

## INFLUENȚA SUBSTANȚELOR FIZIOLOGIC ACTIVE EXTRASE DIN PLANTELE DE *CUSCUTA EUROPAEA* L. ASUPRA DIVIZIUNII CELULELOR RADICULARE DE *SECALE CEREALE* L.

### GII. ACATRINEI

Physiological active substances of proteinic nature, extracted from *Cuscuta europaea* L. (according to the method Winterfeld and coll.) in small concentrations stimulate the cellular division with 63% ; on the contrary, the big concentrations inhibit it much with 47 to 79% as, compared to the control material. These substances also intensify strongly, in all concentrations the formation of the binuclear and poliploide cells, 29 to 39 times, as compared to the control materia'.

Plantele sînt o resursă de substanțe biologice active cu multiple utilizări în : terapia genetică, senescentă (animală și vegetală), cosmetică, cercetare etc. Dintre acestea cităm : colchicina, acidul abscisic, atropina, citochininele etc. Din ele, unele se folosesc în oncoterapia rănilor greu vindecabile ca : vincalcoblastina, vincamina, plenzolul (extractul de visc) etc. Din flora spontană, poporul român folosește multe plante în vindecarea diferitelor tipuri de boli, influențînd asupra structurii și funcțiilor celulare. În acest sens, s-au făcut unele cercetări și la plante. În anul 1937, Havas a descoperit că dializatul din visc produce o frînare a creșterii plantulelor de griu și încetinirea creșterii cancerului vegetal produs de *Bacterium tumefaciens* [8]. Colchicina extrasă din *Colchicum autumnale* produce poliploidia și aneuploidia la plante.

În citeva lucrări anterioare am constatat că substanțele fiziologic active (de natură proteinică), extrase din *Calendula officinalis*, *Symphylum officinale*, *Viscum album*, *Chelidonium majus*, *Mycelis muralis*, *Taraxacum officinale*, *Artemisia abstinthium* în concentrații mici, uneori stimulează diviziunea celulară, iar în concentrații mari o frînează, concomitent apărînd aberații cromozomiale, fusoriale și citochinetice [1-5].

În procesul de germinare a semințelor și de creștere a plantelor parazite de *Cuscuta europaea* L. (torțel), ele secretă în contact cu planta gazdă enzime ce hidrolizează țesuturile gazdei, formînd haustori. Prin intermediul lor se produce un schimb de substanțe între planta gazdă și parazit [6, 7]. *Cuscuta epithimum* (L.) Murr. și alte specii de torțel conțin tanoizi, gumirezine, un glicozid amar — cuscutina, derivați flavonici etc. Speciile de cuscută care parazitează plante medicinale, „imprumută“ de la acestea principii active specifice. De pildă torțelul crescut pe specii de *Digitalis* conține glicozide cardenolidice, speciile de cuscută recoltate de pe plante medicinale au proprietăți laxative și colagoge în insuficiența hepatică, carminative și slab

diuretice [6]. Pe baza datelor din literatura științifică, cit și acelor din experiențele proprii [1-5], ne-am propus să extragem unele substanțe fiziologic active din tulpinile, fructele și semințele de *Cuscuta europaea* L. și să cercetăm modul de acțiune a lor asupra vitezei procesului de diviziune celulară și a modificărilor genomice celulare.

### Materialul și metoda de lucru

Din tulpinile, fructele și semințele de *Cuscuta europaea* uscate și mojarate s-au obținut două tipuri de extracte : a) extracte apoase și b) substanțe fiziologic active. Acestea au servit ca substanțe pentru prima și a doua serie de experiențe. Substanțele pentru prima serie experimentală s-au obținut din *Cuscuta europaea* care s-a mojarat foarte bine în puțină apă distilată în proporție de 1 : 3. Acesta s-a filtrat, apoi filtratul s-a centrifugat și din supernatantul foarte concentrat (considerat 100%) s-au obținut diluțiile de 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30% și 40%. Pentru a doua serie de experiențe s-a obținut din torțel o substanță fiziologic activă de natură proteică, după metoda Winterfeld și col. 1963 [9]. În experiențe s-au folosit cariopsele de *Secale cereale* L. puse la germinat în cutii Petri cu soluție Knop și microelemente după Arnon, la temperatura camerei 20-22°C. La 48 de ore după ce cariopsele au germinat, s-a împărțit și acest material pentru două serii de experiențe.

La prima serie de experiențe, o parte din materialul germinat a fost tratat în continuare cu soluția Knop, alcătuind proba martor. Restul materialului biologic a fost pus în cutii Petri și s-a tratat separat pe concentrații de substanțe : (arătate mai sus) timp de 24 ore. Aici s-a cercetat influența diferitelor concentrații de substanță asupra vitezei procesului mitotic (Tab. 1).

TABELUL 1

Influența extractelor apoase de *Cuscuta europaea* L. asupra diviziunii celulelor radiculare de *Secale cereale* L.

Nr. crt.	Concentrația de substanță	Numărul de celule analizate			% de celule	
		Total	Interfază	În diviziune	În diviziune	În diviziune comparativ cu martorul
1	Martor	1 706	1 605	101	5,92	100%
2	1%	1 271	1 160	111	8,73	147,47
3	2%	1 341	1 232	109	8,12	137,16
4	5%	1 097	1 010	87	7,93	133,95
5	10%	1 083	1 021	62	5,72	96,62
6	20%	1 094	1 052	42	3,84	64,86
7	30%	1 095	1 066	29	2,65	44,76
8	40%	1 121	1 106	15	1,34	22,63

Pentru a doua serie de experiențe s-a investigat acțiunea substanțelor fiziologic active (obținute după metoda Winterfeld [9], tot din *Cuscuta europaea*) în concentrațiile de 0,005%, 0,01%, 0,025%, 0,050%, 0,100%, timp de 24 ore. La această serie de experiențe s-a cercetat acțiunea diferitelor concentrații de substanță asupra procesului de diviziune celulară și a formării celulelor binucleate și poliploide (tab. II și III). După tratament, plantulele din cele două serii de experiențe s-au fixat separat în formol neutru 4%, pe

tipuri de extract de plantă și de concentrații. Din plantulele fixate, provenite din ambele serii de experiențe, s-au detașat virfurile rădăcinilor, lungi de 10–15 mm, și s-au hidrolizat în HCl 50%, timp de 30–60', s-au colorat după metoda Feulgen. Din virfurile radiculare colorate s-au pregătit preparatele microscopice. Preparatele au fost investigate microscopic, remarcându-se celulele interfazice, în diviziune, celulele mononucleate, binucleate, diploide și poliploide.

### Rezultate

1. Pe preparatele microscopice de la prima serie de experiențe s-a cercetat, pentru fiecare concentrație, acțiunea extractului, obținut în mediul apos, din *Cuscuta europaea* asupra procesului de diviziune celulară. La fiecare variantă s-au analizat 1 000–1 300 celule aflate în interfază sau în diviziune, apoi s-a calculat procentul de diviziune celulară comparativ cu martorul. Rezultatele obținute sînt redată în tabelul 1.

Din tabel reiese că extractele apoase din tortel stimulează procesul de diviziune celulară la conc. de 1%, 2% și 5%, cu 30–47% față de martor. Concentrațiile mai mari frînează mitoză cu 4–77% comparativ cu proba control. Frecvent s-au mai observat, formarea celulelor binucleate, dispunerea fusului pe diagonala celulei (tropochineze), dezorganizări parțiale fusoriale prin migrarea inegală a cromozomilor la cei doi poli etc.

2. În a doua serie de experiențe s-a cercetat, pe preparatele microscopice, influența substanțelor fiziologic active extrase din *Cuscuta europaea* asupra procesului de diviziune celulară. Rezultatele sînt redată în tabelul 2.

TABELUL 2

Influența substanțelor fiziologic active extrase din *Cuscuta europaea* asupra mitozei din celulele radiculare de *Secale cereale*

Nr. crt.	Concentrația de substanță	Numărul de celule analizate			% de celule	
		Total	Interfază	În diviziune	În diviziune	În diviziune comparativ cu martorul
1	Martor	1 706	1 605	101	5,92	100,00
2	0,005%	1 958	1 794	164	8,37	141,38
3	0,01%	3 066	2 982	84	2,73	48,11
4	0,025%	2 448	2 391	57	2,32	39,19
5	0,050%	1 712	1 676	36	2,10	35,47
6	0,100%	2 011	1 988	23	1,14	19,26

După cum reiese din tabelul 2, substanțele active la concentrație de 0,05% stimulează mitoză cu 41% față de martor, la restul concentrațiilor diviziunea celulară se frînează cu 54–81% comparativ cu martorul. Așadar, extractele din tortel conțin substanțe biologice active cu acțiune mare asupra vitezei procesului mitotic. Sub influența acestui tip de substanțe active (de natură proteinică) s-au cercetat pe preparatele microscopice, pentru fiecare concentrație, celule în număr de 1 700–3 000, din care s-au remarcat cele mononucleate, binucleate și poliploide. Rezultatele investigațiilor sînt redată în tabelul 3.

TABELAUL 3

Formarea celulelor binucleate și poliploide sub influența substanțelor fiziologic active extrase din *Cuscuta europaea*

Nr. crt.	Concentrația substanței	Nr. total de celule <sup>1</sup>	Celule binucleate			Celule poliploide		
			Nr.	%	% față de martor	Nr.	%	% față de martor
1	Martor	1 706	2	0,12	100	5	0,29	100
2	0,005 %	1 958	7	0,36	300	23	1,17	403
3	0,01 %	3 066	13	1,40	1 166	33	1,07	369
4	0,025 %	2 448	34	1,39	1 158	28	1,14	393
5	0,05 %	1 712	62	3,62	3 016	27	1,57	541
6	0,10 %	2 012	5	0,25	208	12	2,08 %	717

Din tabel se constată că sub influența substanțelor fiziologic active se formează foarte multe celule binucleate, la toate concentrațiile, de 3–30 ori mai mult ca la martor. Dar cele mai active concentrații sînt 0,01 %, 0,025 și 0,05 % care accelerează apariția celulelor binucleate de 11–30 ori mai mult ca la martor. La toate concentrațiile se observă și formarea multor celule poliploide, de 4–7,1 ori mai multe ca la martor. Efectul cel mai mare se observă la concentrația de 0,1 % care stimulează poliploidizarea celulelor. Probabil substanța fiziologic activă din torțel inhibă puternic citochineza, generînd celule binucleate sau dezorganizează structurile fusului, ducînd la formarea celulelor poliploide. Pe lîngă aceste modificări se mai observă tropochineze, aberații cromozomiale și fusoriale.

### Concluzii

1. Sub influența extractelor apoase din *Cuscuta europaea* se remarcă o stimulare a procesului mitotic—la concentrații mici cu 47 %—și o frînare la concentrații mari, pînă la 78 %.
2. Substanțele fiziologic active de natură proteică (extrase după metoda Winterfeld și col.) stimulează diviziunea la concentrații mici cu 63 % și o frînează mult la concentrații mari, cu 47–79 % față de martor.
3. De asemenea, substanțele fiziologic active din torțel intensifică puternic, la toate concentrațiile, formarea celulelor binucleate și poliploide.
4. Sub influența ambelor tipuri de extracte obținute de la *Cuscuta europaea* se mai remarcă o mare varietate genomică, ca formă și grad de poliploidie.

### BIBLIOGRAFIE

1. ACATRINEI GH., 1963 — An. șt. Univ. Iași, S. II a (biol.), t. IX, 21–29
2. ACATRINEI GH., 1967 — *Mehintzm delenta kletki pod vlianiem fiziologhicescic activnih veșcelv extracta omeli (Viscum album L.)*, Kiev.
3. ACATRINEI GH., 1973 — An. șt. Univ. Iași, S. II a (biol.), t. XIV, 93–99
4. ACATRINEI GH., 1986 — An. șt. Univ. Iași, S. II a (biol.), t. XXXII
5. ACATRINEI GH., 1987 — An. șt. Univ. Iași, S. II a (biol.), t. XXXIII 45–47
6. CRĂCIUN E., BUJOR O., ALEXAN M., 1976 — *Farmacія naturii*, Ed. Ceres, București
7. FOSTERIS ST., BONTEA VERA, BECIRESCU D., 1952 — *Manual de fitopatologie* Ed. de Stat pentru Lit. Șt. București
8. HAVAS L., 1937, — *Nature*, B, 371–372
9. WINTERFELD K., SELAVRY O., GRUNTHAL M., SCHWARTZ M. E., 1963 — *Arzneimittel-Forsch.*, 13, 29–33.