

ФИТОХРОМ-ЗАВИСИМАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ГЛИОКСИЛАТРЕДУКТАЗЫ В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ

Д.Н. Федорин, Н.А. Бабичева, А.Т. Епринцев

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 13.10.2023 г.

Аннотация. Глиоксилатредуктаза, фермент, обеспечивающий взаимодействие метаболических потоков растительной клетки при адаптации к воздействию стрессового фактора. Данная ферментная система представлена набором молекулярных форм и способна синтезировать полуальдегид янтарной кислоты (ПЯК) для ГАМК-шунта, что особо важно при стрессовом воздействии на растение, когда основное количество ГАМК выступает в качестве осмолита или субстрата для биосинтеза. Показано, что в своей активной форме фитохром проявляет активирующее действие на содержание транскриптов гена *GLYR-1* в листьях пшеницы, что указывает на генетический механизм регуляции активности данного фермента. Фитохромная система способна принимать активное участие в регуляции функционирования ферментов с помощью различных механизмов, одним из таких является контроль состояния промотора, как за счет взаимодействия с транскрипционными факторами, так путем изменения его метильного статуса. Фитохромная система осуществляет регуляцию экспрессии генов, изменяя активность локализованных в ядре транскрипционных факторов, таких как PIF. Анализ нуклеотидной последовательности промотора гена *GLYR-1* показал присутствие в его составе фитохром-зависимых участков: G- и E-участков. Взаимодействие факторов PIF с данными специфическими сайтами обеспечивает контроль экспрессии фитохром-зависимых генов при изменении освещения, в том числе гена цитоплазматической глиоксилатредуктазы пшеницы. Анализ нуклеотидной последовательности промотора исследуемого гена цитоплазматической глиоксилатредуктазы пшеницы показал наличие в его составе двух CpG-островков, изменение метильного статуса которых может играть важную роль в регуляции его транскрипции при участии фитохромной системы. Исследование метильного статуса промотора гена *GLYR-1* показало, что эпигенетические механизмы играют важную роль в регуляции его экспрессии. Установлена зависимость между уровнем транскриптов и метильным статусом CG-динуклеотидов. Невысокий метильный уровень промотора гена приводит к повышению содержания его транскрипта в растениях, выращенных на свету и при облучении красным светом.

Ключевые слова: глиоксилатредуктаза, *Triticum aestivum* L., экспрессия, фитохромная система, промотор, метилирование ДНК

Глиоксилатредуктаза (ГР, КФ 1.1.1.79), впервые выделенная из листьев шпината, представляет собой фермент, катализирующий восстановление глиоксилата до гликолата с использованием кофактора НАДН или НАДФН [1].

Важнейшая функция ГР – детоксикация гликолата и некоторых других схожих субстратов, имеющих в своем составе альдегидную группу, обладающей высокой реакционной способностью, а также предотвращение их попадания в хлоропласты [2]. Для уменьшения токсического воздействия веществ с альдегидной группой на организм,

существуют различные ферменты, которые ее восстанавливают до соответствующего спирта [3].

Показано, что ГР обладает не строгой субстратной специфичностью и способна поставлять полуальдегид янтарной кислоты (ПЯК) в ГАМК-шунт, что особо важно при стрессовом воздействии на растение, когда основное количество ГАМК выступает в качестве осмолита или субстрата для биосинтеза [4]. В этих условиях необходимое количество ПЯК может компенсироваться из пула γ -гидроксibuтирата при участии глиоксилатредуктазы [5].

При изменении светового режима растений значительные перестройки наблюдаются в метабо-

лизме митохондрий, активируются альтернативные пути, в том числе ГАМК-шунт [6]. Важное значение в данном процессе играет фитохромная система, способная принимать активное участие в регуляции функционирования ферментов посредством различных механизмов [7]. Одним из таких механизмов является метилирование промотора [8].

Чаще всего метилирование происходит в специализированных участках, называемых CpG-островками, отдельные CpG-динуклеотиды тоже могут подвергнуться метилированию, но это происходит значительно реже. Считается, что CpG-островки, ассоциированные с промоторами, содержат до 50–60% генов [8]. Чаще всего островки расположены в промоторных участках или первых экзонах гена, чем ближе будет располагаться островок к зоне инициации транскрипции, тем большую роль он будет играть в регуляции экспрессии данного гена [9].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объекта исследования использовались 14-ти дневные листья пшеницы (*Triticum aestivum* L.), выращенные гидропонным методом при 10-ти часовом световом дне, при температуре окружающей среды 25°C. При выращивании интенсивность света составляла 90 мкмоль квантов · м⁻² · с⁻¹. Постановку эксперимента по облучению растений светом разной длины волны осуществляли по описанной ранее методике [10].

Выделение РНК проводили методом фенол-хлороформной экстракции, в качестве осадителя использовали LiCl. Аналитический электрофорез проводили в 1%-ном геле агарозы (Helicon, Россия) [11].

Подбор праймеров для ПЦР в реальном времени проводили с помощью программы PrimerBlast, за основу брали нуклеотидную последовательность исследуемого гена *GLYR-1* (LOC123187044) пшеницы, представленную в базе данных NCBI.

Обратную транскрипцию проводили с помощью набора MMLV RT kit (ЗАО «Евроген») согласно рекомендациям производителя.

ПЦР в реальном времени проводили на амплификаторе LightCycler96 («Roche», Швеция) с применением Taq-полимеразы (ЗАО «Евроген») согласно рекомендациям производителя. SYBR Green I использовали как интеркалирующий краситель. Амплификация осуществлялась по данным параметрам: предварительная денатурация – 95°C, 5 мин; проведение 45 циклов, включающих стадии: 95°C – 10 сек; 58°C – 10 сек; 72°C – 10 сек. В конце проводили финальную элонгацию 10 минут при 72°C [12].

Бисульфитная модификация ДНК проводилась согласно ранее опубликованному протоколу с использованием бисульфита натрия в качестве модифицирующего агента [13].

Для анализа промоторов гена на наличие и расположение CpG-островков и последующего подбора праймеров для метилспецифичной ПЦР была использована программа MethPrimer.

Полимеразную цепную реакцию с метил-специфичными праймерами проводили с помощью набора AmpliSence (Хеликон, Россия). ПЦР проводилась на приборе «Терцик» (ДНК-Технология, Россия), со следующими параметрами амплификации: предварительная денатурация при 95°C в течение 5 мин, затем 35 циклов: 95°C – 20 с, 59°C – 20 с, 72°C – 30 с, и, наконец, 72°C – 4 мин [14].

Опыты проводили в 3-х кратной биологической повторности, аналитическое определение для каждой пробы – в трех повторностях. В таблицах и на рисунках приведены данные типичных опытов, где каждое значение есть среднее арифметическое. При математической обработке использовали статистический критерий Стьюдента [15].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение влияния светового режима на уровень транскриптов гена НАДФ-зависимой глиоксилатредуктазы в зеленых листьях пшеницы позволяет сделать вывод о его светозависимости [16]. В группе растений «Свет» наблюдается большее содержание транскриптов гена в сравнении с контролем «Темнота», разница составила примерно 1.25 раз (рис. 1). Похожая ситуация наблюдается и в пробе «КС», уровень мРНК гена немного превышал таковой показатель в пробе «Свет». В пробах «ДКС» и «КС+ДКС» уровень транскриптов находится на том же уровне, что и в контрольной пробе.

Полученные в ходе эксперимента данные позволяют сделать заключение о фитохром-зависимом механизме регуляции ГР в клетках листьев пшеницы. Фитохромная система регулирует активность исследуемого нами фермента за счет изменения скорости транскрипции его гена, что обусловлено способностью данной фоторецепторной системы модулировать работу транскрипционных факторов.

Для передачи фитохромного сигнала внутри ядра необходим посредник, таковым в данном случае выступает транскрипционный фактор PIF3, который активируется после накопления большого количества активной формы фитохрома в клетке [17]. Взаимодействие транскрипционного фактора и регулируемого гена осуществляется

с помощью фитохром-зависимых участков в промоторной последовательности (G- и E-участки). Наличие фитохром-зависимого участка в составе промотора указывает на возможность регуляции его транскрипции на уровне изменения сродства фермента РНК-полимеразы к нему [18, 19].

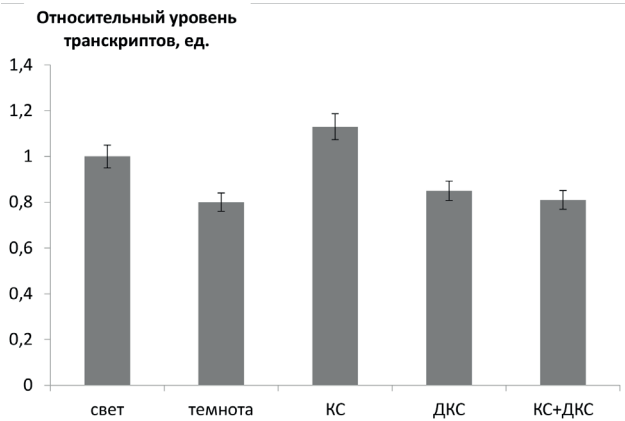


Рис. 1. Уровень транскриптов гена *GLYR-1* (хромосома 2A) в листьях пшеницы при различном световом режиме. Свет – растения, выращенные при белом свете; Темнота – растения, проинкубированные сутки в темноте; КС – растения, освещенные светом с длиной волны 660 нм; ДКС – растения, освещенные светом с длиной волны 730 нм; КС+ДКС – растения, последовательно освещенные светом с обоими длинами волн.

Анализ последовательностей промотора гена *GLYR-1* (хромосома 2A) показал присутствие фитохром-зависимых участков разных видов: 2 G-участка и 2 E-участка (рис. 2). Оба G-участка располагаются в зоне инициации транскрипции, что играет принципиальную роль в организации транскрипционной активности данного гена за счет контроля взаимодействия РНК-полимеразы с промотором исследуемого гена [20].



Рис. 2. Нуклеотидная последовательность промотора гена *GLYR-1* (хромосома 2A) глиоксилатредуктазы пшеницы с указанием положения *cis*-элементов взаимодействия транскрипционных факторов семейства PIF. Серым выделены E-участки, серым с подчеркиванием – G-участки.

Анализ нуклеотидной последовательности промотора гена цитозольной глиоксилатредуктазы на наличие CpG-островков показал, что в гене *GLYR-1* (хромосома 2A) два CpG-островка (рис. 3): островок 1 - 175 пн (положение -48 - 222), островок 2 - 140 пн (331-470).

Островок 1 частично расположен в зоне инициации транскрипции, следовательно, изменение метильного статуса цитозина на этом участке может оказывать значительное влияние на транскрипционную активность данного гена. Для оценки степени метилирования промотора гена *GLYR-1* пшеницы в различных условиях освещения были разработаны праймеры (табл. 1) и проведена метилспецифичная ПЦР.

Таблица 1

Праймеры для проведения метилспецифичной ПЦР к промотору гена *GLYR-1* (хромосома 2A) пшеницы

Ген		Положение исследуемого цитозина	Название	Последовательность
GLYR-1	I	-155 нукл.	прямой М	TTTATATTCGCGATAAGTAATTTCGG
			обратный М	AAACTTTACAAAAAACATTCATCG
			прямой U	ATATTTATATTTGTGATAAGTAATTTGG
			обратный U	AAAACTTTACAAAAAACATTCATCA
	II	-161 нукл.	прямой М	TATCCGCGACAAGTAATTCGGGCCGG
			обратный М	AAACTTTACAAAAAACATTCATCG
			прямой U	TTCGCGATAAGTAATTCGGGTCGG
			обратный U	AAAACTTTACAAAAAACATTCATCA
	III	-167 нукл.	прямой М	TTTTGTCCCAAACTTTATCGT
			обратный М	AAACTTTACAAAAAACATTCATCG
			прямой U	TTTTGTTTTAAATTTTATCGT
			обратный U	AAAACTTTACAAAAAACATTCATCA

Результаты метилспецифичной ПЦР с образцами из растений облучению светом с длинами волн 660 нм и 730 нм показывают, что регуляция содержания транскриптов гена *GLYR-1* может происходить с помощью эпигенетических факторов. Промотор данного гена был метилирован на 75% в пробах, подвергнутых последовательному облучению светом с длинами волн 660 и 730 (вариант КС+ДКС). В пробах растений, облученных дальним красным светом, а также инкубированных в темноте, степень метилирования составила 50%. В растениях варианта «свет» и облученных красным светом, метилирование было представлено на самом низком уровне и составляло всего 25% (табл. 2).

Таблица. 2

Степень метилирования CG-динуклеотидов промотора гена GLYR-1 (хромосома 2A) пшеницы, кодирующего глиоксилатредуктазу в листьях пшеницы, в условиях различного освещения

		Свет	Темнота	КС	ДКС	КС+ДКС
<i>GLYR-1</i>	I	-	±	-	±	+
	II		±	±	±	±
	III	±	±	±	±	±
	%	25	50	25	50	75

Изменение метильного статуса промотора гена глиоксилатредуктазы при воздействии на растения света разной длины волны представляет обратно пропорциональную зависимость с изменением уровня его активности и транскриптов [21]. Содержание транскриптов гена *GLYR-1* в листьях пшеницы на свету, а также при облучении КС, значительно превышало их содержание при облучении ДКС, КС+ДКС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменение содержания транскриптов гена *GLYR-1* в листьях пшеницы при влиянии света разной длины волны позволяет сделать вывод о экспрессионном механизме его регуляции. Результаты по изучению уровня транскриптов гена ГР при различных световых режимах соответствуют данным, полученным при измерении ее активности. Это указывает, что фитохромная система способна осуществлять регуляцию, изменяя активность трансдукторов фитохромного сигнала в ядре, таких как G-белки, PIF и др. [21]. Установлено, что именно активная форма фитохрома активирует скорость экспрессии гена НАДФ-зависимой глиоксилатредуктазы.

Результаты метилспецифичной ПЦР позволили установить роль метильного статуса промотора гена *GLYR-1* в регуляции фермента. Выявленная в

ходе исследования зависимость степени метилирования анализируемого промотора от режима освещения растений, свидетельствует, что увеличение его метильного статуса соотносится с понижением количества транскриптов. Низкий метильный статус CG-динуклеотидов на свету и при облучении объектов исследования КС способствует увеличению уровня транскриптов гена исследуемого фермента. Обратное действие вызывает ДКС и КС+ДКС, что приводит к увеличению статуса метилирования промотора гена и угнетению каталитической активности глиоксилатредуктазы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект № FZGU-2023-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Steven L. Glyoxylate Reductase Isoform 1 is Localized in the Cytosol and Not Peroxisomes in Plant Cells / L. Steven, K. Satinder, A. Rochon // Journal of Integrative Plant Biology. – 2012. – Vol. 54. – No 3. – P. 152–168.
2. Allan W. L. Role of plant glyoxylate reductases during stress: a hypothesis / W. L. Allan, S. M. Clark, G. J. Hoover, J. Barry // Biochemical Journal. – 2009. – Vol. 423. – №. 1. – P. 15–22.
3. Hoover G.J. Characteristics of an Arabidopsis glyoxylate reductase: general biochemical properties and substrate specificity for the recombinant protein, and developmental expression and implications for glyoxylate and succinic semialdehyde metabolism in planta / G.J. Hoover, O.R. Van Cauwenberghe, K.E. Breitkreuz, S.M. Clark, A.R. Merrill, B.J. Shelp // Canadian Journal of Botany. – 2007. – Vol. 85. – No 9. – P. 883–895.
4. Igamberdiev A. U. Organic Acids: The Pools of Fixed Carbon Involved in Redox Regulation and Energy Balance in Higher Plants / A. U. Igamberdiev, A. T. Eprintsev // Frontiers in Plant Science. – 2016. – Vol. 7: 1042.
5. Zarei A. Plant Glyoxylate/Succinic Semialdehyde Reductases / A. Zarei, C. J. Brikis, V. S. Bajwa // Frontiers in Plant Science. – 2017. – Vol. 8: 1399.
6. Федорин Д. Н. Светорегуляция изоферментов цикла трикарбоновых кислот в растениях / Д. Н. Федорин, А. Т. Епринцев, А. У. Игамбердиев // Физиология растений. – 2022. – Т. 69. – № 6. – С. 589–596.
7. Bauwe H. Photorespiration: Players, partners and origin / H. Bauwe, M. Hagemann, A. R. Fernie // Trends Plant Science. – 2010. – Vol. 15. – P. 330–336.

8. Федорин Д. Н. Метилирование ДНК как способ регуляции экспрессии генов / Д. Н. Федорин, А. Т. Епринцев // Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. – 2022. – № 2. – С. 44-51.
9. Lucibelli F. Plant DNA Methylation: An Epigenetic Mark in Development, Environmental Interactions, and Evolution / F. Lucibelli, M. S. Valoroso, S. Aceto // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23. – P. 8299.
10. Федорин Д. Н. Фитохром-зависимая регуляция активности фумаратгидратазы в зеленых листьях кукурузы / Д. Н. Федорин, А. Т. Епринцев, О. В. Сазонова // Физиология растений. – 2015. – Т. 62. – №. 4. – С. 474-480.
11. Chomczynski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // Analytical Biochemistry. – 1987. – Vol. 162. – P. 156–159.
12. Епринцев А. Т. Полимеразная цепная реакция как универсальный метод диагностики и идентификации генов / А. Т. Епринцев, Е. А. Москалёв, В. Н. Попов // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2001. – № 1. – С. 9–14.
13. Warnecke P.M. Identification and resolution of artifacts in bisulfite sequencing / P.M. Warnecke, C. Stirzaker, J. Song // Methods. – 2002. – Vol. 27. – No 2. – P. 101-107.
14. Zelitch I. Properties of a new glyoxylate reductase from leaves / I. Zelitch, A. M. Gotto // Biochemical Journal. – 1962. – Vol. 84. – № 3. – P. 541–546.
15. Лакин Г.Ф. Биометрия. Москва, Высшая школа. 1990, 351 с.
16. Kleczkowski L. A. Purification and characterization of a novel NADPH(NADH)-dependent glyoxylate reductase from spinach leaves. Comparison of immunological properties of leaf glyoxylate reductase and hydroxypyruvate reductase / L. A. Kleczkowski, D. D. Randall, D. G. Blevins // Biochemical Journal. – 1986. – Vol. 239. – No 3. – P. 653–659.
17. Rasmusson A. G. Light and diurnal regulation of plant respiratory gene expression / A. G. Rasmusson, M. Escobar // Physiologia Plantarum. – 2007. – Vol. 129. – P. 57–67.
18. Zhang Y. A. A quartet of PIF bHLH factors provides a transcriptionally centered signaling hub that regulates seedling morphogenesis through differential expression-patterning of shared target genes in Arabidopsis / Y. A. Zhang, O. Mayba, A. Pfeiffer // PLoS Genet. – 2013. – Vol. 9: e103244.
19. Jung J. H. Phytochromes function as thermosensors in Arabidopsis / J. H. Jung, M. Domijan, C. Klose // Science. – 2016. – Vol. 354. – P. 886–889.
20. ESCRICH A. The Epigenetic Regulation in Plant Specialized Metabolism: DNA Methylation Limits Paclitaxel in vitro Biotechnological Production / A. ESCRICH, R. M. Cusido, M. Bonfill // Frontiers in Plant Science. – 2022. – Vol. 13: 899444.
21. Medvedeva Y. A. Effects of cytosine methylation on transcription factor binding sites / Y. A. Medvedeva, A. M. Khamis, I. J. Kulakovskiy // BMC Genomics. – 2014. – Vol. 15: 119.

*Воронежский государственный университет
Федорин Дмитрий Николаевич, доцент кафедры биохимии и физиологии клетки
E-mail: rybolov@mail.ru*

*Бабичева Надежда Александровна, студент кафедры биохимии и физиологии клетки
E-mail: bc366@bio.vsu.ru*

*Епринцев Александр Трофимович, заведующий кафедрой биохимии и физиологии клетки,
E-mail: bc366@bio.vsu.ru*

*Voronezh State University
Fedorin Dmitry N., assistant professor of biochemistry and cell physiology
E-mail: rybolov@mail.ru*

*Babicheva Nadezhda A., student of biochemistry and cell physiology
E-mail: bc366@bio.vsu.ru*

*Eprintsev Alexander T., head of the department of biochemistry and cell physiology
E-mail: bc366@bio.vsu.ru*

PHYTOCHROME-DEPENDENT REGULATION OF GLYOXYLATE REDUCTASE GENE EXPRESSION IN WHEAT LEAVES

D.N. Fedorin, N.A. Babicheva, A.T. Eprintsev

Voronezh State University

Abstract. Glyoxylate reductase, an enzyme that ensures the interaction of metabolic flows of a plant cell during adaptation to the effects of a stress factor. This enzyme system is represented by a set of molecular forms and is capable of synthesizing succinic acid semialdehyde (SSA) for the GABA shunt, which is especially important under stress on the plant, when the main amount of GABA acts as an osmolyte or substrate for biosynthesis. It has been shown that in its active form, phytochrome exhibits an activating effect on the content of *GLYR-1* gene transcripts in wheat leaves, which indicates a genetic mechanism for regulating the activity of this enzyme. The phytochrome system is capable of taking an active part in the regulation of enzyme functioning through various mechanisms, one of which is the control of the state of the promoter, both through interaction with transcription factors and by changing its methyl status. The phytochrome system regulates gene expression by changing the activity of transcription factors localized in the nucleus, such as PIF. Analysis of the nucleotide sequence of the *GLYR-1* gene promoter showed the presence of phytochrome-dependent regions in its composition: G- and E-sites. The interaction of PIF factors with these specific sites ensures control of the expression of phytochrome-dependent genes when lighting changes, including the wheat cytoplasmic glyoxylate reductase gene. Analysis of the nucleotide sequence of the promoter of the studied wheat cytoplasmic glyoxylate reductase gene showed the presence of two CpG islands in its composition, changes in the methyl status of which can play an important role in the regulation of its transcription with the participation of the phytochrome system. A study of the methyl status of the *GLYR-1* gene promoter showed that epigenetic mechanisms play an important role in the regulation of its expression. A relationship has been established between the level of transcripts and the methyl status of CG-dinucleotides. A low methylation level of the gene promoter leads to an increase in the content of its transcript in plants grown in light and irradiated with red light.

Keywords: glyoxylate reductase, *Triticum aestivum* L., expression, phytochrome system, promoter, DNA methylation

REFERENCES

1. Steven L. Glyoxylate Reductase Isoform 1 is Localized in the Cytosol and Not Peroxisomes in Plant Cells / L. Steven, K. Satinder, A. Rochon // *Journal of Integrative Plant Biology*. – 2012. – Vol. 54. – No 3. – P. 152–168.
2. Allan W. L. Role of plant glyoxylate reductases during stress: a hypothesis / W. L. Allan, S. M. Clark, G. J. Hoover, J. Barry // *Biochemical Journal*. – 2009. – Vol. 423. – No 1. – P. 15–22.
3. Hoover G.J. Characteristics of an Arabidopsis glyoxylate reductase: general biochemical properties and substrate specificity for the recombinant protein, and developmental expression and implications for glyoxylate and succinic semialdehyde metabolism in planta / G.J. Hoover, O.R. Van Cauwenberghe, K.E. Breitkreuz, S.M. Clark, A.R. Merrill, B.J. Shelp // *Canadian Journal of Botany*. – 2007. – Vol. 85. – No 9. – P. 883–895.
4. Igamberdiev A. U. Organic Acids: The Pools of Fixed Carbon Involved in Redox Regulation and Energy Balance in Higher Plants / A. U. Igamberdiev, A. T. Eprintsev // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – Vol. 7: 1042.
5. Zarei A. Plant Glyoxylate/Succinic Semialdehyde Reductases / A. Zarei, C. J. Brikis, V. S. Bajwa // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – Vol. 8: 1399.
6. Fedorin D. N. Svetoregulyatsiya izofermentov tsikla trikarbonovykh kislot v rasteniyakh / D. N. Fedorin, A. T. Eprintsev, A. U. Igamberdiev // *Fiziologiya rasteniy*. – 2022. – Vol. 69. – No 6. – P. 589–596.
7. Bauwe H. Photorespiration: Players, partners and origin / H. Bauwe, M. Hagemann, A. R. Fernie // *Trends Plant Science*. – 2010. – Vol. 15. – P. 330–336.
8. Fedorin D. N. Metilirovaniye DNK kak sposob regulyatsii ekspressii genov / D. N. Fedorin, A. T. Eprintsev // *Vestnik VGU, seriya: khimiya, biologiya, farmatsiya*. – 2022. – No 2. – P. 44–51.
9. Lucibelli F. Plant DNA Methylation: An Epigenetic Mark in Development, Environmental Interactions, and Evolution / F. Lucibelli, M. S. Valoroso, S. Aceto // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23: 8299.
10. Fedorin D. N. Fitokhrom-zavisimaya regulyatsiya aktivnosti fumaratgidratazy v zelenykh list'yakh kukuruzy / D. N. Fedorin, A. T. Eprintsev,

O. V. Sazonova // Fiziologiya rasteniy. – 2015. – Vol. 62 – No 4. – P. 474–480.

11. Chomczynski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // Analytical Biochemistry. – 1987. – Vol. 162. – P. 156–159.

12. Eprintsev A. T. Polimeraznaya tsepnyaya reaktsiya kak universal'nyy metod diagnostiki i identifikatsii genov / A. T. Eprintsev, Ye. A. Moskalov, V. N. Popov // Sistemnyy analiz i upravleniye v biomeditsinskikh sistemakh. – 2001. – No 1. – P. 9–14.

13. Warnecke P.M. Identification and resolution of artifacts in bisulfite sequencing / P.M. Warnecke, C. Stirzaker, J. Song // Methods. – 2002. – Vol. 27. – No 2. – P. 101–107.

14. Zelitch I. Properties of a new glyoxylate reductase from leaves / I. Zelitch, A. M. Gotto // Biochemical Journal. – 1962. – Vol. 84. – №3. – P. 541–546.

15. Lakin G.F. Biometriya. Moskva, Vysshaya shkola. 1990, 351 s.

16. Kleczkowski L. A. Purification and characterization of a novel NADPH(NADH)-dependent glyoxylate reductase from spinach leaves. Comparison of immunological properties of leaf glyoxylate reductase and hydroxypyruvate reductase / L. A. Kleczkowski, D. D. Randall, D. G. Blevins //

Biochemical Journal. – 1986. – Vol. 239. – No 3. – P. 653–659.

17. Rasmusson A. G. Light and diurnal regulation of plant respiratory gene expression / A. G. Rasmusson, M. Escobar // Physiologia Plantarum. – 2007. – Vol. 129. – P. 57–67.

18. Zhang Y. A. A quartet of PIF bHLH factors provides a transcriptionally centered signaling hub that regulates seedling morphogenesis through differential expression-patterning of shared target genes in Arabidopsis / Y. A. Zhang, O. Mayba, A. Pfeiffer // PLoS Genet. – 2013. – Vol. 9: e103244.

19. Jung J. H. Phytochromes function as thermosensors in Arabidopsis / J. H. Jung, M. Domijan, C. Klose // Science. – 2016. – Vol. 354. – P. 886–889.

20. ESCRICH A. The Epigenetic Regulation in Plant Specialized Metabolism: DNA Methylation Limits Paclitaxel in vitro Biotechnological Production / A. ESCRICH, R. M. Cusido, M. Bonfill // Frontiers in Plant Science. – 2022. – Vol. 13: 899444.

21. Medvedeva Y. A. Effects of cytosine methylation on transcription factor binding sites / Y. A. Medvedeva, A. M. Khamis, I. J. Kulakovskiy // BMC Genomics. – 2014. – Vol. 15: 119.