

ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ РОСЛИН

УДК 581.1

ИНДУЦИРОВАНИЕ ЭКЗОГЕННЫМИ ПОЛИАМИНАМИ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ

© 2018 г. А. И. Кокорев¹, Н. В. Швиденко¹,
Т. О. Ястреб¹, Ю. Е. Колупаев^{1,2}

¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина
(Харьков, Украина)

Исследовали влияние экзогенных полиаминов путресцина и спермина на теплоустойчивость этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и состояние их антиоксидантной системы. Обработка проростков обоими соединениями повышала их выживание после 10-минутного прогрева в водяном термостате при температуре 46°C. Наиболее заметный положительный эффект отмечался под влиянием путресцина и спермина в концентрации 1 мМ. При этом защитное действие спермина было более существенным, чем путресцина. Под влиянием полиаминов в обычных условиях в проростках наблюдались эффекты повышения активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, а также тенденция к повышению активности гваяколпероксидазы. Через 1-24 ч после стрессового воздействия активность СОД уменьшалась в контрольном варианте и сохранялась на более высоком уровне в проростках, обработанных путресцином и особенно спермином. Активность каталазы после стрессового воздействия во всех вариантах опыта изменялась незначительно, но в проростках, обработанных полиаминами, была выше, чем в контроле. Через 1 ч после прогрева активность гваяколпероксидазы повышалась в контроле и более существенно в варианте с обработкой спермином. При этом через 24 ч после прогрева активность фермента несколько уменьшалась, а различия между вариантами нивелировались. Содержание продукта пероксидного окисления липидов малонового диальдегида после прогрева в вариантах с полиаминами было ниже, чем в контроле. Сделано заключение о связи повышения теплоустойчивости проростков под влиянием полиаминов с активацией ферментативных компонентов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, путресцин, спермин, теплоустойчивость, окислительный стресс, антиоксидантные ферменты

Полиамины относятся к числу соединений, выполняющих у растений множественные функции в стрессовых условиях (Кузнецов и др., 2006; Saha et al., 2015). До недавнего времени считалось, что их стресс-протекторные эффекты связаны в первую очередь с прямым защитным действием на биомолекулы (Pal et al., 2015). В связи с их катионным состоянием при физиологических значениях pH, они

могут обратимо взаимодействовать с отрицательно заряженными макромолекулами. Так, полиамины способны стабилизировать мембраны, связываясь с фосфолипидными «головками». Также они могут неспецифически связываться с различными белками, стабилизируя их структуру (Pang et al., 2007).

Защитные эффекты полиаминов в стрессовых условиях могут быть обусловлены и их прямым антиоксидантным действием – способностью инактивировать радикальные активные формы кислорода (АФК) (Ha et al., 1998). Однако в некоторых работах показано, что полиамины могут снижать устойчивость растений к

Адрес для корреспонденции: Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о Докучаевское-2, Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant_biology@ukr.net

действию стрессоров, возможно, из-за повышения в клетках содержания пероксида водорода, образующегося при их катаболизме (Minocha et al., 2014). С другой стороны, АФК рассматриваются и в качестве сигнальных посредников, с участием которых могут реализоваться некоторые функции полиаминов. Более того, в последние годы получено большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что полиамины изменяют гомеостаз и других ключевых сигнальных посредников, в первую очередь, оксида азота (NO) (Yang et al., 2007) и ионов Ca^{2+} (Pal et al., 2015). Эти эффекты могут быть более важными для объяснения защитного влияния полиаминов на растения в стрессовых условиях по сравнению с прямым протекторным действием.

В ряде работ зарегистрировано повышение эндогенного содержания полиаминов у растений в ответ на действие стрессоров различной природы: засухи, солевого стресса, гипоксии, облучения УФ (Gill, Tuteja, 2010; Saha et al., 2015).

Экзогенное применение полиаминов оказывает выраженное положительное влияние на растения при стрессах, связанных с обезвоживанием (Prabhavathi, Rajam, 2007; Gill, Tuteja, 2010). Например, применение спермина и спермидина способствовало повышению солеустойчивости растений риса, что в значительной степени может быть связано с увеличением активности антиоксидантных ферментов и усилением синтеза низкомолекулярных протекторов (пролина, сахаров, антоцианов) (Roychoudhury et al., 2011).

Влияние полиаминов на устойчивость растений к другим стресс-факторам, в частности к экстремальным температурам, остается менее изученным. Однако в последние годы проведены достаточно успешные исследования влияния трансформации растений генами, кодирующими ферменты синтеза полиаминов, на их устойчивость к температурным стрессам. Так, показана большая устойчивость к вызываемому гипертермией окислительному стрессу растений томата, трансформированных геном дрожжевой S-аденозил-1-метиониндекарбоксилазы (Cheng et al., 2009). У этих трансформантов отмечалась повышенная активность СОД, аскорбатпероксидазы, гваяколпероксидазы и каталазы. Повышение теплоустойчивости растений сладкого картофеля происходило при их трансформации геном спермидинсинтазы из *Cucurbita ficifolia* (Kasukaba et al., 2006). Семена растений баклажана,

трансформированных биосинтетическим геном аргининдекарбоксилазы, лучше прорастали в условиях действия высоких температур (Prabhavathi, Rajam, 2007).

За последние годы также получено немало данных о повышении холодо- и теплоустойчивости растений под влиянием экзогенных полиаминов. Так, обработка растений нута путресцином, спермином и спермидином снижала накопление продукта пероксидного окисления липидов (ПОЛ) малонового диальдегида (МДА) и выход электролитов у нута при холодном стрессе (Nauyag, Chander, 2004). При этом на фоне действия холода под влиянием полиаминов увеличивалось содержание аскорбата и восстановленного глутатиона, в варианте с обработкой спермином повышалась активность супероксиддисмутазы (СОД). У растений стевии, обработанных синтетическими полиаминами, при холодном стрессе в отличие от необработанных, практически не проявлялись признаки окислительного стресса (Peunevandi et al., 2018). Опрыскивание растений риса спермидином снижало проявление их окислительных повреждений после прогрева при температуре 42°C (Mostofa et al., 2013). При этом у опытных растений в постстрессовый период повышалась активность СОД, аскорбатпероксидазы, каталазы, глутатион-S-трансферазы.

Тем не менее данные о влиянии экзогенных полиаминов на теплоустойчивость растений и их способность к поддержанию стабильного про-/антиоксидантного равновесия достаточно противоречивы. Так, показано, что экзогенный спермин вызывал заметное повышение выживания растений арабидопсиса после теплового стресса, эффект спермидина был менее заметным, а обработка путресцином вообще не влияла на их теплоустойчивость (Sagor et al., 2013). В отсутствие действия стресс-факторов экзогенные полиамины в умеренных (миллимолярных) концентрациях угнетали рост растений пшеницы и вызывали в них повышение содержания продуктов ПОЛ (Szalai et al., 2017). С другой стороны, предполагается, что положительное влияние полиаминов на антиоксидантную систему связано с усилением растениями генерации АФК (Minocha et al., 2014).

Таким образом, данные о влиянии различных полиаминов на устойчивость растений к экстремальным температурам и связи этого эффекта с индуцированием антиоксидантной системы остаются неоднозначными. В связи с этим целью работы было сравнение влияния экзогенных путресцина и спермина на тепло-

устойчивость проростков пшеницы и состояние их ферментативной антиоксидантной системы.

МЕТОДИКА

Объектом исследования служили этиолированные проростки мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Досконала, выращенные при температуре 22°C на очищенной водопроводной воде. На третьи сутки проращивания семян в среду добавляли полиамины путресцин и спермин в концентрациях диапазона 0,05-2,5 мМ и выдерживали проростки на этих растворах в течение одних суток, контрольные образцы продолжали инкубировать на очищенной воде.

Для определения теплоустойчивости проростков их подвергали повреждающему прогреву в водяном ультратермостате при температуре $46,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ в течение 10 мин. После этого образцы всех вариантов переносили на очищенную водопроводную воду. Через 3 сут после воздействия повреждающего прогрева оценивали относительное количество выживших проростков (Колупаев и др., 2013). Также через 3 сут после обработки полиаминами оценивали возможные ростовые эффекты, определяя массу побегов и корней проростков, которые не подвергались прогреву.

Активность антиоксидантных ферментов анализировали в побегах проростков через сутки после обработки полиаминами, а также через 1 и 24 ч после повреждающего прогрева. Содержание продукта ПОЛ МДА определяли через сутки после обработки проростков полиаминами и через сутки после воздействия повреждающего прогрева.

Активность антиоксидантных ферментов – цитозольной СОД (КФ 1.15.1.1), каталазы (КФ 1.11.1.6) и гваяколпероксидазы (КФ 1.11.1.7) – определяли по методикам, описанным ранее (Колупаев и др., 2015). Навески побегов гомогенизировали на холоде в 0,15 М К,Na-фосфатном буфере (рН 7,6) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ) и дитиотрейтола (1 мМ). Для анализа использовали супернатант после центрифугирования гомогената при 8000 g в течение 15 мин при температуре около 4°C.

Активность СОД определяли при рН реакционной смеси 7,6 с использованием метода, основанного на способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, которые образуются вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметосульфата. Активность каталазы определяли по количеству пероксида водорода,

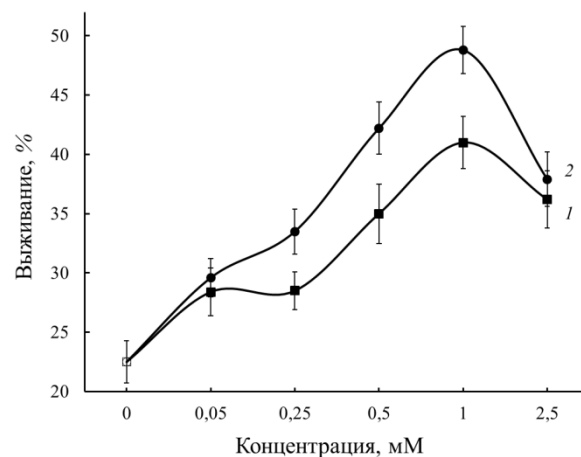


Рис. 1. Концентрационная зависимость влияния путресцина (1) и спермина (2) на выживание (%) проростков пшеницы после повреждающего прогрева (46°C, 10 мин).

разложившегося за единицу времени. Активность гваяколпероксидазы анализировали, используя в качестве донора водорода гваякол, в качестве субстрата – пероксид водорода. Активность СОД и гваяколпероксидазы выражали в усл. ед./г сырой массы • мин, активность каталазы – в ммоль H_2O_2 / (г сырой массы • мин).

Интенсивность ПОЛ в тканях проростков определяли по количеству продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (в основном МДА), как описано ранее (Колупаев и др., 2015).

Опыты воспроизводили независимо три раза при трехкратной повторности в пределах каждого отдельного эксперимента. На рисунках приведены средние значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий между вариантами оценивали по *t*-критерию Стьюдента. Кроме случаев, оговоренных специально, обобщаются эффекты, достоверные при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обработка проростков полиаминами перед повреждающим прогревом вызывала существенное повышение их теплоустойчивости (рис. 1). Действие путресцина было достоверным при $p \leq 0,05$ в концентрациях 0,5, 1 и 2,5 мМ, при этом максимальный положительный эффект наблюдался при использовании 1 мМ раствора. Влияние спермина на выживание проростков после теплового стресса было более заметным, достоверный эффект проявлялся при концентрации 0,25 мМ и выше. Однако максимальное положительное влияние наблюдалось, как и в случае с путресцином, при использовании концентрации 1 мМ (рис. 1).

ИНДУЦИРОВАНИЕ ЭКЗОГЕННЫМИ ПОЛИАМИНАМИ

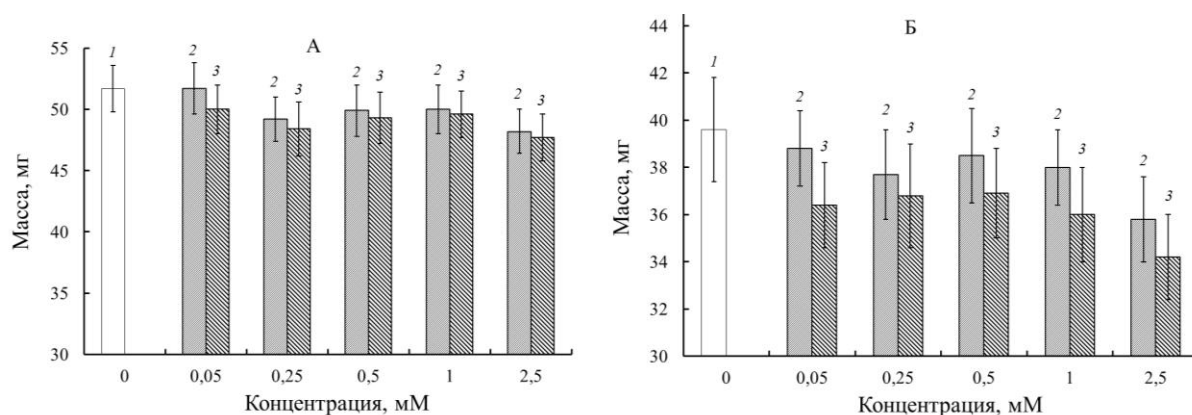


Рис. 2. Масса (мг) побегов (А) и корней (Б) проростков пшеницы при обработке полиаминами. 1 – контроль; 2 – путресцин; 3 – спермин.

В отсутствие действия стрессора экзогенные полиамины не оказывали существенного влияния на рост побегов и корней проростков (рис. 2), что позволяет исключить предположение об их возможных неспецифических эффектах на физиологические процессы как одного из источников азота.

В дальнейших экспериментах исследовали влияние путресцина и спермина в концентрации 1 мМ на состояние ферментативной антиоксидантной системы проростков пшеницы в обычных условиях и после воздействия повреждающего прогрева.

Под влиянием обоих полиаминов отмечалось повышение активности СОД в побегах проростков (рис. 3А). После действия теплового стресса в вариантах с обработкой полиаминами также наблюдались более высокие значения активности фермента по сравнению с контролем. Особенно заметными эти различия были через 24 ч после прогрева, когда в проростках контрольного варианта активность СОД снижалась. При этом активность СОД в варианте с обработкой проростков спермином существенно превышала таковую в варианте с путресцином (рис. 3А).

При обработке проростков полиаминами повышалась и активность каталазы (рис. 3Б). Различия между контролем и вариантами с обработкой проростков путресцином и спермином наблюдались и после действия теплового стресса. При этом более высокие величины активности фермента отмечались в варианте со спермином.

Обработка проростков полиаминами вызывала небольшое повышение активности гваяколпероксидазы (рис. 3В). Через 1 ч после прогрева происходило повышение активности фермента в контроле, в вариантах с обработкой полиаминами отмечалась лишь тенденция к ее

увеличению. При этом в проростках, обработанных спермином, активность гваяколпероксидазы была выше таковой в контроле и варианте с путресцином. Через 24 ч после прогрева активность фермента во всех вариантах опыта несколько снижалась, а различия между контролем и вариантами с полиаминами нивелировались (рис. 3В).

В отсутствие действия стрессора обработка проростков путресцином не влияла на содержание в них продукта ПОЛ МДА, в то время как под действием спермина происходило небольшое, но достоверное при $P \leq 0,05$ повышение его количества (рис. 4). Через 24 ч после теплового стресса содержание МДА в вариантах с полиаминами было ниже, чем в контроле.

ОБСУЖДЕНИЕ

Обработка проростков пшеницы полиаминами вызывала повышение их устойчивости к потенциально летальному тепловому стрессу (рис. 1). В литературе имеются данные о положительном влиянии полиаминов на теплоустойчивость растений других видов: риса (Mostofa et al., 2013) и арабидопсиса (Sagor et al., 2013). Как уже отмечалось, о защитных эффектах полиаминов при действии на растения гипертермии свидетельствует и более высокая теплоустойчивость растений разных видов с повышенной экспрессией генов ферментов биосинтеза полиаминов (Prabhavathi, Rajam, 2007; Cheng et al., 2009). С другой стороны, повышенную теплоустойчивость проявляли растения со сниженной экспрессией гена полиаминоксидазы и повышенным содержанием эндогенных полиаминов (Mellidou et al., 2017).

Защитное действие полиаминов при тепловом стрессе в условиях наших экспериментов можно связывать с уменьшением под их влия-

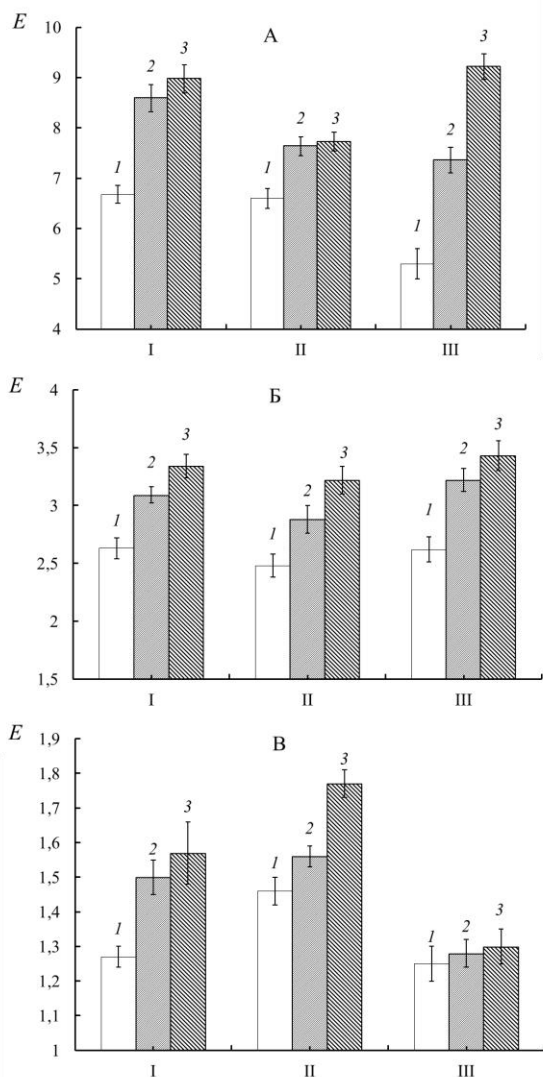


Рис. 3. Активность СОД (усл. ед./г сырой массы • мин), А), каталазы (ммоль Н₂О₂/(г сырой массы • мин), Б) и гваяколпероксидазы (усл. ед./г сырой массы • мин), В) в побегах проростков пшеницы при действии полиаминов и теплового стресса.

I – без стресса; II и III – через 1 и 24 ч после повреждающего прогрета (46°C, 10 мин). 1 – контроль; 2 – путресцин (1 мМ); 3 – спермин (1 мМ).

нием окислительных повреждений. Об этом свидетельствует более низкое содержание продукта ПОЛ МДА после действия стресса в проростках опытных вариантов по сравнению с контрольными (рис. 4). Снижение интенсивности ПОЛ под влиянием экзогенных полиаминов выявлено в ряде исследований. Так, обработка растений нута путресцином, спермином и спермидином уменьшала вызываемое холодовым стрессом накопление пероксида водорода и МДА (Nayyar, Chander, 2004). Снижение содержания продуктов ПОЛ в условиях гипертермии наблюдалось у растений риса при их опрыскивании спермидином (Mostofa et al.,

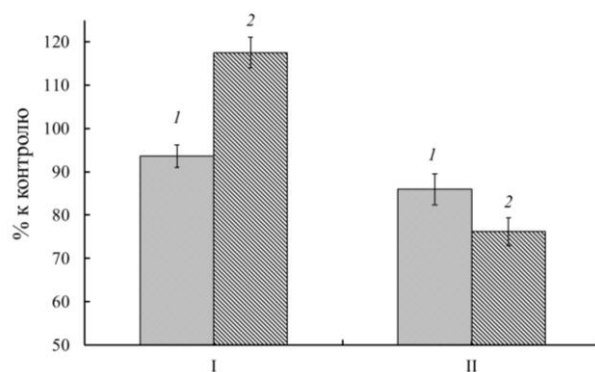


Рис. 4. Содержание МДА (% к контролю) в побегах проростков пшеницы. I – без стресса; II – через 24 ч после повреждающего прогрета (46°C, 10 мин).

1 – путресцин (1 мМ); 2 – спермин (1 мМ).

2013). Обработка растений сафлора путресцином препятствовала накоплению МДА в условиях засухи (Khosrowshahi et al., 2018).

Смягчение полиаминами проявления окислительного стресса может быть обусловлено как их прямым антиоксидантным действием, так и активацией под их влиянием антиоксидантных ферментов. В связи со способностью связывать свободные радикалы (Ha et al., 1998; Hussain et al., 2011) полиамины рассматривают в качестве группы низкомолекулярных антиоксидантов (Stolfa et al., 2015). С другой стороны, как уже отмечалось, при окислении полиаминов образуется пероксид водорода (Minocha et al., 2014). Также они обладают способностью вызывать активацию НАДФН-оксидазы и тем самым способствовать генерации АФК (Andronis et al., 2014). Вероятно, эти эффекты могут быть как сигналом (Yang et al., 2014), стимулирующим антиоксидантную систему, так и фактором, вызывающим окислительно-восстановительный дисбаланс (Szalai et al., 2017).

В условиях наших экспериментов экзогенные полиамины активировали ферментативную антиоксидантную систему (рис. 3), причем их эффект проявлялся не только после стрессового воздействия, но и в обычных условиях. Этот факт может указывать именно на активацию антиоксидантной системы полиаминами, а не защиту ими имеющихся в наличии молекул антиоксидантных ферментов. В литературе имеются примеры индукции экспрессии генов антиоксидантных ферментов полиаминами. Так, экспозиция корневой системы растений хрустальной травки в присутствии кадаверина

индуцировала синтез мРНК гена цитозольной Cu/Zn-СОД (Аронова и др., 2005). Примечательно, что ингибитор диаминооксидазы аминоксидина не препятствовал проявлению этого эффекта, на основании чего авторы делают заключение, что индукция экспрессии гена Cu/Zn-СОД осуществляется именно кадаверином, а не продуктами, образующимися при его окислении. Также у растений разных видов под влиянием спермина и других полиаминов зарегистрировано увеличение количества транскриптов аскорбатпероксидазы, Mn-СОД и глутатион-S-трансферазы (Pal et al., 2015). Таким образом, есть основания полагать, что полиамины стимулируют синтез молекул антиоксидантных ферментов.

С другой стороны, наблюдавшаяся в наших экспериментах более высокая активность СОД и каталазы у проростков пшеницы опытных вариантов в постстрессовый период (рис. 3) может быть частично обусловлена способностью полиаминов защищать белки от денатурации (Ghosh et al., 2012). Для выяснения причин повышения активности антиоксидантных ферментов под влиянием полиаминов необходимы специальные исследования, в частности, по установлению возможного участия сигнальных посредников в этом процессе.

В наших экспериментах как спермин, так и путресцин оказывали достоверное положительное влияние на теплоустойчивость проростков пшеницы. При этом, однако, эффекты спермина были более выраженными (рис. 1). Как уже отмечалось, в работе Sagor et al. (2013) показано, что положительное влияние на выживание растений арабидопсиса после теплового стресса оказывал спермин, но не путресцин. В наших опытах спермин более существенно, чем путресцин, влиял на активность СОД, каталазы и гваяколпероксидазы в проростках пшеницы, причем количественные различия в эффектах полиаминов в большей степени проявлялись после стрессового воздействия (рис. 3).

Заслуживает внимания и еще один феномен действия спермина: повышение содержания МДА в проростках в отсутствие стресса (рис. 4). Не исключено, что этот эффект обусловлен временным усилением генерации АФК, которое может быть обусловлено как образованием пероксида водорода при окислении полиаминов, так и его влиянием на активность НАДФН-оксидазы (Pal et al., 2015). В литературе имеются сведения о способности спермина активировать сигнальные сети и, как следствие,

повышать активность некоторых протеинкиназ, с участием пероксида водорода как сигнального посредника (Pal et al., 2015). С другой стороны, есть данные о способности путресцина, в отличие от спермина, ингибировать НАДФН-оксидазу (Pang et al., 2007; Ghosh et al., 2012). С этим эффектом отчасти может быть связано антиоксидантное действие путресцина. Таким образом, не исключено, что механизмы стресс-протекторного действия полиаминов являются специфичными. Однако при изучении эффектов экзогенных соединений специфичность может нивелироваться за счет довольно быстрого превращения одних полиаминов в другие (Pal et al., 2015).

В целом стресс-протекторное влияние полиаминов, по-видимому, весьма сложное и многогранное. Помимо действия на про-/антиоксидантное равновесие они могут влиять на состояние кальциевых и других катионных каналов (Pottosin, Shabala, 2014; Pal et al., 2015), усиливать синтез стрессового гормона абсцизовой кислоты (Wen, Morguchi, 2015), индуцировать синтез БТШ (Pang et al., 2007). При этом, однако, одной из важных составляющих физиологических эффектов полиаминов является их разноплановое влияние на процессы генерации и обезвреживания АФК. В условиях наших экспериментов защитное действие путресцина и (в большей мере) спермина на проростки пшеницы при тепловом стрессе сопровождалось повышением активности ключевых антиоксидантных ферментов. Механизмы этого эффекта, как и причины различий в проявлении действия полиаминов, требуют дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- Аронова Е.Е., Шевякова Н.И., Стаценко Л.А., Кузнецов Вл.В. 2005. Индукция кадаверином экспрессии гена супероксиддисмутазы у растений *Mesembryanthemum crystallinum* L. Докл. АН [Россия]. 403 (1) : 131-134. (Aronova E.E., Shevyakova N.I., Stetsenko L.A., Kuznetsov V.I.V. 2005. Cadaverine-induced induction of superoxide dismutase gene expression in *Mesembryanthemum crystallinum* L. Dokl. Biol. Sci. 403 (1-6) : 257-259.)
- Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Швиденко Н.В. 2013. Роль пероксида водорода в формировании сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости проростков пшеницы. Физиология растений. 60 (2) : 221-229. (Kolupaev Yu.E., Oboznyi A.I., Shvidenko N.V. 2013. Role of hydrogen peroxide in generation of a signal inducing heat tolerance of wheat seedlings. Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 60 (2) : 227-234.)

- Колупаев Ю.Е., Рябчун Н.И., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И. 2015. Активность антиоксидантных ферментов и содержание осмолитов в проростках озимых злаков при закаливании и криострессе. Физиология растений. 62 (4) : 533-541. (Kolupaev Yu.E., Ryabchun N.I., Vayner A.A., Yastreb T.O., Oboznuy A.I. 2015. Antioxidant enzyme activity and osmolyte content in winter cereal seedlings under hardening and cryostress. Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 62 (4) : 499-506.)
- Кузнецов Вл.В., Радюкина Н.Л., Шевякова Н.И. 2006. Полиамины при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция. Физиология растений. 53 (5) : 658-683. (Kuznetsov V.V., Radyukina N.L., Shevyakova N.I. 2006. Polyamines and stress: Biological role, metabolism, and regulation. Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 53(5) : 583-604.)
- Andronis E.A., Moschou P.N., Touni I., Roubelakis-Angelakis K.A. 2014. Peroxisomal polyamine oxidase and NADPH-oxidase cross-talk for ROS homeostasis which affects respiration rate in *Arabidopsis thaliana*. Front. Plant Sci. 5 : 132.
- Cheng L., Zou Y., Ding S., Zhang J., Yu X., Cao J., Lu G. 2009. Polyamine accumulation in transgenic tomato enhances the tolerance to high temperature stress. J. Integr. Plant Biol. 51 (5) : 489-499.
- Ghosh N., Das S.P., Mandal C., Gupta S., Das K., Dey N., Adak M.K. 2012. Variations of antioxidative responses in two rice cultivars with polyamine treatment under salinity stress. Physiol. Mol. Biol. Plants. 18 (4) : 301-313.
- Gill S.S., Tuteja N. 2010. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. Plant Signal. Behav. 5 : 26-33.
- Ha H.C., Sirisoma N.S., Kuppusamy P., Zweier J.L., Woster P.M., Casero R.A.Jr. 1998. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95 : 11140-11145.
- Hussain S.S., Ali M., Ahmad M., Siddique K.H.M. 2011. Polyamines: Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. Biotechnol. Adv. 29 : 300-311.
- Kasukabe Y., He L., Watakabe Y., Otani M., Shimada T., Tachibana S. 2006. Improvement of environmental stress tolerance of sweet potato by introduction of genes for spermidine synthase. Plant Biotechnol. 23 : 75-83.
- Khosrowshahi Z.T., Slehi-Lisar S.Y., Ghassemi-Golezani K., Motafakkerzad R. 2018. Physiological responses of safflower to exogenous putrescine under water deficit. J. Stress Physiol. Biochem. 14 (3) : 38-48.
- Mellidou I., Karamanoli K., Beris D., Haralampidis K., Constantinidou H.A., Roubelakis-Angelakis K.A. 2017. Underexpression of apoplasmic polyamine oxidase improves thermotolerance in *Nicotiana tabacum*. J. Plant Physiol. 218 : 171-174.
- Minocha R., Majumdar R., Minocha S.C. 2014. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship. Front. Plant Sci. 5 : 175.
- Mostofa M.G., Yoshida N., Fujita M. 2014. Spermidine pretreatment enhances heat tolerance in rice seedlings through modulating antioxidative and glyoxalase systems. Plant Growth Regul. 73 (1) : 31-44.
- Nayyar H., Chander S. 2004. Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea. J. Agron. Crop Sci. 190 : 355-365.
- Pal M., Szalai G., Janda T. 2015. Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling. Plant Sci. 237 : 16-23.
- Pang X.M., Zhang Z.Y., Wen X.P., Ban Y., Moriguchi T. 2007. Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants. Plant Stress. 1 (2) : 173-188.
- Peayevandi K.M., Razavi S.M., Zahri S. 2018. The ameliorating effects of polyamine supplement on physiological and biochemical parameters of *Stevia rebaudiana* Bertoni under cold stress. Plant Production Sci. 21 (2) : 123-131.
- Pottosin I., Shabala S. 2014. Polyamines control of cation transport across plant membranes: implications for ion homeostasis and abiotic stress signaling. Front. Plant Sci. 5 : 154.
- Prabhavathi V.R., Rajam V.R. 2007. Polyamine accumulation in transgenic eggplant enhances tolerance to multiple abiotic stresses and fungal resistance. Plant Biotechnol. 24 : 273-282.
- Roychoudhury A., Basu S., Sengupta D.N. 2011. Amelioration of salinity stress by exogenously applied spermidine or spermine in three varieties of indica rice differing in their level of salt tolerance. J. Plant Physiol. 168 : 317-328.
- Sagor G.H., Berberich T., Takahashi Y., Niitsu M., Kusano T. 2013. The polyamine spermine protects *Arabidopsis* from heat stress-induced damage by increasing expression of heat shock-related genes. Transgenic Res. 22 (3) : 595-605.
- Saha J., Brauer E.K., Sengupta A., Popescu S.C., Gupta K., Gupta B. 2015. Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. Front. Environ. Sci. 3 : 21.
- Stolfa I., Pfeiffer T.Z., Spoljaric D. 2015. Heavy metal-induced oxidative stress in plants: response of the antioxidative system. In: Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage in Plants Under Stress. Eds. D.K. Gupta et al. Springer International Publishing Switzerland : 127-163.
- Szalai G., Janda K., Darkó E., Janda T., Peeva V., Pál M. 2017. Comparative analysis of polyamine metabolism in wheat and maize plants. Plant Physiol. Biochem. 112 : 239-250.

ИНДУЦИРОВАНИЕ ЭКЗОГЕННЫМИ ПОЛИАМИНАМИ

Wen X., Moriguchi T. 2015. Role of polyamines in stress response in horticultural crops. In: Abiotic Stress Biology in Horticultural Plants. Eds. Y. Kanayama, A. Kochetov. Springer Japan : 35-45.

Yang B., Wu J., Gao F., Wang J., Su G. 2014. Polyamine-induced nitric oxide generation and its potential requirement for peroxide in suspension cells of soybean cotyledon node callus. Plant Physiol. Biochem. 79 : 41-47.

Поступила в редакцию
28.09.2018 г.

INDUCTION OF HEAT RESISTANCE AND ANTIOXIDANT ENZYMES OF WHEAT SEEDLINGS BY EXOGENOUS POLYAMINES

A. I. Kokorev¹, N. V. Shvydenko¹, T. O. Yastreb¹, Yu. E. Kolupaev^{1,2}

¹*Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)*

E-mail: plant_biology@ukr.net

²*Karazin Kharkiv National University
(Kharkiv, Ukraine)*

Effects of exogenous polyamines namely putrescine and spermine on heat resistance of etiolated wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) and state of their antioxidant system were studied. Treatment of seedlings with both compounds increased their survival after a 10-minute heating in a water thermostat at 46°C. The most noticeable positive effect was observed under the influence of putrescine and spermine in a concentration of 1 mM. In this case, the protective effect of spermine was more significant than putrescine. Under the influence of polyamines under normal conditions, effects of increasing activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase, as well as a tendency to increase the activity of guaiacol peroxidase, were observed in seedlings. In 1-24 hours after the stress, SOD activity decreased in the control variant and remained at a higher level in seedlings treated with putrescine and especially spermine. Catalase activity after stress exposure in all variants of the experiment changed insignificantly, but in seedlings treated with polyamines, it was higher than in the control. A hour after heating, the activity of guaiacol peroxidase increased in the control and more significantly in the spermine treatment variant. Herewith 24 hours after heating, activity of the enzyme decreased somewhat, and differences between variants were leveled. The content of malonic dialdehyde, the lipid peroxidation product, after heating was lower in variants with polyamines than in the control. A conclusion is made about the relationship between increases in heat resistance of seedlings under the influence of polyamines with the activation of enzymatic components of antioxidant system.

Key words: *Triticum aestivum, putrescine, spermine, heat resistance, oxidative stress, antioxidant enzymes*

ІНДУКУВАННЯ ЕКЗОГЕННИМИ ПОЛІАМІНАМИ ТЕПЛІСТІЙКОСТІ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ І АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ

О. І. Кокорев¹, М. В. Швиденко¹, Т. О. Ястреб¹, Ю. Є. Колупаєв^{1,2}

¹*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)*

E-mail: plant_biology@ukr.net

²*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
(Харків, Україна)*

Досліджували вплив екзогенних поліамінів путресцину і сперміну на теплостійкість етіологованих проростків пшениці (*Triticum aestivum* L.) і стан їх антиоксидантної системи. Обробка проростків обома сполуками підвищувала їх виживаність після 10-хвилинного прогріву у водяному термостаті за температури 46°C. Найбільш помітний позитивний ефект відзначався під впливом путресцину і сперміну в концентрації 1 мМ. При цьому захисна дія сперміну було більш істотною, ніж путресцину. Під впливом поліамінів у звичайних умовах в проростках

КОКОРЕВ и др.

спостерігалися ефекти підвищення активності супероксиддисмутази (СОД) і каталази, а також тенденція до підвищення активності гваяколпероксидази. Через 1-24 год після стресового впливу активність СОД зменшувалася в контрольному варіанті і зберігалася на більш високому рівні в проростках, оброблених путресцином і особливо сперміном. Активність каталази після стресового впливу в усіх варіантах досліджу змінювалася незначно, але в проростках, оброблених поліамінами, була вищою, ніж в контролі. Через 1 год після прогріву активність гваяколпероксидази підвищувалася в контролі і більш істотно у варіанті з обробкою сперміном. При цьому через 24 год після прогріву активність ферменту дещо зменшувалася, а відмінності між варіантами нівелювалися. Вміст продукту пероксидного окиснення ліпідів малонового діальдегіду після прогріву в варіантах з поліамінами був нижчим від контролю. Зроблено висновок про зв'язок підвищення теплостійкості проростків під впливом поліамінів з активацією ферментативних компонентів антиоксидантної системи.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, *путресцин*, *спермін*, *теплостійкість*, *окиснювальний стрес*, *антиоксидантні ферменти*