

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ НАД⁺- МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СВЕТОВОГО РЕЖИМА В РАЗЛИЧНЫХ КОМПАРТМЕНТАХ КУКУРУЗЫ

М. О. Гатауллина, А. Т. Епринцев

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 04.07.2022 г.

Аннотация. Малатдегидрогеназа (НАД-зависимая малатдегидрогеназа МДГ, L-малат: НАД-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.37) катализирует взаимопревращение оксалоацетата и малата и связана с окислением/восстановлением коферментов.

МДГ занимает важное место в катаболических и анаболических процессах. Помимо катализа биохимических реакций, протекающих в нормальных условиях, малатдегидрогеназная система участвует в адаптационных ответах на стрессовые факторы.

В листьях кукурузы выделяются малатдегидрогеназы митохондриальной, пероксисомальной и цитоплазматической локализации. С помощью изоплотностного центрифугирования в сахарном градиенте было показано, что изферментный состав фракций различных органоидов клетки неодинаков. Так, методом электрофореза в полиакриламидном геле, окрашенном тетразолиевым синим были найдены четыре цитоплазматических изоформы. В то же время, в митохондриальной фракции найдено только две формы МДГ, а в пероксисомах только одна.

Наибольший вклад в общую активность вносят цитоплазматические формы, активность которых составляет 54% (144 Е/г. сырой массы) от общей активности МДГ, а митохондриальная и пероксисомальная – 39% и 7% соответственно (103 и 19 Е/г. сырой массы). Суммарная общая активность фермента равнялась 266 Е/г. сырой массы.

Для НАД⁺-зависимой оксидоредуктирующей малатдегидрогеназы характерна большая активность в темное время, а также при облучении синим и дальним красным светом. Облучение дальним красным светом после облучения красным полностью снимает действие первого. Стоит отметить, что различие в изменении активности при смене светового режима по фракциям также неодинаково. Так, различия в активности цитоплазматической фракции меньше, что может объясняться участием данной МДГ в челночных механизмах, необходимых клетке в любое время суток. Митохондриальная и пероксисомальная фракции МДГ, по-видимому участвуют в цикле Кребса и сопряженных с ним процессах в темноте.

Ключевые слова: малатдегидрогеназа, кукуруза, светорегуляция, изоплотностное центрифугирование

Ежедневные циклы света и темноты обеспечивают организующий принцип и временные ограничения, при которых развивалась жизнь на Земле. Растения постоянно приспосабливаются к окружающей среде, используя как рассвет, так и закат, чтобы организовать свой рост, развитие и метаболизм в соответствующее время суток [1].

Свет является не только источником энергии для фотосинтеза растений, но и сигналом окружающей среды, который контролирует многие аспекты роста и развития растений. Световые факторы, влияющие на рост растений и обмен веществ,

включают интенсивность света, качество света, фотопериод и распределение света [2]. При этом в растительном организме происходят два разнонаправленных процесса. Выращенные в темноте растения демонстрируют этиолированные фенотипы, такие как более длинные гипокотили, апикальные крючки и закрытые и желтоватые семядоли. Напротив, выращенные на свету растения демонстрируют фотоморфогенные фенотипы, характеризующиеся короткими гипокотилиями и открытыми и расширенными зелеными семядолями. Свет также модулирует другие программы роста и развития, регулируя направленный рост, избегание тени и фотопериодическое цветение [3].

Не меньшей важностью для жизнедеятельности растений обладает темнота. Они обнаруживают наступление темноты и используют ее для координации программ роста. За ночь растения координируют запасы энергии и направляют эту энергию на рост в промежутке времени незадолго до рассвета. Таким образом, растения довольно чувствительны к темноте и используют переход от света к темноте, чтобы управлять своим ростом и метаболизмом. Циркадные часы действуют как проводник, организуя эти процессы во времени, но даже часы воспринимают темноту как сигнал к перезагрузке. Возможно, не существует «темнового рецептора», но сигнальные функции фоторецепторов могут активироваться или подавляться светом, облегчая поток информации в любом состоянии. Разнообразие функций фоторецепторов показывает, что это верно на биохимическом уровне [4, 5].

Кроме непосредственно белого света, на растения могут влиять импульсы света определенных длин волн, среди которых: красный и синий свет, которые соответствуют максимальному спектру поглощения фотосинтетических пигментов и оказывают наиболее важное воздействие на растения. Красный свет играет решающую роль в развитии фотосинтетических органов, морфогенезе и синтезе фотохимических веществ, таких как фенолы и щавелевая кислота. В свою очередь синий свет незаменим в развитии хлоропластов, образовании хлорофилла, открытии устьиц, морфогенезе и синтезе антоцианов. Исследования показали, что растения не могут нормально расти в условиях чистого красного или чистого синего света. Однако смесь двух данных спектров считается наиболее подходящей для роста растений [2].

Среди четырех ферментов, объединенных в малатдегидрогеназную систему, выделяется НАД⁺-зависимая малатдегидрогеназа, так как является наиболее исследованной среди остальных. Она катализирует взаимопревращение малата в оксалоацетат, связанное с восстановлением или окислением пула НАД [6]. Данный фермент находится почти во всех типах живых организмов. У растений, эти изоформы обладают отличными кинетическими свойствами, а также субклеточными и физиологическими функциями [7]. В клетке МДГ находится повсеместно, что обуславливает большое количество метаболических путей, в которых энзим участвует, включая ЦТК, гликоксилатный путь, синтез аминокислот, глюконеогенез, поддержание баланса окисления/восстановления, и содействие обмену метаболитов между цитоплазмой и субклеточны-

ми органеллами [8]. Малатдегидрогеназа является важным компонентом малат-аспартатного челнока для транспортировки малата, который действует как окислительно-восстановительный носитель и промежуточный продукт метаболизма. Помимо этой очевидной функции данный челнок участвует в фотодыхании, β-окислении жирных кислот, передаче сигналов между органеллами, предполагается его роль в CO₂-концентрационных механизмах. Многочисленные исследования показали, что гены МДГ растений играют существенную роль в реакции на абиотические стрессы, такие как низкая температура, соль и алюминий [9].

В последние годы много усилий было направлено на изучение реакции растений на различные источники света, в основном благодаря достижениям в области производства светодиодов, для выведения более устойчивых и урожайных сортов. Принимая во внимание актуальность данной темы, а также ограниченное количество информации о специфической функции каждой из присутствующих в клетке идентифицированных изоформ малатдегидрогеназы, целью данной работы являлось исследование функционирования НАД⁺-зависимой оксидоредуцирующей малатдегидрогеназы в различных органоидах клетки листьев кукурузы при изменении освещенности.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования являлись листья *Zea mays L.* Растения были выращены гидропонным способом при 10-ти часовом световом дне, температуре 25°C.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Определение активности малатдегидрогеназы. Ферментная единица активности малатдегидрогеназы определялась как количество фермента, превращающее 1 мкмоль НАДН в н.у. за 1 минуту.

Активность фермента измеряли с помощью спектрофотометра СФ-2000 (Россия). Использовали длину волны 340 нм. Фотометрическая среда содержала 100 мМ Трис-НСl pH 8.0; 1.5 мМ оксалоацетата, 1 мМ НАДН и 5 мМ MgCl₂ [10].

Изоплотностное центрифугирование. Гомогенат дважды центрифугировали при 1000 g в течение 3-4 мин для отделения клеточных стенок и неразложившихся примесей. Затем супернатант осаждали в центрифуге Eppendorf 5804 R (Германия) при 14 000 g в течение 20 мин. Осадок центрифугировали при 100 000 g в течение 90 мин

при 0-+4°C в ступенчатом градиенте сахара (1.3; 1.5; 1.8; 2.3 и 2.5 М) в центрифуге (Beckman, США). Пероксисомы и митохондрии были обнаружены между 2.3 и 2.5 М и между 1.8 и 2.3 М, соответственно, и были разрушены осмотическим шоком. Органоиды идентифицировали по маркерным ферментам каталазе, сукцинатдегидрогеназе и алкогольдегидрогеназе [11].

Аналитический электрофорез. Количество и расположение изоформ определяли методом полиакриламидного гель-электрофореза (ПААГ) по Дэвису. Использовали обогащенные и разделенные гели с 4% и 7% содержанием акриламида и бисакриламида, соответственно. Растворы акриламида готовили согласно Мауэру [12]. Исследуемые белки разделяли при pH 8.3. МДГ на гелевых пластинах окрашивали тетразолиевым методом [13, 14]. Гели инкубировали в среде, содержащей 100 мМ трис-HCl буфер, pH 9.0; 10 мМ раствор малата натрия; 2 мМ НАД⁺; 0.6 мМ нитросинего тетразолия и 3.5 мМ феназин метасульфата.

Моделирование эксперимента по изменению светового режима. Белый свет получали от ламп дневного света в установке "Флора-1". Красный и дальний красный свет - светодиоды с областями излучения 640-680 нм (КИПД40М40-К-П6, Россия) и 710-750 нм (ЗЛ127А-5, Россия). Синий свет получали с помощью светодиодов с областью излучения 465-470 нм (КИПД40М30-К1-7, Россия) [15].

Растения инкубировали в темноте в течение 24 часов, а затем подвергали воздействию света различной длины волны в течение 15 минут. После 3 часов инкубации растений в темноте образцы замораживали при температуре -70°C.

Статистическая обработка. Характер распределения оценивался по асимметрии и эксцессу, а также по критерию Колмогорова-Смирнова. [16]. Однофакторный дисперсионный анализ также использовался для того, чтобы показать влияние стрессоров [17].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Малатдегидрогеназа (МДГ) представляет собой разновидность оксидоредуктазы, которая использует НАД(Н)/НАДФ(Н) в качестве кофактора для катализа обратимой реакции окислительного дегидрирования из яблочной кислоты в оксалоацетат, в основном функционируя в цитоплазме, митохондриях, пластидах и хлоропластах растений. Во многих исследованиях показано, что МДГ активно участвует в энергетическом обмене, дыхании и метаболизме активного кислорода, а также играет

важную роль в стрессоустойчивости. Расположение ферментов в различных частях клетки напрямую зависит от их функций, характера роста, стадий дифференцировки и сигналов, поступающих в клетку и управляющих ими [18]. Цитоплазматические изоформы, например, вовлечены как в кислотный обмен, так и в фиксацию углекислого газа в С4-растениях, тогда как митохондриальные малатдегидрогеназы участвуют в цикле трикарбоновых кислот. Кроме того, важно отметить и специфическое воздействие ферментов определенной локализации на растительный организм в целом. Так, например, НАД⁺-зависимые малатдегидрогеназы, локализованные в пероксисомах, играют важную роль в развитии зародыша растения и энергетическом гомеостазе, в то время как митохондриальные малатдегидрогеназы могут контролировать созревание семян и рост после прорастания. Кроме того, было показано, что малатдегидрогеназы также специфично вовлечены в реакцию растений на различные абиотические стрессы, например, на холод и засоление [19]. Таким образом, НАД⁺-МДГ претерпели функциональную дифференциацию в ходе эволюции у разных видов. Что также является довольно важным вопросом поскольку позволяет оценить эволюционные связи генов малатдегидрогеназ между разными видами и предположить эволюционное развитие организмов [9].

На рисунке 1 приведены данные по активности НАД⁺-МДГ в разных субклеточных структурах, полученные с помощью электрофоретических исследований с использованием специфического проявления. Распределение изоформ в листьях кукурузы довольно специфично и зависит от типа клеточного компартмента. Так, например, в цитоплазме клеток мезофилла листа обнаружены 4 изоформы малатдегидрогеназы. Каждая изоформа отличается от других своей относительной электрофоретической подвижностью, соответствующей 0.34; 0.43; 0.54; 0.6. В митохондриях функционируют две НАД⁺-зависимые МДГ, характеризующиеся Rf-0.4 и 0.51. В пероксисомальной (глиоксисомальной) фракции растительных клеток присутствовал только один исследуемый фермент с Rf 0.48. Данное распределение изоформ малатдегидрогеназы в различных компартментах растительной клетки обусловлено многочисленными функциями в клетке, которые выполняет малатдегидрогеназная ферментная система, обеспечивающая непрерывное протекание различных метаболических процессов.

Процентное содержание активности МДГ в различных исследуемых фракциях клетки также

различается. С помощью спектрофотометрического метода было доказано, что самая большая доля активности малатдегидрогеназы приходится на цитоплазматические ферменты (54%). В то же время наименьшая активность (7% от общей активности) характерна для пероксисомальной формы фермента (табл. 1).

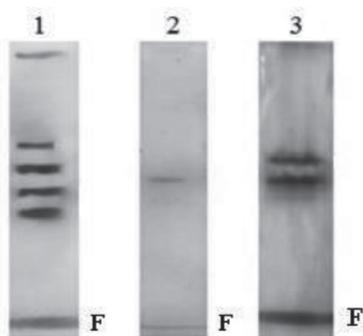


Рис. 1. Специфическое проявление малатдегидрогеназы в ПААГ в различных фракциях клеток листьев кукурузы: 1-цитоплазма, 2-пероксисомы, 3-митохондрии.

Таблица 1

Распределение активности малатдегидрогеназы в различных компартментах клетки $n = 3, p < 0.05$

	Активность МДГ, Е.	Относительное содержание активности, %
Гомогенат	266	100
Цитоплазматическая фракция	144	54
Хлоропластная фракция	0	0
Митохондриальная фракция	103	39
Пероксисомальная фракция	19	7

Растения используют свет как сигнал окружающей среды и как источник фотосинтеза, реагируя на интенсивность, качество и продолжительность света. Свет воспринимается фотосенсорами растений, которые включают криптохромы, фитохромы и фототропин, и они выдают через эти сенсоры множество специфических физиологических реакций. Различные цветовые соотношения (различной световой спектр) оказывают сильное влияние на физиологические особенности и развитие растений. Во многих исследованиях выявлено влияние интенсивности света на рост и развитие растений, фотопериод, содержание пигментов, таких как хлорофилл и каротиноиды, сахаров и многих других веществ [20].

Изучение влияния света различных длин волн на динамику активности малатдегидрогеназы в листьях кукурузы показало, что для данного фермен-

та активность в темноте, а также при облучении дальним красным и синим светом, выше, чем при облучении белым или красным. Облучение дальним красным светом после облучения красным светом полностью нивелирует влияние последнего (Рис. 2).

Стоит отметить, что активность митохондри-

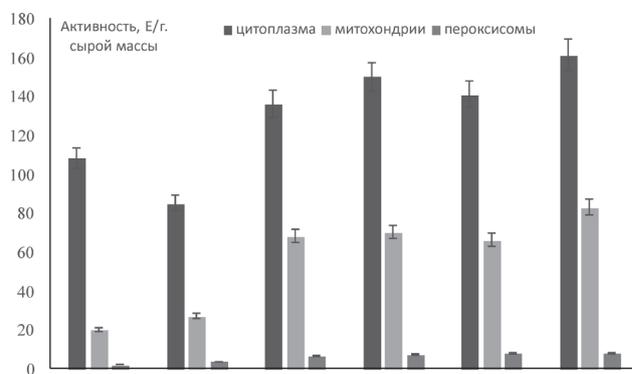


Рис. 2. Изменение активности НАД⁺-МДГ в разных компартментах клетки. С – растения, освещенные белым светом; КС – растения, освещенные красным светом; ДКС – растения, освещенные дальним красным светом; КС+ДКС – растения, последовательно освещенные красным и дальним красным светом; СС – растения, освещенные синим светом; Т – растения, выдержанные в темноте.

альной и пероксисомальной фракций различается в световых и темновых пробах примерно в 2 раза. В то время, как повышение активности цитоплазматических изоформ составляет всего 40%. Это может объясняться функциями фермента в органеллах, в которых они расположены. Так, например, митохондриальные изоформы катализируют превращение малата в оксалоацетат в цикле трикарбоновых кислот, который работает в темноте. Цитоплазматические формы, по видимому, участвуют в челноках и запасании малата в вакуолях и зависят от освещенности гораздо меньше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изоферментный состав НАД⁺-зависимой оксидоредуцирующей малатдегидрогеназы в листьях кукурузы включает в себя семь изоферментов разной локализации. Наибольший вклад в общую активность вносят четыре цитоплазматические МДГ, работающие в метаболических путях, в меньшей степени зависимых от действия света. Вносящая наименьший вклад пероксисомальная малатдегидрогеназа, совместно с двумя митохондриальными, более активны в темноте и, предположительно, участвуют в цикле Кребса и сопряженных с ним процессах.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2020-2022 годы, проект № FZGU-2020-0044

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yoo H., Kim S.J., Kim Y., Lee H., Kim, T.Y. // *Plant, cell & environment*. 2017. Vol. 40. №. 11, pp. 2487-2501.
2. Chen X.L., Li Y.L., Wang L.C., Yang Q.C., Guo W.Z. // *Scientific Reports*. 2022. Vol. 12. №. 1, pp. 1-13.
3. Seluzicki A., Burko Y., Chory J. // *Plant, cell & environment*. 2017. Vol. 40. №. 11, pp. 2487-2501.
4. Pham V. N., Kathare P. K., Huq E. // *Plant Physiology*. 2018. Vol. 176. №. 2, pp. 1025-1038.
5. Tomaz T., Bagard, M., Pracharoenwattana I., Lindén, P., Lee C.P., Carroll A.J., Ströher E. // *Plant Physiology*. 2010. Vol. 154. №. 3, pp. 1143–1157.
6. Chen Y., Fu Z., Zhang H., Tian R., Yang H., Sun C., Tang J. // *Plant Biotechnology Journal*. 2020. Vol. 18. №. 12, pp. 2420-2435.
7. Пине́йру де Карвалью М.А.А., Землянухин А.А. Малатдегидрогеназа высших растений. Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1991. 216 с.
8. Imran M., Munir M. Z., Ialhi S., Abbas F., Younus M., Ahmad S., Naeem M. K., Waseem M., Iqbal A., Gul S., Widemann E., Shafiq S. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23. №. 17. P. 10028.
9. Селиванова Н.В., Гатауллина М.О., Епринцев А.Т. // *Вестник Воронежского государственного университета Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2016. №. 2. С. 80-89.
10. Епринцев А.Т., Гатауллина М.О., Лященко М.С. // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2016. Т. 52. №. 4. С. 365-369.
11. Гатауллина М.О., Епринцев А.Т. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2018. Т. 18. №. 1. С. 111-117.
12. Mayer B.F., Ali-Benali M.A., Demone J., Bertrand A., Charron, J. B. // *Physiologia plantarum*. 2015. Vol. 155. №. 3. P. 281.
13. Гааль Э. Г. Медьши, Л. Верецкеи. Электрофорез в разделении биологических макромолекул / М.: Мир, 1982. 446 с.
14. Детерман Г. Гель-хроматография / М.: Мир, 1970. 173 с.
15. Болдырев А.А., Кяйвяряйнен, В.А., Илюха Е.И. Биомембранология / Петрозаводск: Изд-во Кар НЦ РАН, 2006. 226с.
16. Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул / М.: Мир, 1983. 297 с.
17. Лакин Г.Ф. Биометрия / М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
18. Вильданова М.С., Ван В., Смирнова Е.А. // *Биохимия*. 2014. Т. 79. №. 9. С. 1110-1123.
19. Wang Q.J., Sun H., Dong Q.L., Sun, T.Y., Jin Z.X., Hao Y.J., Yao Y.X. // *Plant Biotechnol*. 2016. Vol. 14. №. 10, pp.1986–1997.
20. Elmardy N.A., Yousef A.F., Lin K., Zhang X., Ali M.M., Lamlo S.F., Kalaji H.M., Kowalczyk K., Xu, Y. // *Plos one*. 2021. Vol. 16. №. 9. P. e0257745.

*Воронежский государственный университет
Гатауллина М. О., ассистент кафедры физиологии человека и животных, ассистент кафедры биохимии и физиологии клетки*

*Епринцев А. Т., доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии и физиологии клетки
E-mail: bc366@bio.vsu.ru*

*Voronezh State University
Gataullina M. O., assistant of the Department of Physiology Human and Animal, assistant Department of Biochemistry and Cell Physiology*

*Eprintsev A. T., PhD., DSci., Full Professor, head of the Biochemistry and Cell Physiology Department
E-mail: bc366@bio.vsu.ru*

PECULIARITIES OF THE FUNCTIONING OF NAD⁺-MALATE DEHYDROGENASE DURING CHANGES IN THE LIGHT MODE IN DIFFERENT CORN COMPARTMENTS

M. O. Gataullina, A. T. Eprintsev

Voronezh State University

Abstract. Malate dehydrogenase (NAD⁺-dependent malate dehydrogenase MDH, L-malate: NAD⁺-oxidoreductase; EC 1.1.1.37) catalyzes the interconversion of oxaloacetate and malate and is associated with the oxidation/reduction of coenzymes.

MDH plays a critical role in several metabolic pathways involving both catabolic and anabolic activities. In addition, this enzymatic system is involved in adaptation to stress conditions in plant organisms.

Malate dehydrogenases of mitochondrial, peroxisomal and cytoplasmic localization are secreted in maize leaves. Using isodensity centrifugation in a sugar gradient, it was shown that the enzymatic composition of the fractions of different cell organelles is not the same. Thus, four cytoplasmic isoforms were found by electrophoresis in polyacrylamide gel stained with tetrazolium blue. At the same time, only two forms of MDH were found in the mitochondrial fraction, and only one in peroxisomes.

The cytoplasmic fraction contributed the most to the total activity, accounting for 53% of the total activity of MDH (144 U/g wet weight), while the mitochondrial and cytoplasmic fractions accounted for 38% and 7% (103 and 19 U/g wet weight), respectively. The total enzyme activity was 266 U/g.

For NAD⁺-dependent oxidoreducing malate dehydrogenase, it is more active in the dark, as well as when irradiated with blue and far red light. Successive irradiation with red and then with far red light completely removes the effect of the first. It should be noted that the difference in the change in activity when changing the light regime by fractions is also not the same. Thus, the differences in the activity of the cytoplasmic fraction are smaller, which can be explained by the participation of this MDH in the shuttle mechanisms necessary for the cell at any time of the day. The mitochondrial and peroxisomal fractions appear to be involved in the Krebs cycle and related processes in the dark.

Keywords: *malate dehydrogenase, corn, light regulation, isodensity centrifugation*

REFERENCES

1. Yoo H., Kim S.J., Kim Y., Lee H., Kim T.Y., *Plant, cell & environment*, 2017, Vol. 40, № 11, pp. 2487-2501.
2. Chen X.L., Li Y.L., Wang L.C., Yang Q.C., Guo W.Z., *Scientific Reports*, 2022, Vol. 12, № 1, pp. 1-13.
3. Seluzicki A., Burko Y., Chory J., *Plant, cell & environment*, 2017, Vol. 40, № 11, pp. 2487-2501.
4. Pham V.N., Kathare P.K., Huq E., *Plant Physiology*, 2018, Vol. 176, № 2, pp. 1025-1038.
5. Tomaz T., Bagard M., Pracharoenwattana I., Lindén P., Lee C.P., Carroll A.J., Ströher E., *Plant Physiology*, 2010, Vol. 154, № 3, pp. 1143–1157.
6. Chen Y., Fu Z., Zhang H., Tian R., Yang H., Sun C., Tang J., *Plant Biotechnology Journal*, 2020, Vol. 18, № 12, pp. 2420-2435.
7. Pinheiro de Carvalho M.A.A., Zemlyanukhin A.A. *Malatdehydrogenase of higher plants*. Voronezh: Voronezh Publishing House. un-ta, 1991, 216 p.
8. Imran M., Munir M.Z., Ialhi S., Abbas F., Younus M., Ahmad S., Naeem M.K., Waseem M., Iqbal A., Gul S., Widemann E., Shafiq S., *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, Vol. 23, № 17, p. 10028.
9. Selivanova N.V., Gataullina M.O., Yeprintsev A.T., *Bulletin of the Voronezh State University Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2016, № 2, pp. 80-89.
10. Yeprintsev A.T., Gataullina M.O., Lyashchenko M.S., *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2016, Vol. 52, № 4, pp. 365-369.
11. Gataullina M.O., Yeprintsev A.T., *Sorption and chromatographic processes*, 2018, Vol. 18, №1, pp. 111-117.
12. Mayer B.F., Ali-Benali M.A., Demone J., Bertrand A., Charron J.B., *Physiologia plantarum*, 2015, Vol. 155, № 3, pp. 281.
13. Gaal E.G. Medjeshi L. Vereckei, *Electrophoresis in the separation of biological macromolecules*, M.: Mir, 1982, 446 p.
14. Determan G., *Gel chromatography*, M.: Mir, 1970, 173 p.
15. Boldyrev A.A., Kyyvyaryaynen V.A., Ilyukha E.I. *Biomembranology*, Petrozavodsk: Publishing House of the Kar Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 2006, 226p.
16. Osterman L.A., *Research of biological macromolecules*, M.: Mir, 1983, 297 p.
17. Lakin G.F., *Biometrics*, M.: Higher school, 1990, 352 p.
18. Vildanova M.S., Van V., Smirnova E.A., *Biochemistry*, 2014, Vol. 79, № 9, pp. 1110-1123.
19. Wang Q.J., Sun H., Dong Q.L., Sun T.Y., Jin Z.X., Hao Y.J., Yao Y.X., *Plant Biotechnol.*, 2016, Vol. 14, № 10, pp.1986–1997.
20. Elmardy N.A., Yousef A.F., Lin K., Zhang X., Ali M.M., Lamalom S.F., Kalaji H.M., Kowalczyk K., Xu Y., *Plos one*, 2021, Vol. 16, № 9, p. e0257745.