

· 研究论文 ·

DELLA蛋白参与拟南芥幼苗对一氧化氮逆境的抵抗

姚涛^{1†}, 白素兰^{1*}, 李苗苗¹, 张耀川², 何奕昆^{1*}

¹首都师范大学生命科学学院, 北京 100048; ²北京农业职业学院, 北京 102442

摘要 DELLA蛋白是赤霉素信号途径中的一类对植物生长起抑制作用的重要蛋白质, 在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组中已经鉴定出5个DELLA蛋白基因。目前研究发现, DELLA蛋白在抗逆中也起了重要的作用。近年来, 一氧化氮(nitric oxide, NO)的研究工作取得重要进展, 低浓度的NO能够促进植物的生长, 但在高浓度下它对植物生长起抑制作用甚至导致细胞死亡。通过外施一氧化氮供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP), 研究高浓度NO对拟南芥幼苗生长的影响, 发现植物体内H₂O₂积累, 幼苗死亡。通过研究DELLA蛋白基因表达的变化及其相关突变体的表型, 证明DELLA蛋白在抵抗NO逆境中起了重要作用。研究结果揭示了DELLA蛋白与NO逆境的关系, 为今后科学指导农业生产提供了理论依据。

关键词 细胞死亡, DELLA蛋白, 一氧化氮, 抗逆

姚涛, 白素兰, 李苗苗, 张耀川, 何奕昆 (2011). DELLA蛋白参与拟南芥幼苗对一氧化氮逆境的抵抗. 植物学报 46, 481–488.

植物生活的“不动性”决定其必须进化出一套完整的防御系统来响应外界环境的变化。DELLA蛋白是一类赤霉素(gibberellins, GA)信号途径的关键阻遏物, 在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中有5个成员, 它们是GAI、RGA、RGL1、RGL2和RGL3。DELLA蛋白介导了赤霉素信号途径的众多生理效应, 如种子萌发、茎秆和根的伸长、开花、果实和种子的发育等(Olszewski et al., 2002)。近年来研究发现, DELLA蛋白能够响应和抵抗逆境胁迫。高盐胁迫能够激活脱落酸(abscisic acid, ABA)信号, 从而促进DELLA蛋白的积累, 抑制植物生长, 增强抗性(Achard et al., 2006)。低温能够提高赤霉素合成途径中GA2ox3和GA2ox6基因的表达, 从而减少体内活性GA的含量, 稳定DELLA蛋白, 提高植物的抗冷能力(Achard et al., 2008a)。低磷也可以通过降低GA水平来控制DELLA蛋白的积累, 导致植物的生长发育抑制, 提高植物对低磷的耐受能力(Jiang et al., 2007)。DELLA蛋白通过调节水杨酸(salicylic acid, SA)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号途径的平衡来响应生物胁迫, DELLA蛋白的积累可以提高对死体寄生菌的抗性和

对活体寄生菌的敏感性(Navarro et al., 2008)。总之, DELLA蛋白在整合逆境信号及提高植物抗性方面起着非常重要的作用。

一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种信号分子, 在植物对生物和非生物逆境的响应、种子萌发、光形态建成、根系发育、叶片伸展、开花、衰老、果实成熟等方面都有重要作用(Crawford and Guo, 2005)。由于NO对植物的影响具有浓度效应(Anderson and Mansfield, 1979), 即在低浓度时能够促进植物生长, 但在高浓度下抑制其生长甚至杀死植物。过氧化氢是活性氧(reactive oxygen species, ROS)的一种, NO通常与H₂O₂一起通过特定的浓度平衡来促进或抑制细胞死亡(Delledonne et al., 2001; Beligni et al., 2002; de Pinto et al., 2006)。大量研究表明, 植物抵抗病原菌侵害时, 能够在细胞间和细胞内部积累大量NO并促进细胞程序性死亡, 从而提高植物对病原菌的抗性(Allan and Fluhr, 1997; Clarke et al., 2000; Romero-Puertas et al., 2004)。此外, 也有报道表明, NO参与机械损伤、细胞分裂素所诱导的植物程序性细胞死亡(Garcês et al., 2001; Carimi et al., 2005)。

收稿日期: 2011-02-09; 接受日期: 2011-05-24

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(No.2007CB948201)、国家自然科学基金(No.30771094)和北京市自然科学基金(No.5082003, No.5112006)

† 共同第一作者。

* 通讯作者。E-mail: sulanb@sina.com; yhe@mail.cnu.edu.cn

NO参与众多的生物和非生物胁迫反应,被认为是一种普遍的逆境信号分子(Gould et al., 2003)。

NO是一种信号分子,同时也是环境污染气体中的一种成分。本研究通过外施NO供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP),研究高浓度NO对拟南芥幼苗生长发育的影响,并通过对DELLA蛋白基因表达及其突变体表型的研究,探讨DELLA蛋白对NO逆境响应和抵抗的分子机理。

1 材料与方法

1.1 植物材料及处理

实验材料为拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.) Landsberg (Ler)野生型、*ga1-3*、*tetra*、*penta*突变体和35S-TAP-DELLAs(35S-TAP-GAI/Ler, 35S-TAP-RGA/Ler, 35S-TAP-RGL1/Ler, 35S-TAP-RGL2/Ler, 35S-TAP-RGL3/Ler)转基因株系。所有材料遗传背景均为Ler。其中,*tetra*突变体缺失了4个DELLA蛋白(GAI、RGA、RGL1和RGL2);*penta*突变体缺失了5个蛋白(GAI、GAI、RGA、RGL1和RGL2);TAP(tandem affinity purification)标签包含2×IgG结合结构域、3C蛋白酶断裂位点、6×His和9×myc标签。

拟南芥种子播种于含0.8%琼脂的1/2MS培养基上萌发,4°C避光春化3天,23°C光照下垂直培养,光照强度为150 μmol·m⁻²·s⁻¹,光周期为16小时/8小时。待幼苗生长5天后,将不同浓度的SNP与少量琼脂培养基混匀,加到培养皿的上盖,连续光照释放NO,观察幼苗的生长状况。

1.2 主要试剂

MS盐、DAB(3',3'-diaminobenzidine)、PI(propidium iodide)、硝普钠(SNP)购于Sigma公司。TRIZOL购于Invitrogen公司。cDNA第1链合成试剂盒、Taq酶购于Takara公司。MYC鼠源单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠和羊抗兔抗体购于Abmart公司。内参蛋白RPN6抗体购自Milipore公司。

1.3 DAB染色

取拟南芥幼苗整株于2 mL离心管中,加入适量DAB染液(1 mg·mL⁻¹, pH 5.5),28°C避光保存2小时。随后取出染液,加入80%乙醇脱色,在Leica多功能显微

镜下观察并拍照。

1.4 PI染色

拟南芥幼苗在10 μg·mL⁻¹的PI染液中染色2分钟,制成水封装片,在激光共聚焦扫描显微镜Leica SP2(德国Leica)下观察并拍照。

1.5 RT-PCR分析基因表达

采用TRIZOL法提取拟南芥幼苗总RNA。反转录采用Takara公司cDNA第1链合成试剂盒,按照试剂盒说明书进行操作。根据DELLA蛋白基因和UBQ基因序列各设计2对引物,引物序列见表1。

PCR扩增体系为:总体积25 μL,包含10×PCR buffer(含Mg²⁺) 2.5 μL,2.5 μmol·L⁻¹dNTP 4 μL,10 μmol·L⁻¹正向、反向引物各2 μL,cDNA模板1 μL,ddH₂O 13.5 μL,2 U·μL⁻¹Taq酶0.5 μL。PCR扩增程序为:94°C预变性2分钟;94°C变性20秒,58°C退火30秒,72°C延伸30秒,18个循环;72°C延伸10分钟。PCR产物用1%琼脂糖电泳检测并拍照。

1.6 Western blot分析

提取拟南芥幼苗总蛋白,并用考马斯亮蓝法定量。取40 μg总蛋白经SDS-PAGE电泳后,电转移至硝酸纤维素膜上,浸泡于5%脱脂牛奶中封闭1小时,加入一抗MYC抗体4°C缓慢摇动孵育过夜;0.1% TBST(含50 mmol·L⁻¹Tris-HCl,150 mmol·L⁻¹NaCl,0.1% Tween-20, pH7.5)洗涤3次,每次10分钟,加入带有

表1 RT-PCR扩增DELLA基因和内源对照基因UBQ的引物序列
Table 1 Primers used in RT-PCR of DELLAs and UBQ genes

Gene	Sequences of primers
<i>AtGAI</i>	5'-CGTCGTCTAACGCCGAGTA-3' 5'-GTTTGAGCATTTCACCCG-3'
<i>AtRGA</i>	5'-CTCCTCTCCGGCGAGTT-3' 5'-GTTGTCGTACCCGTCGT-3'
<i>AtRGL1</i>	5'-TGACCCGACCCGGATT-3' 5'-AGAGCGCGTAGAGGATA-3'
<i>AtRGL2</i>	5'-GAACAACCCGGCTTCTT-3' 5'-TCGTCCGACGATTCCGA-3'
<i>AtRGL3</i>	5'-TAATTACTACCCGGAT-3' 5'-GCTGGTCACTGAGTCA-3'
<i>AtUBQ</i>	5'-CAAGAGCGCGACTGTTTAAAG-3' 5'-CATTTGTGCCATTGAATTGAAC-3'

过氧化物酶(HRP)标记的二抗, 室温反应1小时; TBS-T洗涤3次, 每次10分钟。采用ECL液(GE公司)化学发光方法检测蛋白, 于X光片上曝光。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度NO对拟南芥幼苗生长的影响

拟南芥幼苗对NO的反应具有浓度效应。为了研究不同浓度NO对拟南芥幼苗的影响, 我们进行了浓度梯度实验。对生长5天的幼苗, 分别外施0、10、25、50、75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP, 发现NO能够抑制幼苗生长(图1A–E)。但NO对拟南芥幼苗的伤害主要发生在外施50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上高浓度的SNP, 表现为子叶的漂白和根尖细胞死亡(图1D, E, I, J)。因此在随后的实验中我们选取50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP作为处理浓度来检测高浓度NO对幼苗的伤害。

2.2 高浓度NO对拟南芥幼苗的影响

高浓度的NO能够对拟南芥幼苗造成毒害, 严重时致其死亡。如图2A–D所示, 生长5天的幼苗, 外施50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP, 24小时后可见明显的子叶漂白的现象, 随后整株死亡。分别测定SNP处理后不同时间点拟南芥幼苗的离子渗漏情况, 发现随着处理时间的延长, 细胞膜的完整性受破坏加重, 电导率逐步提高并于36小时后达到最高(图2E)。

2.3 高浓度NO对拟南芥幼苗中 H_2O_2 积累的影响

NO能够与 H_2O_2 相互作用对拟南芥幼苗造成伤害。采用DAB染色方法检测NO对拟南芥幼苗体内 H_2O_2 含量的影响。如图3所示, 生长5天的幼苗, 外施50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP, 分别于0、3、6、24小时后检测 H_2O_2 的积累情况, 发现随着NO的不断释放, H_2O_2 在拟南芥幼苗体内逐渐积累, 说明 H_2O_2 的积累可能参与了

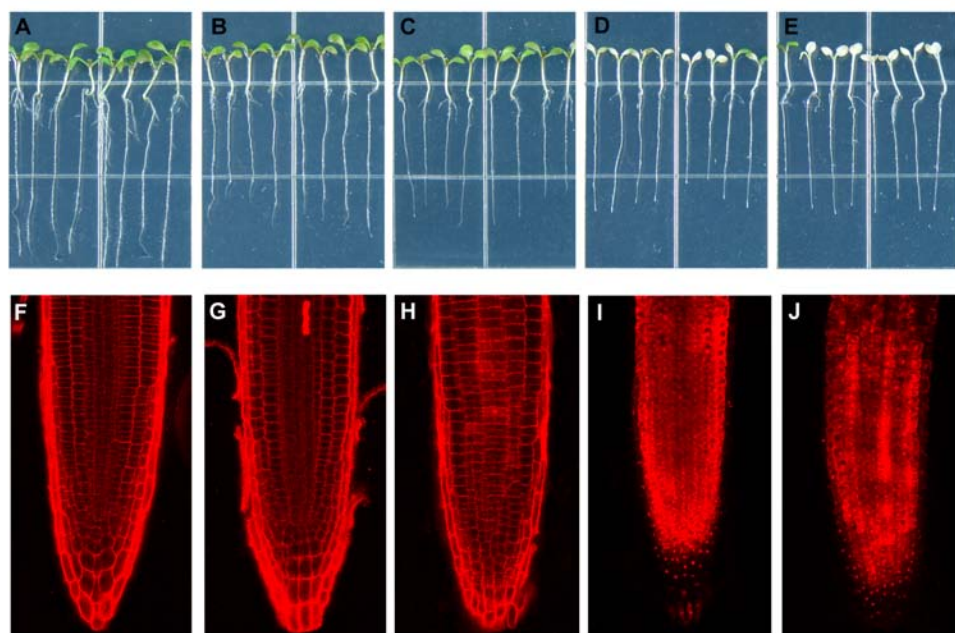


图1 外施不同浓度的硝普钠(SNP)对拟南芥幼苗及其根尖的影响

(A)–(E) 野生型拟南芥幼苗分别用0、10、25、50、75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理36小时的生长情况; (F)–(J) 野生型拟南芥幼苗分别用0、10、25、50、75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理36小时后根尖的PI染色情况。

Figure 1 Effect of different concentration of sodium nitroprusside (SNP) on Arabidopsis seedlings and its root tip

(A)–(E) Phenotype of 5-day-old wild-type Arabidopsis seedlings treated with 0, 10, 25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 36 hours, respectively; (F)–(J) PI staining analysis of root tips of 5-day-old wild-type Arabidopsis seedlings treated with 0, 10, 25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 36 hours, respectively.

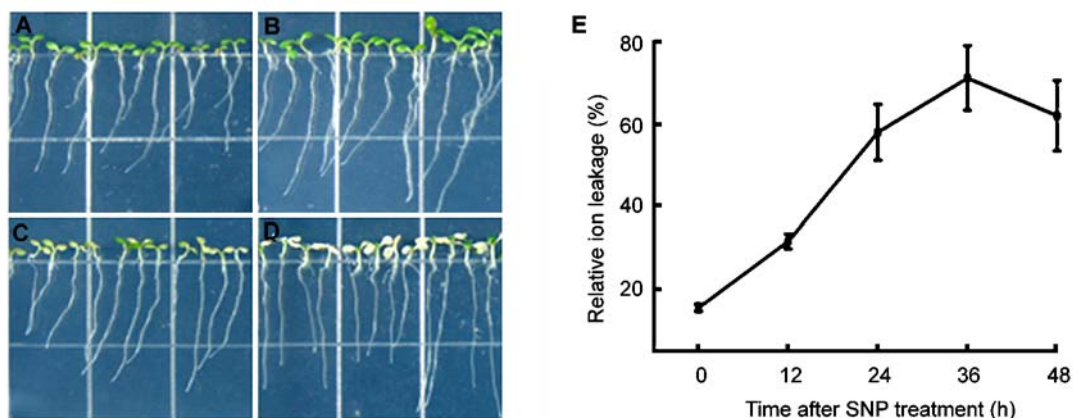


图2 用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理野生型拟南芥幼苗的生长状况

(A)–(D) 用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP分别处理拟南芥幼苗0、12、24、36小时的生长情况; (E) 用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP分别处理0、12、24、36和48小时后拟南芥幼苗的电导率变化

Figure 2 Treatment of wild-type *Arabidopsis thaliana* seedlings with 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP

(A)–(D) Phenotype of 5-day-old wild-type *Arabidopsis* seedlings treated with 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 0, 12, 24, 36 hours, respectively; (E) Ion leakage measure for 5-day-old wild-type *Arabidopsis* seedlings treated with 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 0, 12, 24, 36, 48 hours, respectively.

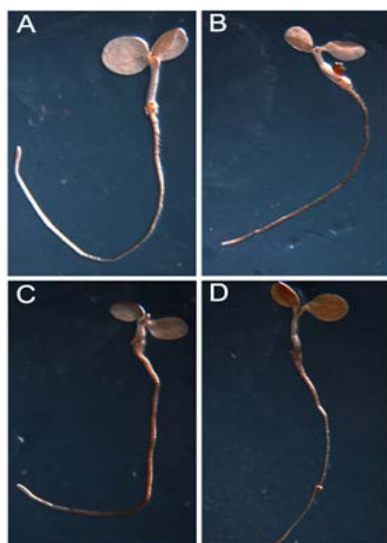


图3 外施SNP对野生型拟南芥幼苗体内 H_2O_2 积累的影响

(A)–(D) 用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP分别处理0、3、6、24小时后拟南芥幼苗中 H_2O_2 含量的DAB染色分析

Figure 3 Effect of SNP on H_2O_2 accumulation in wild-type *Arabidopsis* seedlings

(A)–(D) DAB staining analysis of H_2O_2 content in 5-day-old wild-type *Arabidopsis* seedlings treated with 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 0, 3, 6, 24 hours, respectively.

NO诱导拟南芥幼苗死亡的过程。

2.4 拟南芥DELLA蛋白突变体对NO逆境的响应

利用内源DELLA蛋白含量高的突变体 $ga1-3$ (赤霉素合成途径缺陷)以及DELLA蛋白四突变体 $tetra(gai-t6 rga-t2 rgl1-1 rgl2-1)$ 和 $penta(ga1-3 gai-t6 rga-t2 rgl1-1 rgl2-1)$ 来研究DELLA蛋白在拟南芥应对NO逆境中所起的作用。结果如图4A所示,生长5天的幼苗分别用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理24小时,高浓度NO能够导致野生型拟南芥幼苗的子叶死亡,而 $ga1-3$ 由于体内积累了较多的DELLA蛋白表现出较强的抗性;与之相反, $penta$ 突变体中虽然赤霉素合成较少,但由于突变了4个DELLA蛋白,导致其抗性较差,这与 $tetra$ 突变体的表型一致。说明DELLA蛋白能够抵抗高浓度NO导致的细胞死亡。

同时采用PI染色法检测了DELLA蛋白在根中所起的保护作用。生长5天的幼苗用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP进行处理,分别于0、3、6、9小时后观察根中细胞的死亡情况。发现处理6小时后 $tetra$ 突变体根尖已经发生严重的细胞死亡现象,野生型则在处理9小时内开始细胞死亡,而9小时内 $ga1-3$ 突变体根尖尚未发生细胞死亡现象(图4B)。说明DELLA蛋白在根中同样可以

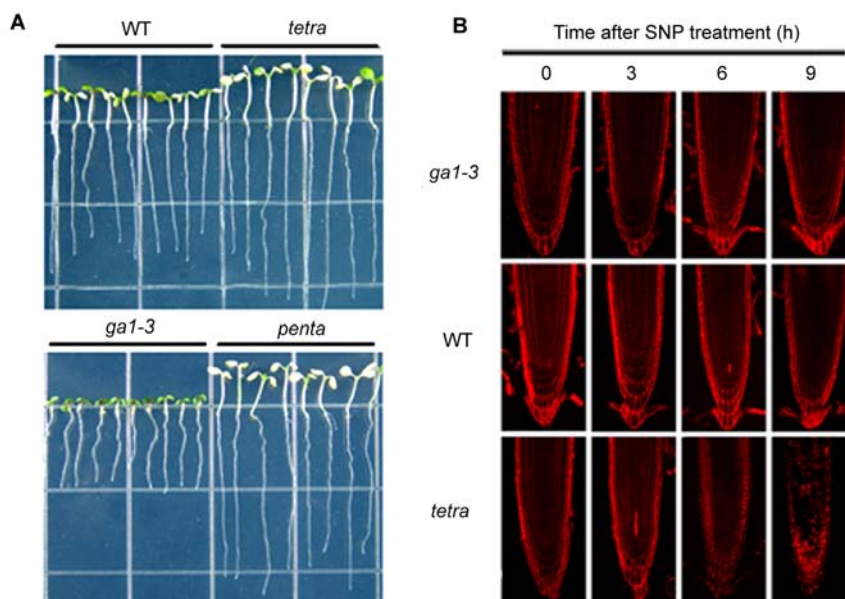


图4 拟南芥野生型(WT)和DELLA突变体植株对外施SNP的反应及细胞学观察

(A) 生长5天的拟南芥野生型和tetra、ga1-3、penta突变体幼苗用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理24小时后的情况; (B) 生长5天的拟南芥野生型和ga1-3、tetra突变体幼苗用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理0、3、6、9小时后根尖的PI染色情况

Figure 4 Response and microscopic characterization of *Arabidopsis thaliana* wild-type (WT) and *della* mutant seedlings to SNP treatment (A) Phenotype of 5-day-old *Arabidopsis* wild-type and *tetra*, *ga1-3*, *penta* mutant seedlings treated with 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 24 hours; (B) PI staining analysis of root tips of 5-day-old *Arabidopsis* wild-type and *tetra*, *ga1-3* mutant seedlings treated with 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 0, 3, 6, 9 hours.

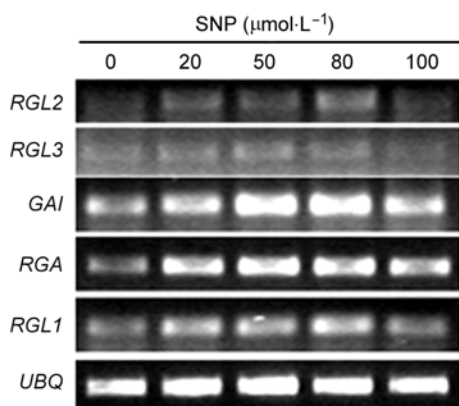


图5 不同浓度SNP处理对DELLA蛋白基因表达的影响

生长5天的野生型拟南芥幼苗分别用0、20、50、80、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理12小时后, RT-PCR检测基因表达。UBQ为内参基因。

Figure 5 Effect of SNP treatment on DELLA gene expression RT-PCR analysis of DELLA gene expression in 5-day-old wild-type *Arabidopsis* seedlings treated with 0, 20, 50, 80, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 12 hours, respectively. UBQ transcripts provide loading control.

延缓NO所导致的细胞死亡。

2.5 NO逆境对拟南芥DELLA蛋白基因表达的影响

取生长5天的拟南芥幼苗, 分别用不同浓度的SNP处理12小时, 采用RT-PCR方法检测DELLA蛋白基因的表达情况。如图5所示, GAI和RGA基因的表达量随着SNP浓度的增加不断升高; RGL1、RGL2和RGL3基因在幼苗期表达水平较低, 基因表达水平略有上调或变化不大。因此, DELLA蛋白对NO的响应可能发生在转录水平。

2.6 NO逆境对拟南芥幼苗DELLA蛋白积累的影响

为了检测NO与DELLA蛋白之间的关系, 我们用Western blot方法检测NO处理后拟南芥幼苗中DELLA蛋白的积累情况。利用35S-TAP-DELLAs株系, 分别在SNP处理12小时和24小时后检测DELLA蛋白的含量。结果显示, 随着SNP浓度的增加, DELLA蛋白的含量逐渐升高(图6)。说明NO能够增加

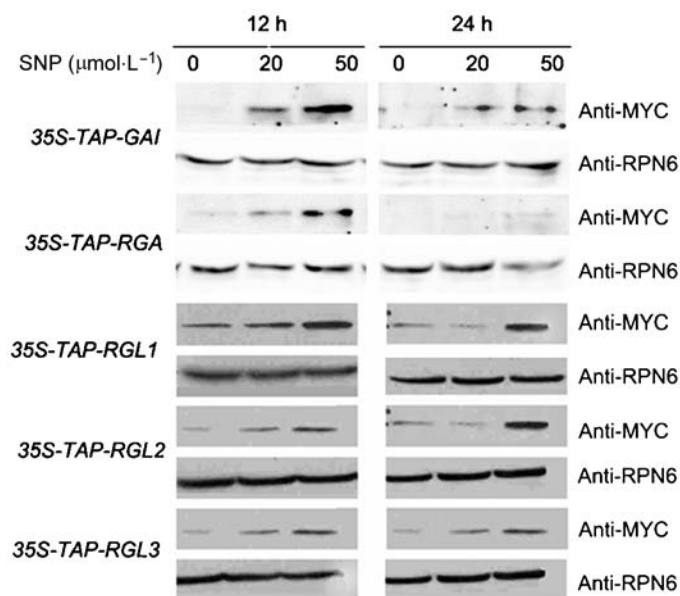


图6 不同浓度SNP处理对DELLA蛋白含量的影响
生长5天的转基因TAP-DELLAs植株, 分别用0、20、50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理12小时和24小时后, Western blot检测DELLA蛋白的积累情况。RPN6为内参蛋白。

Figure 6 Effects of SNP treatment of different concentrations on DELLA protein abundance

Immunoblot analysis of DELLA proteins in 5-day-old transgenic TAP-DELLAs Arabidopsis seedlings treated with 0, 20, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP for 12 and 24 hours. RPN6 immunoblotting was used as a loading control.

DELLA蛋白的稳定性。

3 讨论

大量报道表明, NO作为信号分子广泛参与植物发育、逆境响应和程序性细胞死亡, 分子和生化方面的证据也进一步证明NO与 H_2O_2 相互作用共同参与程序性细胞死亡(Crawford and Guo, 2005)。与已有报道一致(Murgia et al., 2004), 我们也发现外施SNP能够促进 H_2O_2 的积累, 且随着NO气体的不断释放 H_2O_2 含量急剧增加, 从而诱导程序性细胞死亡。 H_2O_2 的氧化胁迫首先会损伤细胞膜, 使其选择透过性改变或丧失, 导致细胞内电解质外渗(刘润华等, 2009)。我们检测SNP处理后拟南芥幼苗的电导率, 发现高浓度NO能够对细胞膜的完整性造成严重的氧化损伤, 使拟南芥幼苗的电导率显著上升(图2, 图3)。

考虑到拟南芥中DELLA蛋白基因是一个功能冗余的基因家族, 我们使用DELLA蛋白四突变体来研究DELLA蛋白的功能。利用敲除突变体来研究转录因子及其共激活因子的功能在拟南芥中得到广泛应用(Xu et al., 2006)。过表达基因家族中某个特定成员也能够为了解该基因家族的功能提供线索。我们综合利用DELLA蛋白功能缺失型突变体和功能获得型突变体, 发现 $ga1-3$ 突变体由于体内积累了大量的DELLA蛋白对NO表现出比野生型拟南芥更强的抗性。与之相反, *tetra*和*penta*突变体由于缺失了大部分的

DELLA蛋白(GAI、RGA、RGL1和RGL2), 在NO逆境中更易受到伤害(图4)。本研究为揭示DELLA蛋白在抵抗NO逆境胁迫中的作用提供了理论基础。

DELLA蛋白是赤霉素信号途径的关键转录因子, 介导了赤霉素信号途径的多种生理效应, 并可以通过抑制生长来增强植物对低温、高盐、干旱、低磷等逆境的抵抗(黄先忠等, 2006)。DELLA蛋白的基因表达受到严格控制, 同时GA可以通过促进其受体GID1与DELLA蛋白的结合, 调控DELLA蛋白的降解(Jiang and Fu, 2007)。现有报道中除了低温能够诱导RGL3的转录水平(Achard et al., 2008a), 多种逆境胁迫均是通过降低GA的含量从而改变DELLA的稳定性。我们发现NO能够影响DELLA基因的转录水平(图5), 这种直接的转录调节方式为植物更好地适应NO逆境提供了可能。

任何环境胁迫都会干扰细胞的正常代谢, 诱发ROS的积累从而产生氧化胁迫, 使生物大分子、生物膜遭受损伤, 严重时甚至引起细胞死亡。细胞内有清除ROS的非酶系统(如抗坏血酸、谷胱甘肽等)和酶系统如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)等, 使ROS保持适度的水平, 避免对细胞的伤害(汪本勤等, 2007)。已经有研究表明, 在逆境条件下, DELLA蛋白可以通过上调ROS解毒相关的酶(如SOD和CAT)的表达和活性来降低逆境诱导产生的ROS的水平(Achard et al.,

2008b)。因此, DELLA蛋白对抗NO逆境可能部分通过清除ROS(如H₂O₂)来实现。

综上所述, 现已证实拟南芥DELLA蛋白参与应对NO诱导的氧化胁迫反应, 但是清除ROS为DELLA蛋白提高植物抗逆性的唯一方式, 还是有其它特殊的信号途径目前尚不清楚, 需要后续的实验予以证明。而且NO作为信号分子参与信号转导的机制仍然不清楚, NO在生物学中的多重角色有待进一步研究揭示。

致谢 感谢中国科学院遗传与发育生物学研究所傅向东研究员和北京大学生命科学学院邓兴旺教授馈赠DELLA蛋白相关突变体种子。

参考文献

- 黄先忠, 蒋才富, 廖立力, 傅向东 (2006). 赤霉素作用机理的分子基础与调控模式研究进展. *植物学通报* **23**, 499–510.
- 刘润华, 江文波, 余迪求 (2009). 拟南芥神经酰胺酶基因对氧化胁迫的响应. *云南植物研究* **31**, 326–334.
- 汪本勤, 陈曦, 向成斌 (2007). SOD活性增高的拟南芥晚花突变体具有增强的非生物胁迫耐受性. *植物学通报* **24**, 572–580.
- Achard P, Cheng H, de Grauwe L, Decat J, Schoutteten H, Moritz T, van der Straeten D, Peng JR, Harberd NP (2006). Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals. *Science* **311**, 91–94.
- Achard P, Gong F, Cheminant S, Alioua M, Hedden P, Genschik P (2008a). The cold-inducible CBF1 factor-dependent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism. *Plant Cell* **20**, 2117–2129.
- Achard P, Renou JP, Berthomé R, Harberd NP, Genschik P (2008b). Plant DELLAs restrain growth and promote survival of adversity by reducing the levels of reactive oxygen species. *Curr Biol* **18**, 656–660.
- Allan AC, Fluhr R (1997). Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells. *Plant Cell* **9**, 1559–1572.
- Anderson LS, Mansfield TA (1979). The effects of nitric oxide pollution on the growth of tomato. *Environ Pollut* **20**, 113–121.
- Beligni MV, Fath A, Bethke PC, Lamattina L, Jones RL (2002). Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. *Plant Physiol* **129**, 1642–1650.
- Carimi F, Zottini M, Costa A, Cattelan I, de Michele R, Terzi M, lo Schiavo F (2005). NO signaling in cytokinin-induced programmed cell death. *Plant Cell Environ* **28**, 1171–1178.
- Clarke A, Desikan R, Hurst RD, Hancock JT, Neill SJ (2000). NO way back: nitric oxide and programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension cultures. *Plant J* **24**, 667–677.
- Crawford NM, Guo FQ (2005). New insights into nitric oxide metabolism and regulatory functions. *Trends Plant Sci* **10**, 195–200.
- Delledonne M, Zeier J, Marocco A, Lamb C (2001). Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 13454–13459.
- de Pinto MC, Paradiso A, Leonetti P, de Gara L (2006). Hydrogen peroxide, nitric oxide and cytosolic ascorbate peroxidase at the crossroad between defence and cell death. *Plant J* **48**, 784–795.
- Garcês H, Durzan D, Pedroso MC (2001). Mechanical stress elicits nitric oxide formation and DNA fragmentation in *Arabidopsis thaliana*. *Ann Bot* **87**, 567–574.
- Gould KS, Lamotte O, Klinguer A, Pugin A, Wendehenne D (2003). Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? *Plant Cell Environ* **26**, 1851–1862.
- Jiang CF, Fu XD (2007). GA action: turning on de-DELLA repressing signaling. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 461–465.
- Jiang CF, Gao XH, Liao LL, Harberd NP, Fu XD (2007). Phosphate starvation root architecture and anthocyanin accumulation responses are modulated by the gibberellin-DELLA signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **145**, 1460–1470.
- 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**, 940–953.
- Navarro L, Bari R, Achard P, Lisón P, Nemri A, Harberd NP, Jones JDG (2008). DELLAs control plant immune responses by modulating the balance of jasmonic acid and salicylic acid signaling. *Curr Biol* **18**, 650–655.
- Olszewski N, Sun TP, Gubler F (2002). Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell* **14**, S61–S80.
- Romero-Puertas MC, Perazzolli M, Zago ED, Delledonne M (2004). Nitric oxide signaling functions in plant-pathogen interactions. *Cell Microbiol* **6**, 795–803.

Xu XP, Chen CH, Fan BF, Chen ZX (2006). Physical and functional interactions between pathogen-induced Arabi-

dopsis WRKY18, WRKY40, and WRKY60 transcription factors. *Plant Cell* **18**, 1310–1326.

DELLA Contribute to Tolerance to Nitric Oxide Stress in Arabidopsis Seedlings

Tao Yao^{1†}, Sulan Bai^{1*}, Miaomiao Li¹, Yaochuan Zhang², Yikun He^{1*}

¹College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100048, China

²Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442, China

Abstract Five members of DELLAs, important plant growth repressors in the gibberellin pathway, have been described in Arabidopsis. DELLAs play an important role in stress tolerance. A low concentration of nitric oxide (NO) can promote plant growth and development, and a high concentration can inhibit plant growth, even cause cell death. We studied the effect of NO at a high concentration in Arabidopsis seedlings by treatment with the NO donor sodium nitroprusside (SNP), and the results indicate that the cell death caused by NO is correlated with H₂O₂ accumulation. Study of phenotypes of serially DELLA-deleted mutants and DELLA gene expression in response to NO revealed that DELLAs contribute greatly to tolerance to NO stress in Arabidopsis seedlings. Thus, we reveal the relationship between DELLA and NO stress in such seedlings, which can contribute to agricultural production.

Key words cell death, DELLAs, nitric oxide, stress tolerance

Yao T, Bai SL, Li MM, Zhang YC, He YK (2011). DELLA contribute to tolerance to nitric oxide stress in Arabidopsis seedlings. *Chin Bull Bot* **46**, 481–488.

† These authors contributed equally in this paper.

* Authors for correspondence. E-mail: sulanb@sina.com; yhe@mail.cnu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)

《植物学报》征订启事

《植物学报》(ISSN 1674-3466, CN11-5705/Q)是由中国科学院植物研究所和中国植物学会主办的中文版综合性学术期刊。双月刊, 128页, 国内外公开发行。本刊以“综合性、高水平”为办刊方针, 求新、求快, 以及时、准确地反映我国植物科学领域科学家最新研究成果(新发现、新方法等)、系统评述国际研究热点(新理论、新发展)为基本定位, 以涵盖植物科学各领域(包括农、林、园艺学)具有重要学术价值和创造性的研究成果为主要发表内容, 以中国国内从事科学研究和高等教育的专业技术人员、研究生及科研管理相关人士为主要读者和服务对象。栏目设置包括研究论文、研究报告、研究快报、技术方法、特邀综述、专题论坛。

《植物学报》是全国优秀期刊、中国自然科学核心期刊和中国期刊方阵“双效”期刊。目前已被国内外多家著名检索系统收录, 包括CAB、AGRIS、CSCD、CSTPCD、CNKI和CAJCED等。2009年我刊影响因子0.841, 总被引频次1 592(数据来源: 中国科技信息研究所)。我刊入选“2009年度中国科协精品期刊示范项目”。

欢迎订阅2012年《植物学报》, 逢单月10日出版, 国内定价80元/册, 全年定价480元。

订阅办法

一、**邮局订阅** 读者可到全国各地邮局订阅, 邮局定期将期刊投递到订户手中。本刊邮发代号2-967。

二、**我刊合作发行机构**

1. 天津大寺泉联合征订服务部(联订代号: 5531); 2. 北京海天华教文化传播有限公司; 3. 科学出版社期刊出版中心。

三、**直接订阅**

读者如错过邮局征订截止日期, 可直接与编辑部联系订阅期刊, 可享受八折优惠并免邮挂费, 全年定价384元。直接订阅的刊款可通过**邮局汇款**或**银行转账**(请在转账单或汇款单上注明“《植物学报》中文”字样)。开户行名称: 中国科学院植物研究所; 开户行: 中国工商银行北京分行海淀西区支行; 账号: 0200004509088100989。

编辑部地址: 北京海淀区香山南辛村20号《植物学报》(中文)编辑部 邮编: 100093

电话: 010-62836135, 010-62836131; 传真: 010-62595403; E-mail: cbb@ibcas.ac.cn