



Original Article: CLASTICHE E TURBOGENE EFFETTI CULTURA MANNITOLO CALLO TRITICALE INVERNO

Citation

Pykalo S. Clastiche e turbogene effetti cultura mannitolo callo Triticale Inverno. *Italian Science Review*. 2015; 5(26). PP. 161-164.

Available at URL: <http://www.ias-journal.org/archive/2015/may/Pykalo.pdf>

Author

Sergey Pykalo, Mironov Institute of Wheat after V.N. Remeslo, Ukraine.

Submitted: May 08, 2015; Accepted: May 22, 2015; Published: May 31, 2015

Ingresso

Triticale (\times Triticosecale Wittmack) - l'unico tipo di cereali, creato artificialmente dall'uomo, e ha trovato ampio utilizzo come alimenti, mangimi e colture industriali [1]. Il principale fattore negativo sulla pianta questa coltura è siccità. Esercitando pressione osmotica, essa riguarda tutti i processi fisiologici e, in ultima analisi, riduce la produttività degli impianti [2]. Studio di regolarità e le caratteristiche della variabilità genomica strutturale e funzionale di cereali sotto l'influenza di fattori di stress offre un contributo significativo alla creazione di meccanismi di resistenza ai fattori ambientali negativi [3]. Applicazione della cultura in vitro ci permette di considerare l'azione dei fattori di stress sulla cellula in condizioni strettamente controllate di coltivazione e offre la possibilità di eliminare il complesso rapporto correlativa tra i vari organi e tessuti. In livello citologico dimostra che in condizioni di agenti osmotici è una diminuzione della attività mitotica delle cellule, che è accompagnato da notevoli cambiamenti morfologici e citochimici di nuclei e nucleoli. [4] Significativo effetto citotossico in particolare mannitolo, è stato trovato in studi in colture cellulari in vitro *Centaurea ragusina* L. [5], e le linee di frumento callo [3]. Esso rilevato come

aberrazioni cromosomiche e anomalie mitotiche associate con mandrino compromessa. Lo scopo del nostro studio è stato quello di esaminare gli effetti clastogenici e mannitolo sulla struttura genetica delle cellule callo di triticale invernale.

Materiali e metodi

Gli studi sono stati materiali colture di calli derivati da espianti sparare Apex 3 giorni di età pianticelle sterili esaploide inverno linee triticale 38/1296. Per mezzo di induzione del callo è stato usato Murashige e Skoog (MS) [6], che contiene ulteriori 2,4-D ad una concentrazione di 2,0 mg / l. Callo è stato coltivato a 26 ° C, 3-4 luce, umidità relativa del 70% e un fotoperiodo 16 ore. Come un fattore di stress con mannitolo, che è stata aggiunta al mezzo di coltura in concentrazioni subletali - 0,6 M. concentrazioni letali e subletali di mannitolo in coltura di tessuti di triticale sono stati installati nei nostri studi precedenti [7]. Abbiamo servito come controllo colture di calli coltivate in mezzo senza fattore di stress.

100-150 analizzato anafase, telofase e piastre in interfase in ogni variante dell'esperimento. L'analisi citogenetica di colture di calli sono state eseguite nel periodo di massima attività mitotica per 5-7 cultura giorno in I, III e VI passaggi.

Citologia è stata eseguita, escluso l'effetto sulla mitosi, utilizzando tecniche di fissaggio standard (etanolo, acido acetico, 3: 1). Calli e colorati con 2% formulazioni sono state preparate con procedura temporaneo standard [8]. Effetto citogenetica di mannitolo sulla coltura del tessuto di triticale è stata determinata dalla frequenza di aberrazioni cromosomiche strutturali e anomalie mitosi. Elaborazione statistica dei dati viene determinato errore della media aritmetica e l'intervallo di confidenza del coefficiente di Student.

Risultati e discussione

La presenza nell'ambiente di concentrazioni subletali di mannitolo ha comportato un aumento della frequenza di aberrazioni cromosomiche. Nel primo passaggio, il numero di cellule con aberrazioni nel controllo calli era al 5,3%, mentre nel calli sperimentale questa figura è stato tre volte superiore - 17,6% (Table).

Questo suggerisce che alte concentrazioni di mannitolo clastogenico hanno pronunciato effetto sulla cultura callus triticale. La stragrande maggioranza delle aberrazioni presente nelle cellule come ponti cromatidi (Fig. 1a) e frammenti (Fig. 1b). Un numero significativo di aberrazioni nel nostro esperimento rappresentato come ponti cromatidiche, suggerendo conservazione delle generazioni di cellule in cromosomi dicentrici. Il numero totale di anaphase aberranti con frammenti di circa il 65% - che è, lo spettro è dominato danno cellulare discontinuità "freschi". Un significativo aumento del loro numero indica un impatto significativo di mannitolo sull'apparato cromosomico delle cellule ed effetti clastogenici in concentrazioni subletali. Le cellule sono state identificate con disabilità multiple, cioè quelli che sono entrambi i ponti e frammenti (Fig. 1c).

Durante il terzo passaggio in calli coltivati su terreno selettivo, il numero di cellule con aberrazioni non significativamente cambiato, ma era due volte quella del controllo. Nel sesto frequenza passaggio di aberrazioni

cromosomiche non era significativamente cambiato, ma in calo rispetto al primo passaggio. Questo può essere dovuto ad una specifica popolazione cellulare adattamento a condizioni di stress.

La quantità totale di anomalie mitotiche associata ad alterazioni fuso mitotico, il controllo non supera il 3% (Fig. 2). Sono stati trovati mitosi multipolari (Fig. 1d), i cromosomi arretrate (Fig. 1e), cellule resta (Fig. 1f), cellule con micronuclei (Fig. 1g), e doppia (Fig. 1h). Su terreni selettivi con 0,6 M mannitolo nelle prime anomalie di frequenza passaggio mitosi associati alla compromissione fuso mitotico, è aumentato al 13%. Va notato che nella maggioranza delle violazioni erano mitosi multipolare (circa 55%). E 'noto che una tale anomalia di divisione cellulare è una manifestazione della forte effetto anti-microtubulo di composti tossici [9]. Inoltre, quando una concentrazione subletale nel primo passaggio aumento del numero di cellule con micronuclei (25-30%), che è un segno di apoptosi, instabilità genomica e indicatore significativo dell'effetto genotossico di mannitolo sulle cellule. La percentuale di cellule con cellule era bassa (circa il 5%). Cellule Resta (cellule con nuclei lobati) possono essere generati dall'uscita di cellule con K-mitotica distribuiti casualmente decondensazione cromosoma, bypassando la fase di segregazione cromosomica e la formazione della parete cellulare. Microkernel possono essere formate come risultato di cromosomi mitotici cellule uscita in ritardo [10]. Tali anomalie cellule interfase nucleari come turbogene caratterizzare l'effetto di mannitolo.

Risultati

Pertanto, come risultato della ricerca effettuata da noi analisi citogenetica di colture di calli di triticale invernale sotto stress osmotico. Si è stabilito che subletali fattore di concentrazione di stress (mannitolo) ha espresso turbogene ed effetti clastogeni e cause nelle cellule callo triticale significative violazioni delle divisioni cellulari.

References:

1. Bilityuk A.P., Girko V.S., Kalensky S.M., Andrushkiv M.I. 2004. Triticale in Ukraine. 388 p.
2. Avdeev Yu.I., Slashcheva L.A. 2014. Stability of winter triticale to extreme environmental factors in the arid zone of cultivation. P. 84-87.
3. Zinchenko M.O., Dubrovno A.V., Baval A.V. 2012. Cytogenetic effect of mannitol on wheat callus cultures, stable and unstable metabolites to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. P. 508-515.
4. Yumurtaci A., Aydin Y., Uncuoglu A. 2009. Cytological changes in Turkish durum and bread wheat genotypes in response to salt stress. *Acta Biologica Hungarica*. P. 221-232.
5. Radic S., Prolic M., Pavlica M., Pevalek-Kozlina B. 2005. Cytogenetic effects of osmotic stress on the root meristem cells of *Centaurea ragusina* L. *Environmental and Experimental Botany*. P.213-218.
6. Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. P. 473-497.
7. Pykalo S.V., Zinchenko M.A., Voloshchuk S.I., Dubrovnaya O.V. 2014. Selection in vitro genotypic winter triticale on Stability for osmotic stress in culture shoot apical meristems. P. 202-205.
8. Pausheva Z.P. 1980. Workshop on cytology plants. P. 168-170.
9. Fiskesjo G. 1995. In vitro toxicity testing protocol. Humana Press, Totowa. P. 119-127.
10. Ilyinskih N.N., Ilyinskih I.N., Bocharov E.A. 1986. Immunity and cytogenetic instability. Tomsk.: Publishing House of Tomsk University. 223 p.

Tabella

La frequenza di aberrazioni cromosomiche in cellule di colture di calli di triticale da loro coltura in mezzi di controllo e selettivi

Variante	Anaphases indagati, pz.	Numero anaphases violazioni, pz.	Rate,%
1 passaggio			
Controllo	150	8	5,3±1,8
Esperienza	136	24	17,6±3,3*
3 passaggio			
Controllo	132	9	6,8±2,2
Esperienza	116	17	14,7±3,3*
6 passaggio			
Controllo	137	11	8,0±2,3
Esperienza	104	12	11,5±,3,1

Fig. 1. Le violazioni della mitosi nelle cellule triticale callo quando coltivate su terreni selettivi: a - cromatidi ponti; b - frammenti multipli; c - molteplici violazioni; d - tripolare mitosi; e - lag cromosoma; f - microkernel; g - cell resta; h - cell dual-core.

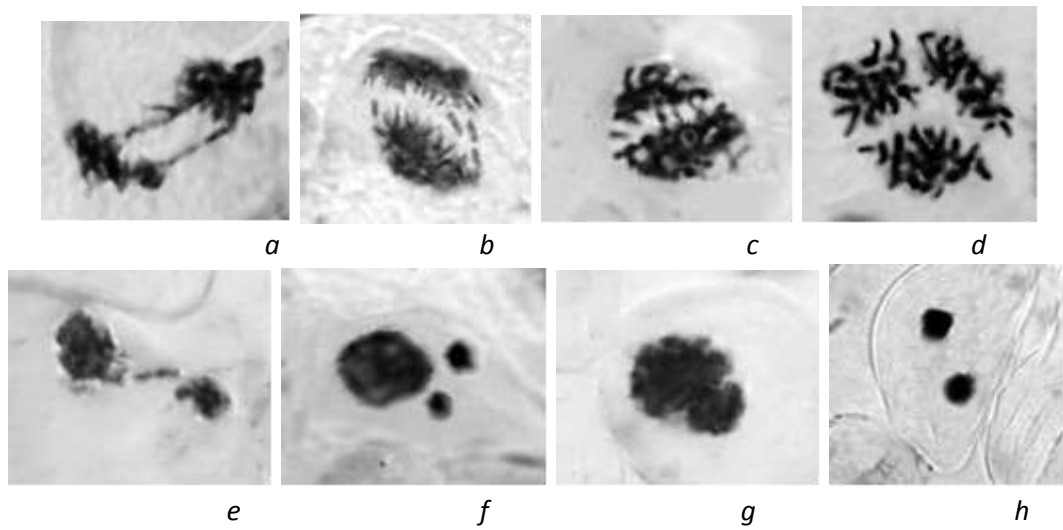


Fig. 2. Incidenza turbogene culture effetti triticale calli sui media con la concentrazione subletali di mannitolo in coltura per 6 passaggi.

