

<https://doi.org/10.15407/frg2025.06.463>

УДК 581.132:632.954:633.15

ЩО ПЕРЕШКОДЖАЄ ШИРОКОМУ ВИКОРИСТАННЮ ДОНОРІВ ОКСИДУ АЗОТУ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ТОЛЕРАНТНОСТІ РОСЛИН ДО ДІЇ АБІОТИЧНИХ СТРЕСОРИВ

І.Г. ПОНОМАРЬОВА, Є.Ю. МОРДЕРЕР

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: ifrig@ukr.net*

В огляді розглянуто новітні дані щодо фізіологічних функцій оксиду азоту (NO) в рослинах, використання донорів NO для підвищення толерантності рослин до дії абіотичних стресорів та проведено аналіз чинників, які перешкоджають широкому використанню донорів NO в практиці рослинництва. Визначено, що одним із таких чинників є те, що в умовах стресу точно завбачити рівень підвищення ендogenous вмісту NO при застосуванні донорів NO досить складно. Зважаючи на дозозалежність і поліфункціональність NO, за яких збільшення ендogenous вмісту NO може сприяти підвищенню стійкості рослин, але й може призводити до індукції програмованої загибелі клітин, невизначеність щодо рівня підвищення ендogenous вмісту NO є істотною перешкодою для ефективного застосування донорів NO. Фундаментальною перешкодою є також те, що остаточний ефект від застосування донорів NO може визначатися взаємодією NO з іншими сигнальними системами, внаслідок чого характер впливу екзогенного NO залежить від фізіологічного стану рослин. Крім того, чинником, що перешкоджає, є складність у визначенні оптимального терміну для застосування донорів NO за умов невизначеності моменту початку дії стресора, а також забезпечення необхідної тривалості впливу екзогенного NO. Зроблено висновок, що необхідною передумовою широкого використання донорів NO для підвищення толерантності рослин до дії абіотичних стресорів є прогрес у фундаментальних дослідженнях механізмів утворення NO в рослинах, механізмів NO-опосередкованого сигналіну та визначенні чітких критеріїв, які б давали змогу з високим ступенем надійності завбачати характер впливу донорів NO на рослини. Істотним є також розробка донорів NO з пролонгованою дією, які б забезпечували поступове підвищення вмісту ендogenous NO упродовж тривалого часу. Стверджується, що найперспективнішим напрямом, в якому можна досягти прогресу ближнім часом, є застосування донорів NO для модифікації фітотоксичної дії гербіцидів.

Ключові слова: оксид азоту, донори оксиду азоту, сигналінг, абіотичні стресори, гербіциди.

Абіотичні стресори, такі як посуха, екстремальні температури, важкі метали та засолення спричиняють великі втрати врожаю сільськогос-

Цитування: Пономарьова І.Г., Мордерер Є.Ю. Що перешкоджає широкому використанню донорів оксиду азоту для підвищення толерантності рослин до дії абіотичних стресорів. *Фізіологія рослин і генетика*. 2025. 57, № 6. С. 463–487. <https://doi.org/10.15407/frg2025.06.463>

подарських культур. Через глобальні зміни клімату та перманентне посилення антропогенного впливу на довкілля очікується, що невдовзі вплив абіотичних стресорів на агрофітоценози стане ще поширенішими. Зважаючи на це, актуальним завданням є розробка методів підвищення толерантності сільськогосподарських культур до дії абіотичних стресорів. З можливих способів вирішення цього є спрямований вплив на вміст у рослинах оксиду азоту, важливої сигнальної молекули, однією з функцій якої є формування реакції рослин на дію різноманітних стресорів. Відомості, що свідчать про можливість підвищення стійкості рослин до дії абіотичних стресорів внаслідок впливу на вміст NO, зокрема використанням донорів NO, є беззаперечними [1–4]. Однак, на відміну від медицини, де застосування донорів NO давно перейшло в практичну площину, в рослинництві воно залишається лише перспективним напрямом. Дана стаття присвячена аналізу чинників, що перешкоджають широкому використанню донорів NO в практиці рослинництва, зокрема для підвищення толерантності рослин до дії абіотичних стресорів, та напрямам досліджень, які сприятимуть подоланню цих перешкод.

Фізіологічні функції NO у рослин. Оксид азоту (NO) — це газоподібний радикал, який з одного боку є однією з активних форм кисню (АФК), а з іншого — спроможний утворювати різноманітні активні форми азоту (АФА): NO₂, N₂O₃, пероксинітрил (ONOO⁻) та S-нітрозоглутатіон (GSNO). Сигнальна роль NO в біологічних системах зумовлена низкою властивостей цієї молекули. NO — вільний радикал, невеликого розміру, є незарядженою молекулою, має короткий час напіврозкладу та високу здатність до дифузії через біологічні мембрани.

Значний прогрес у визначенні ролі NO в біологічних системах досягнуто у 1980-х роках, коли було встановлено сигнальну роль NO у зв'язку з серцево-судинною системою людини. Водночас виявилось, що сигнальна роль NO притаманна не лише тваринним, а й рослинним організмам.

Вперше утворення NO в рослинах встановлено Лоуеллом А. Клепером під час дослідження впливу на рослини сої різних гербіцидів [5]. Численними дослідженнями показано, що NO є важливим чинником розвитку рослин [6–13]. Сигнальна дія NO прослідковується на всіх етапах життєвого циклу рослин і реалізації різноманітних фізіологічних функцій: перериванні спокою та індукції проростання насіння [14–16], взаємодії рослин із ризосферою [17–19], регуляції продихів [16, 20–22], старінні окремих органів й цілого організму рослин [23–25].

Однією з найважливіших сигнальних функцій NO є участь у формуванні реакції рослин на дію різноманітних стресорів [24, 26, 27], як біотичних [28–32], так і абіотичних [2–4, 33–37]. Зокрема, з сигналінгом, зумовленим NO, пов'язана стійкість рослин до високих [38] та низьких температур [39, 40], важких металів [41–43], засолення [44–49], посухи [50].

Участь NO в реакціях рослин на дію абіотичних стресорів відбувається підтримкою гомеостазу АФК, підвищенням біосинтезу проліну та глутатіону, посттрансляційними модифікаціями білків (ПТМБ)

і модуляцією експресії генів [51]. За формування реакції рослин на дію стресорів, NO може безпосередньо впливати на активність ферментів шляхом редокс-орієнтованої ПТМБ через їх S-нітрозилювання, яке передбачає ковалентне приєднання молекули NO до реакційноздатного цистеїнового тіолу, або нітрування тирозину цільового білка [52—58]. Можливий також опосередкований вплив внаслідок взаємодії NO з іншими сигнальними системами рослин [59]. Зокрема було виявлено S-нітрозилювання білків, які беруть участь у фітогормональному сигналіngu, що є прямим доказом впливу NO на функціонування фітогормональної сигнальної системи [52, 53]. Також доведено, що S-нітрозилювання, яке регулюється S-нітрозоглутатіонредуктазою (GSNOR), бере участь у регуляції толерантності до натрієво-лужного стресу рослин томатів (*Solanum lycopersicum* L.) [60].

Є переконливі експериментальні докази того, що в умовах стресу, спричинюваного важкими металами (ВМ), підвищення толерантності рослин зумовлено взаємодією NO з різними фітогормонами, а також S-нітрозилюванням білків [61]. NO може зменшити накопичення ВМ, зокрема заліза, підвищуючи у такий спосіб толерантність рослин. Однак є й інші дослідження, які показали, що NO може мати протилежний вплив: сприяти накопиченню заліза та провокувати оксидативне пошкодження рослин [62].

У коренях рослин огірка (*Cucumis sativus* L., сорт Wisconsin), що зазнали сольового стресу (50 мМ NaCl), вміст NO зростав порівняно з контролем. Застосування вольфрамату блокувало підвищення рівня NO в коренях, а це вказує на те, що за біосинтез NO в умовах тестування відповідала нітратредуктаза (НР). Збільшення активності НР зумовлене стимуляцією експресії генів CsНР та посттрансляційними модифікаціями, такими як дефосфорилування ферментів [63].

Відомо, що монодегідроаскорбатредуктаза (МДГАР) є важливим ферментом, який здійснює регенерацію аскорбінової кислоти й таким чином сприяє захисту клітин рослин за дії різних стресорів. Було показано, що S-нітрозилювання МДГАР підвищувало активність цього ферменту в рослинах тютюну, внаслідок чого пом'якшувалось оксидативне пошкодження й посилювалась стійкість рослин до сольового стресу [64]. Також встановлено, що S-нітрозилювання МДГАР було важливим для покращення толерантності рослин *Brassica pekinensis* сорт Huanaі до низьких температур [40].

Вплив донорів NO на стійкість рослин до дії абіотичних стресорів. Встановлення участі NO у формуванні реакцій рослин на вплив різноманітних стресорів наводило на думку щодо можливості використання екзогенного NO для підвищення толерантності рослин до їх дії. Аргументом на користь доцільності цього є доступність та невелика вартість донорів NO. Відомо понад 300 сполук, які можуть бути донорами оксиду азоту. Нині найпоширенішим донором NO, який використовується як для наукових досліджень, так і може використовуватися в практиці, є речовина натрійнітрозопентаціаноферат ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{NO})(\text{CN})_5]$), тривіальна назва якої — нітропрусид натрію (НПН).

Досліджено вплив екзогенного NO та взаємодії NO з пероксидом водню (H_2O_2) на стійкість розсади огірка до низьких температур.

Обробка НПН значно збільшувала вміст ендogenous NO, початкову й загальну активність рибулозо-1,5-бісфосфаткарбоксілази/оксигенази (Рубіско), швидкість карбоксилювання Рубіско, швидкість регенерації рибулозо-1,5-бісфосфату та рівні транскриптів споріднених генів у розсаді огірка за низьких температур (11 °C/7 °C). Водночас вплив НПН блокувався поглиначем NO 2-(4-карбоксіфеніл)-4,4,5,5-тетраметилімідазолін-1-оксил-3-оксидом калію (РГЮ). Встановлено, що NO підвищує стійкість розсади огірків до низьких температур через утворення H_2O_2 , покращення ефективності циклу Кальвіна, що своєю чергою, збільшує вміст вуглеводів і прискорює відновлення аскорбату та глутатіону, необхідних для ефективного знешкодження АФК [65].

Застосування НПН підвищувало стійкість тютюну (*Nicotiana tabacum*) до токсичного впливу кадмію [43], томатів (*Solanum lycopersicum*) — арсену [42], рису (*Oryza sativa*) — до алюмінію [66].

Обробка НПН підвищувала стійкість рослин томатів до посухи. За обробки НПН у рослинах томатів за умов посухи збільшувався вміст NO, зростав рівень аскорбату та глутатіону, але знижувався рівень окисненого глутатіону. Обробка НПН зменшувала індуковане посухою утворення H_2O_2 , проте збільшувала активність L-цистеїндесульфгідрази (L-DES), що призводило до утворення сірководню (H_2S). З останнього зроблено висновок, що взаємодія NO та H_2S , опосередкована активністю L-DES, може бути життєво важливим механізмом перехресного зв'язку, який впливає на реакцію рослин на посуху [67].

Передпосівна обробка насіння або обприскування рослин у вегетаційний період розчином НПН пом'якшували вплив посухи на рослини броколі (*Brassica oleracea*). Дефіцит води зменшував накопичення маси сирі та сухої речовини пагонів, їхню довжину, вміст гліцинбетаїну і хлорофілу, водночас збільшивши вміст аскорбінової кислоти, H_2O_2 й активність ферментів каталази та супероксиддисмутази (СОД). Обидва способи застосування НПН зменшували негативний вплив посухи, вірогідно через підвищення активності системи антиоксидантного захисту. При цьому обробка у вегетаційний період була ефективнішою, ніж обробка насіння [68].

Можливість зменшення впливу посухи на рослини сої (*Glycine max* (L.) Merr.) внаслідок застосування НПН була показана в кількох дослідженнях [69, 70]. Водний стрес індукували обробкою рослин поліетиленгліколем (ПЕГ) різної концентрації (0, 5, 10 та 15 %). В цей час значно пригнічувався ріст рослин сої, збільшувався вміст H_2O_2 і малонового діальдегіду, що є ознакою окиснювального стресу. В умовах посухи в рослинах сої збільшувалася активність каталази, аскорбатпероксидази, зростало накопичення проліну та гліцинбетаїну, збільшувалася активність ліпоксигенази, а також зростав загальний вміст фенолу й токоферолу. Обробка НПН у концентрації 100 мкмоль/л сприяла росту рослин сої в умовах посухи завдяки збільшенню активності ферментативного та неферментативного антиоксидантного захисту [69]. Дослідження впливу різних концентрацій НПН показало, що підвищення концентрації від 100 до 200, 500 та 1000 мкМ спричинювало підвищення активності антиокси-

дантних ферментів у рослинах сої за умов посухи. Однак у високих концентраціях НПН негативно впливав на систему азотного метаболізму сої. Встановлено, що для компенсації пошкоджень, спричинених посухою на рослини сої, оптимальною є концентрація НПН 200 мкМ за тривалості обробки 5 днів [70].

Досліджено вплив НПН на активність фотосинтетичних ферментів, зокрема Рубіско, та вміст фотосинтетичних пігментів у пшениці (рослини C_3) та кукурудзі (рослини C_4) за різних рівнів посухи, індукованої ПЕГ. Обробку рослин НПН проводили тричі з п'ятиденним інтервалом після індукції посухи. Два генотипи пшениці й кукурудзи (термочутливий і термостійкий) зазнавали впливу різних рівнів водного стресу (індукованого 8 %, 16, 24 % ПЕГ) за обробки НПН та без неї. Застосування НПН збільшило активність Рубіско, відсоток Рубіско в загальному білку, вміст хлорофілів *a* та *b*, загальний вміст хлорофілу та знизило рівень каротиноїдів. Вплив НПН був вираженішим на термостійкий генотип W-7, на відміну від термочутливого генотипу пшениці RW-353. Загалом посуха сильніше впливала на генотипи пшениці, ніж на генотипи кукурудзи, відповідно, захисна дія НПН щодо пшениці була більшою порівняно з кукурудзою [71].

Визначено вплив НПН на зворотне пригнічення глюкозою фотосинтетичних характеристик рослин пшениці (*Triticum aestivum* L.) за наявності або відсутності сольового стресу (100 мМ NaCl). Рослини, оброблені NaCl або 6 % розчином глюкози, демонстрували знижений фотосинтез через вищий окиснювальний стрес. Підвищений вміст Na^+ та Cl^- , а також перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) у рослин, вирощених за умови сольового стресу, зменшувалися після застосування НПН у концентрації 50 мкМ. Обробка НПН покращувала фотосинтетичну продуктивність рослин за відсутності сольового стресу, а також зменшувала опосередковане глюкозою пригнічення фотосинтезу в умовах сольового стресу [72].

Обробка НПН пом'якшувала негативний вплив солі (NaCl) на ріст, відносний вміст води та фотосинтез у проростках гірчиці індійської (*Brassica juncea*). Також вона зменшувала індуковане сольовим стресом накопичення H_2O_2 та підвищувала в проростках гірчиці індійської активність антиоксидантних ферментів [73].

Пом'якшення наслідків сольового стресу (NaCl; 100 мМ) на розсаду томатів (*Solanum lycopersicum* L. сорт Five star) відбувалося за спільного застосування НПН (100 мкМ) та спермідину (СП) (200 мкМ). Сольовий стрес пригнічував ріст рослин томатів, зменшував вміст у листках фотосинтетичних пігментів (хлорофілу *a* та *b*), збільшував вміст проліну, прискорював реакції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), індукуючи утворення у коренях і листках АФК. Застосування НПН та/або СП посилювало активність антиоксидантних ферментів: каталази (КАТ), пероксидази (ПО), супероксиддисмутази (СОД), глутатіонредуктази (ГР) та аскорбатпероксидази (АПО), збільшило накопичення фотосинтетичних пігментів, а також зменшило вміст АФК [74].

Обробка донором оксиду азоту S-нітрозоглутатином (GSNO) значно сприяла росту розсади томатів в умовах сольового стресу, зумовленого NaCl. Попередня обробка GSNO спричинила підвищення

ендогенного рівня NO, вмісту S-нітрозотіолу, активності й експресії GSNOR. За допомогою методів біотинового перемикання та рідинної хромато-мас-спектрометрії/ мас-спектрометрії (LC-MS/MS) було ідентифіковано 1054 імовірних S-нітрозильованих білків. Серед них 15 і 22 S-нітрозильовані білки були задіяні, відповідно, в передаванні сигналу мітогенактивованої протеїнкінази (МАПК) і метаболізмі вуглеводів. Попередня обробка GSNO зменшила виробництво етилену та вміст абсцизової кислоти (АБК) в умовах сольового стресу. Ці результати продемонстрували, що NO може позитивно регулювати сигналізацію МАПК на транскрипційних рівнях та активувати вуглеводний обмін на посттрансляційному й транскрипційному рівнях, захищаючи розсаду від дефіциту енергії і засоленості, що зменшує пошкодження, спричинені сольовим стресом, у розсади томатів [75].

В іншому дослідженні попередня обробка розсади томатів GSNO також зменшила токсичність хлориду натрію (150 мМ NaCl) дозозалежним чином, а найзначніший пом'якшувальний ефект спостерігався за концентрації GSNO 10 мкМ. Попередня обробка GSNO збільшила висоту рослини, загальну довжину коренів і площу листків розсади томатів. Додавання GSNO до NaCl загальмувало виробництво O_2^- та зменшило вміст H_2O_2 , збільшило рівень розчинного цукру, гліцинбетаїну, проліну й хлорофілу, а також посилило активність антиоксидантних ферментів і вміст антиоксидантів у розсаді томатів порівняно з обробкою одним NaCl. До того ж обробка GSNO збільшила ендogenous вміст NO, активність та експресію GSNOR, загальний рівень S-нітрозильовання, а також знизила вміст S-нітрозотіолу, що є підтвердженням ролі S-нітрозильовання в підвищенні толерантності томатів до солі. Скасування позитивного ефекту від обробки GSNO поглиначем NO РТІО є однозначним доказом того, що за попередньої обробки GSNO підвищення толерантності томатів до засолення зумовлено підвищенням вмісту NO [76].

Екзогенне застосування НПН покращувало формування та ріст додаткових коренів у гіпокотильних живців машу (*Vigna radiata* L.) в умовах стресу, спричиненого впливом кадмію й осмотичного стресу, індукованого манітом. Встановлено, що індуковані кадмієм або манітом зміни рівнів глутатіону, аскорбату, поліфенолу, проліну й малонного діальдегіду, а також активності АПО, ПО, КАТ, СОД та оксидази індол-3-оцтової кислоти були повністю або частково знівлені додаванням НПН за обробки $CdCl_2$ чи манітом. Отримані дані свідчать, що обробка НПН відновлювала окисно-відновний стан завдяки регуляції активності антиоксидантних систем і запобігала підвищенню швидкості реакцій ПОЛ під час додаткового вкорінення в умовах стресу [77].

Встановлено вплив НПН на дію забруднювачів ґрунту ВМ кадмію (Cd) та металоїду арсену (As) на кореневу систему рису (*Oryza sativa* L.). Підвищення внутрішньоклітинного вмісту NO пом'якшувало зміни кореневої системи, спричинені Cd, який пригнічував подовження додаткових коренів і формування бічних коренів, а також збільшував відкладання лігніну в клітинних стінках склеренхіми/ендодерми. Водночас навіть зменшення лігніфікації ендодерми, індуко-

ване As, не відновлювало більшість пошкоджень, спричинених As. Натомість обробка НПН зменшувала поглинання як Cd, так і As, проте не впливала на здатність забруднювачів до переміщення з коренів до пагонів. Збільшення вмісту NO знижувало індуковане Cd, але не As, зростання вмісту АФК стимулюванням утворення пероксинітриту [78].

Проаналізовано ключові компоненти метаболізму NO й зв'язки між дією NO та стресом, спричиненим в рослинах рису As. Обробка рослин НПН призвела до помітного зниження рівня АФК, загибелі клітин і накопичення As. Виявлено, що NO модулює транспортери металів, зокрема NIP, NRAMP, ABC, та транспортери заліза, гени, пов'язані зі стресом, такі як *CytP450*, *GST*, *GRX*, *TF*, амінокислоти, гормони, сигналізацію та гени вторинного метаболізму, що беруть участь у детоксикації As. В умовах стресу була виявлена NO-опосередкована зміна вмісту жасмонової кислоти (ЖК). Дослідження показало, що NO знижує токсичність AsI модуляцією регуляторних мереж, задіяних у детоксикації As та біосинтезі ЖК [79].

Вивчали імовірну роль NO в покращенні толерантності рослин рису до нікелю (Ni). Застосування екзогенного НПН значно покращило ріст розсади рису при вирощуванні за умов надмірного вмісту Ni. Підвищена толерантність рису може бути зумовлена здатністю НПН регулювати поглинання Ni та зменшувати індукований ним окиснювальний стрес завдяки підвищенню активності антиоксидантного захисту. За умов Ni-стресу обробка рослин рису НПН підвищувала рівень аскорбату, посилювала активність ПО й КАТ, як у коренях, так і в пагонах, а також підвищувала в пагонах рівні транскриптів генів ПО, КАТ, ГР, АПО та СОД [80].

Встановлено, що НПН здатний знижувати токсичність наночастинок срібла (AgNps) для проростків гороху (*Pisium sativum* L.). Обробка AgNps (1000 мкМ та 3000 мкМ) значно знизила параметри росту, вміст фотосинтетичних пігментів і флуоресценцію хлорофілу, що корелювало зі збільшенням накопичення Ag у коренях та пагонах проростків гороху. Додавання НПН (100 мкМ) знизило несприятливий вплив AgNps на ці параметри, оскільки зменшило накопичення Ag і відновило пошкоджені тканини. За дії AgNps (1000 мкМ та 3000 мкМ) значно стимулювалася активність СОД та АПО, водночас активність ГР і дегідроаскорбатредуктази (ДГАР) пригнічувалася. AgNps також значно знижували загальний вміст аскорбату та глутатіону й сильно пошкоджували анатомічні структури листків і коренів. Додавання НПН ще більше підвищувало рівень СОД, АПО, ГР та ДГАР і значно збільшувало загальний вміст аскорбату й глутатіону, а також відновлювало анатомічні структури. [81].

Чинники, які ускладнюють застосування донорів NO у практиці рослинництва. Непередбачуваність рівня підвищення ендогенного вмісту NO в рослинах в умовах стресу при застосуванні донорів NO. Першим чинником, який ускладнює практичне застосування донорів NO є те, що рівень підвищення ендогенного вмісту NO внаслідок застосування його донорів передбачити досить складно. Відомо, що ефект від застосування донорів NO є дозозалежним [70, 76]. Тому для досягнення позитивного ефекту потрібне збільшення ендогенного вмісту

NO до певного рівня. Однак подальше збільшення вмісту NO може призвести до зміни характеру впливу: замість підвищення толерантності рослин до дії стресора його вплив на рослину може навпаки збільшитися [62, 70]. Відомо, що рослини реагують на дію різноманітних стресорів підвищенням вмісту NO [20, 61–63]. Очевидно, що обробка рослин донорами NO зумовлює зростання ендогенного вмісту NO [65, 67, 75]. Здається, що рівень цього зростання можна регулювати підбиранням оптимальної дози донора, проте підвищення вмісту NO, зумовлене його виділенням з донора, може активувати ендогенні системи утворення NO [75, 76]. Внаслідок цього передбачити яким буде зростання вмісту NO в рослинах певного виду в умовах дії певного стресора і при застосуванні певної дози донора NO досить складно, оскільки існують різноманітні механізми біосинтезу NO в рослинах, а інформація щодо їх функціонування у різних видів рослин за дії різних стресорів є неповною. Існують як ферментативні, так і неферментативні способи утворення NO. Неферментативне утворення NO може відбуватися в кислому просторі апопласту за наявності аскорбінової кислоти або інших відновників. Ферментативні способи утворення NO зазвичай класифікуються як окиснювальні або відновні. Окиснювальні способи включають активність, подібну до синтази оксиду азоту (NOS-подібна активність). Хоча NOS-подібна активність у рослин потребує тих самих кофакторів, що й у ссавців, і демонструє чутливість, подібну до інгібіторів NOS у ссавців, рослинний фермент, подібний до NOS тваринного типу, ще не ідентифікований [9, 10]. Отже для надійного отримання позитивних результатів внаслідок застосування донорів NO потрібно поглибити розуміння механізмів утворення NO в різних видів рослин за дії різних стресорів.

Поліфункціональність NO. Участь NO в індукції ПЗК та аутофагії. Іншим чинником, який ускладнює практичне використання донорів NO і певною мірою є наслідком дозозалежності їх дії, є поліфункціональність цієї сигнальної молекули. Зокрема відомо, що за дії різноманітних стресорів NO може відігравати подвійну роль. З одного боку NO може підвищувати виживаність клітин рослин, але з іншого — брати участь в індукції процесу програмованої загибелі клітин (ПЗК). Складність ситуації полягає у тому, що в окремих випадках NO виступає в ролі індуктора ПЗК [82–85], а в окремих випадках — може діяти протилежно і гальмувати ПЗК [86].

Так, обробка суспензії клітин *Nicotiana tabacum* L. (лінія BY-2) 0,5 мМ НПН та донором H_2O_2 призводила до загибелі клітин з ознаками ПЗК [87]. Обробка суспензійної культури клітин арабідопсису (*Arabidopsis thaliana* L.) 100 та 150 мМ $CdCl_2$ збільшувала синтез NO, який залишався високим, поки клітини були життєздатними, сприяла утворенню H_2O_2 та індукції ПЗК. Інгібування синтезу NO моноацетатом NG-монометиларгініну частково запобігало збільшенню вмісту H_2O_2 та загибелі клітин, що вказує на необхідність NO для ПЗК, індукованої Cd^{2+} [88]. Встановлено, що S-нітрозування, опосередковане NO через S-нітрозоглутатіонредуктазу, відіграє важливу роль в індукції ПЗК у клітинах кінчиків кореня арахіса (*Arachis hypogaea* L.) за дії алюмінію [89].

Водночас обробка НПН пригнічувала ПЗК, індуковану алюмінієм в клітинах кінчиків коренів арахіса, що покращувало фізіологічні властивості мітохондрій [90, 91]. ПЗК, індукована в клітинах розсади томатів високими концентраціями кадмію, супроводжується сплесками NO, при цьому видалення NO посилювало, а попередня обробка донором NO гальмувала ПЗК [92].

Невизначеність щодо можливого ефекту від застосування донорів NO пов'язана також з неоднозначністю самої ролі ПЗК у детермінуванні стресостійкості рослин. Існує величезна кількість доказів того, що процес аутофагії, який розглядається як один з видів ПЗК [93], сприяє підвищенню стійкості рослин за дії багатьох стресорів, зокрема абіотичних [94–99]. Аутофагія, індукована короткочасним перезволоженням, інгібує ПЗК у клітинах коренів пшениці (*Triticum aestivum* L.) [100]. Однак аутофагія може виступати і в ролі ініціатора ПЗК [101]. Водночас NO може виступати як в ролі індуктора [102], так і інгібітора процесу аутофагії [103–105].

З огляду на це для успішного застосування донорів NO з метою підвищення толерантності рослин до дії абіотичних стресорів необхідно встановити, які чинники визначають спрямованість впливу екзогенного NO на рослини: внаслідок підвищення вмісту NO відбудеться підвищення толерантності рослини до дії стресора або в окремих клітинах чи органах рослини індукуватимуться процеси аутофагії та ПЗК.

Взаємодія NO з іншими сигнальними системами. Практичне застосування донорів NO для підвищення толерантності рослин до дії стресорів ускладнюється тим, що, окрім безпосереднього впливу NO на активність ферментів внаслідок посттрансляційної модифікації, остаточний ефект від застосування донорів NO може бути опосередкований взаємодією NO з іншими сигнальними системами рослин [59].

Взаємодія з фітогормонами. Показано існування перехресного зв'язку між NO та цитокініном при реакції рослин на стрес, зокрема у детермінуванні толерантності рослин до гіпоксії [106]. Взаємодія NO з ауксином прослідковується під час застосування НПН для зменшення наслідків стресу, індукованого Cd, та осмотичного стресу, індукованого манітом, у гіпокотильних живців машу (*Vigna radiata* L. R. Wilczek) під час додаткового вкорінення [77]. Зменшення наслідків лужного стресу в проростках рослин *Nitraria tangutorum* L. Bobr. досягалося за спільного застосування НПН та АБК [107]. Встановлено, що одним із чинників, який зумовлює зниження токсичної дії As на рослини рису внаслідок застосування НПН, є вплив NO на біосинтез ЖК [79].

Взаємодія з сірководнем. Сірководень (H_2S) є газотрансмітером з різноманітним спектром функцій, подібних до функцій NO. Незважаючи на фітотоксичний вплив у високих концентраціях, було показано, що за низьких концентрацій H_2S відіграє значну роль у багатьох процесах життєвого циклу рослин, включно, реакції на стресові чинники навколишнього середовища [108, 109].

Залежно від концентрацій NO та H_2S діють синергічно або антагоністично як сигнали, що сприяють підвищенню толерантності рос-

лин до дії стресорів, або промотори пошкодження рослин. Для протидії стресовим чинникам NO та H₂S беруть участь у модуляції фізико-біохімічних явищ, пов'язаних з мінімізацією окиснювального стресу. Протеомні та біохімічні аналізи показали, що певні білки-мішені зазнають посттрансляційних модифікацій (ПТМ), таких як S-нітрозування, спричинене NO, та персульфидування, спричинене H₂S, які впливають на функціональність цих білків [110].

Кількість білків, ідентифікованих як мішені цих ПТМ, продовжує зростати, і наявні дані демонструють, що деякі з них модулюються обома цими процесами. Наприклад, антиоксидантні ферменти, такі як АПО та КАТ, які регулюються NO та H₂S, також регулюють вміст H₂O₂ в різних субклітинних компартментах. Хоча сигнальний каскад, опосередкований NO та H₂S, не до кінця вивчений, деякі дані підтверджують, що H₂S може діяти вище сигналізації NO в певних процесах рослин, таких як закриття продихів, або нижче від NO у відповідь на абіотичні стреси [108].

Взаємодія з АФК. У багатьох випадках вплив NO на фізіологічний стан рослин зумовлюється взаємодією з АФК [111]. Водночас АФК впливають на метаболізм NO, а NO, своєю чергою — на метаболізм АФК [112]. Зокрема прикладом взаємозв'язку між АФК та АФА є рослинні пероксисоми [113–115]. З одного боку пероксисоми здатні генерувати NO, а з іншого — NO і його похідні пероксинітрид та S-нітрозоглутатіон можуть модулювати метаболізм АФК пероксисом, переважно посттрансляційними модифікаціями білків. Показано, що кілька пероксисомальних антиоксидантних ферментів, таких як КАТ, мідь-цинкова супероксиддисмутаза (CuZnСОД) і МДГАР, є мішенями NO-опосередкованих ПМБ [116].

Вміст у рослинах S-нітрозоглутатіону (GSNO), який є формою зберігання та транспорту NO, регулюється GSNO-редуктазою (GSNOR). Отже, цей фермент регулює рівні S-нітрозотіолу та відіграє балансує роль у точному налаштуванні сигналізації NO. Окиснювальна ПТМ GSNOR пригнічувала активність цього ферменту, що підтверджує прямий перехресний зв'язок між АФК- й АФА-сигналізацією [117].

У регуляції процесів аутофагії та ПЗК здебільшого дія NO опосередковується його взаємодією з АФК [118]. Так, запуск ПЗК у самонесумісному пилку, що дає змогу запобігти самоzapлідненню, відбувається через взаємодію АФК і NO [119].

Під час ПЗК, індукованої у клітинах тютюну (*Nicotiana tabacum* L.) тепловим шоком або H₂O₂, рівень АФК контролюється внаслідок NO-залежного S-нітрозилювання білків. На початку ПЗК спостерігалось S-нітрозилювання цитозольної АПО, ключового ферменту, який контролює рівні H₂O₂ в рослинах. Вірогідно, що S-нітрозилювання індукувало убіквітинування та деградацію цитозольної АПО й слугувало частиною сигнального шляху, який веде до ПЗК [84]. Крім того, активація каспаза-3-подібної протеази, яка є індуктором ПЗК у рослин, відбувається взаємодією NO та АФК [120].

Індукція ПЗК у суспензії клітин *Nicotiana tabacum* L. (лінія BY-2) досягалася через спільну обробку НРН і донором H₂O₂ [87]. NO ви-

ступав у ролі ендogenous медіатора ПЗК, індукованої у листках рису H_2O_2 [83].

Комбінований вплив NO та АФК є необхідною умовою некротичної загибелі клітин тютюну лінії BY-2, індукованої токсином *Alternaria alternata* (AaT). AaT вже через 3 год порушував внутрішньоклітинний гомеостаз АФК, змінював активність антиоксидантних ферментів, запускав мітохондріальну деполяризацію та індукував аутофагію в клітинах тютюну. Пригнічення аутофагії 3-метиладеніном спричинювало зниження життєздатності клітин. Через 24 год AaT сприяв накопиченню АФК та NO, що призводило до некротичної загибелі клітин. Інгибування накопичення NO за допомогою РГІО знизило рівень загибелі некротичних клітин й індукувало аутофагію, а це доводить, що накопичення NO пригнічує аутофагію та сприяє загибелі клітин [105].

З огляду на це актуальним залишається висновок, що для широкого застосування донорів NO у практиці рослинництва необхідне чіткіше уявлення про функціональну взаємодію сигнальних посередників між собою і природу реакцій, індукованих внаслідок такої взаємодії [1].

Залежність ефекту від терміну та тривалості застосування донорів NO. Ефект від застосування донорів NO окрім дози залежить від терміну та тривалості їх застосування. Здебільшого підвищення толерантності рослин досягається внаслідок попередньої обробки рослин донорами NO перед початком впливу стресорів. Очевидно, що ефективність може залежати від тривалості періоду між початком обробки рослин донором NO та початком дії стресора. Дія таких абіотичних стресорів як засолення та важкі метали є перманентною впродовж вегетації рослин, тому для підвищення толерантності рослин до дії цих стресорів єдиною можливістю є обробка донорами NO насіння рослин.

Мить, коли рослини підпадуть під вплив посухи або різких змін температури є непередбачуваною. Оскільки за дії посухи обробка насіння виявилася менш ефективною, ніж застосування НПН під час вегетації рослин безпосередньо перед початком посухи [68], перешкодою для ефективного застосування донорів NO є складність визначення оптимального моменту для проведення обробки.

Крім складності визначення моменту обробки перешкодою для практичного застосування донорів NO є необхідність забезпечення певної тривалості впливу NO. Так, компенсація пошкоджень, спричинених посухою на рослини сої, досягалася під час застосування НПН упродовж 5 діб [70]. Зменшення впливу посухи на рослини кукурудзи та пшениці відбувалося після триразової обробки НПН після початку посухи із п'ятиденним інтервалом [71].

Очевидно, що з практичного погляду кількаразове застосування донорів NO є малопродатним. Водночас, беручи до уваги поліфункціональність та дозозалежність ефектів NO, за одноразового застосування забезпечити необхідну тривалість впливу через підвищення дози донору NO неможливо. Отже, для практичного застосування корисно було б мати донори з пролонгованою дією, які б поступово виділяли NO упродовж тривалого часу.

Використання донорів NO для модифікації дії гербіцидів. Певно, що для культурних рослин гербіциди є абіотичними стресорами, так само як посуха або зміни температури. Однак питання щодо використання донорів NO для модифікації дії гербіцидів доцільно розглядати окремо з двох міркувань. По-перше, на відміну від змін умов навколишнього середовища, гербіциди є контрольованими стресорами: відомо коли буде проводитися обробка і які гербіциди будуть застосовані. По-друге, донори NO можуть використовуватися не лише для підвищення стійкості культурних рослин до дії гербіцидів, а й для збільшення фітотоксичної дії гербіцидів на бур'яни. Збільшення фітотоксичної дії на бур'яни може дати змогу зменшити норму внесення гербіциду, що забезпечить зменшення вірогідності токсичного впливу гербіциду на культурні рослини.

Хоча вперше виділення NO рослинами було зафіксовано саме після обробки гербіцидами [5], відомості щодо модифікації дії гербіцидів внаслідок застосування донорів NO дуже обмежені й суперечливі та стосуються лише окремих класів гербіцидів.

Можливість зменшення фітотоксичного впливу на культурні рослини через попередню обробку низькими концентраціями донорів NO вперше була встановлена для гербіцидів, фітотоксична дія яких зумовлена дезорганізацією фотосинтезу й опосередковується рвучким підвищенням вмісту АФК у рослинах.

Гербіциди, похідні біпіриділію дикват і паракват, є перехоплювачами електронів від природного акцептора у фотосистемі I рослин. За дії цих гербіцидів поглинання світла рослинами призводить до стрімкого утворення АФК у хлоропластах. Оскільки відомо, що вплив NO може підвищувати активність антиоксидантних систем рослин, було досліджено вплив трьох донорів NO: НПН, S-нітрозон-ацетилпеніциламіну та змішаного розчину аскорбінової кислоти й NaNO_2 на деякі токсичні процеси, спричинені дикватом і паракватом у листках картоплі (*Solanum tuberosum* L. сорт Pampeana). Застосування всіх трьох донорів NO зменшило втрати хлорофілу, спричинені дією гербіцидів. Водночас поглинач NO РТЮ зупиняв NO-опосередкований захист хлорофілу, що є підтвердженням визначальної ролі змін вмісту NO для зменшення дії гербіцидів [121]. NO також знижував токсичність параквату для рослин рису [122]. Донори NO зменшували чутливість до параквату в рослин арабідопсису. Встановлено, що мутація гена GSNOR1/HOT5, який відповідає за внутрішньоклітинний рівень основного біологічно активного виду оксиду азоту S-нітрозотіолу, збільшує ендогенний вміст NO й зумовлює стійкість мутантних рослин до параквату [123].

Використання лінії арабідопсису з надекспресією тилакоїдної АПО показало, що фітотоксична дія параквату може визначатися взаємодією NO з H_2O_2 [124].

Підтвердження взаємодії NO з H_2O_2 у визначенні фітотоксичної дії параквату було отримано на тетраплоїдних рослинах *Nicotiana tabacum*. Встановлено, що рослини з нокаутом S-нітрозоглутатіонредуктази (NtGSNOR1) демонструють значну стійкість до загибелі клітин, індукованої паракватом, порівняно з рослинами дикого типу.

Підвищена стійкість до параквату в рослин із нокаутом NtGSNOR1 корелювала зі зниженим рівнем накопичення H_2O_2 [125].

Застосування донора NO зменшило токсичний вплив інших гербіцидів з прооксидантною активністю. Так, попередня обробка рослин сої НПН зменшувала окиснювальний стрес, спричинений гербіцидом інгібітором протопорфіриногенаоксидази (ППО) лактофеном [126].

Виявилося, що зменшення фітотоксичної дії може досягатися й за одночасної обробки донором NO та гербіцидами з прооксидантною активністю. Добавляння НПН у концентрації 20 мкМ до гербіциду, інгібітору транспорту електронів у ФС II хлоропластів, атразину та в концентрації 10 мкМ до гербіциду, інгібітору глутамінсинтази, гліфосинату зменшило токсичний вплив цих гербіцидів на одноклітинну зелену водорість хлорелу (*Chlorella vulgaris*). Додавання НПН збільшило в клітинах водорості активність антиоксидантних ферментів СОД, ПО та КАТ, порівняно з впливом самих гербіцидів. Відповідно добавляння НПН зменшило індуковане гербіцидами утворення АФК та накопичення продукту реакцій ПОЛ малонового діальдегіду (МДА). Поглинач NO нейтралізував захисний ефект НПН. Водночас висока концентрація НПН (100 мкМ) у поєднанні з гербіцидами посилювала утворення АФК та МДА й збільшувала пошкодження водоростей [127].

З'ясовано, що зменшення фітотоксичної дії завдяки впливу на вміст NO може досягатися й для гербіцидів, дія яких не пов'язана на пряму з утворенням АФК. Так, токсичний вплив на рослини гороху неселективного гербіциду гліфосату, дія якого зумовлена інгібуванням ключового ферменту шикіматного шляху 5-енолпірувілшикімат-3-фосфатсинтази, зменшувався за одночасної обробки НПН і гліфосатом [128].

Уявлення про те, що за дії гербіцидів із різними механізмами фітотоксичності загибель клітин рослин відбувається за механізмом ПЗК [129, 130] та даних щодо участі NO в індукції ПЗК [82–85] наводили на думку про можливість використання донорів NO зі збільшеною концентрацією для підвищення фітотоксичної дії гербіцидів. Однак з'ясувалося, що збільшення концентрації донора NO не гарантує зростання фітотоксичної дії, а спрямованість впливу, крім концентрації донора NO, може визначатися моментом обробки і механізмом дії гербіциду. Було встановлено, що обробка НПН у концентрації 2 мМ рослин вівса, які використовувалися як моделі однорічних злакових бур'янів, за 24 год до застосування гербіциду, інгібітору ацетил-КоА-карбоксилази (АКК), феноксапроп-етилу посилювала його фітотоксичну дію. Проте застосування НПН у тій самій концентрації одночасно з феноксапроп-етилом фітотоксичну дію навпаки послаблювало [131]. Аналогічний ефект спостерігався за обробки НПН і гербіцидом, інгібітором ацетолатсинтази (АЛС), трибенурон-метилом рослин соняшника, який використовували як модель однорічних дводольних бур'янів. Передобробка НПН посилювала, а сумісне застосування з гербіцидом — послаблювало фітотоксичну дію [132]. В умовах польового дослідження в посіві озимої пшениці за спільного застосування НПН у концентрації 2 мМ з

трибенурон-метилом і синтетичним ауксином 2,4-Д змін в ефективності контролювання бур'янів не було виявлено. Водночас за спільного застосування в посіві кукурудзи НПН із гербіцидом, інгібітором ППО, сафлюфенацилом ефективність контролювання однорічних злакових бур'янів істотно зростала [132].

Відомо, що інгібітори АКК та АЛС характеризуються повільним, а інгібітори ППО — швидким розвитком фітотоксичної дії. Зважаючи на це, на рослинах редьки олійної (*Raphanus sativus* L. var. *oleifera* Metzg.), які були моделлю однорічних дводольних бур'янів, досліджено вплив НПН на дію гербіцидів з більшою, ніж в інгібіторів АКК та АЛС, швидкістю розвитку фітотоксичної дії: інгібітору ППО карфентразону, синтетичного ауксину 2,4-Д [133], та інгібітору синтезу каротиноїдів аклоніфену [134]. Показано, що інгібувальна дія карфентразону за норми 15 г/га посилювалась за спільного застосування з НПН у концентрації 5 мМ, а за норми внесення карфентразону 20 г/га за обох досліджуваних концентрацій НПН — 2,5 і 5 мМ. Підсилення дії 2,4-Д за спільного застосування з НПН було меншим, ніж у карфентразону. Крім того, дія 2,4-Д посилювалась лише за концентрації НПН 5 мМ. Використання інактивованого НПН, який внаслідок витримування на світлі упродовж 24 год втрачав здатність утворювати NO, та сечовини в концентрації 15 мМ, яка за вмістом азоту еквівалентна розчину НПН у концентрації 5 мМ, не впливало на дію гербіцидів. Останнє є підтвердженням посилення інгібувальної дії карфентразону й 2,4-Д за спільного застосування з НПН внаслідок його здатності бути донором NO [133].

Вплив НПН на фітотоксичну дію аклоніфену досліджували в умовах вегетаційних дослідів на рослинах редьки олійної та у польовому досліді в посіві соняшника. Було встановлено, що на ранніх етапах розвитку фітотоксичної дії аклоніфену за добавляння НПН посилюється інгібувальний вплив на чутливі до аклоніфену види рослин. Водночас остаточна дія аклоніфену в межах рекомендованих норм внесення 0,6—1,2 кг/га як на чутливі, так і на стійкі види рослин не змінювалась за спільного застосування з НПН у концентраціях 1, 3 та 5 мМ. Отже, за спільного застосування з донором NO відбувалося лише прискорення розвитку фітотоксичної дії аклоніфену, а не її підсилення [134].

З метою визначення чинників, які детермінують характер впливу НПН на фітотоксичну дію гербіцидів, досліджено динаміку утворення NO за спільного й окремого застосування НПН і гербіцидів карфентразону, 2,4-Д та аклоніфену [135]. Встановлено, що за динамікою впливу на вміст NO дія карфентразону є практично ідентичною до дії НПН. Вплив 2,4-Д на вміст NO був короткочаснішим та менш інтенсивним, ніж вплив НПН і карфентразону. На відміну від карфентразону та 2,4-Д, аклоніфен майже не впливав на вміст NO в рослинах. Відповідно характер змін вмісту NO за спільного застосування гербіцидів з НПН був різним. Найбільше підвищення вмісту NO спостерігалось за спільного застосування НПН з карфентразоном. Зростання вмісту NO за спільного застосування НПН з 2,4-Д було меншим, ніж за дії НПН та карфентразону. За добавляння НПН до аклоніфену не спостерігалось збільшення вмісту NO порівняно з

дією одного НПН. Отримані результати дали змогу зробити висновок, що характер зміни фітотоксичної дії гербіцидів за спільного застосування з донором NO залежить від того, чи передбачає механізм фітотоксичної дії гербіциду утворення NO в оброблених рослинах і наскільки динаміка зростання вмісту NO за дії гербіциду збігається з дією донора NO. Виконання цих умов забезпечує зростання вмісту NO за спільного застосування НПН з інгібітором ППО карфентразоном та синтетичним ауксином 2,4-Д, наслідком чого є збільшення фітотоксичної дії цих гербіцидів [135].

Таким чином, проведений аналіз показав, що чинники, які перешкоджають широкому застосуванню донорів NO для підвищення толерантності рослин до дії абіотичних стресорів, мають об'єктивний характер. Зокрема, недостатня інформація щодо механізмів утворення NO в рослинах має наслідком те, що в умовах стресу рівень підвищення ендogenous вмісту NO під час застосування донорів NO передбачити досить складно. Беручи до уваги дозозалежність та поліфункціональність NO, коли підвищення ендogenous вмісту NO може сприяти підвищенню стійкості рослин, проте може й призводити до індукції програмованої загибелі клітин, невизначеність щодо рівня підвищення ендogenous вмісту NO є істотною перешкодою для ефективного застосування донорів NO. Фундаментальною перешкодою є також те, що остаточний ефект від застосування донорів NO може визначатися взаємодією NO з іншими сигнальними системами рослин, внаслідок чого характер впливу екзогенного NO залежить від фізіологічного стану рослин. Крім того, чинником, що перешкоджає, є складність визначення оптимального терміну для застосування донорів NO в умовах, коли мить початку дії стресора є невизначеною, а також забезпечення необхідної тривалості впливу екзогенного NO.

З огляду на це, необхідною передумовою для широкого використання донорів NO для підвищення толерантності рослин до дії абіотичних стресорів є прогрес у фундаментальних дослідженнях механізмів утворення NO в рослинах та механізмів NO-опосередкованого сигналіngu. Результатом цих досліджень має бути визначення чітких критеріїв, які б давали змогу з високим ступенем надійності завбачити характер впливу донорів NO на рослини. Істотним є також розробка донорів NO з пролонгованою дією, які б забезпечували поступове підвищення вмісту ендogenous NO упродовж тривалого часу.

Найперспективнішим напрямом, прогрес у якому, на наш погляд, може бути досягнутий найближчим часом, є застосування донорів NO для модифікації фітотоксичної дії гербіцидів, оскільки чинники, які визначають ефективність застосування донорів NO для цього, вже встановлені.

REFERENCES

1. Karpetz, Yu.V. (2019). Donors of nitric oxide and their application for increase in plant resistance to action of abiotic stressors. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.*, 48 (3), pp. 28-51 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.35550/vbio2019.03.028>

2. Sami, F., Faizan, M., Faraz, A., Siddiqui, H., Yusuf, M. & Hayat, S. (2018). Nitric oxide-mediated integrative alterations in plant metabolism to confer abiotic stress tolerance, NO crosstalk with phytohormones and NO-mediated post translational modifications in modulating diverse plant stress. *Nitric Oxide*, 73, pp. 22-38. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.12.005>
3. Zhou, X., Joshi, S., Khare, T., Patil, S., Shang, J. & Kumar, V. (2021). Nitric oxide, crosstalk with stress regulators and plant abiotic stress tolerance. *Plant Cell Rep.*, 40, pp. 1395-1414. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02705-5>
4. Praveen, A. (2022). Nitric oxide mediated alleviation of abiotic challenges in plants. *Nitric Oxide*, 128, pp. 37-49. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2022.08.005>
5. Klepper, L. (1979). Nitric oxide (NO) and nitrogen dioxide (NO₂) emissions from herbicide-treated soybean plants. *Atmospheric Environ.*, 13(4), pp. 537-542. [https://doi.org/10.1016/0004-6981\(79\)90148-3](https://doi.org/10.1016/0004-6981(79)90148-3)
6. Misra, A.N., Misra, M. & Singh, R. (2010) Nitric oxide biochemistry, mode of action and signaling in plants. *J. Med. Plants Res.*, 4(25), pp. 2729-2739. <http://www.academicjournals.org/JMPR>
7. Yu, M., Lamattina, L., Spoel, S.H. & Loake, G.J. (2014) Nitric oxide function in plant biology: a redox cue in deconvolution. *New Phytol.*, 202(4), pp. 1142-1156. <https://doi.org/10.1111/nph.12739>
8. Domingos, P., Prado, A.M., Wong, A., Gehring, C. & Feijo, J.A. (2015) Nitric Oxide: a Multitasked Signaling Gas in Plants. *Mol. Plant*, 8 (4), pp. 506-520. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.010>
9. Kolbert, Z., Barroso, J.B., Brouquisse, R., Corpas, F.J., Gupta, K.J., Lindermayr, C., Loake, G.J., Palma, J.M., Petrivalsky, 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>
10. Corpas, F.J. & Palma, J.M. (2020). Assessing nitric oxide (NO) in higher plants: an outline. *Nitrogen*, 1(1), pp. 12-20. <https://doi.org/10.3390/nitrogen1010003>
11. Verma, N., Tiwari, S., Singh, V.P. & Prasad, S.M. (2020). Nitric oxide in plants: an ancient molecule with new tasks. *Plant Growth Regul.*, 90, pp. 1-13. <https://doi.org/10.1007/s10725-019-00543-w>
12. Hancock, J.T. (2020). Nitric Oxide Signaling in Plants. *Plants*, 9(11), 1550. <https://doi.org/10.3390/plants9111550>
13. Gupta, K.J., Kaladhar, V.C., Fitzpatrick, T.B., Fernie, A.R., Müller, I.M. & Loake, G.J. (2022) Nitric oxide regulation of plant metabolism. *Mol. Plant*, 15 (2), pp. 228-242. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.12.012>
14. Arc, E., Sechet, J., Corbineau, F., Rajjou, L. & Marion-Poll, A. (2013) ABA crosstalk with ethylene and nitric oxide in seed dormancy and germination. *Front. Plant Sci., Sec. Plant Cell. Biol.*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00063>
15. Li R., Jia, Y., Yu, L., Yang, W., Chen, Z., Chen, H. & Hu, X. (2018). Nitric oxide promotes light-initiated seed germination by repressing PIF1 expression and stabilizing HFR1. *J. Plant Physiol. Biochem.*, 123, pp. 204-212. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.11.012>
16. Lopes-Oliveira, P.J., Oliveira, H.C., Kolbert, Z. & Freschi, L. (2021). The light and dark sides of nitric oxide: multifaceted roles of nitric oxide in plant responses to light. *J. Exp. Bot.*, 72(3), pp. 885–903. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa504>
17. Pande, A, Mun, B.G., Lee, D.S., Khan, M, Lee, G.M., Hussain, A. & Yun, B.W. (2021). NO Network for Plant–Microbe Communication. *Underground: A Review. Front. Plant Sci.*, 12:658679. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.658679>
18. Khan, M., Ali, S., Al Azzawi, T.N. I., Saqib, S., Ullah, F., Ayaz, A. & Zaman, W. (2023). The Key Roles of ROS and RNS as a Signaling Molecule in Plant–Microbe Interactions. *Antioxidants*, 12(2), 268. <https://doi.org/10.3390/antiox12020268>
19. Ren, H., Wang, D. & Liu, W. (2024). Nitric oxide shifts the impact of ionic liquid on microbial community structure in rhizosphere of Arabidopsis. *Chem. Ecol.*, 41(1), pp. 114-127. <https://doi.org/10.1080/02757540.2024.2402903>
20. Casaretto, E., Signorelli, S., Gallino, J.P., Vidal, S. & Borsani, O. (2021). Endogenous *NO accumulation in soybean is associated with initial stomatal response to water deficit. *Physiol. Plant.*, 172(2), pp. 564-576. <https://doi.org/10.1111/ppl.13259>

21. Ahammed, G.J., Li, X., Mao, Q., Wan, H., Zhou, G. & Cheng, Y. (2021). The SIWRKY81 transcription factor inhibits stomatal closure by attenuating nitric oxide accumulation in the guard cells of tomato under drought. *Physiol. Plant.*, 172(2), pp. 885-895. <https://doi.org/10.1111/ppl.13243>
22. Singh, N., Giri, M.K. & Chattopadhyay, D. (2025). Lighting the path: how light signaling regulates stomatal movement and plant immunity. *J. Exp. Bot.*, 76(3), pp. 769-786. <https://doi.org/10.1093/jxb/erae475>
23. Deng, Y., Wang, C., Huo, J., Hu, W. & Liao, W. (2019). The involvement of NO in ABA-delayed the senescence of cut roses by maintaining water content and antioxidant enzymes activity. *Sci. Hortic.*, 247, pp. 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.12.006>
24. Parveen, S., Altaf, F., Farooq, S., Lone, M.L., Haq, A. & Tahir, I. (2023). The swan-song of petal cell death: insights into the mechanism and regulation of ethylene-mediated flower senescence. *J. Exp. Bot.*, 74(14), pp. 3961-3974, <https://doi.org/10.1093/jxb/erad217>
25. Carillo, P. & Ferrante, A. (2025). Decoding the intricate metabolic and biochemical changes in plant senescence: a focus on chloroplasts and mitochondria. *Ann. Bot.*, mcaf003. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaf003>
26. Begara-Morales, J.C., Chaki, M., Valderrama, R., Sanchez-Calvo, B., Mata-Perez, C., Padilla, M.N., Corpas, F.J. & Barroso, J.B. (2018). Nitric oxide buffering and conditional nitric oxide release in stress response. *J. Exp. Bot.*, 69(14), pp. 3425-3438. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery072>
27. Khan, M., Ali, S., Al Azzawi, T.N.I. & Yun, B.-W. (2023). Nitric Oxide Acts as a Key Signaling Molecule in Plant Development under Stressful Conditions. *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 4782. <https://doi.org/10.3390/ijms24054782>
28. Yun, B.-W., Skelly, M.J., Yin, M., Yu, M., Mun, B.-G., Lee, S.-U., Hussain, A.I., Spoel, S.H. & Loake, G.J. (2016). Nitric oxide and S-nitrosoglutathione function additively during plant immunity. *New Phytol.*, 211(2), pp. 516-526. <https://doi.org/10.1111/nph.13903>
29. Graska, J., Fidler, J., Gietler, M., Prabucka, B., Nykiel, M. & Labudda, M. (2023). Nitric Oxide in Plant Functioning: Metabolism, Signaling, and Responses to Infestation with Ecdysozoa Parasites. *Biology*, 12(7), 927. <https://doi.org/10.3390/biology12070927>
30. Gogoi, K., Gogoi, H., Borgohain, M., Saikia, R., Chikkaputtaiah, C., Hiremath, S. & Basu, U. (2024). The molecular dynamics between reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS) and phytohormones in plant's response to biotic stress. *Plant Cell. Rep.*, 43, 263. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03343-3>
31. Shu, P., Sheng, J., Qing, Y. & Shen, L. (2025). SIATG5 is crucial for the accumulation of ROS in postharvest tomato fruit resistance to *B.cinerea* mediated by nitric oxide. *Postharvest Biol. Technol.*, 219, 113204. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2024.113204>
32. Joolaei, M., Pirdashti, H., Dehestani, A., Babaizad, V. & Mehraban, P. (2025). Nitric oxide-induced modulation of physiological and molecular responses in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants infected with *Xanthomonas perforans*. *J. Plant Mol. Breed.*, 13(1), pp. 39-59. <https://doi.org/10.22058/jpmb.2025.2053032.1334>
33. Asgher, M., Per, T.S., Masood, A., Fatma, M., Freschi, L., Corpas, F.J. & Khan, N.A. (2017). Nitric oxide signaling and its crosstalk with other plant growth regulators in plant responses to abiotic stress. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 24 (3), pp. 2273-2285. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7947-8>
34. Fancy, N.N., Bahlmann, A.K. & Loake, G.J. (2017). Nitric oxide function in plant abiotic stress. *Plant. Cell. Environ.*, 40(4), pp. 462-472. <https://doi.org/10.1111/pce.12707>
35. Allagulova, C.R., Lubyanova, A.R. & Avalbaev, A.M. (2023). Multiple Ways of Nitric Oxide Production in Plants and Its Functional Activity under Abiotic Stress Conditions. *Int. J. Mol. Sci.*, 24(14), 11637. <https://doi.org/10.3390/ijms241411637>
36. Khator, K., Parihar, S., Jasik, J. & Shekhawat, G.S. (2024). Nitric oxide in plants: an insight on redox activity and responses toward abiotic stress signaling. *Plant Signal. Behav.*, 19(1). <https://doi.org/10.1080/15592324.2023.2298053>

37. Johansson, A., Sarrette, B., Boscari, A., Prudent, M., Gruber, V., Brouquisse, R., Jacquet, C., Gough, C. & Pauly, N. (2025). The role of reactive oxygen, nitrogen and sulphur species in the integration of (a)biotic stress signals in legumes. *J. Exp. Bot.*, eraf175. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraf175>
38. Parankusam, S., Adimulam, S.S., Bhatnagar-Mathur, P. & Sharma, K.K. (2017). Nitric Oxide (NO) in Plant Heat Stress Tolerance: Current Knowledge and Perspectives. *Front. Plant Sci.*, 8, 1582. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01582>
39. Costa-Broseta, A., Perea-Resca, C., Castillo, M.C., Ruiz, M.F., Salinas, J. & Leyn, J. (2018). Nitric Oxide Controls Constitutive Freezing Tolerance in Arabidopsis by Attenuating the Levels of Osmoprotectants, Stress-Related Hormones and Anthocyanins. *Sci. Rep.*, 8, 9268. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27668-8>
40. Gao, X., Ma, J., Wang, G., Huang, S., Wu, X., Hu, L. & Yu, J. (2024). The S-nitrosylation of monodehydroascorbate reductase positively regulated the low temperature tolerance of mini Chinese cabbage. *Int. J. Biol. Macromol.*, 281(1), 136047. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136047>
41. Hu, Y., Lu, L., Tian, S., Li, S., Liu, X., Gao, X., Zhou, W. & Lin, X. (2019). Cadmium-induced nitric oxide burst enhances Cd tolerance at early stage in roots of a hyperaccumulator *Sedum alfredii* partially by altering glutathione metabolism. *Sci. Total Environ.*, 650(2), pp. 2761-2770. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.269>
42. Ghorbani, A., Pishkar, L., Roodbari, N., Pehlivan, N. & Wu, C. (2021). Nitric oxide could allay arsenic phytotoxicity in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by modulating photosynthetic pigments, phytochelatin metabolism, molecular redox status and arsenic sequestration. *Plant Physiol. Biochem.*, 167, pp. 337-348. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.08.019>
43. Song, K., Li, H., Yang, K., Ma, T., Hu, Y., Chen, J., Zhu, S. & Liu, W. (2025). Exogenous sodium nitroprusside exhibits multiple positive roles in alleviating cadmium toxicity in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.), *Nitric Oxide*, 154, pp. 8-18. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2024.11.002>
44. Fatma, M., Masood, A., Per, T.S. & Khan, N.A. (2016). Nitric Oxide Alleviates Salt Stress Inhibited Photosynthetic Performance by Interacting with Sulfur Assimilation in Mustard. *Front. Plant Sci., Sec. Plant Pat. Interact.*, 25, p. 521. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00521>
45. Arora, D. & Bhatla, S.C. (2017). Melatonin and nitric oxide regulate sunflower seedling growth under salt stress accompanying differential expression of Cu/Zn SOD and Mn SOD. *Free Radical Biol. Med.*, 106, pp. 315-328. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.02.042>
46. Jain, P., von Toerne, C., Lindermayr, C. & Bhatla, S.C. (2018). S-nitrosylation/denitrosylation as a regulatory mechanism of salt stress sensing in sunflower seedlings. *Physiol. Plant.*, 162(1), pp. 49-72. <https://doi.org/10.1111/ppl.12641>
47. Gong, B. & Shi, Q. (2019). Identifying S-nitrosylated proteins and unraveling S-nitrosylglutathione reductase-modulated sodic alkaline stress tolerance in *Solanum lycopersicum* L. *Plant Physiol. Biochem.*, 142, pp. 84-93. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.06.020>
48. Ahanger, M.A., Aziz, U., Alsahli, A.A., Alyemeni, M.N. & Ahmad, P. (2020). Influence of Exogenous Salicylic Acid and Nitric Oxide on Growth, Photosynthesis, and Ascorbate-Glutathione Cycle in Salt Stressed *Vigna angularis*. *Biomolecules*, 10(1), 42. <https://doi.org/10.3390/biom10010042>
49. Kaya, C., Higgs, D., Ashraf, M., Alyemeni, M.N. & Ahmad, P. (2020) Synergistic effects of hydrogen sulfide and nitric oxide in enhancing salt stress tolerance in cucumber seedlings. *Physiol. Plant., Special Issue: H₂S and NO signal integration*, 168(2), pp. 256-277. <https://doi.org/10.1111/ppl.70109>
50. Afzal, M.K., Habib, N. & Ashraf, M.A. (2025). Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide Coordinate to Improve Photosynthesis, Oxidative Defense, Osmoregulation, and Ions Homeostasis in Pea (*Pisum sativum* L.) Under Drought. *J. Soil Sci. Plant. Nutr.*, 25(1). <https://doi.org/10.1007/s42729-025-02283-5>
51. Wani, K.I., Naem, M., Castroverde, C.D. M., Kalaji, H.M., Albaqami, M. & Aftab, T. (2021). Molecular Mechanisms of Nitric Oxide (NO) Signaling and Reactive Oxygen

- Species (ROS) Homeostasis during Abiotic Stresses in Plants. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(17), 9656. <https://doi.org/10.3390/ijms22179656>
52. Zhang, J. & Liao, W. (2019). Protein S-nitrosylation in plant abiotic stresses. *Functional Plant Biol.*, 47(1), pp. 1-10. <https://doi.org/10.1071/FP19071>
53. Zhang, J., Huang, D., Wang, C., Wang, B., Fang, H., Huo, J. & Liao, W. (2019). Recent Progress in Protein S-Nitrosylation in Phytohormone Signaling. *Plant Cell Physiol.*, 60(3), pp. 494-502. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz012>
54. Feng, J., Chen, L. & Zuo, J. (2019). Protein S-Nitrosylation in plants: Current progresses and challenges. *J. Integr. Plant Biol.*, 61(12), pp. 1206-1223. <https://doi.org/10.1111/jipb.12780>
55. Fernando, V., Zheng, X., Walia, Y., Sharma, V., Letson, J. & Furuta, S. (2019). S-Nitrosylation: An Emerging Paradigm of Redox Signaling. *Antioxidants*, 8(9), 404. <https://doi.org/10.3390/antiox8090404>
56. Jahnová, J., Luhová, L. & Petrivalsky, M. (2019). S-Nitrosogluthione Reductase — The Master Regulator of Protein S-Nitrosation in Plant NO Signaling. *Plants*, 8(2), 48. <https://doi.org/10.3390/plants8020048>
57. Machchhu, F. & Wany, A. (2023). Protein S-nitrosylation in plants under biotic stress. *Theor. Exp. Plant Physiol.*, 35, pp. 331-339. <https://doi.org/10.1007/s40626-023-00289-x>
58. Saini, S., Sharma, P., Singh, P., Kumar, V., Yadav, P. & Sharma, A. (2023). Nitric oxide: An emerging warrior of plant physiology under abiotic stress. *Nitric Oxide*, 140-141, pp. 58-76. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2023.10.001>
59. Molina-Moya, E., Rodríguez-González, A., Peláez-Vico, M.A., Sandalio, L.M. & Romero-Puertas, M.C. (2025). Peroxisomal-dependent signalling and dynamics modulate plant stress responses: reactive oxygen and nitrogen species as key molecules. *J. Exp. Bot.*, eraf072. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraf072>
60. Gong, B. & Shi, Q. (2019). Identifying S-nitrosylated proteins and unraveling S-nitrosogluthione reductase-modulated sodic alkaline stress tolerance in *Solanum lycopersicum* L. *Plant Physiol. Biochem.*, 142, pp. 84-93. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.06.020>
61. Wei, L., Zhang, M., Wei, S., Zhang, J., Wang, C. & Liao, W. (2020). Roles of nitric oxide in heavy metal stress in plants: Cross-talk with phytohormones and protein S-nitrosylation. *Environ. Pollut.*, 259, 113943. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.113943>
62. Wei, L., Zhang, J., Wang, C. & Liao, W. (2020). Recent progress in the knowledge on the alleviating effect of nitric oxide on heavy metal stress in plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 147, pp. 161-171. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.12.021>
63. Reda, M., Golicka, A., Kabala, K. & Janicka, M. (2018). Involvement of NR and PM-NR in NO biosynthesis in cucumber plants subjected to salt stress. *Plant Sci.*, 267, pp. 55-64. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.004>
64. Qi, Q., Dong, Y., Liang, Y., Li, K., Xu, H. & Sun, X. (2020). Overexpression of SIMDHAR in transgenic tobacco increased salt stress tolerance involving S-nitrosylation regulation. *Plant Sci.*, 299, 110609. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110609>
65. Wu, P., Xiao, C., Cui, J., Hao, B., Zhang, W., Yang, Z., Ahammed, G.J., Liu, H. & Cui, H. (2021). Nitric Oxide and Its Interaction with Hydrogen Peroxide Enhance Plant Tolerance to Low Temperatures by Improving the Efficiency of the Calvin Cycle and the Ascorbate—Glutathione Cycle in Cucumber Seedlings. *J. Plant Growth Regul.*, 40, pp. 2390-2408. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10242-w>
66. Das, A., Pal, S., Hasanuzzaman, M., Adak, M.K. & Sil, S.K. (2025). Mitigation of aluminum toxicity in rice seedlings using biofabricated selenium nanoparticles and nitric oxide: Synergistic effects on oxidative stress tolerance and sulfur metabolism. *Chemosphere*, 370, 143940. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143940>
67. Kaya, C., Upurlar, F. & Seth, C.S. (2024). Sodium nitroprusside modulates oxidative and nitrosative processes in *Lycopersicon esculentum* L. under drought stress. *Plant Cell. Rep.*, 43, 152. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03238-3>
68. Munawar, A., Akram, N.A., Ahmad, A. & Ashraf, M. (2019). Nitric oxide regulates oxidative defense system, key metabolites and growth of broccoli (*Brassica oleracea* L.)

- plants under water limited conditions. *Sci. Hortic.*, 254, pp. 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.072>
69. Rezayian, M., Ebrahimzadeh, H. & Niknam, V. (2020). Nitric Oxide Stimulates Antioxidant System and Osmotic Adjustment in Soybean Under Drought Stress. *J. Soil. Sci. Plant Nutr.*, 20, pp. 1122-1132. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00198-x>
 70. Zhou, Q., Tian, Y., Li, X., Wang, X. & Dong, S. (2023). SNP application improves drought tolerance in soybean. *Sci. Rep.*, 13, 10911. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38088-8>
 71. Prabhu, B.M., Ramteke, P.W., Shukla, P.K., Mishra, P., Attri, A., Singh, B.R. & Pagire, G.S. (2018). Evaluation of response of exogenous nitric oxide on photosynthetic enzymes and pigments of C3 and C4 plants grown under drought stress. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, 7(3), pp. 2606-2612. <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue3/PartAI/7-3-102-732.pdf>
 72. Sehar, Z., Masood, A. & Khan, N.A. (2019). Nitric oxide reverses glucose-mediated photosynthetic repression in wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Environ. Ex. Bot.*, 161, pp. 277-289. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.01.010>
 73. Khator, K. & Shekhawat, G.S. (2019). Nitric oxide improved salt stress tolerance by osmolyte accumulation and activation of antioxidant defense system in seedling of *B. juncea* (L.). *Czern. Vegetos*, 32, pp. 583-592. <https://doi.org/10.1007/s42535-019-00071-y>
 74. Siddiqui, M.H., Alamri, S.A., Al-Khaishany, M.Y., Al-Qutami, A., AL-Rabiah, H. & Kalaji, H.M. (2017). Exogenous application of nitric oxide and spermidine reduces the negative effects of salt stress on tomato. *Hortic. Environ. Biotechnol.*, 58, pp. 537-547. <https://doi.org/10.1007/s13580-017-0353-4>
 75. Wei, L., Zhang, J., Wei, S., Deng, Y., Hu, D., Liu, H., Gong, W., Pan, Y. & Liao, W. (2022). Nitric oxide alleviates salt stress through protein S-nitrosylation and transcriptional regulation in tomato seedlings. *Planta*, 256(6). <https://doi.org/10.1007/s00425-022-04015-w>
 76. Wang, C., Wei, L., Zhang, J., Hu, D., Gao, R., Liu, Y., Feng, L., Gong, W. & Liao, W. (2023). Nitric Oxide Enhances Salt Tolerance in Tomato Seedlings by Regulating Endogenous S-nitrosylation Levels. *J. Plant Growth Regul.*, 42, pp. 275-293. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10546-5>
 77. Li, S.-W., Li, Y., Leng, Y., Zeng, X.-Y. & Ma, Y.-H. (2019). Nitric oxide donor improves adventitious rooting in mung bean hypocotyl cuttings exposed to cadmium and osmotic stresses. *Environ. Exp. Bot.*, 164, pp. 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.05.004>
 78. Piacentini, D., Ronzan, M., Fattorini, L., Della Rovere, F., Massimi, L., Altamura, M.M. & Falasca, G. (2020). Nitric oxide alleviates cadmium- but not arsenic-induced damages in rice roots. *Plant Physiol. Biochem.*, 151, pp. 729-742. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.04.004>
 79. Singh, P.K., Indoliya, Y. & Chauhan, A.S. (2017). Nitric oxide mediated transcriptional modulation enhances plant adaptive responses to arsenic stress. *Sci. Rep.*, 7, 3592. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03923-2>
 80. Rizwan, M., Mostofa, M.G., Ahmad, M.Z., Imtiaz, M., Mehmood, S., Adeel, M., Dai, Z., Li, Z., Aziz, O., Zhang, Y. & Tu, S. (2018). Nitric oxide induces rice tolerance to excessive nickel by regulating nickel uptake, reactive oxygen species detoxification and defense-related gene expression. *Chemosphere*, 191, pp. 23-35. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.068>
 81. Tripathi, D.K., Singh, S., Singh, S., Srivastava, P.K., Singh, V.P., Singh, S., Prasad, S.M., Singh, P.K., Dubey, N.K., Pandey, A.C. & Chauhan, D.K. (2017). Nitric oxide alleviates silver nanoparticles (AgNps)-induced phytotoxicity in *Pisum sativum* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 110, pp. 167-177. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.015>
 82. Clarke, A., Desikan, R., Hurst, R.D., Hancock, J.T. & Neill, S.J. (2000). NO way back: nitric oxide and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures. *Plant J.*, 24(5), pp. 667-677. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113x.2000.00911.x>
 83. Lin, A., Wang, Y., Tang, J., Xue, P., Li, C., Liu, L., Hu, B., Yang, F., Loake, G.J. & Chu, C. (2012). Nitric Oxide and Protein S-Nitrosylation Are Integral to Hydrogen

- Peroxide-Induced Leaf Cell Death in Rice. *Plant Physiol.*, 158 (1), pp. 451-464. <https://doi.org/10.1104/pp.111.184531>
84. De Pinto, M.C., Locato, V., Sgobba, A., Romero-Puertas, M.d.C., Gadaleta, C., Delledonne, M. & De Gara, L. (2013). S-Nitrosylation of Ascorbate Peroxidase Is Part of Programmed Cell Death Signaling in Tobacco Bright Yellow-2 Cells. *Plant Physiol.*, 163(4), pp. 1766-1775. <https://doi.org/10.1104/pp.113.222703>
 85. Bagniewska-Zadworna, A., Arasimowicz-Jelonek, M., Smolinski, D.J. & Stelmasik, A. (2014). New insights into pioneer root xylem development: evidence obtained from *Populus trichocarpa* plants grown under field conditions. *Ann. Bot.*, 113(7), pp. 1235-1247. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu063>
 86. Bruand, C. & Meilhoc, E. (2019). Nitric oxide in plants: pro- or anti-senescence. *J. Ex. Bot.*, 70(17), pp. 4419-4427. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz117>
 87. Vitecek, J., Wunschova, A., Petrek, J., Adam, V., Kizek, R. & Havel, L. (2007). Cell death induced by sodium nitroprusside and hydrogen peroxide in tobacco BY-2 cell suspension. *Biol. Plant.*, 51, pp. 472-479. <https://doi.org/10.1007/s10535-007-0099-4>
 88. De Michele, R., Vurro, E., Rigo, C., Costa, A., Elviri, L., Di Valentin, M., Careri, M., Zottini, M., di Toppi, L.S. & Lo Schiavo, F. (2009). Nitric Oxide Is Involved in Cadmium-Induced Programmed Cell Death in *Arabidopsis* Suspension Cultures. *Plant Physiol.*, 150, pp. 217-228. www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.108.133397
 89. Pan, C., Li, X., Yao, S., Luo, S., Liu, S., Wang, A., Xiao, D., Zhan, J. & He, L. (2021). S-nitrosated proteomic analysis reveals the regulatory roles of protein S-nitrosation and S-nitrosoglutathione reductase during Al-induced PCD in peanut root tips. *Plant Sci.*, 308, 110931. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.110931>
 90. He, H., Huang, W., Oo, T.L., Gu, M., Zhan, J., Wang, A. & He L.-F. (2018). Nitric oxide suppresses aluminum-induced programmed cell death in peanut (*Arachis hypogaea* L.) root tips by improving mitochondrial physiological properties. *Nitric Oxide*, 74, pp. 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2018.01.003>
 91. He, H., Oo, TL, Huang, W., He, L.F. & Gu, M. (2019). Nitric oxide acts as an antioxidant and inhibits programmed cell death induced by aluminum in the root tips of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Sci. Rep.*, 9(1), 9516. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46036-8>
 92. Huang, D., Chen, X., Yun, F., Fang, H., Wang, C. & Liao, W. (2024). Nitric oxide alleviates programmed cell death induced by cadmium in *Solanum lycopersicum* seedlings through protein S-nitrosylation. *Sci. Total Environ.*, 931, 172812. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172812>
 93. Kacprzyk, J., Daly, C.T. & Mc Cabe, P.F. (Eds.) (2011). *The Botanical Dance of Death: Programmed Cell Death in Plants*. *Advances in Botanical Research*, 60, Burlington: Academic Press, pp. 169-261. <http://hdl.handle.net/10197/3454>
 94. Avin-Wittenberg, T. (2018). Autophagy and its role in plant abiotic stress management. *Plant Cell. Environ.*, 42(3), pp. 1045-1053. <https://doi.org/10.1111/pce.13404>
 95. Liao, C-Yi. & Bassham, D.C. (2020). Combating stress: the interplay between hormone signaling and autophagy in plants. *J. Ex. Bot.*, 71(5), pp. 1723-1733. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz515>
 96. Yue, J.-Y., Wang, W.-W., Dou, X.-T., Wang, Y.-J., Jiao, J.-L. & Wang, H.-Z. (2022). Overexpression of the autophagy-related gene TaATG8 enhances wheat seedling tolerance to salt stress by increasing autophagic activity. *Crop Pasture Sci.*, 73(12), pp. 1325-1333. <https://doi.org/10.1071/CP22086>
 97. Liu, M., Ma, L., Tang, Y., Yang, W., Yang, Y., Xi, J., Wang, X., Zhu, W., Xue, J., Zhang, X. & Xu, S. (2024). Maize Autophagy-Related Protein ZmATG3 Confers Tolerance to Multiple Abiotic Stresses. *Plants*, 13(12), 1637. <https://doi.org/10.3390/plants13121637>
 98. Yagyu, M. & Yoshimoto, K. (2024). New insights into plant autophagy: molecular mechanisms and roles in development and stress responses. *J. Ex. Bot.*, 75(5), pp. 1234—1251. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad459>

99. Agbemaflle, W., Jayasinghe, V. & Bassham, D.C. (2025). Can autophagy enhance crop resilience to environmental stress? *Phil. Trans. R. Soc.* B38020240245. <http://doi.org/10.1098/rstb.2024.0245>
100. Zhou, L.L., Gao, K.Y. & Cheng, L.S. (2021). Short-term waterlogging-induced autophagy in root cells of wheat can inhibit programmed cell death. *Protoplasma*, 258, pp. 891-904. <https://doi.org/10.1007/s00709-021-01610-8>
101. Huang, X., Yan, H., Xu, Z., Yang, B., Luo, P. & He, Q. (2025). The inducible role of autophagy in cell death: emerging evidence and future perspectives. *Cell Commun. Signal.*, 23, 151. <https://doi.org/10.1186/s12964-025-02135-w>
102. Kuo, E.Y., Chang, H.-L., Lin, S.-T. & Lee, T.-M. (2020) High Light-Induced Nitric Oxide Production Induces Autophagy and Cell Death in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Front. Plant Sci., Sec. Plant Cell Biol.*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00772>
103. Sarkar, S., Korolchuk, V.I., Renna, M., Imarisio, S., Fleming, A., Williams, A., Garcia-Arencibia, M., Rose, C., Luo, S., Underwood, B.R., Kroemer, G., O’Kane, C.J. & Rubinsztein, D.C. (2011). Complex Inhibitory Effects of Nitric Oxide on Autophagy. *Mol. Cell*, 43(1), pp. 19-32. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.04.029>
104. Filomeni, G., De Zio, D. & Cecconi, F. (2015). Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs. *Cell Death Differ.* 22, pp. 377-388. <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.150>
105. Sadhu, A., Moriyasu, Y., Acharya, K. & Bandyopadhyay, M. (2019). Nitric oxide and ROS mediate autophagy and regulate *Alternaria alternata* toxin-induced cell death in tobacco BY-2 cells. *Sci. Rep.* 9, 8973. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45470-y>
106. Lutter, F., Brenner, W., Krajinski-Barth, F. & Safavi-Rizi, V. (2024). Nitric oxide and cytokinin cross-talk and their role in plant hypoxia response. *Plant Signal. Behav.*, 19(1). <https://doi.org/10.1080/15592324.2024.2329841>
107. Zhang, J., Cheng, K., Liu, X., Dai, Z., Zheng, L. & Wang, Y. (2023). Exogenous abscisic acid and sodium nitroprusside regulate flavonoid biosynthesis and photosynthesis of *Nitraria tangutorum* Bobr in alkali stress. *Front. Plant Sci.*, 14, 1118984. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1118984>
108. Corpas, F.J., Gonzalez-Gordo, S., Cacas, A. & Palma, J.M. (2019). Nitric oxide and hydrogen sulfide in plants: which comes first? *J. Ex. Bot.*, 70(17), pp. 4391-4404. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz031>
109. Bhadwal, S.S., Verma, S., Hassan, S. & Kaur, S. (2024). Unraveling the potential of hydrogen sulfide as a signaling molecule for plant development and environmental stress responses: A state-of-the-art review. *Plant Physiol. Biochem.*, 212, 108730. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108730>
110. Singh, G., Patel, A., Tiwari, S., Gupta, D. & Prasad, S.M. (2022). Signaling molecules hydrogen sulfide (H₂S) and nitric oxide (NO): role in microalgae under adverse environmental conditions. *Acta Physiol. Plant.* 44, 68. <https://doi.org/10.1007/s11738-022-03404-8>
111. Del Río, L.A. (2015). ROS and RNS in plant physiology: an overview, *J. Ex. Bot.*, 66(10), pp. 2827-2837. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv099>
112. Kohli, S.K., Khanna, K., Bhardwaj, R., Abd_Allah, E.F., Ahmad, P., & Corpas, F.J. (2019). Assessment of Subcellular ROS and NO Metabolism in Higher Plants: Multifunctional Signaling Molecules. *Antioxidants*, 8(12), 641. <https://doi.org/10.3390/antiox8120641>
113. Corpas, F.J., González-Gordo, S., Palma, J.M. (2021). Nitric Oxide (NO) Scaffolds the Peroxisomal Protein–Protein Interaction Network in Higher Plants. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(5), 2444. <https://doi.org/10.3390/ijms22052444>
114. Corpas, F.J., del Río, L.A., & Palma, J.M. (2019). Plant peroxisomes at the crossroad of NO and H₂O₂ metabolism. *J. Int. Plant Biol.*, 61(7), pp. 803-816. <https://doi.org/10.1111/jipb.12772>
115. Ergashev, U., Yu, M., Luo, L., Tang, J., & Han, Y. (2024). The Key Targets of NO-Mediated Post-Translation Modification (PTM) Highlighting the Dynamic Metabolism

- of ROS and RNS in Peroxisomes. *Int. J. Mol. Sci.*, 25(16), 8873. <https://doi.org/10.3390/ijms25168873>
116. Corpas, F.J., del Río, L.A. & Palma, J.M. (2019). Impact of Nitric Oxide (NO) on the ROS Metabolism of Peroxisomes. *Plants*, 8(2), 37. <https://doi.org/10.3390/plants8020037>
 117. Lindermayr, C. (2018). Crosstalk between reactive oxygen species and nitric oxide in plants: Key role of S-nitrosoglutathione reductase. *Free Radic. Biolog. Med.*, 122, pp. 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.11.027>
 118. Wang, Y., Loake, G.J. & Chu, C. (2013) Cross-talk of nitric oxide and reactive oxygen species in plant programmed cell death. *Front. Plant Sci., Sec. Plant Physiol.*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00314>
 119. Serrano, I., Romero-Puertas, M.C., Sandalio, L.M. & Olmedilla, A. (2015). The role of reactive oxygen species and nitric oxide in programmed cell death associated with self-incompatibility. *J. Exp. Bot.*, 66(10), pp. 2869-2876. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv083>
 120. Locato, V., Paradiso, A., Sabetta, W., De Gara, L. & de Pinto, M.C. (2016). Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species in PCD Signaling. *Advances in Botanical Research*. Chapter Nine. Editor(s): David Wendehenne, Academic Press, 77, pp. 165-192. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2015.10.008>
 121. Beligni, M.V. & Lamattina, L. (1999). Nitric oxide protects against cellular damage produced by methylviologen herbicides in potato plants. *Nitric Oxide*, 3(3), pp. 199-208. <https://doi.org/10.1006/niox.1999.0222>. PMID: 10442851
 122. Hung, K.T., Chang, C.J. & Kao, C.H. (2002). Paraquat toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *J. Plant. Physiol.*, 159(2), pp. 159-166. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00692>
 123. Chen, R., Sun, S., Wang, C., Li, Y., Liang, Y., An, F., Li, C., Dong, H., Yang, X., Zhang, J. & Zuo, J. (2009) The Arabidopsis PARAQUAT RESISTANT2 gene encodes an S-nitrosoglutathione reductase that is a key regulator of cell death. *Cell Res.*, 19, pp. 1377-1387. <https://doi.org/10.1038/cr.2009.117>
 124. Murgia, I., Tarantino, D., Vannini, C., Bracale, M., Carravieri, S. & Soave, C. (2004). Arabidopsis thaliana plants overexpressing thylakoidal ascorbate peroxidase show increased resistance to Paraquat-induced photooxidative stress and to nitric oxide-induced cell death. *Plant J.*, 38(6), pp. 940-53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02092.x>
 125. Li, Z.-C., Ren, Q.-W., Guo, Y., Ran, J., Ren, X.-T., Wu, N.-N., Xu, H.-Y., Liu, X. & Liu, J.-Z. (2021). Dual Roles of GSNOR1 in Cell Death and Immunity in Tetraploid *Nicotiana tabacum*. *Front. Plant Sci.* 12, 596234. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.596234>
 126. Ferreira, L.C., Cataneo, A.C., Remaeh, L.M., Coriani, N., Fumis, T., Soyza, Y.A., Scavroni, J. & Soares, B.J. (2009). Nitric oxide reduces oxidative stress generated by lactofen in soybean plants. *Pesticide biochemistry and physiology*, 97(1), pp. 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.12.003>
 127. Qian, H., Chen, W., Li, J., Wang, J., Zhou, Z., Liu, W. & Fu, Z. (2009). The effect of exogenous nitric oxide on alleviating herbicide damage in *Chlorella vulgaris*. *Aquat Toxicol.*, 92(4), pp. 250-257. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.02.008>
 128. Singh, H., Singh, N.B., Singh, A., Hussain, I. & Yadav, V. (2017). Physiological and biochemical roles of nitric oxide against toxicity produced by glyphosate herbicide in *Pisum sativum*. *R. J. Plant Physiol.*, 64(4), pp. 518-524. <https://doi.org/10.1134/S1021443717040136>
 129. Morderer, Y.Y., Radchenko, M.P. & Sychuk, A.M. (2013). Programmed cell death in the pathogenesis, induced by herbicides in plants. *Fiziol. rast. genet.*, 45, No 6, pp. 517-526 [in Ukrainian]. <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/159373>
 130. Morderer, Y.Y. (2023). What is missing to create new herbicides and solving the problem of resistance? *Fiziol. rast. genet.*, 55, No 5, pp. 371-394. <https://doi.org/10.15407/frg2023.05.371>
 131. Sychuk, A., Radchenko, M. & Morderer, Y. (2013). The increase of phytotoxic action of graminicide fenoxaprop-p-ethyl by NO donor sodium nitroprusside. *Science and*

- Education a New Dimension: Natural and Technical Sci., I (2), No 15, pp. 21-22. Retrieved from <https://seanewdim.com/wp-content/uploads/2021/02/Sychuk-A.-Radchenko-M.-Morderer-E.-The-increase-of-phytotoxic-action-of-graminicide-fenoxaprop-P-ethyl-by-NO-donor-sodium-nitroprusside.pdf>
132. Sychuk, A.M. (2015). The participation of programmed cell death in the herbicides induced pathogenesis. Thesis for PhD sci. degree in biological sci., spec. 03.00.12. Plant Physiology. Institute of Plant Physiology and Genetics. Kyiv, Ukraine [in Ukrainian].
133. Ponomareva, I.G., Khandezhyna, M.V. & Radchenko, M.P. (2022). Increase in the phytotoxic effect of protoporphyrinogen oxidase inhibiting herbicide carfentrazone and herbicide synthetic auxin 2,4-D by join use with the NO donor sodium nitroprusside. *Fiziol. rast. genet.*, 54, No 5, pp. 419-428 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2022.05.419>
134. Ponomareva, I.G. & Yukhymuk, V.V. (2023). Acceleration of herbicide aclonifen phytotoxic action by join application with no donor sodium nitroprusside. *Fiziol. rast. genet.*, 55, No. 5, pp. 450-460 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2023.05.450>
135. Ponomarova, I.G., Storozhenko, V.O., Yukhymuk, V.V. & Morderer, Y.Y. (2025). The effect of sodium nitroprusside on the action of herbicides, protoporphyrinogen oxidase inhibitors, and synthetic auxins. *Regul. Mechan. Biosyst.*, 16(1), e25030. <https://doi.org/10.15421/0225030>

Received 02.12.2025

WHAT HINDERS THE WIDE USE OF NITROGEN OXIDE DONORS TO INCREASE PLANT TOLERANCE TO ABIOTIC STRESSORS

I.G. Ponomarova, Ye.Yu. Morderer

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: ifrig@ukr.net

The review considers the latest data on the physiological functions of nitric oxide (NO) in plants, the use of NO donors to increase plant tolerance to abiotic stressors, and analyzes the factors that prevent the widespread use of NO donors in plant growing. It was determined that one of these factors is that under stress conditions, it is quite difficult to accurately predict the level of increase in endogenous NO content when using NO donors. Given the dose-dependence and polyfunctionality of NO, when increasing endogenous NO content can contribute to increasing plant resistance, but can also lead to the induction of programmed cell death, uncertainty about the level of increase in endogenous NO content is a significant obstacle to the effective use of NO donors. Another fundamental obstacle is that the final effect of using NO donors can be determined by the interaction of NO with other plant signaling systems, as a result of which the nature of the effect of exogenous NO depends on the physiological state of plants. In addition, the difficulty in determining the optimal moment for the application of NO donors in conditions where the moment of onset of the stressor is uncertain, as well as ensuring the necessary duration of the effect of exogenous NO, is also an obstacle. It is concluded that a necessary prerequisite for the widespread use of NO donors to increase plant tolerance to the effects of abiotic stressors is progress in fundamental research into the mechanisms of NO formation in plants, mechanisms of NO-mediated signaling, and the definition of clear criteria that would allow predicting the nature

of the effect of NO donors on plants with a high degree of reliability. It is also essential to develop NO donors with prolonged action, which would provide a gradual increase in the content of endogenous NO over a long period of time. It is stated that the most promising direction, progress in which can be achieved in the near future, is the use of NO donors to modify the phytotoxic effect of herbicides.

Key words: NO, nitric oxide donors, signaling, abiotic stressors, herbicides.

ORCID

І.Г. ПОНОМАРЬОВА — I.G. Ponomareva <https://orcid.org/0009-0008-5184-4912>

Є.Ю. МОРДЕРЕП — Ye.Yu. Morderer <https://orcid.org/0000-0001-7237-3429>