

УДК 581.144.4:58.04

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ СЛАБЫХ МУТАГЕНОВ НА ПРИМЕРЕ *LOLIUM PERENNE* L. И ГИДРАЗИДА МАЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Тиханков И.А.

*Днепропетровский национальный университет им. О. Гончара, Днепропетровск,
e-mail: 24traven@ukr.net*

С целью изучения влияния слабого мутагена на морфогенез листа злаковых проводилась обработка семян *Lolium perenne* L. растворами разных концентраций гидразида малеиновой кислоты (ГМК) в определенных временных рамках. Поскольку листовые пластинки в зерновке находятся на разных стадиях своего развития, то действию препарата подвергались разные группы генов, отвечающие за морфогенез. Влияние ГМК на формирование каждого листа определялось по морфометрическим параметрам на его поперечных срезах после полного окончания роста листовой пластинки. Анализировались количество проводящих пучков, их площадь, площадь обкладок и паренхимы. Было выяснено, что чем далее зашло развитие листа на момент обработки, тем меньше ее эффективность. В пределах каждого листа, действие препарата на его отдельные участки определяется степенью дифференциации проводящих пучков и носит сложный характер. Кроме того, определенные условия обработки могут привести к увеличению количества проводящих пучков, а продолжительность аппликации препарата не равнозначна повышению его концентрации в растворе. Изложенный в статье подход может применяться при исследовании механизмов морфогенеза.

Ключевые слова: морфогенез, мутаген, гидразид малеиновой кислоты (ГМК), лист, райграсс

SOME ASPECTS OF PLANT MORPHOGENESIS REGULATION USING WEAK MUTAGENS BY EXAMPLE OF *LOLIUM PERENNE* L. AND MALEIC HYDRAZIDE

Tikhankov I.A.

Dnepropetrovsk national university by name O. Gonchar, Dnepropetrovsk, e-mail: 24traven@ukr.net

The seeds of *Lolium perenne* L. were pretreated by maleic hydrazide (MH) solutions of various concentrations for certain time period to investigate how weak mutagens might modify the leaf morphogenesis of monocots. That the embryonic leaves are at various stages of their development, the different groups of genes which are responsible for the morphogenesis would be accessible for maleic hydrazide activity. To estimate the after-effect of such pretreatment some morphometric parameters were used. They were taken from cross sections of each leaf when they finished their growing. This was the number and square of vascular bundles, the square of bundles sheathes and mesophyll. The research has discovered that a leaf is more sensible if its development is not so far. The different parts of each leaf have their own drug responses which are connected with rate of differentiation of vascular bundles and have very complex pattern. Beside of this the number of vascular bundles will increase in certain treatment conditions. The other result of investigation is that increasing of MH concentration in solution is not equal to elongation of seed pretreatment by solution of less MH concentration. The results and arrangement which were described in this article may be useful for further investigation of morphogenesis mechanisms.

Keywords: morphogenesis, mutagen, maleic hydrazide (MH), leaf, ryegrass

Изучение морфогенеза является одним из ключевых направлений развития биологии. Ход этого процесса и его конечный результат определяют функциональное состояние организма и то, как будут осуществляться основные физиологические функции. Поэтому на первое место выходит вопрос о возможности регуляции формирования тканей и органов растений. Особенное значение это имеет в биотехнологии для получения регенерантов из калуса. Наиболее эффективно такая регуляция может осуществляться через модификацию гормональной системы или системы генетического контроля. Второй вариант имеет определенные преимущества, так как не требует постоянного поступления физиологически активных веществ в организм, может обеспечить более высокую избирательность воздействия, а также длительное последствие. Для его осуществления могут использоваться вещества, вызыва-

ющие мутации или непосредственно блокирующие/активирующие регуляторные гены. Избирательность такого воздействия на геном определяется химической структурой действующего вещества и функциональным состоянием генома в тех или иных частях растения. Последнее подразумевает то, что ход онтогенеза определяется последовательным включением и выключением определенных групп генов. При этом наиболее подвержены мутагенному действию гены, находящиеся в активном состоянии. Наибольший интерес представляют слабые мутагены, не вызывающие тотальной деструкции ДНК [8].

Все вышесказанное определило тему, цель, предмет и методы исследований. Целью стало изучение возможности регуляции развития надземных вегетативных органов злаков с помощью слабого мутагена. Для этого были выбраны райграсс (*Lolium perenne* L.) и гидразид малеиновой кислоты

(ГМК), ставшие предметами исследования, которое проводилось с помощью методов световой микроскопии.

Материалы и методы исследования

Причины, по которым в качестве модельного растения был выбран *L. perenne*, а действующим веществом ГМК, описаны в предыдущих публикациях [3, 4]. Основным методом исследования стала морфометрия полутонких поперечных срезов средней части листьев.

Семена райграса трех сортов (RAPID, SAKINI, ESQUIRE), отличающихся друг от друга физиологическими характеристиками и реакцией на ГМК [4, 6], обрабатывались в течение 24-х и 48-ми часов растворами с концентрацией препарата 0,0005; 0,002; 0,008 и 0,032%. После этого они высаживались на грунтовый субстрат. Детально условия обработки семян, выращивания растений и методики подготовки препаратов к микроскопии описаны ранее [4, 6]. Анализ проводился по отдельным участкам поперечного среза первых трех листьев райграса, которые уже закончили свой рост, а на момент обработки находились в зерновке на разных стадиях развития [6]. Участки включали проводящие пучки с разной степенью дифференциации и прилегающие к ним ткани [5]. Для оценки действия ГМК использовался коэффициент физиологической активности препарата (КФА), который определяется делением значения конкретного параметра в опытном варианте на его значение в контроле [6]. КФА меньше единицы указывает на отрицательное действие препарата, если коэффициент больше единицы, это свидетельствует об усилении формообразования. Для морфометрии использовалась программа ImageJ, а для статистической обработки – Statistica.

Результаты исследования и их обсуждение

Работа была построена на предположении, что архитектура листа определяется на ранних этапах его развития и определяется разной активностью конкретных генов на отдельных участках. При этом определяющую роль играет проводящая система, инициальные клетки которой формируются еще на стадии примордия [9]. Полученные данные полностью подтвердили такие предположения.

Один из наиболее значительных результатов работы – это установление факта изменения количества проводящих пучков в листе под действием ГМК. В норме каждый лист содержит, как правило, 5 проводящих пучков (табл. 1). Наиболее развитым и дифференцированным является центральный, несколько менее развиты два латеральных. Между центральным и латеральными находятся по одному, с каждой стороны листа относительно продольной оси симметрии, слабо дифференцированному пучку. В них на поперечных срезах невозможно отличить проводящие элементы от паренхимных. Все изменения количества жилок происходили за счет отсутствия или форми-

рования таких слабо дифференцированных пучков. При этом 1-й лист всех трех сортов оказался индифферентным по отношению к препарату. Только у сорта ESQUIRE с чрезвычайно выраженной отрицательной чувствительностью к препарату при жестких условиях, высокая 0,008% концентрация ГМК и длительная 48-ми часовая обработка, количество пучков уменьшилось до 3-х. Незначительные изменения были зафиксированы во 2-м листе тех сортов, на которые ГМК оказывает умеренный ретардантный (SAKINI) и условно стимулирующий (RAPID) эффект [4, 6]. Количество пучков увеличивалось до 6-ти только при длительной аппликации 0,008% раствора. Наиболее значительные изменения наблюдались в 3-м листе, который на момент обработки препаратом был представлен в отличие от первых двух не зародышевыми листьями, а примордием. Количество жилок увеличивалось до 6-ти уже при любом способе обработки семян у SAKINI, а у RAPID только при использовании 0,008% раствора в течение 24-х часов. Увеличение продолжительности обработки 0,008% ГМК до 48-ми часов привело к появлению у RAPID 4-х новых слабо дифференцированных пучков и значительному увеличению ширины листа. Дальнейшее увеличение концентрации препарата независимо от времени его аппликации угнетало развитие проводящей системы. Количество пучков всегда было меньше, чем в контроле. Что касается растений ESQUIRE, то их формирование и развитие настолько сильно подавлялось даже низкими концентрациями ГМК, что не было смысла проводить для него анатомические исследования.

Необходимо также отметить, что варьирование концентрации препарата в пределах 0,0005–0,008% при 24-х часовой обработке давало идентичный результат. Такой же, как и при более длительной обработке 0,0005 и 0,002% растворами.

Что касается площади проводящих пучков на поперечных срезах, то этот параметр изменялся в значительных пределах и несколько неожиданным образом, поскольку наиболее чувствительным к ГМК оказался 2-й лист, который начал формироваться в эмбриональном периоде, а не 3-й, представленный в зерновке примордием (табл. 2). При этом наблюдалось не только уменьшение площади пучков, как в 1-м листе, но иногда и ее увеличение. Однако если площадь центрального пучка возрастала, то площадь латерального уменьшалась и наоборот. Еще одним отличием между этими листьями является то, что 1-й лист оказался индифферентным к изменению условий

обработки. Для него имело значение только присутствие ГМК, тогда как 2-й реагировал как на изменение концентрации, так и продолжительности аппликации. В этом плане необходимым условием существенного изменения площади пучков в 3-м листе была длительная обработка 0,008% раствором. При более короткой обработке изменение концентрации не имело значения. В этом проявляется схожесть с 1-м листом, но в отличие от него площадь пучков мало отличалась от контроля. Важным результатом является и то, что латеральный пучок по параметру площади оказался более лабильным, чем сильно дифференцированный центральный. Иногда для сортов SAKINI

и ESQUIRE, относительно которых проявляется ретардантный эффект ГМК, раствор с низкой концентрацией препарата мог более существенно изменить площадь пучка, чем раствор с более высокой концентрацией. Данные по 3-му листу растений сорта ESQUIRE отсутствуют, поскольку его развитие настолько сильно подавлялось даже 0,0005% ГМК, что он появлялся только у очень малой части растений и был чрезвычайно малой длины. Проводить морфометрию для латерального пучка 3-го листа растений RAPID в том варианте (0,008% ГМК и 48 часов обработки), где возле него появились новые проводящие пучки, также не представляется корректным.

Таблица 1

Количество проводящих пучков в листьях *L. perenne* в некоторых вариантах обработки

Сорт	Лист	Вариант обработки			
		Контроль	0,0005% ГМК, 24 часа	0,008% ГМК, 24 часа	0,008% ГМК, 48 часов
RAPID	1-й	5	5	5	5
	2-й	5	5	5	6
	3-й	5-6	5-6	6	9
SAKINI	1-й	3-4	3-4	3-4	3-4
	2-й	5	5	5	6
	3-й	5	6	6	6
ESQUIRE	1-й	4-5	4-5	4-5	3
	2-й	5	5	5	3

Таблица 2

КФА относительно площади проводящих пучков в листьях *L. perenne*

Сорт	Пучок	Центральный			Латеральный			
		Условия обработки	0,0005% ГМК, 24 часа	0,008% ГМК, 24 часа	0,008% ГМК, 48 часов	0,0005% ГМК, 24 часа	0,008% ГМК, 24 часа	0,008% ГМК, 48 часов
RAPID	1-й лист		0,85	0,85	0,87	0,89	1,12	0,86
	2-й лист		1,15	1,08	1,00	0,74	0,85	1,06
	3-й лист		0,97	1,02	1,35	0,76	0,69	–
SAKINI	1-й лист		0,94	0,77	0,85	0,82	0,78	0,63
	2-й лист		0,67	0,99	0,85	1,16	1,24	0,97
	3-й лист		1,02	1,03	0,88	0,92	0,96	0,89
ESQUIRE	1-й лист		0,88	0,91	0,90	0,90	0,86	0,77
	2-й лист		0,58	0,86	0,86	0,74	0,65	0,94

Факт большей эффективности раствора низкой концентрации подтвердился также при анализе площади обкладок, что наблюдалось для тех же листьев тех же сортов (табл. 3). Аналогичность реакции пучка и его обкладки была характерна только для центрального сильно дифференцированного пучка при 24-часовой обработке. Увеличение ее продолжительности приводило к более значительному изменению площади

обкладки, чем самого пучка. Что касается менее дифференцированного латерального пучка, то площадь его обкладки могла изменяться противоположно изменению площади пучка.

Растворы низких концентраций были еще более действенными по отношению к клеткам мезофилла (табл. 4), которые демонстрировали большую лабильность по сравнению с клетками обкладки

центрального пучка, а в некоторых случаях и латерального. Вместе с тем иногда наблюдалась идентичность реакции этих двух

типов клеток как вокруг центрального, так и латерального пучка, что зависело от сорта *L. perenne*.

Таблица 3

КФА относительно площади обкладки проводящих пучков в листьях *L. perenne*

Сорт	Обкладка Условия обработки	Центрального пучка			Латерального пучка		
		0,0005 % ГМК, 24 часа	0,008 % ГМК, 24 часа	0,008 % ГМК, 48 часов	0,0005 % ГМК, 24 часа	0,008 % ГМК, 24 часа	0,008 % ГМК, 48 часов
RAPID	1-й лист	0,88	0,91	0,98	0,66	0,75	0,88
	2-й лист	0,93	0,92	0,85	1,11	1,41	1,66
	3-й лист	1,07	1,20	1,12	1,28	1,09	–
SAKINI	1-й лист	0,75	0,73	0,86	0,75	0,75	0,72
	2-й лист	0,60	0,92	0,81	0,99	0,93	0,79
	3-й лист	0,79	0,94	0,63	1,02	1,29	0,85
ESQUIRE	1-й лист	0,97	1,03	1,04	1,13	1,17	0,89
	2-й лист	0,52	0,63	0,91	0,79	0,58	0,97

Таблица 4

КФА относительно площади паренхимы на отдельных участках листьев *L. perenne*

Сорт	Паренхима Условия обработки	Центральный участок			Латеральный участок		
		0,0005 % ГМК, 24 часа	0,008 % ГМК, 24 часа	0,008 % ГМК, 48 часов	0,0005 % ГМК, 24 часа	0,008 % ГМК, 24 часа	0,008 % ГМК, 48 часов
RAPID	1-й лист	0,88	0,90	1,09	0,93	0,96	1,33
	2-й лист	1,38	1,35	1,04	1,25	1,43	1,55
	3-й лист	1,89	1,71	1,71	1,66	1,35	–
SAKINI	1-й лист	0,45	0,65	0,77	1,04	1,10	0,85
	2-й лист	0,94	1,23	0,91	0,99	1,05	1,05
	3-й лист	1,01	1,28	1,00	0,93	1,11	0,93
ESQUIRE	1-й лист	0,64	0,81	0,81	0,88	0,88	0,89
	2-й лист	0,66	0,77	0,96	0,57	0,53	0,94

Следует также отметить тот факт, что у сорта RAPID, положительно реагирующего на ГМК, отмечается, как правило, увеличение площади паренхимы на всех участках листа. У сорта SAKINI с умеренной ретардантной реакцией, площадь паренхимы может незначительно отклоняться от контрольных значений в обе стороны. Рост растений сорта ESQUIRE очень сильно угнетается ГМК, и площадь паренхимы по всей ширине листа значительно меньше, чем в контроле. Кроме этого, интерес представляет то, что у всех сортов паренхима центрального участка несколько более чувствительна к действию препарата по сравнению с латеральным.

Как известно, инициальные клетки проводящей системы закладываются еще на стадии формирования примордия, и этот процесс запускается активированием группы генов *PINHEAD/ZWILLE (PNH)* на определенных участках апекса [9]. В даль-

нейшем в этих же клетках происходит репрессия генов *SHOOTMERISTEMLESS (STM)*, поддерживающих меристематическое состояние клеток, и которые негативно контролируются *ASYMMETRIC LEAVES1*. Еще позднее начинают работать *KNOX*-гены, состоящие из разных подгрупп, определяющих формирование отдельных элементов проводящей системы и архитектонику прилегающих участков листа. Их активность контролируется генами, аналогичными *ROUGH SHEATH2* у *Zea mays L.*

В зерновке *L. perenne* первые два листа находятся в зародышевом состоянии, а 3-й – в виде формирующегося примордия. При этом следует учитывать, что 2-й лист появляется на поверхности грунта только через 10 суток после выхода 1-го настоящего листа.

Таким образом, что касается 3-го листа, можно предположить, что действию ГМК были подвержены те группы генов, которые определяют саму закладку проводящих

пучков, поскольку они, возможно находились в активном состоянии. В то же время в 1-м и 2-м листьях эти гены, вероятно, уже находятся в состоянии молчания, а активны гены, ответственные за формирование деталей проводящих пучков. Именно поэтому наиболее кардинальные изменения происходили в 3-м листе. Когда продолжительность обработки увеличивалась до 48-ми часов, действию ГМК могли быть доступны также те гены, которые в первые 24 часа от начала замачивания были еще не активны. Именно при длительной обработке семян сорта RAPID 0,008% ГМК появлялось 4 новых пучка. Однако при более низких концентрациях препарата фактор времени значения не имел. Обработка 0,032% ГМК даже в течение 24-х часов приводила только к редукции проводящей системы. То есть для достижения максимального морфогенетического эффекта необходимо учитывать как временной фактор, так и концентрацию мутагена, которая должна достигать какого-то критического значения. Превышение этого порога концентрации препарата приводит к исключительно негативным последствиям. При этом проявляется закономерность: у сорта ESQUIRE с ярко выраженной ретардантной реакцией на ГМК наблюдалась только редукция количества проводящих пучков, у сорта SAKINI с умеренной ретардантной реакцией количество пучков могло увеличиться, а у сорта RAPID, длина листьев которого возрастает под действием ГМК [4], количество пучков значительно увеличивается.

Исходя из постулата, лежащего в основе работы, можно предположить, что 2-й лист находится в зерновке в таком состоянии, когда определяются детали проводящей системы, обеспечивающие впоследствии соответствующие размеры пучков. Вероятно, ответственные за это гены начинают проявлять активность несколько ранее, поскольку определенных результатов можно было добиться и от 3-го листа, но в условиях жесткой обработки (0,008% ГМК в течение 48-ми часов). Полная индифферентность 1-го листа к изменению условий обработки свидетельствует о таком его состоянии в зерновке, когда возможна только грубая регуляция размеров пучков с использованием ГМК. Вероятно, соответствующие гены уже переходят в неактивное состояние. Это подчеркивает значение временного фактора для достижения желательного морфогенетического эффекта, что подтверждается работами других авторов [10]. Свидетельством этому может быть и большая лабильность латерального пучка, формирующего несколько позже центрального.

ГМК является чужеродным веществом, которое дестабилизирует физиологическое состояние растения. По этой причине более правильно было бы говорить об условном стимулирующем эффекте препарата, когда под его влиянием наблюдается усиление развития каких-то структур. Растительный организм как любая саморегулирующаяся система будет стремиться сохранить существующий в норме баланс всех процессов. То есть будет каким-то образом противодействовать влиянию препарата. С таких позиций можно рассматривать противоположный характер изменения площади центрального и латерального пучков. Эта общая схема подтверждается рядом других исследований. Например, под действием ретардантов ослабление роста растений в длину компенсируется усилением роста в ширину и толщину [2, 4]. Также хорошо известно, что блокирование роста за счет элонгации клеток компенсируется увеличением количества митозов в меристемах и наоборот [7]. С таких позиций можно рассматривать и большую эффективность растворов ГМК низкой концентрации. Возможно, при этом еще не достигается тот порог присутствия в тканях чужеродного вещества, который мобилизует защитную реакцию растения.

Клетки обкладки по своей морфологии близки к паренхимным, но имеют более тесные функциональные связи с проводящими пучками. Сила таких связей, вероятно, определяется степенью дифференциации пучков. Этим можно пояснить корреляцию между изменениями площади центрального пучка и его обкладки и отсутствие такой корреляции в случае латерального пучка. В пользу этого говорит и большая независимость реакции клеток мезофилла, и большая эффективность по отношению к ним низких концентраций ГМК. То, что иногда клетки паренхимы листа и обкладки пучка одинаково реагировали на ГМК, могло бы свидетельствовать о более тесной связи обкладки с паренхимой, чем с самим пучком. Однако это только предположение, требующее проведения дальнейших более глубоких исследований с применением гистохимических методов. Дать однозначную оценку реакции мезофилла в разных частях листа на основе приведенных данных также невозможно, поскольку тут однозначно задействованы дополнительные факторы, выяснение которых может стать темой дальнейшей работы. Но эти данные подтверждают тот факт, что проводящие пучки образуют единый функциональный комплекс с окружающими структурами [1].

Выводы

1. ГМК может как ограничивать развитие отдельных структурных элементов листа, так и содействовать их формированию и развитию, что зависит от условий обработки и стадии онтогенеза растительного организма.

2. ГМК наиболее эффективен на ранних стадиях формирования структур.

3. Результаты обработки в отдельных частях листа определяются степенью дифференциации проводящих пучков.

4. Применение раствора большей концентрации в течение короткого интервала времени не равнозначно увеличению продолжительности обработки семян раствором ГМК меньшей концентрации.

5. Растворы низких концентраций ГМК могут иметь более сильный морфогенетический эффект, чем растворы более высоких концентраций.

6. Структурные изменения под действием ГМК – это защитная реакция растительного организма, которая имеет сортовую специфичность.

7. ГМК может быть эффективным инструментом изучения процессов морфогенеза растений.

Список литературы

1. Гамалей Ю.В. Флоэма листа: развитие структуры и функций в связи с эволюцией цветковых растений. – Л: Наука, 1990. – 144 с.
2. Регуляторы роста растений / К.З. Гамбург, О.Н. Кулаева, Г.С. Муромцев, Л.Д. Прусакова, Д.И. Чкаников – М: Колос, 1979. – 247 с.
3. Тіханков І.О. Гідразид малеїнової кислоти – фізіологічно активна сполука широкого спектру дії // Вісник Львівського університету. – 2008. – Вип. 47. – С. 3–20.
4. Тіханков І.О., Лихолат Ю.В. Морфо-фізіологічна характеристика листків *Lolium perenne* L. після попередньої обробки насіння гідразидом малеїнової кислоти // Питання біоіндикації та екології. – 2008. – Вип. 13, № 1. – С. 33–45.
5. Тіханков І.О. Різномірність анатомічної структури листової пластинки *Lolium perenne* L. // Вісник Львівського університету. – 2008. – Вип. 48. – С. 59–68.
6. Тіханков І.О., Лихолат Ю. В. Схожість насіння пажитниці багаторічної (*Lolium perenne* L.) після попередньої обробки гідразидом малеїнової кислоти // Вісник Харківського національного аграрного університету. – 2008. – Вип. 2 (14). – С. 68–73.
7. Clay N.K., Nelson T. The recessive epigenetic swellmap mutation affects the expression of two Step II splicing factors required for the transcription of the cell proliferation gene STRUWWELPETER and for the timing of cell cycle arrest in the Arabidopsis leaf // The Plant Cell. – 2005. – Vol. 17. – P. 1994–2008.
8. Gichner T., Menke M., Stavreva D.A. et al. Maleic hydrazide induces genotoxic effects but no DNA damage detectable by the Comet assay in tobacco and field beans // Mutagenesis. – 2000. – Vol. 15, № 5. – P. 385–389.
9. Kwiatkowska D. Structural integration at the shoot apical meristem: models, measurements, and experiments // American journal of botany. – 2004. – Vol. 91. – P. 1277–1293.

10. Scanlon M.J. Polar Auxin transport inhibitor N-1-naphthylphthalamic acid disrupts leaf initiation, KNOX protein regulation, and formation of leaf margins in maize // Plant Physiology. – 2003. – Vol. 133. – P. 597–605.

11. Sylvester A.W., Parker-Clark V., Murray G.A. Leaf shape and anatomy as indicators of phase change in the grasses: comparison of maize, rice, and bluegrass // American Journal of Botany. – 2001. – Vol. 88. – P. 2157–2167.

References

1. Gamaley Y.V. Floema lista: razvitie struktury i funktsiy v svyazi s evolyutsiyey tsvetkovykh rasteniy. L: Nauka, 1990. 144 p.
2. Regulatory rosta rasteniy / K.Z. Gamburg, O.N. Kulueva, G.S. Muromtsev, L.D. Prusakova, D.I. Chkanikov. M: Kolos, 1979. 247 p.
3. Tikhankov I.O. Gidrazyd maleinovoї kysloty – fiziologichno aktivna spoluka shyrokoї spektru diї // Visnyk Lvivskogo universytetu. 2008. release. 47. pp. 3–20.
4. Tikhankov I.O., Lykholat Y.V. Morfo-fiziologichna charakterystyka lystkiv *Lolium perenne* L. pislya poperednoi obrobky nasinnya gidrazydom maleinovoї kysloty // Pytannya bioindykatsii ta ekologii. 2008. release. 13, no 1. pp. 33–45.
5. Tikhankov I.O. Riznorodnist anatomichnoi struktury lystkovoї plastynky *Lolium perenne* L. // Visnyk Lvivskogo universytetu. 2008. release. 48. pp. 59–68.
6. Tikhankov I.O., Lykholat Y.V. Skhozhist nasinnya pazhytnytsi bagatorichnoi (*Lolium perenne* L.) pislya poperednoi obrobky gidrazydom maleinovoї kysloty // Visnyk Kharkivskogo natsionalnogo agrarnogo universytetu. 2008. release. 2 (14). pp. 68–73.
7. Clay N.K., Nelson T. The recessive epigenetic swellmap mutation affects the expression of two Step II splicing factors required for the transcription of the cell proliferation gene STRUWWELPETER and for the timing of cell cycle arrest in the Arabidopsis leaf // The Plant Cell. 2005. Vol. 17. pp. 1994–2008.
8. Gichner T., Menke M., Stavreva D.A. et al. Maleic hydrazide induces genotoxic effects but no DNA damage detectable by the Comet assay in tobacco and field beans // Mutagenesis. 2000. Vol. 15, no 5. pp. 385–389.
9. Kwiatkowska D. Structural integration at the shoot apical meristem: models, measurements, and experiments // American journal of botany. 2004. Vol. 91. pp. 1277–1293.
10. Scanlon M.J. Polar Auxin transport inhibitor N-1-naphthylphthalamic acid disrupts leaf initiation, KNOX protein regulation, and formation of leaf margins in maize // Plant Physiology. 2003. Vol. 133. pp. 597–605.
11. Sylvester A.W., Parker-Clark V., Murray G.A. Leaf shape and anatomy as indicators of phase change in the grasses: comparison of maize, rice, and bluegrass // American Journal of Botany. 2001. Vol. 88. pp. 2157–2167.

Рецензенты:

Мыщык Л.П., д.б.н., академик Экологической академии наук Украины, профессор кафедры геоботаники, почвоведения и экологии Днепропетровского национального университета им. О. Гончара, г. Днепропетровск;

Черная В.И., д.б.н., профессор, зав. кафедрой экологии и охраны окружающей среды Днепропетровского государственного аграрного университета, г. Днепропетровск.

Работа поступила в редакцию 08.11.2013.