

# 低植酸作物育种研究进展

郭怡璠<sup>1</sup>, 杨淑萍<sup>1</sup>, 张宏纪<sup>1</sup>, 刘文林<sup>1</sup>, 孙 岩<sup>1</sup>, 刘东军<sup>1</sup>, 耿宏伟<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 作物育种研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 现代农业示范区管理中心, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**植酸广泛存在于作物种子中, 由于植酸中的磷不能被非反刍动物有效吸收利用, 而从粪便排出造成了磷资源的极大浪费和环境污染。近年来, 利用理化诱变与转基因技术已成功地获得了玉米、大麦、水稻和大豆等作物的低植酸突变体。为进一步研究低植酸作物育种的现状, 对植酸的简史、生物合成过程、低植酸突变体的培育及遗传特征、低植酸突变体农艺性状进行了综述, 并对低植酸作物的应用前景进行了简要分析。

**关键词:**作物; 低植酸; 突变体; 磷

**中图分类号:** S5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2015)07-0158-04 DOI: 10.11942/j.issn1002-2767.2015.07.0158

植酸(PA), 又称为肌醇六磷酸, 是作物籽粒中磷的主要存在形式, 它不能被人或单胃动物吸收<sup>[1]</sup>, 摄入体内后易与钙、铁、镁等微量营养元素结合形成植酸盐, 不易于吸收, 这是以禾谷类作物作为主食的人群微量营养元素缺乏的主要原因之一。未被动物利用的无机磷随着动物粪便排出, 还有大量的植酸磷也排出体外, 对土壤和水造成了污染, 给养鱼业带来了巨大的经济损失, 严重的甚至诱发赤湖<sup>[2]</sup>。目前, 全球面临部分地区磷污染严重同时磷资源又极其匮乏的尴尬情况, 如何克服作物种子中高植酸带来的负面影响, 已引起了社会和科学界的广泛关注<sup>[3]</sup>。近年来, 低植酸含量的作物种质创新、突变体的遗传特性及其相关基因的定位研究成为新的研究热点和解决途径。

## 1 研究概况

早在1865年Haring首先发现了植酸, 但是还未将其命名, 只是知道这是一些非淀粉的小颗粒, 是种子中的一种贮藏物质, 并且影响种子发芽和生长。一种极其稳定的磷酸盐于1872年在小麦胚乳中分离出来, 7 a之后芥菜种子中提取到同样可以被水解的物质, 将其命名为“肌醇磷酸”<sup>[4]</sup>。Anderson在1914年提出植酸结构, 确定其分子

量为660.8, 这个结构式在1969年被人们用核磁共振波谱所证实<sup>[5]</sup>。Mellanby在1912年首次报导了植酸与动物营养之间的关系以及带来的影响<sup>[6-7]</sup>。Heubner和Stadler于1914年首次建立了铁沉淀法用来进行植酸分析。植酸于1919年Postemak首次在实验室成功合成<sup>[8]</sup>。玉米种子植酸含量从开花到成熟过程中的变化是由Earley和De Turk等在1944年进行了首次报道。

## 2 植酸在主要作物中的沉淀部位及其生物合成

植酸是由植物种子中提取出的化合物, 禾谷类作物种子中的磷主要以肌醇-6-磷酸形式存在<sup>[9-10]</sup>, 其含量占种子总磷量的65%~85%、占酸性肌醇磷的90%以上、种子干重的1%以上。一粒完整的成熟种子中, 总磷量约为 $4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 其中植酸磷的量为 $3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 其它肌醇磷小于 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。此外, 成熟种子中的Pi含量占总磷含量的2%~8%, 细胞磷含量占种子总磷含量的10%~20%<sup>[11-12]</sup>。

1969年, Johnson发现了生物体中植酸主要的沉淀形式, 这主要是由于植酸分子结构中的氢原子一共有12个并且是可以解离的<sup>[13]</sup>, 这些氢原子的位点可与金属阳离子结合形成植酸盐<sup>[9]</sup>, 植酸还可以与蛋白结合形成球状体沉淀。植酸在种子中的分布是不平均的, 玉米作物籽粒中, 75%~80%的植酸储存于盾片层, 糊粉层只有10%左右。在大麦作物籽粒中也有部分存在于胚芽中。植酸在双子叶植物中主要贮存在胚乳和子叶中, 其它组织中也会有少量的累积(见表1)。

收稿日期: 2015-01-12

基金项目: 哈尔滨市科技创新人才研究专项基金资助项目(2014RFQYJ184); 黑龙江省农业科学院创新工程青年人才资助项目

第一作者简介: 郭怡璠(1982-), 女, 黑龙江省哈尔滨市人, 硕士, 助理研究员, 从事作物育种方面研究。E-mail: yifan-guo@163.com。

表 1 作物籽粒中的植酸占总磷含量比及沉淀部位

Table 1 The ratio of total phosphorus content and precipitation parts of phytic acid of crop

| 作物 Crops | 植酸磷含量/全磷量 | 主要沉积部位 | 作者 Authors   | 植酸含量/(mg·g <sup>-1</sup> ) |
|----------|-----------|--------|--------------|----------------------------|
| 玉米       | 75%~80%   | 盾片层    | Raboy(2000)  | 8.3~22.2                   |
| 大麦       | 60%~75%   | 糊粉层,胚芽 | O'Dell(1972) | 7.5~1.6                    |
| 水稻       | 70%左右     | 糊粉层,盾片 | O'Dell(1972) | 3.4~5.0(精米)<br>8.4~8.9(糙米) |
| 大豆       | 67%~77%   | 子叶     | Wilcox J     | 10.0~22.2                  |
| 小麦       | 70%~80%   | 糊粉层    | O'Dell(1972) | 3.9~13.5                   |

在植物体内植酸的生化合成主要分为早期肌醇供应阶段和后期肌醇转化两个阶段。肌醇合成由 D-1 磷酸肌醇合成酶(MIPs)催化合成 D-1-磷酸肌醇。D-1 磷酸肌醇能生成游离态的肌醇和 Pi,但这需要在某一特定单磷酸酶的作用下降解完成;也可能通过 1 个或多个激酶直接磷酸化产生 6 磷酸肌醇。植酸后期合成的阶段主要由代谢中间产物进一步磷酸化形成,真核细胞代谢过程中 ATP 的产生会影响植酸的形成,产生高磷肌醇(7 或 8-磷酸肌醇)。

3 植酸与主要营养成分的关系

人类主要是以大田作物例如水稻、小麦、玉米等作为主食,人体微量元素的补充主要是通过食用小麦等禾谷类植物制做的食品来获得。水稻、小麦、玉米等植物中含有大量的植酸,植酸非常容易与蛋白质、金属元素的阳离子等产生化学反应生成植酸盐,从而降低对微量元素的吸收和利用,对人体健康产生不良影响。植酸的这一特性同时又会带来另外一方面的作用,即植酸与重金属元素的结合可以降低其在人体中的吸收和沉淀,消除其对人体产生的不良影响。所以,植酸对人类和动物而言,是一把双刃剑,利弊兼顾,其重点是要确定好植酸在作物中的高低水平,这样才可以更有效地发挥植酸的有效作用而消除它的不利影响。

植酸是磷素在农业和生态系统循环模式中的主要代表,这是因为植酸是作物种子中磷的最主要贮存形式,土壤中的磷其中 20%~80%为有机磷,植酸磷则占 50%以上,植物是利用其根系吸收土壤中的无机磷,但是土壤中的无机磷又容易与其它物质结合形成颗粒。土壤中虽然含有丰富的植酸磷,但是能够分解植酸磷的微生物又极少,更不用说植物根系了,因此农业生产中则需要增施磷肥。土壤中的植酸磷会随着自然运动进入水

系造成赤潮,进而破坏了生态系统的平衡。磷矿是不可再生的资源,长期对其进行开采最终会导致磷矿的短缺。目前亟需解决的是提高磷素利用效率,而降低磷污染已经成为了目前研究的新方向。

植酸容易与金属离子形成螯合物,自然状态下,植酸会与食品中金属元素形成盐,食用后的消化过程中,植酸与其它来源的金属元素形成的化合物也不能被吸收利用,最终被排出体外。研究表明食品中加入少量的植酸锌的吸收率将会下降一半。在另一个去除植酸的实验中得到锌吸收率则翻了一番。Reddy 等的研究中植酸对铁的吸收率的实验显示,植酸对铁吸收影响研究中表明加入极少量的植酸就会使铁的吸收率下降高达 90%<sup>[8]</sup>。

植酸在动物消化道中经酸、碱作用,与蛋白质、蛋白消化酶结合形成不溶性二元或三元复合物,使动物对金属阳离子的吸收和利用大打折扣,蛋白消化酶的活性得不到发挥,造成胃肠对蛋白的消化极少,过剩的蛋白只有靠后段消化道进行消化,易引起腹泻等消化性疾病。

4 作物低植酸突变体的研究现状

20 世纪 90 年代初,主要农作物低植酸突变体的获得及选育工作在国外已大量的展开,主要是采用化学或物理诱变剂人工诱发获得。主要是利用化学诱变剂或者物理辐照技术处理种子,利用突变体的无机磷与植酸含量呈反比的关系,通过简单易行的检测无机磷含量的方法间接筛选出低植酸突变体,经过连续加代鉴定,最终获得稳定的低植酸突变系。研究表明,纯合的低植酸突变种子的植酸含量有 3 种类型,其具体分类情况见表 2。

Rasmussen S K 等于 1998 年在大麦低植酸突变体的研究中发现,其突变体分为两种类型,一

种是 lpa1 型,是普通单基因遗传的遗传模式;另一种 lpa2 型,这类构建的分离群体出现了纯合株致死的情况,但亦有可能是因为种子发芽率以及其它的环境因素影响所致<sup>[14]</sup>。1999 年 Yoshida K T 和 2000 年 Raboy V 分别在玉米和水稻的杂合后代中发现,其基因型的分离比为 1:2:1,而其表型为 3:1<sup>[15-16]</sup>。2004 年 Oltmans S E 等对大豆低植酸突变体材料构建了分离群体,其野生:杂合:低植酸的比例为 7:8:1,说明其选育出的低植酸突变体的性状是由两对双显性上位性基因控制,只有当两个位点都表现出纯合状态时,才会显现出低植酸突变性<sup>[17]</sup>。

表 2 低植酸籽粒的突变类型

| Table 2  | Mutation type of crops with low phytic acid |    |       |     |    |  |
|----------|---------------------------------------------|----|-------|-----|----|--|
| 类型 Types | PA                                          | Pi | Ins-P | Ins | TP |  |
| lpa1     | 降低                                          | 增加 | 无     | 无   | 不变 |  |
| lpa2     | 降低                                          | 增加 | 增加    | 无   | 不变 |  |
| lpa3     | 降低                                          | 增加 | 降低    | 增加  | 不变 |  |

目前关于低植酸作物的一些分子标记已经相继被人们研究出来,2000 年 Raboy 等发现低植酸玉米的突变类型为 lpa1 和 lpa2,其所在突变位点在 1S 染色体,与 umc157 和 umc167 连锁<sup>[12]</sup>。2004 年 Pili R 创制的低植酸玉米的突变类型为

表 3 低植酸主要作物的突变类型、突变位点及连锁标记

| Table 3       | Mutation types, mutations and chain tag of crops with low phytic acid |                                      |                     |                   |  |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------|-------------------|--|
| 作物<br>Crops   | 突变类型<br>Mutation type                                                 | 突变位点所在染色体<br>Mutations in chromosome | 连锁标记<br>Chain tag   | 作者<br>Authors     |  |
| 玉米<br>Corn    | lpa1 和 lpa2                                                           | 1S                                   | umc157 和 umc167     | Raboy(2000)       |  |
| 大麦<br>Barley  | lpa1                                                                  | 1S                                   | 与 umc1222 相距 9.2 cm | Pilu R(2004)      |  |
| 水稻<br>Rice    | lpa1                                                                  | 2H                                   | kgE38M47            | Larson S R(1998)  |  |
| 大豆<br>Soybean | lpa2                                                                  | 7H                                   | Kg40M48 和 KgE37M59  |                   |  |
|               | lpa1                                                                  | 2L                                   | RM48 和 RM207        | Yoshida K T(1999) |  |
|               | lpa1 和 lpa2                                                           | 2B                                   | Satt168 和 Satt416   | 李佰权(2011)         |  |

5 展望

随着人们生活水平的不断提高,社会经济的发展,人们对农产品的需求已不再停留在吃饱的问题上,而是要求吃好,特别是食品的安全、营养等方面的质量要求。低植酸的食品符合了营养优质的两个重要条件既提高了产品中原有营养元素的水平又提高了营养的利用率。同时,还能增加资源利用率,减少环境污染。

美国最早从大量的作物品种利用诱变育种技术进行低植酸作物品种的选育,1992 年在大麦、

lpa1,所在的突变位点在 1S 染色体,并且与 umc1222 的遗传距离为 9.2 cm<sup>[18]</sup>。2011 年马磊研究发现鲁原 92 的无机磷含量为 0.93 μg•mg<sup>-1</sup>,初步确定属于低植酸自交系;其低植酸性状受隐性单基因控制,与 lpa241 等位<sup>[19]</sup>。2013 年高庆华等进一步对其实验室先前得到的齐 319 进行了鉴定分析,发现它的植酸含量仅为常规玉米自交系的 1/4 左右,虽然其田间发芽率略低,但发芽后的植株生长正常,并确定其低植酸性状受隐性单基因控制,发现第 2 染色体长臂上的 2 个标记(IDP7818 和 IDP7635)与低植酸性状连锁<sup>[20]</sup>。1998 年 Larson S R 研究发现大麦的低植酸突变体的突变类型为 lpa1 型,突变位点位于 2H 染色体,并且与 kgE38M47 连锁;突变类型为 lpa2 的大麦低植酸突变体的突变位点位于 7H 染色体上,并且 Kg40M48 和 KgE37M59 标记连锁<sup>[21]</sup>。1999 年 Yoshida K T 研究的低植酸水稻突变体的突变类型为 lpa1 型,其突变位点位于 2L 染色体,并且与 RM48 和 RM207 分子标记连锁<sup>[16]</sup>。2011 年李佰权等在大豆中创制出低植酸大豆突变体,其突变类型为 lpa1 和 lpa2 型,突变位点位于 2B 染色体上,并且与 Satt168 和 Satt416 标记连锁<sup>[22]</sup>。其具体情况见表 3。

玉米、水稻、大豆等作物上开展了低植酸突变体的培养和品种的选育工作,到 2001 年,低植酸玉米在美国已进入商品化生产阶段;我国自 2010 年初也通过转基因技术育成了一个转入植酸酶的玉米品种,并通过我国农业部门的审批。目前通过杂交、回交以及单倍体选育等手段对突变株进行改良或通过分子手段对其进行定向修饰,以减少因植酸含量降低对植物引起的生物学负效应,调节与作物产量相关的代谢过程,对进一步阐明其突变的遗传机理,了解植酸和微量金属元素之间的

相互作用,从而进一步改良低植酸突变体作物都会产生积极影响,也会成为今后的研究热点。

### 参考文献:

- [1] Alnwick D. Combating micronutrient deficiency: problems and perspectives[J]. The Proceedings of Nutr Society, 1998,57:137-147.
- [2] Underwood B. Perspectives from micronutrient malnutrition elimination programme[J]. Bulletin of the World Health Organization, 1998,76:37-42.
- [3] Gregorio G B. Progress in breeding for trace minerals in staple crops[J]. Nutrition, 2002,132:500s-502s.
- [4] Maga J A. Phytate: its chemistry occurrence food interactions nutritional significance and methods of analysis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1982,30:1-9.
- [5] Jolinson L F, Tate M E. Structure of 'phytic acids'[J]. Canadian Journal of Chemical Engineering, 1969,47:63-73
- [6] Ogawa M, Tanaka K, Kasai Z. Energydispersive x-ray analysis of phytin globoids in aleurone particles of developing rice grains [J]. Soil Science Plant Nutrition, 1979, 25: 437-448.
- [7] Ogawa M, Tanaka K, Kasai Z. Accumulation of phosphorus, magnesium and potassium in Developing rice grains: followed by electron microprobe X-ray analysis focusing on the aleurone layer[J]. Plant and Cell Physiology, 1979,20: 19-27.
- [8] Reddy N R, Sathe S K, Salunkhe D K. Phytates in legumes and cereals[J]. Advances in Food Research, 1982,28:1-91.
- [9] Stephens L, Radenberg T, Thiel U. The detection, purification, structural characterization, and metabolism of diphosphoinositol pentakis phosphate(s) [J]. Journal of Biological Chemistry, 1993,268:4009-4015.
- [10] Febles C I, Arias A, Hardisson A, Rodriguez-Alvarez C, Sierra A. Phytic acid level on edible grain derivatives in the Canary Islands (gofio and frangollo) [J]. European Food Research Technology, 2000,210:346-348.
- [11] Lott J N A, Greenwood J S, Batten L. Mechanisms and regulation of mineral nutrient storage during seed develop-

- ment[M]//Kigel J, Galili G eds. Seed Development and Germination. Marcel Dekker, New York, 1995:215-235.
- [12] Raboy V. Accumulation and storage of phosphate and minerals[M]//Larkins B A, Vasil I K. Cellular and Molecular Biology of Plant Seed Development. Kluwer Publishers, Dordrecht, 1997:441-477.
- [13] Johnson L F, Tate M E. Structure of phytic acid[J]. Canadian Journal of Chemistry, 1969,47:63-73.
- [14] Rasmussen S K, Hatzack F. Identification of tow low-phytate barley (*Hordeum vulgare* L.) grain mutants TLC and genetic analysis[J]. Hereditas, 1998,29:107-112.
- [15] Raboy V, Gerbasi P F, Young K A, et al. Origin and seed phenotype of maize low phytic acid1-1 and low phytic acid2-1[J]. Plant Physiology, 2000,124:355-368.
- [16] Yoshida K T, Wada T, Koyama H, et al. Temporal and spatial patterns of accumulation of the transcript of Myo-Inositol-1-Phosphate synthase and phytin containing particles during seed development in rice[J]. Plant Physiology, 1999,119:65-72.
- [17] Oltmans S E, Fehr W R, Welke G A, et al. Inheritance of low-phytate phosphorus in sobean[J]. Crop Science, 2004, 44:433-435.
- [18] Pihi R, Panzeri D, Gavazzi G, et al. Phenotypic, genetic and molecular characterization of a maize low phytic acid mutant (lpa241)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 107:980-987.
- [19] 马磊, 李盼, 陈哲, 等. 低植酸玉米自交系的筛选及其遗传分析[J]. 中国农业科学, 2011,44(3):447-455.
- [20] 高庆华, 孟义江, 张萃, 等. 玉米低植酸自交系的鉴定及其连锁分子标记的初步筛选[J]. 作物学报, 2013,39(5): 935-942.
- [21] Larson S R, Young K A, Cook A, et al. Linkage mapping of two mutations that reduce phytic acid content of barley grain[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97: 141-146.
- [22] 李佰权, 姜莹, 付旭军, 等. 大豆低植酸突变体 Gm-lpa-ZC-2 的精细定位[J]. 浙江农业学报, 2011,23(5): 870-875.

## Research Advances of Low Phytic Acid Crop Breeding

GUO Yi-fan<sup>1</sup>, YANG Shu-ping<sup>1</sup>, ZHANG Hong-ji<sup>1</sup>, LIU Wen-lin<sup>1</sup>, SUN Yan<sup>1</sup>, LIU Dong-jun<sup>1</sup>, GENG Hong-wei<sup>2</sup>

(1. Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Virus-free Seeding Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** Phytic acid widely exists in crop seed, phosphorus in phytic acid cannot be effectively utilized by non-ruminant animals, and from the waste discharge the waste caused by phosphorus resources, or even cause environmental pollution. In recent years, the use of physical and chemical mutagenesis and transgenic technology had been successfully obtained corn, barley, rice and soybean crops such as low phytic acid mutants. In order to further research the low phytic acid plant breeding, a brief history of phytic acid, biosynthesis and low phytic acid mutant breeding and genetic characteristics, low phytic acid mutant agronomic traits were reviewed, and the application prospect of low phytic acid plants were analyzed in brief.

**Keywords:** crops; low phytic acid; mutant; phosphorus