

С.П. ОЖЕРЕДОВ<sup>1</sup>, А.И. ЕМЕЦ<sup>1</sup>,  
Д.И. ЛИТВИН<sup>1</sup>, В.Н. БРИЦУН<sup>2</sup>, В.В. ШВАРТАУ<sup>3</sup>,  
М.О. ЛОЗИНСКИЙ<sup>2</sup>, Я.Б. БЛЮМ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, Киев

<sup>2</sup> Институт органической химии НАН Украины, Киев

<sup>3</sup> Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев

E-mail: ozheredov@gmail.com, yemetsalla@gmail.com

## АНТИМИТОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2,6-ДИНИТРОАНИЛИНА И ИХ СИНЕРГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ В КОМПОЗИЦИЯХ С ГРАМИНИЦИДАМИ



*Определена антимиотическая активность новых производных динитроанилина. Исследована их способность индуцировать апоптотические процессы в растительной клетке при использовании в качестве композиции с ингибиторами ацетил-КоА-карбоксилазы.*

© С.П. ОЖЕРЕДОВ, А.И. ЕМЕЦ, Д.И. ЛИТВИН, В.Н. БРИЦУН, В.В. ШВАРТАУ, М.О. ЛОЗИНСКИЙ, Я.Б. БЛЮМ, 2010

**Введение.** Ранее нами был проведен скрининг ряда новых производных 2,4- и 2,6-динитроанилинов на антимиотическую активность и фитотоксичность [1]. В результате скрининга были отобраны вещества с наиболее выраженной способностью изменять показатели митотического индекса, индуцировать цитогенетические нарушения, а также оказывать фитотоксическое действие на корни проростков *Allium cepa*. Поэтому на основании полученных результатов было предложено продолжить изучение таких соединений, как *N,N*-диэтил-2,6-динитро-4-(трифторметил)анилин, а также *N*-(2,4-динитрофенил)-*орто*-аминобензойная кислота и 1-метилсульфонил-3-нитробензол в качестве потенциальных гербицидов.

Известно, что соединения динитроанилинового ряда могут быть использованы в качестве модификаторов активности других типов гербицидов. Так, например, ранее представители динитроанилинов использовались для получения синергических композиций на основе производных фенилпиридазинона [2], 4-бензоил-изоксазола [3], диметиламида [4], тиенопиримидина [5], имидазолинов [6] и других типов гербицидов [7–10]. Поскольку одной из наиболее важных проблем является создание гербицидных композиций для контроля за сорняками в посевах зерновых культур, ранее нами была показана целесообразность использования новых производных 2,4- и 2,6-динитроанилинов в составе гербицидных композиций на основе феноксапроп-*p*-этила, флуазифоп-*p*-бутила и пиноксадена для получения синергического эффекта [11]. Среди изученных динитроанилинов синергической эффективностью прежде всего выделялись такие производные 2,6-динитроанилина, как *N,N*-диэтил-2,6-динитро-4-(трифторметил)анилин и *N*-(2,6-динитро-4-трифторметилфенил)пропанол. В частности, *N,N*-диэтил-2,6-динитро-4-(трифторметил)анилин существенно повышал гербицидную активность флуазифоп-*p*-бутила, *N*-(2,6-динитро-4-трифторметилфенил)пропанол – флуазифоп-*p*-бутила и феноксапроп-*p*-этила.

В перечисленных комбинациях усиливалась граминицидная активность флуазифоп-*p*-бутила и феноксапроп-*p*-этила, однако в процессе оценки гербицидной активности изучаемых синергических композиций была отмечена повышенная их активность по отношению к двудольным сорнякам в сравнении с активностью

самих динитроанилинов. Очевидно, что ключевым моментом в реализации гербицидной активности динитроанилинов является их способность связываться с базовым структурным элементом протофиламентов микротрубочек — тубулином. Вследствие этих процессов происходит блокирование сборки митотических микротрубочек, сопровождающееся нарушением формирования митотического веретена и фагопласта, а также интерфазных микротрубочек, что приводит к нарушению кортикальной сети микротрубочек и нарушению формирования препрофазной ленты [12–15].

В дальнейшем лежащие в основе блокирования митоза динитроанилинами события, должны приводить к развитию программируемой клеточной гибели растительных клеток. Поэтому логично предположить, что синергизм в проявлении гербицидной активности композиций производных 2,6-динитроанилина и граминицидов — ингибиторов ацетил-КоА-карбоксилазы — может также быть связан со способностью их составляющих промотировать развитие программируемой клеточной гибели в клетках путем запуска различных стартовых механизмов. Исходя из этого, целью настоящей работы было изучение антимиотической активности таких производных 2,6-динитроанилина, как *N,N*-диэтил-2,6-динитро-4-(трифторметил)анилин и *N*-(2,6-динитро-4-(трифторметил)фенил)пропанол, и их способности индуцировать апоптотические процессы в растительной клетке при использовании в композиции с ингибиторами ацетил-КоА-карбоксилазы.

**Материалы и методы.** Для экспериментов использовали производные 2,6-динитроанилина — *N,N*-диэтил-2,6-динитро-4-(трифторметил)анилин (Br-15) и *N*-(2,6-динитро-4-(трифторметил)фенил)пропанол (Br-47) (рис. 1), синтезированные в Институте органической химии НАН Украины, а также гербицидные препараты компании Syngenta, относящиеся к классу ингибиторов ацетил-КоА-карбоксилазы: Фюзилла-форте, содержащий в качестве действующего вещества флуазифоп-*p*-бутил в концентрации 150 мг/мл, и Аксилал, содержащий 45 мг/мл пиноксадена.

Для оценки антимиотической активности исследуемых веществ в качестве тест-объекта

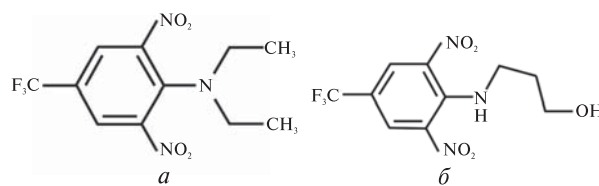


Рис. 1. Структурные формулы производных 2,6-динитроанилина, используемые в работе: а — Br-15; б — Br-47

использовали интактные корешки 3–4-дневных проростков репчатого лука (*Allium cepa* L.) сорта Грандина длиной 15–20 мм [1]. Корешки лука обрабатывали растворами динитроанилинов в концентрациях 0,1–100 мкМ на протяжении 24 ч при температуре 25 °С. Исходные растворы динитроанилинов готовили в диметилсульфоксиде (ДМСО) из расчета конечной концентрации ДМСО в рабочем растворе не более 0,5 % [16, 17]. В качестве позитивного контроля использовали обработку корешков лука 0,5%-ным раствором ДМСО [18].

Визуализацию микротрубочек проводили с помощью непрямого иммуофлюоресцентного окрашивания  $\alpha$ -тубулина [19, 20]. Для этого исследуемый материал фиксировали в течение 2 ч в 4%-ном растворе параформальдегида и 1,5%-ном глютаральдегида в стабилизирующем микротрубочки буфере (МТСБ), который содержал 100 мМ PIPES, 5 мМ EGTA, 2 мМ MgSO<sub>4</sub>, 1 % Тритон X-100, pH 7,0. Для приготовления давленных препаратов образцы обрабатывали в течение 20 мин при температуре 37 °С ферментной смесью на основе МТСБ, которая содержала 5 мг/мл целлюлазы («Serva», Германия), 20 мг/мл мацерозима R-10 («Serva», Германия), 5 мкл/мл пектиназы («Sigma», США) и 7,5 мг/мл дрицелазы («Sigma», США). Давленные препараты готовили на предметных стеклах, покрытых поли-*L*-лизинном. Для иммулокализации  $\alpha$ -тубулина образцы инкубировали с первичными моноклональными мышинными антителами Tu-01 против  $\alpha$ -тубулина (80 мкг/мл) на протяжении 12 ч при комнатной температуре. Визуализацию первичных антител осуществляли с помощью FITC-конъюгированных моноклональных вторичных антител против IgG мыши («Sigma», США), разбавление 1 : 30. Окраску ДНК проводили водным раствором пропидиум йодида в концентрации 50 мкг/мл.

Индукцию апоптоза динитроанилинами, ингибиторами ацетил-КоА-карбоксилазы и их композициями оценивали с использованием интактных корней 3–4-дневных проростков ярового ячменя (*Hordeum vulgare*) сорта Сейм (представитель однодольных) и редьки масличной (*Rhaphanus sativus* var. *oleifera*) сорта Радуга (представитель двудольных). Проростки инкубировали в водных растворах динитроанилинов в концентрации 25 мкМ, флуазифоп-*p*-бутила в концентрации 0,9 мкМ и пиноксадена в концентрации 1,9 мкМ на протяжении суток при температуре 25 °С. В качестве негативного контроля использовали обработку 0,5%-ным раствором ДМСО. Оценку жизнеспособности клеток проводили с помощью двойной окраски флюоресцентными красителями 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) (5 мкг/мл) и пропидиум йодидом (25 мкг/мл) [21].

В качестве маркеров апоптоза, индуцируемого гербицидными препаратами и их композициями, использовали процессы ацидификации цитоплазмы клеток и нуклеосомной фрагментации ДНК. Ацидификацию цитоплазмы как характерный признак наличия апоптотических процессов [22] определяли, используя прижизненную окраску клеток раствором акридина оранжевого (АО), поскольку флюоресцентные качества молекул АО изменяются в зависимости от состояния, в котором они находятся (мономер, агрегат, комплекс с ДНК или РНК) [23, 24]. Так как образование комплексов АО происходит в кислой среде, это позволяет использовать его в качестве рН-индикатора [25]. В мономерном состоянии максимум флюоресценции для АО находится в диапазоне 500–560 нм (зелено-желтая область спектра), тогда как в агрегатном состоянии наблюдается явление метахромазии, при котором максимум флюоресценции смещается в диапазон 590–660 нм (красная область спектра). Исходя из этого, для детекции процессов ацидификации цитоплазмы проростки обрабатывали раствором АО в концентрации 50 мкг/мл в течение 20 мин при 25 °С [23, 24, 26]. В качестве позитивного контроля использовали обработку 0,15 М раствором H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [27–29].

Так как специфическая нуклеосомная фрагментация является интегральной стадией клеточной деградации при апоптозе, сопряженной

с активацией специфических цистеиновых протеаз (каспаз) и ДНКаз [22, 30–32], ее используют в качестве маркера апоптоза. Поэтому индукцию фрагментации ДНК в клетках апикальной меристемы корней исследуемыми веществами определяли *in situ* с помощью метода TUNEL (Terminal dUTP Nick – End Labeling). Обработанный соответствующим гербицидом материал предварительно фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида и хранили в 70%-ном этаноле при 4 °С. Для детекции нуклеосомной фрагментации использовали набор In Situ Cell Death Detection Kit, TMR red («Pierce», Германия). Образцы, используемые в качестве позитивного контроля, обрабатывали ДНКазой для моделирования процессов фрагментации ДНК [33, 34].

Полученный материал анализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 510 META («Carl Zeiss», Германия).

**Результаты исследований и их обсуждение.**  
*Антимитотическая активность новых производных 2,6-динитроанилина.* Как свидетельствуют результаты проведенных исследований, обработка проростков лука производными 2,6-динитроанилина, отобранными ранее [1, 11], в концентрациях 0,1–100 мкМ оказывала влияние на формирование микротрубочковых структур клеток апикальной меристемы корня (рис. 2, см. вклейку). Так, обработка проростков растворами *N,N*-диэтил-2,6-динитро-4-(трифторметил)анилина (Br-15) и *N*-(2,6-динитро-4-трифторметилфенил)пропанола (Br-47) в концентрациях 0,1 и 1 мкМ приводила к нарушениям в формировании препрофазной ленты клеток апикальной меристемы корней (рис. 2, *г, д*). Кроме того, оба динитроанилина в низких концентрациях вызывали нарушение полярности клетки, на что указывает появление клеток с диагональной ориентацией веретена деления (рис. 2, *ж*). Появление упомянутых типов аномалий в формируемых структурах митотического веретена может свидетельствовать о влиянии Br-15 и Br-47 на формирование препрофазной ленты. Аналогичные эффекты описаны и для других антимикротрубочковых агентов, таких как, например, беномил [35]. Других типов нарушений в формировании микротрубочковых структур

при концентрациях 0,1 и 1 мкМ зафиксировано не было.

Увеличение концентрации исследуемых производных 2,6-динитроанилина до 10–100 мкМ сопровождалось появлением клеток с частично или полностью разрушенными кортикальными микротрубочками и веретеном деления, а также нарушениями формирования фрагмопласта. Так, обработка проростков Вг-47 в концентрации 10 мкМ обуславливала частичную деполимеризацию микротрубочек веретена деления в клетках апикальной меристемы корней, о чем свидетельствует появление клеток с упомянутым типом нарушений. При использовании Вг-15 в той же концентрации отмечалось полное блокирование процессов полимеризации микротрубочек веретена деления, что приводило к появлению клеток с отсутствующим веретеном деления (рис. 2, з). Кроме того, обработка Вг-15 в концентрации 10 мкМ вызывала появление отдельных клеток с отсутствующей кортикальной сетью микротрубочек, а также частичным/полным нарушением формирования фрагмопласта, о чем свидетельствует образование многоядерных клеток и клеток с аномальным фрагмопластом (рис. 2, к).

На основании полученных данных можно утверждать, что производные 2,6-динитроанилина Вг-15 и Вг-47 обладают выраженной антимикротрубочковой активностью. Обработка указанными веществами в концентрациях 0,1–1 мкМ оказывает главным образом влияние на процессы формирования препрофазной ленты. При увеличении концентрации этих соединений до 10 мкМ происходит нарушение формирования всех основных микротрубочковых структур, образующихся в процессе прохождения клеткой митотического цикла, что указывает на высокий уровень антимикротрубочковой активности упомянутых веществ. Дальнейшее увеличение используемых концентраций приводит, как показали результаты наших исследований, к значительному ингибированию роста растений, в частности их корней, что, очевидно, сопровождается необратимыми процессами, приводящими к гибели клеток [1].

*Производные 2,6-динитроанилинов в составе синергических композиций с ингибиторами ацетил-КоА-карбоксилазы.* Как показали резуль-

таты исследований, обработка гербицидными композициями, включающими один из исследуемых динитроанилинов и ингибитор ацетил-КоА-карбоксилазы, индуцирует гибель клеток корней проростков ячменя и редьки, сопровождающуюся ацидификацией цитоплазмы, о чем свидетельствует спектр флюоресценции при окраске АО, а также результаты двойного окрашивания DAPI и пропидиум йодидом (рис. 3, 5а и 5б, см. вклейку). Наиболее выражено действие гербицидной композиции проявлялось на растениях ячменя.

На контрольных образцах (рис. 3, 1а и 1б) можно наблюдать, что после обработки АО клетки апикальной меристемы приобретали зеленовато-желтую окраску за счет зеленой флюоресценции мономеров красителя в цитоплазме и красной флюоресценции красителя в агрегатном состоянии в кислых органеллах. Четко выделялись клетки корневого чехлика, которые имели флюоресценцию в красном спектре, что указывает на наличие процессов ацидификации. Это можно объяснить физиологически присущими свойствами зоны, которая подвергается апоптоическим изменениям в процессе роста и развития корня. Двойная окраска DAPI и пропидиум йодидом показала жизнеспособность клеток апикальной меристемы корня (отсутствие окраски ядер в красном спектре). В то же время в зоне дифференциации наблюдали группу клеток, ядра которых окрашивались пропидиум йодидом, что может быть обусловлено физиологическими процессами образования сосудистых элементов корня. Обработка проростков грามинидами сопровождалась увеличением количества нежизнеспособных клеток, но не инициировала процессы ацидификации (рис. 3, 3а и 3б). При обработке динитроанилиновыми соединениями проростков редьки количество нежизнеспособных клеток превышало 50 %, а ячменя составляло около 100 %, что связано с высокой чувствительностью корней злаков к динитроанилинам. Также было зафиксировано смещение цвета флюоресценции АО в красную область спектра, что указывает на наличие процессов ацидификации. Наиболее ярко эти процессы были выражены на проростках ячменя (рис. 3, 4а и 4б).

Использование композиции динитроанилина с граминицидом обуславливало усиление, процессов ацидификации цитоплазмы по сравнению с отдельно взятым динитроанилином, что подтверждается спектром флюоресценции АО (рис. 3, 5а и 5б). Наиболее выраженный эффект наблюдали при использовании указанных композиций на ячмене. Детектируемые процессы ацидификации цитоплазмы клеток свидетельствуют об индукции апоптотических процессов в клетках корней проростков вследствие обработки динитроанилинами, а также указывают на усиление их способности индуцировать апоптоз при использовании в качестве композиций с ингибиторами ацетил-КоА-карбоксилазы.

Как показали результаты анализа *in situ* с использованием метода TUNEL, отдельная обработка проростков граминицидами и динитроанилинами в исследуемых концентрациях не вызывает фрагментации ДНК меристематических клеток корней. На это указывает отсутствие позитивного сигнала в ядрах клеток (рис. 4, а–д, см. вклейку). При этом следует отметить, что клетки меристемы корней ячменя обладают несколько сниженной чувствительностью к динитроанилинам [15]. Однако после применения композиции динитроанилинов с граминицидами наблюдали позитивный сигнал в клетках апикальной меристемы корней проростков (рис. 4, в, е). Полученные результаты свидетельствуют о том, что вследствие обработки указанными композициями происходит индукция процессов, приводящих к нуклеосомной фрагментации ДНК.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что важнейшим из прямых последствий воздействия динитроанилинов на растительную клетку в диапазоне эффективных концентраций (свыше 20 мкМ) является индукция программируемой гибели клеток, характеризующаяся ацидификацией цитоплазмы, но не приводящая на исследованных временных интервалах к непосредственной фрагментации ДНК. Наиболее чувствительными к действию динитроанилинов являются однодольные растения. Использование же ингибиторов ацетил-КоА-карбоксилазы в композиции с производными динитроанилина позволяет повысить эффективность их герби-

цидного действия. Реализация данного вида биологической активности может быть опосредована индукцией апоптотических каскадов в растительной клетке за счет синергических эффектов используемых типов соединений (динитроанилины и ингибиторы ацетил-КоА-карбоксилазы).

S.P. Ozheredov, A.I. Yemets,  
D.I. Lytvyn, V.M. Brytsun, V.V. Schwartau, M.O.  
Lozynskiy, Ya.B. Blume

NEW 2,6-DINITROANILINE COMPOUNDS WITH  
ANTIMITOTIC MADE OF ACTION AND THEIR  
SYNERGISTIC ACTIVITY IN COMPOSITIONS  
WITH GRAMINICIDES

Shown antimicrotrubules activity of new 2,6-dinitroaniline compounds. Investigated their ability on apoptotic processes in a plant cell when used as a composition with inhibitors of acetyl-CoA carboxylase.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ожередов С.П., Емец А.И., Брицун В.Н., Ожередова И.П., Лозинский М.О., Блюм Я.Б. Скрининг новых производных 2,4- и 2,6-динитроанилинов на фитотоксичность и антимиотическую активность // Цитология и генетика. – 2009. – 43, № 5. – С. 3–13.
2. Wilson R.H., Short K.T. et al. Norflurazon and a dinitroaniline herbicide in combination for controlling unwanted plants / US Patent № 5108484. – Publ. 28.04.1992.
3. Gamblin A., Hewett R.H. Synergistic herbicidal compositions comprising 4-benzoylisoxazole and dinitroaniline herbicides / US Patent № 5552367. – Publ. 03.09. 96.
4. Fenderson I.M., O'Neal W.B., Quaghebeur Th., Schumm K.-Ch., van Loocke W. et al. Synergistic herbicidal compositions of dimethenamid and dinitroaniline herbicides // US Patent № 5928996. – Publ. 27.07.1999.
5. Kumata Sh., Natsume B. et al. Herbicide compositions for upland farming and control method / US Patent 2009/0131258 A1. – Publ. 21.05.2009.
6. Foessel P. Synergistic herbicidal methods and compositions comprising dinitroaniline and imidazolinone compounds/ US Patent US006673748B1. – Publ. 06.06.2004.
7. Kurtz M. E. Control of *Sorghum halepense* (L.) Pers. in cotton with post-emergence herbicides and trifluralin // Weed Res. – 2006. – 26, № 2. – P. 83–88.
8. North D.J. Herbicidal composition / Int.Publication № WO/2006/061562. – Publ. 15.06.2006.
9. Sievernich B., Landes M., Kilberet E., van Deyn W., Walter H. et al. Herbicidal mixtures having a synergistic effect // US Patent № 6534444 B1. – Publ. 18.03. 2003.
10. Швартай В.В. Регуляція активності гербіцидів за допомогою хімічних сполук. – Логос, 2004. – 223 с.

11. *Ожередов С.П., Емец А.И., Брицун В.Н., Лозинский М., Швартау В.В., Блюм Я.Б.* Повышение эффективности гербицидов – ингибиторов ацетил-КоА-карбоксылазы при использовании их в композиции с новыми производными динитроанилинов // Физиология и биохимия культур. растений. – 2011. – **43**, № 2. – С. 96–102.
12. *Брицун В.М., Емец А.И., Лозинский М.О., Блюм Я.Б.* 2,6-Динитроаніліни: синтез, гербіцидні й антипро-тозойні властивості // Ukr. Bioorg. Acta. – 2009. – **1**. – С. 16–27.
13. *Ныторко А.Ю., Емец А.И., Брицун В.М., Лозинский М.О., Блюм Я.Б.* Структурно-биологическая характеристика взаимодействия тубулина с динитроанилинами // Цитология и генетика. – 2009. – **43**, № 4. – С. 56–70.
14. *Morejohn L.C., Fosket D.E.* The biochemistry of compounds with anti-microtubule activity in plant cells // Pharm. Ther. – 1991. – **51**. – P. 217–230.
15. *Sheval E.V., Kazhura Y.I., Poleshuk N.A. et al.* Trifluralin-induced disorganization of microtubular cytoskeleton alters the development of roots in *Hordeum vulgare* L. // Acta Biol. Hung. – 2008. – **59**, № 4. – P. 465–478.
16. *Katsuda S., Okada Y., Nakanishi I., Tanaka J.* Inhibitory effect of dimethyl sulfoxide on the proliferation of cultured arterial smooth muscle cell: relationship to the cytoplasmic microtubules // Exp. Mol. Pathol. – 1988. – **48**(1). – P. 48–58.
17. *Robinson J., Engelborghs Y.* Tubulin polymerization in dimethyl sulfoxide // J. Biol. Chem. – 1982. – **257**, № 10. – P. 5367–5371.
18. *Yemets A.I., Stel'makh O.A., Blume Ya.B.* Nocodazole provokes an apoptosis in isopropyl-N-phenyl-carbamate resistant and sensitive *Nicotiana* lines but in two different ways // BMC Plant Biol. – 2005. – **5**(Suppl 1): S37. – P. 1–5.
19. *Кундельчук О.П., Тарасенко Л.В., Блюм Я.Б.* Сравнение действия амипрофосметила на структуру клеток корня у чувствительных и устойчивых к нему линий *Nicotiana plumbaginifolia* // Физиология растений. – 2002. – **49**, № 3. – С. 425–430.
20. *Yemets A.I., Stel'makh O.A., Blume Ya.B.* Effects of the herbicide isopropyl-N-phenyl carbamate on microtubules and MTOCs in lines of *Nicotiana sylvestris* resistant and sensitive to its action // Cell Biol. Int. – 2008. – **32**, № 6. – P. 623–629.
21. *Sasaki D.T., Dumas S.E., Engleman E.G.* Discrimination of viable and non-viable cells using propidium iodide in two color immunofluorescence // Cytometry. – 1987. – **8**. – P. 413–430.
22. *Gottlieb R.A., Giesing H.A., Zhu J.Y., Engler R.L., Babor B.M.* Cell acidification in apoptosis : Granulocyte colony-stimulating factor delays programmed cell death in neutrophils by up-regulating the vacuolar H (+)-ATPase // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1995. – **92**. – P. 5965–5968.
23. *Mpoke S.S., Wolfe J.* Differential staining of apoptotic nuclei in living cells: Application to macronuclear elimination in *Tetrahymena* // J. Histochem. Cytochem. – 1997. – **45**, № 5. – P. 675–683.
24. *Zelenin A.* Fluorescence microscopy of lysosomes and related structures in living cells // Nature. – 1966. – **212**. – P. 425–426.
25. *Беляева Т.Н., Кроленко С.А., Леонтьева Е.А., Моженок Т.П., Салова А.В., Фаддеева М.Д.* Распределение и спектры флюоресценции АО в миоблстах и одиночных мышечных волокнах // Цитология. – 2009. – **51**, № 2. – С. 103–110.
26. *Gupta H.S., De D.N.* Uptake and accumulation of acridine orange by plant cells // Proc. Ind. Nat. Sci. Acad. – 1983. – **49**(6). – P. 653–660.
27. *Houot V., Etienne Ph., Petitot A.-S., Barbier S., Blein J.-P., Suty L.* Hydrogen peroxide induces programmed cell death features in cultured tobacco BY-2 cells, in a dose-dependent manner // J. Exp. Bot. – 2001. – **52**. – P. 1721–1730.
28. *Madeo F., Herker E., Wissing S., Jungwirth H., Eisenberg T., Fröhlich K.* Apoptosis in yeast // Curr. Opin. Microbiol. – 2004. – **7**, № 6. – P. 655–660.
29. *Samuilov V.D., Kiselevsky D.B., Shestak A.A., Nesov A.V., Vasil'ev L.A.* Reactive oxygen species in programmed death of pea guard cells // Biochemistry (Mosc). – 2008. – **73**, № 10. – P. 1076–1084.
30. *Ванюшин Б.Ф.* Апоптоз у растений // Усп. биол. химии. – 2001. – **41**. – С. 3–38.
31. *Gaffal K.P., Friedrichs G.J., El-Gammal S.* Ultrastructural evidence for a dual function of the phloem and programmed cell death in the floral nectary of *Digitalis purpurea* // Ann. Bot. – 2007. – **99**. – P. 593–607.
32. *Gunawardena A., Pearce D.M., Jackson M.B., Hawes C.R., Evans D.E.* Characterisation of programmed cell death during aerenchyma formation induced by ethylene or hypoxia in roots of maize (*Zea mays* L.) // Planta. – 2001. – **212**. – P. 205–214.
33. *Behboodi B.Sh., Samadi L.* Detection of apoptotic bodies and oligonucleosomal DNA fragments in cadmium-treated root apical cells of *Allium cepa* Linnaeus // Plant Sci. – 2004. – **167**, № 3. – P. 411–416.
34. *Labat-Moleur F., Guillermet C., Lorimier P., Robert C., Lantuejoul S., Brambilla E., Negoescu A.* TUNEL apoptotic cell detection in tissue sections: critical evaluation and improvement // J. Histochem. Cytochem. – 1998. – **46**. – P. 327–334.
35. *Dane F., Dalgic O.* The effects of fungicide benomyl (benlate) on growth and mitosis in onion (*Allium cepa* L.) root apical meristem // Acta Biol. Hung. – 2005. – **56**, № 1–2. – P. 119–128.

Поступила 27.05.09