

УДК 581.1

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В РЕГУЛЯЦИИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ И ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ДЕФИЦИТУ ВЛАГИ

© 2023 г. Ч. Р. Аллагулова^а, *, Р. А. Юлдашев^а, А. М. Авальбаев^а

^а Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

*e-mail: allagulova-chulpan@rambler.ru

Поступила в редакцию 23.07.2022 г.

После доработки 19.10.2022 г.

Принята к публикации 20.10.2022 г.

Оксид азота — универсальная сигнальная молекула, вовлекаемая в модуляцию метаболической активности в ходе нормального роста и развития растений, и при формировании их устойчивости к стрессовым факторам окружающей среды. В обзоре представлены ключевые сведения, отражающие современное состояние проблемы регуляторной роли NO в растениях. Приведены краткие сведения о физико-химических свойствах NO, методах исследования, путях биосинтеза и функциональной активности на разных этапах развития растений (прорастание, вегетативный рост, цветение, корнеобразование, симбиоз, минеральное питание). Кроме того, описано проявление защитных эффектов NO в условиях дефицита влаги, поскольку нарушение водного режима и обезвоживание растений наблюдается при воздействии разных абиотических стрессовых факторов, включая засуху, засоление, гипо- и гипертермию. Особое внимание уделено молекулярным механизмам NO-зависимого сигналинга, которые реализуются в растениях на геномном, протеомном и пост-протеомном уровнях в ходе множественных реакций нитрования. Понимание механизмов регуляторного действия NO в норме и при стрессе имеет важное теоретическое и прикладное значение в связи с необходимостью фундаментального обоснования возможности практического применения NO с целью повышения устойчивости и продуктивности культурных растений.

Ключевые слова: абиотический стресс, дефицит влаги, засуха, оксид азота, нитрование, пост-трансляционные модификации, растительный онтогенез, регуляция метаболизма, устойчивость

DOI: 10.31857/S0015330322600437, **EDN:** GKMMZN

ВВЕДЕНИЕ

Оксид азота (NO) — газообразная молекула, выполняющая сигнальные функции у всех живых организмов, включая растения, участвующая в регуляции множественных физиолого-биохимических процессов. О способности растений к образованию NO стало известно еще в 1970-х г.г., когда была выявлена его эмиссия у бобовых культур при их обработке гербицидами [1]. Однако вплоть до начала 1990-х г.г. он рассматривался в качестве токсичного соединения, поскольку его значительные количества обнаруживались среди компонентов выхлопных газов и промышленных отходов. Смена представлений относительно токсичности NO произошла после установления его роли в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы человека. В связи с этим в 1992 г. NO был признан молекулой года [2], а в 1998 г. трое американских ученых фармаколога — Ф. Мюррад, Р. Фарчготт и Л. Игнаро — были удостоены Нобелевской премии в области физиологии и медицины. С того времени проведено колоссальное

количество работ, посвященных исследованию функциональной активности NO в разных биологических объектах, благодаря чему было неопровержимо доказано, что он необходим для нормального протекания жизнедеятельности не только животных и человека, но и представителей всех царств живых организмов. В растениях он вовлекается в реализацию онтогенетических программ на всех этапах их роста и развития от прорастания до цветения и созревания, а также в формирование стрессоустойчивости.

Выполнение оксидом азота множественных функций связано с его физико-химическими свойствами. Он является нейтральной двухатомной молекулой, растворимой в воде и в липидах. Наличие неспаренного электрона в структуре NO обуславливает его высокую реакционную способность и короткое время жизни, исчисляемое секундами [3, 4]. Благодаря амфифильной природе и свободно-радикальным свойствам он способен легко проникать через липидную фазу мембран и диффундировать через цитоплазму, быстро вступая

в реакции со своими многочисленными молекулярными мишенями. NO и его активные производные объединяют в группу активных форм азота (АФА), к числу которых в частности относят: NO⁻ – нитроксильный анион (анион нитрозония); NO⁺ – нитрозильный катион (катион нитрозония); NO₂⁻ – нитрит анион; NO₃⁻ – нитрат анион; ONOO⁻ – пероксинитрит, который выступает в качестве одного из главных нитрирующих агентов, функционирующих в NO-зависимых процессах передачи сигнала [4, 5]. В качестве АФА также рассматриваются некоторые S-нитрозотиолы (SNO), например S-нитрозоглутатион (GSNO), образуемый путем взаимодействия NO с глутатионом, выполняющим важные функции в поддержании гомеостаза NO, его отдаленном транспорте и передаче NO сигнала. При этом NO-зависимые пути регуляции растительного метаболизма связаны с реакциями транс-нитрозилирования, приводящие к модуляции активности генетических программ и к различным пост-трансляционным модификациям (NO-PTM) белков, среди которых наиболее хорошо изученными являются процессы нитрования по тирозину и S-нитрозилирования [6]. Таким образом, обладая высокой реакционной способностью и свободно радикальными свойствами, NO обуславливает запуск колоссального множества цепных реакций, чем объясняется чрезвычайно широкий спектр его биологического действия [7–10]. Вместе с тем необходимо отметить, что в избыточных концентрациях NO способен оказывать цитотоксическое действие, вызывая в живых организмах нитрозативный стресс [11, 12].

Особый интерес к NO вызван его участием в развитии устойчивости растений к стрессовым факторам среды биотического и абиотического происхождения. Среди них наиболее широко распространенным и непредсказуемым фактором является засуха. Вызывая в растениях нарушение водного режима и обезвоживание тканей, засуха негативно отражается на всех звеньях растительного метаболизма, процессах роста и развития, и формирования урожая [13–16]. Обезвоживание растительных тканей наблюдается также при других неблагоприятных воздействиях абиотического происхождения, например при засолении, гипо- и гипертермии [17]. Поэтому одним из наиболее актуальных направлений современной науки о растениях является поиск эффективных и безопасных способов защиты растений от пагубного действия водного стресса. Данные о повышении стрессоустойчивости культурных растений под влиянием экзогенной обработки NO, а также о его способности стимулировать процессы роста в нормальных условиях произрастания (табл. 1), указывают на возможность его использования в практическом растениеводстве с целью повышения устойчивости и продуктивности культурных растений.

Вместе с тем практическое применение оксида азота предполагает глубокое понимание молекулярных механизмов его физиологического действия в норме и при стрессе [18, 19]. В данном обзоре проводится последовательное описание проявлений функциональной активности NO в ходе основных этапов растительного онтогенеза, включая прорастание, вегетативный рост, цветение, корнеобразование, минеральное питание и установление симбиотических связей. Кроме того, на физиологическом и биохимическом уровнях рассматриваются NO-индуцированные защитные реакции растений, подвергнутых водному стрессу. Особое внимание уделено молекулярным механизмам NO-зависимого сигналинга, которые реализуются в растениях в норме и при неблагоприятных воздействиях на геномном, протеомном и пост-протеомном уровнях.

1. ОБРАЗОВАНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ ГОМЕОСТАЗА NO В РАСТЕНИЯХ

Пути образования оксида азота в растительных организмах подробно рассматриваются в ряде отечественных и зарубежных обзоров [4, 18, 20, 21]. Коротко следует напомнить, что совокупность биохимических превращений, приводящих к продукции молекулы NO, протекает по двум альтернативным механизмам: (1) – окислительному и (2) – восстановительному [4, 22]. В первом случае биосинтез NO происходит при окислении различных субстратов, таких как L-аргинин, полиамины и гидроксилламин с образованием продуктов окисления и высвобождением молекулы NO [4]. На примере млекопитающих хорошо изучена реакция окисления L-аргинаина, протекающая в присутствии молекулярного кислорода при участии специфических ферментов NO-синтаз (NOS), конечными продуктами которой являются L-цитруллин и молекула NO [4]. Реакцию можно выразить в виде схематического уравнения:



Однако NOS-ферменты у высших растений пока не идентифицированы, о чем свидетельствуют данные крупномасштабного скрининга более чем 2000 секвенированных растительных геномов [23]. Среди фотосинтезирующих организмов NOS-подобные последовательности выявлены у 15 видов одноклеточных зеленых водорослей, включая *Ostreococcus tauri*, для которой также было продемонстрировано наличие функционально активного NOS фермента, обладающего высокой степенью гомологии с NO-синтазами млекопитающих [20, 22, 23]. Вместе с тем сведения об угнетении синтеза NO в растениях под влиянием ингибиторов NOS-активности животных, а также данные, в которых продукция NO оценивалась по образованию цитруллина, позволяют предполагать суще-

Таблица 1. Роль NO в регуляции ответных реакций растений

Растительный объект	NO обработка	Стресс	Наблюдаемые эффекты	Ссылка
Латук посевной (<i>L. sativa</i>)	SNP (100 μ M) SNAP (100 μ M) проращивание семян в присутствии доноров NO	—	Стимуляция прорастания семян	[44]
Пшеница (<i>T. aestivum</i> L.)	SNP (200 μ M) Присутствие в среде выращивания проростков	—	Стимуляция прорастания семян, усиление роста корней и побегов, активация клеточного деления, повышение митотического индекса апикальной меристемы корней, накопление гормонов цитокининовой природы	[45]
Нут (<i>C. arietinum</i>)	SNAP (500 μ M) SNP (500 μ M) Присутствие в среде прорастания. Оценка показателей через 24, 48, 72 ч	—	Стимуляция прорастания семян, активация экспрессии генов, связанных с утилизацией сахаров (<i>Hexokinase 1</i> ; <i>Phosphofruktokinase 6</i> ; <i>Alpha amylase</i>) и генов клеточного цикла (<i>cyclin-D4-1-like</i> ; <i>cyclin-B1-4-like</i>)	[46]
Пшеница (<i>T. aestivum</i>), ячмень (<i>H. vulgare</i>), соя (<i>G. max</i>), рис (<i>O. sativa</i>), кукуруза (<i>Z. mays</i>), рапс (<i>B. napus</i>), горчица (<i>B. juncea</i>)	SNP (0.5×10^{-3} mol/L ⁻¹) 12-ч обработка семян	—	Стимуляция прорастания семян, повышение ферментативной активности β -амилазы	[47]
Кукуруза (<i>Z. mays</i>)	NaNO ₂ (10^{-7} M) SNP (10^{-10} M) S-нитрозотиолы (GSNO; нитроцистеин). Присутствие в среде прорастания	—	Стимуляция роста корней, регуляция активности мембранных Ca ²⁺ -каналов	[49]
Томат (<i>L. esculentum</i>), огурец (<i>C. sativus</i>)	SNP (200 μ M) 3-дневные растения инкубировали в присутствии донора NO в течение 5 суток	—	Изменение архитектуры корней (активация роста боковых и придаточных корней на фоне замедления роста первичного корня), усиление экспрессионной активности генов циклинов <i>CYCD 3;1</i> и <i>CYCA 2;1</i>	[52, 53]
Боб обыкновенный (<i>V. fava</i>)	SNP (10, 100 и 150 μ M) АБК (10 μ M) Инкубирование отрезков эпидермиса листьев в растворе SNP в присутствии или отсутствии АБК	—	Стимуляция закрытия устьиц. АБК-индуцированное накопление NO в замыкающих устьица клетках	[80]

Таблица 1. Продолжение

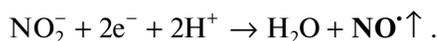
Растительный объект	NO обработка	Стресс	Наблюдаемые эффекты	Ссылка
Растения кукурузы (<i>Z. mays</i>) дикого типа. Мутантные линии: <i>yellow stripe 1 (ys1)</i> и <i>yellow stripe 3 (ys3)</i> с нарушением усвоения Fe	SNP (100 μ M) SNAP (100 μ M) 1. Опрыскивание растений растворами доноров NO 2. Внесение доноров NO в питательный раствор	Умеренный дефицит Fe (50 μ M Fe-EDTA). Сильный дефицит железа (10 μ M Fe-EDTA)	Поддержание уровня накопления биомассы, предотвращение хлороза листьев, повышение уровня хлорофилла, поддержание структурной целостности хлоропластов; активация экспрессии генов хлоропластных белков: <i>rbcL</i> (Rubisco large subunit) <i>psbA</i> (D1 protein). Восстановление нормального фенотипа у Fe-дефицитных мутантов	[56]
Люпин белый (<i>L. albus</i>)	SNP (50 μ M) 1. Присутствие SNP в среде прорастания в течение 3-х недель 2. Инкубирование корней в течение 24 ч	Дефицит P (присутствие/отсутствие KH_2PO_4 в питательном растворе)	NO-индуцированная стимуляция роста латеральных корней, формирование кластерной структуры корней, сопровождаемое повышением уровня экссудации цитратов и улучшением усвоения фосфора. Усиление продукции NO в корнях 3, 7, 14-дневных растений, необработанных NO и подвергнутых дефициту фосфора.	[61]
Фасоль обыкновенная (<i>Ph. vulgaris</i>), вigna (<i>V. unguiculata</i>)	SNP (10^{-4} M) Ежедневное опрыскивание 4-дневных растений в течение 10 сут	Дефицит влаги (ограничение полива)	NO-индуцированное повышение устьичной проводимости, поддержание уровня ОСВ листьев и целостности мембранных структур	[78]
Виноград (<i>V. vinifera</i>)	—	Дефицит влаги (ограничение полива)	Продукция NO в замыкающих устьица клетках. Параллельное повышение концентрации NO и АБК в листьях. Выявление корреляции между накоплением АБК, NO и закрытием устьиц. Роль NO в предотвращении потери влаги растением в условиях засухи	[79]
Индийская горчица (<i>B. juncea</i>)	SNP (100 μ M) Инкубирование 20-дневных растений в течение 4 сут в присутствии донора NO	Дефицит влаги (10% PEG)	Поддержание водного режима (ОСВ, транспирации, устьичной проводимости); фотосинтетической активности, уровня ассимиляции CO_2 , функционирования ЭТЦ в хлоропластах и ФСЦ, поддержание уровня хлорофилла, активности фотосинтетических ферментов (RuBisCo; глицeroальдегид-3-фосфатдегидрогеназы; фосфорibuлокиназы)	[82]

Таблица 1. Окончание

Растительный объект	NO обработка	Стресс	Наблюдаемые эффекты	Ссылка
Физалис угловатый (<i>Ph. angulata</i>)	SNP (50, 75, 100 μ M) Опрыскивание 20-дневных растений перед стрессовой обработкой	Засуха: (относительная влажность грунта 20%)	Смягчение негативных эффектов стресса на ростовые параметры (сырая, сухая масса растений, площадь листьев), поддержание фотосинтетической активности и состояния водного режима растений	[83]
Сахарный тростник (<i>Saccharum spp.</i>)	GSNO (10, 100, 500 μ M) Опрыскивание листьев 25-дневных растений за 3 сут до стресса	Осмотический стресс PEG 8000 (-0.75–0.111 mPa)	Улучшение показателей роста (сырая и сухая масса листьев и корней), водного режима (ОСВ; устьичной проводимости), ассимиляции CO ₂ , поддержание фотосинтетической активности	[84]
Соя (<i>G. max</i>)	SNP (100 μ M) Опрыскивание растений в течение 21 сут	15% PEG 6000	Поддержание роста, смягчение окислительного стресса (снижение уровня MDA, H ₂ O ₂ , экзоосмоса электролитов, активности LOX). Активация антиоксидантных ферментов (SOD, CAT, POX, APX), накопление неферментативных антиоксидантов (фенольных соединений, флавоноидов, токоферолов). Накопление осмопротектантов (пролин, глицинбетаин)	[88]
Рис (<i>O. sativa</i> L.)	SNP (50, 100, 150 μ M) 1. Предпосевное замачивание семян; 2. Опрыскивание растений на стадии 5 листьев	Засуха: (относительная влажность грунта 50%; ограниченный полив растений на стадии 4х листьев)	Снижение негативного действия засухи на ростовые параметры, состояние водного режима растений риса. Снижение уровня окислительных повреждений, повышение стабильности мембранных структур и фотосинтетической активности	[89]
Люцерна (<i>M. sativa</i> L.)	SNP (100 μ M) Предпосевное замачивание семян с последующим проращиванием в течение 7 сут в присутствии донора NO	Дефицит влаги (присутствие 10% PEG 6000 в среде проращивания)	Поддержание роста, водного статуса и уровня хлорофилла. Усиление накопления пролина и активности антиоксидантных ферментов (SOD, POD, CAT, APX). Модуляция экспрессии чувствительных к засухе генов: транскрипционных факторов, фотосинтетических белков, генов редокс-гомеостаза (GST, SOD, GPX, RBON) и генов, вовлекаемых в сигналинг фитогормонов (АБК, этилена, ауксинов)	[93]

ствование окислительного аргинин-зависимого пути биосинтеза NO, для которых специфические ферменты еще только предстоит идентифицировать [4, 22].

Восстановительные механизмы связаны с реакциями восстановления нитрата при участии нитратредуктазы (NR – nitrate reductase). Этот фермент катализирует первую стадию ассимиляции азота – реакцию двухэлектронного восстановления нитрата (NO_3^-) до нитрита (NO_2^-), который далее с участием ассимиляторной нитритредуктазы (NiR – nitrite reductase) восстанавливается до аммония, необходимого для синтеза аминокислот. Вместе с тем NR способна катализировать реакцию одноэлектронного восстановления нитрата с образованием NO [24, 25]. Суммарно процесс восстановительной продукции NO можно условно выразить в виде двух уравнений:



NR-зависимое образование NO было выявлено у разных видов растений [4, 24, 26]. В модельном растительном объекте *Arabidopsis thaliana* идентифицировано две изоформы фермента NR1 и NR2, кодируемые генами *NIA1* и *NIA2* [25]. Растения с оверэкспрессией *NIA1* и *NIA2* генов и накоплением соответствующих NR1 и NR2 белков характеризовались значительным повышением продукции NO [27].

Участие NR в процессе образования NO может быть связано не только с ее нитрит восстанавливающей активностью, но также со способностью передавать электроны на другой фермент амидоксимредуктазу (mARC – mitochondrial Amidoxime Reducing Component), непосредственно катализирующий реакцию восстановления NO_2^- до NO. Поэтому mARC растений предложено обозначать с использованием аббревиатуры NOFNiR (NO forming nitrite reductase), а саму двухкомпонентную NO-продуцирующую систему, образованную NR совместно с mARC в виде записи NR:NOFNiR [24, 28]. Потенциальной способностью восстанавливать нитрит до NO обладают три других фермента: сульфитоксидаза (SO), ксантиноксидоредуктаза (XOR) и альдегидоксидаза (AO), поэтому их наряду с NR и mARC предложено объединить в самостоятельный класс “неспецифических NO-образующих нитритредуктаз” [26]. Кроме того, восстановительная продукция NO может протекать в митохондриях с участием ЭТЦ митохондрий, а также в хлоропластах, пероксисомах и апопласте [4, 14, 22].

Поддержание гомеостаза NO в растениях осуществляется путем его депонирования в виде S-нитрозоглутатиона (GSNO) или в форме нитро-

ро-жирных кислот ($\text{NO}_2\text{-FA}$ – Nitro-fatty acids) [29, 30]. Свой вклад в регуляцию эндогенного уровня NO вносят фитоглобины, принадлежащие к семейству несимбиотических гемоглобинов, которые способны передавать атом кислорода на молекулу NO с образованием нитрита, выступая, таким образом, в качестве своеобразных “тушителей” NO [3, 31]. Существование такого разнообразия метаболических процессов, связанных с поддержанием гомеостаза NO в растениях объясняется их потребностью в поддержании базового уровня NO, выполняющего чрезвычайное множество регуляторных функций в ходе их нормального развития и адаптации к меняющимся условиям среды [4].

2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ NO В РАСТЕНИЯХ

Современные подходы к изучению NO. Исследование функциональной активности NO в растительных объектах проводится с помощью широкого арсенала методов, включая фармакологические, генетические подходы, качественные и количественные методы оценки эндогенного NO [12]. Фармакологические подходы связаны с экзогенной обработкой растений донорами NO. Для этого чаще всего используются нитропруссид натрия SNP (sodium nitroprusside), S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин SNAP (S-nitroso-N-acetylpenicillamine) и S-нитрозоглутатион GSNO (S-nitrosoglutathione). Дополнительным доказательством проявления конкретных эффектов доноров NO служат данные, полученные с параллельным применением скавенджеров и/или ингибиторов эндогенной продукции NO [16]. К скавенджерам NO относятся РТИО (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide) и его производное – сРТИО (2-4-carboxyphenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide). Ингибиторами продукции NO являются вольфрамат натрия (Na_2WO_4) и L-NAME (N^G -nitro-L-arginine methyl ester), угнетающими восстановительные и окислительные реакции образования NO, соответственно [14, 16, 20]. Применение доноров позволяет имитировать эффекты NO в растениях. Вместе с тем эндогенная продукция NO может модулироваться с помощью генетических технологий, основанных на получении мутантных и трансгенных линий растений с измененной продукцией NO. Важные сведения о механизмах продукции и функциональной активности NO были получены с использованием таких линий [15, 32].

У модельного растительного объекта *A. thaliana*, описаны *nia1* и *nia2* мутанты с дефектами по *NIA1* и *NIA2* генам, кодирующим две изоформы нитратредуктазы NR1 и NR2, соответственно, а также двойные мутанты *nia1nia2*. С их помощью было установлено участие NR в реакциях образования

NO, и его вовлечение в протекание процессов формирования корней, инициации цветения и в регуляцию устьичных движений [24, 25, 27]. Центральная роль NR в нитрит-зависимой продукции NO была подтверждена в экспериментах с трансгенными линиями *A. thaliana*, характеризующимися повышенной продукцией NO, обусловленной оверэкспрессией *NIA1* и *NIA2* генов [27]. Пониженными уровнями эндогенного NO характеризуются *noa1* мутанты *A. thaliana* по гену NOA1-белка (Nitric oxide-associated protein 1), который ранее рассматривался в качестве растительной NO-синтазы. В последующем было установлено, что данный белок NOS-ферментом не является, а принадлежит к числу ГТФ-аз и оказывает плейотропное влияние на растительный метаболизм, в том числе на окислительную продукцию NO. В связи с чем *noa1* мутанты широко применяются для исследования регуляторной роли NO в растениях [15, 33]. Тройные *nia1nia2noa1* мутанты *A. thaliana* с дефицитной NO-продукцией проявляют гиперчувствительность к недостатку влаги, связанную с нарушениями АБК-контролируемых устьичных движений, что подтверждает важную роль NO в регуляции засухоустойчивости растений [15, 34].

Для *A. thaliana* охарактеризованы *nox1* мутантные линии с повышенной продукцией NO с дефектами по гену CUE1 (chlorophyll a/b binding protein underexpressed 1), кодирующему хлоропластный фосфоенолпируват/фосфат транслокатор [35]. В этих мутантах выявлено повышенное содержание аргинина, чем, по-видимому, обуславливается сверхпродукция в них оксида азота, однако CUE1-зависимый механизм образования NO пока не понятен [32]. Тем не менее, *nox1* линии были успешно использованы в протеомных исследованиях, проведенных с помощью двумерного электрофореза с последующим MALDI-TOF MS-анализом при изучении профиля и идентификации NO-модулируемых белков [32, 35]. С помощью других мутантных линий *gsnor1-3* с повышенным содержанием NO, дефицитных по S-нитроглогутатион редуктазе (GSNOR), исследовалась роль процесса S-нитрозилирования в регуляции активности различных белков [17]. В частности, было установлено, что при S-нитрозилировании модулируется активность NADPH-оксидазы, задействованной в программируемой клеточной смерти [36], NPR1-белка, активирующего экспрессию генов защитных белков при инфицировании патогенами [17], и SnRK2-протеинкиназы, вовлекаемой в АБК-зависимое NO-опосредованное закрытие устьиц [37].

К настоящему времени получены трансгенные линии *A. thaliana* с конститутивной экспрессией гена нейронной NO-синтазы крыс (*nNOS*) [38], гена *OtNOS* NO-синтазы водорослей *Ostreococcus tauri* [39] и линии *O. sativa*, экспрессирующие *nNOS*

ген млекопитающих [40]. С использованием этих трансгенов проводились экспериментальные работы, по выявлению роли NO в развитии устойчивости растений к окислительному стрессу, засухе и засолению [15, 32, 38–40].

Среди количественных методов оценки эндогенного NO наиболее давним и хорошо известным способом является метод Грисса, основанный на образовании азоткрасителя с максимумом поглощения при 540 нм, которое оценивают спектрофотометрически [20, 41]. Большой массив данных получен с помощью электронно-парамагнитного резонанса (ЭПР), газовой хроматографии, прямой и непрямой хемилюминисценции [16]. Для детекции NO посредством конфокальной микроскопии используются флуоресцентные красители диаминофлуоресцины (DAFs) и их различные модификации, которые позволяют четко отслеживать изменения уровня эндогенного NO и выявлять места его образования в растительных тканях [12, 20].

2.1. УЧАСТИЕ NO В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

В настоящее время получен большой массив данных, указывающих на выполнение оксидом азота кардинально важных функций в ходе всего жизненного цикла растений на разных стадиях их развития в нормальных условиях произрастания. Доказано его участие в регуляции покоя и прорастания семян, клеточного цикла, вегетативного роста, дифференциации тканей, формирования архитектуры корней, развития симбиотических связей, цветения и созревания плодов [8, 18, 42].

Оксид азота характеризуется ярко выраженной способностью индуцировать прорастание семян, стимулируя выведение их из состояния покоя, которое было продемонстрировано на примере разных растительных объектов (табл. 1), в частности *A. thaliana*, ячменя *Hordeum vulgare* L. [43], салата *Lactuca sativa* [44], пшеницы *Triticum aestivum* L. [45]. На примере *L. sativa* было показано, что индуцирующий прорастание семян эффект доноров SNP или SNAP носил дозозависимый характер и нивелировался при использовании NO-скавенджера cPTIO [44]. Обработка семян нута *Cicer arietinum* донорами NO вызывала в них индукцию экспрессии генов гексокиназы 1, фосфофруктокиназы 6, пируват-киназы, α -амилазы, связанных с утилизацией сахаров, и активацию генов циклинов (*cyclin-D4-1-like* и *cyclin-B1-4-like*), задействованных в процессе регуляции клеточного цикла [46]. Тогда как в семенах пшеницы под влиянием экзогенного NO наблюдалось повышение ферментативной активности β -амилазы и уровня окисления NADPH, чем обуславливается усиление процессов гидролиза полисахаридов и пентозофосфатного пути катаболизма глюкозы,

соответственно, что в целом могло найти свое отражение в стимуляции прорастания семян [8, 47]. NO-индуцированное усиление активности β -амилазы и стимуляция прорастания наблюдалась также при обработке семян ячменя (*Hordeum vulgare* L.), сои (*Glycine max* L.), риса (*Oryza sativa* L.), кукурузы (*Zea mays* L.), резуховидки Таля (*Arabidopsis thaliana* L.), арбуза (*Citrullus vulgaris*), рапса (*Brassica napus* L.), индийской горчицы (*Brassica juncea* L.) [47].

Первые сведения о вовлечении NO в регуляцию вегетативного роста были получены почти три десятилетия назад, когда была выявлена одновременная эмиссия NO и этилена стареющими листьями гороха [48]. При этом в низких концентрациях оксид азота снижал ингибирующее действие дефицита влаги на рост листьев. Благоприятное действие NO на рост листьев объяснялось его способностью понижать уровень содержания в них этилена [8, 48]. Инкубирование кончиков корней 3-суточных проростков кукурузы в присутствии различных доноров NO, включая SNP, GSNO, нитрит натрия и нитроцистеин, стимулировало их элонгацию (табл. 1) [8, 49]. NO индуцировал деэтиолирование гипокотилия растений салата, подавляя при этом увеличение его линейных размеров [44]. Присутствие в среде прорастания SNP в концентрациях от 50 до 200 μ M способствовало увеличению линейных размеров 4-суточных проростков пшеницы и активации процессов клеточного деления, о чем свидетельствовали показатели митотического индекса апикальной меристемы корней [45]. В пользу выполнения важной роли NO в регуляции процессов вегетативного роста служат данные о дефектах в развитии корней, замедлении роста побегов и нарушении цветения у *Atnoa1* мутантных линий *A. thaliana*, характеризующихся сниженной продукцией NO [15, 33].

При исследовании участия NO в регуляции процессов цветения было выявлено его омолаживающее действие, которое проявляется в торможении перехода растительного онтогенеза от стадии вегетативного роста к репродуктивной фазе развития. В пользу омолаживающих эффектов оксида азота служат данные о более позднем зацветании сверх продуцирующих NO *nox1*-мутантных линий *A. thaliana* [35], а также данные об ускоренном переходе к процессу цветения NO-дефицитных *nos1*-мутантов *A. thaliana* [50]. При регуляции цветения NO играет роль ключевого компонента в процессах восприятия фотопериода, роста и взаимной ориентации микропиле и пыльцевых трубок [51]. Омолаживающий эффект NO при цветении может быть связан с его антиоксидантной активностью. Оказывая влияние на продукцию аскорбата, а также на активность ксантиноксидазы и супероксиддисмутазы в цветках, катализирующих реакции распада перекиси и нейтрализации супероксид аниона, NO может способствовать торможению процессов старения,

и увеличивать продолжительность периода цветения [8]. Такие эффекты NO могут представлять практический интерес для декоративного цветоводства [18].

NO вносит важный вклад в процессы роста и развития корневой системы, выполняя роль ключевого интермедиата в ауксин-зависимой регуляции формирования архитектуры корней [8, 18, 52, 53]. Обработка донором NO растений томата и огурца оказывала на них ауксин-подобный эффект, который проявлялся в увеличении степени разветвленности корневой системы, связанной с активацией роста боковых и придаточных корней на фоне замедления роста первичного корня (табл. 1) [52, 53]. С помощью ОТ-ПЦР анализа было выявлено, что под влиянием NO обработки в отрезках корней томата происходило усиление экспрессионной активности генов циклинов *CYCD3;1* и *CYCA2;1*, связанных с процессами клеточного деления, что может играть свою роль в NO-зависимых процессах корнеобразования [54]. На тесное взаимодействие NO с ауксинами при регуляции развития корневой системы указывают данные об ингибировании ИУК-зависимого образования придаточных корней в растениях огурца под влиянием скавенджера NO [8]. В растениях салата NO индуцировал дифференциацию специфических клеток эпидермиса – трихобластов с образованием корневых волосков. Увеличение уровня NO в корневых волосках салата при обработке 1-нафтил уксусной кислотой (НУК) подтверждает его участие в контролируемых ауксинами процессах корнеобразования [18, 55].

Учитывая тот факт, что формирование корневой системы осуществляется с участием NO, становится ясной его роль в регуляции процессов минерального питания. Имеются сведения о вовлечении NO в регуляцию гомеостаза макро- и микроэлементов, включая азот (N), фосфор (P), калий (K), магний (Mg), цинк (Zn), железо (Fe) и т.д. [18]. Экзогенная NO обработка растений кукурузы способствовала предотвращению индуцируемого дефицитом железа развития хлороза листьев (табл. 1), что может быть связано с активацией под его влиянием экспрессии генов хлоропластных белков: *rbcL* (Rubisco large subunit) и *psbA* (D1 protein) [56]. У растений томата при нехватке железа в клетках эпидермиса корней наблюдался быстрый синтез NO, который вовлекался в регуляцию экспрессии генов *LeFER*, *LeFRO1*, *LeIRT1*, задействованных в процессе поглощения железа [57, 58]. Аналогичный эффект NO на активность генов, связанных с усвоением железа, был выявлен в растениях огурца [58]. Экзогенная NO-обработка китайской капусты *Brassica chinensis* L. снижала ингибирующее действие дефицита железа на протекание реакций фотосинтеза [59]. Оксид азота способствовал ремодуляции структуры корней в условиях дефицита фосфора или калия,

усиливая их поступление в ткани растений [60]. На примере *Lupinus albus* было показано, что в условиях дефицита фосфора NO повышает уровень экссудации цитратов, способствуя солиubilизации фосфатов в почве и улучшению усвоения фосфора растением [61]. Имеются сведения о повышении уровня NO в клетках в условиях дефицита калия [18, 62]. В растениях *A. thaliana* NO, генерируемый в ответ на нехватку калия, вовлекался в регуляцию активности K⁺-каналов (AKT1), что может вносить свой вклад в поддержание гомеостаза калия в растительной клетке [63, 64]. Взаимосвязь NO с азотным питанием растений в настоящее время не вызывает сомнений, поскольку одним из основных источников его образования в растительных организмах являются нитрат/нитрит-зависимые пути, в которых центральную роль играет ключевой фермент азотного обмена – ассимиляторная NR [4]. NO находится в центре тонкой настройки гомеостаза азота, поскольку NO, продуцируемый в ходе реакций ассимиляции нитрата, может модулировать активность нитратных транспортеров, регулируя скорость поступления нитратов в корни растений [25]. Кроме того, NO играет множественные функции в регуляции растительно-микробных взаимодействий и установлении симбиотических связей [8, 18].

Одним из первых доказательств участия NO в симбиотических взаимодействиях относят данные электронно-парамагнитного резонанса (ЭПР) об образовании нитрозил-леггемоглобиновых (NO-Lbs) комплексов в клубеньках корней сои и нута [65]. В последующем было показано, что взаимодействие NO с леггемоглобинами клубеньков индуцировалось при обработке этих растений растворами нитритов [66]. К образованию NO-Lbs комплексов были способны только молодые активно метаболизирующие клубеньки, поскольку в состарившихся структурах такие комплексы не выявлялись [65–67]. В пользу участия NO в симбиотических взаимодействиях свидетельствуют данные о проявлении NOS-подобной активности в клубеньках люпина белого *Lupinus albus* [8, 68]. Получены сведения об инициации симбиоза у люцерны *Medicago truncatula* под влиянием растительной NOS-подобной и NR-активности, тогда как бактериальная NOS- и NR-активности, а также дыхательная цепь N₂-фиксирующих бактерий служили в качестве дополнительных источников NO в процессе развития симбиотических связей [69]. Установлено, что липополисахариды, синтезируемые на поверхности клеток *Mesorhizobium loti*, необходимые для растительно-ризобиального распознавания в корнях растений *Lotus japonicus*, являются NO-индуцируемыми факторами [70]. Регуляторная роль NO выявлена при разных типах симбиозов, например, при актиноризобиальном взаимодействии в корнях ольхи *Alnus* sp., симбиотическом взаимодействии в про-

цессе регидратации лишайника, а также микоризобиальном симбиозе у оливы [8, 71–73].

Таким образом, оксид азота играет важную роль в регуляции жизнедеятельности растений на разных стадиях их развития, а также при взаимодействии с симбионтами, подтверждая тот факт, что NO является обязательным участником реализации физиологических программ в нормальных условиях произрастания. Вместе с тем к настоящему времени получены многочисленные данные о вовлечении NO в формирование устойчивости растений к стрессовым факторам биотического и абиотического происхождения, что представляет большой практический интерес. Для обоснования применения NO на практике с целью повышения устойчивости и урожайности культурных растений необходимо понимание механизмов его защитного действия в растительных организмах. Поскольку среди абиотических стрессовых факторов наиболее широко распространены засуха, засоление, гипо- и гипертермия, вызывающие нарушение водного режима и обезвоживание растений, приводящих к существенному ограничению их продуктивности, особый интерес представляет рассмотрение защитного действия NO на растения при воздействии дефицита влаги [15, 16, 32].

2.2. ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ NO В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ВЛАГИ

Данные о повышении продукции NO в растительных организмах при воздействии водного стресса и активации в них защитных программ под влиянием экзогенной NO-обработки свидетельствуют в пользу его участия в развитии устойчивости к условиям дефицита влаги. В частности, индуцированное засухой усиление синтеза NO было продемонстрировано у растений пшеницы, петрушки *Petroselinum crispum* [74], ячменя [75], риса [40], в разных представителях бобовых [76], в модельном растительном объекте *Arabidopsis thaliana* [63] и многих других видах растений [14, 16, 17]. Защитное действие NO может быть связано с активацией осмопротекторной, а также антиоксидантной системы защиты растений, способствующей снижению уровня стресс-индуцированного образования активных форм кислорода (АФК), и реализуется на молекулярном уровне путем нитрования различных биополимеров, которое приводит к изменению их пространственной конфигурации и функциональной активности. Так, нитрование могут претерпевать белковые факторы транскрипции, обуславливающие NO-зависимые перестройки в экспрессионной активности множества NO-индуцируемых генов [4, 14, 16–18].

Проявление защитного действия NO на физиологическом уровне. На физиологическом уровне действие засухи, а также засоления, неблагоприятных температур, ионов тяжелых металлов ска-

зывается на состоянии водного режима растений [16, 17]. Его регуляция тесно связана с функционированием устьиц, выполняющих главную роль в процессе транспирации. Возникающие при стрессе сдвиги между уровнем транспирации и поступлением воды приводят к развитию водного дефицита, в результате которого происходит изменение таких показателей водного режима, как относительное содержание воды (ОСВ), оводненность, водоудерживающая и водопоглощающая способность тканей и органов растений [13]. При действии мягкой засухи устьичная проводимость и интенсивность транспирации могут возрастать. В условиях сильного стресса устьица быстро закрываются [13, 16]. Эта защитная реакция, направленная на ограничение потери воды в растениях, регулируется сложной сетью сигнальных путей, контролируемых гормональной системой, преимущественно АБК, и осуществляется с участием SnRK2-протеин киназы [16, 37].

Оксид азота выступает важным участником АБК-контролируемого каскада сигнальных реакций, приводящих к закрытию устьиц в условиях водного стресса (табл. 1). Об этом свидетельствуют данные, полученные с использованием NO-дефицитных *Atnoa1* или *nia Inia2* мутантов *A. thaliana*, не способных к АБК-индуцированному закрытию устьиц [10, 34]. В модельных опытах с использованием отрезков эпидермиса *Vicia faba* была выявлена повышенная продукция NO в замыкающих клетках устьиц при их закрытии в темноте, которое значительно снижалось при обработке скавенджером NO – сРТЮ [77]. Продукция NO в устьичных клетках при воздействии засухи, а также при обработке АБК была выявлена в растениях *Medicago truncatula* [76], *Phaseolus vulgaris* и *Vigna unguiculata* [78]. В растениях *Vitis vinifera* увеличение продукции NO коррелировало со снижением устьичной проводимости при засухе [79]. Экзогенная SNP-обработка подавляла открытие устьиц на отрезках эпидермиса *Salpichroa organifolia* и *Tradescantia* spp, которое нивелировалось при использовании скавенджера NO (сРТЮ) [80, 81]. Вовлекаясь в регуляцию устьичных движений, NO способен оказывать влияние на другие параметры водного режима растений. Так, SNP-предобработанные растения индийской горчицы *Brassica juncea* при ПЭГ-индуцированном обезвоживании характеризовались улучшением показателей эффективности использования воды, что способствовало поддержанию ростовых параметров и более высокому уровню накопления ими биомассы в отличие от растений, необработанных донором NO [82]. Опрыскивание листьев растений физалиса SNP в концентрациях от 25 до 100 мМ способствовало поддержанию в них относительного содержания воды (ОСВ) и фотосинтетической активности при воздействии полевой засухи, что отразилось на улучшении показателей ростовых

параметров [83]. Аналогичные результаты были получены на примере растений сахарного тростника *Saccharum* spp., в которых NO-индуцируемое поддержание ОСВ в корнях в условиях водного стресса сопровождалось повышением в них уровня фотосинтетической активности и накоплением сырой и сухой массы [84].

Проявление защитного действия NO на биохимическом уровне. На биохимическом уровне действие обезвоживания негативно отражается на протекании разных звеньев метаболизма, среди которых принципиальное значение имеет процесс фотосинтеза. Снижение скорости фотосинтеза может быть следствием уменьшения площади листа, недостатка CO₂ в листьях, вызванного закрытием устьиц и нарушением реакций его ассимиляции, подавления синтеза хлорофиллов, каротиноидов и добавочных пигментов, разобщения процессов транспорта электронов и фотофосфорилирования, изменений в структуре хлоропластов [16]. Экспериментально доказано участие NO в поддержании активности фотосинтеза и сохранении целостности фотосинтетического аппарата у подвергнутых водному стрессу растений (табл. 1) [14, 16]. В этой связи следует напомнить, что важным сайтом продукции NO в клетках являются хлоропласты [4, 85]. В фотосистеме II (ФСII) выявлены участки взаимодействия с NO, локализованные между первичными и вторичными акцепторами электронов хиноновой природы [14, 85]. Водный стресс индуцирует диссоциацию базовых белковых комплексов в ФСII, дестабилизируя их структуру и вызывая нарушения в протекании фотосинтетических реакций. Одним из механизмов NO-опосредованной защиты фотосинтетического аппарата является участие NO в стабилизации структуры функциональных белков ФСII при засухе [14]. Наряду с этим NO вовлекается в регуляцию активности генов, связанных с фотосинтезом, в частности *psbA* гена пшеницы, кодирующего D1 белок в ФСII. Показано, что поддержание процесса новообразования D1 белка способствовало репарации инактивированных реакционных центров ФСII и нормальному протеканию фотосинтетических реакций на стадии налива зерна в растениях пшеницы [14, 86].

Торможение фотосинтетических реакций также может обуславливаться ингибированием активности ключевых ферментов фотосинтеза вследствие АФК-индуцируемых конформационных нарушений их белковых молекул. Ограничение поступления CO₂ при засухе приводит к снижению уровня восстановления NAD(P)⁺ до NAD(P)H в хлоропластах, вызывая усиление потока электронов на молекулярный кислород (O₂), которое сопровождается повышением продукции супероксид-аниона (O₂^{•-}). Его быстрая дисмутация приводит к образованию множества других форм АФК, на-

пример, гидроксильного радикала (OH^\bullet), перекиси водорода (H_2O_2), синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$), обладающих чрезвычайно высокой реакционной способностью [87]. При избыточной продукции АФК начинают самопроизвольно и неспецифически взаимодействовать с различными молекулярными компонентами клетки, вызывая серьезные повреждения структуры и функций биомембран, изменения пространственной организации белков и нуклеиновых кислот [17, 87]. Негативным последствием конформационных изменений белковых молекул ферментов становится нарушение их функциональной активности, как это было выявлено для ферментов, катализирующих реакции цикла Кальвин-Бенсона, включая рибулозо-1.5-бисфосфаткарбоксилазу/оксигеназу RuBisCo (ribulose-1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) и фосфоррибулокиназу PRK (phosphoribulokinase) [82]. Кроме того, вызывая фрагментацию молекул ДНК, АФК индуцируют процессы мутагенеза и остановку клеточного цикла, что приводит к гибели клеток и всего организма в целом [16, 82]. Нейтрализация АФК осуществляется с участием антиоксидантной системы, включающей ферментативные и неферментативные компоненты [14, 16, 17, 87]. К антиоксидантным ферментам относятся, в частности, супероксиддисмутаза (SOD), каталаза (CAT), пероксидаза (POD), аскорбатпероксидаза (APX), полифенолоксидаза (PPO) и др. К числу антиоксидантов неферментативной природы принадлежат токоферолы, каротиноиды, аскорбиновая кислота, полиамины, некоторые белки, пептиды и аминокислоты, например глутатион и пролин [16, 17].

Роль NO в смягчении негативных эффектов АФК, продуцируемых при засухе, была продемонстрирована в многочисленных экспериментальных работах (табл. 1). Было выявлено снижение продукции свободных липидных радикалов (R^\bullet), супероксид аниона (O_2^-), перекиси водорода (H_2O_2) и других свободно-радикальных молекул под влиянием NO [14, 16, 17, 81]. Опрыскивание проростков сои *Glycine max* раствором SNP (100 μM) способствовало их защите от окислительных повреждений при воздействии обезвоживания (10% или 15% PEG), о чем свидетельствовали данные по снижению аккумуляции в проростках перекиси и МДА, активности липоксигеназы (LOX) и уровня экзосмоса электролитов [88]. Кроме того, NO-обработанные растения сои характеризовались повышением активности антиоксидантных ферментов SOD, CAT, POD, APX, PPO. В спектр NO-индуцируемых защитных реакций растений сои от окислительных повреждений при обезвоживании могут вовлекаться вторичные метаболиты, поскольку NO-обработка проростков *Glycine max*

способствовала дополнительному накоплению при стрессе полифенолов, флавоноидов и токоферолов, а также активации ферментов фенилаланин-аммиак-лиазы (PAL) и тирозин-аммиак-лиазы (TAL), вовлекаемых в биосинтез фенольных соединений и флавоноидов [88]. Имеются данные, что снижение АФК-индуцируемого уровня перекисного окисления липидов в проростках люцерны *Medicago sativa* L. может быть опосредовано через MAPK-зависимую экспрессию генов антиоксидантных ферментов [38]. Предполагается, что активность SOD, CAT, APX, дегидроаскорбатредуктазы может регулироваться через механизм S-нитрозилирования, что может играть свою роль в защите клеточных структур под влиянием NO [17, 38, 89]. Кроме того, NO может оказывать стабилизирующее действие на фосфолипиды мембран, обуславливая поддержание их текучести и эластичности в неблагоприятных условиях [18, 90].

Устойчивость растений к засухе во многом определяется их способностью к осморегуляции, связанной с активностью осмопротекторной системы, функционирующей при участии различных осмотически активных соединений, к числу которых принадлежит гетероциклическая иминокислота пролин [91]. Он характеризуется выполнением множественных защитных функций при обезвоживании растительной клетки. Хорошо известна роль пролина в поддержании функциональной активности белоксинтезирующего аппарата [14, 91]. К настоящему времени получены сведения об усилении индуцируемого засухой синтеза пролина под влиянием NO в разных культурах, например в растениях пшеницы и риса [14, 86, 89]. Конститутивная экспрессия кодирующего NO-синтазу крысы (nNOS) трансгена в растениях *Oryza sativa* сопровождалась повышением уровня накопления пролина, индуцированного при воздействии засухи или засоления [40]. Усиление синтеза пролина под влиянием NO в условиях дефицита влаги также выявлялось в других видах растений, как например, *Glycine max*, *Lycopersicon esculentum*, *Ginkgo biloba*, *Triticum aestivum* (табл. 1) [15, 88]. Вместе с тем нужно отметить, что в нормальных условиях произрастания SNP, как правило, не оказывает существенного влияния на содержание пролина. Существует мнение, что NO-индуцированное накопление пролина носит, вероятно, стрессо-специфический характер и зависит от степени стрессовой нагрузки. Для установления роли NO в регуляции синтеза пролина и проявления его защитных свойств в растениях в норме и при воздействии стрессовых факторов необходимо проведение дополнительных исследований [14, 15]. Другим важным осмопротектантом растений является глицин-бетаин (GB), который может быть участником NO-зависимых защитных реакций. В пользу этого предпо-

ложения свидетельствуют результаты опытов, в которых было показано, что опрыскивание листьев кукурузы донором NO стимулировало в них активацию бетаин-альдегид дегидрогеназы и накопление самого GB [15, 92]. Аналогичные данные были получены на примере растений сои, подвергнутых водному стрессу, в которых дополнительная аккумуляция GB наблюдалась вследствие SNP-обработки (табл. 1) [88].

3. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯТОРНОГО И ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ NO

Процессы NO-зависимого сигналинга реализуются в растениях на геномном, протеомном и пост-протеомном уровнях в ходе множественных реакций нитрования, осуществляемых с участием различных нитрирующих агентов (АФА, GSNO, пероксинитрит, нитрожирные кислоты) [14, 16, 20]. В пользу участия NO в регуляции растительного метаболизма на геномном уровне свидетельствуют данные, полученные с использованием трансгенных линий *A. thaliana*, экспрессирующих нейронную NO-синтазу млекопитающих (nNOS), которые характеризовались повышением транскрипционной активности 184 генов и ее угнетением более чем у 200 генов [38]. В ходе проведения транскриптомного анализа в растениях люцерны *Medicago sativa* L., подвергнутых действию обезвоживания (10% PEG), обработанных или необработанных донором NO (SNP 150 μ M), была выявлена дифференциальная экспрессия более 2000 генов, среди которых свыше 800 были отнесены к разряду NO-модулируемых [16, 93].

NO способствовал дополнительному повышению активности генов факторов транскрипции, принадлежащих к семействам MYB, bHLH, bZIP, HSF и HB, выполняющих функции регуляторов стрессового ответа у растений [15, 16, 93]. В ответ на NO-обработку наблюдалось усиление транскрипционной активности генов, вовлекаемых в сигналинг фитогормонов (АБК, этилен, ауксины). Так, в подвергнутых обезвоживанию проростках под влиянием NO происходило повышение экспрессии генов рецепторов АБК семейства *PYL* (pyrabactin resistance-like) и гена SnRK2-протеинкиназы, функционирующей при в АБК-контролируемом закрытии устьиц [37, 93]. SNP-обработка снижала экспрессионную активность генов этиленового сигналинга, например генов *ETR1* (ethylene receptor 1), *ERF1* (ethylene response factor1), указывая на то, что NO может выступать антагонистом этилена при воздействии водного стресса [93]. NO нивелировал ингибирующее действие засухи на экспрессию чувствительных к ауксину генов семейства *SAUR* (small-auxin-up-RNAs), с чем может быть связано положительное влияние NO на ростовые процессы [93]. SAUR-

белки функционируют в качестве позитивных эффекторов при ауксин-зависимом растяжении клеток и стимуляции ростовых процессов [16].

Под влиянием NO происходило повышение активности генов антиоксидантных ферментов *GST* (glutathione S-transferase), *POD* (peroxidase), *CAT* (catalase), *SOD* (superoxide dismutase) и *GPX* (glutathione peroxidase). Наряду с этим NO снижал экспрессионную активность гена *RBOH*-оксидазы, являющейся компонентом АФК-генерирующей системы. NO-индуцируемое усиление экспрессии генов антиоксидантных ферментов и снижение активности *RBOH*-гена сопровождалось снижением степени окислительных повреждений в проростках люцерны при воздействии обезвоживания (табл. 1) [93]. Интересно, что NO-обработка проростков *M. sativa* снижала в них уровень стресс-индуцируемой экспрессии генов биосинтеза вторичных метаболитов (флавоноидов, терпеноидов, фенолпропаноидов), обладающих антиоксидантными свойствами. По мнению авторов это могло быть связано с уменьшением уровня окислительных повреждений, обусловленным усилением экспрессионной активности генов антиоксидантных ферментов под влиянием NO, при котором дополнительного участия вторичных метаболитов для антиоксидантной защиты проростков люцерны уже не требуется [93]. Вместе с тем данные о дополнительном NO-индуцированном накоплении фенолов, флавоноидов и токоферола в проростках *Glycine max* при воздействии обезвоживания, а также сведения о повышении в них активности TAL- и PAL-ферментов, указывают на высокую вероятность участия вторичных метаболитов в NO-контролируемых защитных реакциях растений сои к дефициту влаги [88]. В трансгенных растениях риса *O. sativa* с конститутивной экспрессией NOS-гена млекопитающих наблюдалось усиление экспрессионной активности генов каталазы (*OsCATA* и *OsCATB*) и пероксидазы (*OsPOXI*) [40]. SNP-обработка люцерны оказывала позитивное влияние на экспрессионную активность генов, кодирующих компоненты фотосистем (ФС), например *Psa*- и *Psb*-генов реакционных центров, а также *Lcha*- и *Lchb*-генов светособирающих комплексов ФС I и ФС II, соответственно, что могло найти свое отражение в поддержании уровня хлорофилла, фотосинтетической активности и в целом улучшении ростовых параметров растений, подвергнутых водному стрессу (табл. 1) [16, 93].

В литературе имеются сведения об усилении экспрессии генов, вовлекаемых в продукцию NO под влиянием дефицита влаги. Например, в листьях растений *Citrus aurantium* при воздействии засухи повышалась транскрипционная активность генов нитратредуктазы (NR), нитритредуктазы (NiR) и полиаминооксидазы (POA) [94]. На примере растений индийской горчицы *Brassica jun-*

cea, пекинской капусты *Brassica rapa*, риса *Oryza sativa*, было показано участие NO в стабилизации структуры ДНК при воздействии водного стресса, что может способствовать поддержанию активности генетического аппарата в условиях засухи [16, 82].

Реализация сигнальных функций NO на протеомном уровне связана с NO-индуцированными посттрансляционными модификациями белков (ПТМ), которые могут осуществляться путем их нитрозилирования с участием пероксинитрита или S-нитрозоглутатиона (GSNO) [20, 95]. Среди ПТМ наиболее хорошо изученными являются S-нитрозилирование и нитрование по тирозину [14, 16, 20, 29]. NO может регулировать функционирование металл-содержащих белков в ходе реакции металл-нитрозилирования, которая заключается в присоединении нитро (NO₂)-группы к иону металла в составе различных белков, в том числе ферментов, модулируя тем самым их активность [25, 95]. Нитрование по тирозину происходит при взаимодействии нитро-группы с ароматическим кольцом тирозина, приводящим к образованию 3-нитротирозина (NO₂-Tyr) [20, 29]. Ранее считалось, что такая модификация является необратимой и обуславливает деградацию белков при старении или гибели клеток. Поэтому продукцию NO₂-Tyr, как правило, рассматривали в качестве маркера нитро-окислительного стресса [14, 20]. Однако, к настоящему времени полученные сведения, что нитрование по тирозину может носить обратимый характер и в этом случае денитрификация белков протекает неферментативно или с участием ферментов [29]. Нитрование белков по тирозину является важным условием в процессе созревания плодов, как это было наглядно продемонстрировано у растений перца [96].

S-нитрозилирование происходит при обратимом взаимодействии NO с атомом серы в составе цистеиновых остатков белков с образованием S-нитрозотиолов (SNOs). В растениях идентифицировано множество белков, претерпевающих S-нитрозилирование. Например, S-нитрозилирование SnRK2-протеинкиназы способствует снижению ингибирующего эффекта АБК при прорастании семян и развитии семядолей [37]. Повышение уровня S-нитрозилирования белков выявлено на стадии прорастания во многих видах растений, в частности у бобов и *A. thaliana* [19, 37]. Нитрозилирование/денитрозилирование аскорбат пероксидазы (APX1) играет важную роль в NO-зависимой регуляции роста и формирования архитектуры корней [97]. Кроме того, уровень S-нитрозилирования APX при воздействии засухи коррелирует со снижением уровня образования H₂O₂ в растительных клетках [14]. Показано, что при S-нитрозилировании происходит активация регуляторного белка, вовлекаемого в регуля-

цию функционирования мембранных K⁺-каналов в замыкающих клетках устьиц, что способствует закрытию устьиц при засухе. Эти данные указывают на то, что процесс S-нитрозилирования играет свою роль при регуляции устьичных движений, вносящей важный вклад в поддержание водного режима растений в условиях обезвоживания [14, 29].

Как было сказано выше, NO-индуцированные посттрансляционные модификации белков осуществляются путем нитрозилирования с участием пероксинитрита или в ходе реакций транс-нитрозилирования [20, 95]. При этом одним из главных источников NO в процессе транс-нитрозилирования выступает S-нитрозоглутатион (GSNO), принадлежащий к разряду S-нитрозотиолов, который образуется при взаимодействии NO с глутатионом. Еще одной группой соединений, участвующих в реализации NO-сигналинга являются нитро-жирные кислоты (NO₂-FA — Nitro-fatty acids), образуемые при взаимодействии ненасыщенных жирных кислот с оксидом азота или его активными производными [29, 30]. Методом конфокальной микроскопии с использованием DAF-FM флуоресцентных проб было выявлено повышение уровня эндогенного NO в корнях и листьях 30-суточных растений и в суспензионной культуре клеток *A. thaliana*, инкубированных в присутствии нитро-лениловой кислоты NO₂-Ln [98]. Наличие NO₂-FA выявлено также в растениях гороха (*Pisum sativum*) и риса (*Oryza sativa*) [99]. В экспериментах *in vitro* сочетанием методов хемилюминисценции, ЭПР и спектрофотометрии были получены данные, указывающие на высвобождение NO из NO₂-Ln, что может указывать на ее функционирование в качестве донора этой сигнальной молекулы [98]. На основании выявленных различий в содержании NO₂-Ln у *A. thaliana* на разных этапах развития, включая эмбриогенез, вегетативный рост и репродуктивную фазу, был сделан вывод о функционировании нитро-жирных кислот в NO-опосредованной регуляции растительного онтогенеза [99]. Кроме того, нитро-жирные кислоты могут вовлекаться в ответные реакции растений на неблагоприятные внешние факторы, на что указывают данные о повышении уровня NO₂-Ln в растениях *A. thaliana* при воздействии механического стресса, засоления, неблагоприятных температур, ионов тяжелых металлов [98, 99].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

История изучения оксида азота в растительных организмах насчитывает более четырех десятилетий и берет свое начало с работ, в которых было установлено образование нитрозил-гемоглобиновых комплексов в клубеньках бобовых культур [65], а также их способность к эмиссии

газообразного NO [1]. Открытие в 1990-х г.г. сигнальной роли NO в регуляции сердечно-сосудистой системы человека стало настоящим прорывом, и с того времени в современной биологической науке наступила новая эра – эра оксида азота. В конце 1990-х г.г. началось целенаправленное исследование активности NO в жизни растений. В тот же период было создано научное сообщество “Nitric Oxide Biology and Chemistry”, которое совместно с одним из крупнейших мировых издательств “Elsevier” в 1997 г. учредило выход журнала “Nitric Oxide”, периодически выпускаемый и в настоящее время. Результаты исследований по изучению свойств, метаболизма и функционирования NO в биологических объектах широко публикуются во всем мире и в других научных изданиях. Такой большой интерес к этой маленькой молекуле не является случайным, поскольку NO способен управлять жизнедеятельностью всех организмов, оказывая влияние на многочисленные обменные процессы, как на внутриклеточном, так и межклеточном уровнях. В растениях он необходим для регулирования метаболической активности в ходе всего онтогенеза, включая прорастание, вегетативный рост, корнеобразование, цветение и созревание. Оказывая влияние на процессы роста и формирования корней, оксид азота вносит весомый вклад в установление симбиотических связей и улучшение минерального питания растений. Кроме того, ему принадлежит важная роль в развитии устойчивости растений к широкому спектру неблагоприятных воздействий биотического и абиотического происхождения, среди которых наиболее распространенным является водный стресс, существенно ограничивающим рост и продуктивность культурных растений. В условиях дефицита влаги NO вовлекается в регуляцию устьичных движений, активацию осмопротекторной и антиоксидантной систем, способствуя тем самым нормализации водного режима растений, поддержанию в них фотосинтетической активности и снижению уровня окислительных повреждений, что в целом отражается в повышении жизнеспособности и продуктивности растительных культур. Именно по этой причине широко обсуждаются разные методы применения NO в растениеводстве, например, его использование в виде газа, доноров NO или NO-высвобождающих наночастиц. Вместе с тем успешное практическое применение оксида азота предполагает детальное изучение молекулярных механизмов его физиологического действия. Их глубокое понимание будет способствовать разработке эффективных стратегий применения NO на практике с целью повышения устойчивости культурных растений и максимальной реализации их потенциальной продуктивности.

Работа выполнена за счет средств гранта Российского научного фонда № 22-24-00196.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Klepper L.* Nitric oxide (NO) and nitrogen dioxide (NO₂) emissions from herbicide-treated soybean plants // *Atmos. Environ.* 1979. V. 13. P. 537. [https://doi.org/10.1016/0004-6981\(79\)90148-3](https://doi.org/10.1016/0004-6981(79)90148-3)
2. *Koshland D.E., Jr.* The molecule of the year // *Science.* 1992. V. 258. P. 1861. <https://doi.org/10.1126/science.1470903>
3. *Глянько А.К., Митанова Н.Б., Степанов А.В.* Физиологическая роль оксида азота (NO) у растительных организмов // *Журнал стресс-физиологии и биохимии.* 2009. Т. 5. С. 33.
4. *Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Лубянова А.Р., Ласточкина О.В., Шакирова Ф.М.* Современные представления о механизмах образования оксида азота в растениях // *Физиология растений.* 2022. Т. 69. С. 339. <https://doi.org/10.31857/S0015330322030034>
5. *Красиленко Ю.А., Емец А.И., Блюм Я.Б.* Функциональная роль оксида азота у растений // *Физиология растений.* 2010. Т. 57. С. 483.
6. *Begara-Morales J.C., Chaki M., Valderrama R., Sánchez-Calvo B., Mata-Pérez C., Padilla M.N., Corpas F.J., Barroso J.B.* Nitric oxide buffering and conditional nitric oxide release in stress response // *J. Exp. Bot.* 2018. V. 69. P. 3425. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery072>
7. *Verma N., Tiwari S., Singh V.P., Prasad S.M.* Nitric oxide in plants: an ancient molecule with new tasks // *Plant Growth Regul.* 2020. V. 90. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s10725-019-00543-w>
8. *Kolbert Z., Barroso J.B., Brouquisse R., Corpas F.J., Gupta K.J., Lindermayr C., Loake G.J., Palma J.M., Petrivalský M., Wendehenne D., Hancock J.T.* A forty year journey: The generation and roles of NO in plants // *Nitric Oxide.* 2019. V. 93. P. 53. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.09.006>
9. *Hancock J.T., Neill S.J.* Nitric Oxide: Its generation and interactions with other reactive signaling compounds // *Plants.* 2019. V. 8. P. 41. <https://doi.org/10.3390/plants8020041>
10. *León J., Costa-Broseta Á.* Present knowledge and controversies, deficiencies, and misconceptions on nitric oxide synthesis, sensing, and signaling in plants // *Plant Cell Environ.* 2020. V. 43. P. 1. <https://doi.org/10.1111/pce.13617>
11. *Corpas F.J., Leterrier M., Valderrama R., Airaki M., Chaki M., Palma J.M., Barroso J.B.* Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress // *Plant Sci.* 2011. V. 181. P. 604. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.04.005>
12. *Gupta K.J., Hancock J.T., Petrivalsky M., Kolbert Z., Lindermayr C., Durner J., Barroso J.B., Palma J.M., Brouquisse R., Wendehenne D., Corpas F.J., Loake G.J.* Recommendations on terminology and experimental best practice associated with plant nitric oxide research // *New*

- Phytol. 2020. V. 225. P. 1828.
<https://doi.org/10.1111/nph.16157>
13. Кудоярова Г.П., Холодова В.П., Веселов Д.С. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды // Физиология растений. 2013. Т. 60. С. 155.
<https://doi.org/10.7868/S0015330313020140>
 14. Santisree P., Bhatnagar-Mathur P., Sharma K.K. NO to drought-multifunctional role of nitric oxide in plant drought: do we have all the answers? // Plant Sci. 2015. V. 239. P. 44.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.07.012>
 15. Santisree P., Sanivarapu H., Gundavarapu S., Sharma K.K., Bhatnagar-Mathur P. Nitric oxide as a signal in inducing secondary metabolites during plant stress // Co-Evolution of Secondary Metabolites. Reference Series in Phytochemistry / Eds. J.M. Merillon, K.G. Ramawat. Springer. 2019. P. 1.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-76887-8_61-1
 16. Lau S.E., Hamdan M.F., Pua T.L., Saidi N.B., Tan B.C. Plant nitric oxide signaling under drought stress // Plants. 2021. V. 10. P. 360.
<https://doi.org/10.3390/plants10020360>
 17. Nabi R.B.S., Tayade R., Hussain A., Kulkarni K.P., Imran Q.M., Mun B.G., Yun B.W. Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress // Environ. Exp. Bot. 2019. V. 161. P. 120.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.003>
 18. Sun C., Zhang Y., Liu L., Liu X., Li B., Jin C., Lin X. Molecular functions of nitric oxide and its potential applications in horticultural crops // Horticulture Res. 2021. V. 8. P. 71.
<https://doi.org/10.1038/s41438-021-00500-7>
 19. Seabra A.B., Silveira N.M., Ribeiro R.V., Pieretti J.C., Barroso J.B., Corpas F.J., Palma J.M., Hancock J.T., Petřivalský M., Gupta K.J., Wendehenne D., Loake G.J., Durner J., Lindermayr C., Molnár Á. et al. Nitric oxide-releasing nanomaterials: from basic research to potential biotechnological applications in agriculture // New Phytol. 2022. V. 234. P. 1119.
<https://doi.org/10.1111/nph.18073>
 20. Мамаева А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Мошков И.Е., Мур Л.А.Д., Холл М.А., Ноиикова Г.В. Регуляторная роль оксида азота у растений // Физиология растений. 2015. Т. 62. С. 459.
<https://doi.org/10.7868/S0015330315040132>
 21. Hancock J.T. Nitric oxide signaling in plants // Plants. 2020. V. 9. P. 1550.
<https://doi.org/10.3390/plants9111550>
 22. Gupta K.J., Fernie A.R., Kaiser W.M., van Dongen J.T. On the origins of nitric oxide // Trends Plant Sci. 2011. V. 16. P. 160.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.11.007>
 23. Jeandroz S., Wipf D., Stuehr D.J., Lamattina L., Melkonian M., Tian Z., Zhu Y., Carpenter E.J., Wong G.K., Wendehenne D. Occurrence, structure, and evolution of nitric oxide synthase-like proteins in the plant kingdom // Sci. Signaling. 2016. 9:re2.
<https://doi.org/10.1126/scisignal.aad4403>
 24. Tejada-Jimenez M., Llamas A., Galván A., Fernández E. Role of nitrate reductase in NO production in photosynthetic eukaryotes // Plants. 2019. V. 8. P. 56.
<https://doi.org/10.3390/plants8030056>
 25. Mohn M.A., Thaqi B., Fischer-Schrader K. Isoform-specific NO synthesis by *Arabidopsis thaliana* nitrate reductase // Plants. 2019. V. 8. P. 67.
<https://doi.org/10.3390/plants8030067>
 26. Maia L.B., Moura J.J.G. Nitrite reduction by molybdoenzymes: a new class of nitric oxide-forming nitrite reductases // J. Biol. Inorg. Chem. 2015. V. 20. P. 403.
<https://doi.org/10.1007/s00775-014-1234-2>
 27. Costa-Broseta Á., Castillo M.C., León J. Post-translational modifications of nitrate reductases autoregulates nitric oxide biosynthesis in *Arabidopsis* // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. P. 549.
<https://doi.org/10.3390/ijms22020549>
 28. Chamizo-Ampudia A., Sanz-Luque E., Llamas Á., Ocaña-Calahorra F., Mariscal V., Carreras A., Barroso J.B., Galván A., Fernández E. A dual system formed by the ARC and NR molybdoenzymes mediates nitrite-dependent NO production in *Chlamydomonas* // Plant Cell Environ. 2016. V. 39. P. 2097.
<https://doi.org/10.1111/pce.12739>
 29. Begara-Morales J.C., Chaki M., Valderrama R., Mata-Pérez C., Padilla-Serrano M.N., Barroso J.B. Nitric oxide under abiotic stress conditions // Plant Life Under Changing Environment / Eds. D.K. Tripathi et al. Elsevier. 2020. P. 735.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00032-1>
 30. Mata-Pérez C., Sánchez-Calvo B., Begara-Morales J.C., Carreras A., Padilla M.N., Melguizo M., Valderrama R., Corpas F.J., Barroso J.B. Nitro-linolenic acid is a nitric oxide donor // Nitric Oxide. 2016a. V. 57. P. 57.
<https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.05.003>
 31. Chamizo-Ampudia A., Sanz-Luque E., Llamas A., Galvan A., Fernandez E. Nitrate reductase regulates plant nitric oxide homeostasis // Trends Plant Sci. 2017. V. 22. P. 163.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.001>
 32. Foresi N., Correa-Aragunde N., Lamattina L. Synthesis, actions, and perspectives of nitric oxide in photosynthetic organisms // Nitric Oxide / Eds. L.J. Ignarro, B.A. Freeman. Elsevier. 2017. P. 125.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804273-1.00010-7>
 33. Guo F.Q., Okamoto M., Crawford N.M. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling // Sci. 2003. V. 302. P. 100.
<https://doi.org/10.1126/science.108677>
 34. Lozano-Juste J., León J. Enhanced abscisic acid-mediated responses in *nia1nia2noa1-2* triple mutant impaired in NIA/NR- and AtNOA1-dependent nitric oxide biosynthesis in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2010. V. 152. P. 891.
<https://doi.org/10.1104/pp.109.148023>
 35. Hu W.-J., Chen J., Liu T.-W., Liu X., Chen J., Wu F.-H., Wang W.-H., He J.-X., Xiao Q., Zheng H.-L. Comparative proteomic analysis on wild type and nitric oxide-overproducing mutant (*nox1*) of *Arabidopsis thaliana* // Nitric Oxide. 2014. V. 36. P. 19.
<https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.10.008>
 36. Yun B.-W., Feechan A., Yin M., Saidi N.B.B., Le Bihan T., Yu M., Moore J.W., Kang J.-G., Kwon E., Spoel S.H., Pallas J.A., Loake G.J. S-nitrosylation of NADPH-ox-

- idase regulates cell death in plant immunity // *Nature*. 2011. V. 478. P. 264.
<https://doi.org/10.1038/nature10427>
37. Wang P., Zhu J.K., Lang Z. Nitric oxide suppresses the inhibitory effect of abscisic acid on seed germination by S-nitrosylation of SnRK2 proteins // *Plant Signal. Behav.* 2015. V. 10. P. 2.
<https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1031939>
 38. Shi H., Ye T., Zhu J.K., Chan Z. Constitutive production of nitric oxide leads to enhanced drought stress resistance and extensive transcriptional reprogramming in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot.* 2014. V. 65. P. 4119.
<https://doi.org/10.1093/jxb/eru184>
 39. Foresi N., Mayta M.L., Lodeyro A.F., Scuffi D., Correa-Aragunde N., García-Mata C., Casalougué C., Carrillo N., Lamattina L. Expression of the tetrahydrofolate-dependent nitric oxide synthase from the green alga *Ostreococcus tauri* increases tolerance to abiotic stresses and influences stomatal development in *Arabidopsis* // *Plant J.* 2015. V. 82. P. 806.
<https://doi.org/10.1111/tbj.12852>
 40. Cai W., Liu W., Wang W.S., Fu Z.W., Han T.T., Lu Y.T. Overexpression of rat neurons nitric oxide synthase in rice enhances drought and salt tolerance // *PLoS One*. 2015. 10(6):e0131599.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131599>
 41. Mur L.A.J., Mandon J., Persijn S., Cristescu S.M., Moskhov I.E., Novikova G.V., Hall M.A., Harren F.J.M., Hebelstrup K., Gupta K.J. Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge // *AoB Plants*. 2013. 5:pls052.
<https://doi.org/10.1093/aobpla/pls052>
 42. Del Castillo F., Nejamkin A., Cassia R., Correa-Aragunde N., Fernández B., Foresi N., Lombardo C., Ramirez L., Lamattina L. The era of nitric oxide in plant biology: Twenty years tying up loose ends // *Nitric Oxide*. 2019. V. 85. P. 17.
<https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.01.013>
 43. Bethke P.C., Badger M.R., Jones R.L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues // *Plant Cell*. 2004. V. 16. P. 332.
<https://doi.org/10.1105/tpc.017822>
 44. Beligni M.V., Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants // *Planta*. 2000. V. 210. P. 215.
<https://doi.org/10.1007/PL00008128>
 45. Масленникова Д.Р., Аллагулова Ч.Р., Федорова К.А., Плотников А.А., Авальбаев А.М., Шакирова Ф.М. Вклад цитокининов в реализацию рост-стимулирующего и протекторного действия оксида азота на растения пшеницы // *Физиология растений*. 2017. Т. 64. С. 355.
<https://doi.org/10.7868/S0015330317040091>
 46. Pandey S., Kumari A., Shree M., Kumar V., Singh P., Bharadwaj C., Loake G.J., Parida S.K., Masakapalli S.K., Gupta K.J. Nitric oxide accelerates germination via the regulation of respiration in chickpea // *J. Exp. Bot.* 2019. V. 70. P. 4539.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erz185>
 47. Zhang H., Shen W.B., Zhang W., Xu L.L. A rapid response of beta-amylase to nitric oxide but not gibberellin in wheat seeds during the early stage of germination // *Planta*. 2005. V. 220. P. 708.
<https://doi.org/10.1007/s00425-004-1390-7>
 48. Leshem Y.Y., Haramaty E. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. foliage // *J. Plant Physiol.* 1996. V. 148. P. 258.
[https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(96\)80251-3](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80251-3)
 49. Gouvea C.M.C.P., Souza J.F., Magalhaes A.C.N., Martins I.S. NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments // *Plant Growth Regul.* 1997. V. 21. P. 183.
 50. He Y., Tang R.H., Hao Y., Stevens R.D., Cook C.W., Ahn S.M., Jing L., Yang Z., Chen L., Guo F.Q., Fiorani F., Jackson R.B., Crawford N.M., Pei Z.M. Nitric oxide represses the *Arabidopsis* floral transition // *Sci.* 2004. V. 305. P. 1968.
<https://doi.org/10.1126/science.1098837>
 51. Prado A.M., Porterfield D.M., Feijó J.A. Nitric oxide is involved in growth regulation and re-orientation of pollen tubes // *Development*. 2004. V. 131. P. 2707.
<https://doi.org/10.1242/dev.01153>
 52. Pagnussat G.C., Lanteri M.L., Lombardo M.C., Lamattina L. Nitric oxide mediates the indole acetic acid induction activation of a mitogen-activated protein kinase cascade involved in adventitious root development // *Plant Physiol.* 2004. V. 135. P. 279.
<https://doi.org/10.1104/pp.103.038554>
 53. Correa-Aragunde N., Graziano M., Lamattina L. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato // *Planta*. 2004. V. 218. P. 900.
<https://doi.org/10.1007/s00425-003-1172-7>
 54. Correa-Aragunde N., Graziano M., Chevalier C., Lamattina L. Nitric oxide modulates the expression of cell cycle regulatory genes during lateral root formation in tomato // *J. Exp. Bot.* 2006. V. 57. P. 581.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erj045>
 55. Lombardo M.C., Graziano M., Polacco J.C., Lamattina L. Nitric oxide functions as a positive regulator of root hair development // *Plant Signal. Behav.* 2006. V. 1. P. 28.
<https://doi.org/10.4161/psb.1.1.2398>
 56. Graziano M., Beligni M.V., Lamattina L. Nitric oxide improves internal iron availability in plants // *Plant Physiol.* 2002. V. 130. P. 1852.
<https://doi.org/10.1104/pp.009076>
 57. Jin C.W., Du S.T., Shamsi I.H., Luo B.F., Lin X.Y. NO synthase-generated NO acts downstream of auxin in regulating Fe-deficiency-induced root branching that enhances Fe-deficiency tolerance in tomato plants // *J. Exp. Bot.* 2011. V. 62. P. 3875.
<https://doi.org/10.1093/jxb/err078>
 58. García M.J., Suárez V., Romera F.J., Alcántara E., Pérez-Vicente R. A new model involving ethylene, nitric oxide and Fe to explain the regulation of Fe-acquisition genes in Strategy I plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2011. V. 49. P. 537.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.01.019>
 59. Ding F., Wang X.-F., Shi Q.-H., Wang M.-L., Yang F.-J., Gao Q.-H. Exogenous nitric oxide alleviated the inhibition of photosynthesis and antioxidant enzyme activities in iron-deficient Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.) // *Agric. Sci. China*. 2008. V. 7. P. 168.
[https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60036-X](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60036-X)

60. Buet A., Moriconi J.I., Santa-María G.E., Simontacchi M. An exogenous source of nitric oxide modulates zinc nutritional status in wheat plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2014. V. 83. P. 337.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.08.020>
61. Wang B.L., Tang X.Y., Cheng L.Y., Zhang A.Z., Zhang W.H., Zhang F.S., Liu J.Q., Cao Y., Allan D.L., Vance C.P., Shen J.B. Nitric oxide is involved in phosphorus deficiency-induced cluster-root development and citrate exudation in white lupin // *New Phytol.* 2010. V. 187. P. 1112.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03323.x>
62. Chen Z.H., Wang Y., Wang J.W., Babla M., Zhao C., García-Mata C., Sani E., Differ C., Mak M., Hills A., Amtmann A., Blatt M.R. Nitrate reductase mutation alters potassium nutrition as well as nitric oxide-mediated control of guard cell ion channels in *Arabidopsis* // *New Phytol.* 2016. V. 209. P. 1456.
<https://doi.org/10.1111/nph.13714>
63. Xia J., Kong D., Xue S., Tian W., Li N., Bao F., Hu Y., Du J., Wang Y., Pan X., Wang L., Zhang X., Niu G., Feng X., Li L., et al. Nitric oxide negatively regulates AKT1-mediated potassium uptake through modulating vitamin B6 homeostasis in *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. P. 16196.
<https://doi.org/10.1073/pnas.141747311>
64. Gupta K.J., Kaladhar V.Ch., Fitzpatrick T.B., Fernie A.R., Møller I.M., Loake G.J. Nitric oxide regulation of plant metabolism // *Mol. Plant.* 2022. V. 15. P. 228.
<https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.12.012>
65. Maskall C.S., Gibson J.F., Dart P.J. Electron-paramagnetic-resonance studies of leghaemoglobins from soybean and cowpea root nodules. Identification of nitrosyl-leghaemoglobin in crude leghaemoglobin preparations // *Biochem. J.* 1977. V. 167. P. 435.
<https://doi.org/10.1042/bj1670435>
66. Kanayama Y., Yamamoto Y. Formation of nitrosylleghaemoglobin in nodules of nitrate-treated cowpea and pea plants // *Plant Cell Physiol.* 1991. V. 32. P. 19.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078048>
67. Mathieu C., Moreau S., Frendo P., Puppo A., Davies M.J. Direct detection of radicals in intact soybean nodules: presence of nitric oxide leghaemoglobin complexes // *Free Rad. Biol. Med.* 1998. V. 24. P. 1242.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(97\)00440-1](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(97)00440-1)
68. Cueto M., Hernández-Perera O., Martín R., Bentura M.L., Rodrigo J., Lamas S., Golvano M.P. Presence of nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lupinus albus* // *FEBS Lett.* 1996. V. 398. P. 159.
[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(96\)01232-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(96)01232-X)
69. Horchani F., Prévot M.A., Bosdari E., Evangelisti E., Meilhoc C., Bruand P., Raymond E., Boncompagni A.-S.S., Puppo A., Brouquisse R. Both plant and bacterial nitrate reductases contribute to nitric oxide production in *Medicago truncatula* nitrogen-fixing nodules // *Plant Physiol.* 2011. V. 155. P. 1023.
<https://doi.org/10.1104/pp.110.166140>
70. Murakami E., Nagata M., Shimoda Y., Kucho K., Higashi S., Abe M., Hashimoto M., Uchiumi T. Nitric oxide production induced in roots of *Lotus japonicus* by lipopolysaccharide from *Mesorhizobium loti* // *Plant Cell Physiol.* 2011. V. 52. P. 610.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcr020>
71. Sasakura F., Uchiumi T., Shimoda Y., Suzuki A., Takenouchi K., Higashi S., Abe M. A class I hemoglobin gene from *Alnus firma* functions in symbiotic and nonsymbiotic tissues to detoxify nitric oxide // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2006. V. 19. P. 441.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0441>
72. Catalá M., Gasulla F., Pradas del Real A.E., García-Breijo F., Reig-Armiñana J., Barreno E. Fungal-associated NO is involved in the regulation of oxidative stress during rehydration in lichen symbiosis // *BMC Microbiol.* 2010. V. 10. P. 297.
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-297>
73. Espinosa F., Garrido I., Ortega A., Casimiro I., Alvarez-Tinaut M.C. Redox activities and ROS, NO and phenylpropanoids production by axenically cultured intact olive seedling roots after interaction with a mycorrhizal or a pathogenic fungus // *PLoS One.* 2014. 9:e100132.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100132>
74. Kolbert Z., Bartha B., Erdei L. Generation of nitric oxide in roots of *Pisum sativum*, *Triticum aestivum* and *Petroselinum crispum* plants under osmotic and drought stress // *Acta Biol. Szeged.* 2005. V. 49. P. 13.
75. Montilla-Bascón G., Rubiales D., Hebelstrup K.H., Mandon J., Harren F.J.M., Cristescu S.M., Mur L.A.J., Prats E. Reduced nitric oxide levels during drought stress promote drought tolerance in barley and is associated with elevated polyamine biosynthesis // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 13311.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-13458-1>
76. Planchet E., Verdu I., Delahaie J., Cukier C., Girard C., Morère-Le Paven M.C., Limami A.M. Abscisic acid-induced nitric oxide and proline accumulation in independent pathways under water-deficit stress during seedling establishment in *Medicago truncatula* // *J. Exp. Bot.* 2014. V. 65. P. 2161.
<https://doi.org/10.1093/jxb/eru088>
77. She X.P., Song X.G., He J.M. Role and relationship of nitric oxide and hydrogen peroxide in light/dark-regulated stomatal movement in *Vicia faba* // *Acta Bot. Sin.* 2004. V. 46. P. 1292.
78. Zimmer-Prados L.M., Moreira A.S.F.P., Magalhaes J.R., Franca M.G.C. Nitric oxide increases tolerance responses to moderate water deficit in leaves of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* bean species // *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2014. V. 20. P. 295.
<https://doi.org/10.1007/s12298-014-0239-1>
79. Patakas A.A., Zotos A., Beis A.S. Production, localisation and possible roles of nitric oxide in drought-stressed grapevines // *Austr. J. Grape Wine Res.* 2010. V. 16. P. 203.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2009.00064.x>
80. García-Mata C., Lamattina L. Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells // *Plant Physiol.* 2002. V. 128. P. 790.
<https://doi.org/10.1104/pp.011020>
81. Neill S., Barros R., Bright J., Desikan R., Hancock J., Harrison J., Morris P., Ribeiro D., Wilson I. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress // *J. Exp. Bot.* 2008. V. 59. P. 165.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erm293>
82. Sahay S., Torres E.D.L.C., Robledo-Arratia L., Gupta M. Photosynthetic activity and RAPD profile of polyethylene glycol treated *B. juncea* L. under nitric oxide and abscisic

- acid application // *J. Biotech.* 2020. V. 313. P. 29.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.03.004>
83. *Da Silva Leite R., do Nascimento M.N., Tanan T.T., Gonçalves Neto L.P., da Silva Ramos C.A., da Silva A.L.* Alleviation of water deficit in *Physalis angulata* plants by nitric oxide exogenous donor // *Agric. Water Manag.* 2019. V. 216. P. 98.
<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.02.001>
 84. *Silveira N.M., Frungillo L., Marcos F.C.C., Pelegrino M.T., Miranda M.T. Seabra A.B., Salgado I., Machado E.C., Ribeiro R.V.* Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit // *Planta.* 2016. V. 244. P. 181.
<https://doi.org/10.1007/s00425-016-2501-y>
 85. *Jasid S., Simontacchi M., Bartoli C.G., Puntarulo S.* Chloroplasts as a nitric oxide cellular source. Effect of reactive nitrogen species on chloroplastic lipids and proteins // *Plant Physiol.* 2006. V. 142. P. 1246.
<https://doi.org/10.1104/pp.106.086918>
 86. *Wang Y., Suo B., Zhao T., Qu X., Yuan L., Zhao X., Zhao H.* Effect of nitric oxide treatment on antioxidant responses and *psbA* gene expression in two wheat cultivars during grain filling stage under drought stress and rewatering // *Acta Physiol. Plant.* 2011. V. 33. P. 1923.
 87. *Колупнаев Ю.Е., Кокорев А.И.* Антиоксидантная система и устойчивость растений к недостатку влаги // *Физиология растений и генетика.* 2019. Т. 51. С. 28.
<https://doi.org/10.15407/frg2019.01.028>
 88. *Rezayian M., Ebrahimzadeh H., Niknam V.* Nitric oxide stimulates antioxidant system and osmotic adjustment in soybean under drought stress // *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2020. V. 20. P. 1122.
<https://doi.org/10.1007/s42729-020-00198-x>
 89. *Farooq M., Basra M.A., Wahid A., Rehman H.* Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.) // *J. Agro. Crop Sci.* 2009. V. 195. P. 254.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2009.00367.x>
 90. *Gan L., Wu X., Zhong Y.* Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in hullless barley // *Plant Prod. Sci.* 2015. V. 18. P. 52.
<https://doi.org/10.1626/ppls.18.52>
 91. *Колупнаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О.* Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // *Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер.: Біологія.* 2014. №. 2. С. 6.
 92. *Zhang L., Ruan Z., Tian L., Lai J., Zheng P.E.N.G., Liang Z., Alva A.K.* Foliar-applied urea modulates nitric oxide synthesis metabolism and glycinebetaine accumulation in drought-stressed maize // *Pak. J. Bot.* 2014. V. 46. P. 1159.
 93. *Zhao Y., Wei X., Long Y., Ji X.* Transcriptional analysis reveals sodium nitroprusside affects alfalfa in response to PEG-induced osmotic stress at germination stage // *Protoplasma.* 2020. V. 257. P. 1345.
<https://doi.org/10.1007/s00709-020-01508-x>
 94. *Ziogas V., Tanou G., Filippou P., Diamantidis G., Vasilakakis M., Fotopoulos V., Molassiotis A.* Nitrosative responses in citrus plants exposed to six abiotic stress conditions // *Plant Physiol. Biochem.* 2013. V. 68. P. 118.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.004>
 95. *Сидоренко Е.С., Харитонашвили Е.В.* Роль NO в регуляции растительного метаболизма // *Всеросс. журн. науч. публ.* 2011. №. 8. С. 18.
 96. *Kusaba M., Tanaka A., Tanaka R.* Stay-green plants: What do they tell us about the molecular mechanism of leaf senescence // *Photosynth. Res.* 2013. V. 117. P. 221.
<https://doi.org/10.1007/s11120-013-9862-x>
 97. *Correa-Aragunde N., Foresi N., Delledonne M., Lamattina L.* Auxin induces redox regulation of ascorbate peroxidase 1 activity by S-nitrosylation/denitrosylation balance resulting in changes of root growth pattern in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64. P. 3339.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ert172>
 98. *Mata-Pérez C., Sánchez-Calvo B., Padilla M.N., Begara-Morales J.C., Luque F., Melguizo M., Jiménez-Ruiz J., Fierro-Risco J., Peñas-Sanjuán A., Valderrama R., Corpas F.J., Barroso J.B.* Nitro-fatty acids in plant signaling: nitro-linolenic acid induces the molecular chaperone network in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2016b. V. 170. P. 686.
<https://doi.org/10.1104/pp.15.01671>
 99. *Aranda-Caño L., Sánchez-Calvo B., Begara-Morales J.C., Chaki M., Mata-Pérez C., Padilla M.N., Valderrama R., Barroso J.B.* Post-translational modification of proteins mediated by nitro-fatty acids in plants: nitroalkylation // *Plants.* 2019. V. 8. P. 82.
<https://doi.org/10.3390/plants8040082>