

STIMULAREA PROCESULUI DE FORMARE A PERETELUI DESPĂRȚITOR LA SECALE CEREALE, SUB INFLUENȚA CALCIULUI, MAGNEZIULUI ȘI A COBALTULUI

Acatrinei Gh.

În literatura științifică de specialitate există numeroase date care explică diferite aspecte ale procesului de formare a membranei despărțitoare (1-3).

Dintr-o serie de cercetări reiese că citochineza este blocată de acțiunea unor substanțe chimice și prin aceasta se facilitează formarea celulelor binucleate. Dintre acestea fac parte cafeina, acetonaftenu, γ -hexaclorociclohexanul, sărurile acizilor naftenici, kinetina, gibberelina, unele substanțe cu nucleu purinic (1-3).

Astăzi există câteva ipoteze care încearcă să explice mecanismul de inhibiție a procesului de citochineză și anume : 1. Se crede că sub influența cafeinei veziculele golgiene nu se pot aduna în placa ecuatorială și ca atare nu are loc formarea membranei despărțitoare (2, 3). 2. Altă ipoteză arată că, dimpotrvă, sub influența cafeinei și a deficitului de calciu veziculele golgiene se adună în placa ecuatorială, dar nu pot fuziona (7). În afirmațiile lor Paul și Goll se bazează și pe indicațiile de literatură științifică din care reiese că ATP, Ca, Mg și Ca activează ATP-aza, care este necesară fuzionării membranelor veziculelor golgiene (6, 8). În acest sens se aduc argumente arătându-se că cafeina cauzează tulburări de permeabilitate a membranelor prin reactivitatea ei cu Ca și din această cauză se creează modificări în curenții citoplasmatici (4). 3. Paul și Goff (1973) sugerează și un alt mecanism de acțiune al cafeinei în blocarea procesului de citochineză și anume prin inhibiția fosfatdiesterazei din ciclul AMP.

În lucrarea de față s-a folosit cafeina ca inhibitor al citochinezei, apoi s-a cercetat în ce măsură intervine calciul, magneziul și cobaltul în formarea peretelui despărțitor. Este caracteristică inhibiția de către cafeină și teofilină a activității fosfatdiesterazei.

Material și metoda de lucru. Ca material de experiență s-au folosit rădăcinile de *Secale cereale* soiul de primăvară Moara Domnească (24-14). După 48 ore de la germinare în mediul apos, rădăcinile formate se tratau după metoda descrisă mai jos. Pentru a se demonstra rolul auxinei și al calciului în procesul de citochineză s-au efectuat 8 variante de experiență.

1. În prima variantă materialul germinat s-a ținut în mediul apos la temperatura camerei, constituind lotul de control.

2. În a doua variantă boabele germinate au fost tratate 8 ore cu cafeină în conc. de 0,1%, apoi a urmat un tratament de 16 ore cu apă de robinet. La cea de a 3-a variantă materialul a fost tratat 8 ore cu cafeină 0,1% plus $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,050%, apoi a urmat timp de 16 ore, un tratament singular de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,050%. Materialul celei de a 4-a experiențe a fost tratat 8 ore cu cafeină 0,1% și $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,1% după care a urmat un tratament de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,1% timp de 16 ore. În varianta a 5-a materialul vegetal a fost tratat cu cafeină 0,1% și $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,025% timp de 8 ore, apoi a urmat un tratament numai de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,025% timp de 16 ore. Pentru a 6-a variantă semințele germinate au fost tratate cu cafeină 0,1% și $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,050% timp de 8 ore, după care a urmat o prelucrare numai cu $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,050% timp de 16 ore.

La a 7-a variantă materialul a fost supus acțiunii cafeinei în concentrație de 0,1% și $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 0,025% timp de 8 ore, în următoarele 16 ore au fost tratate numai cu $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 0,025%. În a 8-a variantă plantulele de seară au fost tratate cu cafeină 0,1% și $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 0,05% timp de 8 ore după care a urmat un tratament numai cu soluție de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 0,05%.

După tratament materialul s-a fixat în Carnoy pe variante, apoi s-a păstrat în formol 10%. Virfurile radiculare ale acestui material s-a hidrolizat în HCl 50%, apoi s-a colorat cu reactivul Schiff, urmat de o dublă colorată cu verde de lumină.

Rezultate. Pe preparatele microscopice s-au cercetat separat pentru fiecare variantă acțiunea cafeinei asupra procesului de citochineză în compartie cu acțiunea $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ și $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$. Pentru fiecare variantă s-au cercetat 1100-2200 celule, unde s-au remarcat celulele binucleate. Prin calculele statistice s-a stabilit procentul de celule binucleate comparativ cu martorului (vezi tabelul).

Din tabel reiese că pentru varianta a 2-a cafeina produce 75,6 ori mai multe celule binucleate comparativ cu martorul. Această variantă constituie martorul II.

La varianta a 3-a se produc de 42 ori mai multe celule binucleate comparativ cu martorul I și de aproximativ 2 ori mai puține față de varianta a 2-a.

La varianta a 4-a se formează de 17 ori mai multe celule binucleate față de martor și de aproximativ 4,5 ori mai puține față de varianta a 2-a. Prin urmare Ca^{+2} stimulează formarea membranei în raport cu inhibitorul citochinezei.

Semnalăm faptul că o acțiune stimulatorie asupra formării peretelui despărțitor o au ionii de Mg^{+2} , așa de ex. la varianta a 5-a se formează de 11 ori mai multe celule binucleate comparativ cu martorul și aproximativ de 7 ori mai puține față de varianta a 2-a. În schimb, la varianta a 6-a se constată formarea celulelor binucleate de 19 ori față de martor și de 4 ori mai puține în raport cu varianta a II-a. Pentru variantele 7 și 8 se formează de 14 ori mai multe celule binucleate comparativ cu martorul și de aproximativ 5 ori mai puține față de varianta a 2-a.

Din variantele 3 și 4 reiese că $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ anulează efectul cafeinei asupra citochinezei de 2-4 ori comparativ cu varianta nr. 2. Prin urmare $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ stimulează procesul de formare a membranei despărțitoare.

Din variantele 5 și 6 reiese că azotatul de magneziu frânează considerabil acțiunea cafeinei asupra procesului de citochineză, formându-se celule binucleate de 4-7 ori mai puține față de varianta 2-a.

Analiza variantelor 7 și 8 arată că azotatul de cobalt stimulează formarea peretelui despărțitor de 5 ori mai mult față de varianta a II-a.

Discuția rezultatelor. Ținând cont de cele 3 ipoteze arătate mai sus, chimiocinetica celulară a cafeinei pare să fie destul de complicată. Din analiza modului de acțiune a cafeinei (considerată ca un inhibitor al citochinezei) comparativ cu acțiunea calciului, cobaltului și magneziului reiese că și magneziul, calciul și cobaltul stimulează procesul de formare a peretelui despărțitor. Pe primul loc în acest proces stimulator se situează magneziul, pe locul doi cobaltul și pe locul trei calciul.

Sutherland și colaboratorii (5), artă că stimularea reacțiilor enzimatice la nivelul membranei plasmactice depinde de prezența Mg^{2+} . Se știe că *alculoidul cafeina și teofilina sînt inhibitori specifici ai activității fosfatdiesterazei, iar activitatea fosfatdiesterazei este dependentă de Mg^{2+} . De asemenea se știe că activitatea fosfatdiesterazei este modificată de ionii de Ca^{2+} . Literatura de specialitate mai arată că APT, Co^{2+} , Mg^{2+} și Ca^{2+} activează ATP-aza care este necesară fuzionării membranelor (6, 8).*

Așadar, cafeina blochează activitatea fosfatdiesterazei, iar din experiențele noastre se pare că ionii de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} stimulează activitatea acesteia enzime.

Mecanismele moleculare prin care se produc aceste procese de stimulare a formării membranei despărțitoare de către Mg^{2+} , Co^{2+} și Ca^{2+} pot fi prin : stimularea ATP-azei care facilitează fuzionarea membranei veziculelor golgiene, fie prin stimularea activității fosfatdiesterazei (care catalizează reacțiile hidrolitice ale AMP ciclic, transformîndu-l în adenozin 5'-fosfat.

Concluzii

2. Sub influența cafeinei se stimulează blocarea procesului de citochineză, inhibînd formarea membranei despărțitoare. Pe lângă inhibiția activității fosfatdiesterazei de către cafeină se observă și inhibiția unui proces citologic și anume : citochineza.

2. Sub influența ionilor de Mg^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} se stimulează formarea membranei despărțitoare înlăturînd în cea mai mare parte efectul inhibitor al cafeinei.

3. Este posibil ca acești ioni de Mg^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} să stimuleze ATP-aza care facilitează fuzionarea veziculelor golgiene sau să stimuleze activitatea fosfatdiesterazei, activitate inhibată prin acțiunea cafeinei (înlăturînd prin aceasta efectul inhibitor al cafeinei).

4. Calciul înlătură efectul cafeinei (sau stimulează formarea membranei despărțitoare) de aproximativ 4,5 ori, Magneziul de aproximativ 7 ori (conc. 25 mg), iar cobaltul de 5 ori.

STIMULAREA PROCESULUI DE NEOFORMARE A PERETELUI DESPĂRTITOR
LA SECALE CEREALE L. SUB INFLUENȚA CALCIULUI,
MAGNEZIULUI ȘI A COBALTULUI

Nr. crt.	Substanța	Conc. %	Timpul	Substanța	Conc. %	Timpul	Nr. de celule analizate	Nr. de celule mono-nucleate	Nr. de celule binucleate	% de celule binucleate	% de stimul. sau de inhib. a procesului de citochineză comparați cu mător
1.	Mător I (apă)	—	24	—	—	—	1376	1367	8	0,586	100
2.	Cafeină	0,1	8	Apă	—	16	2177	1212	965	44,32	7563,1
3.	Cafeină Ca(NO ₃) ₂	0,1 0,05	8	Ca(NO ₃) ₂ Ca	0,05	16	1483	1125	358	24,14	4199,4
4.	Cafeină Ca(NO ₃) ₂	0,1 0,1	8	Ca(NO ₃) ₂	0,1	16	1289	1161	128	9,93	1694,5
5.	Cafeină Mg(NO ₃) ₂	0,1 0,025	8	Mg(NO ₃) ₂	0,025	16	1809	1688	121	6,74	1150,1
6.	Cafeină Mg(NO ₃) ₂	0,1 0,05	8	Mg(NO ₃) ₂	0,05	16	1505	1327	178	11,16	1904,4
7.	Cafeină Co(NO ₃) ₂	0,1 0,025	8	Co(NO ₃) ₂	0,025	16	1120	1026	94	8,48	1443,6
8.	Cafeină Co(NO ₃) ₂	0,1 0,05	8	Co(NO ₃) ₂	0,05	16	1269	1160	109	8,58	1464,0

DIE STIMULIERUNG DER TRENNWANDBILDUNG BEI *SECALE CERALE* UNTER DEM EINFLUSS VON CALZIUM, MAGNSIUM UND COBALT.

Zusammenfassung

Unter dem Einfluss der Mg^{2+} , Co^{2+} , und Calcium Ionen wird die Bildung der Trennwand, unter Aufhebung der Cafeinwirkung, gefördert. Magnesium hebt den Cafeineffekt (oder stimuliert die Trennwandbildung ungefähr 7 mal, Cobalt 5 mal, und Calcium 4,5 mal. Es ist möglich das diese Ionen (Mg^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+}) die ATP-ase Stimulieren was zu einer erhöhten Verschmelzung der Golgivesikeln führt, oder die, Aktivität der Phosphatdiesterase wird (dadurch den Hemmungseffekt des Cafeins aufhebend).

Bibliografie

1. ACATRINEI GH., — An. şt. Univ. „Al. I. Cuza“ Iaşi, a, Biologie 19, 1, 93-99, 1973.
2. GIMENEZ-MARTIN G., RISUENO M.C., LOPEZ-SAEZ J.F., Fyton 22, 2, 173-175, 1965.
3. GONZALES-FERNANDEZ A., LOPEZ-SAEZ J. F., GIMENEZ-MARTIN, Fyton 21, 2, 157-165, 1964.
4. HANATO S., Exptl. Cell res. 61, 199, 1970.
5. LEHNINGER A. I. — Biochemistry. The molecular basis of cell structure and function. New York, 1975.
6. PASTE G., ALLISON A. C., J. Theor. biol. 32, 165, 1971.
7. PAUL D.C.D., GOFF C. W., Cell res. 78, 2, 399-413, 1973.
8. STORMORKIN H., SCAND. J. hematol. suppl. 9, 3, 1969.