ACTA AGROBOTANICA
Vol. XXXI (1/2): 33-40, 1978

Przebieg mitozy w korzeniach siewek pszenicy pod wpływem rubidu

KAZIMIERZ OLECH, EWA RUTKOWSKA

Instytut Przyrodniczych Podstaw Produkcji Roślinnej
Akademii Rolniczej w Lublinie

(Przyjęto: 24 IV 1977)

K. Olech and Ewa Rutkowska *(Institute of Natural Principles of Plant Production, Agricultural Academy, Lublin, Poland)* Acta Agrobotanica 31 (1/2): 33-40 1978.

Course of mitosis in root seedlings of Triticum aestivum L. under the influence of rubidium

The depresion of mitosis as a result of rubidium action illustrated by the lower frequency of mitosis was found in an investigation made on roots of wheat seedlings grown on a nutrient medium which the total amount of potassium or a half of it was replaced by rubidium.
The lower mitotic activity was caused by limited number of nuclei beginning prophase and by a prolonged duration of metaphase.

WSTĘP

W poprzedniej naszej pracy (Olech, Rutkowska 1975) stwierdzono między innymi, że pod wpływem Rb podanego do pożywki następowały zmiany w budowie anatomicznej korzeni. Ponadto korzenie siewek pszenicy wyrosłe na pożywce zawierającej Rb były krótsze i zgrubiałe, szczególnie w części szczytowej. Stwierdzone zmiany wskazywały, między innymi, na antymitotyczne działanie rubidu.

Zakłócenia w przebiegu mitozy pod wpływem wielu substancji chemicznych stwierdzono wielokrotnie (Chury, Slouka 1949; D'Amato 1960; Furmanowa, Olędzka 1970; Furmanowa, Rapczewska 1971; Levan, Tjio 1951; Tarkowska 1971; Wajda 1963). Substancje te, zwane „truciznami mitotycznymi", działając na różne stadia podziału komórek wywołują podobne efekty morfologiczne przejawiające się głównie w zahamowaniu wzrostu na długość, a często także w powstawaniu tumorów i nabrzmień.

Celem pracy było prześledzenie wpływu Rb podawanego roślinom pszenicy do pożywki na przebieg mitozy komórek korzeni.

MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano na korzeniach siewek pszenicy jarej (*Triticum aestivum* L.) w wieku do 14 dni licząc od wysiewu, rosnących na wodnej pożywce, w której potas w całości lub w połowie zastąpiono ekwimolarnymi ilościami Rb. Rośliny kontrolne rosły na pożywce z potasem. Skład wyjściowej pożywki w przeliczeniu na 1 litr H_2O był następujący: $Ca(NO_3)_2$ — 0,670 g, $(NH_4)_2HPO_4$ — 0,230 g, KCl — 0,250 g, $MgSO_4 \times 7H_2O$ — 0,250 g, $CaSO_4 \times 2H_2O$ — 0,334 g, $FeCl_3$ — 0,0125 g oraz odpowiedni dodatek mikroelementów (A-2), pH pożywki — 6,8.

Rośliny rosły po 5 sztuk w 0,5 l naczyniach szklanych w komorach klimatyzacyjnych przy temperaturze 25°C w dzień i 20°C w nocy, wilgotności względnej powietrza 60% i długości dnia 14 godzin.

Schemat doświadczenia:

1. Pożywka z KCl,
2. Pożywka z 1/2 KCl+1/2 RbCl,
3. Pożywka z RbCl.

Materiał do badań mikroskopowych pobierano co 2 dni w ciągu dwóch tygodni. Odcięte jednocentymetrowe szczytowe części korzeni utrwalano w mieszaninie CRAF (0,5-1-20) i po przeprowadzeniu przez szereg alkoholowo-benzenowy zatapiano w parafinie. Skrawki grubości 10 μm barwiono fioletem gencjanowym według Newtona.

W celu stwierdzenia liczby mitoz, na podłużnych skrawkach mikrotomowych liczono wszystkie komórki ze stadiami mitozy z uwzględnieniem poszczególnych faz podziałowych oraz ilości wszystkich komórek. Dla każdego korzenia obliczono około 1200 komórek.

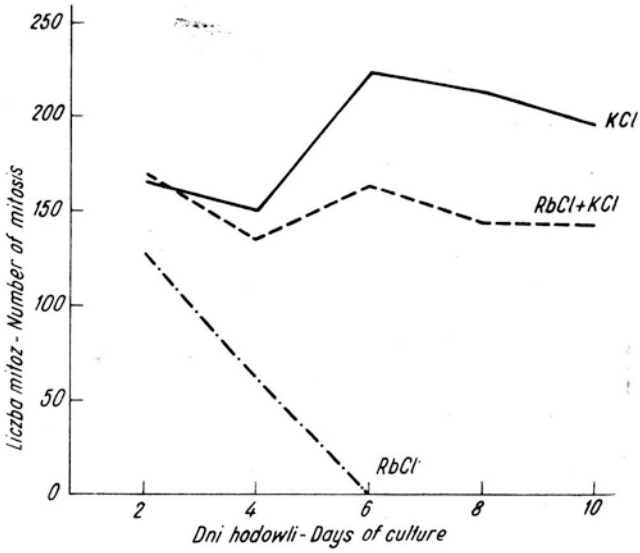
Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej stosując test t-Studenta dla danych niezależnych (O k t a b a 1967).

WYNIKI

W korzeniach roślin hodowanych na pożywce z rubidem obserwuje się wyraźny spadek liczby mitoz w porównaniu z kontrolą (rys. 1, tab. 1).

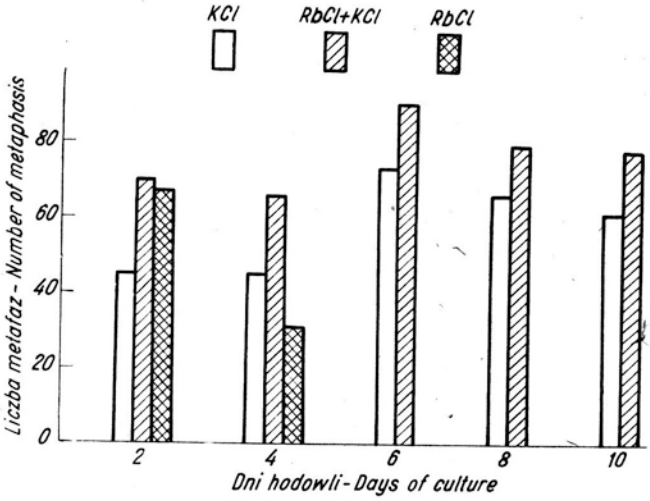
W grupie roślin traktowanych Rb+K spadek aktywności mitotycznej zaznacza się w czwartym dniu i pogłębia się w kolejnych dniach hodowli, osiągając w ósmym i dziesiątym dniu istotność statystyczną ($P<0,01$; 0,05) (tab. 1).

W wariancie z Rb ujawnia się bardziej wyraźny spadek aktywności mitotycznej. W drugim i czwartym dniu hodowli liczba mitoz w korzeniach roślin z tej grupy jest niższa odpowiednio o 23,3% i 59,3% od wartości kontrolnych, a zmiany te są statystycznie istotne ($P<0,02$; 0,001)



Rys. 1. Częstotliwość mitoz w korzeniach siewek *Triticum aestivum* L. rosnących na pożywkach z rubidem

Fig. 1. The frequency of mitosis in root seedlings of *Triticum aestivum* L. growing on the nutrient medium with rubidium



Rys. 2. Liczba jąder w profazie w korzeniach siewek *Triticum aestivum* L. rosnących na pożywkach z rubidem

Fig. 2. The number of nuclei in prophase in root seedlings of *Triticum aestivum* L. growing on the nutrient medium with rubidium

Tabela 1

Wpływ rubidu na przebieg mitozy

The influence of rubidium on the course

Dni hodowli Days of cultivation	Pożywka Medium	Mitozy — Mitosses x̄±SE	% w stosunku do kontroli % in relation to control	P<	Profazy — Prophases x̄±SE	% w stosunku do kontroli % in relation to control	P<	Metafazy — Metaphases x̄±SE	% w stosunku do kontroli % in relation to control	P<
	KCl	33,4±2,48	—	—	15,2±1,39	—	—	9,0±1,34	—	—
2	RbCl+KCl	34,0±0,89	+1,8	0,9	12,8±0,97	−15,8	0,2	14,0±0,89	+55,5	0,02
	RbCl	25,6±0,80	−23,3	0,02	7,0±0,31	−53,9	0,001	13,4±0,50	+48,9	0,02
	KCl	30,0±1,09	—	—	14,8±1,20	—	—	9,0±0,31	—	—
4	RbCl+KCl	27,0±0,89	−10,0	0,1	8,2±0,59	−44,6	0,01	13,2±0,59	+46,7	0,001
	RbCl	12,2±0,74	−59,3	0,001	2,8±0,59	−81,1	0,001	6,2±0,50	−31,1	0,01
	KCl	44,8±2,60	—	—	16,4±1,29	—	—	14,6±0,80	—	—
6	RbCl+KCl	32,6±4,63	−27,2	0,1	9,2±1,53	−43,9	0,01	18,0±2,23	+23,3	0,2
	RbCl	0	—	—	0	—	—	0	—	—
	KCl	42,8±2,92	—	—	16,4±1,21	—	—	13,2±1,24	—	—
8	RbCl+KCl	29,0±1,84	−32,2	0,01	8,2±0,74	−50,0	0,001	15,8±1,28	+19,7	0,2
	RbCl	0	—	—	0	—	—	0	—	—
	KCl	39,2±4,08	—	—	13,4±1,53	—	—	12,2±1,24	—	—
10	RbCl+KCl	28,6±1,20	−27,0	0,05	7,2±0,50	−46,3	0,01	15,6±0,80	+27,9	0,1
	RbCl	0	—	—	0	—	—	0	—	—

x̄ — średnia arytmetyczna — arithmetic mean.
SE — błąd standardowy — standard error.
P/M — stosunek liczby profaz do metafaz — ratio of prophases to metaphases.

(tab. 1). W szóstym dniu hodowli obserwuje się tylko nieliczne mitozy, a w ósmym i dziesiątym dniu brak jest w ogóle podziałów.

Spadkowi aktywności mitotycznej w korzeniach roślin rosnących na pożywkach z rubidem towarzyszą zmiany w ilościach poszczególnych faz podziałowych. W obu wariantach z Rb obserwuje się spadek liczby profaz. Zjawisko to występuje zwłaszcza w grupie z Rb, gdzie już w drugim dniu hodowli liczba jąder w profazie stanowi zaledwie połowę liczby występującej w materiale kontrolnym (rys. 2). W czwartym dniu liczba ta wykazuje dalszy spadek, który jest udowodniony statystycznie na poziomie P<0,001. W tym dniu także obserwuje się wyraźne obniżenie późniejszych stadiów mitozy: metafaz, anafaz i telofaz (tab. 1).

— Table 1
w korzeniach siewek *Triticum aestivum* L.
of mitosis in roots of *Triticum aestivum* L. seedlings

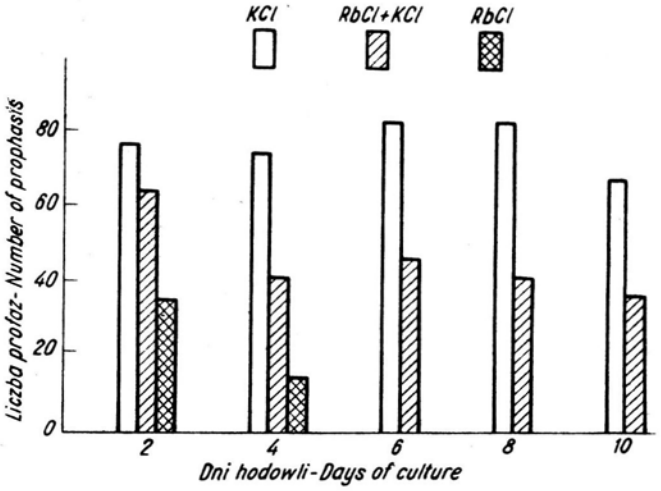
Anafazy — Anaphases			Telofazy — Telophases			Indeksy — Indexs					
$\bar{x}\pm SE$	% w stosunku do kontroli % in relation to control	P<	$\bar{x}\pm SE$	% w stosunku do kontroli % in relation to control	P<	P/M	$\frac{M}{A+T}$	mitotyczny ‰	profazowy ‰	metafazowy ‰	Liczba komórek Number of cells
4,4±0,80	—	—	4,8±0,38	—	—	1,828	1,062	26,84	453,13	269,03	1262
2,4±0,59	−45,5	0,1	4,8±0,86	—	—	0,933	2,061	28,76	376,06	411,89	1184
2,6±0,38	−40,9	0,1	2,6±0,22	−45,8	0,01	0,527	2,650	20,75	274,19	523,78	1240
2,0±0,54	—	—	4,2±0,74	—	—	1,662	1,530	24,39	491,46	302,11	1232
1,8±0,38	−10,0	0,8	3,8±0,59	−9,5	0,7	0,621	2,456	21,64	303,12	488,31	1255
1,4±0,22	−30,0	0,4	1,8±0,38	−57,1	0,05	0,453	2,083	10,23	223,35	508,18	1198
4,8±0,54	—	—	9,0±1,41	—	—	1,124	1,074	36,14	365,31	326,51	1249
2,4±0,50	−50,0	0,02	3,0±0,31	−66,7	0,01	0,531	3,290	26,71	282,05	543,72	1249
0	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—	—
5,0±0,83	—	—	8,2±1,46	—	—	1,259	1,006	36,97	383,35	306,18	1159
2,4±0,38	−52,0	0,05	2,6±0,59	−68,3	0,01	0,530	3,297	23,50	285,30	542,30	1188
0	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—	—
5,0±0,89	—	—	8,6±1,07	—	—	1,113	0,919	32,25	341,45	313,01	1226
2,8±0,59	−44,0	0,1	3,0±0,31	−65,1	0,01	0,467	2,793	22,94	253,14	544,75	1257
0	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—	—

$\frac{M}{A+T}$ — stosunek liczby metafaz do sum anafaz i telofaz — ratio of mataphases to summ of anaphases and telophases.
P — poziom istotności.

W korzeniach roślin hodowanych na pożywce z rubidem obserwuje się większą liczbę metafaz w porównaniu z kontrolą. Jedynie w czwartym dniu hodowli, w grupie z Rb, liczba metafaz jest niższa aniżeli w grupie kontrolnej (rys. 3).

Rozpatrując stosunek liczby profaz do metafaz można stwierdzić, że w kontroli liczba metafaz jest zawsze niższa od liczby profaz, a stosunek P/M wynosi w przybliżeniu 2:1 w drugim, 3:2 w czwartym oraz 1:1 w dalszych dniach hodowli (tab. 1). Jest to zrozumiałe, ponieważ czas trwania profaz jest dłuższy od czasu trwania następnych faz podziałowych.

W obu wariantach z rubidem obserwuje się natomiast większą licz-



Rys. 3. Liczba jąder w metafazie w korzeniach siewek *Triticum aestivum* L. rosnących na pożywkach z rubidem

Fig. 3. The number of nuclei in metaphase in root seedlings of *Triticum aestivum* L. growing on the nutrient medium with rubidium

bę metafaz niż profaz (tab. 1). Stosunek liczby profaz do metafaz (P/M) w grupie z Rb+K wynosi w przybliżeniu 1:1 w drugim, 2:3 w czwartym i 1:2 w pozostałych dniach hodowli, a w grupie z Rb 1:2, tak w drugim, jak i w czwartym dniu hodowli.

Konsekwencją tych anomalii jest zmieniony stosunek liczby metafaz do sumy anafaz i telofaz (współczynnik M/A+T). W kontroli wynosi on w przybliżeniu 1:1, natomiast w grupie z Rb+K w drugim i czwartym dniu 2:1, a 3:1 w dalszych dniach hodowli. W wariancie z Rb, tak w drugim, jak i czwartym dniu hodowli, stosunek M/A+T wynosi w przybliżeniu 2:1.

Opisane powyżej zmiany potwierdzają dane indeksów: mitotycznego, profazowego i metafazowego (tab. 1). Zarówno indeks mitotyczny, jak i profazowy, mają niższe wartości w kombinacjach z rubidem, natomiast indeks metafazowy wykazuje niższe wartości w grupie kontrolnej.

DYSKUSJA

Porównując częstotliwość mitoz w korzeniach kontrolnych i korzeniach roślin wyrosłych na pożywkach z rubidem, stwierdza się wyraźne obniżenie liczby mitoz w kombinacjach z Rb. Podobne efekty były obserwowane w korzeniach roślin poddanych działaniu par bromu (Chury, Slouka 1949), par jodu (Wajda 1963), chlorku choliny (Furmanowa, Olędzka 1970), chlorowodorku betainy (Furmanowa, Rapczewska 1971) oraz traktowanych penicyliną (Levan, Tjio 1951).

Spadek aktywności mitotycznej określany jest jako działanie mitodepresyjne lub preprofazowe (D'Amato 1949), przy czym działanie to może być częściowe lub całkowite.

W grupie roślin traktowanych Rb+K wpływ rubidu ujawnia się jako działanie preprofazowe częściowe, polegające na hamowaniu wejścia w profazę jąder metabolicznych. Przemawia za tym spadek liczby profaz w tym wariancie oraz zmiana stosunku profaz do metafaz (Galinsky 1949; Wajda 1963). Ze względu jednak na zaobserwowaną zmianę stosunku metafaz do sumy anafaz i telofaz należy przypuszczać, że zachodzi tu również przedłużenie czasu trwania metafaz, spowodowane opóźnieniem przejścia metafazy w anafazę (Allen i in. 1950; Wajda 1963).

W wariancie z rubidem wpływ tego pierwiastka zaznacza się jako działanie preprofazowe całkowite, które doprowadza do powstania „próżni mitotycznej" (Wajda 1963).

SUMMARY

Investigations were made on roots of spring wheat seedlings grown on nutrient medium in which the total amount of potassium or a half of it was replaced by rubidium. Control plants were grown in the presence of potassium. The samples for the cytological investigations were taken every other day during two weeks. Cross-sections 10 μm in thickness were stained in gentian violet after Newton. The number of cells in mitosis was counted on the longitudinal cross-section in each particular stage of division as well as the number of all cells. 1200 cells were counted for each root.

In two variants with rubidium a distinct decrease of the amount of mitosis in comparison with the control plants was found. The decrease of mitotic activity in roots of plants growing on the nutrient medium with rubidium was accompanied by changes in numbers of different stages of divisions. The fall in the number of prophases and the increase of metaphases in comparison with the control plants was observed. A changed ratio of the number of metaphases to the total of anaphases and telophases was found. Thus the fall of mitotic activity seems to be caused by the limited number of nuclei beginning the prophase on the one hand and by the prolonged duration of metaphase on the other.

LITERATURA

Allen N. S., Wilson G. B., Powell S., 1950. Comparative effects of colchicine and sodium nucleate on somatic chromosomes of *Allium* and *Tradescantia*. J. Hered. 41: 159-163.

Chury J., Slouka Vl., 1949. Effects of bromine on mitosis in root tips of *Allium cepa*. Nature 163, 27-28.

D'Amato F., 1949. Preprophase inhibition of mitoses in root meristems. Caryologia 1: 109-121.

D'Aamato F., 1960. Cyto-histological investigations of antimitotic substances and their effects on patterns of differentiation. Caryologia 13: 339—351.

Furmanowa M., Olędzka H., 1970. Wpływ chlorku choliny na mitozę w merystemach wierzchołkowych *Allium cepa*. L. Farm. Pol. 26: 175-179.

Furmanowa M., Rapczewska L., 1971. Wpływ chlorowodorku betainy na mitozę w merystemach wierzchołkowych *Allium cepa* L. Farm. Pol. 27: 879-882

Galinsky I., 1949. The effect of certain phosphates on mitoses in *Allium* roots. J. Hered. 40: 289-295.

Levan A., Tjio J. H., 1951. Penicilline in the *Allium* test. Hereditas 37: 306-324.

Oktaba W., 1967. Metody statystyki matematycznej w doświadczalnictwie. PWN. Warszawa.

Olech K., Rutkowska E., 1975. Zmiany w siewkach pszenicy wyrosłych na pożywce, w której potas zastąpiono Li, Na, Rb. Ann. UMCS, Sectio E, 30, 187-201.

Tarkowska J. A., 1971. Effect of water extract from leaves of *Nerium oleander* L. on mitosis. Acta Soc. Bot. Pol. 40: 623-631.

Wajda L., 1963. Wpływ par jodu na przebieg mitozy w korzonkach *Secale cereale*. Acta Soc. Bot. Pol. 32: 553-573.