is associated with cytoplasmic male sterility of rice. Mol. Gen. Genet., 1990, vol. 224, p. 10-16.

29. *Kaul, M.* Male sterility in higher plants. -In.: Monographs on Theoretical and Applied Genetics. 1988, Springer-Verlag, Berlin, -P.705-710.

30. *Kinman, M.* New developments in the USDA and state experiment station sunflower breeding programs. Proc. Fourth Int. Sunflower Conference. U.S.A., Memphis Tennessee, 1970, p. 181-183.

31. *Kohler, R.H. et al.* Cytoplasmic male sterility in sunflower is correlated with the co – transcription of a new open reading frame with the atpA gene. Mol. Gen. Genet., 1991, vol. 227, nr. 3, p. 369–376.

32. Korth, K., Kaspi, C., Siedow, J., Levings, C. URF13, a maize mitochondrial pore-forming protein is oligomeric and has a mixed orientation in E.coli plasma membranes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, 88, 10865-10869.
33. Korth, K. and Levings, C. Baculovirus expression of the maize mitochondrial protein URF13 confers insecticidal activity in cell cultures and larvae. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90, 3388-3392.
34. L'Homme, Y. et al. Brassica nap cytoplasmic male sterility is associated with expression of a mtDNA region containing a chimeric gene similar to the *pol* CMS associated *orf224* gene, Curr. Genet., 1997, 31, 325-335
35. Landgren, M. et al. Alopasmic male-sterile Brassica lines containing B. tournefortii mitochondria express an ORF 39 of the *atp6* gene and a 32 kDa protein. Plant Mol. Biol., 1996, vol. 32, p. 879-890.
36. Leclercq, P. Une stérilité mâle chez le tournesol. Ann. Amélior. Plantes, 1969, 19: 99-106.
37. Lefebvre, A., Scala, R., Pfeifer, P. Double stranded RNA associated with the 447 cytoplasmic male sterility in *Vicia faba* is packaged together with its replicase in cytoplasmic membraneous vesicles. Plant. Mol. Biol., 1990, vol. 14, p. 477-490.
38. Levings, III C. S. and Dewey, R. E. Molecular studies of cytoplasmic male sterility in maize; Philos. Trans. R. Soc. London B319, 1988, 177-185.
39. Lin, S. and Yuan, L. Hybrid rice breeding in China. In IRRI (ed.), Innovative Approaches to Rice Breeding, IRRI, Manila, Philippines, 1980, p.35-51.
40. Makaroff, C.A, Apel, I.J., Palmer, J.D. The *atp6* coding region has been disrupted and a novel reading frame generated in the mitochondrial genome of cytoplasmic male-sterile radish. J. Biol. Chem., 1989, vol. 264, p. 11706-11713.
41. Makaroff, C. A., Apel, I., Palmer, J. The role of *cox I* associated repeated sequences in plant mitochondrial DNA rearrangements and radish cytoplasmic male sterility. Curr. Genet., 1991, 19, 183-190.
42. Mariani, C. et al. Induction of male sterility in plants by a chimeric ribonuclease gene; Nature (London), 1990, vol. 347, p. 737-741.
43. Moneger, F., Smart, C., Leaver, C. Nuclear restoration of cytoplasmic male sterility in sunflower is associated with the tissue-specific regulation of a novel mitochondrial gene., The EMBO Journ., 1994, vol. 13, nr. 1, p. 8-17.
44. Midoni, A. Identificarea și expresia unor gene (RF) la floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.). Autoreferatul tezei de doctor în biologie. Chișinău, 2010, 29 p.
45. Newton, K.J. Plant mitochondrial genomes: organization, expression and variation. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1988, vol. 39, p. 503-532.
46. Nivison, H., Sutton, C., Wilson, R., Hanson, M. Sequencing, processing, and localization of the petunia CMS-associated mitochondrial protein. Plant J., 1994, 5, 613-623.
47. Notsu, Y., Masood, S., Nishikawa, T., Kubo, N., Akiduki, G., Nakazono, M., Hirai, A., Kadowaki, K. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa* L.) mitochondrial genome: Frequent DNA sequence acquisition and loss during the evolution of flowering plants. Mol. Genet. Genomics, 2002, 268, 434-445.
48. Paillard, M., Sederoff, R., Levings, C. III. Nucleotide sequence of the S-1 mitochondrial DNA from the S cytoplasm of maize EMBO J., 1985, 4: 1125-1128.
49. Pour, A. K., Gracen, V. E., Everett, H. L. Genetics of fertility restoration in the C group of cytoplasmic male sterility in maize. Genetics, 1981, 98, 379-388.
50. Pring, D., Levings, III C., Hu, W., Timothy, D. Unique DNA associated with mitochondria in the S type cytoplasm of male sterile maize, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1977, 74, 2904-2908.
51. Pring, D.R., Van-Tang H. Mitochondrial *atp6* transcript editing during microgametogenesis

- in male-sterile sorghum. *Curr. Genet.*, 2001, vol. 39, p. 371–376.
52. Prioli, L. *et al.* The plant mitochondrial open reading frame orf221 encodes a membrane bound protein. *Plant Mol. Biol.*, 1993, vol. 23, p. 287–295.
53. Rottmann, W.H. *et al.* A mitochondrial gene is lost via homologous recombination during reversion of cms T maize to fertility; *EMBO J.*, 1987, vol. 6, p. 1541–1546.
54. Schmulling, T., Schell, J., Spena, A. Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development; *EMBO J.*, 1988, vol. 7, p. 2621–2629.
55. Schnable, P. S., Wise, R. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends in plant science*, 1998, Vol. 3, No. 5, 175–180.
56. Senda, M. *et al.* Genomic organization and sequence analysis of the cytochrome oxidase subunit II gene from normal and male sterile mitochondria in sugar beet. *Curr. Genet.*, 1991, vol.19, p. 175–181.
57. Shinjo, C. Genetical studies of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in rice, *Oryza sativa* L. *Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus*, 1975, 22: 1–57.
58. Sicullela, L., Palmer, J. Physical and gene organization of mitochondrial DNA in Fertile and Male Sterile sunflower. CMS-associated alteration in structure and transcription of the atpA gene. University of Michigan, 1988, vol. 16. nr. 9, p. 3787–3797.
59. Singh, M., Brown, G.G. Suppression of Cytoplasmic Male Sterility by Nuclear Genes Alters Expression of a Novel Mitochondria Gene Region. *The Plant Cell*, 1991, vol. 3, p. 1349–1362.
60. Singh, M. *et al.* Nuclear genes associated with a single Brassica CMS restorer locus influence transcripts of three different mitochondrial gene regions. *Genetics*, 1996, vol. 143, p. 505–516.
61. Tang, H.V. *et al.* Transcript processing internal to a mitochondrial open reading frame is correlated with fertility restoration in male-sterile sorghum. *Plant J.*, 1996, vol. 10, p.123–133.
62. Tang, H.V., Chen, W., and Pring, D. Mitochondrial orf107 transcription, editing, and nucleolytic cleavage conferred by the gene Rf3 are expressed in sorghum pollen. *Sex. Plant Reprod.*, 1999, 12, 53–59.
63. von Allmen, J.M., Rottmann, W.H., Gengenbach, B.G., Harvey, A.J., and Lonsdale, D.M. Transfer of methomyl and hmt-toxin sensitivity from T-cytoplasm maize to tobacco. *Mol. Gen. Genet.*, 1991, 229, 405–412.
64. Vrinceanu, A., Stoenescu, F. Studii de lincaje între gene ms şi diferite gene marcher la floarea soarelui //Ann ICCPT - Fundulea, 1977, -V.XLII, -P.15–21.
65. Wang, Z. *et al.* Cytoplasmic Male Sterility of Rice with Boro II Cytoplasm Is Caused by a Cytotoxic Peptide and Is Restored by Two Related PPR Motif Genes via Distinct Modes of mRNA Silencing. *Plant Cell*, 2006, vol. 18, nr. 3, p. 676–687.
66. Werren, J., Beukeboom, L. Sex Determination, Sex Ratios and Genetic Conflict. *Ann. Rev. Ecol. & Systematics*, 1998, 29:233–261.
67. Williams, M. E. and Levings, III C. S. Molecular biology of cytoplasmic male sterility, in *Plant breeding reviews* (ed.) J Janick (New York: John Wiley), 1992, Vol. 10, p. 23–51.
68. Witt, U., Hansen, S., Albaum, M., Abel, W. Molecular analysis of the CMS inducing Polima cytoplasm of *Brassica napus*. *Curr. Genet.*, 1991, 19, 323–327.
69. Young, E.G., and Hanson, M.R. A fused mitochondrial gene associated with cytoplasmic male sterility is developmentally regulated. *Cell*, 1987, vol. 50, nr. 1, p. 41–49.
70. Zabala, G. *et al.* The nuclear gene Rf3 affects the expression of the mitochondrial chimeric sequence R implicated in S-type male sterility in maize. *Genetics*, 1997, vol. 147, p. 847–860.
71. Zetsche, K. and Horn, R. Molecular analysis of cytoplasmic male sterility in sunflower (*Helianthus annuus* L.). In Brennicke, A. and Kuck, U. (eds), *Plant Mitochondria*. VCH, Weinheim, 1993, vol. 42, p. 411–422.

72. Zhang, G., Bharaj, T. Lu, Y. Virmani, S., Huang, N. Mapping of the Rf-3 nuclear fertility-restoring gene for WA cytoplasmic male-sterility in rice using RAPD and RFLP markers. Theor Appl Genet., 1997, 94: 27-33.

73. Анащенко, А., Дука, М. Изучение генетической системы ЦМС-Rf у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Сообщ. II. Восстановление мужской фертильности у гибридов на основе ЦМСр. Генетика.-1985а.-Т. 21, № 12.- с. 1999-2004.

74. Анащенко, А., Дука, М. Изучение генетической системы ЦМС-Rf у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Сообщ. III. Восстановление мужской фертильности у гибридов на основе ЦМС₁. Генетика.-1985b.-Т. 21, № 12.- с. 2005-2010.

75. Анащенко, А., Кукош, М. Изучение генетической системы ЦМС-Rf у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Сообщ. I. Восстановительная способность образцов подсолнечника в разных типах ЦМС. Генетика.-1985.-Т.21, №5.-с. 803-808.

76. Зубко, М.К., Зубко, Е.И., Глеба, Ю.Ю., Шидер, О. Возникновение новых гомеотических форм ЦМС у гибридов *Nicotiana* (*Hyoscyamus*) и *Nicotiana* (*Scopolia*) сконструированных посредством слияния протопластов //Генетика, 1995, -Т.31, N10, - С.1404-1412.

77. Попов, В., Кириченко, В. Мужская стерильность подсолнечника. Теоретические и прикладные аспекты. Вісник Харківського Національного Аграрного Університету, Серія Біологія, 2007, вип. 2 (11), с. 18-23.

SEMNIFICAȚIA APEI ÎN COORDONAREA ȘI INTEGRAREA FUNCȚIILOR PLANTEI ÎN CONDIȚII DE SECETĂ.

Ștefîrță Anastasia

Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei

Rezumat

Sinteza informației din literatură demonstrează, că procesele care asigură relațiile interactive dintre organe sunt asociate cu autoreglarea funcțiilor și menținerea unui echilibru dinamic al acestora. În procesul adaptării se realizează o unitate indisolubilă a plantei cu mediul ambiant. Apa unește toate părțile componente ale organismului, începând cu moleculele și terminând cu țesuturile și organele, într-un tot unic; pare a fi unica substanță în plantă, care adecvat poate îndeplini funcția triplă de reglare a creșterii, reglare a activității metabolice și integrare a structurii și funcțiilor la toate nivelurile de organizare. Cauza principală a dereglării integrității funcționale în condiții de secetă este perturbarea mediului lichid intern, relațiilor donator-acceptor și schimbării gradientelor apei între organe, inhibării reacțiilor metabolice și biosintezelor. În condiții de secetă apei îi revine locul central în coordonarea și menținerea integrității funcțiilor. Cuvinte-cheie: autoreglare - coordonare – integrare – adaptare
Depus în redacție 20 aprilie 2012

Adresa pentru corespondență: Ștefîrță Anastasia, Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei, str. Pădurii, 20, MD-2002 Chișinău, Republica Moldova, e-mail: anastasia.stefirta@gmail.com, tel: (+373 22) 53 59 90

Seceta, prin insuficiența de apă în sol și/sau atmosferă, temperatură și irradiație înalte, este cel mai alarmant factor ce limitează productivitatea și stabilitatea recoltei în întreaga lume. În deosebi de afectate sunt plantele când seceta se suprapune pe fond