

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2016.50814

张倩雯, 丁广大, 王效华, Liu L, Graham KJ, 徐芳森, 石磊. 植物种子植酸研究进展[J]. 植物科学学报, 2016, 34(5): 814-820

Zhang QW, Ding GD, Wang XH, Liu L, Graham KJ, Xu FS, Shi L. Research progress on plant seed phytate[J]. *Plant Science Journal*, 2016, 34(5): 814-820

植物种子植酸研究进展

张倩雯^{1,2}, 丁广大^{1,2}, 王效华^{1,2}, Liu Lei³, King John Graham^{1,3},
徐芳森^{1,2}, 石磊^{1,2*}

(1. 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070; 2. 农业部长江中下游耕地保育重点实验室/
华中农业大学微量元素研究中心, 武汉 430070; 3. *Southern Cross Plant Science*,
Southern Cross University, Lismore NSW 2480, Australia)

摘要: 磷是植物生长发育所必需的大量营养元素。在种子发育过程中, 植酸是磷的贮存库, 对维持植物体内磷平衡有重要的作用。在种子萌发过程中, 植酸酶分解植酸盐, 释放磷、矿质营养和肌醇供幼苗生长。本文综述了近年来植物(作物)种子中植酸的生物合成途径、种子植酸含量的遗传、低植酸作物的育种等研究进展。首先, 植酸生物合成途径中最初的反应底物为葡萄糖-6-磷酸, 形成肌醇后, 以肌醇为底物合成植酸共有两条路径: 依赖脂类与不依赖脂类, 目前, 已分离鉴定若干植酸合成所需的关键酶及其编码基因, 包括肌醇-3-磷酸合成酶、肌醇激酶、肌醇多磷酸盐激酶, 以及参与植酸运输的 ATP 结合盒转运子。其次, 利用作图群体及关联分析群体, 分别在水稻(*Oryza sativa* L.)、白菜(*Brassica rapa* L.)、菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)等植物中鉴定出多个与种子植酸含量相关的遗传位点。第三, 筛选获得有价值的低植酸突变体是培育低植酸作物的主要途径。当把低植酸作为育种目标时, 可能会忽略种子植酸含量的降低给植物带来的不利影响, 如何消除低植酸造成的不利影响, 成为科学家们亟需解决的问题。

关键词: 作物; 植酸磷; 种子; 生物合成; 数量性状位点(QTL); 育种

中图分类号: Q946.91

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2016)05-0814-07

Research Progress on Plant Seed Phytate

ZHANG Qian-Wen^{1,2}, DING Guang-Da^{1,2}, WANG Xiao-Hua^{1,2}, LIU Lei³,
KING John Graham^{1,3}, XU Fang-Sen^{1,2}, SHI Lei^{1,2*}

(1. *National Key Lab of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University*, Wuhan 430070, China;
2. *Key Lab of Cultivated Land Conservation, Ministry of Agriculture/Microelement Research Centre, Huazhong Agricultural University*, Wuhan 430070, China; 3. *Southern Cross Plant Science, Southern Cross University*, Lismore NSW 2480, Australia)

Abstract: Phosphorus (P) is an essential macro-element for higher plant growth and development. Phytate is the storage form of P in seeds, and plays vitally important roles in P sensing and homeostasis during seed development. Phytate is hydrolyzed by phytases and releases P, mineral nutrients, and *myo*-inositol for seedling growth during seed germination. This paper reviewed advances in studies, including the biosynthesis pathway of phytic acid, heredity of phytate in seeds, and the breeding of low phytic acid crops. Firstly, glucose 6-phosphate and

收稿日期: 2016-05-24, 退修日期: 2016-06-27。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471933); 教育部新世纪优秀人才项目(NCET-13-0809); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2014PY020, 2662015PY105)。

This work was supported by grants from the National Nature Science Foundation of China (31471933), New Century Excellent Talents in University of Ministry of Education of China (NCET-13-0809) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (2014PY020, 2662015PY105)。

作者简介: 张倩雯(1992-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物营养生理与遗传研究(E-mail: zhangqianwen1992@webmail.hzau.edu.cn)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: leish@mail.hzau.edu.cn)。

inositol (Ins) serve as the initial substrates for two pathways to synthesize phytic acid: the lipid-dependent and lipid-independent pathways. Several key genes and enzymes involved in the biosynthesis and transport of phytic acid have been identified, including genes encoding *myo*-inositol-3- P_1 synthase (MIPS), MIK, IPK, and a multi-drug resistance-associated protein (MRP) ATP-binding cassette transporter. Secondly, some genetic loci for seed phytate content have been detected in rice, *Brassica rapa*, common bean, mung bean and chickpea, using the genetic mapping population and/or genome-wide association panel, respectively. Thirdly, identification of valuable low phytic acid mutants is important for the breeding of low-phytate crops. Once breeding low-phytate crops is a target, scientists can focus on how to reduce the negative effects accompanied by low phytic acid in crops.

Key words: Crop; Phytate; Seed; Biosynthesis; Quantitative trait locus (QTL); Breeding

磷是动植物生长发育必需的营养元素之一。植酸(Phytic acid, 又称为肌醇六磷酸)是种子中磷的主要贮存形式, 对维持植物体内磷平衡有重要的作用。种子中以植酸形态存在的磷约占种子总磷的75%。植酸能与 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 等金属阳离子结合形成植酸盐。在种子萌发过程中, 植酸盐被植酸酶分解并释放出磷、矿物营养和肌醇等供子叶发育和幼苗生长^[1-3]。植酸在真核细胞中普遍存在, 它调控许多细胞功能, 包括响应逆境胁迫、发育、磷信号转导和稳态、DNA修复、RNA编辑和mRNA输出等^[4]。同时, 植酸能作为信号分子参与植物激素的信号转导; 植酸在植物抵抗氧化应激反应中, 也能够进行自我保护^[5]。此外, 植酸能通过调控一系列防御机制, 抵抗植物病原体的入侵。本文对种子中植酸的生物合成及其调控途径, 植酸含量的遗传特性, 低植酸作物育种及其存在的问题等进行了评述和展望。

1 植物种子中植酸的生物合成途径

植酸主要在细胞质中合成, 合成时首先形成六碳环状结构, 随后形成肌醇(环己六醇), 肌醇经过多步磷酸化反应形成植酸(肌醇六磷酸)^[6]。种子萌发时, 植酸作为磷的储藏库被水解并释放出磷供幼苗利用^[7]。种子发育初期, 肌醇是胚乳和种皮的重要组成成分。种子中合成的植酸以混合盐类包裹体(植酸钙、植酸镁)的形式储存于细胞的蛋白贮藏液泡(Protein storage vacuoles, PSV)^[6]。研究表明, 植酸可以在作物的不同组织和部位进行储存。例如, 玉米(*Zea mays* L.)种子在生长发育

及成熟过程中, 植酸主要在胚中积累^[8]。粳稻(*Oryza sativa* subsp. *japonica*)开花后7~30 d, 籽粒胚乳中植酸始终处于较低水平(0.3~1.0 mg/g), 但在开花后10~25 d, 籽粒糊粉层的植酸含量持续10~12 d快速增加^[9]。类似于粳稻亚种, Wang等^[10]证实籼稻(*O. sativa* subsp. *indica*)亚种的糠(包含糊粉层)中磷含量是胚乳的6倍之多, 且种子中65%的总磷积累在糊粉层。

1.1 肌醇与肌醇-磷酸(Ins P_1)的合成

植酸的生物合成需要肌醇(*myo*-inositol)作为碳骨架。在肌醇的合成过程中, 葡萄糖-6-磷酸(Glucose 6-phosphate)作为初级反应底物, 在肌醇-3-磷酸合成酶的催化作用下转化为肌醇-3-磷酸(*myo*-inositol-3- P_1)。肌醇-3-磷酸合成酶(MIPS)基因的表达与种子发育阶段细胞内植酸的合成密切相关, 且植物基因组中包含编码MIPS基因的单个同源基因(大麦 *Hordeum vulgare* L.)和多个同源基因(玉米、大豆 *Glycine max* (L.) Merr)^[7,11,12]。

1.2 肌醇和 Ins P_1 转化为植酸

以肌醇作为最初的反应底物, 合成植酸共有两条路径: 依赖脂类与不依赖脂类(图1)。这两条路径的差异体现在从肌醇转化为肌醇三磷酸(Ins P_3)的过程中是否依赖脂类物质。一方面, 大多数真核生物细胞(包括植物的营养器官), 合成植酸主要是依赖脂类的反应途径, 该过程形成的其它肌醇磷酸盐如肌醇-1,4,5-三磷酸(*myo*-inositol-1,4,5-trisphosphate)对信号转导非常重要^[13-17]。依赖脂类的合成通路, 肌醇首先转化为磷脂酰肌醇(Phosphatidylinositol, PtdIns), 该复合物随后被特定的磷脂酶C(Phospholipase C)水解为肌醇

-1,4,5-三磷酸, 进一步在3种肌醇多磷酸激酶(IPK)的作用下, 转化为植酸(图1), 这些激酶分别在肌醇环不同的位置进行磷酸化^[18]。另一方面, 当植酸作为磷库贮存于种子或其它器官时, 植酸的合成可能主要是不依赖脂类的途径。肌醇按顺序磷酸化合成一系列可溶性磷酸盐, 最终形成植酸(图1)^[19,20]。该通路依赖于脂类的合成通路相比, 最大的差异在于“肌醇→肌醇一磷酸→肌醇二磷酸”的过程是否有肌醇激酶(MIK)、肌醇单磷酸激酶的催化(图1)。目前, 在水稻(*O. sativa* L.)、玉米等作物中编码肌醇激酶基因的研究已有报道^[21-24]。如, 水稻 *lpa* N15-186 突变体是由肌醇激酶基因发生突变引起, 导致肌醇和磷酸生成肌醇-3-磷酸的步骤受抑, 最终导致植酸含量的下降^[21]。但是编码肌醇单磷酸激酶基因的报道较少, 至今还未在作物中分离克隆编码肌醇单磷酸激酶的基因。

2 调控作物种子植酸含量的遗传位点

目前, 研究人员利用作图群体及关联分析群体, 分别在水稻、白菜(*Brassica rapa* L.)、菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)、绿豆(*Vigna radiata*

(L.) Wilczek)、鹰嘴豆(*Cicer arietinum* L.)等植物中鉴定出多个与种子植酸磷含量相关的遗传位点(表1)。Stangoulis等^[25]利用籼稻 IR64 与粳稻 Azucena 杂交培育的 DH 群体定位了2个控制种子植酸磷含量的数量性状位点(QTL), 分别位于第5和第12条染色体上, 对表型变异的贡献率分别为24%和15%。其中, 位于第5条染色体上的QTL还与总磷含量密切相关, 对总磷含量表型变异的贡献率为20%。Zhao等^[26]利用白菜的5个分离群体鉴定到8个与种子总磷浓度相关的QTL和8个与植酸浓度相关的QTL。种子无机磷浓度和植酸浓度共定位的3个QTL加性效应方向相同, 均为控制种子总磷的QTL。Blair等^[27]利用菜豆 RIL 群体检测到4个与种子总磷含量相关的QTL和2个与植酸含量相关的QTL, 分别定位在B5和B7染色体上。Shunmugam等^[28]利用豌豆低植酸突变体与正常植酸品种杂交得到的RIL群体, 在豌豆第5条染色体上检测到控制种子植酸磷含量的QTL, 该位点同时存在与铁生物有效性相关的QTL, 这表明豌豆种子植酸含量与铁的生物有效性密切相关; 该RIL群体中植酸磷浓度性状是单基因遗传, 这与Rehman等^[29]的研究结果一致, 即豌

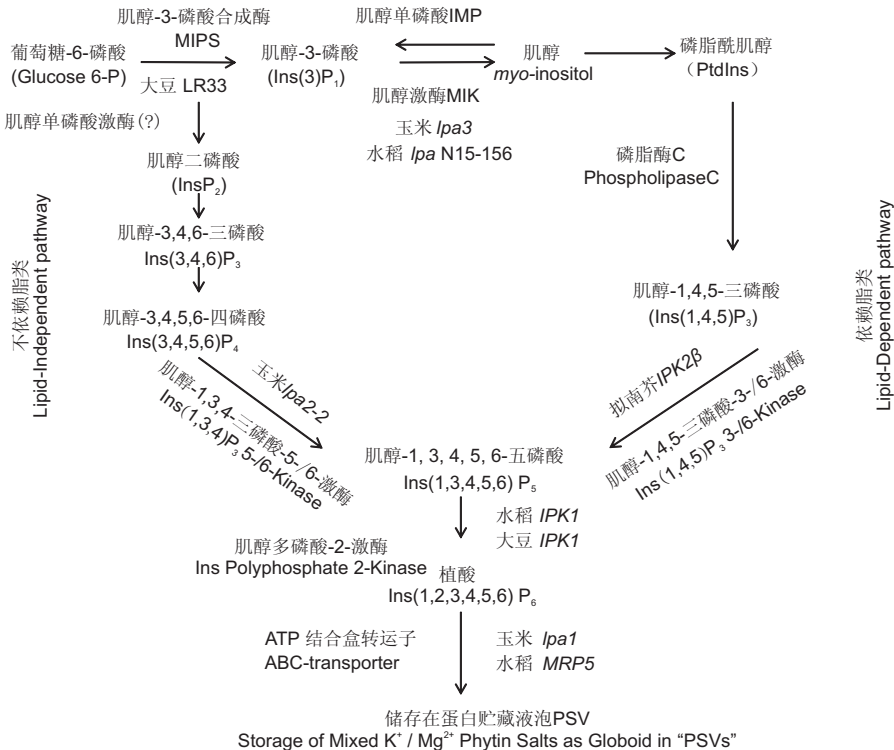


图1 植酸合成代谢的主要途径(根据 Raboy^[18]修改)

Fig. 1 Main pathway of phytic acid synthesis (modified from Raboy^[18])

表 1 不同作物中控制种子植酸和总磷浓度 (或含量) 的显著性 QTLs
Table 1 Significant QTLs for seed phytate and total phosphorus concentration (content) in crops

物种 Species	性状 Trait	数量性状 位点 QTL	连锁群 Linkage Group	遗传位点 分子标记 Flanking/ Interval Marker	LOD 值 LOD scores	解释表型 方差 R^2 (%)	加性 效应 Add.	参考文献 Reference
水稻 <i>Oryza sativa</i> L.	SPAP conc.	—	5	RM305-RM178	5.6	24.3	+	Stangoulis <i>et al.</i> , 2007 ^[25]
	STP conc.	—	5	RM305-RM178	5.6	24.3	+	
白菜 <i>Brassica rapa</i> L.	SPAP conc.	—	R01	E36M15M197.9Y	2.51	13.2	—	Zhao <i>et al.</i> , 2008 ^[26]
		—	R03	E38M62-2CC	2.55	11.0	—	
		—	R06	P23M47254.2	4.03	22.3	+	
	SPHO conc.	—	R01	E36M15M197.9Y	2.65	15.3	+	
		—	R03	E38M62-2CC	3.20	13.0	—	
		—	R06	P23M47254.2	3.47	17.5	+	
菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	SPAP content. (HP)	<i>Pac7.1</i>	7	BM209-BMd40	—	33.3	+	Blair <i>et al.</i> , 2012 ^[27]
	SPAP content. (MP)	<i>Pac5.1</i>	5	F0810-BMd053	—	16.6	+	
	STP content (HP)	<i>Npc6.1</i>	6	BM003-BMd37	—	11.7	—	
		<i>Npc7.1</i>	7	E070.9-BM46	—	27.2	—	
	STP content (MP)	<i>Npc7.1</i>	7	E070.9-BM46	—	43.5	—	
		<i>Npc10.1</i>	10	BM157-GATs11	—	11.6	—	
绿豆 <i>Vigna radiata</i> (L.) <i>Wilczek</i>	SPAP content	<i>SDPAP4.1</i>	4A	CEDG139-MB4-SSR179	3.78	11.2	+	Sompong <i>et al.</i> , 2012 ^[31]
		<i>SDPAP11.1</i>	11A	BM141-VR222	4.00	6.1	+	
	STP content	<i>SDTP4.1</i>	4A	Bmd25-MB-SSR179	2.64	10.6	+	

SPAP: 种子植酸磷; SPHO: 种子无机磷; STP: 种子总磷; conc.: 浓度; HP(或MP): 生长在土壤磷含量高或中等的土壤。

SPAP; Phytic acid in the seed; SPHO; Phosphate in the seed; STP; Total phosphorus in the seed; conc.: Concentration; HP(or MP); Soils with high phosphorus/moderate phosphorus.

豆低植酸表型是由单基因控制的。Sompong 等^[30]发现绿豆种子总磷和植酸磷含量由两个主效的显性等位基因控制, 许多微效基因与其共同发挥作用, 说明植酸是多基因控制的数量性状。随后, Sompong 等^[31]定位了控制绿豆种子植酸磷、总磷和无机磷的 QTL, 7 个 QTL 中 2 个与植酸磷含量相关, 4 个与无机磷含量有关, 1 个与总磷含量相关。研究发现种子植酸磷和总磷的含量与绿豆从开花到成熟的天数呈正相关, 这表明植物物候对种子磷含量也有重要影响。

此外, Saha 等^[32]以鹰嘴豆自然群体为材料, 通过全基因组关联分析 (GWAS) 的方法, 鉴定出 1 个与植酸含量和耐旱性相关的简单重复序列标记 NCPGR90, 该标记位于肌醇单磷酸酶基因 (*CaIMP*) 的 5' UTR 区域, 进一步研究表明 *CaIMP* 简单重复序列长度的变化可能会调节植酸水平, 改变鹰嘴豆的耐旱能力。Redekar 等^[33]利用大豆低植酸突变体和正常株系, 进行全基因组转录组 (RNA-seq) 分析, 寻找到 4235 个差异表达基因, 涉及到 18 个生物学过程, 并发现低植酸突变体分别在种子发育早期和晚期对植物防御反应起诱导和

抑制作用。

3 低植酸突变体育种及面临的问题

植酸作为强螯合剂, 可与种子中的铁、锌、钙等金属阳离子形成稳定的植酸盐。单胃动物 (人和非反刍动物) 的消化道由于没有植酸酶而很难吸收、利用植酸及植酸盐, 使这些微量元素的生物有效性大大降低, 从而容易造成微量元素缺乏症^[18], 此外, 大量的植酸和植酸盐以动物粪便的形式排出后通过水系统流入江海湖泊, 造成了水体富营养化等环境问题。因此, 培育低植酸作物成为目前的研究热点。

筛选获得有价值的低植酸突变体是培育低植酸作物的主要途径。低植酸突变体的获得可以通过两种方法: 一是利用化学、物理诱变技术, 寻找突变体; 二是通过操纵植酸合成途径中的关键酶, 采用 RNAi 干扰技术使目标基因沉默表达, 通过筛选获得低植酸突变体。植酸生物合成的第一步是 MIPS 参与的催化反应, 其活性对于肌醇环非常重要, Xu 等^[34]通过组成型表达启动子使种子和营养器官中 MIPS 基因的表达受到抑制。Ali 等^[35]利用 RNAi

技术使水稻 *MIPS* 基因表达水平下调 4.59 倍, 同时观察到 T_3 代种子中植酸含量显著降低, 无机磷含量增加。*IPK* 基因催化水稻植酸生物合成最后一步, 利用 *Oleosin 18* 启动子进行 RNAi 干涉, 使种子中 *IPK1* 基因沉默, 转基因 T_3 代成熟植株与非转基因植株在株高、分蘖数、穗数以及千粒重等农艺性状上并无显著差异, 但 T_4 代种子中 *IPK1* 下调表达 3.85 倍, 植酸水平显著降低, 同时无机磷含量增加^[36]。*MIK* 也在植酸合成初期发挥作用, 实现肌醇-3-磷酸与肌醇之间的转化。Li 等^[37] 利用 RNAi 技术使 *OsMIK* 基因特异性沉默, 转 *amiMIK* 和 *hpMIK* 基因水稻种子的植酸含量分别下降 14.9% ~ 50.2% 和 38.1% ~ 50.7%, 但与非转基因材料相比, 农艺性状并无显著差异。并且启动子 *Ole18* 介导的 *OsMIK* 的基因沉默仅发生在发育和成熟的种子中, 不会发生在营养器官(根、茎和叶片)中。这些研究结果为今后培育低植酸高产的水稻品种提供了新的思路。

目前获得的低植酸突变系均属于隐性突变, 部分纯合植株存在农艺性状的缺陷或致死^[6,38]。通常, 种子植酸合成积累的遗传位点会改变种子中磷的化学形式, 如降低植酸增加无机磷, 但对种子总磷的影响较小^[39]。目前发现有两个低植酸隐性突变体是例外: 一是 Nagy 等^[40] 发现的拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) 肌醇六磷酸特异的 ABC 转运子 *MRP5* (*Multidrug Resistance-associated Protein*, 多药耐药相关蛋白) 突变体, 其不仅使种子中植酸含量降低, 还导致总磷减少 35%; 二是大麦隐性突变体 *low phytic acid 1-1* (*Hv1pa1-1*), 其种子胚乳中植酸磷和总磷与野生型相比分别降低 45% 和 25%^[41,42]。Li 等^[37] 利用水稻种子特异启动子 *Ole18* 使 *OsMRP5* 下调表达, 结果发现转基因植株种子植酸含量与野生型比较下降了 35.8% ~ 71.9%, 株高与分蘖数无显著差异, 但是种子重量显著降低 (17.8%), 种子萌发率与幼苗出苗率也均降低; 该基因沉默表达使种子无机磷含量升高 7.5 倍, 增加量远大于糙米中植酸磷的降低量, 可能是种子中其他含磷化合物如脂类、核酸等的降低影响了种子的整体发育。Shi 等^[43] 利用图位克隆方法分离克隆了玉米 *low phytic acid 1* (*1pa1*) 基因, 它负责编码 MRP 蛋白 ATP 结合盒 (ABC, ATP-binding cassette) 转运子, 该基因初

期在胚中表达, 同时也在其他组织和营养器官中表达; 该基因的突变体具有低植酸表型, 但种子萌发率和生存能力均有所下降^[44]。*ZmMRP4* 是水稻中 *OsMRP5* 的同源基因, 在玉米胚的特异性启动子 *Ole* 和 *Glb* 调控下, 通过 RNAi 技术使玉米胚中 *ZmMRP4* 特异性下调表达, 转基因植株种子植酸含量显著降低, 但是 T_1 代转基因植株的种子干重与发芽率与野生型相比无显著差异。

为了消除植酸含量降低对植物其他生理生化反应造成影响, 一些科学家从信号转导途径入手开展研究。Lee 等^[45] 发现 *GLFG Lethal* (*Gle1*) 是调控植酸发挥功能的关键因子, 对于高产低植酸的作物设计至关重要。*Gle1* 的拟南芥变异型可以弥补低植酸突变体 *ipk1* 造成的 mRNA 输出缺陷, 能有效地促进突变体植株营养生长, 提高种子产量, 改善种子性状。

4 展望

4.1 作物种子植酸调控途径相关基因的分离和克隆

目前, 相关研究已分离鉴定了若干植酸合成所需的关键酶及其编码基因, 包括 *MIPS*、*MIK*、肌醇多磷酸盐激酶, 以及参与植酸运输的 MRP 蛋白 ATP 结合盒转运子^[7,11,12,21,24,43,46]。然而, 关于植酸生物合成中编码肌醇单磷酸酶基因的研究较少。如果能分离克隆到相关基因, 将会更明确地解析植酸的生物合成过程。种子中植酸含量主要是由多基因控制的数量性状。水稻、白菜、菜豆、绿豆、豌豆、鹰嘴豆等作物已定位了一些与种子植酸含量等性状相关的遗传位点^[25-28,31,32], 可采用 QTL-seq 技术, 简化基因组测序和关联分析等方法, 并结合转录组分析, 精细定位和分离克隆部分调控植酸含量的主效 QTL, 并阐明其遗传机理。

4.2 低植酸作物的育种

培育低植酸作物已成为当前的研究热点。当把低植酸作为育种目标时, 可能忽略了种子植酸含量的降低给植物带来的不利影响。如何消除这些不利影响是科学家们亟需解决的问题。目前已有研究利用合适的特异性启动子通过基因修饰技术 (RNAi 或人工小 RNA) 对植酸合成途径关键酶基因进行定向修饰, 获得了低植酸转基因株系。CRISPR (Clustered Regularly Interspersed Short

Palindromic Repeats) RNA 是近年发现的原核生物的调控 RNA, 用以抵御病毒和质粒入侵。CRISPR-Cas9 系统介导基因组靶向实验, 相比 RNAi 技术基因沉默表达 100%, 高世代材料表型不会衰弱^[47]。对基因组多拷贝生物而言, 可同时敲除同源基因, 敲除效率高。这为低植酸育种提供了新的选择。

此外, 通过传统的杂交、回交以及单倍体选育等手段对低植酸突变株进行遗传改良, 将减少因植酸含量降低对植物引起的生物学负效应; 通过了解植酸和微量元素元素之间的相互作用, 调节植酸与作物产量相关的代谢过程, 将进一步改良低植酸突变体, 实现作物健康生长和环境友好的统一。

参考文献:

- [1] 赵建军, 许泽永, 方小平. 作物低植酸育种研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2003, 2(2): 94-98.
Zhao JJ, Xu ZY, Fang XP. Research progress on low phytate crop[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2003, 25(2): 94-98.
- [2] Raboy V, Gerbasi PF, Young KA, Stoneberg SD, Pickett SG, Bauman AT, Murthy PPN, Sheridan WF, Ertl DS. Origin and seed phenotype of maize *low phytic acid 1-1* and *low phytic acid 2-1*[J]. *Plant Physiol*, 2000, 124(1): 355-368.
- [3] Pitt MW, Lott JNA. Large globose particles in the cotyledons of *Cucurbita maxima* seedlings[J]. *Can J Bot*, 1996, 74: 1186-1189.
- [4] Shears SB. How versatile are inositol phosphate kinases?[J]. *Biochem J*, 2004, 377: 265-280.
- [5] Doria E, Galleschi L, Calucci L, Pinzino C, Pilu R, Cassani E, Nielsen E. Phytic acid prevents oxidative stress in seeds: evidence from a maize (*Zea mays* L.) *low phytic acid* mutant[J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(3): 967-978.
- [6] Raboy V. The ABCs of low-phytate crops[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(8): 874-875.
- [7] Larson SR, Raboy V. Linkage mapping of maize and barley *myo*-inositol 1-phosphate synthase DNA sequences: correspondence with a *low phytic acid* mutation[J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 27-36.
- [8] Shi JR, Wang HY, Wu YS, Hazebroek J, Meeley RB, Ertl DS. The maize low-phytic acid mutant *lpa2* is caused by mutation in an inositol phosphate kinase gene[J]. *Plant Physiol*, 2003, 131(2): 507-515.
- [9] Iwai T, Takahashi M, Oda K, Terada Y, Yoshida KT. Dynamic changes in the distribution of minerals in relation to phytic acid accumulation during rice seed development[J]. *Plant Physiol*, 2012, 160: 2007-2014.
- [10] Wang FM, Rose T, Jeong K, Kretschmar T, Wissuwa M. The knowns and unknowns of phosphorus loading into grains, and implications for phosphorus efficiency in cropping systems[J]. *J Exp Bot*, 2016, 67(5): 1221-1229.
- [11] Hegeman CE, Good LL, Grabau EA. Expression of D-*myo*-inositol-3-phosphate synthase in soybean. Implications for phytic acid biosynthesis[J]. *Plant Physiol*, 2001, 125(4): 1941-1948.
- [12] Chappell AS, Scaboo AM, Wu X, Nguyen H, Pantalone VR, Bilyeu KD. Characterization of the *MIPS* gene family in *Glycine max*[J]. *Plant Breeding*, 2006, 125(5): 493-500.
- [13] York JD, Odom AR, Murphy R, Ives EB, Went SR. A phospholipase C-dependent inositol polyphosphate kinase pathway required for efficient messenger RNA export[J]. *Science*, 1999, 285: 96-100.
- [14] Paulik JS, Bastidas RJ, Chiou ST, Frye RA, York JD. Generation of phytate-free seeds in *Arabidopsis* through disruption of inositol polyphosphate kinases[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 12612-12617.
- [15] Fujii M, York JD. A role for rat inositol polyphosphate kinases, rIPK2 and rIPK1, in inositol pentakisphosphate and inositol hexakisphosphate production in Rat-1 cells[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(2): 1156-1164.
- [16] Seeds AM, Sandquist JC, Spana EP, York JD. A molecular basis for inositol polyphosphate synthesis in *Drosophila melanogaster*[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(45): 47222-47232.
- [17] Berridge MJ, Irvine RF. Inositol phosphates and cell signaling[J]. *Nature*, 1989, 341: 197-205.
- [18] Raboy V. Approaches and challenges to engineering seed phytate and total phosphorus[J]. *Plant Sci*, 2009, 177: 281-296.
- [19] Stephens LR, Irvine RF. Stepwise phosphorylation of *myo*-inositol leading to *myo*-inositol hexakisphosphate in *Dictyostelium*[J]. *Nature*, 1990, 346(6284): 580-583.
- [20] Brearley CA, Hanke DE. Metabolic evidence for the order of addition of individual phosphate esters to the *myo*-inositol moiety of inositol hexakisphosphate in the duckweed *Spirodela polyrrhiza* L.[J]. *Biochem J*, 1996, 314: 227-233.
- [21] Kim SI, Andaya CB, Newman JW, Goyal SS, Tai TH. Isolation and characterization of a low phytic acid rice mutant reveals a mutation in the rice orthologue of maize MIK[J]. *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 1291-1301.
- [22] Zhao HJ, Liu QL, Fu HW, Xu XH, Wu DX, Shu QY. Effect of non-lethal low phytic acid mutations on grain yield and seed viability in rice[J]. *Field Crop Res*, 2008, 108(3): 206-211.
- [23] Zhao HJ, Cui HR, Xu XH, Tan YY, Fu JJ, Liu GZ, Poirier Y, Shu QY. Characterization of *OsMIK* in a rice mutant with reduced phytate content reveals an insertion of a rearranged retrotransposon[J]. *Theor Appl Genet*, 2013, 136(12): 3009-3020.

- [24] Shi JR, Wang HY, Hazebroek J, Ertl DS, Harp T. The maize *low-phytic acid 3* encodes a *myo*-inositol kinase that plays a role in phytic acid biosynthesis in developing seeds[J]. *Plant J*, 2005, 42: 708–719.
- [25] Stangoulis JCR, Huynh BL, Welch RM, Choi EY, Graham RD. Quantitative trait loci for phytate in rice grain and their relationship with grain micronutrient content[J]. *Euphytica*, 2007, 154: 289–294.
- [26] Zhao JJ, Jamar DCL, Lou P, Wang YH, Wu J, Wang XW, Bonnema G, Koornneef M, Vreugdenhil D. Quantitative trait loci analysis of phytate and phosphate concentrations in seeds and leaves of *Brassica rapa*[J]. *Plant Cell Environ*, 2008, 31: 887–900.
- [27] Blair MW, Sandoval TA, Caldas GV, Beebe SE, Paez MI. Quantitative trait locus analysis of seed phosphorus and seed phytate content in a recombinant inbred line population of common bean[J]. *Crop Sci*, 2009, 49: 237–246.
- [28] Shunmugam ASK, Liu X, Stonehouse R, Tar'an B, Bett KE, Sharpe AG, Warkentin TD. Mapping seed phytic acid concentration and iron bioavailability in a pea recombinant inbred line population[J]. *Crop Sci*, 2015, 55(2): 828–836.
- [29] Rehman AU, Shunmugam A, Arganosa G, Bett KE, Warkentin TD. Inheritance of the low-phytate trait in pea[J]. *Crop Sci*, 2012, 52(3): 1171–1175.
- [30] Sompong U, Kaewprasit C, Nakasathien S, Srinives P. Inheritance of seed phytate in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) [J]. *Euphytica*, 2010, 171: 389–396.
- [31] Sompong U, Somta P, Raboy V, Srinives P. Mapping of quantitative trait loci for phytic acid and phosphorus contents in seed and seedling of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) [J]. *Breeding Sci*, 2012, 62: 87–92.
- [32] Saha AJ, Reddy KS. Repeat length variation in the 5' UTR of *myo*-inositol monophosphatase gene is related to phytic acid content and contributes to drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. *J Exp Bot*, 2015, 66(19): 5683–5690.
- [33] Redekar NR, Biyashev RM, Jensen RV, Helm RF, Grabau EA, Maroof MAS. Genome-wide transcriptome analyses of developing seeds from low and normal phytic acid soybean lines[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 1074.
- [34] Xu XH, Zhao HJ, Liu QL, Frank T, Engel KH, An G, Shu QY. Mutations of the multi-drug resistance-associated protein ABC transporter gene 5 result in reduction of phytic acid in rice seeds[J]. *Theor Appl Genet*, 2009, 119(1): 75–83.
- [35] Ali N, Paul S, Gayen D, Sarkar SN, Datta K, Datta SK. Development of low phytate rice by RNAi mediated seed-specific silencing of inositol 1,3,4,5,6-pentakisphosphate 2-kinase gene (*IPK1*) [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e68161.
- [36] Ali N, Paul S, Gayen D, Sarkar SN, Datta SK, Datta K. RNAi mediated down regulation of *myo*-inositol-3-phosphate synthase to generate low phytate rice [J]. *Rice*, 2013, 6: 12.
- [37] Li WX, Zhao HJ, Pang WQ, Cui HR, Poirier Y, Shu QY. Seed-specific silencing of *OsMRP5* reduces seed phytic acid and weight in rice [J]. *Transgenic Res*, 2014, 23: 585–599.
- [38] Pilu R, Panzeri D, Gavazzi G, Rasmussen SK, Consoni G, Nielsen E. Phenotypic, genetic and molecular characterization of a maize low phytic acid mutant (*lpa 241*) [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 980–987.
- [39] Cichy K, Raboy V. Evaluation and Development of Low Phytate Crops [M]//Krishnan H ed. Modification of Seed Composition to Promote Health and Nutrition. Madison: American Society of Agronomy, Inc. and Crop Science Society of America, Inc. 2008: 177–200.
- [40] Nagy R, Grob H, Weder B, Green P, Klein M, Barrand AF, Schjoerring JK, Brearley C, Martinoia E. The *Arabidopsis* ATP-binding cassette protein AtMRP5/AtABCC5 is a high affinity inositol hexakisphosphate transporter involved in guard cell signaling and phytate storage [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 33614–33622.
- [41] Raboy V, Cichy K, Peterson K, Reichman S, Sompong U, Srinives P, Saneoka H. Barley (*Hordeum vulgare* L.) *low phytic acid 1-1*: an endosperm-specific, filial determinant of seed total phosphorus [J]. *J Hered*, 2014, 105(5): 656–665.
- [42] Dorsch JA, Cook A, Young KA, Anderson JM, Bauman AT, Volkmann CJ, Murthy PPN, Raboy V. Seed phosphorus and inositol phosphate phenotype of barley *low phytic acid* genotypes [J]. *Phytochemistry*, 2007, 62(5): 691–706.
- [43] Shi JR, Wang HY, Schellin K, Li B, Faller M, Stoop JM, Meeley RB, Ertl DS, Ranch JP, Glassman K. Embryo-specific silencing of a transporter reduces phytic acid content of maize and soybean seeds [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 930–937.
- [44] Naidoo R, Tongoona P, Derera J, Laing MD, Watson GMF. Combining ability of low phytic acid (*lpa1-1*) and quality protein maize (QPM) lines for seed germination and vigour under stress and non-stress conditions [J]. *Euphytica*, 2012, 185: 529–541.
- [45] Lee HS, Lee DH, Cho HK, Kim SH, Auh JH, Pai HS. InsP₆-sensitive variants of the Gle1 mRNA export factor rescue growth and fertility defects of the *ipk1* low-phytic-acid mutation in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2015, 27: 417–431.
- [46] Stiles AR, Qian X, Shears SB, Grabau EA. Metabolic and signaling properties of an *ltpk* gene family in *Glycine max* [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582: 1853–1858.
- [47] Khaoula B, Angela CG, Sophien K, Nicola JP, Vladimir N. Editing plant genomes with CRISPR/Cas9 [J]. *Curr Opin Biotech*, 2015, 32: 76–84.