

CZU: 635.2:635-18:581.1

EVALUAREA ACȚIUNII LIGNOHUMATULUI DE POTASIU ASUPRA DIVIZIUNII CELULARE LA *ALLIUM CEPA L.*

Maria FRUNZĂ, Ana BÎRSAN, Tamara BEGU

Universitatea de Stat din Moldova

În prezenta lucrare ne-am propus drept scop să evidențiem acțiunea lignohumatului de potasiu asupra diviziunii mitotice la plante-test (*Allium cepa L.*). A fost testată acțiunea a cinci concentrații diferite de lignohumat de potasiu (0,05%; 0,1%; 0,25%; 0,5%; 1,0%) asupra germinării semințelor de ceapă prin analiza următorilor parametri: indicele mitotic, indicii fazici ai mitozei, energia germinativă, lungimea rădăcinii și lungimea tulpinii. Testarea pe plante-test, pe ceapă, a permis stabilirea efectului biostimulator al lignohumatului de potasiu asupra creșterii și dezvoltării plantelor, în funcție de concentrația substanței. Efectele pozitive ale compusului studiat s-a manifestat la nivel celular prin creșterea indicelui mitotic și accelerarea unor faze ale diviziunii celulare. Creșterea activității mitotice sub influența lignohumatului de potasiu a corelat pozitiv cu creșterea indicilor fiziologici de creștere și dezvoltare.

Cuvinte-cheie: *lignohumat de potasiu, celule meristemice, activitate mitotică, indice mitotic, indici fazici ai mitozei, energie germinativă, lungimea rădăcinii, lungimea tulpinii, corelație.*

ASSESSMENT OF POTASSIUM LIGNOHUMATS ACTION ON CELLULAR DIVISION IN *ALLIUM CEPA L.*

The present paper aims at highlighting the action of potassium lignohumate on the mitotic division in test plants (*Allium cepa L.*). The action of five different concentrations of potassium lignohumate (0.05%, 0.1%, 0.25%, 0.5%, 1.0%) on the germination of onion seeds by analyzing the following parameters: mitotic index, phase mitosis index, germinative energy, root length and stem length has tested. Testing on test plants, on onion, has determined the biostimulating effect of potassium lignohumate on the growth and the development of plants, depending on the concentration of the substance. The positive effects of the studied compound have been manifested at the cellular level by increasing the mitotic index and accelerating some phases of the cell division. Increased mitotic activity under the influence of lignohumate potassium has positively correlated with increased physiological growth and development indices.

Keywords: *potassium lignohumate, meristematic cells, mitotic activity, mitotic index, phase mitosis indexes, germinative energy, root length, strain length, correlation.*

Introducere

Compușii humici sunt pe larg utilizați în agricultura intensivă cu scopul obținerii unor recolte sporite. Aceștia sunt cunoscuți a avea efecte stimulative evidente asupra creșterii și dezvoltării plantelor, influențând multiple procese celulare: sinteza acizilor nucleici, sinteza proteinelor, activitatea enzimelor etc. [1,2]. De asemenea, s-a stabilit că compușii humici au un pronunțat efect antioxidant și antimutagen, influențând activitatea mitotică a celulelor [3,4].

În scopul evidențierii acțiunii unor factori fizici și chimici asupra creșterii și dezvoltării plantelor la etape timpurii ale ontogenezei, prezintă interes cercetările citofiziologice asupra meristemelor radiculare, axate pe studiul activității mitotice, a cărei intensificare corelează cu creșterea activă a plantelor și reprezintă un factor de prognoză a productivității [5-7].

În acest context, ne-am propus să evidențiem efectul acțiunii humaților asupra proliferării celulelor la etape ontogenetice timpurii prin studiul activității mitotice și al indicilor fazici ai mitozei, precum și să stabilim corelarea acestora cu indicii fiziologici de dezvoltare la plantele-test.

Material și metode

Ca metodă de lucru am ales metoda teoretică, prin consultarea unei vaste bibliografii, și metoda practică, prin care am testat influența humaților asupra proceselor proliferative și, implicit, asupra activității mitotice, utilizând metoda *Allium-test* [8].

În cadrul experimentului a fost utilizat lignohumatul de potasiu, marca AM, produs de OOO, «НПО «РЭТ» (Rusia), omologat în R. Moldova. Ținând cont de recomandările producătorului, au fost utilizate următoarele concentrații de lignohumat: 0,05%, 0,1%, 0,25%, 0,5% și 1,0%.

În calitate de material biologic au fost utilizate semințe de ceapă, soiul Holtedon. Germinarea s-a realizat în cutii Petri tapetate cu hârtie de filtru, umectată cu 4 ml de apă distilată (pentru variantele martor) sau cu soluții de lignohumat de potasiu (în cazul variantelor experimentale). Germinarea a avut loc la întuneric, în termostat, la temperatura de +24°C. Semințele au fost germinate timp de 5 zile.

Măsurătorile și prelevarea materialului pentru studii citologice s-a făcut la a 5-a zi de germinare. Pentru evidențierea acțiunii lignohumatului de potasiu asupra semințelor de ceapă au fost analizați următorii indici fiziologici de dezvoltare: energia germinativă, lungimea rădăcinii și lungimea tulpinii. Pentru studii citologice au fost prelevate radicele cu lungimea de 1-2 cm și fixate în amestec de acid acetic-alcool (3:1) timp de 24 h la frigider (+4°C), după care au fost transferate în soluție de alcool de 70° și păstrate la rece în vase închise.

Spălarea, fixarea, hidroliza, colorarea și efectuarea preparatelor microscopice au fost efectuate conform metodologiei standard de colorare și observare a cromozomilor [9].

Examinarea preparatelor s-a făcut cu obiectul 40× în vederea stabilirii numărului de celule aflate în interfază și în diferite faze ale mitozei. După examinarea preparatelor microscopice au fost calculați indicele mitotic și indicii fazelor mitozei pentru martor și variantele experimentale.

Datele au fost prelucrate statistic [10].

Rezultate și discuții

Acțiunea lignohumatului de potasiu asupra activității mitotice

Indicele mitotic constituie un criteriu important utilizat în aprecierea proceselor de proliferare [11]. În acest sens, a fost studiată activitatea mitotică a celulelor meristemelor din rădăcinile de ceapă sub influența diferitelor concentrații de lignohumat de potasiu prin calcularea indicelui mitotic și a indicilor fazici ai mitozelor. De pe fiecare lamă au fost analizate câte zece câmpuri de vedere și numărate celulele în interfază, profază, metafază, anafază, telofază din totalul de celule (Fig.1).

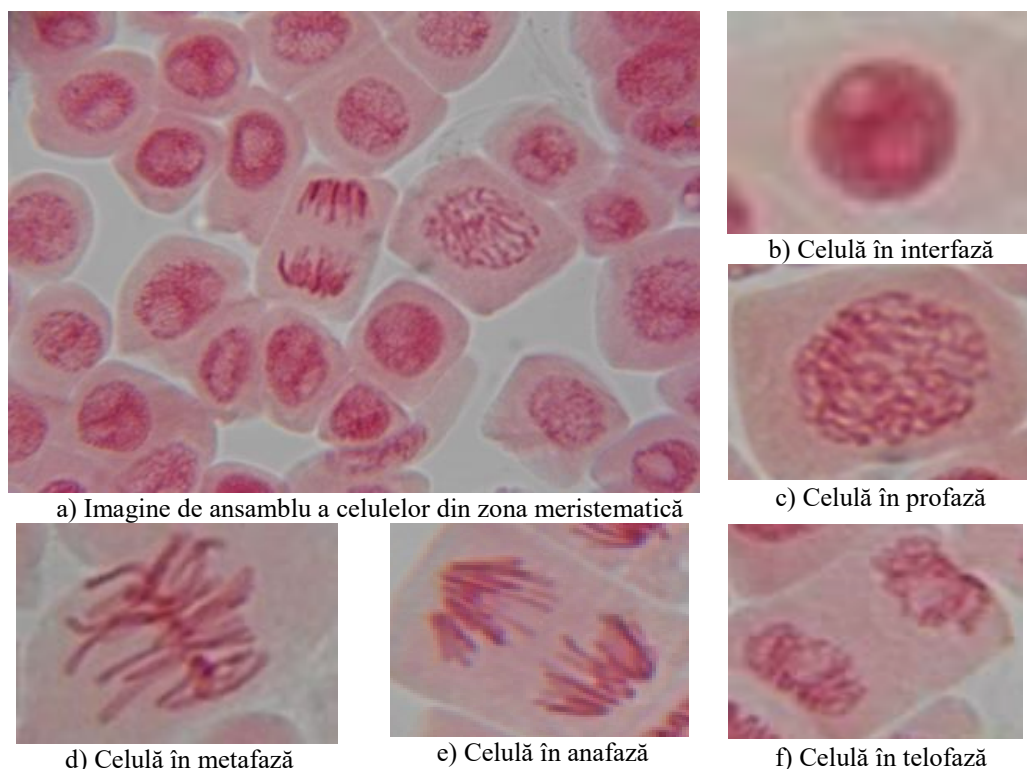


Fig.1. Imagini microscopice ale celulelor meristemice în interfază și în diferite faze ale diviziunii mitotice la *Allium cepa* L. (variantele martor).

Deoarece humatii sunt stimulatori de creștere, este evidentă o creștere a indicelui mitotic sub influența lignohumatului de potasiu în comparație cu martorul. Așa cum reiese din Figura 2, lignohumatul de potasiu induce, în general, creșteri ale frecvenței celulelor în diviziune, în comparație cu martorul netratat.

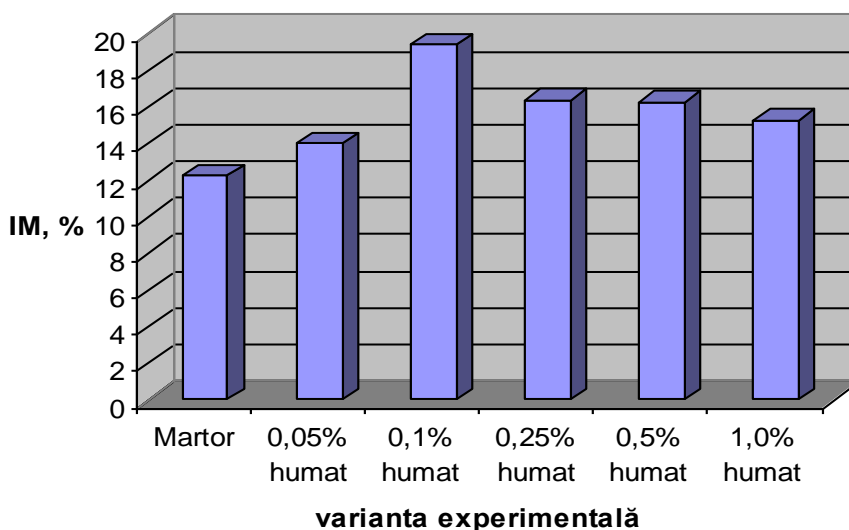


Fig.2. Influența lignohumatului de potasiu asupra indicelui mitotic (IM) al celulelor meristemelor radiculare la *Allium cepa L.*

Conform rezultatelor studiului citologic, valoarea indicelui mitotic la varianta martor a constituit 12,29%. Pe fond de administrare a lignohumatului de potasiu au fost înregistrate valori ale indicelui mitotic ce variază între 14,02% și 19,42%, înregistrându-se o creștere semnificativă a indicelui mitotic în cazul tuturor concentrațiilor utilizate. Cea mai mare creștere a valorii indicelui mitotic a fost constatată în cazul prelucrării semințelor cu lignohumat de potasiu de 0,1%, depășind cu 58% valoarea martorului. În cazul concentrațiilor de 0,05% și 0,1% creșterea indicelui mitotic corelează pozitiv cu creșterea concentrației de lignohumat ($r=0,96$). Însă, peste un anumit nivel de concentrație lignohumatul de potasiu provoacă o inhibare a diviziunii mitotice. În diapazonul de concentrații de 0,25-1,0% s-a observat o tendință de diminuare a indicelui mitotic, în raport cu concentrația de 0,1% (Fig.2). Astfel, concentrațiile utilizate de 0,25%, 0,5%, 0,1% induc o ușoară scădere a frecvenței celulelor în diviziune, fiind constatată o corelație negativă între indicele mitotic și concentrațiile de lignohumat de potasiu utilizate ($r=-0,1$).

Analiza indicilor fazici ai mitozei a permis constatarea unor fluctuații ale acestora în variantele experimentale, comparativ cu martorul (Fig.3).

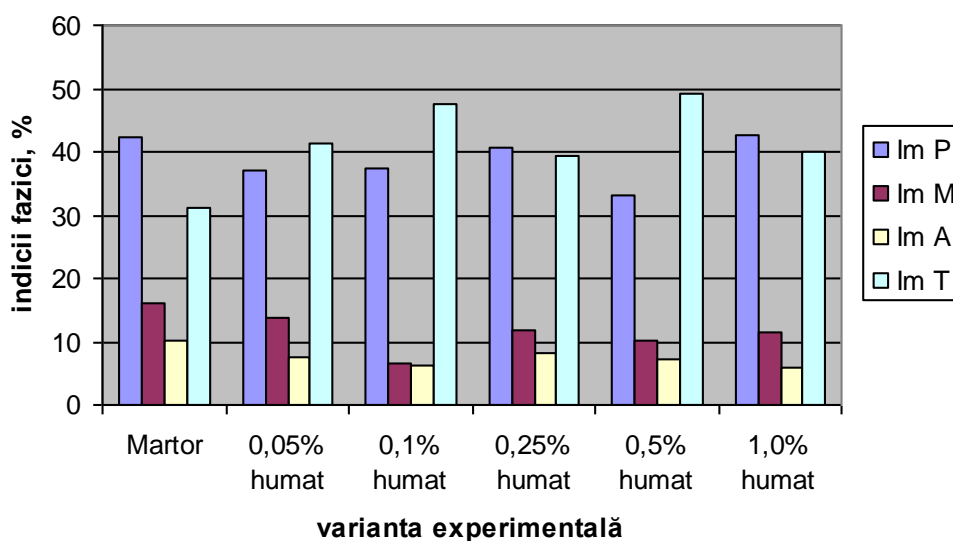


Fig.3. Influența lignohumatului de potasiu asupra indicilor fazici ai mitozei ($I_m P$ – indice profazic, $I_m M$ – indice metafazic, $I_m A$ – indice anafazic, $I_m T$ – indice telofazic) în celulele meristemelor radiculare la *Allium cepa L.*

În toate variantele experimentale cu utilizarea lignohumatului de potasiu a fost înregistrată scăderea indicelui profazic. Cea mai pronunțată scădere a indicelui profazic s-a înregistrat în cazul concentrației humatului de 0,5%: de la 42,36% (în cazul martorului) la 33,25% (varianta experimentală). De asemenea, s-a constatat o scădere a indicilor metafazici și anafazici în toate variantele experimentale. Indicele metafazic s-a micșorat de la 15,95% (în cazul martorului) până la valoarea minimă de 6,66% în cazul concentrației de 0,1% de lignohumat de potasiu. Cea mai semnificativă descreștere a indicelui anafazic (cu 43%) s-a constatat în cazul concentrației de lignohumat de 1,0%. În același timp, s-a constatat că indicele telofazic crește în toate variantele experimentale, înregistrând valori minime de 31,11% (în cazul martorului) și valori maxime de 47,61% (în cazul concentrației de 0,1% de lignohumat) și de 49,34% (în cazul concentrației de 0,5% de lignohumat). În contextul unei creșteri a indicelui mitotic, creșterea indicelui telofazic poate fi considerată o dovadă a intensificării activității proliferative a celulelor sub acțiunea lignohumatului de potasiu. Ținând cont de scăderea indicilor profazic, metafazic și anafazic, se poate presupune că lignohumatul de potasiu afectează durata ciclului celular, prin accelerarea parcurgerii de către celule a acestor faze ale diviziunii, rezultate similare fiind atestate și în cadrul altor cercetări [4,12]. Perturbarea fazelor diviziunii celulare indică asupra faptului că concentrațiile analizate de lignohumat de potasiu modifică activitatea mitotică prin influențarea proceselor proteosintetice de la nivel celular, care, la rândul lor, interferează cu procesele esențiale ale diviziunii – condensarea cromozomilor și formarea fusului de diviziune [13].

Acțiunea lignohumatului de potasiu asupra unor indici de creștere

Analiza acțiunii lignohumatului de potasiu asupra unor indici de creștere (energia germinativă, lungimea rădăcinii, lungimea tulpinii) a demonstrat efecte pozitive ale compusului cercetat asupra proceselor de creștere și dezvoltare la ceapă. S-a stabilit că utilizarea lignohumatului de potasiu poate îmbunătăți capacitatea germinativă a semințelor. În varianta martor a experimentului energia germinativă a semințelor de ceapă a fost de 61,1% (*a se vedea* Tabelul). La utilizarea lignohumatului de potasiu energia germinativă a crescut în toate variantele experimentale, cu excepția concentrației de 1,0%, în cazul căreia s-au înregistrat valori mai mici față de martor. Creșterea semnificativă a capacității germinative a semințelor de ceapă a fost înregistrată în cazul concentrației de lignohumat de potasiu de 0,1%, depășind cu 13,45% valoarea martorului.

De asemenea, a fost studiată acțiunea lignohumatului de potasiu asupra parametrilor morfometrici ai plantulelor de ceapă, obținute prin germinarea semințelor – lungimea rădăcinii și lungimea tulpinii (*a se vedea* Tabelul).

Tabel

Efectul lignohumatului de potasiu asupra indicilor fiziologici de dezvoltare la *Allium cepa*

Varianta experimentală	Energia germinativă, %	Lungimea rădăcinii, mm	Lungimea tulpinii, mm
Martor	61,1±2,93	19,88±1,39	7,88±0,52
Humat 0,05%	66,7±2,83	20,46±1,09	7,60±0,71
Humat 0,1%	69,3±1,98*	24,64±1,57*	10,52±0,36*
Humat 0,25%	68,9±2,94	23,21±0,40*	8,51±0,32
Humat 0,5%	68,9±2,94	22,39±2,21	9,48±0,91*
Humat 1,0%	58,9±5,88	20,39±0,87	8,21±0,27

*diferențe semnificative ($p \leq 0,05$)

La etapa demontării experimentului, în cazul martorului lungimea rădăcinii a fost de 19,88 mm, iar lungimea tulpinii – de 7,88 mm. Utilizarea lignohumatului de potasiu a manifestat o acțiune, în general, de stimulare a creșterii rădăcinii și tulpinii, dependentă de concentrație, cu unele excepții. Lignohumatul de potasiu de 0,1% a determinat o creștere semnificativă statistic atât a lungimii rădăcinii, cât și a lungimii tulpinii. Au fost constatate creșteri în comparație cu martorul de 23% și 33%, respectiv. La utilizarea concentrației de lignohumat de potasiu de 1,0% valorile lungimii rădăcinii și a tulpinii s-au menținut în limitele martorului.

Analiza corelațională a stabilit corelații foarte bune între lungimea rădăcinii și indicele mitotic ($r=0,93$), între lungimea tulpinii și indicele mitotic ($r=0,89$) și corelație mai slabă între energia germinativă și indicele mitotic ($r=0,22$).

Concluzii

Testarea pe plante-test, pe ceapă, a permis stabilirea efectului biostimulator al lignohumatului de potasiu asupra creșterii și dezvoltării plantelor, în funcție de concentrație. A fost identificată concentrația optimă a lignohumatului de potasiu (0,1%), ce a determinat efecte pozitive maxime asupra indicilor de dezvoltare. Efectele pozitive ale compusului studiat s-a manifestat la nivel celular prin creșterea indicelui mitotic și accelerarea unor faze ale diviziunii celulare, care poate fi explicată prin influențarea proceselor proteosintetice care interferează cu condensarea cromozomilor și formarea fusului de diviziune. Creșterea activității mitotice sub influența lignohumatului de potasiu a corelat pozitiv cu creșterea indicilor fiziologici de creștere.

Referințe:

1. PERMINOVA, I.V., HATFIELD, K., HERTKORN, N. Use of humic substances to remediate polluted environments: From theory to practice. In: *NATO Science series. VI. Earth and environmental sciences*, 2005, vol.52, p.314-315.
2. PENA-MENDEZ, E., HAVEL, J., PATOCKA, J. Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. In: *J. Appl. Biomed.*, 2005, vol.3, p.13-24.
3. ZHOU, X.P., ZHANG, Y.Ch., ZHANG, Sh.W., BAN, W.J., YU, W.F., ZHANG, Zh. New progress in medical research of bio-humic acid. In: *Applied Mechanics and Materials*, 2012, vol.138-139, p.1228-1233.
4. SHKARUPA, V.M., KLYMENKO, S.V., TALKOV, V. Cytogenetic analysis of radioprotective properties of sodium lignogumate after γ , exposure in *Allium*-test. In: *Problems of radiation medicine and radiobiology*, 2014, no.19, p.490-508.
5. БЕЛЯЧЕНКО, Ю.А. *Пролиферация клеток растений при воздействии низкочастотного магнитного поля*: Автореферат. Саратов, 2009. 24 с.
6. ГРИФ, В.Г., МАЧС, Э.М. Влияние ритма освещенности на митотический цикл в корневой меристеме растений. В: *Цитология*, 1996, том 38, №7, с.718-725.
7. ИВАНОВ, В.Б. Пролиферация клеток в растениях. Итоги науки и техники. В: *Цитология*, 1987, №5, 216 с.
8. FISKESIO, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. In: *J. Hereditum*, 1985, no.102, p.99-112.
9. CÎMPEANU, M., MANIU, M., SURUGIU, I. *Genetica, metode de studiu*. Iasi: Corson, 2002. 139 p.
10. ДОСПЕХОВ, Б.А. *Методика полевого опыта*. Москва, 1983. 351 с.
11. КОЗАК, М.Ф. Ритмы митоза у представителей рода *Glicine L.* В: *Цитология и генетика*, 2004, №6, с.7-12.
12. ДМИТРИЕВА, С.А., МИНИБАЕВА, Ф.В., ГОРДОН, Л.Х. Митотический индекс меристематических клеток и рост корней гороха *Pisum sativum* при действии модуляторов инозитольного цикла. В: *Цитология*, 2006, том 48, №6, с.475-479.
13. БАЛОДИС, В.А. Некоторые закономерности роста и деления клеток в апикальной меристеме корня. В: *Цитология*, 1991, том 4, с.5.

Date despre autori:

Maria FRUNZĂ, doctor în biologie, conferențiar universitar; cercetător științific în LCȘ *Securitatea biologică*, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: frunzamar@gmail.com

Ana BÎRSAN, doctor în biologie, conferențiar universitar; cercetător științific coordonator în LCȘ *Securitatea biologică*, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: birsanana@mail.ru

Tamara BEGU, cercetător științific stagiar în LCȘ *Securitatea biologică*, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: tamarabegu@mail.ru

Prezentat la 21.02.2018