

**БИОХИМИЯ, ГЕНЕТИКА
И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ****BIOCHEMISTRY, GENETICS
AND MOLECULAR BIOLOGY**

DOI: 10.12731/2658-6649-2022-14-6-157-171

УДК 576.315

**СНИЖЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ
АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА
ПРИ ИНАКТИВАЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОГО
КОМПЛЕКСА I В КЛЕТКАХ
АРАБИДОПСИСА**

*В.И. Тарасенко, Е.Ю. Гарник,
В.Н. Шмаков, Ю.М. Константинов*

Обоснование. Электрон-транспортная цепь митохондрий, в частности дыхательный комплекс I, является одним из основных источников активных форм кислорода (АФК) в клетках живых организмов. Подавление работы комплекса I в клетках человека посредством химического ингибирования или мутаций, нарушающих функциональность этого комплекса, ведет к существенному возрастанию содержания АФК. Для растений также известны мутанты по субъединицам комплекса I, однако до настоящего времени не ясно, приводит ли подавление активности этого комплекса к возрастанию уровня АФК и развитию окислительного стресса.

Цель. Исследовать уровень супероксида, перекиси водорода и чувствительность к прооксидантам в клетках линии арабидопсиса *ndufs4* с инактивированным посредством инсерционного мутагенеза комплексом I.

Материалы и методы. Использовали суспензионную культуру клеток арабидопсиса дикого типа и инсерционного мутанта по субъединице комплекса I *NDUFS4*. Содержание перекиси водорода в клетках оценивали по флуоресценции дихлорофлуоресцеина. Уровень супероксидного радикала определяли путем окрашивания клеток нитросиним тетразолием.

Результаты. Показано, что инактивация NADH-дегидрогеназного комплекса в клетках арабидопсиса в результате отсутствия одной из его субъединиц приводит к снижению содержания супероксида и перекиси водорода. Также показано, что уровень АФК в клетках, обработанных прооксидантом менадиолом и перекисью водорода, возрастает в несколько раз в клетках дикого типа, однако остается почти неизменным в клетках линии *ndufs4*.

Заключение. Подавление активности NADH-дегидрогеназного комплекса в клетках растений, но не животных, приводит к снижению содержания как перекиси водорода, так и супероксида. Клетки линии *ndufs4* обладают повышенной способностью к детоксикации АФК, возможно связанной с постоянной мобилизацией в них систем антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: дыхательный комплекс I; перекись водорода; супероксид; *Arabidopsis thaliana*

Для цитирования. Тарасенко В.И., Гарник Е.Ю., Шмаков В.Н., Константинов Ю.М. Снижение содержания активных форм кислорода при инактивации дыхательного комплекса I в клетках арабидопсиса // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2022. Т. 14, №6. С. 157-171. DOI: 10.12731/2658-6649-2022-14-6-157-171

DECREASE IN THE CONTENT OF REACTIVE OXYGEN SPECIES DURING INACTIVATION OF THE RESPIRATORY COMPLEX I IN ARABIDOPSIS CELLS

V.I. Tarasenko, E.Y. Garnik,
V.N. Shmakov, Y.M. Konstantinov

Background. The mitochondrial electron transport chain, in particular the respiratory complex I, is one of the main sources of reactive oxygen species (ROS) in living cells. Suppression of the complex I activity in human cells through chemical inhibition or mutations that disrupt the functionality of this complex leads to a significant increase in the content of ROS. The complex I mutants are also known for plants; however, it is still not clear whether the suppression of the activity of this complex leads to an increase in the level of ROS and the development of oxidative stress.

Purpose. To study the level of superoxide, hydrogen peroxide and sensitivity to prooxidants in *Arabidopsis ndufs4* cells with complex I inactivated by insertional mutagenesis.

Materials and methods. *A suspension culture of wild-type Arabidopsis cells and a line with knockout the NDUFS4 complex I subunit was used. The level of hydrogen peroxide in the cells was determined using dichlorofluorescein. The superoxide content was estimated by cell staining in the presence of nitroblue tetrazolium.*

Results. *It has been shown that inactivation of the NADH-dehydrogenase complex in Arabidopsis cells due to the absence of one of its subunits leads to a decrease in the content of superoxide and hydrogen peroxide. It was also shown that the level of ROS in cells treated with the menadione and hydrogen peroxide increased several times in wild-type cells, but remained almost unchanged in ndufs4 cells.*

Conclusion. *Suppression of the activity of the NADH dehydrogenase complex in plant cells, but not in animal cells, leads to a decrease in the content of both hydrogen peroxide and superoxide. Cells of ndufs4 line have an increased ability to detoxify ROS, possibly associated with the constant mobilization of antioxidant defense systems.*

Keywords: *respiratory complex I; hydrogen peroxide; superoxide; Arabidopsis thaliana*

For citation. *Tarasenko V.I., Garnik E.Y., Shmakov V.N., Konstantinov Y.M. Decrease in the Content of Reactive Oxygen Species During Inactivation of the Respiratory Complex I in Arabidopsis Cells. Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture, 2022, vol. 14, no. 6, pp. 157-171. DOI: 10.12731/2658-6649-2022-14-6-157-171*

Известно, что митохондрии являются одним из основных источников АФК – соединений, играющих важную роль как в качестве повреждающих клеточные компоненты агентов, так и потенциальных переносчиков сигнала между клеточными компартментами [15]. Основным источником АФК, в первую очередь супероксидного радикала, в митохондриях служит дыхательная цепь, а именно комплексы I и III [12, 13]. Блокирование потока электронов под действием химических агентов, приводящее к «сверхвосстановленности» того или иного сегмента дыхательной цепи, обычно усиливает интенсивность генерации АФК [15, 23].

Ингибирование активности дыхательного комплекса I приводит к возрастанию уровня супероксида и перекиси водорода в клетках животных [14]. Подавление работы комплекса I в клетках человека под воздействием ротенона ведет к существенному возрастанию содержания АФК, а мутации, нарушающие функциональность этого комплекса, вызывают тяжелые патологии [6]. Известно, что данный агент ингибирует активность комплекса I и в растительных клетках [9]. Добавление ротенона к куль-

тивируемым клеткам арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L. Heyn) ведет к достаточно масштабным изменениям на уровне метаболома и транскриптома, при этом остается неизменным соотношение восстановленной и окисленной форм глутатиона и аскорбата, что позволяет предположить отсутствие жесткого окислительного стресса при ингибировании комплекса I [7]. Исследование растений табака (*Nicotiana glauca* L.) линии CMSII, мутантных по компонентам комплекса I, также выявило множество перестроек в путях метаболизма и клеточного сигналинга [5, 16]. В частности, для этих растений характерны изменения в содержании транскриптов, кодирующих ферменты антиоксидантной защиты, и повышенная устойчивость к различным стрессам [5].

В настоящей работе мы изучили влияние инактивации комплекса I в клетках мутантной линии арабидопсиса *ndufs4* на содержание перекиси водорода и супероксида в нормальных условиях культивирования и при воздействии прооксидантов. В результате, впервые продемонстрировано, что для клеток суспензионной культуры линии с подавленной активностью NADH-дегидрогеназного комплекса характерно снижение содержания как перекиси водорода, так и супероксида. Также, впервые показан повышенный уровень антиоксидантной активности в клетках исследуемой линии.

Материалы и методы

Гомозиготные растения арабидопсиса линии *ndufs4*, относящейся к коллекции инсерционных мутантов SAIL [19], содержащей вставку в гене *NDUFS4* (at5g67590), были получены и охарактеризованы нами ранее [4]. Стерилизацию семян проводили в растворе, содержащем 70 % этиловый спирт и 0,05% Тритон X-100 в течение 10 минут. Семена дважды промывали стерильной бидистиллированной водой и выращивали на чашках Петри в условиях, описанных ранее [22]. Гетеротрофную суспензионную культуру клеток получали из проростков арабидопсиса в возрасте 7 суток как описано ранее [21].

Клетки культивировали при 26°C в темноте на среде MS с рядом добавок, как описано ранее [3]. Продолжительность каждого субкультивирования составляла 10 суток. Эксперименты проводили на седьмые сутки субкультивирования.

Содержание перекиси водорода в культивируемых клетках оценивали согласно [10]. К клеткам добавляли 2',7'-дихлорфлуоресцеин диацетат («Fluka», США) до концентрации 5 мкМ и инкубировали 40 мин. После

осаждения клеток измеряли флуоресценцию супернатанта (длина волны поглощаемого света 480 нм, испускаемого 524 нм) с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF 5301 PC (Япония). Результат выражали как отношение единиц флуоресценции к сырому весу клеток, и приводили на диаграммах в процентах от содержания перекиси водорода в контрольных условиях. Уровень супероксида оценивали согласно [17]. Клетки, отделенные от среды культивирования, инкубировали в растворе, содержащем 1 мг/мл нитросинего тетразолия («Thermo Scientific», США) и 10 мМ KH_2PO_4 (рН 7,8) либо в том же растворе с добавлением менадиона (200 мкМ) или перекиси водорода (10 мМ), в течение 20 мин и фиксировали в 70% этаноле. Формазан, образующийся при реакции нитросинего тетразолия с супероксидом, экстрагировали посредством солиubilизации осадка клеток в смеси 2 М КОН и диметилсульфоксида (1:1). Супернатант, полученный после центрифугирования в течение 10 мин при 12000 g, отбирали и измеряли поглощение при длине волны 700 нМ.

Все эксперименты проводили как минимум в трех биологических повторностях. На всех диаграммах представлены стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение

Выявленное нами ранее [2] снижение содержания АФК в результате временного блокирования NADH-дегидрогеназного комплекса при обработке ротеноном оставляет открытым вопрос, наблюдается ли сходный эффект при постоянном отсутствии комплекса. Для ответа на этот вопрос мы исследовали линию инсерционного мутанта арабидопсиса *ndufs4*, в которой отсутствует субъединица комплекса I NDUFS4 [4], что приводит к практически полному исчезновению у мутантных растений активности NADH-дегидрогеназного комплекса [11]. Исследование внутриклеточного уровня АФК в полученной нами суспензионной культуре клеток линии *ndufs4* выявило существенные отличия этих клеток от клеток дикого типа. Уровень перекиси водорода, определенный с использованием DCF, был существенно ниже в клетках линии *ndufs4* (рис. 1А). Поскольку способ определения АФК с использованием DCF позволяет детектировать в первую очередь перекись водорода, нами был применен также метод с использованием красителя нитросинего тетразолия – соединения, позволяющего специфически оценивать содержание супероксида – непосредственного продукта дисфункции комплекса I. В результате показано, что уровень супероксидного радикала также значительно ниже в клетках *ndufs4* по сравнению с клетками дикого типа (рис. 1Б).

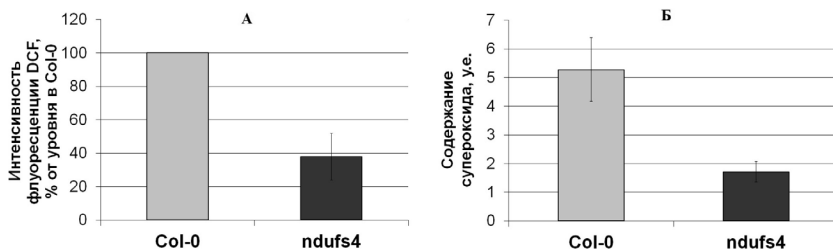


Рис. 1. Содержание перекиси водорода и супероксида в культивируемых клетках арабидопсиса, полученных из растений дикого типа (Col-0) и линии *ndufs4*. А – определение содержания перекиси водорода с помощью DCF. Б – определение содержания супероксида с помощью нитросинего тетразолия

В следующих экспериментах мы проверили, существуют ли отличия между клетками исследуемой мутантной линии и линии дикого типа в отношении изменений уровня АФК в ответ на стрессовые воздействия. В результате показано, что уровень перекиси водорода в клетках, обработанных прооксидантом менадионом и перекисью водорода, возрастал в несколько раз в клетках дикого типа, однако оставался почти неизменным в клетках линии *ndufs4* (рис. 2). Данный факт свидетельствует в пользу повышенной способности последних к детоксикации АФК, возможно связанной с постоянной мобилизацией в мутантных клетках систем антиоксидантной защиты.

Из полученных нами результатов следует, что инактивация NADH-дегидрогеназного комплекса в клетках арабидопсиса под воздействием ингибиторов [2] или в результате отсутствия одной из его субъединиц приводит к снижению содержания супероксида и перекиси водорода. Эти данные противоречат продемонстрированной ранее в клетках млекопитающих индукции образования АФК в ответ на дисфункцию дыхательного комплекса I. В то же время, полученные нами результаты хорошо соотносятся с имеющимися данными о сниженном содержании перекиси водорода в листьях мутантных по комплексу I линий CMSII табака [5] и MSC16 огурца [20]. Причины подобных различий в реакции животных и растительных клеток на подавление активности NADH-дегидрогеназного комплекса остаются неясными. Не исключено, что они могут быть связаны со структурными и функциональными особенностями растительного комплекса I. Известно, что в состав NADH-дегидрогеназного комплекса высших растений входит как минимум 50 субъединиц, ряд из которых обнаружен только в растениях. Часть этих белков имеют собственные функции. Так, в состав

комплекса I высших растений входят субъединицы с карбоангидразной и галактонолактондегидрогеназной активностью [13]. Кроме того, принципиальным отличием электрон-транспортной цепи растений является наличие ротенон-нечувствительных NAD(P)H-зависимых дегидрогеназ, способных осуществлять перенос электронов в обход дыхательного комплекса I [18, 1].

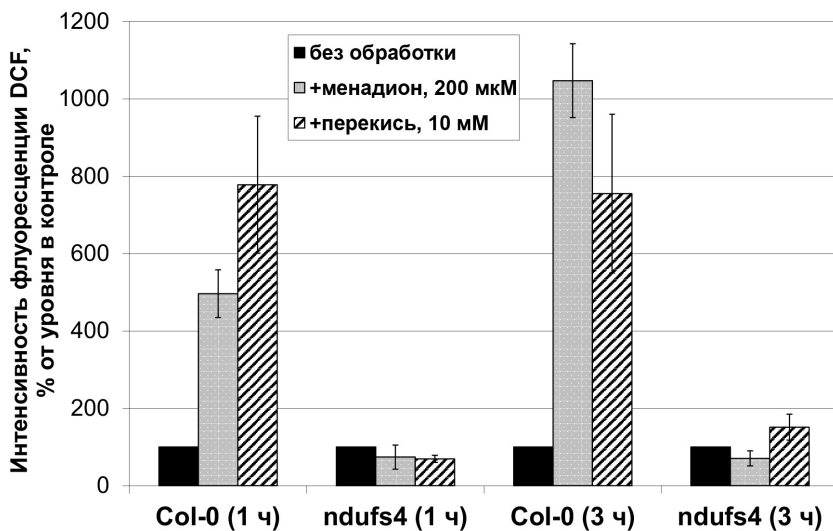


Рис. 2. Содержание перекиси водорода в клетках арабидопсиса линий дикого типа (Col-0) и *ndufs4*, инкубированных в присутствии менадиона или перекиси водорода в течение 1 и 3 ч. Интенсивность флуоресценции DCF в исследуемых линиях в отсутствие обработки принята за 100%

Альтернативным объяснением наблюдаемому феномену может служить предположение, что сниженный уровень АФК в линии *ndufs4*, культивируемой в нормальных условиях, связан с постоянно повышенной активностью систем антиоксидантной защиты в клетках с дисфункцией комплекса I. Показанные в работе отличия в реакции клеток *ndufs4* и клеток дикого типа на обработку менадином и перекисью водорода позволяют предположить существование в мутантных клетках компенсаторного механизма, приводящего к постоянно повышенной активности систем антиоксидантной защиты у растений с нарушенным функционированием дыхательного комплекса I и, в конечном итоге, к снижению содержанию клеточных АФК.

Следует отметить, что ранее в некоторых линиях, мутантных по компонентам комплекса I (*frl1*, MSC16) было отмечено повышенное образование супероксида, несмотря на сниженное или неизменное содержание перекиси водорода [8, 20]. В то же время, в клетках линии *ndufs4* нами показано снижение уровня как перекиси водорода, так и супероксида. Принципиальным отличием нашей работы является использование гетеротрофных клеток, характеризующихся отсутствием функциональных хлоропластов. Мы предполагаем, что возрастание уровня супероксида, показанное в вышеуказанных исследованиях, связано с использованием в качестве их объекта зеленых тканей с активно протекающими процессами фотосинтеза. Соответственно, увеличение содержания супероксида, показанное в работах [8, 20] может быть связано не с индукцией его генерации непосредственно на уровне комплекса I, а с повышенным образованием супероксида в фотосинтетической электрон-транспортной цепи в условиях избытка редокс-эквивалентов, возникающего вследствие отсутствия комплекса I [13].

Дальнейшие исследования необходимы для выяснения молекулярных механизмов, лежащих в основе обнаруженного снижения содержания супероксида и перекиси водорода в клетках суспензии арабидопсиса с инактивированным комплексом I.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. В работе использовано оборудование ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН (г. Иркутск).

Список литературы

1. Анализ экспрессии генов в клетках суспензионной культуры *Arabidopsis thaliana* с пониженной экспрессией гена NDB2 / Федосеева И.В., Катыхшев А.И., Федяева А.В., Степанов А.В., Боровский Г.Б. // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2021. Т. 13, № 2. С. 185-201. <http://doi.org/10.12731/2658-6649-2021-13-2-185-201>
2. Влияние нарушений в функционировании дыхательного комплекса I на уровень активных форм кислорода в клетках арабидопсиса / Тарасенко В.И., Гарник Е.Ю., Шмаков В.Н., Невинский Г.А., Константинов Ю.М. // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология». 2010. Т. 3, № 2. С. 9–13.
3. Индукция экспрессии гена *gdh2* арабидопсиса при изменении редокс-состояния митохондриальной дыхательной цепи / Тарасенко В.И., Гарник

- Е.Ю., Шмаков В.Н., Константинов Ю.М. // Биохимия. 2009. Т. 74. С. 62-69. <http://doi.org/10.1134/s0006297909010076>
4. Тарасенко В.И., Гарник Е.Ю., Константинов Ю.М. Характеристика растений арабидопсиса с инактивированным геном Fe-S субъединицы комплекса I дыхательной цепи митохондрий // Физиология растений. 2010. Т. 57, № 3. С. 415-424. <http://doi.org/10.1134/S1021443710030118>
 5. Dutilleul C., Garmier M., Noctor G., Mathieu C., Chetrit P., Foyer, C.H., de Paepe R. Leaf mitochondria modulate whole cell redox homeostasis, set antioxidant capacity, and determine stress resistance // *Plant Cell*. 2003. Vol. 15. P. 1212–1226. <http://doi.org/10.1105/tpc.009464>
 6. Fernandez-Vizarra E., Zeviani M. Mitochondrial disorders of the OXPHOS system // *FEBS Letters*. 2021. Vol. 595. P. 1062-1106. <http://doi.org/10.1002/1873-3468.13995>
 7. Garmier M., Carroll A.J., Delannoy E., Vallet C., Day D.A., Small I.D., Millar A.H. Complex I dysfunction redirects cellular and mitochondrial metabolism in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*. 2008. Vol. 148. P. 1324-1341. <http://doi.org/10.1104/pp.108.125880>
 8. Lee B.H., Lee H., Xiong L., Zhu J.K. A mitochondrial complex I defect impairs cold-regulated nuclear gene expression // *Plant Cell*. 2002. Vol. 14. P. 1235–1251. <http://doi.org/10.1105/tpc.010433>
 9. Maliandi MV, Rius SP, Busi MV, Gomez-Casati DF. A simple method for the addition of rotenone in *Arabidopsis thaliana* leaves // *Plant Signaling & Behavior*. 2015. Vol. 10. e1073871. <http://doi.org/10.1080/15592324.2015.1073871>
 10. Maxwell D.P., Wang Y., McIntosh L. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. 1999. Vol. 96. P. 8271-8276. <http://doi.org/10.1073/pnas.96.14.8271>
 11. Meyer E.H., Tomaz T., Carroll A.J. Estavillo G., Delannoy E., Tanz S.K., Small I.D., Pogson B.J., Millar A.H. Remodeled respiration in *ndufs4* with low phosphorylation efficiency suppresses *Arabidopsis* germination and growth and alters control of metabolism at night // *Plant Physiology*. 2009. Vol. 151. P. 603-619. <http://doi.org/10.1104/pp.109.141770>
 12. Moller 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. Vol. 52. P. 561-591. <http://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.561>
 13. Moller I.M., Rasmusson A.G., Van Aken O. Plant mitochondria – past, present and future // *The Plant Journal*. 2021. Vol. 108. P. 912–959. <http://doi.org/10.1111/tpj.15495>

14. Mukherjee S., Ghosh A. Molecular mechanism of mitochondrial respiratory chain assembly and its relation to mitochondrial diseases // *Mitochondrion*. 2020. Vol. 53. P. 1-20. <http://doi.org/10.1016/j.mito.2020.04.002>
15. Noctor G., Reichheld J.P., Foyer C.H. ROS-related redox regulation and signaling in plants // *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2018. Vol. 80. P. 3-12. <http://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.07.013>
16. Priault P., Fresneau C., Noctor G., De Paepe R., Cornic G., Streb P. The mitochondrial CMSII mutation of *Nicotiana glauca* impairs adjustment of photosynthetic carbon assimilation to higher growth irradiance // *Journal of Experimental Botany*. 2006. Vol. 57. P. 2075–2085. <http://doi.org/10.1093/jxb/erj161>
17. Ramel F., Sulmon C., Bogard M., Couée I., Gouesbet G. Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in *Arabidopsis thaliana* plantlets // *BMC Plant Biology*. 2009. Vol. 9. no. 28. <http://doi.org/10.1186/1471-2229-9-28>
18. Rasmusson A.G., Soole K.L., Elthon T.E. Alternative NAD(P)H dehydrogenases of plant mitochondria // *Annual Review of Plant Biology*. 2004. Vol. 55. P. 23–39. <http://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141720>
19. Sessions A., Burke E., Presting G., Aux G., McElver J., Patton, D., Dietrich B., Ho P., Bacwaden J., Ko C., Clarke J.D., Cotton D., Bullis D., Snell J., Miguel T., Hutchison D., Kimmerly B., Mitzel T., Katagiri F., Glazebrook J., Law M., Goff S.A. A high-throughput Arabidopsis reverse genetics system // *Plant Cell*. 2002. Vol. 14. P. 2985–2994. <http://doi.org/10.1105/tpc.004630>
20. Szal B., Łukawska K., Zdolinska K., Rychter A.M. Chilling stress and mitochondrial genome rearrangement in the MSC16 cucumber mutant affect the alternative oxidase and antioxidant defense system to a similar extent // *Physiologia Plantarum*. 2009. Vol. 137. P. 435–445. <http://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01255.x>
21. Tarasenko V.I., Garnik E.Y., Shmakov V.N., Konstantinov Y.M. Modified alternative oxidase expression results in different reactive oxygen species contents in Arabidopsis cell culture but not in whole plants // *Biologia Plantarum*. 2012. Vol. 56. P. 635-640. <http://doi.org/10.1007/s10535-012-0115-1>
22. Tarasenko V.I., Katyshev A.I., Yakovleva T.V., Garnik E.Y., Chernikova V.V., Konstantinov Y.M., Koulintchenko M. RPOTmp, an Arabidopsis RNA polymerase with dual targeting, plays an important role in mitochondria, but not in chloroplasts // *Journal of Experimental Botany*. 2016. Vol. 67. P. 5657-5669. <http://doi.org/10.1093/jxb/erw327>
23. Zhao R.Z., Jiang S., Zhang L., Yu Z.B. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling // *International Journal of Molecular Medicine*. 2019. Vol. 44. P. 3-15. <http://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4188>

References

1. Fedoseeva, I., Katyshev, A., Fedyaeva, A., Stepanov, A., Borovskii, G. Analiz ekspressii genov v kletkakh suspenzionnoy kul'tury *Arabidopsis thaliana* s ponizhennoy ekspressiey gena NDB2 [Analysis of gene expression in *Arabidopsis thaliana* suspension with reduced NDB2 gene expression]. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 2021, vol. 13, pp. 185-201. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2021-13-2-185-201>
2. Tarasenko V.I., Garnik E.Y., Shmakov V.N., Nevinsky G.A., Konstantinov Y.M. Vliyanie narusheniy v funkcionirovanii dykhatel'nogo kompleksa I na uroven' aktivnykh form kisloroda v kletkakh arabidopsisa [Influence of respiratory complex I dysfunctions on the reactive oxygen species level in *Arabidopsis* cells]. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series «Biology. Ecology»*, 2010, vol. 3, pp. 9–13.
3. Tarasenko V.I., Garnik E.Y., Shmakov V.N., Konstantinov Y.M. Induction of *Arabidopsis gdh2* gene expression during changes in redox state of the mitochondrial respiratory chain. *Biochemistry (Moscow)*, 2009, vol. 74, pp. 47-53. <http://doi.org/10.1134/s0006297909010076>
4. Tarasenko V.I., Garnik E.Y., Konstantinov Y.M. Characterization of *Arabidopsis* mutant with inactivated gene coding for Fe-S subunit of mitochondrial respiratory chain complex I. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2010, vol. 57, pp. 392-400. <http://doi.org/10.1134/S1021443710030118>
5. Dutilleul C., Garmier M., Noctor G., Mathieu C., Chetrit P., Foyer, C.H., de Paepe R. Leaf mitochondria modulate whole cell redox homeostasis, set antioxidant capacity, and determine stress resistance. *Plant Cell*, 2003, vol. 15, pp. 1212–1226. <http://doi.org/10.1105/tpc.009464>
6. Fernandez-Vizarra E., Zeviani M. Mitochondrial disorders of the OXPHOS system. *FEBS Letters*, 2021, vol. 595, pp. 1062-1106. <http://doi.org/10.1002/1873-3468.13995>
7. Garmier M., Carroll A.J., Delannoy E. Vallet C., Day D.A., Small I.D., Millar A.H. Complex I dysfunction redirects cellular and mitochondrial metabolism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2008, vol. 148, pp. 1324-1341. <http://doi.org/10.1104/pp.108.125880>
8. Lee B.H., Lee H., Xiong L., Zhu J.K. A mitochondrial complex I defect impairs cold-regulated nuclear gene expression. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, pp. 1235–1251. <http://doi.org/10.1105/tpc.010433>
9. Maliandi MV, Rius SP, Busi MV, Gomez-Casati DF. A simple method for the addition of rotenone in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Signaling & Behavior*, 2015, vol. 10, e1073871. <http://doi.org/10.1080/15592324.2015.1073871>

10. Maxwell D.P., Wang Y., McIntosh L. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 1999, vol. 96, pp. 8271-8276. <http://doi.org/10.1073/pnas.96.14.8271>
11. Meyer E.H., Tomaz T., Carroll A.J. Estavillo G., Delannoy E., Tanz S.K., Small I.D., Pogson B.J., Millar A.H. Remodeled respiration in *ndufs4* with low phosphorylation efficiency suppresses *Arabidopsis* germination and growth and alters control of metabolism at night. *Plant Physiology*, 2009, vol. 151, pp. 603-619. <http://doi.org/10.1104/pp.109.141770>
12. Moller 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, vol. 52, pp. 561-591. <http://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.561>
13. Moller I.M., Rasmusson A.G., Van Aken O. Plant mitochondria – past, present and future. *The Plant Journal*, 2021, vol. 108, pp. 912-959. <http://doi.org/10.1111/tpj.15495>
14. Mukherjee S., Ghosh A. Molecular mechanism of mitochondrial respiratory chain assembly and its relation to mitochondrial diseases. *Mitochondrion*, 2020, vol. 53, pp. 1-20. <http://doi.org/10.1016/j.mito.2020.04.002>
15. Noctor G., Reichheld J.P., Foyer C.H. ROS-related redox regulation and signaling in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2018, vol. 80, pp. 3-12. <http://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.07.013>
16. Priault P., Fresneau C., Noctor G., De Paepe R., Cornic G., Streb P. The mitochondrial CMSII mutation of *Nicotiana sylvestris* impairs adjustment of photosynthetic carbon assimilation to higher growth irradiance. *Journal of Experimental Botany*, 2006, vol. 57, pp. 2075-2085. <http://doi.org/10.1093/jxb/erj161>
17. Ramel F., Sulmon C., Bogard M. Couée I., Gouesbet G. Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in *Arabidopsis thaliana* plantlets. *BMC Plant Biology*, 2009, vol. 9, no. 28. <http://doi.org/10.1186/1471-2229-9-28>
18. Rasmusson A.G., Soole K.L., Elthon T.E. Alternative NAD(P)H dehydrogenases of plant mitochondria. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, vol. 55, pp. 23-39. <http://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141720>
19. Sessions A., Burke E., Presting G., Aux G., McElver J., Patton, D., Dietrich B., Ho P., Bacwaden J., Ko C., Clarke J.D., Cotton D., Bullis D., Snell J., Miguel T., Hutchison D., Kimmerly B., Mitzel T., Katagiri F., Glazebrook J., Law M., Goff S.A. A high-throughput *Arabidopsis* reverse genetics system. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, pp. 2985-2994. <http://doi.org/10.1105/tpc.004630>

20. Szal B., Łukawska K., Zdolinska K., Rychter A.M. Chilling stress and mitochondrial genome rearrangement in the MSC16 cucumber mutant affect the alternative oxidase and antioxidant defense system to a similar extent. *Physiologia Plantarum*, 2009, vol. 137, pp. 435–445. <http://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01255.x>
21. Tarasenko V.I., Garnik E.Y., Shmakov V.N., Konstantinov Y.M. Modified alternative oxidase expression results in different reactive oxygen species contents in Arabidopsis cell culture but not in whole plants. *Biologia Plantarum*, 2012, vol. 56, pp. 635-640. <http://doi.org/10.1007/s10535-012-0115-1>
22. Tarasenko V.I., Katyshev A.I., Yakovleva T.V., Garnik E.Y., Chernikova V.V., Konstantinov Y.M., Koulintchenko M. RPOTmp, an Arabidopsis RNA polymerase with dual targeting, plays an important role in mitochondria, but not in chloroplasts. *Journal of Experimental Botany*, 2016, vol. 67, pp. 5657-5669. <http://doi.org/10.1093/jxb/erw327>
23. Zhao R.Z., Jiang S., Zhang L., Yu Z.B. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019, vol. 44, pp. 3-15. <http://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4188>

ВКЛАД АВТОРОВ

Тарасенко В.И.: определение содержания супероксида и перекиси водорода, планирование, обсуждение и анализ результатов, написание рукописи.

Гарник Е.Ю.: определение содержания перекиси водорода, определение жизнеспособности клеток, обсуждение и анализ результатов.

Шмаков В.Н.: культивирование клеток арабидопсиса, обсуждение и анализ результатов.

Константинов Ю.М.: планирование, обсуждение и анализ результатов. Все авторы прочитали и приняли участие в улучшении текста рукописи.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Vladislav I. Tarasenko: determination of superoxide and hydrogen peroxide content, planning of experiments, discussion and analysis of the results obtained, writing a manuscript.

Elena Y. Garnik: determination of hydrogen peroxide content, cell viability estimation, discussion and analysis of the results obtained.

Vladimir N. Shmakov: preparation and cultivation of suspension culture cells, discussion and analysis of the results obtained.

Yuri M. Konstantinov: planning of experiments, discussion and analysis of the results obtained.

All authors read and approved the manuscript.

ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ

Тарасенко Владислав Игоревич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетической инженерии растений *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук*
ул. Лермонтова, 132, г. Иркутск, 664033, Российская Федерация
vslav@inbox.ru

Гарник Елена Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетической инженерии растений *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук*
ул. Лермонтова, 132, г. Иркутск, 664033, Российская Федерация
elga74@yandex.ru

Шмаков Владимир Николаевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетической инженерии растений *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук*
ул. Лермонтова, 132, г. Иркутск, 664033, Российская Федерация
shmakovv@sifibr.irk.ru

Константинов Юрий Михайлович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией генетической инженерии растений *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук*
ул. Лермонтова, 132, г. Иркутск, 664033, Российская Федерация
yukon@sifibr.irk.ru

DATA ABOUT THE AUTHORS

Vladislav I. Tarasenko, Ph.D., Senior Researcher of the Laboratory of Plant Genetic Engineering
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS
132, Lermontov Str., Irkutsk, 664033, Russian Federation

vslav@inbox.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8208-6941>

ResearcherID: B-9808-2011

Scopus Author ID: 7103302561

Elena Y. Garnik, Ph.D., Senior Researcher of the Laboratory of Plant Genetic Engineering

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS

132, Lermontov Str., Irkutsk, 664033, Russian Federation

elga74@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7093-3194>

Scopus Author ID: 6505995580

Vladimir N. Shmakov, Ph.D., Senior Researcher of the Laboratory of Plant Genetic Engineering

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS

132, Lermontov Str., Irkutsk, 664033, Russian Federation

shmakovv@sifibr.irk.ru

Scopus Author ID: 9234293700

Yuri M. Konstantinov, Dr. Sci. (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Plant Genetic Engineering

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS

132, Lermontov Str., Irkutsk, 664033, Russian Federation

yukon@sifibr.irk.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0601-2788>

ResearcherID: N-5365-2014

Scopus Author ID: 7004116922

Поступила 19.06.2022

После рецензирования 12.07.2022

Принята 20.07.2022

Received 19.06.2022

Revised 12.07.2022

Accepted 20.07.2022