

CERCETAREA FENOMENELOR DE RESTRUCTURARE CROMOZOMIALĂ ȘI NUCLEARĂ SUB INFLUENȚA ACIDULUI 5,5-DIETIL BARBITURIC LA *ALLIUM CEPA* L.

GH. ACATRINEI, V. IRIMIA, LIGIA ACATRINEI

Under the influence of the 5,5-dietil barbituric acid mitoses of colchicinic type are formed (C-mitoses) of 2-16 times more as in the control material.

Frequently the chromosomes from the mitoses of colchicinic type are strongly contractile with two chromatides united at the centromer.

În literatura de specialitate există numeroase date care explică diferite aspecte ale procesului de restructurare cromozomială și nucleară cât și căile prin care au loc aceste procese. Dintr-o serie de cercetări reiese că blocarea citochinezei de acțiunea unor substanțe chimice facilitează formarea celulelor binucleate, tetranucleate etc. Cei doi, patru sau mai mulți nuclei pot fuziona formând nuclei poliploizi. Astfel blocarea citochinezei reprezintă o cale prin care celulele se poliploidizează [1, 5, 6, 7]. A doua cale de poliploidizare este prin dezorganizarea totală a fusului sub influența anumitor substanțe chimice [1, 2, 3, 4]. În lipsa fusului cromozomii se împrăștie haotic în celulă formând mitoze de tip colchicinic (C-mitoze). Apoi ei se strâng, formând un nucleu tetraploidic. De asemenea există o a treia cale prin care se modifică structura cromozomilor și a nucleului prin acțiunea substanțelor care reacționează cu materialul genetic [2]. În tendința de-a descoperi substanțe care produc restructurări cromozomiale numerice ne-am propus să folosim acidul 5,5-dietil barbituric (veronal).

Material și metodă de lucru

Ca material de cercetare s-a folosit bulbii de *Allium cepa* L. soiul Târgul Frumos puși la încolțit în soluție Knop la temperatura camerei. Din substanța acid 5,5-dietil barbituric s-au pregătit soluții în următoarele concentrații: 0,001%; 0,01% 0,1% și 0,2%. când rădăcinile crescute în soluție Knop aveau lungimea de 1-3 cm s-a înlăturat soluția Knop și se înlocuia pe variante cu soluțiile arătate mai sus în concentrații diferite. La varianta martor rădăcinile bulbilor au crescut numai în soluție Knop. Rădăcinile au fost ținute în soluții de acid 5,5-dietil barbituric 24 de ore. După tratament vârful rădăcinilor în lungime de 0,5-2 cm s-au detașat și s-a fixat în amestecul Bataglia și apoi păstrate în formol neutru 4%. Hidroliza s-a făcut în acid clorhidric 50% timp de o oră. Materialul s-a colorat după metoda Feulgen cu reactivul Schiff. Uneori se făcea o dublă colorare cu hematoxină Böhmer. Din materialul colorat se confecționau preparate microscopice temporare sau permanente după care se făcea cercetarea microscopică și fotografierea celulelor cu figurile mitotice și nucleare mai elocvente.

Rezultate și discuții

1. Pe preparatele obținute supuse acțiunii concentrațiilor diferite de acid 5,5-dietil barbituric s-a întreprins analiza microscopică asupra aberațiilor fusoriale, citochinetice și cromozomiale din care s-a calculat procentul de aberații (restructurări). Rezultatele le dăm mai jos. Din total reiese că concentrația de 0,2% pe timp de 24 ore are acțiunea cea mai mare asupra structurii fusului producând dezorganizări fusoriale de 10 ori mai mult ca la martor. Astfel se formează mitozele de tip colchicinic (C-mitose). Evident și concentrațiile de 0,01 și 0,1% interacționează puternic cu structurile fusului mitotic dezorganizându-l. Formele de modificări fusoriale observate sub influența acidului 5,5-dietil barbituric sunt: mitoze de tip colchicinic, cromozomi metapolari și tropochineze (vezi fig. 1-6). Cromozomii mitofazelor de tip colchicinic sunt distribuți haotic în celule, iar după un timp se adună

TABELUL I - Influența acidului 5,5-dietil barbituric asupra structurii fusului la *Allium cepa* L. pe timp de 24 ore

| Nr. crt. | Varianta | Concentrație % | Nr. de anafaze și telofaze | | % de aberații fusoriale în anafază și telofază | |
|----------|----------------------------|----------------|----------------------------|-------------|--|----------------|
| | | | Total | cu aberații | pe variante | față de martor |
| 1 | Martor | — | 1120 | 3 | 0,27 | 100 |
| 2 | Acid 5,5-dietil barbituric | 0,001 | 1092 | 9 | 0,83 | 307 |
| 3 | Acid 5,5-dietil barbituric | 0,01 | 2505 | 63 | 2,51 | 929 |
| 4 | Acid 5,5-dietil barbituric | 0,1 | 3132 | 86 | 2,74 | 1014 |
| 5 | Acid 5,5-dietil barbituric | 0,2 | 1296 | 57 | 4,40 | 1629 |

TABELUL II - Influența acidului 5,5-dietil barbituric asupra procesului de blocare a citochinezei prin care se formează celule binucleate

| Nr. crt. | Varianta | Concentrația % | Numărul de celule | | | Procentul de celule | |
|----------|----------------------------|----------------|-------------------|--------------|------------|------------------------|-----------------------------------|
| | | | Total | Mononucleate | Binucleate | Binucleate pe variante | Binucleate comparativ cu martorul |
| 1 | Martor | — | 3349 | 3341 | 8 | 0,24 | 100 |
| 2 | Acid 5,5-dietil barbituric | 0,001 | 1756 | 1749 | 7 | 0,40 | 167 |
| 3 | Acid 5,5-dietil barbituric | 0,01 | 2041 | 2031 | 10 | 0,49 | 204 |
| 4 | Acid 5,5-dietil barbituric | 0,1 | 1330 | 1322 | 8 | 0,60 | 250 |
| 5 | Acid 5,5-dietil barbituric | 0,2 | 2534 | 2520 | 14 | 0,55 | 229 |

formând un nucleu mare tetraploid (fig. 7). Dacă acțiunea substanței continuă și în al doilea ciclu se vor forma nucleii octoploizi, etc.

O acțiune deosebită o are această substanță prin faptul că influențează mult asupra fenomenului de spiralizare a cromozomilor contractându-i puternic, comparativ cu acțiunea altor substanțe. Negreșit procesul de concentrație este variabil. Concomitent cele două cromatide rămân legate la centromer (vezi fig. 1, 2, 4).

2. Pe aceleași preparate microscopice s-a cercetat acțiunea substanței asupra procesului de citochineză. În acest sens s-a analizat numărul de celule monocleate și binucleate. Apoi s-a calculat procentul de inhibiție a citochinezei ca atare a formării celulelor binucleate.

Din total se observă că acidul 5,5-dietil barbituric are o acțiune moderată asupra citochinezei dacă se compară cu acțiunea cofeinei sau teobrominei [4]. La cele patru concentrații procesul de formare a celulelor binucleate este de 1,6-2,5 ori mai mult ca la control (fig. 8).

3. Acțiunea acidului 5,5-dietil barbituric asupra structurii cromozomilor a fost cercetată pe aceleași preparate în legătură cu formarea punților și fragmentelor cromozomiale din anafază și telofază. Această substanță produce aberații cromozomiale până la 2,7 ori mai multe ca la martor la concentrația de 0,2% pe timp de 24 de ore.

Concluzii

1. Sub influența acidului 5,5-dietil barbituric se formează mitoze de tip colchicinic de 3-16 ori mai multe ca la martor.

2. Frecvent cromozomii din celule cu mitoze de tip colchicinic sunt contractați puternic având cele două cromatide legate la centromer.

3. Este posibil ca și prin fenomenul de contracție cromozomială să se frâneze procesul de prindere la centromer a fibrelor fusului mitotic.

4. Citochineza și structura cromozomilor este moderat afectată de această substanță.

BIBLIOGRAFIE

1. Acatrinei Gh., 1966 – Ghenetica Acad. Nauk, t. 4, 97-104.
2. Acatrinei Gh., 1967 – Fiziologia rasteinii Acad. Nauk, t. 14, 3, 271-275.
3. Acatrinei Gh., 1966 – Révue de Cytologie et de Biologie végétales, t. 29, 357-362.
4. Acatrinei Gh., 1973 – An. st. Univ. Iași, s. II, t. 29, 93-99.
5. Deysson G., 1969 – C. R. Soc. Biol., t. 163, 1, 37-41.
6. Encia C.L., Becerra A.J. 1981 – Environ and Exp. Bot., t. 26, 1, 75-80.
7. Giménez-Martin G., Gonzáles-Fernández A., Lopez-Sáez J.F., 1966 – Fyton, t. 2, 1, 1-6.

PLANȘA I

Explicația figurilor

Fig. 1-6 – Formarea figurilor de tip colchicinic (C-mitote) cu un proces variabil de contractare a cromozomilor

Fig. 5 – Celulă poliploidă sub formă de C-mitote

Fig. 7 – Celulă cu nucleu mare poliploid

Fig. 8 – Celule mononucleate și binucleate

