

Научная статья

УДК 581.1

EDN: FNBXUJ

DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-516-522



Влияние гиперэкспрессии гена альтернативной внешней NADH-дегидрогеназы арабидопсиса на устойчивость трансформированных растений табака к отрицательной температуре

Г.Б. Боровский, Е.Л. Горбылева, А.И. Катышев, Н.Е. Коротаева,
Е.А. Полякова, Д.В. Пятрикас, И.В. Федосеева✉, А.М. Шигарова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Целью исследования являлось подтверждение функциональной активности и локализации трансгенного белка At_NDB2 арабидопсиса в клетках табака, а также оценка влияния перманентной экспрессии «внешней» альтернативной NADH-дегидрогеназы на устойчивость теплолюбивого растения к низкой температуре. Белок и митохондрии выделяли из листьев растений табака, выращенных при 25 °С (день/ночь) на стадии 7 листьев. С помощью электрофореза и иммуноблоттинга показана локализация белка At_NDB2 в митохондриях. Функциональная активность At_NDB2 подтверждена с помощью полярографии изолированных митохондрий и специфического ингибитора комплекса I митохондрий ротенона. Также выявлено, что у трансгенных растений скорость цианидрезистентного дыхания и активность фермента альтернативной оксидазы существенно выше, чем у растений дикого типа. Для определения устойчивости к низким температурам исходные и трансгенные растения табака в почвогрунте выращивали до стадии 2–3 и 6–7 листьев, после чего выдерживали при температуре от 3 до минус 3 °С в течение суток в темноте и оставляли для отрастания при 25 °С на 7 суток. Установлено, что устойчивость трансгенных и нетрансформированных растений не отличается, хотя ранее было показано, что у трансгенных растений окислительный стресс при низкой температуре снижен по сравнению с растениями дикого типа. Таким образом, было обнаружено, что активность альтернативной NADH-дегидрогеназы снижает окислительный стресс, увеличивает активность альтернативной оксидазы, но не повышает устойчивость *Nicotiana tabacum* к отрицательной температуре.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*, At_NDB2, нефосфорилирующее дыхание, устойчивость, низкая температура

Благодарности. В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00097 (<https://rscf.ru/project/23-24-00097/>).

Для цитирования: Боровский Г.Б., Горбылева Е.Л., Катышев А.И., Коротаева Н.Е., Полякова Е.А., Пятрикас Д.В. [и др.]. Влияние гиперэкспрессии гена альтернативной внешней NADH-дегидрогеназы арабидопсиса на устойчивость трансформированных растений табака к отрицательной температуре // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 4. С. 516–522. DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-516-522. EDN: FNBXUJ.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Effect of the overexpression of external alternative NADH dehydrogenase gene in *Arabidopsis* on the resistance of transformed tobacco plants to negative temperatures

Gennadii B. Borovskii, Elena L. Gorbyleva, Alexander I. Katyshev, Natalia E. Korotaeva,
Elizaveta A. Polyakova, Darya V. Pyatrikas, Irina V. Fedoseeva✉, Anastasiya M. Shigarova

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

© Боровский Г.Б., Горбылева Е.Л., Катышев А.И., Коротаева Н.Е., Полякова Е.А., Пятрикас Д.В., Федосеева И.В., Шигарова А.М., 2023

Abstract. The study aims to confirm the functional activity and localization of the At_NDB2 transgenic protein of *Arabidopsis* in tobacco cells and to evaluate the effect produced by the permanent expression of external alternative NADH dehydrogenase on the resistance of a heat-loving plant to low temperatures. Proteins and mitochondria were isolated from the leaves of tobacco plants grown at 25 °C (day/night) at the 7-leaf stage. At_NDB2 protein localization in mitochondria was determined via electrophoresis and immunoblotting. The functional activity of At_NDB2 was confirmed through the polarography of isolated mitochondria and the specific mitochondrial complex I inhibitor (rotenone). It was also found that the cyanide-resistant respiration rate and the activity of an alternative oxidase enzyme were significantly higher in transgenic plants than in wild-type plants. In order to determine the resistance to low temperatures, the parent and transgenic tobacco plants were grown in soil until the 2–3 and 6–7 leaf stages, after which they were kept at 3 to -3 °C for a day in the dark and left to regrow at 25 °C for seven days. Although it was previously shown that oxidative stress is reduced in transgenic plants at low temperatures as compared to wild-type plants, it was established that the tolerance of transgenic and nontransformed plants does not differ. Thus, alternative NADH dehydrogenase activity was found to reduce oxidative stress and increase alternative oxidase activity, without enhancing the resistance of *Nicotiana tabacum* to negative temperatures.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*, At_NDB2, non-phosphorylating respiration, tolerance, low temperature

Acknowledgements. The equipment of Center of Collective Use “Bioanalitika” of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of SB RAS was used.

Funding. Russian Science Foundation, project no. 23-24-00097 (<https://rscf.ru/project/23-24-00097/>), supported the work.

For citation: Borovskii G.B., Gorbyleva E.L., Katyshev A.I., Korotaeva N.E., Polyakova E.A., Pyatrikas D.V., et al. Effect of the overexpression of external alternative NADH dehydrogenase gene in *Arabidopsis* on the resistance of transformed tobacco plants to negative temperatures. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(4):516-522. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-516-522. EDN: FNBXUJ.

ВВЕДЕНИЕ

При энергозапасующем окислении NADH митохондриями функционирует комплекс I дыхательной цепи, который является одной из точек генерации мембранного потенциала. У большинства организмов его работа ингибируется ротеноном. Часть организмов, в том числе растения, грибы и некоторые микроорганизмы, также имеет дыхание, не чувствительное к ротенону. NADH или NADPH при этом окисляются несколькими ферментами, локализованными на наружной или на внутренней стороне внутренней митохондриальной мембраны. У арабидопсиса найдены три группы таких NAD(P)H-дегидрогеназ второго типа (ND II): NDA (два гена), NDB (четыре гена), и NDC (один ген) [1]. Установлена локализация данных ферментов: NDB1–NDB4 являются внешними (расположены на наружной стороне внутренней мембраны митохондрий), а NDA1–NDA2 и NDC1 – внутренними (обращены к митохондриальному матриксу) [2]. Точные физиологические функции конкретных белков семейства NDII не определены. Наиболее распространенной точкой зрения является их вовлеченность (вместе с альтернативной оксидазой (АОХ)) в формирование нефосфорилирующей дыхательной цепи при окислительном стрессе и метаболическом дисбалансе [3, 4]. Известно также, что при многих стрессах, например при засухе, практически все гены, кодирующие белки альтернативных путей митохондриального транспорта электронов, участвуют в стрессовой реакции растений и адаптации к неблагоприятным условиям [5]. С этими представлениями согласуются и наши данные о том, что в прорастающих семенах сохраняется способность митохондрий к окислению экзогенного NADH при действии отрицательной температуры на мито-

хондрии и именно окисление внешнего NADH главным образом обеспечивает энергетический метаболизм у растений при низких температурах [6]. Показано, что отсутствие внутренних альтернативных NADH-дегидрогеназ NDA1 и NDA2 снижает выживаемость проростков арабидопсиса при аноксии/реоксигенации, уменьшает квантовый выход фотосистемы II и увеличивает генерацию активных форм кислорода, тогда как гиперэкспрессия генов этих белков, напротив, снижает ее [7].

Ранее было показано, что ген NDB2 играет роль в устойчивости арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) к засухе и избыточному освещению, поскольку линии с нарушенным синтезом этого белка демонстрировали чувствительность к данным стрессам [4]. И напротив, устойчивые к засухе разновидности демонстрировали значительно более высокую экспрессию NDB2 (как и ряда других генов альтернативных путей дыхания), чем чувствительные к данному стрессовому фактору растения [8].

Прямых экспериментов, указывающих на защитную роль экспрессии белка NDB2 при низкой температуре у растений, проведено не было. В качестве модельного объекта нами были созданы трансгенные растения табака (*Nicotiana tabacum* L., cv. Petit Havana SR1), гиперэкспрессирующие ген *A. thaliana* At_NDB2 [9, 10]. Целью проведенной работы являлось подтверждение функциональной активности и правильной локализации трансгенного белка NDB2 арабидопсиса в клетках табака, а также оценка влияния перманентной экспрессии «внешней» альтернативной NADH-дегидрогеназы на устойчивость теплолюбивого растения к низкой температуре.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Создание вектора, трансформация и верификация трансформации табака подробно описаны в работе [10]. Семена табака после стерилизации раскладывали в чашки Петри на агаризованную питательную среду, содержащую 1/2 солей согласно источнику [11], и выращивали в ростовых климатических камерах (Binder, Германия) при освещении 140 мкмоль/(м²×с), фотопериоде 16/8 (день/ночь) и температуре 25 °С до двухнедельного возраста, а затем пересаживали в горшочки с почвосмесью и выращивали растения в тех же условиях до эксперимента на устойчивость до стадии 2–3 или 6–7 настоящих листьев либо выделения митохондрий на стадии 7 листьев.

Выделение митохондрий проводили по источнику [12] с модификациями. 80–100 г зеленых листьев табака растирали в охлажденной ступке в среде выделения (0,4 М сахароза, 50 мМ трис-НСl (рН 7,6), 1 мМ этиленгликольтетрауксусная кислота (ЭГТА), 10 мМ КН₂Р₀₄, 20 мМ аскорбат, 0,1%-й поливинилпирролидон, 0,5%-й бычий сывороточный альбумин (БСА), 0,5%-й цистеин). После первого центрифугирования (3800 g, 5 мин) из надосадочной жидкости получали осадок (16500 g, 20 мин), который ресуспендировали в среде промывания, содержащей все компоненты среды выделения, кроме цистеина. После еще одной серии центрифугирований (3800 g, 5 мин, затем 16500 g, 20 мин) осадок очень мягко ресуспендировали в среде для очистки (0,4 М сахароза, 50 мМ трис-НСl (рН 7,2), 0,1%-й БСА) и наслаивали на ступенчатый градиент перколлы, содержащий 36, 50 и 60% перколлы, 0,4 М сахарозу, 50 мМ трис-НСl (рН 7,2) и 0,1% БСА. После центрифугирования (18000 g, 30 мин) собирали очищенные митохондрии, которые располагались между слоями 50 и 35%-го перколлы, и дважды промывали в среде (0,4 М сахароза, 10 мМ КН₂Р₀₄, 0,1%-й БСА) с помощью центрифугирования (17000 g, 10 мин). Полученный после второго осаждения осадок митохондрий использовали для полярографии или в качестве очищенной фракции для электрофореза.

Отбор проб для оценки митохондриальной локализации NDB2 производили после гомогенизации листьев в ступке (1), после серии дифференциальных центрифугирований (2) и после очистки органелл в градиенте перколлы с помощью электрофореза (3). Белок осаждали пятикратным объемом охлажденного до минус 20 °С ацетона (8500 g, 10 мин) и растворяли в буфере для образца с додецилсульфатом натрия (ДАС-Na). По 30 мкг белка из каждой пробы разделяли электрофоретически в 12%-м полиакриламидном геле в присутствии ДАС-Na и переносили на нитроцеллюлозную мембрану в системе miniProtean III (BioRad, США) в соответствии с инструкцией. Для идентификации белка NDB2 использовали первичные антитела (PHY1403A, PhytoAB, США) и вторичные антитела, конъюгированные с щелочной фосфатазой (Sigma, США). Визуализацию антител проводили с использованием хромогенов BCIP (5-bromo-6-chloro-3-indolylphosphate-p-toluidine salt, Gerbu, Германия) и NBT (Nitrotetrazolium blue chloride, AppliChem, Германия).

Скорость поглощения кислорода определяли полярографически с использованием электрода Кларка (Oxytherm, Hansatech Instr., Великобритания), как описано

в работе [13], в ячейке объемом 1,4 мл при температуре 25 °С. Реакционная среда содержала 0,3 М сахарозу, 10 мМ калий-фосфатный буфер (рН 7,5), 10 мМ КCl, 5 мМ MgCl₂, 20 мМ MOPS, 5 мМ этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА) и 0,3% БСА. В качестве субстратов окисления использовали 10 мМ малат в присутствии глутамата и 1 мМ NADH. Глутамат добавляли для устранения оксалоацетатного ингибирования. При окислении NADH из состава реакционной среды исключали ЭДТА и для активации Са²⁺-зависимой NDB добавляли 0,06 мМ СаCl₂. Транспорт электронов в комплексе I блокировали 9 мкМ ротенона. Максимальную скорость окисления субстратов измеряли в присутствии 100–200 мкМ аденозиндифосфата (состояние 3). Из полярограмм рассчитывали скорость поглощения кислорода в метаболическом состоянии 3 (V_3 , скорость фосфорилирующего дыхания), скорость поглощения кислорода в метаболическом состоянии 4 (V_4 , скорость нефосфорилирующего дыхания), коэффициент дыхательного контроля по Чансу – Вильямсу (коэффициент дыхательного контроля равен отношению V_3/V_4) и отношение АДФ/О. Активность цитохромного пути рассчитывали как дыхание, ингибируемое 1,2 мМ KCN, а активность альтернативного пути дыхания, связанного с функционированием АОХ, – как дыхание, ингибируемое 6 мМ бензгидроксамовой кислоты в присутствии KCN (цианидрезистентное дыхание, чувствительное к бензгидроксамовой кислоте, или потенциальная (максимально возможная) активность альтернативного пути дыхания). За 100% принимали скорость поглощения кислорода митохондриями в состоянии 3 до добавления ингибиторов. Интактность внешней мембраны митохондрий рассчитывали по разнице скоростей аскорбат-зависимого поглощения кислорода, стимулируемого цитохромом с в отсутствие и в присутствии 0,04%-го детергента Тритон X-100 и чувствительного к KCN.

Тестирование устойчивости к низкой температуре проводили в испытательной камере (Binder, Германия) выдерживанием растений в течение 24 ч при температурах от 3 до минус 3 °С в темноте с последующим отращиванием в ростовой камере в течение недели.

Нормальность распределения определяли с помощью теста Шапиро – Уилкса. Данные представлены как $M \pm S.D.$ Статистическую значимость различий определяли при помощи критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее нами был описан процесс создания трансгенных по *At_NDB2* линий табака, доказательства интеграции в геном, высокой экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты гена *At_NDB2* в листьях табака и накопление белка NDB2 в трансформированных растениях. При этом оказалось, что скорость роста у трансформированных растений линии S13 несколько ниже, чем у растений дикого типа при оптимальной (25 °С) и субоптимальной (20 °С) температурах [10].

В рамках данного исследования нами была показана митохондриальная локализация белкового продукта гена *At_NDB2* в растениях табака линии S13. Количество детектируемого антителами белка NDB2 арабидопсиса последовательно возрастало с увеличением степени

очистки митохондрий из листьев табака (рисунок), что свидетельствует о том, что трансгенный белок находится в митохондриях.



Митохондриальная локализация белка NDB2 *Arabidopsis thaliana* в листьях табака. Пробы для выделения белка были отобраны после осаждения грубых остатков (1), после серии дифференциальных центрифугирований (2) и после очистки органелл в градиенте перколла (3). Белок подготавливали и выявляли иммуноблоттингом так, как это описано в экспериментальной части. Слева обозначены молекулярные веса маркеров

Mitochondrial localization of the NDB2 protein of *Arabidopsis thaliana* in tobacco leaves. Samples for protein isolation were taken after precipitation of coarse residues (1), after a series of differential centrifugations (2), and after purification of organelles in the percoll gradient (3). The protein was prepared and detected by immunoblotting as described in the experimental part. The molecular weights of the markers are indicated on the left

С помощью ингибитора комплекса I митохондрий ротенона, используя изолированные митохондрии контрольных и трансформированных растений, мы установили, что продукт гена *At_NDB2* в митохондриях табака метаболически активен (таблица). Об этом свидетельствует процент ротенон-устойчивого дыхания при использовании малата, который оказался значительно выше у органелл, изолированных из трансформированных растений. Показана также увеличенная в два раза в сравнении с растениями контрольной группы активность цианидрезистентного дыхания (альтернативный путь) при использовании NADH (и на треть при использовании малата) в митохондриях из растений табака с экспрессией гена *At_NDB2*. Данные свидетельствуют об увеличении активности

Некоторые параметры функциональной активности митохондрий, изолированных из листьев табака, трансгенного по *At_NDB2*, и растений дикого типа

Parameters of the functional activity of mitochondria isolated from tobacco leaves transgenic by *At_NDB2* and wild-type plants

Показатель	Дикий тип		Линия S13	
	Малат	NADH	Малат	NADH
АДФ/О	3,32±0,63 ^a	1,90±0,72 ^a	1,80±0,69 ^b	2,30±0,58 ^a
Коэффициент дыхательного контроля	2,24±0,32 ^a	1,81±0,39 ^a	2,01±0,43 ^a	1,91±0,41 ^a
Поглощение O ₂ , нмоль/(мин×мг белка)				
Скорость в фосфолирующем состоянии	16,38±3,70 ^a	14,50±3,56 ^a	22,34±4,10 ^a	26,90±5,13 ^b
Цитохромный путь	10,26±0,97 ^a	16,30±5,67 ^a	10,87±0,41 ^a	14,81±1,90 ^a
Альтернативный путь	7,26±1,50 ^a	5,93±1,42 ^a	10,90±0,85 ^b	11,62±3,20 ^b
Процент ингибирования ротеноном	52,25±8,60 ^a	-	29,75±13,00 ^b	-

Примечание. Цитохромный путь оценивали с помощью ингибитора KCN (1,2 мМ); альтернативный путь оценивали с помощью бензгидроксамовой кислоты (6 мМ) в присутствии KCN. Концентрация малата – 10 мМ, NADH – 1 мМ, ротенона – 6 мкМ. Представлено сравнение параметров для исходного генотипа и линии S13, поиск значимых отличий выполнен для конкретного субстрата (ингибитора) с использованием критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Одинаковые буквы означают отсутствие значимых отличий. $M \pm SD$, $n = 3-8$.

АОХ в митохондриях линии S13 и, вероятно, повышении экспрессии генов АОХ.

Далее была проанализирована устойчивость молодых растений линии S13 и контрольных растений к низкой температуре. Растения в почвогрунте на стадии 2–3 или 6–7 листьев выдерживали в климатической камере в темноте при температурах в диапазоне от 3 до минус 3 °С в течение 24 ч. Изначально мы предполагали, что табак как теплолюбивое растение будет существенно повреждаться при низких положительных температурах, однако этого не произошло. Оказалось, что для растений критической является температура минус 2 °С. Эту температуру растения не выдерживали и погибали. При минус 1 °С часть листьев отмирала спустя некоторое время, но растения не погибали. Разницы в устойчивости между линией с повышенной экспрессией гена *At_NDB2* и нетрансформированными растениями табака при данной схеме эксперимента не было обнаружено.

Известно, что экспрессия генов *NDB* и *АОХ* взаимосвязана. Так, величина экспрессии *АОХ1а* у *A. thaliana* влияет на уровень экспрессии *NDB2* как при комфортных условиях, так и при повышенном облучении ультрафиолетом [14]. Экспрессия этих генов скоординирована при ответе на различные абиотические факторы, что предполагает регуляцию общими промоторными элементами [15–19]. У трансгенных растений табака (*N. sylvestris* L. с гиперэкспрессией *StNDB1* картофеля (*Solanum tuberosum* L.) наблюдали увеличение активности *АОХ* [20]. Схожий эффект наблюдали в ряде аналогичных трансгенных линий арабидопсиса. При этом координированная экспрессия генов *NDB* и *АОХ* и совместная работа белков, которые они кодируют, обеспечивает активность полноценного функционального нефосфорилирующего пути транспорта электронов с использованием NAD(P)H [4]. Предполагается, что в исследуемых нами трансгенных растениях табака вследствие повышенной экспрессии *At_NDB2* *A. thaliana* происходит активация дыхания через нефосфорилирующий путь (*NDB2* – Q/QH2 – *АОХ*), поскольку нами показано, что потенциальная активность *АОХ*

в изолированных митохондриях трансгенного табака значительно повышена (см. таблицу). При этом, как было показано ранее, и скорость альтернативного дыхания у листьев трансформантов, выращенных при 20 °С, была достоверно выше, чем у листьев растений дикого типа, выращенных при такой же температуре [10]. Вероятно, повышение скорости альтернативного дыхания и определяет более низкий уровень генерации активных форм кислорода в трансгенных растениях в условиях воздействия субоптимальной температуры [10]. В то же время нами было установлено, что снижение генерации активных форм кислорода при холодовом стрессе не приводит к повышению устойчивости растений (как это можно было бы ожидать) к небольшим отрицательным

температурам, по крайней мере при используемой в данной работе схеме воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате экспериментальной работы с трансгенными по гену *NDB2* из *A. thaliana* (*At_NDB2*) молодыми растениями табака было показано митохондриальное расположение трансгенного белка, его функциональная активность, сопутствующая активация АОХ и цианидрезистентного дыхательного пути. Тем не менее активность альтернативной NADH-дегидрогеназы не увеличивала устойчивость данного теплолюбивого растения к низким положительным и небольшим отрицательным температурам.

REFERENCES

1. Michalecka A.M., Svensson A.S., Johansson F.I., Agius S.C., Johanson U., Brennicke A., et al. Arabidopsis genes encoding mitochondrial type II NAD(P)H dehydrogenases have different evolutionary origin and show distinct responses to light. *Plant Physiology*. 2003;133(2):642-652. DOI: 10.1104/pp.103.024208.
2. Elhafez D., Murcha M.W., Clifton R., Soole K.L., Day D.A., Whelan J. Characterization of mitochondrial alternative NAD(P)H dehydrogenases in Arabidopsis: intraorganelle location and expression. *Plant and Cell Physiology*. 2006;47(1):43-54. DOI: 10.1093/pcp/pci221.
3. Møller I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 2001;52(1):561-591. DOI: 10.1146/annurev.arplant.52.1.561.
4. Sweetman C., Waterman C.D., Rainbird B.M., Smith P.M.C., Jenkins C.D., Day D.A., et al. *AtNDB₂* is the main external NADH dehydrogenase in mitochondria and is important for tolerance to environmental stress. *Plant Physiology*. 2019;181(2):774-788. DOI: 10.1104/pp.19.00877.
5. Yerlikaya B.A., Ates D., Abudureyimu B., Aksoy E. Effect of climate change on abiotic stress response gene networks in *Arabidopsis thaliana*. In: Prakash C.S., Fiaz S., Fahad S. (eds). *Principles and practices of OMICS and genome editing for crop improvement*. Cham: Springer; 2022, p. 149-172.
6. Stupnikova I., Benamar A., Tolleter D., Grelet J., Borovskii G., Dorne A.J., Macherel D. Pea seed mitochondria are endowed with a remarkable tolerance to extreme physiological temperatures. *Plant Physiology*. 2006;140(1):326-335. DOI: 10.1104/pp.105.073015.
7. Jethva J., Lichtenauer S., Schmidt-Schippers R., Steffen-Heins A., Poschet G., Wirtz M., et al. Mitochondrial alternative NADH dehydrogenases NDA1 and NDA2 promote survival of reoxygenation stress in Arabidopsis by safeguarding photosynthesis and limiting ROS generation. *New Phytologist*. 2023;238(1):96-112. DOI: 10.1111/nph.18657.
8. Alizadeh R., Kumleh H.H., Rezadoost M.H. The simultaneous activity of cytosolic and mitochondrial antioxidant mechanisms in neutralizing the effect of drought stress in soybean. *Plant Physiology Reports*. 2023;28(1):78-91. DOI: 10.1007/s40502-022-00704-6.
9. Borovskii G.B., Korotaeva N.E., Katyshev A.I., Fedoseeva I.V., Fedyeva A.V., Kondakova M.A., et al. The overexpression of the Arabidopsis *NDB2* gene in tobacco plants affects the expression of genes encoding the alternative mitochondrial electron transport pathways and stress proteins. In: *Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology: abstracts of the 6th International scientific conference*. 14–18 June 2021, Novosibirsk. Novosibirsk; 2021, p. 42.
10. Korotaeva N.E., Shigarova A.M., Katyshev A.I., Fedoseeva I.V., Fedyeva A.V., Sauchyn D.V., et al. Effect of expression of the *NDB2* heterologous gene of *Arabidopsis thaliana* on growth and respiratory activity of *Nicotiana tabacum*. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2023;70:93. DOI: 10.1134/S1021443723600885.
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
12. Hameed M.W., Juszczak I., Bock R., van Dongen J.T. Comparison of mitochondrial gene expression and polysome loading in different tobacco tissues. *Plant Methods*. 2017;13:112. DOI: 10.1186/s13007-017-0257-4.
13. Gabelnykh O.I., Yakovenko K.V., Polyakova E.A., Korsukova A.V., Stepanov A.V., Fedotova O.A., et al. Functioning of mitochondria in transgenic potato tubers with the *gox* gene for glucose oxidase from *Penicillium funiculosum* during different storage periods. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2022;69:112. DOI: 10.1134/S1021443722060097.
14. Garmash E.V., Velegzhaninov I.O., Ermolina K.V., Rybak A.V., Malyshev R.V. Altered levels of *AOX1a* expression result in changes in metabolic pathways in *Arabidopsis thaliana* plants acclimated to low dose rates of ultraviolet B radiation. *Plant Science*. 2020;291:110332. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.110332.
15. Clifton R., Lister R., Parker K.L., Sappl P.G., Elhafez D., Millar A.H., et al. Stress-induced co-expression of alternative respiratory chain components in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*. 2005;58:193-212. DOI: 10.1007/s11103-005-5514-7.
16. Yoshida K., Noguchi K. Differential gene expression profiles of the mitochondrial respiratory components in illuminated Arabidopsis leaves. *Plant and Cell Physiology*. 2009;50(8):1449-1462. DOI: 10.1093/pcp/pcp090.
17. Smith C., Barthet M., Melino V., Smith P., Day D., Soole K. Alterations in the mitochondrial alternative NAD(P) H dehydrogenase *NDB4* lead to changes in mitochondrial

electron transport chain composition, plant growth and response to oxidative stress. *Plant and Cell Physiology*. 2011;52(7):1222-1237. DOI: 10.1093/pcp/pcr073.

18. Sweetman C., Waterman C.D., Wong D.C.J., Day D.A., Jenkins C.L.D., Soole K.L. Altering the balance between AOX1A and NDB2 expression affects a common set of transcripts in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:876843. DOI: 10.3389/fpls.2022.876843.

19. Wanniarachchi V.R., Dametto L., Sweetman C., Shavrukov Y., Day D.A., Jenkins C.L.D., et al. Alternative

respiratory pathway component genes (AOX and ND) in rice and barley and their response to stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(3):915. DOI: 10.3390/ijms19030915.

20. Liu Y.J., Norberg F.E.B., Szilágyi A., De Paepe R., Åkerlund H.-E., Rasmusson A.G. The mitochondrial external NADPH dehydrogenase modulates the leaf NADPH/NADP⁺ ratio in transgenic *Nicotiana glauca*. *Plant and Cell Physiology*. 2008;49(2):251-263. DOI: 10.1093/pcp/pcn001.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Боровский Геннадий Борисович,

д.б.н., профессор, заместитель директора по научной работе, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Российская Федерация, borovskii@sifibr.irk.ru <https://orcid.org/0000-0002-5089-5311>

Горбылева Елена Леонидовна,

к.б.н., младший научный сотрудник, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Российская Федерация, dzubina@sifibr.irk.ru <https://orcid.org/0000-0002-6858-380X>

Катышев Александр Игоревич,

к.б.н., старший научный сотрудник, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Российская Федерация, byacky78@mail.ru <https://orcid.org/0000-0001-7856-0460>

Коротаева Наталья Евгеньевна,

к.б.н., старший научный сотрудник, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Российская Федерация, korotaeva73@sifibr.irk.ru <https://orcid.org/0000-0003-4236-389X>

Полякова Елизавета Алексеевна,

аспирант, ведущий инженер, Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Российская Федерация, polyackova.elizaveta727@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0002-4830-5888>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Gennadii B. Borovskii,

Dr. Sci. (Biology), Professor, Vice-director, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, 132, Lermontov St., Irkutsk, 664033, Russian Federation, borovskii@sifibr.irk.ru <https://orcid.org/0000-0002-5089-5311>

Elena L. Gorbyleva,

Cand. Sci. (Biology), Researcher, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, 132, Lermontov St., Irkutsk, 664033, Russian Federation, dzubina@sifibr.irk.ru <https://orcid.org/0000-0002-6858-380X>

Alexander I. Katyshev,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, 132, Lermontov St., Irkutsk, 664033, Russian Federation, byacky78@mail.ru <https://orcid.org/0000-0001-7856-0460>

Natalia E. Korotaeva,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, 132, Lermontov St., Irkutsk, 664033, Russian Federation, korotaeva73@sifibr.irk.ru <https://orcid.org/0000-0003-4236-389X>

Elizaveta A. Polyakova,

Postgraduate Student, Lead Engineer, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, 132, Lermontov St., Irkutsk, 664033, Russian Federation, polyackova.elizaveta727@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0002-4830-5888>

Пятрикас Дарья Валерьевна,
к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
galdasova@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0009-0001-0444-0447>

Федосеева Ирина Владимировна,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉ fedoseeva.irina2009@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6529-9304>

Шигарова Анастасия Михайловна,
к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
anas_shig@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0000-8502-4826>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 08.09.2023.
Одобрена после рецензирования 13.10.2023.
Принята к публикации 31.10.2023.

Darya V. Pyatrikas,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
galdasova@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0009-0001-0444-0447>

Irina V. Fedoseeva,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ fedoseeva.irina2009@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6529-9304>

Anastasiya M. Shigarova,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
anas_shig@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0000-8502-4826>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

Information about the article

The article was submitted 08.09.2023.
Approved after reviewing 13.10.2023.
Accepted for publication 31.10.2023.