

Chapitre 3 : Transfert de l'information génétique par la reproduction sexuée & Les lois statistiques de la transmission des caractères héréditaires chez les diploïdes

Introduction : La reproduction sexuée est un phénomène biologique qui assure la transmission de l'information génétique d'une génération à une autre chez les êtres diploïdes. Les caractères héréditaires d'un nouvel individu peuvent différer de ceux des parents et des autres membres de la fratrie, mais ils possèdent le même nombre de chromosome. Ce qui s'explique par la succession de deux phénomènes :

La méiose : division de cellules sexuelles diploïdes ($2n$) pour la formation de gamètes haploïdes (n) on parle de gamétogénèse.

La fécondation : assure l'union de deux gamètes parentaux pour la formation d'un œuf ($2n$) qui forme le nouvel individu par mitose successive.

I- L'importance génétique de la méiose et de la fécondation :

1- La méiose :

a. Mise en évidence de la méiose :

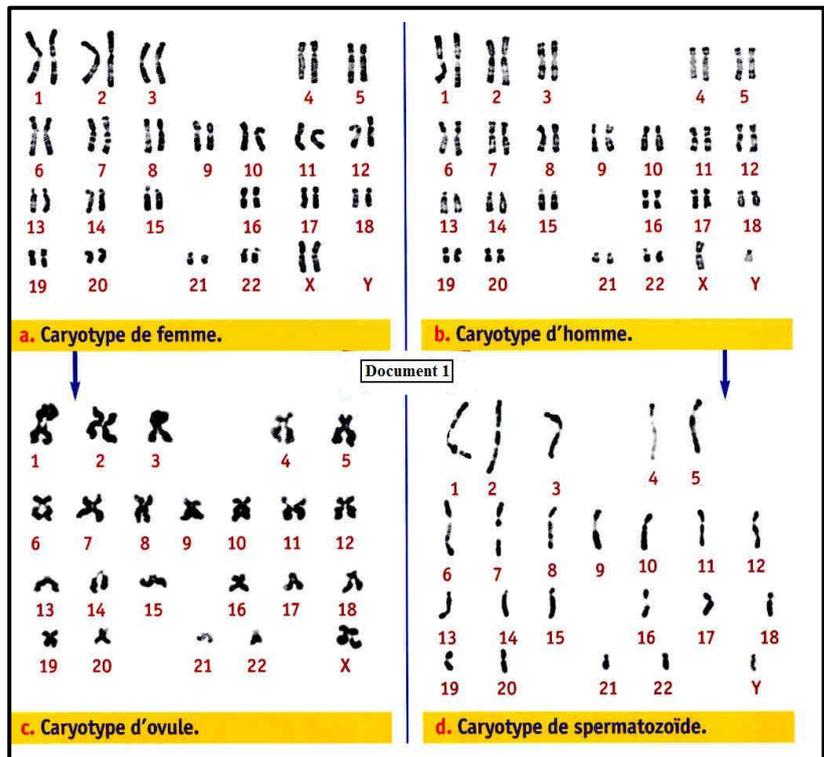
Le document 1 présente des cartes chromosomiques (Caryotypes) de cellules somatiques humaines et celles des gamètes.

D'après l'observation des caryotypes du document 1 :

1. Donnez une définition d'un caryotype.
2. Donnez la formule chromosomique de chaque cellule.
3. Mettez en évidence nécessite de la méiose pour assurer la gamétogénèse.

☑ Réponses :

1. Le caryotype est une représentation, sous forme de photographie, de l'ensemble des chromosomes d'une cellule, classés selon la taille et la position du centromère (par paire pour les cellules diploïdes).
2. Formule chromosomique :



- De l'homme : $2n=44.A+XY$ ($2n=22.AA+XY$)
- De la femme : $2n=44.A+XX$ ($2n=22.AA+XX$)
- De l'ovule : $n=22.A+X$
- Du spermatozoïde : $n=22.A+X$ ou $n=22.A+Y$

3. Le caryotype de gamète ne comporte que la moitié du nombre de chromosomes des cellules somatiques, d'où la nécessité de l'intervention d'une division cellulaire pour former la formule chromosomique gamétique.

b. Etapes de la méiose :

La méiose est le mécanisme à l'origine de la formation de cellules haploïdes. La méiose comprend deux divisions successives à partir d'une cellule diploïde. La division réductionnelle qui réduit le nombre de chromosomes de moitié et la division équationnelle qui se caractérise par la séparation des chromatides.

La division réductionnelle comporte 4 phases successives :

La prophase I se caractérise par :

Une individualisation des chromosomes,

Un appariement des chromosomes homologues à deux chromatides et la formation de chiasmata entre les chromatides ;
La disparition de l'enveloppe nucléaire.

La métaphase I correspond à la disposition des chromosomes au niveau du plan équatorial de la cellule. Les centromères des chromosomes sont disposés de part et d'autre du plan médian de façon à disposer les chromosomes homologues face à face.

L'anaphase I : chaque chromosome (à deux chromatides) migre vers l'un des pôles de la cellule.

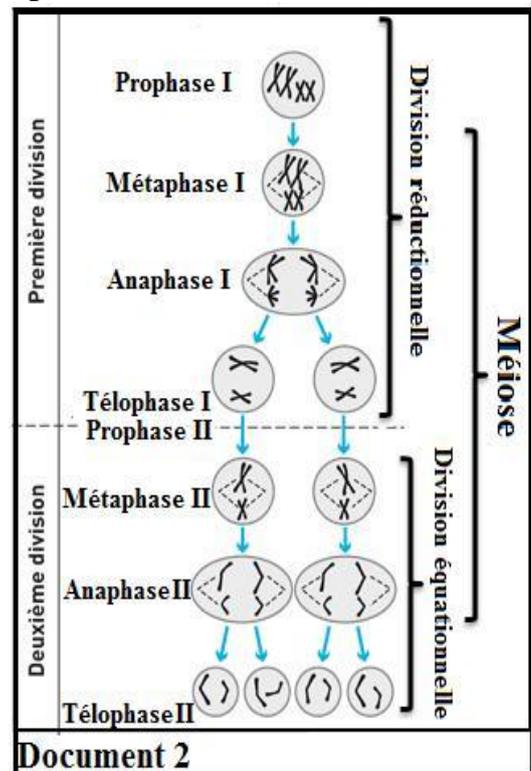
La télophase I se caractérise par :

Des chromosomes à deux chromatides qui restent condensés ;

La formation de l'enveloppe nucléaire autour de chaque lot de chromosomes ;

La séparation de la cellule en deux cellules filles possédant chacune l'un des chromosomes homologues de la paire.

- ➔ A partir d'une cellule à $2n$ chromosomes à deux chromatides se forment, à la fin de la première division, deux cellules à n chromosomes à deux chromatides.



Document 2

La seconde division (division équationnelle) de la méiose affecte les deux cellules formées précédemment et elle succède directement à la première division de méiose. Elle se déroule en quatre phases :

La prophase II qui connaît la disparition de l'enveloppe nucléaire alors que les chromosomes restent condensés.

La métaphase II : les chromosomes à deux chromatides se disposent sur le plan équatorial de la cellule. Les centromères des chromosomes sont alignés sur le plan médian.

L'anaphase II Les chromatides des chromosomes se séparent, chaque chromatide migre à un pôle cellulaire.

La télophase II achève la deuxième division de méiose et se caractérise pour chaque cellule par :

La décondensation des chromosomes à une chromatide ;

L'apparition de l'enveloppe nucléaire autour de chaque lot de chromosomes ;

La séparation des cellules filles.

→ Chaque cellule fille à n chromosomes à deux chromatides donne, au cours de la deuxième division de méiose, deux cellules à n chromosomes à une chromatide.

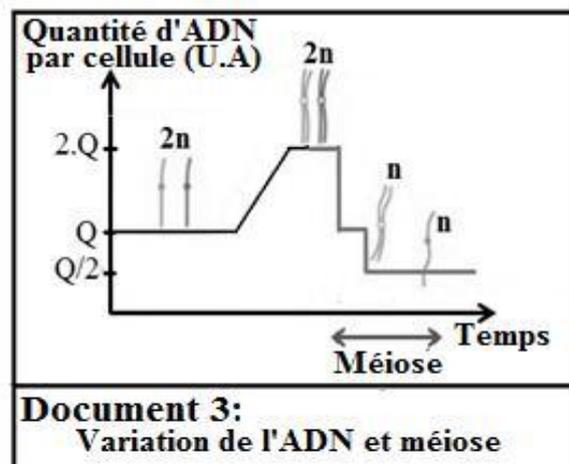
c. Evolution de l'ADN et la méiose :

☑ Réponse :

La méiose est précédée par la réplication de l'ADN pendant l'interphase, ce qui conduit à un dédoublement de sa quantité (de Q à $2.Q$) et à la transformation des chromosomes monochromatidiens en chromosomes bichromatidiens.

Pendant la division réductionnelle, la séparation des chromosomes homologues fait diminuer la quantité d'ADN par cellule de moitié (de $2.Q$ à Q).

La séparation des chromatides de chaque chromosome pendant la division équationnelle, permet une seconde réduction par deux de la quantité d'ADN (de Q à $Q/2$).



Décrivez, d'après ce document, l'évolution de la quantité d'ADN en relation avec l'aspect et le nombre des chromosomes.

2- Rôle de la méiose et de la fécondation dans la diversité génétique :

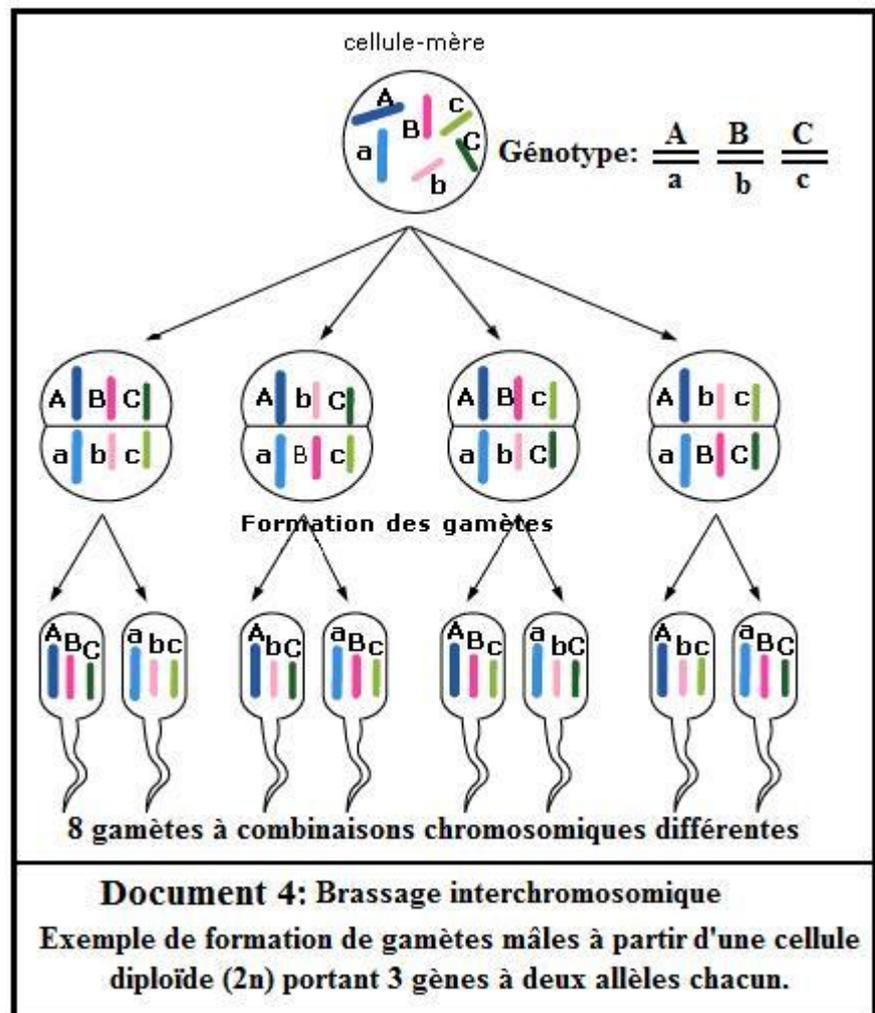
La transmission des caractères héréditaires par reproduction sexuée assure une grande diversité des individus de la même espèce, notamment grâce aux brassages chromosomiques qui caractérisent la gamétogénèse.

a. Brassage interchromosomique :

D'après l'exemple du document 4, montrez le caractère aléatoire du brassage interchromosomique.

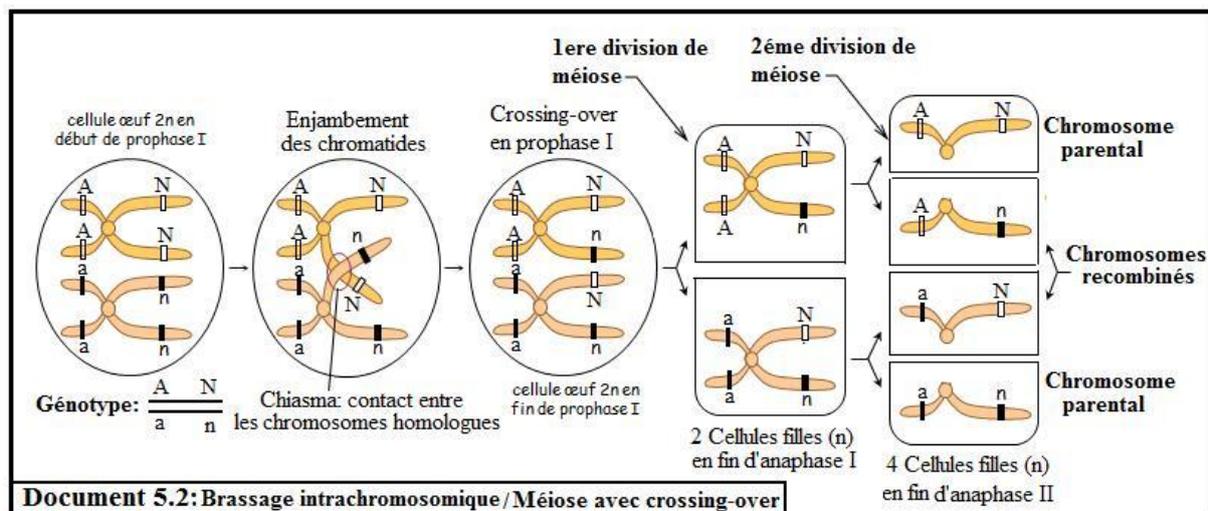
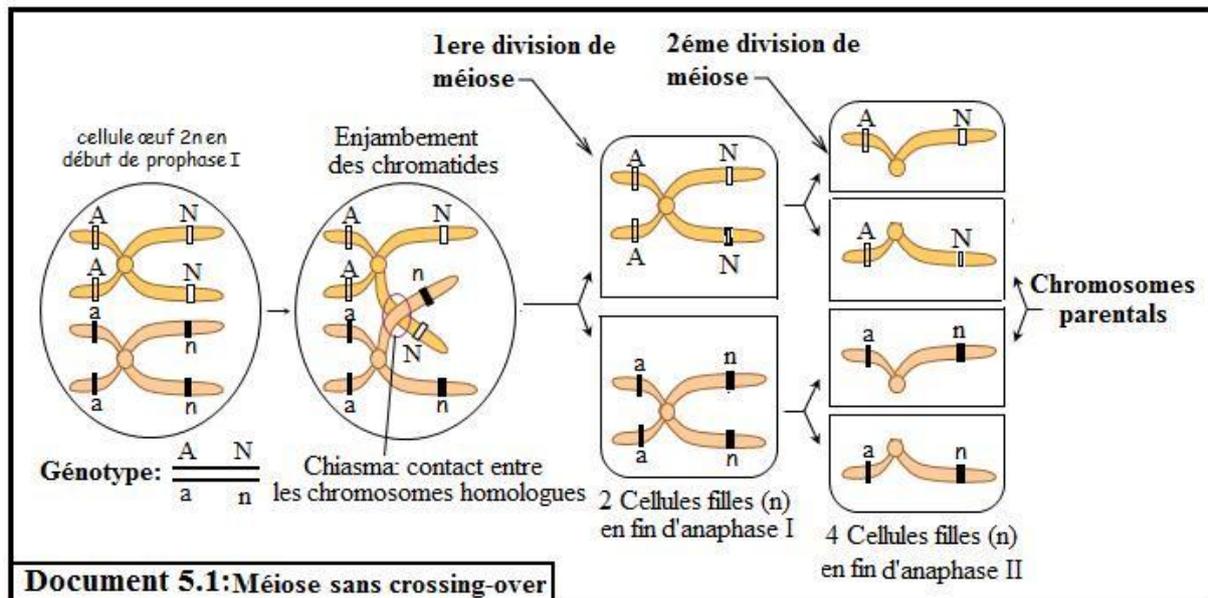
☑ Réponse :

Lors de la métaphase I (1^{re} division) de la méiose, les chromosomes homologues se disposent de façon aléatoire de part et d'autre de l'équateur de la cellule. A l'anaphase I, ces chromosomes homologues se séparent indépendamment les uns des autres par migration vers les pôles cellulaires. On observe donc à la télophase I, une répartition au hasard des chromosomes entre les deux cellules filles, chacune hérite d'un chromosome de chaque paire. Ce qui aboutit à un brassage indépendant des chromosomes non homologues et des gènes qui les constituent.



b. Brassage intrachromosomique :

Déterminez les étapes principales du brassage intrachromosomique à partir des documents 5.1 et 5.2.



☑ Réponse :

Le brassage intrachromosomique se produit en prophase I. Les chromosomes homologues à deux chromatides s'apparient (se rapprochent deux à deux) et forment des tétrades.

Les chromatides se chevauchent en des points de contact nommés **chiamas**.

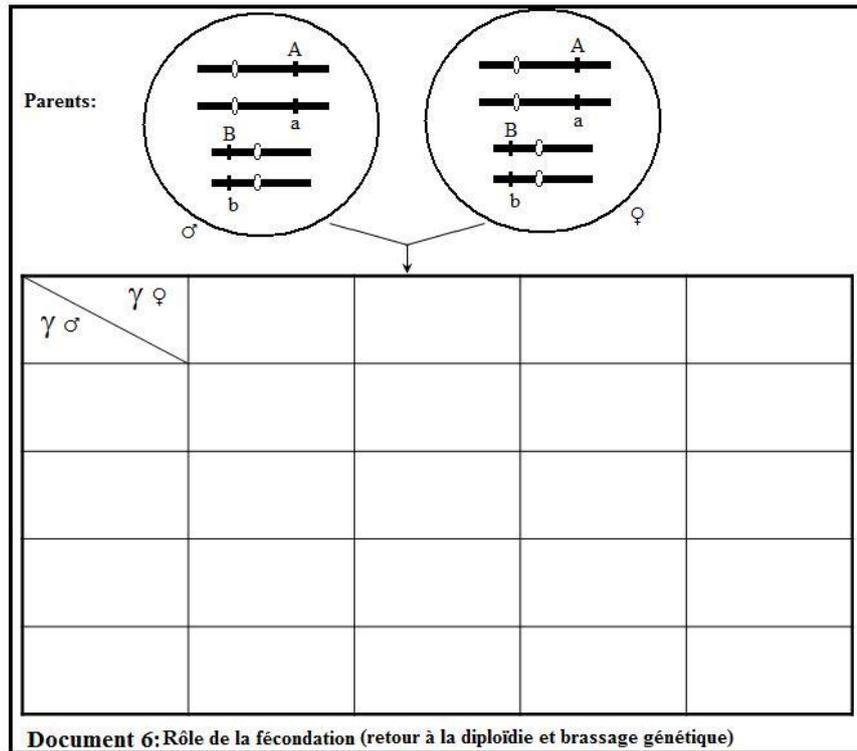
Les chromosomes homologues se séparent – sans échange cas 5.1- et peuvent échanger des portions symétriques de chromatides, c'est le phénomène d'**enjambement** ou **crossing-over**.

Le brassage intrachromosomique permet la formation de chromatides recombinées au sein même des chromosomes homologues, par une nouvelle association d'allèles différente de celle d'origine parentale.

c. La fécondation :

Le phénomène de fécondation permet la mise en commun de matériel génétique des noyaux des deux gamètes (n) et ainsi la formation d'œuf diploïde (2n).

La fécondation amplifie le brassage génétique, réalisé au cours de la méiose, par la réunion au hasard de deux gamètes.



- Completez le tableau du document 6 (échiquier de croisement) pour identifier le génotype des descendants du couple considéré et visualiser le rôle de la fécondation dans la diversité génétique.

II- Etude statistique de la transmission des caractères héréditaires chez les diploïdes

La génétique classique a débuté avec les travaux de Gregor Mendel, qui a centré son travail sur le Pois (*Pisum sativum*), car il en existe une grande variété de phénotypes.

La génétique mendélienne se base sur la transmission de **caractères oppositifs** suite à la réalisation de **croisements** souvent entre individus de **racés purs** pour former des **hybrides** qui présente un mélange génétique des deux parents. On parle d'expérience d'**hybridation** (croisement de deux lignées différentes par un ou plusieurs caractères pour donner des hybrides).

Remarque : La lignée pure est une population dont les individus donnent des descendants identiques à eux-mêmes en ce qui concerne le caractère étudié.

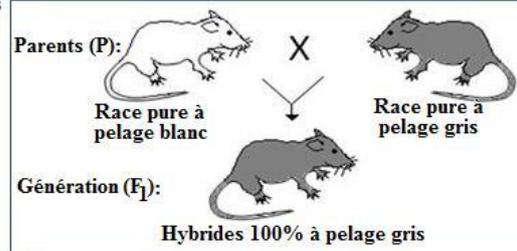
A. Transmission d'un caractère (monohybridisme):

1- Cas d'un gène non lié au sexe (autosomal) à allèle dominant :

Un généticien effectue le croisement ci-contre entre deux lignées pures de souris et obtient en première génération, notée F₁, une progéniture à pelage gris.

Lorsqu'il croise entre-elles les souris de la F₁, il obtient en F₂ :
> pour une première portée: 198 souris grises et 72 souris blanches
> pour une deuxième portée, 93 souris grises et 27 souris blanches

- Que signifie au niveau allélique le fait d'appartenir à une race pure ?
- Quelles conclusions peut-on tirer du 1^{er} croisement ?
- Déduisez les génotypes des parents du 1^{er} croisement.
- Donnez l'interprétation chromosomique des deux croisements.



Document 7: Monohybridisme autosomal - La dominance absolue

- Que signifie au niveau allélique le fait d'appartenir à une race pure ?
- Quelles conclusions peut-on tirer du 1^{er} croisement ?
- Déduisez les génotypes des parents du 1^{er} croisement.
- Donnez l'interprétation chromosomique des deux croisements.

☑ Réponse :

a. Pour transmettre un caractère donné avec le même phénotype de génération en génération, les individus de race pure doivent avoir un génotype diploïde à deux allèles identiques du gène contrôlant le caractère étudié, on dit qu'ils sont homozygotes.

b. Les conclusions tirées du 1^{er} croisement sont :

→ Le caractère étudié est la couleur du pelage, ses phénotypes sont le pelage gris et le pelage blanc, il s'agit donc d'un cas de monohybridisme.

→ La génération F₁ est homogène car les individus qui la composent se ressemblent, on déduit que la première loi de Mendel est respectée.

La 1^{ère} loi de Mendel (Loi de l'uniformité des hybrides) stipule que si les parents sont de races pures pour un caractère donné, alors leur croisement donne une génération homogène pour ce caractère, et vis-versa.

Le respect de la 1^{ère} loi de Mendel permet de confirmer (ou de déduire) que les parents sont de races pures donc homozygotes.

→ Les individus de la génération F₁ se ressemblent et ont un phénotype identique à l'un des parents (gris), on déduit que l'allèle responsable de la couleur grise du pelage est dominant (Il masque par ses effets la présence de l'allèle blanc au niveau du génotype des hétérozygotes de la F₁), On dit que l'allèle responsable de du pelage blanc est récessif.

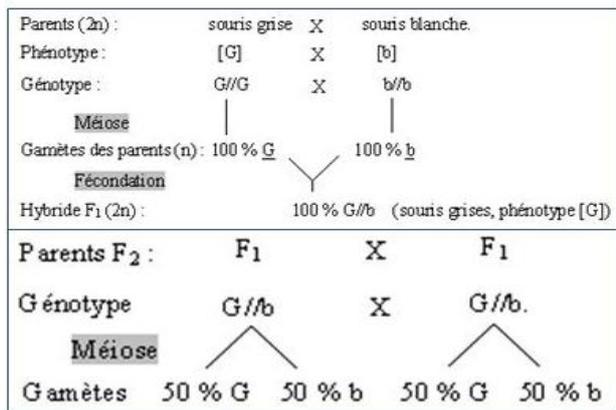
c. On note l'allèle dominant (responsable de la couleur grise) par la première lettre de son nom en majuscule (G), par contre l'allèle récessif (responsable de la couleur blanche) est noté en minuscule (b).

Le phénotype est noté entre crochets [].

Le parent de phénotype [G] et de race pure à le génotype : G//G

Le parent de phénotype [b] et de race pure à le génotype : b//b

d. L'interprétation chromosomique du 1^{er} croisement est le suivant :



Gamètes	mâle	50 % G	50 % b
fémele			
50 % G		25 % $\frac{G}{G}$ [G]	25 % $\frac{G}{b}$ [G]
50 % b		25 % $\frac{G}{b}$ [G]	25 % $\frac{b}{b}$ [b]

L'apparition d'individus blanc dans la F₂ est due à la séparation indépendante des allèles contrôlant le phénotype gris et blanc lors de la méiose chez les F₁ hétérozygotes. Ce qui respecte la 2^{ème} loi de Mendel dite loi de la pureté des gamètes, qui stipule :

Lors de la méiose formant les gamètes, les éléments (allèles) contrôlant un caractère se séparent, le gamète est donc toujours pure.

• Pour connaître le génotype d'une souris grise de la F₂, le généticien la croise avec le parent blanc; Les résultats obtenus sont les suivants :

Premier croisement

Deuxième croisement

a. Déterminez le génotype de l'individu à phénotype dominant (gris) dans chacun des deux croisements.
 b. Déduisez une définition du test-cross.

Document 8: Le Test-cross (Croisement test)

Réponse :

a. Détermination du génotype du parent [G] :

- Cas du 1^{er} croisement :

Le croisement d'une souris grise de F₂ avec une souris blanche donne 50 % de souris grises et 50 % de souris blanche;

➔ On en déduit que la souris grise du croisement 1 n'est pas de race pure, elle est hétérozygote de génotype (G//b).

▪ Cas du 2eme croisement :

Ce croisement donne 100 % de souris grises.

➔ On en déduit le respect de la 1ere loi de Mendel, donc la souris grise de F₂ utilisée lors du croisement 2 est homozygote (G//G).

b. C'est un croisement test, qui vise la détermination du génotype d'un individu à phénotype dominant, par son croisement avec un individu testeur homozygote récessif. L'individu testeur ne produit qu'un seul type de gamète et il n'influence pas les phénotypes qui issue du croisement. Ces phénotypes et leur proportion dépendent uniquement des gamètes produits par l'individu de génotype inconnu.

Remarque : Le test-cross est parfois nommé back-cross (test retour) quand on croise l'individu de phénotype dominant avec l'un des parents récessif.

2- Cas d'un gène non lié au sexe à allèles codominants :

La belle de nuit est une plante diploïde. On en distingue des lignées pures à fleurs blanches (B) et des lignées pures à fleurs rouges (R).

Le croisement de ces deux lignées produit une première génération d'hybrides à phénotype intermédiaire (couleur rose).

<p>La belle de nuit est une plante diploïde. On en distingue des lignées pures à fleurs blanches (B) et des lignées pures à fleurs rouges (R). Le croisement de ces deux lignées produit une première génération d'hybrides à phénotype intermédiaire (couleur rose).</p> <p>a. Quelles conclusions peut-on tirer du 1er croisement? Déduisez une définition de la codominance. b. Donnez l'interprétation chromosomique des deux croisements. c. A-t-on besoin de réaliser un test-cross pour identifier le génotype d'un individu ?</p>	<p>•Premier croisement:</p> <p>Parents (P): Race pure à fleurs rouges × Race pure à fleurs blanches</p> <p>Génération (F₁): 100% Fleurs roses</p> <p>•Deuxième croisement:</p> <p>Génération (F₂): 106 Fleurs roses, 54 Fleurs rouges, 58 Fleurs blanches</p>
<p>Document 9: Monohybridisme autosomal - La codominance</p>	

a. Quelles conclusions peut-on tirer du 1^{er} croisement ? Déduisez une définition de la codominance.

b. Donnez l'interprétation chromosomique des deux croisements.

c. A-t-on besoin de réaliser un test-cross pour identifier le génotype d'un individu ?

Réponse :

a. Les conclusions tirées du 1^{er} croisement sont :

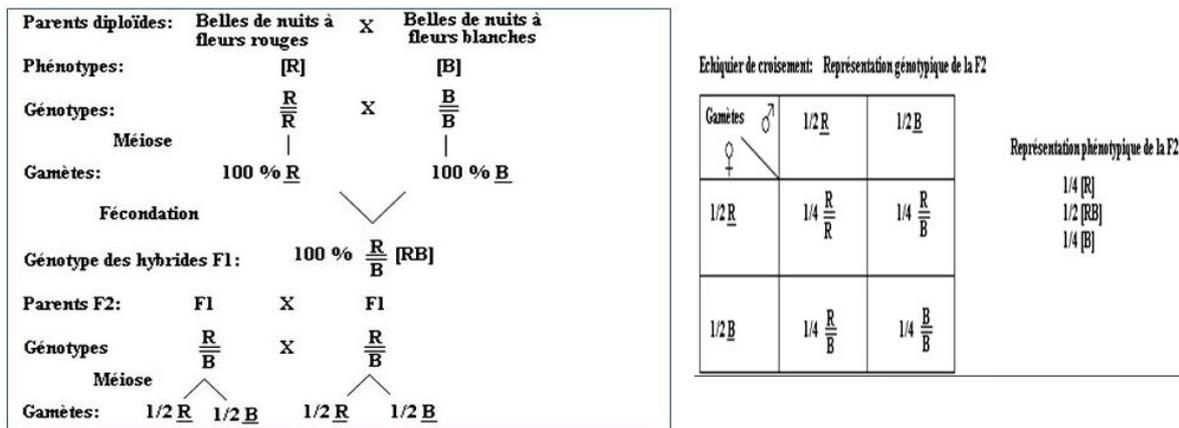
→ Le caractère étudié est la couleur de la fleur (belle de nuit), ses phénotypes sont blanc, rouge et rose, il s'agit donc d'un cas de monohybridisme.

→ La génération F₁ est homogène (100% des individus roses), on déduit que la première loi de Mendel est respectée, donc les parents sont homozygotes de races pures.

→ Les individus de la génération F₁ ont un phénotype (rose) différent des parents, on déduit que l'allèle responsable de la couleur blanche (B) et celui de la couleur rouge (R) sont codominant (aucun ne masque l'expression de l'autre).

- **La codominance représente le cas où les deux allèles différents d'un hybride (hétérozygote) s'expriment pour donner un phénotype intermédiaire différent des homozygotes.**

b. L'interprétation chromosomique des deux croisements :



c. La reconnaissance des génotypes est possible directement à partir de l'observation des phénotypes (les fleurs rouges et blanches sont toutes homozygotes de génotype respectivement G//G et b//b, les fleurs rose sont hétérozygote G//b), il n'est donc pas nécessaire d'avoir recours à un test-cross.

3- Cas d'un gène non lié au sexe à gène létal :

L'action de certains **gènes** à l'état **homozygote** provoque la mort des descendants à l'état **embryonnaire**. Ces gènes sont appelés gènes **létaux**.

Un généticien croise une souris mâle à pelage jaune et une souris femelle à pelage jaune. Dans la descendance, il compte 34 souris jaunes et 17 souris noires.

- Interprétez les résultats obtenus

L'action de certains gènes à l'état homozygote provoque la mort des descendants à l'état embryonnaire. Ces gènes sont appelés gènes létaux.

Un généticien croise une souris mâle à pelage jaune et une souris femelle à pelage jaune. Dans la descendance, il compte 34 souris jaunes et 17 souris noires.

> Interprétez les résultats obtenus.

Utilisez la lettre (J) ou (j) pour désigner l'allèle responsable de la couleur jaune.

Utilisez la lettre (N) ou (n) pour désigner l'allèle responsable de la couleur noir.

Document 10: Monohybridisme autosomal - Le gène létaux

Il y a un seul phénotype en présence chez les parents. Le caractère étudié est la couleur du pelage. On peut dire qu'on a affaire à un monohybridisme avec dominance.

Le phénotype noir apparaît dans la descendance ; alors les parents sont hétérozygotes : ce sont des hybrides.

On a réalisé le croisement entre les hybrides pour obtenir la F2. On s'attendrait aux proportions phénotypiques du type 3/4 ; 1/4, caractéristiques d'un monohybridisme avec dominance, en F2. Mais on obtient plutôt des proportions du type 2/3 et 1/3. Les proportions mendéliennes en F2 sont modifiées. 1/4 des souris de cette génération ne sont pas viables. Ces proportions c'est-à-dire (2 :1) sont ceux d'un monohybridisme avec dominance et gène létaux.

Parents diploïdes: Souris jaune X Souris jaune

Phénotypes: [J] X [J]

Génotypes: $\frac{J}{n}$ X $\frac{J}{n}$

Gamètes $\frac{1}{2}J$ $\frac{1}{2}n$ $\frac{1}{2}J$ $\frac{1}{2}n$

Echiquier de croisement: représentation génotypique de la descendance.

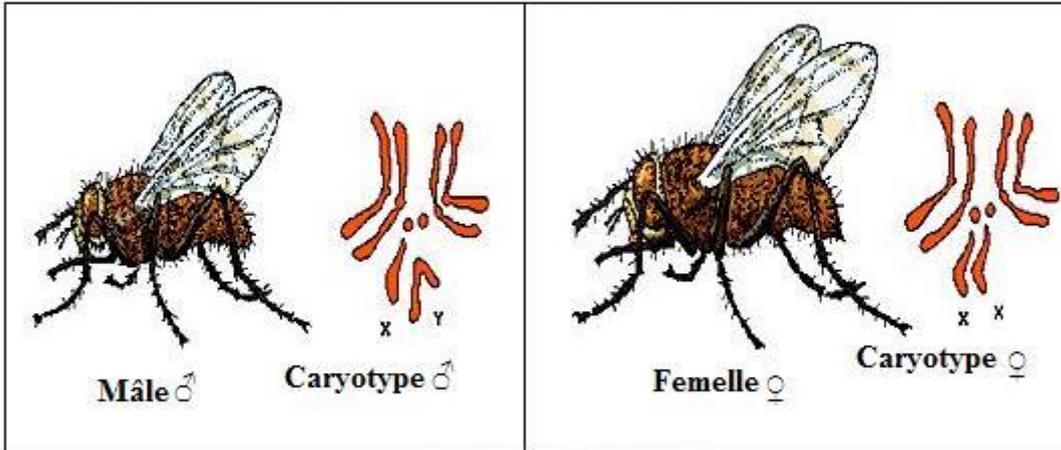
Gamètes ♂	$\frac{1}{2}J$	$\frac{1}{2}n$
♀	$\frac{1}{2}J$	$\frac{1}{4}\frac{J}{J}$ $\frac{1}{4}\frac{J}{n}$
$\frac{1}{2}n$	$\frac{1}{4}\frac{J}{n}$ $\frac{1}{4}\frac{n}{n}$	

Représentation phénotypique et proportions: 2/3 [J] et 1/3 [n]

4- Cas d'un gène lié au sexe :

La **drosophile** est une petite mouche (3 à 4 mm) abondante sur les fruits mûrs. Elle est très utilisée par les généticiens pour plusieurs raisons :

- > Les mâles se distinguent aisément des femelles par leur abdomen court et noir;
- > Son cycle de développement est très court;
- > Elle est très prolifique ;
- > Son équipement chromosomique est très réduit ($2n = 8$ chromosomes).



Formule chromosomique détaillée:

Mâle ♂ :
Gamètes ♂:

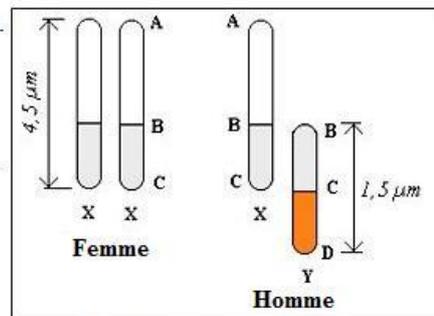
Femelle ♀ :
Gamètes ♀:

Document 11: La drosophile (*Drosophila melanogaster*) dite mouche du vinaigre

Chaque espèce possède un nombre constant de chromosomes et toutes les cellules d'un individu possèdent le même caryotype sauf au niveau des gamètes. Chez l'Homme, la 23ème paire de chromosomes détermine le sexe: XX (femme) ou XY (homme). Chez la drosophile c'est la 4ème paire.

- > Les gènes portés par la portion AB, spécifique à X, sont responsables de l'hérédité liée au sexe
- > Les gènes de la portion BC, communs à X et à Y se transmettent comme par l'hérédité autosomale
- > Les gènes de la portion CD, spécifique à Y, déterminent l'hérédité liée au sexe. Mais ils sont rares et seul le mâle les porte.

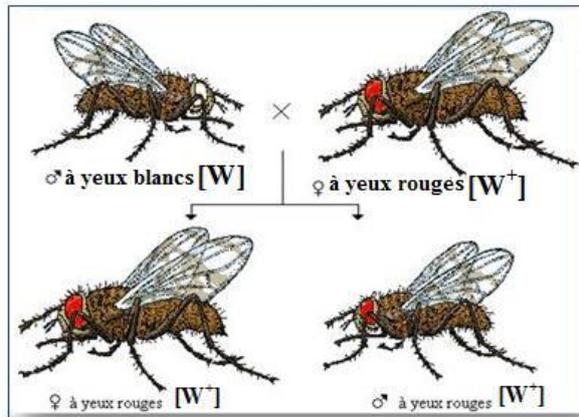
Remarque : Chez les oiseaux, le mâle est homogamétique (XX) et la femelle présente la particularité de ne posséder qu'un seul chromosome X que l'on note généralement X/O. Chez d'autres espèces de papillons, le mâle est homogamétique noté ZZ et la femelle hétérogamétique noté ZW.



Les gonosomes de l'Homme

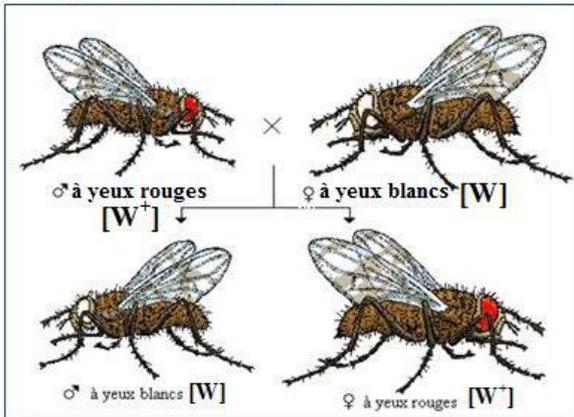
Document 12

1er Croisement: Morgan et al. croisent une drosophile femelle aux yeux rouges (type sauvage) avec un mâle aux yeux blancs. En F₁, ils obtiennent 100 % de drosophiles aux yeux rouges dont 50 % de mâles et 50 % de femelles.



a. Quelles conclusions peut-on tirer du 1er croisement ?

2ème Croisement: Ils inversent le sexe (croisement réciproque) c'est-à-dire croisent une femelle aux yeux blancs et un mâle aux yeux rouges. A la F₁, toutes les drosophiles femelles ont des yeux rouges et toutes les drosophiles mâles ont des yeux blancs.



b. Déduisez, d'après le résultat du croisement réciproque, le facteur responsable de la variation des résultats.
c. Réalisez l'interprétation génétique de ces croisements.

Document 13: Monohybridisme - Gène lié au sexe

B. Transmission de deux couples d'allèles et son interprétation chromosomique

1- Deux gènes indépendants :

Morgan et al. croisent deux mouches de lignées pures : une drosophile à ailes longues et corps gris (souche sauvage) et une drosophile à ailes vestigiales et corps ébène

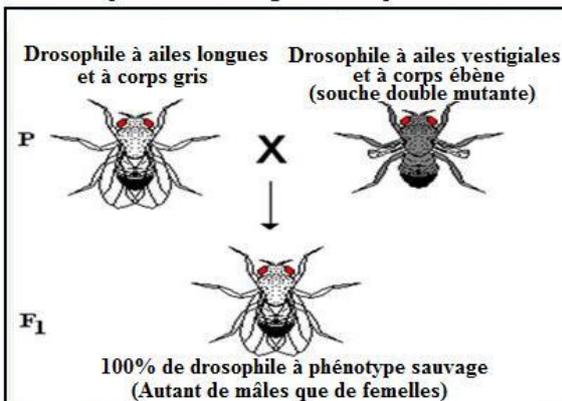


Figure 1: Premier croisement

Un deuxième croisement est fait entre une drosophile hybride F₁ avec une drosophile à ailes vestigiales et corps ébène.

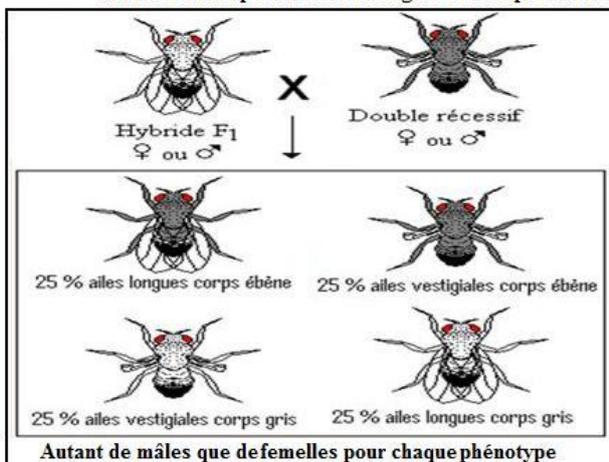


Figure 2: Deuxième croisement

a. Quelles conclusions peut-on tirer du 1er et du 2ème croisement ?
b. Déduisez les génotypes des parents du 1er croisement et des hybrides de F₁.

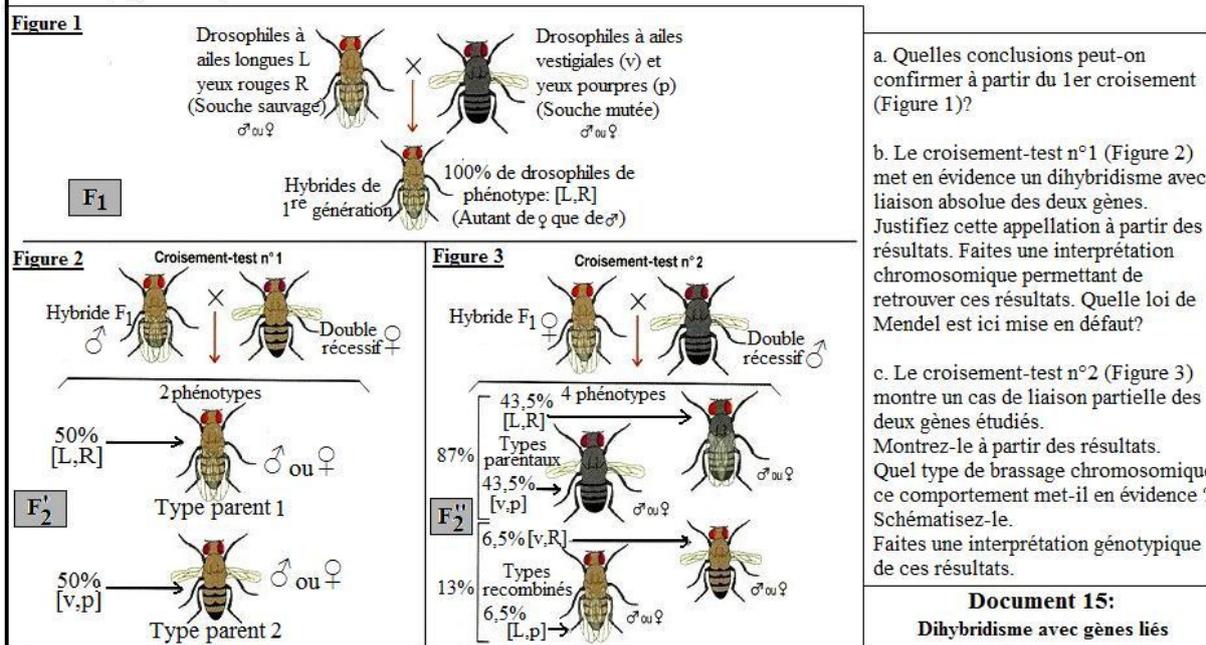
c. Interprétez génétiquement le 2ème croisement.
d. Donnez le résultat théorique du croisement des hybrides F₁ × F₁.

Document 14: Dihybridisme avec gènes indépendants

- Quelles conclusions peut-on tirer du 1^{er} et du 2^{ème} croisement ?
- Déduisez les génotypes des parents du 1^{er} croisement et des hybrides de F₁.
- Interprétez génétiquement le 2^{ème} croisement.
- Donnez le résultat théorique du croisement des hybrides F₁ × F₁.

2- Dihybridisme avec gènes liés :

On croise deux lignées pures de drosophiles : une souche sauvage à ailes longues et yeux rouges et une souche double mutante à ailes vestigiales et yeux pourpres (Figure 1). Puis on réalise deux test-cross (Figures 2 et 3).



- a. Quelles conclusions peut-on tirer du 1^{er} croisement (Figure 1)?
- b. Le croisement-test n°1 (Figure 2) met en évidence un dihybridisme avec liaison absolue des deux gènes. Justifiez cette appellation à partir des résultats. Faites une interprétation chromosomique et génotypique permettant de retrouver ces résultats. Quelle loi de Mendel est ici mise en défaut?
- c. Le croisement-test n°2 (Figure 3) montre un cas de liaison partielle des deux gènes étudiés. Montrez-le à partir des résultats. Quel type de brassage chromosomique ce comportement met-il en évidence ? Schématisez-le.

Faites une interprétation génotypique de ces résultats.

- L'établissement de la carte factorielle.

On dispose de deux parents de tomates de lignées pures :

L'un à feuilles vertes, donnant des fruits de taille normale à peau lisse [V,N,L] ;
 L'autre à feuilles vertes tachetées de jaune, donnant des fruits de taille naine à peau veloutée [v,n,l].

Le croisement entre parents de lignées pures donne en F₁ : 100% [V,N,L].

Le test-cross (F₁ × [v,n,l]) donne les résultats du tableau suivant :

Phénotypes des descendants du test-cross		Effectifs observés
Types parentaux	1 [V,N,L]	417
	2 [v,n,l]	425
Types	3 [V,N,l]	16

recombinés	4	[V,n,L]	3
	5	[V,n,l]	55
	6	[v,N,L]	59
	7	[v,N,l]	5
	8	[v,n,L]	20

- Réalisez la carte factorielle qui représente les trois gènes étudiés sur le chromosome qui les porte.

<p>On dispose de deux parents de tomates de lignées pures :</p> <p>>L'un à feuilles vertes, donnant des fruits de taille normale à peau lisse [V,N,L] ;</p> <p>>L'autre à feuilles vertes tachetées de jaune, donnant des fruits de taille naine à peau veloutée [v,n,l].</p> <p>■ Le croisement entre parents de lignées pures donne en F₁ : 100% [V,N,L].</p> <p>■ Le test-cross (F₁ × [v,n,l]) donne les résultats du tableau ci-contre :</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <input checked="" type="checkbox"/> Réalisez la carte factorielle qui représente les trois gènes étudiés sur le chromosome qui les porte. </div>	Phénotypes des descendants du test-cross		Effectifs observés	
	Types parentaux	1		[V,N,L]
		2	[v,n,l]	425
	Types recombinés	3	[V,N,l]	16
		4	[V,n,L]	3
		5	[V,n,l]	55
		6	[v,N,L]	59
		7	[v,N,l]	5
		8	[v,n,L]	20

Document 16