植物营养与肥料学报 2014,20(3):747-753
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer doi: 10.11674/zwyf.2014.0328

植物体内西罗血红素的研究进展

刁清清,毛碧增*
(浙江大学农业与生物技术学院,浙江杭州 310058)

摘要: 植物以硫酸盐和硝酸盐的形式从土壤中吸收硫元素和氮元素,但硫酸盐和硝酸盐皆需要一定的还原反应才能被同化吸收利用。该还原过程的第二步是由亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, NiR)和亚硫酸盐还原酶(sulphite reductase,SiR)催化的,这些酶的结构中都具有一个起关键作用的西罗血红素辅助因子。本文主要介绍生物体内西罗血红素的合成过程及其在硫元素、铁元素生化反应中的作用。

关键词: 西罗血红素;尿卟啉原Ⅲ;氮;硫;铁
中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2014)03-0747-07

The research advance of siroheme in plants

DIAO Qing-qing, MAO Bi-zeng*
(*College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*)

Abstract: Sulfer and nitrogen can only be assimilated and absorbed by plants in form of sulphate and nitrate in the soil, which are the products of a sequence of reduction reaction. The second step in the reduction of sulphate and nitrate is mediated by sulphite reductase and nitrite reductase, which contain the siroheme as a cofactor that plays an important role in biological activity of the two enzymes. This review highlights the synthetic process of siroheme and the important function of sulphur and iron elements that are related with siroheme.

Key words: siroheme; uroporphyrinogen Ⅲ; nitrogen; sulfur; ferrum

生物界中广泛存在四吡咯(tetrapyrrole)类化合物,主要分为两类:一类是卟啉类分子(porphyrins)[1],包括血红素和叶绿素;另一类是卟吩烷类分子(porphinoids),包括西罗血红素、血红素 d1、钴铵素(维生素 B_{12}的核心结构)和 F_{430}因子等[2]。四吡咯类化合物及其金属衍生物具有多种生物功能,可以参与生物体内的光合作用、氧气的运输和其它多种氧化还原反应。

植物主要以硝酸盐和硫酸盐的形式吸收氮元素和硫元素,但是这两种氧化态的离子均不能被直接利用,而要经过还原酶的作用,转化成铵态氮和含硫氨基酸后才能被生物体同化利用。西罗血红素是最简单的功能型四吡咯分子,在其卟啉结构的核心螯合一个 Fe^{2+},因此能够催化一个六电子的转移反应,分别将亚硝酸盐和亚硫酸盐还原成生理形态为铵态氮和含硫氨基酸两类物质[3]。与其它卟啉类辅基的合成过程相同,西罗血红素的合成同样需要经过转甲基、氧化脱氢以及螯合作用三个步骤,不同的是螯合的金属离子为 Fe^{2+}。本文主要介绍生物体西罗血红素的合成过程及其在生物体内的相关生化反应和重要作用。

1 西罗血红素的合成

1.1 合成西罗血红素的关键酶和前体物

1.1.1 关键酶 西罗血红素的合成由众多酶参与其中,这些酶行使各种催化功能,其中比较重要的几种酶有胆色素原脱氨酶(porphobilinogen-deaminase, PBGD)、尿卟啉原Ⅲ甲基化酶(uroporphyrinogen Ⅲ methyltransferase,UPM)、前咕啉-2 氧化酶、西罗叶绿三酸铁螯合酶。

收稿日期: 2013-4-2 **接受日期:** 2013-9-10
基金项目: 转基因生物新品种培育科技重大专项(2013ZX08009003-001-005)资助。
作者简介: 刁清清(1989—),女,山东滕州人,硕士研究生,主要从事植物组织培养及抗病分子育种研究工作。E-mail: 21116119@zju.edu.cn
* 通信作者 E-mail: maobz@zju.edu.cn

胆色素原脱氨酶是生物体内参与四吡咯化合物生物合成过程的关键酶之一,它催化四个胆色素原(PBG)单吡咯体依次连接组成线形的四吡咯化合物:羟甲基胆素。羟甲基胆素在尿卟啉原 III 合成酶的催化下环合形成所有天然四吡咯化合物的共同前体—尿卟啉原Ⅲ。

UPM 需要 S - 腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl-Lmethionine,SAM)作为甲基供体。SAM 是细胞中除 ATP 外第二个广泛存在的高能分子,它参与多种催化反应,大部分情况下作为甲基供体;从能量转换角度来讲,它比另一个甲基供体—叶酸的催化效率更高。甲基化反应后,SAM 转化为 S - 腺苷高丝氨酸(S-adenosyl-L-homoserine,SAH)。

前咕啉 -2 氧化酶是依赖于 NADP 的酶,其功能是催化前咕啉 -2 脱氢生成西罗叶绿三酸。酿酒酵母(*Saccharomy cescerevisiae*)中,Met8p 编码蛋白具有前咕啉 -2 氧化酶和西罗叶绿三酸铁螯合酶功能[4]。枯草杆菌(*Bacillus subfilis*)和巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)的前咕啉 -2 氧化酶分别由 ylnF 和 sirC 编码[5]。

生物体内行使功能的卟啉分子都是金属卟啉,因此螯合酶具有重要作用。螯合酶均具专一性,分别催化一种金属离子的螯合反应。目前发现的金属螯合酶分为三大类:第一类需 ATP,如叶绿素的镁螯合酶,辅酶 F_{430}的镍螯合酶;第二类是血红素铁螯合酶 HemH;第三类是西罗血红素的铁螯合酶和钴铵素生物合成的 CbiX。

1.1.2 重要的前体物质 5 - 氨基酮戊酸(5-aminolevulinic acid,ALA)是有机体中两大重要色素叶绿素和亚铁血红素的共同合成前体,在植物体内作为叶绿素合成的一个部分很早就受到重视。近年来研究人员发现,它除了与植物光合作用有关外,高浓度的 ALA 可作为无污染的除草剂在农业生产中应用;低浓度的 ALA 具有调节植物生长发育的功能,被看作是一种新型的植物生长调节物质,而其具有植物生长调节剂的作用是因为 ALA 能促进硫酸盐的吸收,同时促进半胱氨酸和谷胱甘肽的合成[6]。

尿卟啉Ⅲ是尿卟啉原Ⅲ的非酶氧化产物,是一类对光敏感的化合物,它的积累很可能会导致光损伤,同时增加活性氧(reactive oxygen species,ROS)在质体和细胞中的积累。高等植物中,四吡咯的合成途径是由血红素通过谷氨酸 - tRNA 还原酶(Hem A)的代谢负反馈调节的[7-8]。Hem-A 位于 UPM 的上游,负责合成 ALA。UPM 促使尿卟啉原Ⅲ甲基化,然后调控 ALA 以合成西罗血红素。这种反馈调节方式的优点是:当光敏物质不用于合成西罗血红素、叶绿素或血红素时,不会在叶绿体中积累。

一个复杂的调控系统需足量的底物支撑,所以西罗血红素的合成控制途径可能会引起尿卟啉原Ⅲ的积累。尿卟啉原Ⅲ氧化生成具有高光敏性的尿卟啉Ⅲ,这会引起以四吡咯为媒介的光敏反应而产生 ROS[9-10]。ROS 的积累会提高生物自清洁系统的活力并且可能改变细胞的氧化还原状态。当细胞中代谢和氧化还原态发生较大的改变时,与胁迫和防御有关的基因被激活。因所有和修复系统有关的酶是由核基因编码的,扰乱质体中四吡咯的生物合成途径和 ROS 的生成可能会影响从质体到细胞核逆行信号的转导[11]。

1.2 合成西罗血红素的前期物质准备

高等植物中,四吡咯类化合物的合成发生在质体中[12-13],其起始反应为谷氨酸 - tRNA 在 Hem-A 的催化作用下生成谷氨酸 -1- 半醛,然后经分子间的转氨作用生成 ALA;最后,ALA 在 ALA 脱水酶、PBGD 和尿卟啉原Ⅲ合成酶的作用下合成尿卟啉原Ⅲ,尿卟啉原Ⅲ是该系列反应的第一个大环中间物[14-15]。ALA 脱水酶的作用是结合两分子的 ALA 并脱去一分子水合成胆色素原,然后四分子胆色素原在胆色素原脱氨酶和尿卟啉原Ⅲ合成酶的作用下形成尿卟啉原Ⅲ。接下来的反应进入一个分支点,如果尿卟啉原Ⅲ进行甲基化反应,最后会合成西罗血红素;如果是由尿卟啉原Ⅲ脱羧酶催化,最后形成叶绿素和血红素[16](图 1)。

1.3 西罗血红素合成的途径

由尿卟啉原Ⅲ生成西罗血红素需经过三步酶促反应:甲基化、氧化脱氢和铁螯合。催化的酶分别是尿卟啉原Ⅲ甲基化酶、前咕啉 -2 氧化酶和西罗叶绿三酸铁螯合酶。尿卟啉原Ⅲ甲基化酶催化尿卟啉原Ⅲ发生两步甲基化反应,第一步形成前咕啉 -1,第二步形成前咕啉 -2,然后前咕啉 -2 经过氧化脱氢反应生成西罗叶绿三酸,最后西罗叶绿三酸与铁螯合生成西罗血红素(图 2)。不同的生物中,与该系列反应相关的酶有很大的区别。

在拟南芥中,甲基化反应是由 UPM 催化的,然后前咕啉 -2 脱氢产生西罗叶绿三酸,最后铁在西罗叶绿三酸铁螯合酶(sirohydrochlorin ferrochelatase,SirB)的催化作用下螯合到四吡咯环的内部,形成西罗血红素。高等植物中与氧化脱氢反应相关的酶和基因目

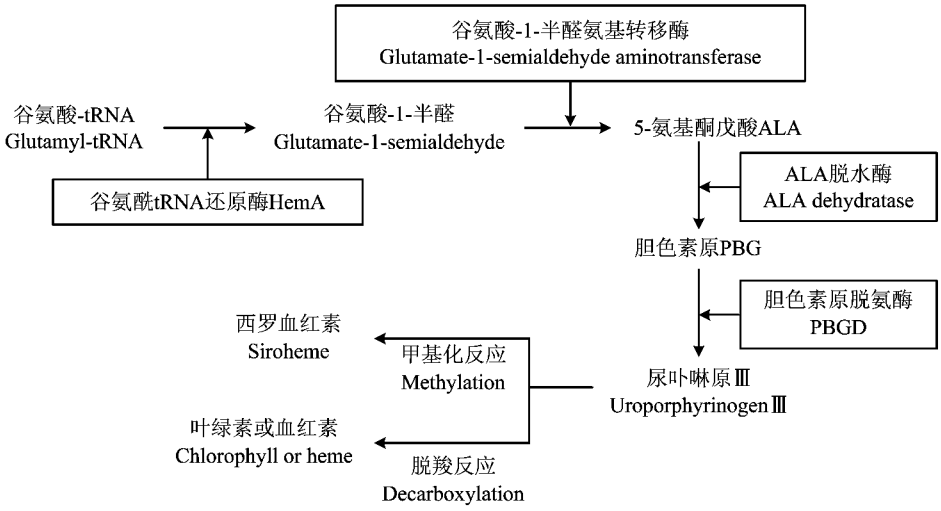

图 1　合成西罗血红素的前期物质反应

Fig. 1　The reaction of the prophase in the synthetic process of siroheme

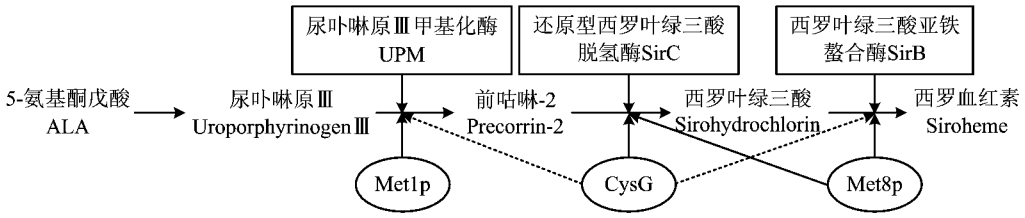

图 2　不同生物体中由尿卟啉原Ⅲ合成西罗血红素的酶促反应(改编自 Baishnab 和 Rena[17])

Fig. 2　The enzymatic reaction from uroporphyrinogen Ⅲ to siroheme in different organisms (adapted from Baishnab and Rena[17])

[注(Note): UPM—Uroporphyrinogen Ⅲ methyltransferase; SirC—Dihydrosirohydrochlorin dehydrogenase; SirB—Sirohydrochlorin ferrochelatase.]

前还没有报道。同时,不仅是 NiR 和 SiR 具有铁硫中心,SirB 也以铁硫中心为辅基[18]。在酵母中,甲基化反应是由 Met1p 催化的,但是该酶与植物中的 UPM 并无同源性。最后两步反应是由一个双功能酶 Met8p 催化[19],该酶的同一个活性位点具有氧化和螯合双重功能,同样,该酶在高等植物中也没有直系同源。一些细菌中,生成西罗血红素的反应是由两个独立的酶 SirC 和 SirB 催化的[20]。SirC 催化前咕啉-2 的氧化脱氢反应,SirB 的作用是把亚铁提供给西罗叶绿三酸,最后合成西罗血红素。值得一提的是,一种存在于细菌 *S. enterica serovar yphimurium* 和 *Escherichia coli* 内的大小约为 59 kDa 的同源二聚体酶亚基 CysG 能够催化所有的反应[21]。

一些与进化相关的螯合酶会把一些离子螯合到四吡咯的骨架中[22]。高等植物和细菌中,SirB 的许多蛋白序列与细菌中的钴螯合酶(CbiX)密切相关[23]。该酶负责把 Co^{2+} 螯合到西罗叶绿三酸上,同时在维生素 B_{12} 的合成也起重要作用。一般情况下,CbiX 在碳端有一段富含组氨酸的区域,该区域在金属离子的转运和贮存方面具有重要作用,同时也可能含有一个铁硫中心,这在大量细菌中都有发现;该亚基还含有一个独立蛋白,可能是亚铁和钴螯合酶的初始物。高等植物中,SirB 是由核基因编码的,其基因来源于原核生物,该基因通过内共生,由原生质体基因转变为核基因,从而成为真核细胞的一部分。

2　与西罗血红素相关的重要代谢途径

2.1　重要的硫元素和氮元素代谢

植物从土壤中吸收的含硫物质主要是硫酸盐,但是硫酸盐进入植物后不能被直接利用,而需经过一系列的反应整合到半胱氨酸和甲硫氨酸上才能被植物利用。硫酸盐进入植物之后的系列反应为:首先,硫酸盐在硫酸盐还原酶的作用下还原为亚硫酸盐,该反应发生在质体中,是由 SiR 催化的六电子转移反应;

然后还原态的硫被整合到半胱氨酸和甲硫氨酸上,最后含硫氨基酸被分配到细胞中的各个部位,用来进一步合成蛋白质或含硫化合物,如氧化还原活性肽和金属硫蛋白。与硫同化相关的许多酶都要经过转录,转录后和翻译三个环节调控,同时这些酶的活性还会受到控制及反馈调节[24]。

植物中大多数还原态的氮元素是由硝酸盐还原得来,但是与根瘤菌共生的豆科植物可以通过根瘤直接从空气中固氮。植物依靠载体从根部吸收硝酸盐,硝酸盐进入细胞质,在硝酸盐还原酶的作用下还原为亚硝酸盐;然后在质体中,亚硝酸盐进一步由 NiR 催化发生六电子转移生成氨基酸。在与光反应有关的细胞器中,亚硝酸还原所需的电子是由铁氧还蛋白提供的,铁氧还蛋白位于光反应的电子传递链上。除了西罗血红素,SiR、NiR 也含铁并把铁硫中心作为辅基,这表明细胞内铁元素在硫酸盐和硝酸盐的同化吸收过程有重要的作用。

研究表明,在拟南芥中,转录因子 SLIM1 在初级和次级硫代谢中是主要的转录调控子[25]。另外,进一步的观察发现 SLIM1 在印度梨形孢和拟南芥有益互作中是必需化合物。在酵母双杂交体系中,SLIM1 与 MYB72 形成二聚体,MYB72 是拟南芥诱导系统抗性(ISR)必备转录子[26-27]。如果这在植物体内适用,SLIM1 则直接参与植物与微生物的互作[28];在十字花科植物中,硫代谢是由有益菌调控的,主要原因如下:首先,提供足量的硫元素能够促进植物的形态建成;其次,在寄主植物存在有益微生物的情况下,能够增强依赖硫元素的防御机制的抗病能力,达到稳产目的。

2.2 氧化还原反应调节

细胞最重要的机制是维持谷胱甘肽氧化还原平衡,以达到维持细胞内部氧化还原状态的稳定[29]。谷胱甘肽是植物抗逆反应和抗氧化损伤的重要物质。谷胱甘肽的生物合成分两步,皆不需要 ATP:第一步为谷氨酰半胱氨酸合成酶催化半胱氨酸和谷氨酸生成 γ-谷氨酰半胱氨酸,此反应为整个反应过程中的限制性反应;第二步为 γ-谷氨酰半胱氨酸和甘氨酸在谷胱甘肽合成酶的作用下生成谷胱甘肽。还原型谷胱甘肽是细胞内诸多反应的底物,反应后形成氧化型谷胱甘肽。氧化型谷胱甘肽是由二硫键桥接两分子谷胱甘肽分子形成的。细胞主要是在转录水平上对谷胱甘肽合成酶和分解酶的合成来调控还原型谷胱甘肽的量;同时也会通过酶修饰、底物的量和反馈回路进行转录后调控。另外,谷胱甘肽还是金属硫蛋白的合成底物,金属硫蛋白能够螯合并去除细胞中过量的重金属。

极端温度、干旱、病原物侵害或有毒物质积累都会诱导细胞产生 ROS[30-32]。去除 ROS、有害异物和重金属都需要谷胱甘肽参与,这是因为谷胱甘肽作为抗氧化物质在抗坏血酸循环中起重要作用。不同细胞器中的防御反应也会使氧化还原状态发生改变。氧化还原状态的改变会影响 NPR1 的合成,NPR1 是由水杨酸介导防御基因的重要调控子[33-35]。NPR1 通过分子间的二硫键连接成寡聚体,游离在细胞质中。NPR1 的巯基亚硝基化修饰促进其聚合物的形成,但由水杨酸诱导的 NPR1 聚合物的解离反应是由硫氧还蛋白催化的[36]。另外,NPR1 硫的亚硝基化修饰还促进 NPR1 由细胞质转移到细胞核。氧化胁迫和 H_2O_2 的积累会使氧化还原感受器呈氧化状态,这种情况就需要植物做出相应的反应;相反,有益微生物则使细胞呈还原状态[36-37]。

2.3 硫的次级代谢

硫元素不仅参与基础代谢,同时在硫代葡萄糖苷的合成中也起着重要作用。在十字花科植物中,植物体内超过 30% 的硫元素用来合成硫代葡萄糖苷。此外,富含硫的十字花科植物的代谢物能用于植物病虫害的防治。有研究发现,硫的次级代谢产生的不同的含硫抗菌物质对内生真菌和腐生真菌均具有抗性[38-39]。硫的次级代谢产生的多种含硫抗菌物质可能有助于植物抵抗腐生型和活体营养型的真菌。

在植物与微生物间的有益互作中,硫代葡萄糖苷可能也有一定作用[40],因为它们的分解产物可能会抑制菌丝的生长。硫代葡萄糖苷也是香气、抗癌药剂和作物抗真菌剂的重要成分。硫代葡萄糖苷的合成与植物中硫含量有直接关系。足量的硫肥会促进硫代葡萄糖苷的合成,增加量从 25% 到 50 多倍。由蛋氨酸合成的硫代葡萄糖苷比由色氨酸合成的硫代葡萄糖苷作用显著,这由许多基因转录调控和 SLIM1 控制。在缺硫的植物中,硫代葡萄糖苷的合成由一个下调基因和上调基因共同作用控制硫的吸收与同化。硫代葡萄糖苷可作为潜在硫源,在缺硫的状态下为其它代谢反应提供硫。但是,关于硫代葡萄糖苷如何进行硫代谢这个问题还没有研究定论[41-42]。在缺硫条件下,硫代葡萄糖苷分解用于根部生长素的合成,这可能会促进根部生长以吸收更多的硫[42]。

亚麻荠素(camalexin)是拟南芥对抗灰霉病 B 菌株时产生的植物抗毒素,从而对抗外来病原的入侵。亚麻荠素含硫和氮的侧链,这也显示了西罗血红素在

植物病原菌互作中的重要作用。植物的茎与根都能诱导亚麻荠素合成[42],最主要的诱导物质是 ROS,另外一些非生物因素,比如重金属积累、紫外光照和化学毒害等都会诱导产生 ROS,最后促进亚麻荠素的合成。除了 ROS,水杨酸信号传导和谷胱甘肽的氧化还原状态也会诱导亚麻荠素合成。研究已经明确了导致亚麻荠素的合成的生物和非生物因素,但是关于亚麻荠素在植物防御中的功能尚处于研究的初期阶段。

2.4　铁盐代谢

当根部缺铁时,原生质膜中的质子 ATP 转移酶会使非原生质体呈弱酸性,从而提高 $Fe(OH)_3$ 的溶解量。酸性条件会提高与原生质膜相连的 Fe^{3+} 螯合还原酶 FRO2 的活性,FRO2 会把细胞内 NADH 的电子传给细胞外的 Fe^{3+}。该酶的活性是与控制铁转运的 IRT1 相互作用的。在细胞中,铁元素分布于不同的亚细胞结构中,如质体、线粒体、细胞液和液泡等[43]。在相应的细胞器中,是由铁蛋白和螯合酶把铁转运到需要的地方,或者直接作为辅基和酶连接。由于这些反应很复杂,并且铁在西罗血红素合成、硫氮元素同化和作为一些酶辅基中具有重要作用,可以推测,细胞中铁含量的平衡对硫元素和氮元素的代谢具有重要作用。

铁元素对豆科植物中的固氮根瘤菌也有重要作用,因为豆血红蛋白和固氮酶中含有大量的铁。豆血红蛋白的辅基为含铁的血红素,血红素是由细菌合成的,脱辅基蛋白却是由豆科植物合成。另外,固氮酶包含有两个亚基,其中一个亚基由 MoFe 作为辅基,另一个亚基由铁作为辅基。所以,提供足量的铁用于相关蛋白的合成是根瘤菌和豆科植物共生的保障。

铁含量的平衡对植物细胞中 Fe-S 簇的生物合成具有重要作用。尽管 Fe-S 簇的化学结构简单并且能够在厌氧条件下自我合成,但在有氧条件下,其合成需要特定的蛋白,其合成包括三个步骤: 半胱氨酸释放硫、铁硫在骨架蛋白中聚集、新合成的 Fe-S 簇形成铁硫蛋白。

铁硫簇具有不稳定性,所以每个细胞核细胞器都包含有 Fe-S 簇聚集蛋白。Fe-S 簇的合成途径起源已久,因所有的细菌都能合成它们[44]。在进行光合作用的绿色植物中,大部分的 Fe-S 簇用于光合作用。例如,光系统I中的蛋白复合体是植物中最复杂的的蛋白复合体之一,含有 3 个 Fe-S 簇[45]。暗反应中一些重要的酶也含有 Fe-S 中心。

2.5　在细胞和细胞器信号转导中的作用

长久以来,很多学者认为叶绿素生物合成的中间物在信号转导过程中具有重要作用[46]。叶绿素中间物不可能直接参与该过程[47-48],但是叶绿素合成受损会影响由核基因编码的质体蛋白合成。比如后续的光损伤会促进 ROS 的合成。西罗血红素的合成受抑制也许会影响到光敏物质尿卟啉Ⅲ的积累,如果它不用来合成叶绿素和血红素,会扰乱从血红素和原叶绿酸到 ALA 的反馈调节。与代谢和信号转导的相关蛋白表达能够通过微距阵分析得出重要的数据,这些蛋白都是由西罗血红素控制调节的(例如 Fe、N、S 的代谢,Fe-S 簇的生物合成,ROS 修复系统,氧化还原状态控制,谷胱甘肽的生物合成,防御反应, 由质体到细胞核的信号转导)。通过对以上数据相关性分析,证明血红素和西罗血红素在逆向信号传导中具有重要作用[49]。

3　研究展望

本文主要综述了西罗血红素在植物生理生化反应过程中的重要作用,但是还有诸多问题有待解决。首先,尿卟啉原Ⅲ在甲基化反应合成西罗血红素和脱羧反应合成叶绿素或血红素两种不同反应途径中,其量是如何分配的尚不能确定。其次,在野生型和基因敲除性生物中,关于铁螯合物(α,α-联氮杂苯)如何决定生物体内的重要生理参数还需要进一步研究,以明确原卟啉 IX 和西罗血红素合成时的物质竞争情况。尿卟啉原Ⅲ在两种途径中的分配可能随着外部环境的变化而变化,如养分的利用率或环境胁迫。同时,SirB 具有一个铁硫中心,该铁硫中心不能被还原,这种特性会在反应的分支点起调节作用。氧化还原影响着蛋白和蛋白之间的互作,这种互作可以调控下游的反应。因该辅酶对外部调控和氧化还原敏感,这可能是因其具有感应电子的功能,为此依靠 UPM 或 SirB 修复的植物会对还原型铁或硫高度敏感。当细胞内离子水平超出一定范围时,不仅要依靠生化反应调节,植物也许会在反应前就识别到细胞内离子的变化,并做出相应反应。SirB 里的铁硫中心会参与到氧化还原状态识别或信号转导途径的起始,该信号转导途径负责控制下游加工过程。最后,植物合成途径中关于催化第二步反应的酶尚不明确。所以,还需更多的研究来解决这些问题。

参 考 文 献:

[1] Panek H, O'Brian M R. A whole genome view of prokaryotic haem biosynthesis[J]. Microbiology, 2002, 148: 2273-2282.

[2] Warren M J, Raux E, Schubert H L, Escalante-Semerena J C. The

biosynthesis of adenosylcobalamin (vitamin B12) [J]. Natural Products Report., 2002, 19: 390-412.

[3] Bollivar D W, Elliott T, Beale S I. Anaerobic protoporphyrin biosynthesis does not require incorporation of methyl groups from methionine[J]. Journal of Bacteriology, 1995, 177: 5778-5783.

[4] Raux E, McVeigh T, Peters S E *et al*. The role of *Saccharomyces cerevisiae* Met1p and Met8p in sirohaem and cobalamin biosynthesis [J]. Journal of Biochemistry, 1999, 338: 701-708.

[5] Johansson P, Hederstedt L, Organization of genes for tetrapyrrole biosynthesis in Gram-positive bacteria [J]. Microbiology, 1999, 145: 529-538.

[6] Bindu R C, Vivekanandan M. Hormonal activities of 5-aminolevulinic acid in callus induction and micropropagation [J]. Plant Growth Regulation, 1998, 26: 15-18.

[7] McCormac A C, Fischer A, Kumar A M *et al*. Regulation of HEMA1 expression by phytochrome and a plastid signal during de-etiolation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Journal, 2001, 25(5): 549-561.

[8] Goslings D, Meskauskiene R, Kim C *et al*. Concurrent interactions of heme and FLU with Glu tRNA reductase (HEMA1), the target of metabolic feedback inhibition of tetrapyrrole biosynthesis, in dark and light-grown Arabidopsis plants [J]. Plant Journal, 2004, 40 (6): 957-967.

[9] Tripathy B C, Chakraborty N. 5-Aminolevulinic acid induced photodynamic damage of the photosynthetic electron transport chain of cucumber (*Cucumis sativus* L.) cotyledons [J]. Plant Physiology, 1991, 96: 761-767.

[10] Tripathy B C, Mohapatra A, Gupta I. Impairment of the photosynthetic apparatus by oxidative stress induced by photo sensitization reaction of protoporphyrin IX [J]. Biochimica et Biophysica Acta- Bioenergetics, 2007, 1767: 860-868.

[11] Heiber I, Ströher E, Raatz B *et al*. The redox imbalanced mutants of Arabidopsis differentiate signaling pathways for redox regulation of chloroplast antioxidant enzymes [J]. Plant Physiology, 2007, 143: 1774-1788.

[12] Cornah J E, Terry M J, Smith A G. Green or red: what stops the traffic in the tetrapyrrole pathway [J]. Trends in Plant Science, 2003, 8: 224-230.

[13] Raux-Deery E, Leech H K, Nakrieko K A *et al*. Identification and characterization of the terminal enzyme of siroheme biosynthesis from *Arabidopsis thaliana*: A plastid-located sirohydrochlorin ferrochelatase containing a 2Fe-2S center[J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280: 4713-4721.

[14] Fischer M, Schmidt C, Falke D *et al*. Terminal reduction reactions of nitrate and sulfate assimilation in *Streptomyces coelicolor* A3(2): identification of genes encoding nitrite and sulfite reductases [J]. Microbiological Research, 2012, 163: 340-348.

[15] Keesey R L, Ryan M D. Spectroelectrochemical elucidation of the kinetics of two closely spaced electron transfers [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2012, 677: 56-62.

[16] Phillips J D, Whitby F G, Kushner J P. Structural basis for tetrapyrrole coordination by uroporphyrinogen decarboxylase [J]. The EMBO Journal, 2003, 22: 6225-6233.

[17] Baishnab C T, Rena S. Siroheme-An essential component for life on earth[J]. Plant Signaling & Behavior, 2010, 5: 14-20.

[18] Crane B R, Getzoff E D. The relationship between structure and function for the sulfite reductases [J]. Current Opinion in Structural Biology, 1996, 6: 744-756.

[19] Raux E, McVeigh T, Peters S E *et al*. The role of *Saccharomyces cerevisiae* Met1p and Met8p in sirohaem and cobalamin biosynthesis [J]. Biochemical Journal, 1999, 338: 701-708.

[20] Raux E, Leech H K, Beck R *et al*. Identification and functional analysis of enzymes required for precorrin-2 dehydrogenation and metal ion insertion in the biosynthesis of siroheme and cobalamin in *Bacillus megaterium*[J]. Biochemical Journal, 2003, 370-505.

[21] Warren M, Bolt E, Roessner C *et al*. Gene dissection demonstrates that the *Escherichia coli* cysG gene encodes a multifunctional protein[J]. Biochemical Journal, 1994, 302: 837.

[22] Schubert H L, Raux E, Wilson K S *et al*. Common chelatase design in the branched tetrapyrrole pathways of heme and anaerobic cobalamin synthesis[J]. Biochemistry, 1999, 38: 10660-10669.

[23] Brindley A A, Raux E, Leech H K *et al*. A story of chelatase evolution identification and characterization of a small 13-15-kDa "ancestral" cobaltochel- atase(cbixs) in the archaea[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278: 22388-22395.

[24] Hirai M Y, Saito K. Post-genomics approaches for the elucidation of plant adaptive mechanisms to sulphur deficiency[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55: 1871-1879.

[25] Maruyama-Nakashita A, Nakamura Y, Tohge T *et al*. *Arabidopsis* SLIM1 is a central transcriptional regulator of plant sulfur response and metabolism[J]. The Plant Cell, 2006, 18: 3235-3251.

[26] Segarra G, Van der Ent S, Trillas I *et al*. *MYB72*, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by a fungal and a bacterial beneficial microbe[J]. Plant Biology, 2008, 11: 90-96.

[27] Vander Ent S, Verhagen B W M, Van Doorn R *et al*. *MYB72* is required in early signaling steps of rhizobacteria-induced systemic resistance in Arabidopsis[J]. Plant Physiology, 2008, 146: 1293-1304.

[28] Durrant W, Dong X. Systemic acquired resistance[J]. Annual Review of Phytopathology, 2004, 42: 185-209.

[29] Meister A. Glutathione metabolism. Methods in Enzymology. 1995, 251: 26-30

[30] Foyer C H, Noctor G. Redox homeostasis and antioxidant signaling a metabolic interface between stress perception and physiological responses[J]. Plant Cell, 2005, 17(7): 1866-1875.

[31] Meyer A J, Hell R. Glutathione homeostasis and redox-regulation by sulfhydryl groups[J]. Photosynthesis Research, 2005, 86: 435-457.

[32] Parisy V, Poinssot B, Owsianowski L *et al*. Identification of PAD2 as a γ-glutamylcysteine synthetase highlights the importance of glutathione in disease resistance of Arabidopsis [J]. The Plant Journal, 2006, 49: 159-172.

[33] Somssich I E. Closing another gap in the plant SAR[J]. Puzzle

Cell, 2003, 113: 815-816.

[34] Pieterse C M J, Van Loon L. NPR1: the spider in the web of induced resistance signaling pathways [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2004, 7: 456-464.

[35] Tada Y, Spoel S H, Pajerowska-Mukhtar K *et al*. Plant immunity requires conformational charges of NPR1 via S - nitrosylation and thioredoxins[J]. Science Signaling, 2008, 321: 952-956.

[36] Baltruschat H, Fodor J, Harrach B D *et al*. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants[J]. New Phytologist, 180: 501-510.

[37] Vadassery J, Tripathi S, Prasad R *et al*. Monodehydroascorbate reductase 2 and dehydroascorbate reductase 5 are crucial for a mutualistic interaction between *Piriformospora indica* and *Arabidopsis*[J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166: 1263 -1274.

[38] Bednarek P, Bednarek M P, Svatos A *et al*. A glucosinolate metabolism pathway in living plant cells mediates broad-spectrum antifungal defense[J]. Science, 2009, 323: 101-106.

[39] Clay N K, Adio A M, Denoux C *et al*. Glucosinolate metabolites required for an *Arabidopsis innate* immune response[J]. Science Signaling, 2009, 323: 95-101.

[34] Sherameti I, Venus Y, Drzewiecki C *et al*. PYK10, a β-glucosidase located in the endoplasmatic reticulum, is crucial for the beneficial interaction between *Arabidopsis thaliana* and the endophytic fungus *Piriformospora indica*[J]. Plant Journal, 2008, 54: 428-439.

[41] Halkier B A, Gershenzon J. Biology and biochemistry of glucosinolates[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 303-333.

[42] Falk K, Tokuhisa J, Gershenzon J. The effect of sulfur nutrition on plant glucosinolate content: physiology and molecular mechanisms [J]. Plant Biology, 2007, 1 9: 573-581.

[43] Jeong J, Guerinot M L. Homing in on iron homeostasis in plants [J]. Trends in Plant Science, 2009, 14: 280-285.

[44] Vinella D, Brochier-Armanet C, Loiseau L *et al*. Iron-sulfur (Fe/S) protein biogenesis: phylogenomic and genetic studies of A - type carriers[J]. PLoS Genetics, 2009, 5(5): e1000497.

[45] Balk J, Lobréaux S. Biogenesis of iron-sulfur proteins in plants [J]. Trends in Plant Science, 2005, 10: 324-331.

[46] Pogson B J, Woo N S, Förster B *et al*. Plastid signalling to the nucleus and beyond[J]. Trends in Plant Science, 2008, 13(11): 602-609.

[47] Mochizuki N, Tanaka R, Tanaka A *et al*. The steady-state level of Mg-protoporphyrin IX is not a determinant of plastid-to-nucleus signaling in Arabidopsis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences United States of America, 2008, 105(39): 15184 -15189.

[48] Moulin M, McCormac A C, Terry M J *et al*. Tetrapy rrole profiling in Arabidopsis seedlings reveals that retrograde plastid nuclear signaling is not due to Mg-protoporphyrin IX accumulation [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences United States of America, 2008, 105(39): 15178-15183.

[49] Fey V, Wagner R, Braütigam K *et al*. Retrograde plastid redox signals in the expression of nuclear genes for chloroplast proteins of *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280: 5318-5328.