

BAB 3

***KAJIAN SITOLOGI AKAR
PRIMER C. annum var. MC 4
DAN MC 5 YANG DITANAM
SECARA IN VIVO***

BAB 3

KAJIAN SITOLOGI KE ATAS AKAR PRIMER *C.annuum* var. MC 4 DAN MC 5 YANG DITANAM SECARA *IN VIVO*

3.1 TUJUAN EKSPERIMEN

Setiap spesies tumbuhan dicirikan oleh ketetapan kariotip yang berkaitan dengan kromosom dan morfologi. Kajian mengenai aktiviti kromosom ditentukan dalam sel-sel meristem apeks pucuk atau akar iaitu kawasan di mana proses pembahagian dan tumbesaran paling giat berlaku di dalam tumbuhan. Sebarang perubahan yang berlaku pada peringkat kromosom atau nukleus berkemungkinan besar membayangkan perubahan yang akan berlaku pada peringkat morfologi.

Penentuan bilangan kromosom dilakukan oleh Cheng dan Smith (1975) untuk menentukan tahap ploidi di dalam tumbuhan *Hordeum vulgare*. Selain daripada itu, kajian sitologi juga penting untuk memahami corak perubahan di peringkat nukleus. Contohnya Taha dan Francis (1991) telah mengkaji perhubungan luas sel dan nukleus dalam sel-sel kalus dan meristem akar *Vicia faba*. Keputusan yang diperolehi menunjukkan purata luas sel dan nukleus adalah lebih kecil bagi sel-sel kalus berbanding dengan sel dalam meristem akar. Kajian mengenai aktiviti sel di dalam meristem akar tumbuhan peringkat tinggi telah dilakukan dengan pesat contohnya, Davidson *et al.*,(1978), Olszewska *et al.*,(1984) dan Abu Shah (1997).

Apabila kajian sitologi dilakukan ke atas bahagian meristik tumbuhan seperti akar primer, ianya mesti dilakukan dalam situasi yang normal atau natural bagi spesies tersebut, iaitu dalam keadaan persekitaran yang normal atau natural bagi tumbuhan ‘intact’. Pengetahuan tentang kelakuan sel dalam keadaan normal atau semulajadi ini (*in vivo*) mesti ditentukan sebelum kajian mengenai kultur sel atau regenerasi tumbuhan dilakukan sebagai perbandingan untuk melihat pertalian antara aktiviti sel dengan keupayaan morfogenesis sesuatu spesies. Dalam kajian ini, kelakuan sel dalam akar primer tumbuhan ‘intact’ dianggap sebagai piawai atau asas (back ground) bagi kelakuan sel di dalam keadaan *in vivo* di mana kelakuan sel dalam persekitaran *in vitro* dapat dibuat bandingan. Di antara parameter yang dikaji ialah indeks mitosis (MI), bilangan kromosom, penentuan masa penggandaan sel (Cdt), kandungan DNA serta tahap ploidi dan purata ukuran luas sel dan nukleus. Parameter-parameter ini boleh digunakan sebagai petunjuk kepada aktiviti sel untuk memahami kelakuan sel dalam akar primer, samada yang berlaku dalam keadaan *in vivo* atau *in vitro*.

Indeks Mitosis

Pembahagian sel dalam kebanyakan tisu tumbuhan dan haiwan adalah tidak seragam. Kesan perubahan faktor-faktor dalam edaran mitosis pada populasi sel-sel yang seragam boleh dikaji dengan membandingkan bilangan sel dalam mitosis selepas dikenakan perlakuan tertentu pada satu jangkamasa tertentu.

Dalam kajian ini nilai purata indeks mitosis (MI) pada akar primer dalam keadaan *in vivo* digunakan sebagai data kawalan untuk membandingkan dengan data-

data yang diperolehi dari kultur bahagian akar *in vitro*. Indeks mitosis (MI) ditakrifkan sebagai kadar relatif dalam pembahagian pada tempoh pemerhatian dalam meristem. Nilai indeks mitosis (MI) boleh menunjukkan perubahan relatif dalam kadar kemasukan sel ke dalam edaran mitosis dan memainkan peranan penting dalam tumbesaran dan perkembangan akar. Nilai MI juga boleh dikaitkan secara kasar dengan kadar tumbesaran dan perkembangan dalam akar tumbuhan samada yang ditanam secara *in vivo* atau *in vitro*.

Bilangan Kromosom

Kajian mengenai bilangan kromosom adalah penting untuk mengetahui sifat-sifat biologikal sesuatu spesies. Pada kebiasaannya, sekiranya terdapat variasi dalam bilangan kromosom, akan menyebabkan perubahan fenotipik pada sifat-sifat morfologi atau fisiologi tumbuhan. Bilangan kromosom tumbuhan ‘intact’ dijadikan sebagai perbandingan dengan bilangan kromosom pada tisu akar yang dikenakan dengan perlakuan tertentu. Biasanya tumbuhan ‘intact’ mempunyai bilangan kromosom diploid ($2n$) atau kandungan DNAnya antara $2C$ dan $4C$. Kandungan DNA dalam sel adalah $2C$ semasa G1 tetapi menjadi $4C$ selepas replikasi DNA.

Penentuan Kandungan DNA

Pengukuran kuantiti DNA nukleus menggunakan alat mikrodensitometer telah lama diperaktikkan. Walaupun begitu, dalam kajian ini kandungan DNA diukur menggunakan sistem analisis imej (image analyser system) menggunakan pakej perisian untuk pengukuran DNA. Pengukuran kandungan DNA dan penentuan tahap

ploidi menggunakan analisa imej telah digunakan secara meluas sejak akhir-akhir ini (Michaelson *et al.*, 1991; Arumuganathan dan Earle, 1991; Taha dan Abdullah, 1994; Barre *et al.*, 1996 dan Abu Shah, 1997).

Prinsip-prinsip yang digunakan dalam analisa imej ini adalah sama dengan densitometrik iaitu menggunakan integrasi ketumpatan optik (IOD) pada data nukleus yang telah ditentukan sebagai nukleus rujukan ('reference cell'). ' Reference cell' yang selalu digunakan ialah sel-sel pada peringkat profasa iaitu bersamaan dengan $4C$ dan telofasa iaitu bersamaan $2C$ (sel yang baru sahaja selesai membahagi). Pada peringkat ini, kandungan DNA dalam nukleus sel rujukan kelihatan tumpat dan padat. Nilai purata untuk 20 sel rujukan ditentukan dan berdasarkan nilai ini sel-sel interfase diukur. Nilai IOD ini berkadar dengan kandungan DNA dalam nukleus yang telah diwarnakan dengan pewarnaan seperti Feulgen. Nilai $2C$ boleh diperolehi dengan melakukan tentukur nilai IOD pada nukleus sel rujukan. Nilai $1C$ ditakrifkan sebagai satu nilai tetap bagi haploid genom yang tidak direplikasi pada gamet dan nilai ini digunakan sebagai petunjuk kepada fasa komponen dalam edaran sel. Untuk satu slaid, 50 sel interfase yang dipilih secara rawak diukur kandungan DNA nukleusnya, kemudian satu histogram dilakarkan. Pengukuran nilai DNA ini memerlukan 3 slaid, oleh itu jumlah sel adalah 150 semuanya. Satu histogram untuk ketiga-tiga slaid perlu dilakarkan. Daripada histogram ini peratus sel dalam fasa G1, G2, S dan poliploidi boleh ditentukan.

Purata atau Min Luas Sel dan Nukleus

Menurut Cavalier-Smith (1978) kadar tumbesaran sel adalah bergantung kepada kandungan DNA dan kandungan DNA boleh didapati dengan mengukur isipadu sel dan luas nukleus sel. Walaupun begitu, pertambahan saiz sel tidak semestinya menunjukkan pertambahan dalam saiz nukleus kerana kedua-dua parameter ini dikawal oleh dua faktor yang berbeza (Carmona dan Cuadrado,1986; Baluska dan Kubica, 1992; Taha dan Francis, 1993).

Dalam kajian ini, kedua-dua parameter iaitu purata luas sel dan nukleus dikaji untuk mengetahui samada perubahan saiz sel bersandar dengan saiz nukleus dan juga untuk melihat samada ada perkaitan di antara kedua-dua parameter ini dengan kandungan DNA *in vivo*.

Masa Penggandaan Sel (Cdt)

Masa penggandaan sel adalah tempoh untuk populasi sel menggandakan populasinya. Kaedah yang digunakan untuk mengukur Cdt melibatkan penggunaan kolkisina di mana ia berkebolehan menyekat atau mengganggu kemasukan sel ke peringkat profasa. Pengumpulan sel-sel pada peringkat metaphasa berlaku apabila kolkisina dikenakan dan kadar pengumpulan metaphasa boleh dikira. Kaedah yang menggunakan kolkisina ini hanya boleh digunakan sekiranya kolkisina yang digunakan tidak menghalang kadar kemasukan sel ke dalam mitosis. Tempoh

perlakuan dengan kolkisina yang terlalu lama tidak boleh diterima kerana ini akan menambah frekuensi mitosis yang abnormal.

3.2 BAHAN DAN KAEDAH

3.2.1 Penyediaan Slaid Tetap

Biji benih cili, *C. annuum* var. MC 4 dan var. MC 5 dicambahkan secara aseptik di bawah keadaan seperti yang telah diterangkan pada bahagian 2.2. Akar primer anak benih cili yang berumur 7 hari dengan kepanjangan piawai 21.20 ± 0.84 mm bagi var. MC 5 dan 21.45 ± 0.93 mm bagi var. MC 4, yang telah diperolehi dari eksperimen sebelum ini (bahagian 2.3) digunakan untuk pengiraan indeks mitosis (MI). Sekurang-kurangnya enam akar primer dengan kepanjangan piawai (18.36 - 24.04 mm bagi MC 5 dan 18.40- 24.50 mm bagi MC 4) dan berumur 7 hari diawet dalam 3:1 alkohol : glasial asid asetik selama semalaman.

Untuk menyediakan slaid-slaid tetap, pada mulanya akar-akar tersebut dibasuh di dalam air suling selama 10 minit sebanyak dua kali. Ini diikuti dengan merendam akar-akar primer tadi dalam larutan 5M HCl selama 50 minit, seterusnya dipindahkan ke dalam 2 bekas air suling yang disejukkan dengan ais selama 10 minit di mana 5 minit pada setiap satu bekas.

Seterusnya akar-akar primer tadi diwarnakan dengan Feulgen (Rujuk penyediaan dan resepi di Apendediks 1) selama 2 jam. Selepas 2 jam, bahagian hujung akar (jidal akar) dibuang dan diambil bahagian belakang jidal menggunakan ‘blade’. Bahagian yang diwarnakan ini diletakkan di atas slaid dan dititikkan setitis 45% (v/v) asid asetik. Jarum-jarum halus seterusnya digunakan untuk menghancurkan tisu akar tersebut.

Setelah itu sisip kaca diletakkan di atas slaid dan slaid diketuk dengan belakang jarum perlahan-lahan. Apabila telah dipastikan sel-selnya tersebar iaitu dilihat di bawah mikroskop sel-selnya menjadi satu lapisan, slaid tersebut diletakkan di antara kertas tisu dan dengan perlahan-lahan ditekan dengan ibu jari ('squash technique'). Seterusnya slaid tersebut diletakkan di atas CO₂ pepejal ('dry ice') selama 5 minit. Sisip kaca dibuang dan slaid-slaid tersebut dicuci menggunakan satu siri larutan alkohol seperti di Apendiks 1.

3.2.2 Pengiraan Indeks Mitosis (MI)

Indeks mitosis adalah jumlah sel-sel yang sedang menjalani peringkat-peringkat mitosis (jumlah profasa, metafasa, anafasa dan telofasa dikira sebagai peratus sel) ditentukan sebagai (X).

$$X / 1000 \times 100 \% = Y \%$$

Sebanyak 1000 sel dikira dan dipastikan bahawa sel yang dikira bukanlah terdiri daripada sel-sel yang sama. Sekurang-kurangnya 3 slaid dikira indeks mitosisnya dan nilai purata daripada 3 slaid diambil.

3.2.3 Bilangan kromosom

Bilangan kromosom dikira menggunakan slaid tetap yang telah disediakan seperti pada bahagian 3.2.1. Sekurang-kurangnya 15 sel pada peringkat metafasa dikira daripada slaid yang berlainan. Purata bilangan kromosom dan julatnya ditentukan.

3.2.4 Penentuan kandungan DNA nukleus

Akar primer *C. annuum* yang berumur 7 hari dan kepanjangan piawai (21.20 ± 0.84 mm bagi var. MC 5 dan 21.45 ± 0.93 mm bagi var. MC 4) diwarnakan dengan Feulgen seperti pada bahagian 3.2.1. Slaid-slaid kekal ini dianalisa di bawah mikroskop cahaya (Zeiss Axioscope) yang disambungkan ke sistem analisis imej Vidas 21 oleh Kontron Elektronik. Sistem ini menggunakan pakej perisian ('software') untuk pengukuran DNA.

Berdasarkan kepada histogram tahap ploidi, nilai \underline{C} pada julat-julat tertentu digunakan sebagai petunjuk kepada fasa-fasa peringkat pembahagian sel (Evans dan Van't Hof, 1974). Sekiranya kadar nilai \underline{C} bagi nukleus berada di antara $0-2.2\underline{C}$ maka ianya adalah dalam fasa G1, $2.2-3.6\underline{C}$ (fasa S), $3.6-4.8\underline{C}$ (G2) dan apabila lebih daripada $4.8\underline{C}$ ianya dianggap poliploidi. Ini adalah kerana, taburan normal nukleus bagi fasa G2 adalah di antara 3.6 hingga $4.8\underline{C}$.

Data-data ini diambil dari 150 sel pada peringkat interfasa daripada tiga slaid kekal yang telah disediakan seperti di bahagian 3.2.1. Kandungan DNA dalam sel interfasa ini berdasarkan kepada kandungan DNA pada sel-sel rujukan iaitu sel pada peringkat profasa dan telofasa daripada slaid yang sama. Kandungan DNA pada sel-sel rujukan pada peringkat profasa dan telofasa ditentukan daripada slaid yang sama. Fasa-fasa dalam pembahagian sel diklaskan mengikut nilai \underline{C} DNanya yang berbeza iaitu 0-2.2 (G1), 2.4-3.6 (S), 3.6-4.8 (G2) dan lebih daripada $4.8\underline{C}$ dianggap sebagai poliploidi (Evans dan Van't Hof, 1974).

3.2.5 Pengukuran Luas Sel dan Nukleus menggunakan teknik 'Nonsquash'

Akar primer *C. annuum* dengan kepanjangan piawai (21.45 ± 0.93 mm bagi var. MC 4 dan 21.20 ± 0.84 mm bagi var. MC 5) yang berumur 7 hari diawet dalam 3:1 (v/v) alkohol : glasial asid asetik selama 24 jam. Akar-akar ini dihidrolisis dalam 5M HCl dan kemudian diwarnakan dalam pewarna Feulgen (Bahagian 3.2.1). Seterusnya slaid-slaid ini diwarnakan dengan 0.2% (w/v) ‘light green’ yang dilarutkan dalam etanol 95% selama 10 minit dan seterusnya direndam dalam alkohol 95% selama 10 minit lagi. Setelah itu, slaid-slaid ini dipindahkan ke dalam larutan xylene untuk 10 minit lagi dan dilekatkan sisip kaca yang baru dan bersih dengan menggunakan DPX. Slaid-slaid ini diperiksa di bawah mikroskop cahaya (Zeiss Axioskop 40x oil objective) yang disambungkan kepada Vidas Kontron Analisis Imej di mana ia terdiri dari komputer, satu monitor, satu monitor imej dan ‘digital tablet’. Semua imej diambil dengan cip tunggal kamera CCD Sonny hitam/putih dan imej ini dipamerkan sebagai imej digital dalam monitor VGA.

Luas sel dan nukleus diukur secara automatik menggunakan program makros yang diperolehi dari perisian ('software') piawaian Vidas. Nilai luas sel dan nukleus diperolehi dari sel-sel pada peringkat profasa sahaja kerana pada peringkat ini saiz sel dan nukleus adalah jelas. Nilai purata luas sel dan nukleus juga direkodkan. Sejumlah 150 sel-sel pada peringkat profasa digunakan untuk mendapatkan purata nilai luas sel dan nukleus untuk setiap sampel. Nisbah luas sel : nukleus juga diperolehi daripada setiap sampel.

3.2.6 Pengiraan Masa Penggandaan Sel (Cdt)

Biji benih *C. annuum* var. MC 4 dan MC 5 dicambahkan secara aseptik sebagaimana diterangkan sebelum ini (Bahagian 2.2). Akar primer yang berumur 7 hari pada kepanjangan piawai (21.45 ± 0.95 mm bagi var. MC 4 dan 21.20 ± 0.84 mm bagi var. MC 5) didedahkan kepada 0.025% (w/v) larutan kolkisina selama 6 jam. Sekurang-kurangnya 6 akar diambil pada setiap jam dan diawetkan dalam 3:1 (v/v) alkohol : glasial asid asetik. Penyediaan slaid tetap dilakukan seperti yang telah diterangkan pada bahagian 3.2.1. Di samping itu, sebanyak 6 akar primer diawet pada 0 jam sebagai kawalan.

Peratus sel-sel pada peringkat profasa dan metafasa dikira pada setiap waktu penyampelan (0, 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 jam). Berdasarkan kepada pengiraan tersebut, perkaitan di antara peratus pengumpulan sel-sel pada fasa metafasa dan masa diplotkan. Kadar sel-sel pada metafasa (m) adalah sama dengan kadar kemasukan sel-sel ke dalam mitosis. Nilai ini digunakan untuk mengira purata masa penggandaan sel mengikut formula Clowes (1961)

[Penyesuaian dari Kaedah Evans *et al.*, 1957] iaitu

$$Cdt = \frac{\ln 2}{m}$$

dengan mengandaikan tiada sel yang tidak memasuki metafasa. Manakala bilangan sel yang memasuki peringkat profasa dijangka konstan. Keadaan ini ditentukan dengan mengira frekuensi peratusan profasa pada setiap waktu penyampelan. Oleh kerana frekuensi peratusan sel-sel pada peringkat profasa ini lebih kurang konstan,

maka nilai-nilai yang diperolehi boleh diterima. Ini menunjukkan bahan kimia kolkisina tidak mengganggu kemasukan sel ke peringkat mitosis, kolkisina hanya berperanan mengumpul sel-sel pada metafasa dengan menghalang pembentukan gelendung. Oleh itu sel-sel tidak dapat meneruskan ke peringkat anafasa.

3.3 KEPUTUSAN

Parameter sitologi yang dikaji dalam kajian ini ialah indeks mitosis (MI), kandungan DNA nukleus, bilangan kromosom, luas sel dan nukleus serta masa penggandaan sel. Nilai-nilai untuk setiap parameter ini telah diperolehi dari akar primer *C. annuum* yang berumur 7 hari pada panjang piawai tertentu di mana bagi var. MC 4 adalah 21.45 ± 0.93 mm dan var. MC 5 adalah 21.20 ± 0.84 mm. Masa hidrolisis yang paling sesuai untuk kedua-dua varieti ini ialah 45 minit dalam 5M HCl pada $25 \pm 1^{\circ}$ C. Keadaan dan waktu hidrolisis yang paling optima ini amat penting supaya DNA bagi setiap sel dapat diwarnakan dengan jelas dan sempurna. Ini akan menyenangkan pengiraan kromosom dan pengcaman fasa-fasa dalam mitosis.

3.3.1 Pengiraan Indeks Mitosis *in vivo*

Pengiraan indeks mitosis ditentukan dari 3 slaid tetap bagi setiap varieti seperti yang disediakan di bahagian 3.2.1. Purata nilai indek mitosis diperolehi menggunakan formula

$$MI = \frac{\text{Bilangan Sel yang Membahagi}}{\text{Jumlah semua sel}} \times 100\%$$

Nilai MI yang diperolehi dari akar primer *C. annuum* var. MC 4 yang ditanam secara *in vivo* ialah $20.56 \pm 1.95\%$ dan dari var. MC 5 ialah $22.11 \pm 1.26\%$. Nilai MI ini diperolehi berdasarkan kepada 1000 sel yang diambil secara rawak dari setiap 3 slaid tetap.

3.3.2 Bilangan Kromosom

Terdapat banyak kesulitan yang dihadapi untuk mengira bilangan kromosom bagi *C. annuum* varieti tempatan ini. Di antaranya ialah saiznya yang terlalu kecil, kesukaran untuk mendapatkan satu lapisan sel sahaja pada slaid dan kadangkala kromosom ini berlapis serta berkelompok. Sungguhpun begitu, kajian ini telah berjaya dijalankan. Bilangan kromosom direkodkan sebagai nilai purata. Purata bilangan kromosom bagi *C. annuum* var. MC 4 ialah 24 dan berjulat di antara 21- 25 (Plat 1). Bagi *C. annuum* var. MC 5 pula bilangan kromosom adalah sama iaitu 24 tetapi julat antara 20 - 25.

3.3.3 Pengukuran Kandungan DNA Nukleus

Peratusan frekuensi nukleus pada sel meristem akar *in vivo* *C. annuum* var. MC 4 yang berumur 7 hari pada purata panjang akar 21.45 ± 0.93 mm dalam fasa G1 ialah 6%, S adalah 19.3%, G2 juga 19.3% dan 55.4% adalah dalam fasa poliploidi (Rajah 4a, Apendiks II). Bagi var. MC 5 pula, frekuensi nukleus pada fasa G1 ialah 5.3%, bagi fasa S ialah 12.7%, G2 pula ialah 10.7% dan 71.3% adalah poliploidi (Rajah 4b, Apendiks II). Nukleus poliploidi hadir pada kedua-dua varieti *C. annuum* dalam keadaan *in vivo*.

3.3.4 Pengukuran Luas Sel dan Nukleus

Purata luas sel akar *in vivo* var. MC 4 ialah $261.43 \pm 6.56 \mu\text{m}^2$ (Rajah 5a, Apendiks II), manakala purata luas nukleus meristem akar ialah $74.70 \pm 1.57 \mu\text{m}^2$ (Rajah 5b, Apendiks II). Nisbah luas nukleus kepada sel adalah 0.3. Manakala bagi var. MC 5 pula, purata luas sel adalah $265.82 \pm 0.08 \mu\text{m}^2$ (Rajah 6a, Apendiks II), purata luas nukleus pula ialah $69.82 \pm 4.50 \mu\text{m}^2$ (Rajah 6b, Apendiks II) dan nisbah luas nukleus kepada sel adalah 0.3. Keputusan-keputusan ini sebagai data rujukan dan untuk perbandingan dengan keputusan eksperimen seterusnya.

3.3.5 Masa Penggandaan Sel (Cdt)

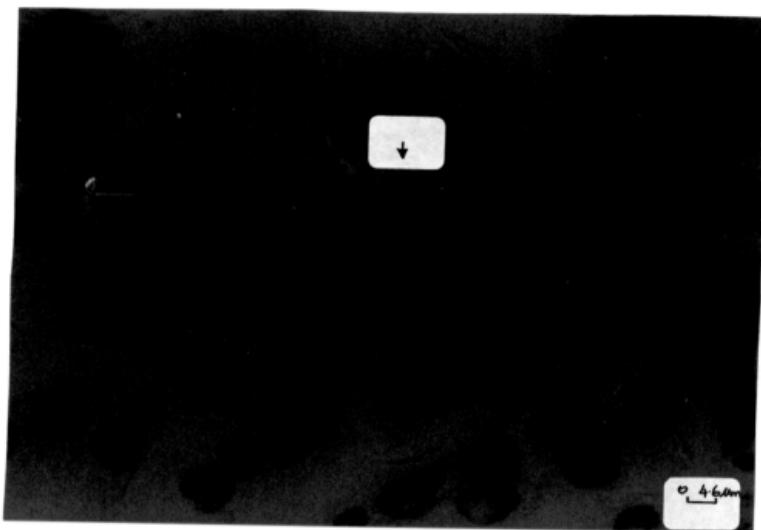
Berdasarkan kepada graf peratusan metafaza melawan masa, korelasi linear diperolehi. Persamaan yang diperolehi adalah ;

$$Y = 4.6X + 3.3 \quad (\text{Rajah 7a})$$

Dengan menggunakan kadar pengumpulan metafaza (m) yang diperolehi dari graf, masa penggandaan sel diperolehi dari formula

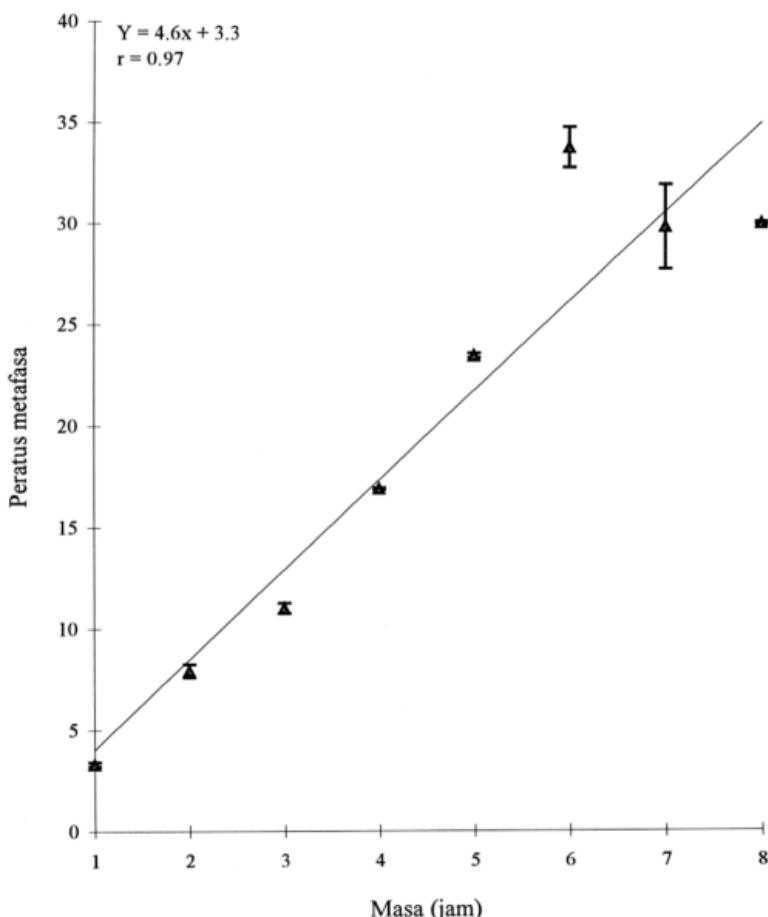
$$\text{Cdt} = \frac{\ln 2}{m}$$

Masa penggandaan sel bagi var. MC 4 yang ditanam secara *in vivo* ialah 24.83 jam dan bagi var. MC 5 ialah 15.07 jam.

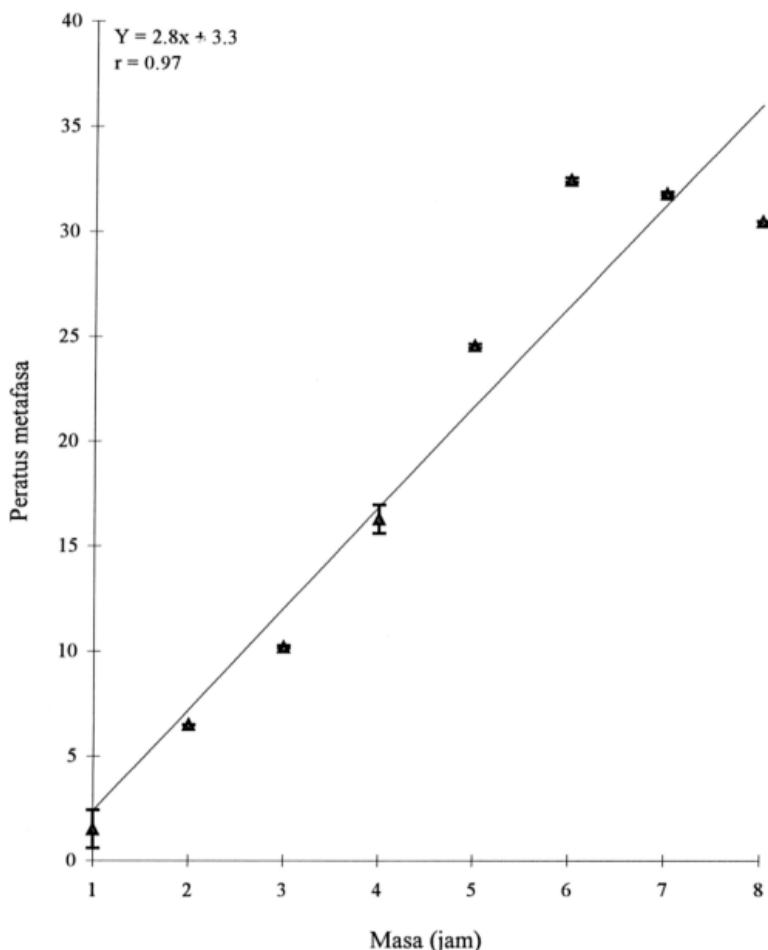


Plat 1 : Nukleus sel akar primer *C. annuum* var. MC 5 yang ditanam secara *in vitro* di atas media MS yang dibekalkan dengan 0.2 mg/l IAA selepas 3 bulan yang menunjukkan peringkat metaphase dengan bilangan kromosom $2n=2x=24$

Rajah 7a : Perkaitan di antara peratus frekuensi metafasa dan tempoh dedahan kepada 0.025% kolifikasi bagi sel-sel akar primer *C. annuum* var. MC 5 yang ditanam secara *in vivo* pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ dan diberi 16 jam cahaya dan 8 jam gelap.



Rajah 7b : Perkaitan di antara peratus frekuensi metafasa dan tempoh dedahan kepada 0.025% kolkisina bagi sel-sel akar primer *C. annum* var. MC 4 yang ditanam secara *in vivo* pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ dan diberi 16 jam cahaya dan 8 jam gelap.



3.4 RINGKASAN KEPUTUSAN

1. Nilai indeks mitosis (MI) bagi var. MC 4 yang ditanam secara *in vivo* ialah $20.56 \pm 1.95\%$.
Nilai indeks mitosis (MI) bagi var. MC 5 yang ditanam secara *in vivo* ialah $22.11 \pm 1.26\%$.
2. Purata bilangan kromosom bagi *C. annuum* var. MC 4 ialah 24 dengan julat 21 - 25.
Purata bilangan kromosom bagi *C. annuum* var. MC 5 ialah 24 dengan julat 20-25.
3. Purata luas sel bagi sel-sel akar primer *C. annuum* var. MC 4 ialah $261.43 \pm 6.56 \mu\text{m}^2$ manakala purata luas nukleusnya pula ialah $74.70 \pm 1.57 \mu\text{m}^2$
Purata luas sel bagi sel-sel akar primer *C. annuum* var. MC 5 *in vivo* ialah $265.82 \pm 0.08 \mu\text{m}$ manakala purata luas nukleusnya pula ialah $69.82 \pm 4.50 \mu\text{m}^2$
4. Dalam akar 'intact' bagi *C. annuum* var. MC 4 nukleus pada fasa G1 ialah 6%, S, 19.3% dan G2 ialah 19.2%. Bagi var. MC 5 pula nukleus pada fasa G1 ialah 5.3%, S 12.7% dan G2 adalah 10.7%. Manakala 71.3% adalah poliploidi.
5. Masa penggandaan sel pada akar *C. annuum* yang ditanam secara *in vivo* bagi var. MC 4 adalah 24.83 jam dan bagi var. MC 5 adalah 15.07 jam.