

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.1

doi: 10.17223/19988591/54/6

А.И. Кокорев¹, Ю.Е. Колупаев^{1,2}, М.А. Шкляревский¹, А.А. Луговая¹

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

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

Влияние кадаверина на редокс-гомеостаз корней проростков пшеницы и их устойчивость к повреждающему нагреву

Исследовано влияние диамина кадаверина в концентрациях 0,05–2,5 мМ на теплоустойчивость проростков пшеницы. Установлено, что предварительная обработка кадаверином повышала выживание проростков после повреждающего нагрева (45 °С, 10 мин). Наиболее заметное защитное действие кадаверина наблюдалось в концентрации 1 мМ. Под влиянием обработки кадаверином происходило транзитное увеличение содержания пероксида водорода в корнях с максимальным эффектом через 2 ч после ее начала. Обработка проростков антиоксидантом диметилтиомочевиной (DMTU) и ингибитором диаминооксидазы аминоксантином устраняла вызываемые кадаверином эффекты увеличения содержания пероксида водорода в корнях и повышения теплоустойчивости. В то же время под влиянием ингибитора НАДФН-оксидазы имидазола вызываемое кадаверином повышение содержания пероксида водорода в корнях не устранялось. Через 4–24 ч после начала воздействия кадаверина наблюдалось повышение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (SOD), каталазы и гваяколпероксидазы. Антиоксидант DMTU снимал эффект повышения активности каталазы и гваяколпероксидазы в корнях, вызываемый экзогенным кадаверином. В то же время увеличение активности SOD не устранялось действием DMTU и ингибиторов ферментов, генерирующих активные формы кислорода (ROS). Сделано заключение, что повышение теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенным кадаверином, по крайней мере отчасти, связано с образованием ROS при его окислении. Предполагается, что модификация ферментативной антиоксидантной системы под действием кадаверина происходит за счет механизмов как зависимых, так и не зависимых от образования ROS.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*; кадаверин; пероксид водорода; диаминооксидаза; антиоксидантная система; теплоустойчивость

Сокращения [Abbreviations]: DMTU – диметилтиомочевина [Dimethylthiourea]; ROS – активные формы кислорода [Reactive oxygen species]; SOD – супероксиддисмутаза [Superoxide dismutase]; LPO – перекисное окисление липидов [Lipid peroxidation].

Для цитирования: Кокорев А.И., Колупаев Ю.Е., Шкляревский М.А., Луговая А.А. Влияние кадаверина на редокс-гомеостаз корней проростков пшеницы и их устойчивость к повреждающему нагреву // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. №. 54. С. 116–137. doi: 10.17223/19988591/54/6

Введение

Полиамины – метаболиты растений, задействованные во многих процессах в физиологически нормальных и особенно стрессовых условиях [1, 2]. Предполагается, что при действии на растения неблагоприятных факторов они могут способствовать поддержанию структуры биомакромолекул и мембран, а также участвовать в клеточном сигналинге [2, 3]. Имеются данные о повышении устойчивости растений к абиотическим стресс-факторам различной природы под влиянием экзогенных полиаминов [4–6].

Диамин кадаверин – малоизученный растительный полиамин [7]. Он образуется из лизина путем пиридоксальфосфат-зависимого декарбоксилирования, катализируемого лизиндекарбоксилазой [8]. Кадаверин обнаружен в различных органах растений разных таксономических групп [7]. Однако его абсолютное содержание у растений обычно ниже по сравнению с количеством других полиаминов [9]. Показано повышение содержания кадаверина в листьях растений фасоли [10] и корнях хрустальной травки (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) [11] при действии высоких температур. В органах хрустальной травки также зарегистрировано накопление кадаверина при продолжительном действии солевого стресса [12].

Данные о влиянии экзогенного кадаверина на устойчивость растений к стрессорам и функционирование их протекторных систем очень малочисленны. Обнаружено усиление прорастания семян редиса при 38 °С в присутствии 10 мкМ кадаверина [13]. Показано, что в присутствии NaCl и соли свинца под влиянием 1 мМ кадаверина усиливался рост проростков рапса, увеличивалось содержание в них каротиноидов и повышалась активность нитратредуктазы [14].

Связь физиологических эффектов кадаверина с образованием сигнальных посредников, в частности активных форм кислорода (ROS), остается малоизученной. Обнаружено, что экспозиция корневой системы хрустальной травки в среде с добавлением кадаверина индуцировала интенсивную экспрессию гена, кодирующего цитоплазматическую изоформу супероксиддисмутазы (Cu/Zn-SOD). Этот эффект не устранялся действием ингибитора диаминооксидазы аминоксидина, что дало основание авторам предполагать возможность прямого (без участия сигнальных посредников) влияния кадаверина на экспрессию отдельных генов SOD [15]. Однако специальных исследований роли ROS в проявлении влияния кадаверина на стрессоустойчивость растений до сих пор не проводилось.

Цель работы – изучение возможного протекторного влияния кадаверина на проростки пшеницы при тепловом стрессе и его связи с образованием и обезвреживанием ROS.

Материалы и методики исследования

В работе использованы этиолированные проростки мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Досконала. Семена репродукции 2019 г. любезно предоставлены сотрудниками Института растениеводства им. В.Я. Юрьева НААН Украины (г. Харьков, Украина). Зерновки, поверхностно обеззараженные в 6%-ном растворе пероксида водорода, проращивали при температуре 20–22 °С на водопроводной воде, очищенной с использованием системы водоподготовки, включающей в себя фильтр механической очистки, угольный фильтр и полупроницаемую обратноосмотическую мембрану с размером ячеек 1 нм. На третьи сутки проращивания в среду добавляли кадаверин в диапазоне концентраций от 0,05 до 2,5 мМ и выдерживали проростки на его растворе в течение одних суток, проростки контрольного варианта продолжали инкубировать на очищенной водопроводной воде.

В отдельных вариантах опыта проростки в течение 26 ч обрабатывали скавенджером пероксида водорода диметилтиомочевинной (DMTU) – 150 мкМ [16], ингибитором диаминоксидазы аминоксидином (1 мМ) [17] или ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом (10 мкМ) [18]. В вариантах по изучению комбинированного действия кадаверина, DMTU и ингибиторов диаминоксидазы и НАДФН-оксидазы последние вносили в среду инкубации проростков за 2 ч до начала 24-часового воздействия кадаверина. Таким образом, общее время инкубации проростков в присутствии DMTU, аминоксидина и имидазола в этих вариантах составляло также 26 ч. Концентрации указанных соединений, существенно модифицирующие эффекты экзогенного кадаверина, но не вызывающие визуально видимых токсических эффектов, выбирали в предварительных опытах.

Для биохимических анализов использовали корни проростков, поскольку они более чувствительны к воздействиям экзогенных соединений и гипертермии [19].

Содержание пероксида водорода определяли с помощью ферротрионального метода, экстрагируя пероксид водорода из растительного материала на леду 5% трихлоруксусной кислотой (ТХУ) [20]. Содержание H_2O_2 выражали в нмоль/г сырой массы.

Для анализа количества продуктов перекисного окисления липидов (LPO), реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, корни гомогенизировали в реакционной среде, содержащей 0,25%-ную 2-тиобарбитуровую кислоту в 10%-ной ТХУ, гомогенат помещали в кипящую баню на 30 мин. Затем пробы охлаждали и центрифугировали 15 мин при 10000 g на центрифуге MPW 350R («MPW MedInstruments», Польша). Оптическую плотность надосадочной жидкости определяли на спектрофотометре СФ-46 («ЛМО», Россия) при 532 нм (максимум светопоглощения малонового диальдегида) и 600 нм (для поправки на неспецифическое светопоглощение) [21].

При определении активности антиоксидантных ферментов – SOD, каталазы и гваяколпероксидазы – навески корней гомогенизировали на холоде в 0,15 М К, Na-фосфатном буфере (рН 7,6), содержащем ЭДТА (0,1 мМ) и дитиотрейтол (1 мМ) [22]. Гомогенат сразу использовали для анализа. Активность ферментов определяли в супернатанте после центрифугирования гомогената при 8000 g в течение 10 мин при 4 °С. Содержание воды в корнях проростков разных вариантов в период отбора проб для биохимических анализов существенно не изменялось, в связи с этим изучаемые показатели рассчитывали на грамм сырой массы.

Активность SOD (КФ 1.15.1.1) определяли при рН 7,6 [23], используя метод, основанный на способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметосульфата; оптическую плотность определяли при 540 нм. Активность SOD выражали в усл. ед./г сырой массы × мин).

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) анализировали при рН 7,0 [23] по количеству пероксида водорода, разложившегося за единицу времени, и выражали в ммоль H_2O_2 /г сырой массы × мин).

Активность гваяколпероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли с использованием гваякола в качестве донора водорода и пероксида водорода в качестве субстрата. Предварительно рН реакционной смеси доводили до 6,2 с помощью К,Na-фосфатного буфера [23]. Оптическую плотность тетрагваякола определяли при 470 нм. Активность фермента выражали в ммоль тетрагваякола/г сырой массы × мин).

Для определения теплоустойчивости проростков их подвергали повреждающему нагреву в водяном ультратермостате при температуре $45,0 \pm 0,1$ °С в течение 10 мин. После этого проростки всех вариантов переносили на очищенную водопроводную воду. Через 3 суток (после четкой визуализации повреждений) оценивали относительное количество выживших проростков. К живым относили проростки, не имевшие существенных некрозов и сохранившие способность к росту [19].

Эксперименты проведены в 5-кратной биологической повторности. На рисунках приведены средние величины и их стандартные ошибки ($M \pm m_M$). Статистическую значимость различий определяли с использованием *t*-критерия Стьюдента. Кроме специально оговоренных случаев, обсуждаются эффекты, значимые при $p < 0,05$.

Результаты исследования

В первой серии экспериментов изучена концентрационная зависимость влияния кадаверина на теплоустойчивость проростков пшеницы. Инкубация в присутствии кадаверина повышала устойчивость проростков к повреждающему нагреву (рис. 1). Значимый защитный эффект наблюдали при его действии в концентрациях диапазона 0,5–2,5 мМ. Наибольшее относи-

тельное количество выживших проростков отмечено в варианте с обработкой 1 мМ кадаверином. Именно в этой концентрации кадаверин использовали для изучения возможной связи между изменениями редокс-гомеостаза и проявлением его стресс-протекторного действия.

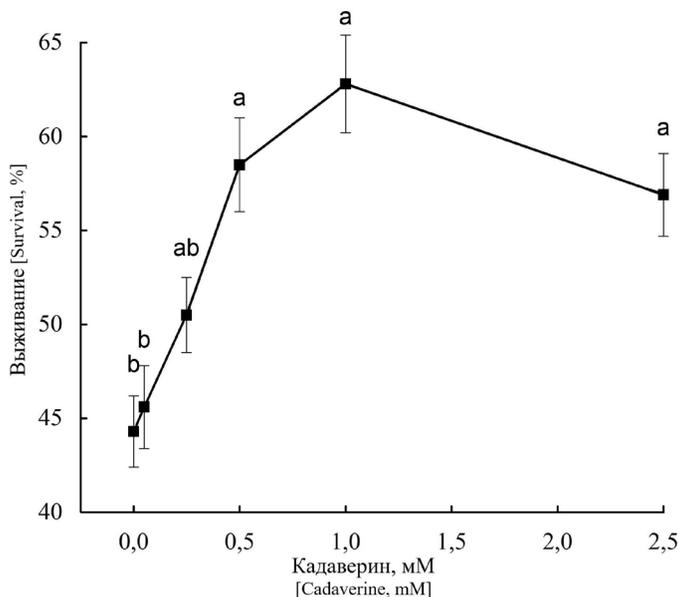


Рис. 1. Концентрационная зависимость влияния кадаверина на выживание (%) проростков пшеницы через 3 суток после 10-минутного прогрева при 45 °С ($M \pm m_M$).

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 1. Concentration dependence of cadaverine effect on wheat seedling survival (%) 3 days after damaging heating (10 min at 45 °C) ($M \pm m_M$).

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0,05$)]

Обработка кадаверином вызывала повышение содержания пероксида водорода в корнях (рис. 2). Заметный эффект наблюдался через 1–4 ч после ее начала с максимумом через 2 ч. Увеличение содержания пероксида водорода носило транзиторный характер и через 24 ч инкубации отмечалось даже некоторое снижение количества H_2O_2 в корнях опытного варианта.

Предварительная обработка проростков скаведжером пероксида водорода DMGTU снимала проявление эффекта повышения содержания H_2O_2 в корнях, вызываемое 2-часовым воздействием кадаверина (рис. 3). Этот эффект также полностью устранялся действием ингибитора диаминооксидазы амингуанидином и почти не изменялся в присутствии ингибитора НАДФН-оксидазы имидазола. Таким образом, данные ингибиторного анализа указывают на зависимость вызываемого кадаверином эффекта повышения содержания пероксида водорода в клетках корней в первую очередь от активности диаминооксидазы.

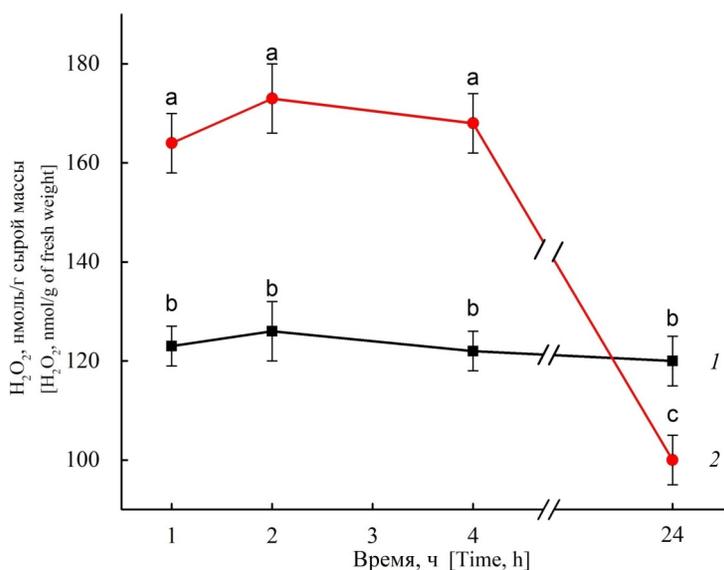


Рис. 2. Динамика содержания пероксида водорода в корнях проростков пшеницы при действии кадаверина ($M \pm m_M$): 1 – контроль; 2 – кадаверин. Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 2. Dynamics of the hydrogen peroxide content in roots of wheat seedlings under the action of cadaverine ($M \pm m_M$): 1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM).

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)]

Для выяснения значения ROS в индуцировании кадаверином теплоустойчивости проростков оценивали влияние DMTU, аминугуанидина и имидазола на проявление его протекторных эффектов. Через сутки после повреждающего прогрева в корнях проростков отмечалось повышение содержания продуктов LPO (рис. 4, a). Обработка кадаверином заметно уменьшала проявление окислительного стресса. DMTU слабо влияла на содержание продуктов LPO в корнях, но при этом в значительной степени нивелировала защитный эффект кадаверина. При обработке аминугуанидином содержание продуктов LPO в корнях проростков почти не изменялось, но этот ингибитор диаминооксидазы снимал вызываемый действием кадаверина эффект уменьшения их накопления после теплового стресса. В корнях проростков, обработанных ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом, содержание продуктов LPO не изменялось, не влиял имидазол и на проявление эффекта кадаверина на их содержание в корнях.

Данные по влиянию исследуемых соединений на выживание проростков после повреждающего нагрева согласуются с их эффектами на показатель окислительного стресса. Сами по себе DMTU, аминугуанидин и имидазол не оказывали влияния на выживание проростков после теплового стресса (рис. 4, b). При этом DMTU и аминугуанидин полностью устраняли защитный эффект кадаверина. В присутствии имидазола стресс-протекторное действие диамина немного снизилось.

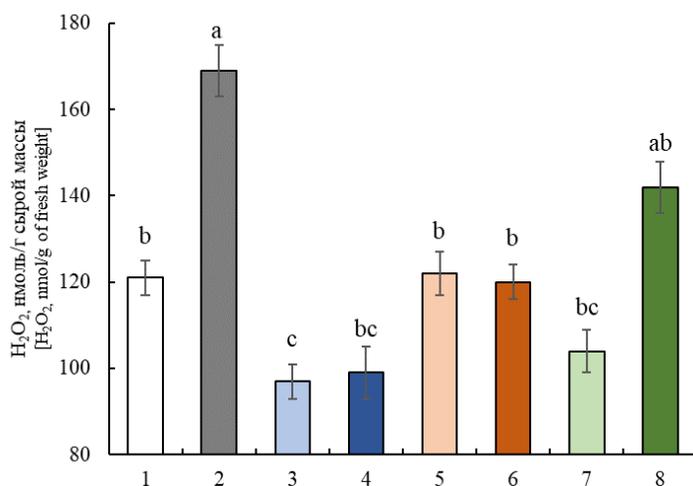


Рис. 3. Содержание пероксида водорода в корнях проростков пшеницы при действии кадаверина, DMTU, аминокуанидина и имидазола ($M \pm m_M$).

1 – контроль; 2 – кадаверин (1 мМ); 3 – DMTU (150 мкМ); 4 – кадаверин (1 мМ) + DMTU (150 мкМ); 5 – аминокуанидин (1 мМ); 6 – кадаверин (1 мМ) + аминокуанидин (1 мМ); 7 – имидазол (10 мкМ); 8 – кадаверин (1 мМ) + имидазол (10 мкМ).

Обработку корней кадаверином проводили в течение 2 ч, DMTU и ингибиторы ферментов добавляли в среду инкубации корней за 2 ч до внесения кадаверина.

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 3. Hydrogen peroxide content in roots of wheat seedlings under the action of cadaverine, DMTU, aminoguanidine and imidazole ($M \pm m_M$).

1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM); 3 - DMTU (150 μM); 4 - Cadaverine (1 mM) + DMTU (150 μM); 5 - Aminoguanidine (1 mM); 6 - Cadaverine (1 mM) + Aminoguanidine (1 mM); 7 - Imidazole (10 μM); 8 - Cadaverine (1 mM) + Imidazole (10 μM). The roots were treated with cadaverine for 2 h; DMTU and enzyme inhibitors were added to the incubation medium of roots 2 h before adding cadaverine.

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)

Уменьшение проявления окислительного стресса (накопления продуктов LPO, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой) после прогрева в корнях проростков под влиянием кадаверина указывает на возможность активации антиоксидантной системы. И действительно, обработка кадаверином вызывала постепенное повышение активности SOD, каталазы и гваяколпероксидазы (рис. 5). При этом максимальный эффект проявлялся через 24 ч после начала воздействия кадаверина. После повреждающего нагрева активность SOD и гваяколпероксидазы изменялась незначительно, а активность каталазы снижалась. Обработка кадаверином способствовала сохранению активности SOD и каталазы в постстрессовый период, однако не влияла на активность гваяколпероксидазы (см. рис. 5).

Для выяснения роли пероксида водорода и ферментативных систем, причастных к его генерации, в вызываемом кадаверином повышении активности SOD, каталазы и гваяколпероксидазы исследовали влияние DMTU, аминокуанидина и имидазола на активность этих ферментов после 24-часовой экспозиции в присутствии кадаверина.

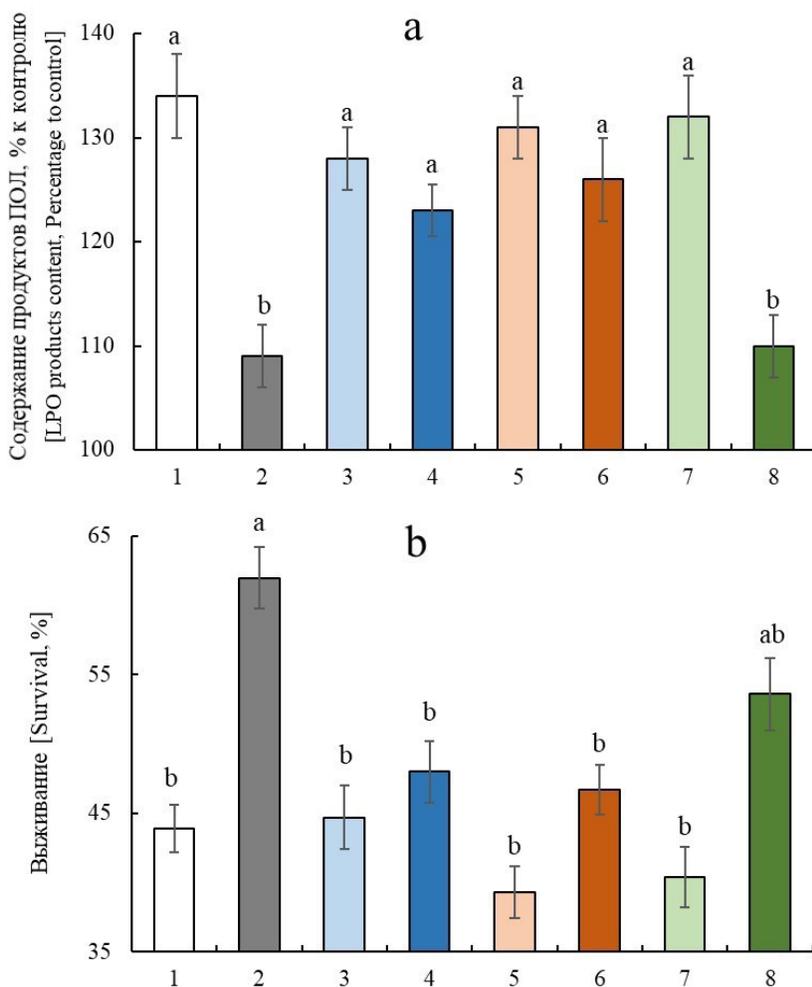


Рис. 4. Содержание в корнях продуктов LPO (а) и выживание проростков пшеницы (б) после повреждающего прогрева ($M \pm m_M$).

1 – контроль; 2 – кадаверин (1 мМ); 3 – DMTU (150 мкМ); 4 – кадаверин (1 мМ) + DMTU (150 мкМ); 5 – аминогуанидин (1 мМ); 6 – кадаверин (1 мМ) + аминогуанидин (1 мМ); 7 – имидазол (10 мкМ); 8 – кадаверин (1 мМ) + имидазол (10 мкМ). Содержание продуктов LPO определяли через 24 ч, выживание проростков – через 3 суток после повреждающего прогрева.

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 4. LPO products content in roots (a) and survival of wheat seedlings (b) after damaging heating ($M \pm m_M$): 1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM); 3 - DMTU (150 μM); 4 - Cadaverine (1 mM) + DMTU (150 μM); 5 - Aminoguanidine (1 mM); 6 - Cadaverine (1 mM) + Aminoguanidine (1 mM); 7 - Imidazole (10 μM); 8 - Cadaverine (1 mM) + Imidazole (10 μM).

The content of LPO products was determined after 24 h, the survival of seedlings was determined 3 days after damaging heating.

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)

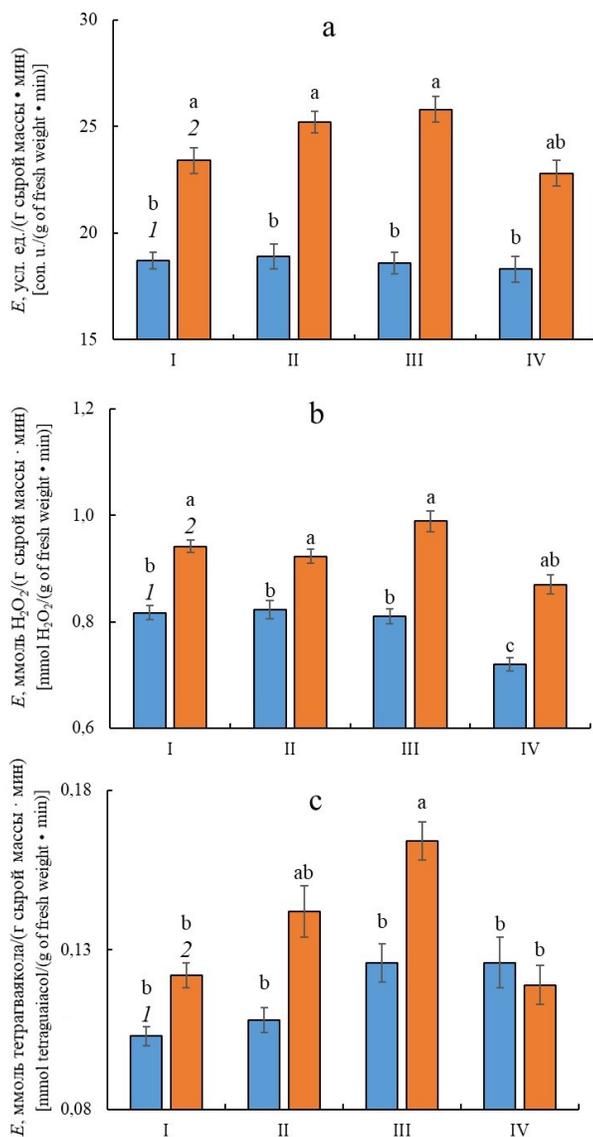


Рис. 5. Динамика активности SOD (a) и каталазы (b) и гваяколпероксидазы (c) в корнях проростков пшеницы при действии кадаверина и повреждающего прогрева ($M \pm m_M$).

I–III – соответственно: через 2, 4 и 24 ч после начала обработки кадаверином, IV – через 24 ч после прогрева при 45 °С. 1 – контроль; 2 – кадаверин (1 мМ).

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 5. Dynamics of SOD (a), catalase (b) and guaiacol peroxidase (c) activity in roots of wheat seedlings under the action of cadaverine and damaging heating.

I-III - respectively: 2, 4 and 24 h after the start of treatment with cadaverine,

IV - 24 h after warming up at 45 °С. 1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM).

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)]

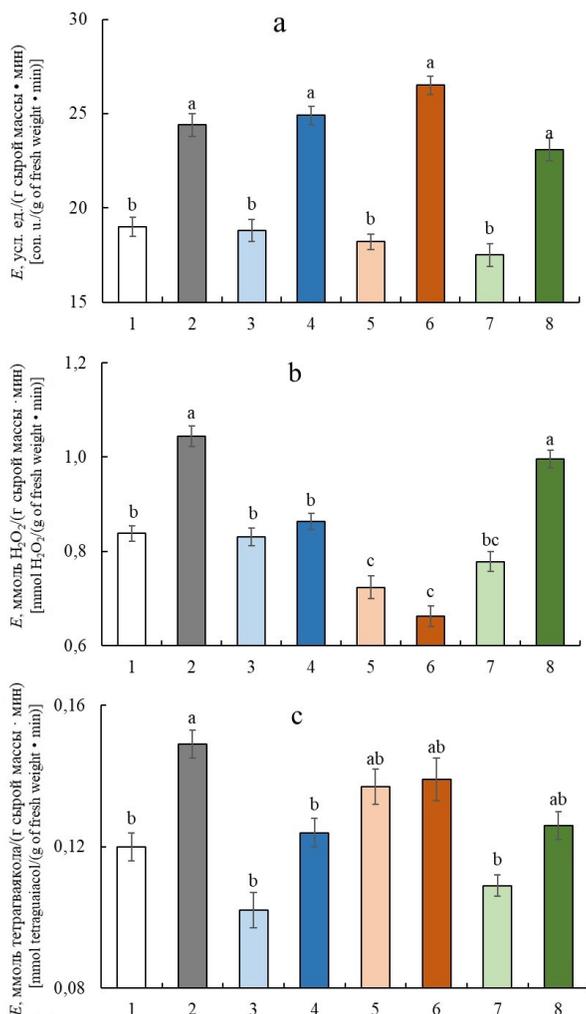


Рис. 6. Активность SOD (а), каталазы (b) и гваяколпероксидазы (с) в корнях проростков пшеницы при обработке кадаверином, DMTU, аминогуанидином и имидазолом ($M \pm m_n$).

1 – контроль; 2 – кадаверин (1 мМ); 3 – DMTU (150 мкМ); 4 – кадаверин (1 мМ) + DMTU (150 мкМ); 5 – аминогуанидин (1 мМ); 6 – кадаверин (1 мМ) + аминогуанидин (1 мМ); 7 – имидазол (10 мкМ); 8 – кадаверин (1 мМ) + имидазол (10 мкМ).

Обработку корней кадаверином проводили в течение 24 ч, DMTU и ингибиторы ферментов добавляли в среду инкубации корней за 2 ч до внесения кадаверина.

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 6. Activity of SOD (a), catalase (b), and guaiacol peroxidase (c) in roots of wheat seedlings when treating with cadaverine, DMTU, aminoguanidine and imidazole ($M \pm m_n$).

1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM); 3 - DMTU (150 μM); 4 - Cadaverine (1 mM) + DMTU (150 μM); 5 - Aminoguanidine (1 mM); 6 - Cadaverine (1 mM) + Aminoguanidine (1 mM); 7 - Imidazole (10 μM); 8 - Cadaverine (1 mM) + Imidazole (10 μM).

The roots were treated with cadaverine for 24 h; DMTM and enzyme inhibitors were added to the root incubation environment 2 h before the addition of cadaverine.

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)

Предварительная обработка DMTU не влияла на активность SOD и не устраняла ее повышение, вызываемое кадаверином (рис. 6, *a*). Ингибитор диаминооксидазы амингуанидин сам по себе не оказывал влияния на активность SOD в корнях и не препятствовал ее повышению в присутствии кадаверина. Ингибитор НАДФН-оксидазы также существенно не влиял на величину активности SOD и ее изменение под влиянием кадаверина.

Иные эффекты отмечались при оценке влияния исследуемых ингибиторов на активность каталазы в корнях проростков, обработанных кадаверином (рис. 6, *b*). DMTU не оказывал влияния на активность фермента, но устранял ее повышение, вызываемое кадаверином. Обработка амингуанидином сама по себе немного снижала активность каталазы и полностью устраняла эффект ее увеличения в присутствии кадаверина. В то же время в варианте с имидазолом активность фермента уменьшалась незначительно, при этом ингибитор НАДФН-оксидазы практически не препятствовал эффекту повышения активности каталазы под влиянием кадаверина.

Скавенджер пероксида водорода DMTU не оказывал существенного влияния на активность гваяколпероксидазы в корнях, но при этом нивелировал ее повышение, вызываемое кадаверином (рис. 6, *c*). Обработка амингуанидином сама по себе вызывала некоторое повышение активности гваяколпероксидазы. В варианте с комбинацией кадаверина и амингуанидина активность фермента немного ниже, чем в варианте с одним кадаверином, однако это различие статистически не значимо ($p < 0,05$). Имидазол не влиял на активность гваяколпероксидазы, но немного снижал эффект ее повышения, вызываемый кадаверином.

Обсуждение результатов исследования

В настоящей работе показано повышение теплоустойчивости проростков пшеницы под влиянием экзогенного кадаверина (см. рис. 1). Такой эффект кадаверина оказался зависимым от образования ROS и устранялся действием антиоксиданта DMTU (см. рис. 4). Основным ферментом, генерирующим пероксид водорода при обработке проростков кадаверином, по-видимому, является диаминооксидаза. На это указывает устранение вызываемого кадаверином повышения содержания пероксида водорода в корнях обработкой ингибитором диаминооксидазы амингуанидином (см. рис. 3). Кроме того, в присутствии амингуанидина не проявлялось влияние кадаверина на интегральные показатели – эффект окислительного стресса и выживание проростков после повреждающего нагрева (см. рис. 4).

Другим мощным ферментативным источником ROS в растительных клетках может быть НАДФН-оксидаза [24]. Имеются данные, указывающие на возможность повышения ее активности под влиянием полиаминов, в частности диамина путресцина [25]. Однако влияние кадаверина на образование пероксида водорода не устранялось ингибитором НАДФН-оксидазы

имидазолом (см. рис. 3). Этот ингибитор практически не влиял и на проявление стресс-протекторных эффектов кадаверина (см. рис. 4).

Полученные результаты дают основания полагать наличие в реализации эффектов кадаверина механизмов, как связанных, так и не связанных с его превращением диаминоксидазой и образованием пероксида водорода. Так, повышение активности SOD, вызываемое кадаверином, не устранялось антиоксидантом DMTU и ингибиторами ферментов, генерирующих ROS (аминогуанидином и имидазолом) (см. рис. 6, а). Как уже отмечалось, в работе [15] показано, что эффект индуцирования кадаверином экспрессии гена Cu/Zn-SOD в клетках корней *M. crystallinum* почти полностью сохранялся в присутствии аминогуанидина. При этом экзогенный пероксид водорода значительно слабее по сравнению с кадаверином влиял на экспрессию гена Cu/Zn-SOD. С учетом этих фактов авторы предположили, что кадаверин может непосредственно влиять на экспрессию гена Cu/Zn-SOD в корнях хрустальной травки. Таким образом, можно говорить о сходстве механизмов влияния кадаверина на активность SOD у двух таксономически отдаленных видов – *M. crystallinum* и *T. aestivum*. Следует, однако, отметить, что в наших экспериментах не анализировались экспрессия генов различных молекулярных форм SOD и электрофоретический спектр белков, обладающих каталитической активностью SOD. Как известно, среди форм SOD у большинства растений обычно доминируют Cu/Zn-содержащие изоформы, однако часть ферментативной активности связана и с наличием содержащихся в клеточных компартментах Fe- и Mn-SOD [26]. В связи с этим можно лишь предполагать, что кадаверин способен повышать активность каких-либо форм SOD и/или экспрессию соответствующих генов, действуя без участия пероксида водорода. Кроме того, нельзя полностью исключить, что зафиксированное нами повышение активности SOD под влиянием кадаверина могло быть обусловлено возможным усилением генерации супероксидного анион-радикала. Однако такая причина повышения активности SOD под влиянием кадаверина представляется маловероятной, поскольку этот эффект не устранялся имидазолом – ингибитором НАДФН-оксидазы, которая считается одним из основных ферментов, генерирующих супероксидный анион-радикал [24].

Что касается других исследованных нами антиоксидантных ферментов – каталазы и гваяколпероксидазы, то вызываемые кадаверином модификации их активности, по-видимому, опосредованы пероксидом водорода. Так, повышение активности каталазы под влиянием кадаверина не происходило в присутствии скавенджера H_2O_2 , DMTU и ингибитора диаминоксидазы аминогуанидина (см. рис. 6, б). В то же время ингибитор НАДФН-оксидазы имидазол не устранял такой эффект кадаверина. Можно полагать, что повышение активности каталазы является следствием увеличения содержания пероксида водорода, происходящего в результате окисления кадаверина диаминоксидазой. Следует отметить, что у *M. crystallinum* вызываемое кадаверином повышение содержания пероксида водорода и активности каталазы в

корнях также подавлялось аминогуанидином [17]. Также не исключено, что еще одной причиной повышения содержания пероксида водорода в корнях при действии кадаверина может быть увеличение активности SOD.

Повышение активности гваяколпероксидазы в корнях проростков пшеницы, которое происходило при обработке кадаверином, также устранялось действием DMTU (см. рис. 6, с). Участие диаминоксидазы в этом процессе доказать оказалось сложно вследствие хотя и небольшого, но повышения активности гваяколпероксидазы под влиянием ингибитора диаминоксидазы аминогуанидина. В культуре тканей побегов тополя также показано некоторое увеличение активности этого фермента при внесении в среду аминогуанидина [27]. Примечательно, что у растений *M. crystallinum* вызываемое кадаверином повышение активности пероксидазы устранялось аминогуанидином [28]. Возможно, что этот ингибитор диаминоксидазы оказывает неспецифическое влияние на активность пероксидазы, проявление которого может зависеть от видовых особенностей растений. Еще одной сложностью интерпретации эффектов аминогуанидина является его способность ингибировать образование оксида азота [29], который, наряду с пероксидом водорода, является активным модификатором антиоксидантных ферментов [30].

В целом в связи с наличием функциональных связей ROS с другими посредниками можно предположить, что некоторые физиологические эффекты ди- и полиаминов могут быть обусловлены образованием не только ROS, но и оксида азота (NO). Так, при действии путресцина на проростки пшеницы увеличивалось содержание NO в корнях, а его скавенджер РТЮ (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide) в значительной степени угнетал развитие теплоустойчивости проростков пшеницы, индуцируемое этим диамином [31]. Возможную роль NO в реализации эффектов кадаверина еще предстоит исследовать. Еще одним сигнальным посредником, задействованным в реализации кадаверина, как и других полиаминов, может быть кальций, который относится к универсальным мессенджерам. Его выход в апопласт зарегистрирован под влиянием путресцина в корнях гороха [32]. Также показана способность полиаминов вытеснять кальций из комплексов с пектиновыми веществами клеточных стенок [33]. Есть сведения и о прямом влиянии содержащегося в апопласте спермина на состояние катионных каналов растительных клеток [34]. В наших экспериментах показана зависимость от кальциевого гомеостаза образования ROS в корнях проростков пшеницы при действии путресцина [35]. В то же время нам не известны специальные исследования влияния кадаверина на кальциевый гомеостаз растительных клеток.

Безусловно, что обсуждаемые механизмы не исключают и возможности прямого влияния кадаверина на биомакромолекулы и, как следствие, на функционирование отдельных белков и экспрессию генов. Как уже отмечалось, в работе Е.Е. Ароновой и соавт. [15] показана возможность независимого от ROS влияния кадаверина на экспрессию гена цитозольной

Cu/Zn-SOD у хрустальной травки. В нашей работе установлено повышение экзогенным кадаверином активности SOD в корнях пшеницы в присутствии ингибитора диаминооксидазы амингуанидина и скавенджера пероксида водорода DMTU (см. рис. 6, *a*), что также косвенно указывает на возможность реализации эффектов кадаверина без участия ROS, образующихся при его окислении диаминооксидазой. Кроме того, одна из составляющих стресс-протекторного действия полиаминов, в том числе и кадаверина, может заключаться в прямых антиоксидантных эффектах. В частности, сообщается о его способности ингибировать окислительную дегградацию ДНК [36]. В целом же, полученные экспериментальные данные показывают важную роль сигнальных путей, в которых задействованы ROS, в реализации протекторного действия кадаверина на проростки пшеницы при тепловом стрессе.

Ранее на такой же модели мы изучали влияние путресцина на редокс-гомеостаз и устойчивость проростков пшеницы к гипертермии [26]. Полученные результаты позволяют говорить о значительном сходстве эффектов экзогенных кадаверина и путресцина. Обработка проростков этими диаминами повышала их теплоустойчивость. В обоих случаях под влиянием диаминов происходило повышение активности антиоксидантных ферментов (SOD, каталазы и гваяколпероксидазы). Влияние обоих соединений на теплоустойчивость практически не проявлялось в присутствии скавенджера пероксида водорода DMTU. Однако при действии путресцина эффекты усиления образования ROS, увеличения активности антиоксидантных ферментов и повышения теплоустойчивости проростков устранялись не только DMTU и ингибитором диаминооксидазы амингуанидином, но и ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом. Повышение активности НАДФН-оксидазы у растений арабидопсиса зафиксировано и под влиянием экзогенного спермидина [37]. Не исключено, что вклад ROS, образуемых разными ферментативными системами при действии полиаминов, может зависеть от природы последних.

Обсуждая стресс-протекторное действие кадаверина, зафиксированное в нашей работе, следует отметить, что его специфичность требует специальных исследований, поскольку при его метаболизации могут образовываться другие соединения с физиологической активностью, в частности путресцин [38], что создает серьезные трудности в изучении его «самостоятельных» стресс-протекторных эффектов [39].

Заключение

Показан эффект повышения теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенным диамином кадаверином. Важной составляющей его стресс-протекторного действия, по-видимому, является активация ферментативной антиоксидантной системы. При этом в качестве одного из сигнальных посредников, задействованных в реализации защитного действия кадаверина, выступает пероксид водорода, который образуется при окислении кадаве-

рина диаминоксидазой. Об участии диаминоксидазы и ROS в проявлении эффектов кадаверина свидетельствует устранение его влияния на теплоустойчивость проростков пшеницы и активность каталазы и гваяколпероксидазы скавенджером H_2O_2 DMTU и отчасти ингибитором диаминоксидазы аминогуанидином. Наряду с этим, модификация кадаверином активности SOD в корнях проростков пшеницы, по-видимому, может происходить без участия ROS, образующихся под действием диаминоксидазы, поскольку не устраняется антиоксидантом DMTU и ингибитором диаминоксидазы аминогуанидином.

Литература

1. Takahashi T., Kakehi J. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses // *Annals of Botany*. 2010. Vol. 105, № 1. PP. 1–6. doi: [10.1093/aob/mcp259](https://doi.org/10.1093/aob/mcp259)
2. Pal M., Szalai G., Janda T. Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling // *Plant Science*. 2015. Vol. 237. PP. 16–23. doi: [10.1016/j.plantsci.2015.05.003](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003)
3. Pang X.M., Zhang Z.Y., Wen X.P., Ban Y., Moriguchi T. Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants // *Plant Stress*. 2007. Vol. 1, № 2. PP. 173–188.
4. Nayyar H., Chander S. Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea // *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2004. Vol. 190, № 5. PP. 355–365. doi: [10.1111/j.1439-037X.2004.00106.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00106.x)
5. Gill S.S., Tuteja N. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants // *Plant Signaling Behavior*. 2010. Vol. 5, № 1. PP. 26–33. doi: [10.4161/psb.5.1.10291](https://doi.org/10.4161/psb.5.1.10291)
6. Mostofa M.G., Yoshida N., Fujita M. Spermidine pretreatment enhances heat tolerance in rice seedlings through modulating antioxidative and glyoxalase systems // *Plant Growth Regulation*. 2014. Vol. 73, № 1. PP. 31–44. doi: [10.1007/s10725-013-9865-9](https://doi.org/10.1007/s10725-013-9865-9)
7. Rajpal C., Tomar P.C. Cadaverine: A potent modulator of plants against abiotic stresses // *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2020. Vol. 10, № 2. PP. 205–210. doi: [10.15414/jmbfs.2020.10.2.205-210](https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.2.205-210)
8. Кузнецов Вл.В., Радюкина Н.Л., Шевякова Н.И. Полиамины при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // *Физиология растений*. 2006. Т. 53, № 5. С. 658–683.
9. Sharma L., Priya M., Kaushal N., Bhandhari K., Chaudhary S., Dhankher O.P., Prasad P.V.V., Siddique K.H.M., Nayyar H. Plant growth-regulating molecules as thermoprotectants: functional relevance and prospects for improving heat tolerance in food crops // *Journal of Experimental Botany*. 2020. Vol. 71, № 2. PP. 569–594. doi: [10.1093/jxb/erz333](https://doi.org/10.1093/jxb/erz333)
10. Edreva A., Yordanov I., Kardjieva R., Gesheva E. Heat shock responses of bean plants: involvement of free radicals, antioxidants and free radical/active oxygen scavenging systems // *Biologia Plantarum*. 1998. Vol. 41, № 2. PP. 185–191. doi: [10.1023/A:1001846009471](https://doi.org/10.1023/A:1001846009471)
11. Shevyakova N.I., Rakitin V.Yu., Duong D.B., Sadomov N.G., Kuznetsov V.I. Heat shock-induced cadaverine accumulation and translocation throughout the plant // *Plant Science*. 2001. Vol. 161, № 6. PP. 1125–1133. doi: [10.1016/S0168-9452\(01\)00515-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00515-5)
12. Парамонова Н.В., Шевякова Н.И., Шорина М.В., Стеценко Л.А., Ракитин В.Ю., Кузнецов Вл.В. Влияние путресцина на ультраструктуру апопласта мезофилла листьев *Mesembryanthemum crystallinum* при засолении // *Физиология растений*. 2003. Т. 50, № 5. С. 661–674.
13. Cavusoglu K., Kabar K. Comparative effects of some plant growth regulators on the germination of barley and radish seeds under high temperature stress // *EurAsian Journal of BioSciences*. 2007. Vol. 1, № 1. PP. 1–10.

14. Tomar P.C., Lakra N., Narayan M.S. Effect of cadaverine on *Brassica juncea* (L.) under multiple stress // *Indian Journal of Experimental Biology*. 2013. Vol. 51, № 9. PP. 758–763.
15. Аронова Е.Е., Шевякова Н.И., Стаценко Л.А., Кузнецов Вл.В. Индукция кадаверином экспрессии гена супероксиддисмутазы у растений *Mesembryanthemum crystallinum* L. // Докл. АН. 2005. Т. 403, № 1. С. 131–134.
16. Sung M., Hsu Yi., Hsu Yu. Hypersalinity and hydrogen peroxide upregulation of gene expression of antioxidant enzymes in *Ulva fasciata* against oxidative stress // *Marine Biotechnology*. 2009. Vol. 11, № 2. PP. 199–209. doi: [10.1007/s10126-008-9134-5](https://doi.org/10.1007/s10126-008-9134-5)
17. Shevyakova N.I., Rakitin V.Yu., Stetsenko L.A., Aronova E.E., Kuznetsov V.I. Oxidative stress and fluctuations of free and conjugated polyamines in the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. under NaCl salinity // *Plant Growth Regulation*. 2006. Vol. 50, № 1. PP. 69–78. doi: [10.1007/PL00021848](https://doi.org/10.1007/PL00021848)
18. Hung K.T., Hsu Y.T., Kao C.H. Hydrogen peroxide is involved in methyl jasmonate induced senescence of rice leaves // *Physiologia Plantarum*. 2006. Vol. 127, № 2. PP. 293–303. doi: [10.1111/j.1399-3054.2006.00662.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00662.x)
19. Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Швиденко Н.В. Роль пероксида водорода в формировании сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 2. С. 221–229. doi: [10.7868/S0015330313020127](https://doi.org/10.7868/S0015330313020127)
20. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica* // *Plant Physiology*. 1976. Vol. 57, № 2. PP. 308–309. doi: [10.1104/pp.57.2.308](https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308)
21. Фазлиева Э.Р., Киселева И.С., Жуйкова Т.В. Антиоксидантная активность листьев *Melilotus albus* и *Trifolium medium* из техногенно нарушенных местообитаний Среднего Урала при действии меди // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 3. С. 369–375.
22. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Рябчун Н.И., Кириченко В.В. Конститутивная и индуцированная холодом устойчивость проростков ржи и пшеницы к агентам окислительного стресса // Физиология растений. 2016. Т. 63, №3. С. 346–357. doi: [10.7868/S0015330316030064](https://doi.org/10.7868/S0015330316030064)
23. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Влияние модификации NO-статуса, закаливающего прогрева и пероксида водорода на активность антиоксидантных ферментов в проростках пшеницы // Физиология растений. 2015. Т. 62, № 3. С. 317–323. doi: [10.7868/S0015330315030094](https://doi.org/10.7868/S0015330315030094)
24. Kohli S.K., Handa N., Gautam V., Bali S., Sharma A., Khanna K., Arora S., Thukral K.A., Ohri P., Karpets Y., Kolupaev Y., Bhardwaj R. ROS signaling in plants under heavy metal stress // *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress*, eds. Khan M.I.R., Khan N.A. Singapore : Springer Nature, 2017. PP. 185–214. doi: [10.1007/978-981-10-5254-5_8](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5_8)
25. Колупаев Ю.Е., Kokorev A.I., Yastreb T.O., Horielova E.I. Hydrogen peroxide as a signal mediator at inducing heat resistance in wheat seedlings by putrescine // *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019. Vol. 91, № 6. PP. 103–111. doi: [10.15407/ubj91.06.103](https://doi.org/10.15407/ubj91.06.103)
26. Иванов Ю.В., Савочкин Ю.В. Изоферментный состав супероксиддисмутаз семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) при хроническом действии ионов цинка // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 2 (22). С. 150–159. doi: [10.17223/19988591/22/12](https://doi.org/10.17223/19988591/22/12)
27. Hausman J.F., Kevers C., Gaspari T. Putrescine control of peroxidase activity in the inductive phase of rooting in poplar shoots *in vitro*, and the adversary effect of spermidine // *Journal of Plant Physiology*. 1995. Vol. 146, № 5–6. PP. 681–685. doi: [10.1016/S0176-1617\(11\)81933-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81933-4)
28. Kuznetsov V.I., Shorina M., Aronova E., Stetsenko L., Rakitin V., Shevyakova N. NaCl- and ethylene-dependent cadaverine accumulation and its possible protective role in the

- adaptation of the common ice plant to salt stress // *Plant Science*. 2007. Vol. 172, № 2. PP. 363–370. doi: [10.1016/j.plantsci.2006.09.01](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.09.01)
29. Glyan'ko A.K. Initiation of nitric oxide (NO) synthesis in roots of etiolated seedlings of pea (*Pisum sativum* L.) under the influence of nitrogen-containing compounds // *Biochemistry (Moscow)*. 2013. Vol. 78, № 5. PP. 471–476. doi: [10.1134/S0006297913050052](https://doi.org/10.1134/S0006297913050052)
30. Arora D., Jain P., Singh N., Kaur H., Bhatla S.C. Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants // *Free Radical Research*. 2016. Vol. 50, № 3. PP. 291–303. doi: [10.3109/10715762.2015.1118473](https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1118473)
31. Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И., Шкляревский М.А., Луговая А.А., Карлец Ю.В., Иванченко О.Е. Роль модификации синтеза NO в реализации защитного действия путресцина на проростки пшеницы при тепловом стрессе // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2021. Т. 57, № 3. С. 282–290. doi: [10.31857/S0555109921030065](https://doi.org/10.31857/S0555109921030065)
32. Pottosin I., Velarde-Buendía A.M., Bose J., Fuglsang A.T., Shabala S. Polyamines cause plasma membrane depolarization, activate Ca²⁺, and modulate H⁺-ATPase pump activity in pea roots // *Journal of Experimental Botany*. 2014. Vol. 65, № 9. PP. 2463–2472. doi: [10.1093/jxb/eru133](https://doi.org/10.1093/jxb/eru133)
33. Messiaen J., Van Cutsem P. Polyamines and pectins. II. Modulation of pectic-signal transduction // *Planta*. 1999. Vol. 208. PP. 247–256. doi: [10.1007/s004250050556](https://doi.org/10.1007/s004250050556)
34. Kusano T., Berberich T., Tateda C., Takahashi Y. Polyamines: essential factors for growth and survival // *Planta*. 2008. Vol. 228. PP. 367–381. doi: [10.1007/s00425-008-0772-7](https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7)
35. Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И., Шкляревский М.А. Кальцийзависимое изменение активности антиоксидантных ферментов и теплоустойчивости проростков пшеницы под влиянием экзогенного путресцина // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2020. № 51. С. 105–122. doi: [10.17223/19988591/51/6](https://doi.org/10.17223/19988591/51/6)
36. Saxena S.C., Kaur H., Verma P., Petla B.P., Andugula V.R., Majee M. Osmoprotectants: Potential for crop improvement under adverse conditions // *Plant Acclimation to Environmental Stress*, eds. Tuteja N., Gill S.S. New York: Springer Science+Business Media, 2013. PP. 197–231. doi: [10.1007/978-1-4614-5001-6_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5001-6_9)
37. Andronis E.A., Moschou P.N., Toumi I., Roubelakis-Angelakis K.A. Peroxisomal polyamine oxidase and NADPH-oxidase cross-talk for ROS homeostasis which affects respiration rate in *Arabidopsis thaliana* // *Frontiers in Plant Science*. 2014. Vol. 5. Art. 132. doi: [10.3389/fpls.2014.00132](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00132)
38. Liu T., Dobashi H., Kim D.W., Sagor G.H.M., Niitsu M., Berberich T., Kusano T. *Arabidopsis* mutant plants with diverse defects in polyamine metabolism show unequal sensitivity to exogenous cadaverine probably based on their spermine content // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2014. Vol. 20. PP. 151–159. doi: [10.1007/s12298-014-0227-5](https://doi.org/10.1007/s12298-014-0227-5)
39. Jancewicz A.L., Gibbs N.M., Masson P.H. Cadaverine's functional role in plant development and environmental response // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. Art. 870. doi: [10.3389/fpls.2016.00870](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00870)

Поступила в редакцию 28.12.2021 г.; повторно 18.03.2021 г.;
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.

Авторский коллектив:

Кокорев Александр Игоревич, аспирант кафедры ботаники и физиологии растений, факультет защиты растений, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева (Украина, 62483, г. Харьков, п/о Докучаевское-2).

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Колупаев Юрий Евгеньевич, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой ботаники и физиологии растений, факультет защиты растений, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева (Украина, 62483, г. Харьков, п/о Докучаевское-2); профессор кафедры физио-

логии и биохимии растений и микроорганизмов, биологический факультет, Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина (Украина, 61002, г. Харьков, пл. Свободы, 4).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7151-906X>

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Шкляревский Максим Анатольевич, ассистент кафедры лесоводства, факультет лесного хозяйства, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева (Украина, 62483, г. Харьков, п/о Докучаевское-2).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-7781-4481>

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Луговая Анна Арнольдовна, канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений, факультет защиты растений Харьковского национального аграрного университета им. В.В. Докучаева (Украина, 62483, г. Харьков, п/о Докучаевское-2).

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

For citation: Kokorev AI, Kolupaev YE, Shkliarevskiy MA, Lugovaya AA. The effect of cadaverine on redox homeostasis of wheat seedling roots and their resistance to damage heating. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:116-137. doi: 10.17223/19988591/53/6 In Russian, English Summary

**Alexandr I. Kokorev¹, Yuriy E. Kolupaev^{1,2},
Maxim A. Shkliarevskiy¹, Anna A. Lugovaya¹**

¹ Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, Kharkiv, Ukraine

² Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

The effect of cadaverine on redox homeostasis of wheat seedling roots and their resistance to damage heating

Polyamines are plant metabolites involved in many processes under physiologically normal and stressful conditions. Cadaverine is one of the least studied plant polyamines. The relationship between its physiological effects and the formation of signaling mediators, in particular, reactive oxygen species (ROS), has hardly been specially studied. The aim of this work was to study the possible protective effect of cadaverine on wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under heat stress and its relationship with the formation and detoxification of ROS by antioxidant enzymes. Etiolated seedlings of soft winter wheat variety Doskonala were used in the work. We treated three-day-old seedlings with cadaverine at concentrations ranging from 0.05 to 2.5 mM by adding it to the root incubation medium. In some variants of the experiment, we treated seedlings with a hydrogen peroxide scavenger dimethylthiourea (DMTU - 150 μ M), a diamine oxidase inhibitor aminoguanidine (1 mM) or an inhibitor NADPH oxidase imidazole (10 μ M), as well as the indicated inhibitors in combination with cadaverine. The hydrogen peroxide content and the activity of antioxidant enzymes were determined in the roots of seedlings a certain time after treatment with the studied compounds. One day after the treatment of seedlings with cadaverine, ROS antagonists, and a combination of effectors, the seedlings were subjected to damaging heating in a water thermostat (10 min at 45 °C). 24 h after heating, we assessed the content of the products of lipid peroxidation (LPO) in the roots and, after 3 days, the survival of seedlings.

Incubation in the presence of cadaverine increased the resistance of seedlings to damaging heat (See Fig. 1). The highest relative number of surviving seedlings was observed in the variant with 1 mM cadaverine treatment. Under the effect of cadaverine, the content of hydrogen peroxide in the roots increased (See Fig. 2). We observed a noticeable effect 1-4 h after the start of treatment, with a maximum after 2 h. Treatment of seedlings with a scavenger of hydrogen peroxide DMTU removed the manifestation

of the effect of an increase in the content of H_2O_2 in the roots caused by the action of cadaverine (See Fig. 3). This effect was also completely eliminated by the diamine oxidase inhibitor aminoguanidine and was almost unchanged in the presence of the NADPH oxidase inhibitor imidazole. The effect of heat stress on seedlings caused an increase in the content of the LPO products in them. Treatment with cadaverine markedly reduced this manifestation of oxidative stress. The antioxidant DMTU and the diamine oxidase inhibitor aminoguanidine largely neutralized the protective effect of cadaverine (See Fig. 4a). At the same time, the NADPH oxidase inhibitor imidazole had almost no effect on the manifestation of the effect of cadaverine on the LPO products content in roots. Under the influence of DMTU and aminoguanidine, but not imidazole, the positive effect of cadaverine on the survival of seedlings after damaging heating was also leveled out (See Fig. 4b). The treatment of seedlings with cadaverine caused a change in the activity of antioxidant enzymes in the roots (superoxide dismutase - SOD, catalase, and guaiacol peroxidase) (See Fig. 5). DMTU and aminoguanidine neutralized the effect of cadaverine-induced increase in the activity of catalase and guaiacol peroxidase, but had almost no effect on the increase in SOD activity in roots induced by this diamine (See Fig. 6). The NADPH oxidase inhibitor imidazole did not significantly affect the manifestation of the effect of increasing the activity of antioxidant enzymes when seedlings are treated with cadaverine.

We can conclude that one of the signaling mediators involved in the regulation activity of catalase and guaiacol peroxidase and in the induction of heat resistance of wheat seedlings by exogenous cadaverine is hydrogen peroxide, which is formed during the oxidation of cadaverine by diamine oxidase. At the same time, the modification of SOD activity in the roots of wheat seedlings with cadaverine, apparently, can occur without the participation of ROS.

The paper contains 6 Figures and 39 References.

Key words: *Triticum aestivum*; cadaverine; hydrogen peroxide; diamine oxidase; antioxidant system; heat resistance.

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Takahashi T, Kakehi J. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. *Annals of Botany*. 2010;105(1):1-6. doi: [10.1093/aob/mcp259](https://doi.org/10.1093/aob/mcp259)
2. Pal M, Szalai G, Janda T. Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Science*. 2015;237:16-23. doi: [10.1016/j.plantsci.2015.05.003](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003)
3. Pang XM, Zhang ZY, Wen XP, Ban Y, Moriguchi T. Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants. *Plant Stress*. 2007;1(2):173-188.
4. Nayyar H, Chander S. Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea. *J Agronomy and Crop Science*. 2004;190(5):355-365. doi: [10.1111/j.1439-037X.2004.00106.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00106.x)
5. Gill SS, Tuteja N. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling Behavior*. 2010;5(1):26-33. doi: [10.4161/psb.5.1.10291](https://doi.org/10.4161/psb.5.1.10291)
6. Mostofa MG, Yoshida N, Fujita M. Spermidine pretreatment enhances heat tolerance in rice seedlings through modulating antioxidative and glyoxalase systems. *Plant Growth Regulation*. 2014;73(1):31-44. doi: [10.1007/s10725-013-9865-9](https://doi.org/10.1007/s10725-013-9865-9)
7. Rajpal C, Tomar PC. Cadaverine: A potent modulator of plants against abiotic stresses. *J Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2020;10(2):205-210. doi: [10.15414/jmbfs.2020.10.2.205-210](https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.2.205-210)
8. Kuznetsov VIV, Radyukina NL, Shevyakova NI. Polyamines and stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russian J Plant Physiology*. 2006;53(5):583-604. doi: [10.1134/S1021443706050025](https://doi.org/10.1134/S1021443706050025)

9. Sharma L, Priya M, Kaushal N, Bhandhari K, Chaudhary S, Dhankher OP, Prasad PVV, Siddique KHM, Nayyar H. Plant growth-regulating molecules as thermoprotectants: functional relevance and prospects for improving heat tolerance in food crops. *J Experimental Botany*. 2020;71(2):569-594. doi: [10.1093/jxb/erz333](https://doi.org/10.1093/jxb/erz333)
10. Edreva A, Yordanov I, Kardjieva R, Gesheva E. Heat shock responses of bean plants: involvement of free radicals, antioxidants and free radical/active oxygen scavenging systems. *Biologia Plantarum*. 1998;41(2):185-191. doi: [10.1023/A:1001846009471](https://doi.org/10.1023/A:1001846009471)
11. Shevyakova NI, Rakitin VYu, Duong DB, Sadomov NG, Kuznetsov VIV, Heat shock-induced cadaverine accumulation and translocation throughout the plant. *Plant Science*. 2001;161(6):1125-1133. doi: [10.1016/S0168-9452\(01\)00515-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00515-5)
12. Paramonova NV, Shevyakova NI, Shorina MV, Stetsenko LA, Rakitin VYu, Kuznetsov VIV. The effect of putrescine on the apoplast ultrastructure in the leaf mesophyll of *Mesembryanthemum crystallinum* under salinity stress. *Russian J Plant Physiology*. 2003;50 (5):587-598. doi: [10.1023/A:1025623704298](https://doi.org/10.1023/A:1025623704298)
13. Cavusoglu K, Kabar K. Comparative effects of some plant growth regulators on the germination of barley and radish seeds under high temperature stress. *EurAsian J BioSciences*. 2007;1(1):1-10.
14. Tomar PC, Lakra N, Narayan MS. Effect of cadaverine on *Brassica juncea* (L.) under multiple stress. *Indian J Experimental Biology*. 2013;51(9):758-763.
15. Aronova EE, Shevyakova NI, Stetsenko LA, Kuznetsov VIV. Cadaverine-induced induction of superoxide dismutase gene expression in *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Doklady Biological Sciences*. 2005;403(1-6):257-259. doi: [10.1007/s10630-005-0104-z](https://doi.org/10.1007/s10630-005-0104-z)
16. Sung M, Hsu Yi, Hsu Yu. Hypersalinity and hydrogen peroxide upregulation of gene expression of antioxidant enzymes in *Ulva fasciata* against oxidative stress. *Marine Biotechnology*. 2009;11(2):199-209. doi: [10.1007/s10126-008-9134-5](https://doi.org/10.1007/s10126-008-9134-5)
17. Shevyakova NI, Rakitin VYu, Stetsenko LA, Aronova EE, Kuznetsov VIV. Oxidative stress and fluctuations of free and conjugated polyamines in the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. under NaCl salinity. *Plant Growth Regulation*. 2006;50(1):69-78. doi: [10.1007/PL00021848](https://doi.org/10.1007/PL00021848)
18. Hung KT, Hsu YT, Kao CH. Hydrogen peroxide is involved in methyl jasmonate induced senescence of rice leaves. *Physiologia Plantarum*. 2006;127(2):293-303. doi: [10.1111/j.1399-3054.2006.00662.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00662.x)
19. Kolupaev YuE., Oboznyi AI, Shvidenko NV. Role of hydrogen peroxide in generation of a signal inducing heat tolerance of wheat seedlings. *Russian J Plant Physiology*. 2013;60(2):227-234. doi: [10.1134/S102144371302012X](https://doi.org/10.1134/S102144371302012X)
20. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica*. *Plant Physiology*. 1976;57(2):308-309. doi: [10.1104/pp.57.2.308](https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308)
21. Fazlieva ER, Kiseleva IS, Zhuikova TV. Antioxidant activity in the leaves of *Melilotus albus* and *Trifolium medium* from man-made disturbed habitats in the Middle Urals under the influence of copper. *Russian J Plant Physiology*. 2012;59(3):333-338. doi: [10.1134/S1021443712030065](https://doi.org/10.1134/S1021443712030065)
22. Kolupaev YuE, Yastreb TO, Oboznyi AI, Ryabchun NI, Kirichenko VV. Constitutive and cold-induced resistance of rye and wheat seedlings to oxidative stress. *Russian J Plant Physiology*. 2016;63(3):326-337. doi: [10.1134/S1021443716030067](https://doi.org/10.1134/S1021443716030067)
23. Karpets YuV, Kolupaev YuE, Yastreb T.O, Oboznyi AI. Effects of NO-status modification, heat hardening, and hydrogen peroxide on the activity of antioxidant enzymes in wheat seedlings. *Russian J Plant Physiology*. 2015;62(3): 292–298. doi: [10.1134/S1021443715030097](https://doi.org/10.1134/S1021443715030097)
24. Kohli SK, Handa N, Gautam V, Bali S, Sharma A, Khanna K, Arora S, Thukral KA, Ohri P, Karpets Y, Kolupaev Y, Bhardwaj R. ROS signaling in plants under heavy metal stress. In: *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under*

- Abiotic Stress*. Khan MIR, Khan NA, editors. Singapore: Springer Nature; 2017, pp. 185-214. doi: [10.1007/978-981-10-5254-5_8](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5_8)
25. Kolupaev YuE, Kokorev AI, Yastreb TO, Horielova EI. Hydrogen peroxide as a signal mediator at inducing heat resistance in wheat seedlings by putrescine. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019;91(6):103-111. doi: [10.15407/ubj91.06.103](https://doi.org/10.15407/ubj91.06.103)
 26. Ivanov YuV, Savochkin YuV. Isozymes composition of scots pine seedling's (*Pinus sylvestris* L.) superoxide dismutase under chronic effect of zinc. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2013;2(22):150-159. doi: [10.17223/19988591/22/12](https://doi.org/10.17223/19988591/22/12) In Russian, English Summary
 27. Hausman JF, Kevers C, Gaspari T. Putrescine control of peroxidase activity in the inductive phase of rooting in poplar shoots *in vitro*, and the adversary effect of spermidine. *J Plant Physiology*. 1995;146(5-6):681-685. doi: [10.1016/S0176-1617\(11\)81933-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81933-4)
 28. Kuznetsov VI, Shorina M, Aronova E, Stetsenko L, Rakitin V, Shevyakova N. NaCl- and ethylene-dependent cadaverine accumulation and its possible protective role in the adaptation of the common ice plant to salt stress. *Plant Science*. 2007;172(2):363-370. doi: [10.1016/j.plantsci.2006.09.01](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.09.01)
 29. Glyan'ko AK. Initiation of nitric oxide (NO) synthesis in roots of etiolated seedlings of pea (*Pisum sativum* L.) under the influence of nitrogen-containing compounds. *Biochemistry (Moscow)*. 2013;78(5):471-476. doi: [10.1134/S0006297913050052](https://doi.org/10.1134/S0006297913050052)
 30. Arora D, Jain P, Singh N, Kaur H, Bhatla SC. Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants. *Free Radical Research*. 2016;50(3):291-303. doi: [10.3109/10715762.2015.1118473](https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1118473)
 31. Kolupaev YuE, Kokorev AI, Shkliarevskiy MA, Lugovaya AA, Karpets YuV, Ivanchenko OE. Role of NO synthesis modification in the protective effect of putrescine in wheat seedlings subjected to heat stress. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2021. 57(3): 384-391. doi: [10.1134/S0003683821030066](https://doi.org/10.1134/S0003683821030066)
 32. Pottosin I, Velarde-Buendía AM, Bose J, Fuglsang AT, Shabala S. Polyamines cause plasma membrane depolarization, activate Ca²⁺-, and modulate H⁺-ATPase pump activity in pea roots. *J Experimental Botany*. 2014;65(9):2463-2472. doi: [10.1093/jxb/eru133](https://doi.org/10.1093/jxb/eru133)
 33. Messiaen J, Van Cutsem P. Polyamines and pectins. II. Modulation of pectic-signal transduction. *Planta*. 1999;208:247-256. doi: [10.1007/s004250050556](https://doi.org/10.1007/s004250050556)
 34. Kusano T, Berberich T, Tateda C, Takahashi Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta*. 2008;228:367-381. doi: [10.1007/s00425-008-0772-7](https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7)
 35. Kolupaev YE, Kokorev AI, Shkliarevskiy MA. Calcium-dependent changes in the activity of antioxidant enzymes and heat resistance of wheat seedlings under the influence of exogenous putrescine. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2020;51:105-122. doi: [10.17223/19988591/51/6](https://doi.org/10.17223/19988591/51/6) In Russian, English Summary
 36. Saxena SC, Kaur H, Verma P, Petla BP, Andugula VR, Majee M. Osmoprotectants: Potential for crop improvement under adverse conditions. In: *Plant Acclimation to Environmental Stress*. Tuteja N and Gill SS, editors. New York: Springer Science+Business Media; 2013. pp. 197-231. doi: [10.1007/978-1-4614-5001-6_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5001-6_9)
 37. Andronis EA, Moschou PN, Toumi I, Roubelakis-Angelakis KA. Peroxisomal polyamine oxidase and NADPH-oxidase cross-talk for ROS homeostasis which affects respiration rate in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*. 2014;5:132. doi: [10.3389/fpls.2014.00132](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00132)
 38. Liu T, Dobashi H, Kim DW, Sagor GHM, Niitsu M, Berberich T, Kusano T. Arabidopsis mutant plants with diverse defects in polyamine metabolism show unequal sensitivity to exogenous cadaverine probably based on their spermine content. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2014;20:151-159. doi: [10.1007/s12298-014-0227-5](https://doi.org/10.1007/s12298-014-0227-5)

39. Jancewicz AL, Gibbs NM, Masson PH. Cadaverine's functional role in plant development and environmental response. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:870. doi: [10.3389/fpls.2016.00870](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00870)

*Received 28 December 2020; Revised 18 March 2021;
Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.*

Author info:

Kokorev Alexandr I, Post-Graduate Student, Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Plant Protection, Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, p/o Dokuchaevskoe-2, Kharkiv 62483, Ukraine.

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Kolupaev Yuriy E, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Plant Protection, Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, p/o Dokuchaevskoe-2, Kharkiv 62483, Ukraine; Professor, Department of Physiology and Biochemistry of Plants and Microorganisms, Faculty of Biology, Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody square, Kharkiv 61002, Ukraine.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7151-906X>

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Shkliarevskiy Maxim A, Assistant, Department of Forestry, Faculty of Forestry, Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, p/o Dokuchaevskoe-2, Kharkiv 62483, Ukraine.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7781-4481>

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Lugovaya Anna A, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Professor, Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Plant Protection, Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, p/o Dokuchaevske-2, Kharkiv 62483, Ukraine.

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com