

образцов пива и масла путем их инкубирования при повышенной температуре с параллельной регистрацией накопления свободнорадикальных аддуктов. Для количественной характеристики сигнала применялось двойное интегрирование первой производной ЭПР-спектра, а значение ЭАП рассчитывалось по точке перегиба кинетической кривой накопления спинового аддукта при нагревании.

Была проведена оценка влияния различных условий температуры и освещения, а также времени хранения на уровень свободных радикалов в пиве. Выявлены отличия в величине эндогенного антиоксидантного потенциала для пива из разных типов упаковки (полиэтиленовая бутылка, стеклянная бутылка и жестяная банка). Протестировано воздействие важнейших антиоксидантов на окислительную стабильность светлого и темного пива производства компании "Криница". Показано, что хранение пива в отсутствие освещения, при пониженных температурах и в стеклянной таре способствует сохранению его окислительной стабильности. Более высокое содержание свободных радикалов было показано для образцов темного пива. L-аскорбиновая кислота продемонстрировала наибольший эффект по стабилизации пива (увеличение значений ЭАП в сравнении с контролем) среди протестированных антиоксидантов.

Также была проведена оценка окислительной стабильности ряда широко употребляемых в пищу растительных масел (подсолнечного, льняного, рапсового) и влияния антиоксидантов различной природы на уровень ЭАП образцов. Среди протестированных образцов масла наименьшую стабильность продемонстрировало подсолнечное. При добавлении к нему спиртового экстракта розмарина интенсивность ЭПР-сигнала снижалась в значительной степени, по сравнению с контрольным образцом. Аскорбиновая кислота природного происхождения продемонстрировала наибольшую эффективность по увеличению окислительной стабильности подсолнечного масла.

Использование компьютерного зрения и сверточных нейронных сетей для фенотипического анализа ростовых процессов

Arabidopsis thaliana

Савицкий А. С.^{A*}, Демидчик В. В.^A

^A *Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь. *E-mail: artiom.savitski@yandex.ru*

Для адаптации к глобальному изменению климата современное сельское хозяйство нуждается в новых видах культурных растений, способных

противостоять высоким температурам, засухе и засолению [1]. Крайне важно систематически изучать изменения физических и физиологических характеристик растений в стрессовых условиях. Для изучения фенотипов растений на цифровом уровне возникла новая область, известная как феномика, объединяющая физиологию растений и биоинформатику. Цифровая феномика предполагает автоматизацию сбора и анализа фенотипических данных растений с использованием методов компьютерного зрения, машинного обучения и нейронных сетей. Внедрение цифровых технологий фенотипирования растений произвело революцию в методах селекции растений и исследованиях морфологии растений [2]. Целью данной работы является разработка комплекса компьютерных программ, а также обучение и адаптация сверточной нейронной сети, что позволяет автоматизировать сбор и произвести глубокий анализ цифровых изображений растений *Arabidopsis thaliana* в условиях *in vitro*.

В работе использовалась культура молодых растений *Arabidopsis thaliana*, выращенная в *in vitro*. Растения выращивались на стандартной питательной среде Мурасиге-Скуга компании Duchefa (Харлем, Нидерланды) [3]. Чашки с высаженными семенами выдерживались в течение 2 сут при температуре 4°C в темноте. Это требовалось для прерывания периода покоя семян. В дальнейшем чашки перемещались в стерильный ростовой кабинет с контролируемыми параметрами освещенности (100 $\mu\text{моль фотонов м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, световой режим 16/8, 20В) и температуры (22°C), где они выращивались в течение 6-12 дней. В течение всего периода выращивания чашки размещались вертикально, что способствовало развитию корней проростков на поверхности питательной среды [3]. Фотографирование производилось в софтбоксе с синим антибликовым фоном и регулируемым освещением, позволяющий получать высококонтрастные изображения растений. Съемка проводилась на цифровую камеру Nikon D3400. Для получения изображений использовался софтбокс для фотографирования с синим антибликовым фоном и регулируемым освещением, позволяющий получать высококонтрастные изображения растительных объектов. Съемка выполнялась на цифровую камеру Sony FDR-AX700. Работа проводилась с использованием библиотеки компьютерного зрения OpenCV, которая включает различные инструменты для анализа изображений [4]. Также использовалась библиотека машинного обучения scikit-learn для обучения предсказательной модели, которая принимает на вход площади листьев и корней и выдает в качестве предсказания значения сырой и сухой биомассы [4]. Для работы с нейронной сетью использовался фреймворк глубокого обучения pytorch [5]. В качестве инструмента раз-

метки данных для обучения сверточной нейронной сети была использована программа labelme, позволяющая генерировать аннотации изображений в полуавтоматическом режиме [6].

В ходе проведенной работы был разработан комплекс алгоритмов, а также обучена нейронная сеть позволяющий обнаруживать корни и листья на изображениях и анализировать их. Была обучена нейросеть Mask R-CNN на основе Resnet-50, позволяющая извлекать маски листьев и корней с изображений. Предсказанные в результате работы нейросети изображения масок корней и листьев использовались в дальнейшем для анализа. Программа способна измерять площадь зеленой части растения и корней и создавать отчет с вычисленными параметрами. Отчет может использоваться для обучения модели предсказания. Также для обучения модели необходимо было получить экспериментально измеренные значения масс как сырых, так и сухих биомасс листьев и корней. После обучения модель достигла точности 96,6% по метрике R-квадрата на тестовом наборе данных. Программа разработана для автоматической работы, пользователю требуется только предоставить исходные изображения. На рисунке 1 показаны полученные в результате работы программы данные по приросту площадей видимой зеленой части.

Размер листа связан со свойствами энергетического и водного баланса всего растения. Вариация размеров листьев связана с климатическими, географическими факторами, к примеру, значением высоты над уровнем моря, тепловым стрессом, холодным стрессом, засухой и ионизирующим излучением [7]. В случае влияния большого количества стрессоров на растение наблюдается уменьшение размеров листа. Аналогичные изменения происходят в корнях [7].

В результате проведенной работы разработано программное обеспечение на языке Python для анализа изображений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. в культуре *in vitro*. Создана выборка аннотированных изображений для обучения нейронной сети. Обучена сверточная нейронная сеть, позволяющая извлекать с изображения маски листьев и корней. Создана предсказательная модель сырой и сухой биомассы корней и листьев *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., которая принимает на вход значения площадей корней и листьев, найденных в ходе анализа изображений. Разработанное программное обеспечение подходит для применения в качестве неинвазивного метода анализа роста и развития *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. в культуре *in vitro* для сбора фенотипических данных с целью их дальнейшего анализа посредством методов цифровой феномики.

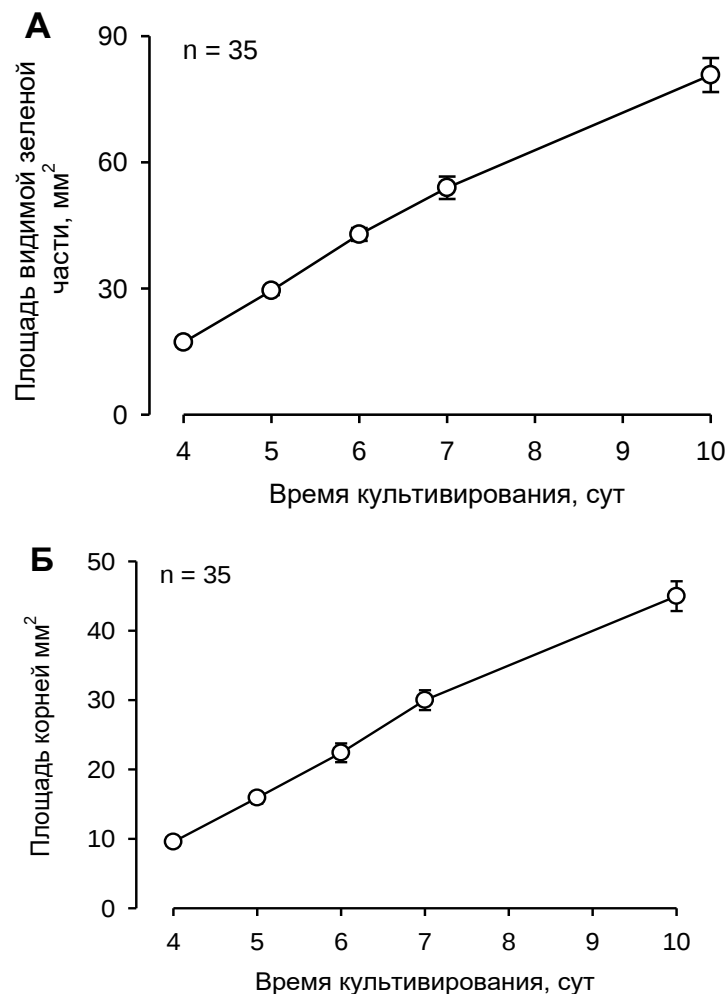


Рис. 1. Изменение площади видимой зеленой части (А) и площади корней (Б) *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. Данные являются средними ($\pm S\bar{x}$) для 35 измерений, каждое из которых представляет собой результат анализа морфологических параметров растений одной чашки (культура целых растений)

Библиографические ссылки

1. Watt M. et al. Phenotyping: new windows into the plant for breeders // Annual review of plant biology. – 2020. – Т. 71. – С. 689-712.
2. Sanchez-Serrano J. J., Salinas J. (ed.). Arabidopsis protocols. – London : Humana Press, 2014.
3. Dawson-Howe K. A practical introduction to computer vision with opencv. – John Wiley & Sons, 2014.
4. Lee U. et al. An automated, high-throughput plant phenotyping system using machine learning-based plant segmentation and image analysis // PloS one. – 2018. – Т. 13. – №. 4. – С. e0196615.
5. Imambi S., Prakash K. B., Kanagachidambaresan G. R. PyTorch // Programming with TensorFlow: solution for edge computing applications. – 2021. – С. 87-104.
6. Russell B. C. et al. LabelMe: a database and web-based tool for image annotation // International journal of computer vision. – 2008. – Т. 77. – С. 157-173.

7. Cornelissen J. H. C. et al. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide // Australian journal of Botany. – 2003. – Т. 51. – №. 4. – С. 335-380.

Строение, регуляция и функции катионных каналов, ответственных за выход K^+ из клеток высших растений в условиях стресса

Самохина В. В.^{A*}, Мацкевич В. С.^A, Зуенок С. С.^A, Микша Е. Ч.^A, Красовский М. А.^A, Соколик А. И.^A, Демидчик В. В.^A

^A Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь. *E-mail: samokhina@bsu.by

Отток электролитов из тканей является одной из центральных реакций растительного организма на стресс. Он наблюдается практически при любом виде стрессового воздействия как абиотической, так и биотической природы, приводя к потере ключевых электролитов, перестройке метаболизма и в некоторых случаях к гибели клеток и организма. Калий – важнейший электролит, осмотик и регулятор электрических явлений растительной клетки. Растения теряют K^+ при стрессе, что приводит к значительному временному снижению его уровня в клетках. Согласно устоявшемуся мнению, стресс-индуцируемый отток K^+ обусловлен повреждением клеточных мембран. Однако появились данные, показывающие, что отток K^+ при умеренном стрессе является процессом обратимым и опосредуемым не повреждением мембран, а активацией K^+ -каналов наружного выпрямления, кодируемых *Gork*. Это происходит под действием накапливающихся при стрессе активных форм кислорода (АФК). Ранее нами был идентифицирован АФК-чувствительный центр в структуре калиевого канала GORK (Цис-151) и проведена генетическая модификация данного центра – замена аминокислоты мишени АФК – цистеина (Цис) на редоксинертный серин (Сер). В настоящей работе было проведено тестирование выхода K^+ из клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. с помощью радиоактивного трейсера $^{86}Rb^+$. Также была детально проанализирована стрессоустойчивость нокауты по GORK (*gork1-1*) и растений с GORK, модифицированным по Цис-151 (GORK-C151S), с использованием различных ростовых методик и цифрового фенотипирования. Было показано, что у растений дикого типа выход $^{86}Rb^+$ ускоряется под действием NaCl в 5 раз, под действием $HO^{\bullet}$ в 3 раза, а H_2O_2 в 2,5 раза. Данный показатель резко снижался у нокауты *gork1-1* и растений, экспрессирующих GORK-C151S. Также у данных линий арабидопсиса отмечалась меньшая степень ингибирования роста корней под действием засоления, АФК, γ -радиации, ионов меди, никеля и алюминия по сравнению с диким типом, т.е. данные