

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2021.06.001

李文凤, 朱海焰, 兰平. 策略 I 植物铁吸收稳态调控研究进展. 土壤, 2021, 53(6): 1101–1106.

策略 I 植物铁吸收稳态调控研究进展^①

李文凤¹, 朱海焰¹, 兰平^{2*}

(1 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京林业大学生物与环境学院, 南京 210037; 2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要: 铁是植物生长发育所必需的微量元素。作为辅酶因子和电子传递链组分, 铁参与了光合作用、呼吸作用等多种重要的生理代谢过程。铁在地壳中的含量虽然丰富, 但在中性和碱性土壤中大多以 Fe^{3+} 的形式存在, 溶解度极低, 限制了土壤中铁的生物有效性, 导致植物生长发育易受缺铁影响, 致使植物缺铁失绿已成为全世界普遍关注的问题。但在低 pH 和长期淹水条件下, 植物会吸收累积过量的铁, 产生活性氧, 导致植物伤害甚至死亡。因此精确调控铁的吸收转运, 保持体内铁稳态是植物生长发育的基础。本文就策略 I 植物铁稳态调控方面的最新研究进展做一阶段性总结, 并对存在的问题和未来的发展动态提出了作者的观点。

关键词: 策略 I 植物; 铁稳态; 转录因子; 小肽; 调控

中图分类号: Q945.1 文献标志码: A

Research Progress of Iron Homeostasis Regulation in Strategy I Plants

LI Wenfeng¹, ZHU Haiyan¹, LAN Ping^{2*}

(1 Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: Iron (Fe) is an essential micronutrient, required for plant development and growth, severing as a cofactor for several metalloproteins or a component of electron transport chains, playing a major role in photosynthesis, respiration, and so on. Iron deficiency severely affects crop yield and nutritional quality of plants. Although iron is quite abundant on Earth, much of it is not accessible to plants due to its poor solubility in neutral to alkaline soils, where iron is mainly present as ferric iron, thus leading to plant suffering from iron deficiency. By contrast, plants will accumulate excess iron under low pH or long-term water logging conditions, which will result in the generation of reaction oxygen species, harmful to plants even death. Thus, tightly maintaining iron homeostasis is essential for optimal growth and development in plants. In this review, we summarized the latest research progresses in the regulation of iron homeostasis in strategy I plants and discussed what remain to be addressed at the moment as well as the perspective in the future.

Key words: Strategy I Plant; Iron homeostasis; Transcription factor; Small peptide; Regulation

铁是所有生物生命活动所必需的微量元素, 和人类健康息息相关。缺铁性贫血症是全球最严重的健康问题之一, 影响约 20 亿人口, 我国由于铁等微量元素摄取不足导致的“隐形饥饿”人口多达 3 亿。摄取富含铁等的农产品是远离“隐形饥饿”, 预防缺铁性贫血症最安全、经济、有效的方法, 这对于山区和贫困地区的人们尤为重要。培育富铁植物的前提是揭示

植物铁稳态的分子调控机制。作为辅酶因子和电子传递链关键组分, 铁参与了植物光合作用、呼吸作用、氮固定、氨基酸合成等多种重要的生理代谢过程^[1-5]。缺铁导致叶片黄化, 植物生长发育严重受阻, 产量和品质显著降低。铁在地壳中的含量虽然很丰富, 但在高 pH 和通气良好的土壤中大多以溶解度极低的 Fe^{3+} 氧化态形式存在, 植物不能直接吸收利用, 限制了铁

①基金项目: 国家自然科学基金项目(32070279, 31971625)和土壤与农业可持续发展国家重点实验室 2018 年度开放课题(Y812000006)资助。

* 通讯作者(plan@issas.ac.cn)

作者简介: 李文凤(1972—), 女, 河北唐山人, 博士, 教授, 主要从事植物营养分子生物学研究。E-mail: wfli@njfu.edu.cn

在土壤中的生物有效性,导致植物生长发育受阻,致使植物缺铁失绿已成为全世界普遍关注的问题。据统计,全世界约有 40% 的土壤缺乏生物有效性铁,特别是在石灰性土壤上,许多农作物常因发生缺铁失绿导致生长不良,产量和品质下降,进而影响人们的营养健康。相反在酸性和长期淹水逆境下,土壤中 Fe^{2+} 含量大大增加,导致植物体内吸收累积过量的铁,通过芬顿化学过程铁和氧气反应产生大量的活性氧类物质,导致植物伤害甚至死亡^[1]。因此,植物必须严格调控细胞内的铁稳态,既避免不足也要防止过量,达到对植物生长发育最优化。

1 策略 I 植物铁的吸收机制

虽然铁在地壳中是含量第四丰富的矿质元素,但在中性或碱性通气良好的土壤中,铁以植物难以直接利用的难溶态复合物形式存在,自由态的 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 的浓度通常小于 10^{-15} mol/L,远远低于适于植物生长发育所需的浓度 $10^{-9} \sim 10^{-4}$ mol/L^[6]。铁又是叶绿素合成所必需的微量元素,但其在植物体内不易移动,因此缺铁典型症状就是新叶黄化泛白。在长期的进化过程中,固着生长的植物形成了两种铁吸收机制来适应缺铁环境,也即通常所指的机制 I 和机制 II^[7]。禾本科植物,如水稻、玉米、小麦等采用机制 II (strategy II) 来响应缺铁胁迫。缺铁后根系合成大量的植物铁载体 (phytosiderophores, PS),并由转运蛋白 TOM (transporter of mugineic acid) 分泌到根际^[8],与土壤中的 Fe^{3+} 螯合,再由定位在根细胞质膜上的转运蛋白 YS1 (yellow strip1) 及其同源蛋白 YSL (yellow strip1 like) 直接将铁螯合物转运至细胞内^[3,6,9]。双子叶和非禾本科单子叶植物,如番茄、果树和模式植物拟南芥,采用机制 I (strategy I) 来应对缺铁胁迫,因此这些植物往往也被称为策略 I 植物。策略 I 植物通常有 3 个协同关联的机制来应对缺铁时对铁的高效吸收,这也是涉及细胞铁稳态的第一步和关键环节。植物感受缺铁后,首先是根系 H^+ -ATPase 活性增强,分泌更多质子,降低土壤 pH,增加根际土壤中铁的溶解^[10];伴随 H^+ -ATPase 活性增强的同时,根系分泌香豆素类(秦皮素、茆萸碱)和核黄素类次级代谢物来增加 Fe^{3+} 的移动性^[11-14],随之,三价铁还原酶 FRO2 (ferric reduction oxidase 2) 转录表达升高、活性增强,将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} ^[15];最后大量表达的高亲和性二价铁转运蛋白 IRT1 (iron-regulated transporter 1) 将 Fe^{2+} 转运到细胞内^[3,6,16]。特别值得强调的是,最近研究发现,缺铁时除了质子大量分泌外,拟南芥缺铁时同时分泌

高亲和性的酚类铁螯合物来应对缺铁胁迫,特别是在高 pH 条件下,这些次级代谢产物的分泌是拟南芥响应缺铁胁迫所必需的^[14]。介导香豆素类化合物从胞内分泌到胞外主要是由转运蛋白 PDR9/ABCG37 (pleiotropic drug resistance 9/ATP-binding cassette G37) 完成的^[11-17]。

2 策略 I 植物铁的转运机制

植物根系吸收铁以后,必须进行正确的转运和分配,将铁运输到植物各个需要的部位,完成生理功能或将铁储存起来。目前普遍接受的观点是根系吸收的铁需要与柠檬酸盐螯合后,通过木质部导管将铁运输到地上部,柠檬酸分泌载体属于 MATE (multidrug and toxic compound extrusion) 家族蛋白,已报导拟南芥 AtFRD3 和水稻 OsFRDL1 能够促进木质部中柠檬酸-三价铁螯合物向地上部运输^[18-20]。前期研究报道,细胞内自由态铁也可以和尼克酰胺(NA)螯合剂结合,将铁通过韧皮部从老叶运输到新叶,Fe-NA 的转运主要依赖于 YS/YSL 家族成员^[21]。另外,早期研究发现,拟南芥一个寡肽转运蛋白 AtOPT3 (oligopeptide transporter 3) 可能在维管束的铁转运过程中发挥着重要作用,但是其转运过程却不依赖 NA^[22],说明它转运的可能是多肽或多肽类分子螯合的铁。近期研究揭示,OPT3 是韧皮部特异的铁转运蛋白,OPT3 将铁加载到韧皮部中,促进铁从木质部到韧皮部的再循环,并调节地上部茎到地下部根的铁状态的系统信号传导和铁从成熟组织向发育组织的重新分配^[23]。转运到特定器官或组织的铁还需要进一步分配到合适的细胞器中以便完成各种生命活动,三价铁还原酶 FRO7 和转运蛋白 PIC1 参与拟南芥中铁向叶绿体的跨膜转运^[24-25]。水稻铁转运蛋白 MIT 将铁运输到线粒体^[26]。NRAMP 转运家族蛋白 NRAMP3 和 NRAMP4 负责将铁从液泡输出到细胞质,而 VIT1 则负责从细胞质向液泡中输入铁^[27-28]。但是由于发育中的种子和母体并没有维管组织相连,铁是如何运输到种子里去的分子机制目前还不是很清楚^[29]。

3 策略 I 植物铁稳态的转录调控

铁是植物所必需的微量元素,但由于铁活跃的化学性质,过多的铁将会产生大量的活性氧 (reactive oxygen species, ROS),对细胞产生毒害,甚至死亡。而铁主要是由根系从土壤中直接吸收获得,因此调控铁的吸收对于保持细胞铁稳态至关重要。在拟南芥中,铁主要吸收相关基因是 FRO2 和 IRT1,分别负

责将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} 和将 Fe^{2+} 从根际转运到根细胞内^[3]。研究表明, 拟南芥细胞内铁稳态主要在转录水平上受到多个来自 bHLH(basic-helix-loop-helix) 家族的转录因子调控。其中 FIT/bHLH29 和 ILR3 (IAA-LEUCINE RESISTANT3)/ bHLH105 是该信号通路中两个关键节点^[30-31]。FIT 和转录因子 bHLH38、bHLH39、bHLH100、bHLH101 之一形成异源二聚体, 调节 *IRT1* 和 *FRO2* 等基因的活性^[32-35]。FIT 和 bHLH38、bHLH39、bHLH100、bHLH101 之一形成的异源二聚体的活性可被转录因子 bHLH18、bHLH19、bHLH20、bHLH25 负调控, bHLH18、bHLH19、bHLH20、bHLH25 一旦与 FIT 相互作用就会通过 26S 蛋白酶体途径促进 FIT 降解^[36]。FIT 的降解不仅受到 26S 蛋白酶的控制^[37-38], 而且受到乙烯信号传导途径中的转录因子 EIN3 和 EIL1 的调控^[39]。ILR3 及其 3 个相近的同源物(bHLH34、bHLH104 和 bHLH115)可以形成同源二聚体和异源二聚体, 直接激活 bHLH38、bHLH39、bHLH100、bHLH101 和 PYE/bHLH47 的表达, 从正负两个方面来调节铁稳态^[31, 40-41], 这是因为 PYE 是参与细胞内铁稳态的负调控转录因子^[42], 而 bHLH38、bHLH39、bHLH100、bHLH101 是参与细胞内铁稳态的正调控转录因子。ILR3 和 bHLH115 同 E3 连接酶 BTS (brutus) 互作后通过 26S 蛋白酶体途径而降解^[43]。

FIT 及其互作蛋白 bHLH38、bHLH39、bHLH100 和 bHLH101 直接调控铁吸收基因 *FRO2* 和 *IRT1* 的表达, 但这些转录因子自身在转录水平上也受缺铁调控, 暗示还有另外的转录因子调控着 FIT 及其互作蛋白基因的转录表达^[3]。经过近 5 年的研究, 现在已经明确了 FIT 互作蛋白基因转录调控的上游转录因子是 ILR3 及其 3 个相近的同源物 bHLH34、bHLH104 和 bHLH115。但是这些上游转录因子并不能直接激活 FIT 的表达, 也就是这些转录因子并不能和 FIT 的启动子结合。表明这些转录因子激活 FIT 的表达不是直接的而是间接的^[31, 40-41], FIT 和这些转录因子之间应该还有一个“桥梁因子”。最近, 国内外 3 个独立课题组采用不同的技术手段都鉴定到这个“桥梁因子”就是转录因子 bHLH121^[44-46]。虽然这 3 篇独立研究报告某些结果略有不同, 但总体上结论一致并且相互补充, 更加完善了拟南芥铁稳态的分子调控网络。Kim 等^[45]首先构建了 IRT1 启动子连接报告基因 LUC 的转基因株系, 并对该株系进行 EMS(ethyl methanesulphonate)化学诱变, 创建突变体库, 然后通过筛选突变体库鉴定到 bHLH121/URI(upstream

regulator of IRT1), 而另外两个课题组分别通过酵母单杂^[46]和免疫共沉淀结合质谱分析以及酵母双杂^[44]筛选获得。Kim 等^[45]并证明 URI 可以直接和 bHLH38、bHLH39、bHLH100 和 bHLH101 的启动子结合, 但不能和 FIT 的启动子结合, 该结果和 Gao 等^[44]的结果一致; 但 Lei 等^[46]结果表明, 虽然 bHLH121 自身对这些靶基因并没有激活或抑制活性, 但 bHLH121 可以和 FIT 启动子上的 E box 元件直接结合。3 篇研究都证明, bHLH121 和 bHLH IVc 组的转录因子可以互作, 形成异源二聚体, 从而激活了 FIT、bHLH38、bHLH39、bHLH100、bHLH101、PEY 等基因的转录表达。Kim 等^[45]进一步证明缺铁诱导了 bHLH121 的磷酸化, 磷酸化的 bHLH121 在缺铁条件下积累, 激活了 bHLH38、bHLH39、bHLH100、bHLH101、PEY、BTS 和 BTSL1 的表达, 进一步激活了 *FRO2* 和 *IRT1* 的表达, 增加对铁的吸收; 而在铁充足条件下, 磷酸化的 bHLH121 通过 26S 蛋白酶体途径而降解, 进而减少铁的吸收, 维持胞内铁稳态。

4 小肽对策略 I 植物铁稳态的调控

维持体内铁稳态是植物生长发育的基础, 而调控铁吸收转运是维持铁稳态的前提条件。除上述转录因子所构成的调控网络对铁稳态进行调控外, 前期研究发现, 缺铁诱导大量未知功能基因的上调表达, 其中包括编码小肽 IMA1 及其同源基因。缺失 IMA1 及其他 7 个同源基因后, 植物在正常铁条件下生长受阻, 在土壤中如果不外源添加高浓度的铁, 突变体存活不超过两周; 相反, 过表达 IMA1 后不仅增加了植株和种子铁含量, 增加了对缺铁的耐受性, 而且在铁充足的条件下, 过表达植株的根系三价铁还原酶活性显著升高, 缺铁诱导表达的铁吸收基因 *FRO2* 和 *IRT1* 都显著上调表达, 表明过表达小肽 IMA1 在铁充足条件下激活了植株体内的缺铁响应机制, 增加了对铁的吸收, 进一步转录组分析发现, 过表达 IMA1 植株在铁充足条件下, 转录因子 bHLH38、bHLH39 出现显著上调表达^[47], IMA1 可能代表一条新的铁稳态调控机制^[45]。

5 问题与展望

铁是一切生物所必需的微量元素, 过量或不足都会影响细胞的正常生理活动。因此精确调控铁的吸收转运, 保持体内铁稳态是植物良好生长发育的基础, 也是高产优质的前提条件, 更是培育富铁农作物品种

的理论基础。对于铁吸收转运和铁稳态这一重要的植物营养领域,国内外已进行了大量的研究并取得一系列研究成果。一些和铁吸收、转运等相关的基因已经成功克隆,功能得以验证;一些关键调控因子和信号分子已经被鉴定,极大地丰富了对植物响应缺铁机制的认识,逐步完善了铁稳态的分子调控网络(图 1)。总结国内外已经取得的研究成果并结合作者的思考,将该领域仍然存在的问题以及未来研究发展趋势概括为以下几个方面:①拟南芥为什么需要进化出如此多 bHLH 类转录因子进行铁吸收稳态的转录调控?是否所有或者绝大多数策略 I 植物都具有这样的调控模式?未来随着越来越多植物基因组序列的测定,有望从进化角度思考策略 I 植物铁吸收稳态的分子调控网络是否高度保守,以及何时发生变异的;②迄今,转录因子 bHLH121 是铁稳态分子网络最上游的转录调控因子,虽然其自身转录并不受缺铁诱导,但其翻译后磷酸化修饰却受到缺铁调控,目前其分子机制并不清楚,是哪一种蛋白激酶对其磷酸化的也不明确,未来对其研究必将进一步完善该分子调控网络;③虽然前期发现 IMA1 及其同源基因在拟南芥铁吸收和稳态方面发挥了重要的调控作用,并可能代表着

一个新的调控模块^[45],但是 IMA1 小肽是如何发挥其调控作用的仍然需要进一步探索。IMA1 小肽基因在转录水平上受缺铁强烈诱导,但在蛋白水平却未能检测到 IMA1 的肽段^[48],增加了对 IMA1 研究的难度;④植物是如何感知外界铁状态(不足、适宜、过多),进而及时地调控铁吸收基因的转录表达的机制还不清楚,也就是铁受体还没有得到公认。在水稻中,前期研究认为两个泛素化 E3 连接酶 OsHRZ1 和 OsHRZ2 (haemerythrin motif-containing really interesting new gene (ring) and zinc-finger protein 1 and 2)是铁感应器(sensor),监测胞内铁状态^[49];在拟南芥中,OsHRZ1 和 OsHRZ2 的同源蛋白 BTS (brutus)及其同源物 BTSL1 和 BTSL2 具有铁感应器的潜力^[42-43,50]。当然也有研究报道指出,IRT1 具有双重功能,既可以转运铁也可以感受铁,也就是铁的转运受体(transceptor),在金属元素感知和信号传递方面起关键作用^[51]。总之,目前无论是策略 I 还是策略 II 植物,铁的受体或者感应器还没有得到公认,这也是目前以及未来一段时间内植物铁营养领域最为关注的科学问题,也是最富挑战性的问题,一旦突破将对富铁作物培育具有巨大的理论和实践意义。

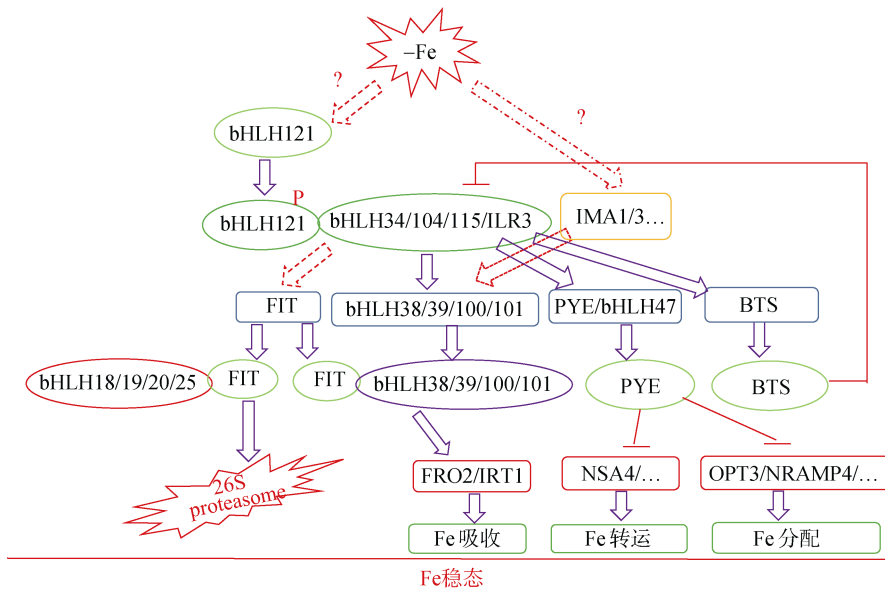


图 1 策略 I 植物铁稳态调控分子网络

Fig. 1 Molecular regulatory network maintaining Fe homeostasis in Strategy I plants

参考文献:

- [1] Aung M S, Masuda H. Corrigendum: how does rice defend against excess iron?: Physiological and molecular mechanisms[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 1102.
- [2] Hänsch R, Mendel R R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl)[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(3): 259–266.
- [3] Kobayashi T, Nishizawa N K. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, 63: 131–152.
- [4] Li W F, Lan P. The understanding of the plant iron deficiency responses in strategy I plants and the role of ethylene in this process by omic approaches[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 40.

- [5] Touraine B, Vignols F, Przybyla-Toscano J, et al. Iron-sulfur protein NFU₂ is required for branched-chain amino acid synthesis in *Arabidopsis* roots[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(6): 1875–1889.
- [6] Kim S A, Guerinot M L. Mining iron: Iron uptake and transport in plants[J]. *FEBS Letters*, 2007, 581(12): 2273–2280.
- [7] Rö mheld V, Marschner H. Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses[J]. *Plant Physiology*, 1986, 80(1): 175–180.
- [8] Nozoye T, Nagasaka S, Kobayashi T, et al. Phytosiderophore efflux transporters are crucial for iron acquisition in graminaceous plants[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(7): 5446–5454.
- [9] Curie C, Panaviene Z, Loulergue C, et al. Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake[J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 346–349.
- [10] Santi S, Schmidt W. Dissecting iron deficiency-induced proton extrusion in *Arabidopsis* roots[J]. *The New Phytologist*, 2009, 183(4): 1072–1084.
- [11] Fourcroy P, Tissot N, Gaymard F, et al. Facilitated Fe nutrition by phenolic compounds excreted by the *Arabidopsis* ABCG37/PDR9 transporter requires the IRT1/FRO2 high-affinity root Fe(2+) transport system[J]. *Molecular Plant*, 2016, 9(3): 485–488.
- [12] Robe K, Conejero G, Gao F, et al. Coumarin accumulation and trafficking in *Arabidopsis thaliana*: A complex and dynamic process[J]. *The New Phytologist*, 2021, 229(4): 2062–2079.
- [13] Robe K, Izquierdo E, Vignols F, et al. The coumarins: Secondary metabolites playing a primary role in plant nutrition and health[J]. *Trends in Plant Science*, 2021, 26(3): 248–259.
- [14] Tsai H H, Rodríguez-Celma J, Lan P, et al. Scopoletin 8-hydroxylase-mediated fraxetin production is crucial for iron mobilization[J]. *Plant Physiology*, 2018, 177(1): 194–207.
- [15] Eide D, Broderius M, Fett J, et al. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(11): 5624–5628.
- [16] Robinson N J, Procter C M, Connolly E L, et al. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils[J]. *Nature*, 1999, 397(6721): 694–697.
- [17] Fourcroy P, Sisó-Terraza P, Sudre D, et al. Involvement of the ABCG37 transporter in secretion of scopoletin and derivatives by *Arabidopsis* roots in response to iron deficiency[J]. *The New Phytologist*, 2014, 201(1): 155–167.
- [18] Durrett T P, Gassmann W, Rogers E E. The FRD3-mediated efflux of citrate into the root vasculature is necessary for efficient iron translocation[J]. *Plant Physiology*, 2007, 144(1): 197–205.
- [19] Green L S, Rogers E E. FRD3 controls iron localization in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2004, 136(1): 2523–2531.
- [20] Yokosho K, Yamaji N, Ueno D, et al. OsFRDL1 is a citrate transporter required for efficient translocation of iron in rice[J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(1): 297–305.
- [21] Curie C, Cassin G, Couch D, et al. Metal movement within the plant: Contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters[J]. *Annals of Botany*, 2009, 103(1): 1–11.
- [22] Stacey M G, Patel A, McClain W E, et al. The *Arabidopsis* AtOPT3 protein functions in metal homeostasis and movement of iron to developing seeds[J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(2): 323–324.
- [23] Zhai Z Y, Gayomba S R, Jung H I, et al. OPT3 is a phloem-specific iron transporter that is essential for systemic iron signaling and redistribution of iron and cadmium in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(5): 2249–2264.
- [24] Duy D, Stübe R, Wanner G, et al. The chloroplast permease PIC1 regulates plant growth and development by directing homeostasis and transport of iron[J]. *Plant Physiology*, 2011, 155(4): 1709–1722.
- [25] Jeong J, Cohu C, Kerkeb L, et al. Chloroplast Fe(III) chelate reductase activity is essential for seedling viability under iron limiting conditions[J]. *PNAS*, 2008, 105(30): 10619–10624.
- [26] Bashir K, Ishimaru Y, Shimo H, et al. The rice mitochondrial iron transporter is essential for plant growth[J]. *Nature Communications*, 2011, 2: 322.
- [27] Kim S A, Punshon T, Lanzirrotti A, et al. Localization of iron in *Arabidopsis* seed requires the vacuolar membrane transporter VIT1[J]. *Science*, 2006, 314(5803): 1295–1298.
- [28] Lanquar V, Lelièvre F, Bolte S, et al. Mobilization of vacuolar iron by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is essential for seed germination on low iron[J]. *The EMBO Journal*, 2005, 24(23): 4041–4051.
- [29] Mari S, Bailly C, Thomine S. Handing off iron to the next generation: How does it get into seeds and what for?[J]. *The Biochemical Journal*, 2020, 477(1): 259–274.
- [30] Tissot N, Robe K, Gao F, et al. Transcriptional integration of the responses to iron availability in *Arabidopsis* by the bHLH factor ILR3[J]. *The New Phytologist*, 2019, 223(3): 1433–1446.
- [31] Zhang J, Liu B, Li M S, et al. The bHLH transcription factor bHLH104 interacts with IAA-LEUCINE RESISTANT3 and modulates iron homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(3): 787–805.
- [32] Colangelo E P, Guerinot M L. The essential basic helix-loop-helix protein FIT1 is required for the iron deficiency response[J]. *The Plant Cell*, 2004, 16(12): 3400–3412.
- [33] Sivitz A B, Hermand V, Curie C, et al. *Arabidopsis* bHLH100 and bHLH101 control iron homeostasis via a

- FIT-independent pathway[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44843.
- [34] Wang N, Cui Y, Liu Y, et al. Requirement and functional redundancy of *ib* subgroup bHLH proteins for iron deficiency responses and uptake in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(2): 503–513.
- [35] Yuan Y X, Wu H L, Wang N, et al. FIT interacts with AtbHLH38 and AtbHLH39 in regulating iron uptake gene expression for iron homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *Cell Research*, 2008, 18(3): 385–397.
- [36] Cui Y, Chen C L, Cui M, et al. Four IVa bHLH transcription factors are novel interactors of FIT and mediate JA inhibition of iron uptake in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(9): 1166–1183.
- [37] Rodríguez-Celma J, Connorton J M, Kruse I, et al. *Arabidopsis* BRUTUS-like E3 ligases negatively regulate iron uptake by targeting transcription factor FIT for recycling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(35): 17584–17591.
- [38] Sivitz A, Grinvalds C, Barberon M, et al. Proteasome-mediated turnover of the transcriptional activator FIT is required for plant iron-deficiency responses[J]. *The Plant Journal*, 2011, 66(6): 1044–1052.
- [39] Lingam S, Mohrbacher J, Brumbarova T, et al. Interaction between the bHLH transcription factor FIT and ETHYLENE INSENSITIVE3/ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 reveals molecular linkage between the regulation of iron acquisition and ethylene signaling in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(5): 1815–1829.
- [40] Li X L, Zhang H M, Ai Q, et al. Two bHLH transcription factors, bHLH34 and bHLH104, regulate iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiology*, 2016, 170(4): 2478–2493.
- [41] Liang G, Zhang H M, Li X L, et al. bHLH transcription factor bHLH115 regulates iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(7): 1743–1755.
- [42] Long T A, Tsukagoshi H, Busch W, et al. The bHLH transcription factor POPEYE regulates response to iron deficiency in *Arabidopsis* roots[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(7): 2219–2236.
- [43] Selote D, Samira R, Matthiadis A, et al. Iron-binding E3 ligase mediates iron response in plants by targeting basic helix-loop-helix transcription factors[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(1): 273–286.
- [44] Gao F, Robe K, Bettembourg M, et al. The transcription factor bHLH121 interacts with bHLH105 (ILR3) and its closest homologs to regulate iron homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2020, 32(2): 508–524.
- [45] Kim S A, LaCroix I S, Gerber S A, et al. The iron deficiency response in *Arabidopsis thaliana* requires the phosphorylated transcription factor URI[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(50): 24933–24942.
- [46] Lei R H, Li Y, Cai Y R, et al. bHLH121 functions as a direct link that facilitates the activation of FIT by bHLH IVc transcription factors for maintaining Fe homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(4): 634–649.
- [47] Grillet L, Lan P, Li W F, et al. IRON MAN is a ubiquitous family of peptides that control iron transport in plants[J]. *Nature Plants*, 2018, 4(11): 953–963.
- [48] Lan P, Li W F, Wen T N, et al. iTRAQ protein profile analysis of *Arabidopsis* roots reveals new aspects critical for iron homeostasis[J]. *Plant Physiology*, 2011, 155(2): 821–834.
- [49] Kobayashi T, Nagasaka S, Senoura T, et al. Iron-binding haemerythrin RING ubiquitin ligases regulate plant iron responses and accumulation[J]. *Nature Communications*, 2013, 4: 2792.
- [50] Rodríguez-Celma J, Chou H, Kobayashi T, et al. Hemerythrin E3 ubiquitin ligases as negative regulators of iron homeostasis in plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 98.
- [51] Cointry V, Vert G. The bifunctional transporter-receptor IRT1 at the heart of metal sensing and signalling[J]. *The New Phytologist*, 2019, 223(3): 1173–1178.