

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.12.085>

УДК 581.1

**О.І. Кокорев¹, Ю.Є. Колупаєв¹,
Ю.В. Карпець¹, А.І. Дяченко²**

¹ Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

² Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ

E-mail: plant_biology@ukr.net

Участь оксиду азоту в індукованні теплостійкості проростків пшениці путресцином

Представлено членом-кореспондентом НАН України О.П. Дмитрієвим

Поліаміни є стресовими метаболітами рослин, задіяними у формуванні адаптивних реакцій. Останнім часом їх розглядають як сполуки, що залучаються в сигнальні процеси. Проте можлива роль оксиду азоту (NO) і його функціональної взаємодії з активними формами кисню (АФК) за умов реалізації стреспротекторних ефектів поліамінів вивчена дуже слабо. Досліджували участь NO як сигнального посередника в індукованні теплостійкості проростків пшениці екзогенним діаміном путресцином. Інкубація коренів інтактних проростків на 1 мМ розчині путресцину спричиняла зростання активності діаміноксидази і транзиторне підвищення в них вмісту оксиду азоту та пероксиду водню з максимумами відповідно через 1 і 2 год від початку обробки. Збільшення вмісту NO усувалося дією аміногуанідину (інгібітор діаміноксидази і NO синтази), але не вольфрамату натрію (інгібітор нітратредуктази). Обробка проростків скавенджером пероксиду водню диметилтіосечовиною (ДМТС) зменшувала ефект підвищення вмісту NO в коренях, спричинюваний путресцином. Водночас скавенджер NO РТІО (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide) практично повністю усував накопичення пероксиду водню в коренях, яке відбувалося під дією путресцину. Підвищення теплостійкості проростків, індуковане дією путресцину, повністю знімалося під впливом скавенджера NO РТІО, інгібітора діаміноксидази і NO-синтази аміногуанідину та антиоксиданту ДМТС. Зроблено висновок про функціональну взаємодію АФК і NO як сигнальних посередників, що забезпечують індукування захисних реакцій і розвиток теплостійкості рослин, оброблених путресцином.

Ключові слова: поліаміни, путресцин, монооксид азоту (NO), пероксид водню, сигнальні посередники, теплостійкість, *Triticum aestivum*.

Поліаміни являють собою аліфатичні азотовмісні сполуки з регулярним просторовим розташуванням позитивних зарядів. Вони виявлені у рослин, тварин і мікроорганізмів. У рослин поліаміни розглядаються як поліфункціональні стресові метаболіти, за несприятливих умов їх кількість у клітинах може зростати на порядки [1].

Цитування: Кокорев О.І., Колупаєв Ю.Є., Карпець Ю.В., Дяченко А.І. Участь оксиду азоту в індукованні теплостійкості проростків пшениці путресцином. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2020. № 12. С. 85–92. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.12.085>

Екзогенні поліаміни, в тому числі діамін путресцин, мають здатність підвищувати стійкість рослин до абіотичних стресорів різної природи [1], зокрема до гіпертермії [2]. Накопичені відомості і щодо впливу екзогенних поліамінів на стійкість рослин до інших стресорів. Так, показано, що додавання путресцину в середовище культивування клітин картоплі підвищувало їх виживаність у присутності агента осмотичного стресу ПЕГ 8000 [3]. Обробка проростків конюшини сперміном перед впливом ПЕГ 6000 сприяла збереженню пулу фотосинтетичних пігментів та росту рослин [4].

Поряд з прямим протекторним впливом на біомакромолекули і антиоксидантною дією [5] поліаміни можуть залучатися в процеси клітинного сигналіngu. Це зумовлено насамперед тим, що під час окиснення поліамінів ді- і поліаміноксидазами утворюється пероксид водню (H_2O_2) [1], який є достатньо стабільною активною формою кисню (АФК), завдяки чому має чималий сигнальний потенціал і розглядається як самостійний посередник [6]. Поряд з утворенням H_2O_2 внаслідок підвищення вмісту поліамінів у рослинних клітинах зазвичай також зростає вміст оксиду азоту (NO) [7], що перебуває у центрі багатьох адаптивних і патологічних процесів [6].

Проте механізми посилення генерації NO рослинами під дією поліамінів з'ясовані не повністю. Припускають, що NO може утворюватися в процесі деградації поліамінів з участю ді- і поліаміноксидаз. Так, у коренях рослин арабідопсису, нокаутних за Су-аміноксидазою 1, у відповідь на обробку путресцином, утворювалася менша кількість NO, ніж у рослин дикого типу [8]. Однак у сім'ядолях і листках таких відмінностей не виявлено. Водночас повідомляється також про здатність поліамінів модулювати активність нітратредуктази [1]. Проте індуковане поліамінами утворення NO спостерігалось у мутантів арабідопсису, дефектних за генами нітратредуктаз (*nia1/nia2*) [9]. Це свідчить про те, що відновлювальний шлях утворення NO під дією поліамінів, принаймні у рослин арабідопсису, не є основним.

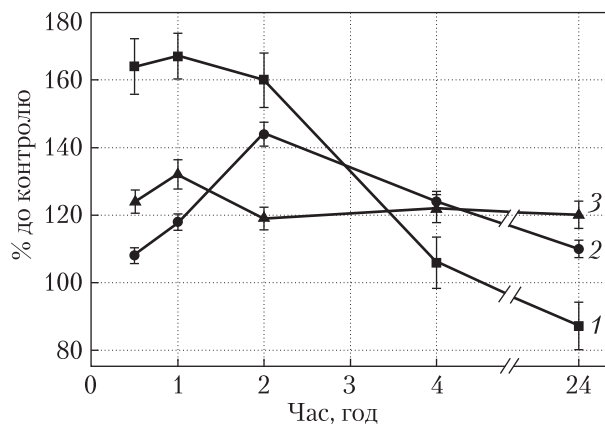
Оксид азоту і АФК як сигнальні посередники перебувають у тісній функціональній взаємодії. Існує припущення, що H_2O_2 бере участь в утворенні NO, спричинюваному дією на рослини екзогенного путресцину [7]. Проте в цілому характер взаємодії NO і АФК як сигнальних посередників і значення такої взаємодії для формування адаптивних реакцій росли залишаються не дослідженими.

Раніше ми показали значення H_2O_2 як посередника в індукуванні теплостійкості проростків пшениці путресцином [10]. Метою цієї роботи стало з'ясування ролі NO та його можливої функціональної взаємодії з H_2O_2 у реалізації стрес-протекторної дії путресцину на проростки пшениці при гіпертермії.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були етіольовані проростки м'якої озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Досконала. Зернівки знезаражували протягом 30 хв у 6 % розчині H_2O_2 і пророщували при температурі 20–22 °C на очищеній водопровідній воді. На третю добу пророщування насіння в середовище додавали путресцин у концентрації 1 мМ і витримували проростки на його розчині протягом однієї доби, проростки контрольного варіанта продовжували інкубувати на очищеній водопровідній воді. Концентрація путресцину, що максимально підвищувала теплостійкість проростків, була встановлена нами раніше [10].

В окремих варіантах досліду проростки протягом 26 год обробляли скавенджером NO РТІО (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide, 2 мМ), інгібітором ді-

Рис. 1. Динаміка вмісту оксиду азоту (1), пероксиду водню (2) та активності діаміноксидази (3) у корнях проростків пшениці під впливом 1 мМ путресцину (% до контролю)



міноксидази аміногуанідином (1 мМ), інгібітором нітратредуктази вольфраматом натрію (2 мМ) або антиоксидантом диметилтіосечовиною (ДМТС, 0,15 мМ). У варіантах з вивчення комбінованої дії путресцину і вказаних скавенджерів сигнальних посередників або інгібіторів їх синтезу ці агенти вносили в середовище інкубації проростків за 2 год до додавання в нього путресцину. Концентрації цих сполук вибирали в попередніх дослідях.

Для біохімічних аналізів використовували корені проростків, оскільки вони більш чутливі до впливів екзогенних сполук і гіпертермії [10]. Активність діаміноксидази визначали за кількістю піроліну, утворюваного у реакції ферментативного окиснення путресцину [11]. Кількість піроліну аналізували за реакцією із сумішшю нінгідрину та гідриндантину, розчинених у суміші льодяної оцтової та фосфорної кислот [11]. Вміст NO у корнях проростків аналізували з використанням реактиву Грісса [12]. Кількість H_2O_2 визначали феритіоціанатним методом [13].

Для визначення теплостійкості проростків їх прогрівали у водяному ультратермостаті за температури $45,0 \pm 0,1$ °C протягом 10 хв. Після цього проростки усіх варіантів переносили на очищену воду. Через 3 доби оцінювали виживаність проростків [12].

Досліди проводили у 3–4-разовому повторенні, на рисунках наведені середні величини та їх похибки.

Результати досліджень та їх обговорення. За умов інкубації проростків на середовищі з путресцином у них зростала активність діаміноксидази, причому істотний ефект спостерігався вже за 0,5 год від початку обробки (рис. 1). Підвищений рівень активності ферменту з деякими флуктуаціями відзначався і в наступні години спостережень, дещо знижуючись до 24 год. Дія путресцину також спричиняла транзиторне підвищення у корнях проростків вмісту NO та H_2O_2 (див. рис. 1). Часова динаміка зміни кількості цих посередників у клітинах коренів була подібною. Найбільше за величиною зростання вмісту NO відзначалося через 1 год від початку дії путресцину, а найбільша кількість H_2O_2 у корнях фіксувалася через 2 год інкубації. Таким чином, зростання вмісту NO дещо випереджало збільшення кількості H_2O_2 в корнях. Однак вміст обох сполук через 1–2 год від початку впливу путресцину був істотно вищим від контролю. Водночас до 24 год експерименту кількість NO і H_2O_2 у корнях, що інкубувалися на середовищі з додаванням путресцину, слабо відрізнялася від контролю (див. рис. 1).

Обробка коренів проростків аміногуанідином, що інгібує діаміноксидазу і NO-синтазу, спричиняла зменшення вмісту в них NO (рис. 2). При цьому вона повністю усувала ефект підвищення вмісту NO в корнях, спричинюваний дією путресцину. Водночас під впливом інгібітора нітратредуктази вольфрамату натрію вміст NO майже не змінювався.

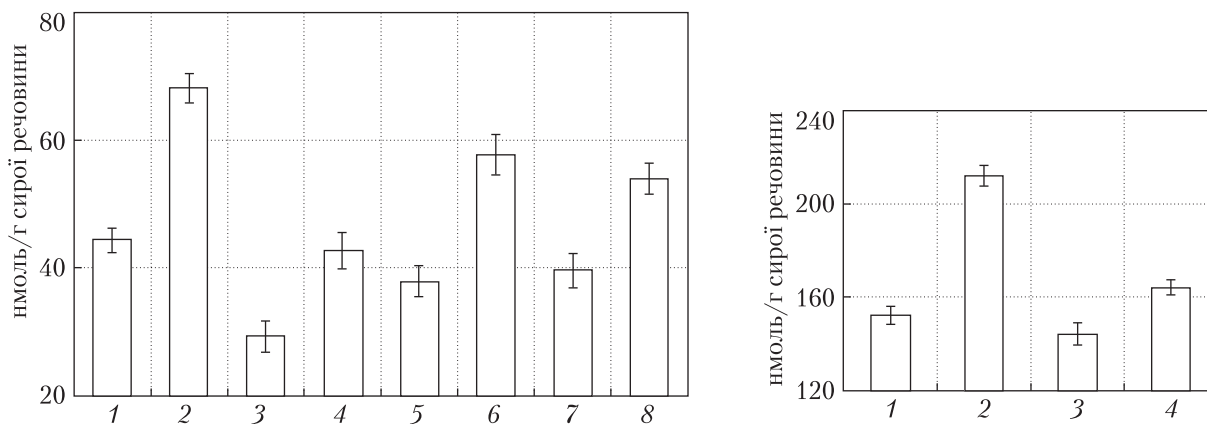


Рис. 2. Вплив путресцину, ДМТС та інгібіторів синтезу NO на його вміст (нмоль/г сирової речовини) у коренях проростків пшениці. 1 – контроль; 2 – путресцин (1 мМ); 3 – аміногуанідин (1 мМ); 4 – путресцин (1 мМ) + аміногуанідин (1 мМ); 5 – вольфрамат натрію (2 мМ); 6 – путресцин (1 мМ) + вольфрамат натрію (2 мМ); 7 – ДМТС (0,15 мМ); 8 – путресцин (1 мМ) + ДМТС (0,15 мМ). Вміст NO визначали через 1 год від початку інкубації проростків на середовищі з путресцином та/або через 3 год від початку обробки іншими сполуками

Рис. 3. Вплив путресцину та скавенджера NO РТІО на вміст перексиду водню (нмоль/г сирової речовини) у коренях проростків пшениці. 1 – контроль; 2 – путресцин (1 мМ); 3 – РТІО (0,1 мМ); 4 – путресцин (1 мМ) + РТІО (0,1 мМ). Вміст перексиду водню визначали через 2 год від початку інкубації проростків на середовищі з путресцином та/або через 4 год від початку обробки РТІО

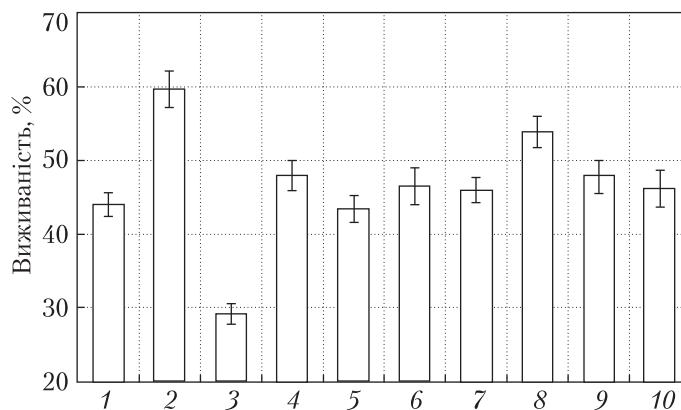
У варіанті з поєднанням обробки коренів вольфраматом натрію і путресцином вплив останнього на вміст NO в коренях зменшувався незначною мірою (див. рис. 2). Ці дані вказують на те, що зростання вмісту NO під впливом путресцину не пов'язано з дією нітратредуктази, але залежить від активності діаміноксидази. Примітно, що динаміка вмісту NO і активності діаміноксидази у варіанті з обробкою проростків путресцином була подібною (див. рис. 1).

Скавенджер перексиду водню ДМТС сам по собі майже не впливав на вміст NO в коренях проростків, але частково усував ефект його підвищення, індукований дією путресцину (див. рис. 2).

У випадку обробки проростків РТІО вміст перексиду водню в коренях майже не змінювався (рис. 3). Водночас у присутності РТІО не відбувалося підвищення вмісту H_2O_2 у коренях, спричинюваного дією путресцину.

Під впливом обробки путресцином зростала теплостійкість проростків пшениці (рис. 4). Інкубація на середовищі з РТІО дещо знижувала виживаність проростків після ушкоджувального прогріву. При цьому захисний ефект путресцину в присутності РТІО не проявлявся. Інгібітори ферментів синтезу NO самі по собі істотно не впливали на теплостійкість проростків. Водночас аміногуанідин (інгібітор діаміноксидази і NO-синтази) усував позитивний вплив путресцину на теплостійкість проростків, а вольфрамат натрію (інгібітор нітратредуктази) спричиняв лише тенденцію до зменшення прояву протекторних ефектів діаміну (див. рис. 4). Скавенджер перексиду водню ДМТС сам по собі майже не впливав на теплостійкість проростків пшениці, хоча майже повністю усував ефект індуквання терморезистентності у разі обробки проростків путресцином (див. рис. 4).

Рис. 4. Вживаність проростків пшениці після ушкоджувального прогріву (10 хв за температури 45°C). 1 – контроль; 2 – путресцин (1 мМ); 3 – РТЮ (0,1 мМ); 4 – путресцин (1 мМ) + РТЮ (0,1 мМ); 5 – аміногуанідин (1 мМ); 6 – путресцин (1 мМ) + аміногуанідин (1 мМ); 7 – вольфрамат натрію (2 мМ); 8 – путресцин (1 мМ) + вольфрамат натрію (2 мМ); 9 – ДМТС (0,15 мМ); 10 – путресцин (1 мМ) + ДМТС (0,15 мМ)



Отже, згідно з одержаними результатами, розвиток теплостійкості проростків пшениці, спричинюваний дією путресцину, залежить від утворення як NO, так і H_2O_2 . При цьому NO у разі обробки коренів проростків путресцином утворюється переважно окиснювальним шляхом, а не за рахунок відновлення нітратів/нітритів. Про це свідчить неістотний вплив інгібітора нітратредуктази вольфрамату натрію на вміст NO в коренях проростків, оброблених путресцином (див. рис. 2). Водночас усунення зростання вмісту NO дією аміногуанідину вказує на роль саме окиснювального шляху утворення NO в реалізації фізіологічних ефектів путресцину. Найбільш імовірним може бути збільшення вмісту NO в клітинах коренів за рахунок перетворення екзогенного путресцину. Проте механізм синтезу NO під дією ді- і поліаміноксидаз залишається невідомим.

Цілком імовірно, що утворення NO за умов дії на корені проростків путресцину відбувається за участі H_2O_2 . На це вказує часткове зняття спричинюваного путресцином ефекту збільшення вмісту NO обробкою проростків антиоксидантом ДМТС (див. рис. 2). У роботі В. Yang і співавт. [7] висловлюється припущення, що H_2O_2 бере участь у вивільненні NO, індукваному поліамінами, як джерело кисню. Однак прямих експериментальних підтверджень така гіпотеза поки що не має. Проте в роботі Z. Li і співавт. [14] показано, що накопичення H_2O_2 в проростках конюшини, викликане дією сперміну, не усувалося антагоністом NO гемоглобіном. З іншого боку, підвищення вмісту NO у цьому об'єкті частково нівелювалося скавенджером H_2O_2 ДМТМ, через що автори вважають, що H_2O_2 як посередник у сигнальному шляху, індукваному сперміном, розташований вище, ніж NO.

Водночас отримані нами результати свідчать про роль NO в утворенні H_2O_2 за умов обробки проростків путресцином. Зростання вмісту H_2O_2 , що відбувалося під впливом путресцину, усувалося скавенджером NO РТЮ (див. рис. 3). Не виключено, що така функціональна взаємодія NO і H_2O_2 може залежати від природи поліамінів і видових особливостей рослин.

Найімовірніше ключовою ланкою в посиленні утворення як H_2O_2 , так і NO під дією на проростки пшениці діаміну путресцину є активація ним діаміноксидази. Раніше нами було показано зняття ефекту путресциніндукваного накопичення H_2O_2 інгібітором діаміноксидази аміногуанідином [10]. H_2O_2 є безпосереднім продуктом окиснювальної деградації путресцину діаміноксидазою [11]. Пов'язаним з активністю діаміноксидази може бути і утворення NO, але через відсутність уявлень про механізми цього процесу дотепер діамін-

оксидаза розглядається лише як гіпотетичний генератор NO [15]. Вивчення внеску цього ферменту в синтез NO ускладнюється тим, що діаміноксидаза і фермент, подібний до NO-синтази тварин, пригнічуються одними й тими ж інгібіторами — аміногуанідином і L-NAME. Водночас відсутні й молекулярно-генетичні докази наявності у вищих рослин ферменту, подібного до NO-синтази тварин [15]. Таким чином, питання про конкретні ферменти утворення NO окиснювальним шляхом у вищих рослин дотепер залишається відкритим.

Проте отримані нами результати вказують на участь NO, утворюваного окиснювальним шляхом, у процесах індукування теплостійкості проростків пшениці путресцином. При цьому NO перебуває у функціональній взаємодії з H_2O_2 і утворення цих посередників є взаємозалежним. Не виключено, що у випадку дії путресцину утворення NO і H_2O_2 може бути результатом роботи однієї каталітичної системи — діаміноксидази, хоча з'ясування механізму генерації нею NO потребує спеціальних досліджень.

Загалом результати дослідження свідчать про те, що індукування путресцином захисних реакцій, які зумовлюють розвиток теплостійкості проростків пшениці, залежить від активності діаміноксидази і накопичення H_2O_2 та NO.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Pal M., Szalai G., Janda T. Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Sci.* 2015. **237**. P. 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003>
2. Asthir B., Kumar R., Bains N.S. Why and how putrescine modulates thermotolerance in wheat? *Indian J. Biochem. Biophys.* 2018. **55**, № 6. P. 404–412. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/45454>
3. Scaramagli S., Biondi S., Leone A., Grillo S., Torrigiani P. Acclimation to low water potential in potato cell suspension cultures leads to changes in putrescine metabolism. *Plant Physiol. Biochem.* 2000. **38**, № 4. P. 345–351. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)00750-6](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00750-6)
4. Li Z., Zhang Y., Zhang X., Peng Y., Merewitz E., Ma X., Linkai H., Yanhong Y. The alterations of endogenous polyamines and phytohormones induced by exogenous application of spermidine regulate antioxidant metabolism, metallothionein and relevant genes conferring drought tolerance in white clover. *Environ. Exp. Bot.* 2016. **124**. P. 22–38. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.12.004>
5. Kuznetsov V.I., Radyukina N.L., Shevyakova N.I. Polyamines and stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russ. J. Plant Physiol.* 2006. **53**, № 5. P. 583–604. <https://doi.org/10.1134/S1021443706050025>
6. Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Dmitriev A.P. Signal mediators in plants in response to abiotic stress: calcium, reactive oxygen and nitrogen species. *Cytol. Genet.* 2015. **49**, № 5. P. 338–348. <https://doi.org/10.3103/S0095452715050047>
7. Yang B., Wu J., Gao F., Wang J., Su G. Polyamine-induced nitric oxide generation and its potential requirement for peroxide in suspension cells of soybean cotyledon node callus. *Plant Physiol. Biochem.* 2014. **79**. P. 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.02.025>
8. Wimalasekera R., Villar C., Beguma T., Scherer G.F.E. COPPER AMINE OXIDASE1 (CuAO1) of *Arabidopsis thaliana* contributes to abscisic acid- and polyamine-induced nitric oxide biosynthesis and abscisic acid signal transduction. *Mol. Plant.* 2011. **4**, № 4. P. 663–678. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr023>
9. Wimalasekera R., Tebartz F., Scherer G.F.E. Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. *Plant Sci.* 2011. **181**, № 5. P. 593–603. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.002>
10. Kolupaev Yu.E., Kokorev A.I., Yastreb T.O., Horielova E.I. Hydrogen peroxide as a signal mediator at inducing heat resistance in wheat seedlings by putrescine. *Ukr. Biochem. J.* 2019. **91**, № 6. P. 103–111. <https://doi.org/10.15407/ubj91.06.103>
11. Naik B.I., Goswami R.G., Srivastava S.K. A rapid and sensitive calorimetric assay of amine oxidase. *Anal. Biochem.* 1981. **111**, № 1. P. 146–148. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(81\)90242-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90242-6)

12. Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Vayner A.A. Functional interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide during formation of wheat seedling induced heat resistance. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015. **62**, № 1. P. 65–70. <https://doi.org/10.1134/S1021443714060090>
13. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica*. *Plant Physiol.* 1976. **57**, № 2. P. 308–309. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308>
14. Li Z., Zhu Y., He X., Yong B., Peng Y., Zhang X., Ma X., Yan Y., Huang L., Nie G. The hydrogen sulfide, a downstream signaling molecule of hydrogen peroxide and nitric oxide, involves spermidine-regulated transcription factors and antioxidant defense in white clover in response to dehydration. *Environ. Exp. Bot.* 2019. **161**. P. 255–264. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.06.036>
15. Kolbert Z., Barroso J.B., Brouquisse R., Corpas F.J., Gupta K.J., Lindermayr C., Loake G.J., Palma J.M., Petřivalský M., Wendehenne D., Hancock J.T. A forty year journey: The generation and roles of NO in plants. *Nitric Oxide*. 2019. **93**. P. 53–70. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.09.006>

Надійшло до редакції 26.10.2020

REFERENCES

1. Pal, M., Szalai, G. & Janda, T. (2015). Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Sci.*, 237, pp. 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003>
2. Asthir, B., Kumar, R. & Bains, N.S. (2018). Why and how putrescine modulates thermotolerance in wheat? *Indian J. Biochem. Biophys.*, 55, No. 6, pp. 404-412. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/45454>
3. Scaramagli, S., Biondi, S., Leone, A., Grillo, S. & Torrigiani, P. (2000). Acclimation to low water potential in potato cell suspension cultures leads to changes in putrescine metabolism. *Plant Physiol. Biochem.*, 38, No. 4, pp. 345-351. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)00750-6](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00750-6)
4. Li, Z., Zhang, Y., Zhang, X., Peng, Y., Merewitz, E., Ma, X., Linkai, H. & Yanhong, Y. (2016). The alterations of endogenous polyamines and phytohormones induced by exogenous application of spermidine regulate antioxidant metabolism, metallothionein and relevant genes conferring drought tolerance in white clover. *Environ. Exp. Bot.*, 124, pp. 22-38. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.12.004>
5. Kuznetsov, V.I., Radyukina, N. L. & Shevyakova, N. I. (2006). Polyamines and stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russ. J. Plant Physiol.*, 53, No. 5, pp. 583-604. <https://doi.org/10.1134/S1021443706050025>
6. Kolupaev, Yu. E., Karpets, Yu. V. & Dmitriev, A. P. (2015). Signal mediators in plants in response to abiotic stress: calcium, reactive oxygen and nitrogen species. *Cytol. Genet.*, 49, No. 5, pp. 338-348. <https://doi.org/10.3103/S0095452715050047>
7. 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, pp. 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.02.025>
8. Wimalasekera, R., Villar, C., Beguma, T. & Scherer, G.F.E. (2011). COPPER AMINE OXIDASE1 (CuAO1) of *Arabidopsis thaliana* contributes to abscisic acid- and polyamine-induced nitric oxide biosynthesis and abscisic acid signal transduction. *Mol. Plant.*, 4, No. 4, pp. 663-678. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr023>
9. Wimalasekera, R., Tebartz, F. & Scherer, G.F.E. (2011). Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic and biotic stresses. *Plant Sci.*, 181, No. 5, pp. 593-603. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.002>
10. Kolupaev, Yu.E., Kokorev, A.I., Yastreb, T.O. & Horielova, E.I. (2019). Hydrogen peroxide as a signal mediator at inducing heat resistance in wheat seedlings by putrescine. *Ukr. Biochem. J.*, 91, No. 6, pp. 103-111. <https://doi.org/10.15407/ubj91.06.103>
11. Naik, B.I., Goswami, R.G. & Srivastava, S.K. (1981). A rapid and sensitive calorimetric assay of amine oxidase. *Anal. Biochem.*, 111, No. 1, pp. 146-148. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(81\)90242-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90242-6)
12. Karpets, Yu.V., Kolupaev, Yu.E. & Vayner, A.A. (2015). Functional interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide during formation of wheat seedling induced heat resistance. *Russ. J. Plant Physiol.*, 62, No. 1, pp. 65-70. <https://doi.org/10.1134/S1021443714060090>
13. Sagisaka, S. (1976). The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica*. *Plant Physiol.*, 57, No. 2, pp. 308-309. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308>

14. Li, Z., Zhu, Y., He, X., Yong, B., Peng, Y., Zhang, X., Ma, X., Yan, Y., Huang, L. & Nie, G. (2019). The hydrogen sulfide, a downstream signaling molecule of hydrogen peroxide and nitric oxide, involves spermidine-regulated transcription factors and antioxidant defense in white clover in response to dehydration. *Environ. Exp. Bot.*, 161, pp. 255-264. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.06.036>
15. Kolbert, Z., Barroso, J.B., Brouquisse, R., Corpas, F.J., Gupta, K.J., Lindermayr, C., Loake, G.J., Palma, J.M., Petřivalský, M., Wendehenne, D. & Hancock, J.T. (2019). A forty year journey: The generation and roles of NO in plants. *Nitric Oxide*, 93, pp. 53-70. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.09.006>

Received 26.10.2020

A.I. Kokorev¹, Yu.E. Kolupaev¹,
Yu.V. Karpets¹, A.I. Dyachenko²

¹ V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University

² Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the NAS of Ukraine, Kyiv

E-mail: plant_biology@ukr.net

PARTICIPATION OF NITRIC OXIDE IN THE INDUCTION OF HEAT RESISTANCE OF WHEAT SEEDLINGS BY PUTRESCINE

Polyamines are stress plant metabolites involved in the formation of adaptive responses. Recently, they have been considered as compounds that are involved in signaling processes. However, the possible role of nitric oxide (NO) and its functional interaction with reactive oxygen species (ROS) in the realization of stress-protective effects of polyamines has been very poorly studied. The participation of NO as a signaling mediator in the induction of the heat resistance of wheat seedlings by the exogenous diamine putrescine is studied. Incubation of intact seedling roots on a 1 mM putrescine solution caused an increase in the activity of diamine oxidase and a transient increase in the content of nitric oxide and hydrogen peroxide, respectively, with peaks at 1 and 2 hours from the start of the treatment. The increase in the NO content was eliminated by the action of aminoguanidine (an inhibitor of diamine oxidase and NO synthase), but not sodium tungstate (an inhibitor of nitrate reductase). Treatment of seedlings with a scavenger of hydrogen peroxide with dimethylthiourea (DMTU) reduced the effect of increasing the NO content in roots caused by putrescine. At the same time, scavenger NO PTIO (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide) almost completely eliminated the accumulation of hydrogen peroxide in the roots, which occurred under the action of putrescine. The increase in the heat resistance of seedlings induced by the treatment with putrescine was completely eliminated under the influence of the NO PTIO scavenger, an inhibitor of diamine oxidase and NO synthase aminoguanidine, and the antioxidant DMTU. It is concluded about the functional interaction of ROS and NO as a signal intermediaries, providing the induction of protective responses and the development of plants of heat-resistance in the processing of putrescine.

Keywords: polyamines, putrescine, nitric oxide (NO), hydrogen peroxide, signaling mediators, heat resistance, *Triticum aestivum*.