

邓凌韦,王利军,王永力,等. 水稻缺铁应答机制研究进展[J]. 江苏农业科学,2019,47(8):12-17.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.08.003

水稻缺铁应答机制研究进展

邓凌韦¹, 王利军², 王永力¹, 李 琬³, 马军韬¹, 张丽艳¹, 邹世辉⁴, 王 英⁵

(1. 黑龙江省农业科学院生物技术研究所, 黑龙江哈尔滨 150086; 2. 长江大学生命科学学院, 湖北荆州 434025;
3. 黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所, 黑龙江哈尔滨 150086; 4. 东北农业大学农学院, 黑龙江哈尔滨 150086;
5. 唐山师范学院生命科学系, 河北唐山 063000)

摘要:铁是植物生长发育必需的微量元素,也是人体不可或缺的微量元素之一。水稻作为世界上 50% 人口的主食,可有效地从土壤中吸收铁供人类食用,有助于改善人类铁缺乏的现状。本文综述了水稻铁吸收及转运的调控机制,并对铁在水稻根、茎部运输的最新研究进展进行了阐述,为水稻铁生物强化提供参考,为水稻富铁品种的培育提供思路。

关键词:铁生物强化;铁缺乏;脱氧麦根酸;烟酰胺

中图分类号: S511 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)08-0012-06

人体缺铁是世界上严重的营养缺乏症之一,危害严重。人体主要从食物中摄入铁。水稻是重要的粮食作物,全世界 50% 以上的人口以水稻为主食。发展中国家人们主要从稻米中摄入铁元素,例如在菲律宾(包括高收入家庭),人体 50% 的铁摄入来自于水稻、玉米^[1]。水稻生长所需可溶性铁浓度在 $10^{-9} \sim 10^{-4}$ mol/L 之间^[2],但即使是通气良好、pH 值适宜的土壤中,可溶性铁浓度不超过 10^{-15} mol/L,碱性土壤中可溶性铁浓度只有 10^{-17} mol/L^[3]。土壤可溶性铁离子不足降低了水稻铁含量,因此水稻铁生物强化育种成为农作物国际挑战计划 HarvestPlus 项目中的一个重要研究内容,2008 年哥本哈根会议(<http://www.copenhagenconsensus.com/>)更是明确指出,生物强化是解决生物体缺铁这一世界营养缺乏症最

经济、有效的途径^[4]。

虽然近年来水稻铁生物强化取得了很多进展,但水稻传统育种周期长、工作量大,铁元素在稻米中含量又低,迫切须要研究出一种简便、快捷、经济的铁含量检测方法供育种者使用,并根据缺铁应答机制制定育种方案,调节相关基因,培育富铁品系,加速育种进程。本文综述水稻缺铁应答机制研究进展,并对未来的研究工作进行展望,旨在为水稻铁生物强化育种提供参考。

1 水稻缺铁应答机制的特殊性

1986 年,Römheld 等根据应答方式不同,将植物缺铁应答机制分为机制 I(还原机制)和机制 II(螯合机制)2 种方式^[5]。机制 I 植物(双子叶植物和非禾本科单子叶植物)先将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} 再吸收利用;机制 II 植物(仅限于禾本科植物)吸收 Fe^{3+} 的螯合物,不能还原 Fe^{3+} 。*ysI* 突变体不能吸收 Fe^{3+} -PS 复合体(Fe^{3+} -植物铁载体复合体),导致苗期叶片失绿,最终死亡^[6],说明 Fe^{3+} -PS 复合体吸收是机制 II 植物缺铁应答的必要步骤^[6-7]。

水稻是特殊的机制 II 植物。*OsIRT1*、*OsIRT2* 基因被定位

2016,167(2):313-324.

- [47] Costa A, Barbaro M R, Sicilia F A, et al. AIR12, a b-type cytochrome of the plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* is a negative regulator of resistance against *Botrytis cinerea* [J]. Plant Science, 2015, 233(20):32-43.
- [48] Mansour M M F S K, Allam H. Role of the plasma membrane in saline conditions: lipids and proteins [J]. The Botanical Review, 2015, 81(4):416-451.
- [49] Voothuluru P, Anderson J C, Sharp R E, et al. Plasma membrane proteomics in the maize primary root growth zone: novel insights into root growth adaptation to water stress [J]. Plant, Cell & Environment, 2016, 39(9):2043-2054.
- [50] Gutierrez-Carbonell E, Takahashi D, Luethje S, et al. A shotgun proteomic approach reveals that Fe deficiency causes marked changes in the protein profiles of plasma membrane and detergent-resistant

microdomain preparations from beta vulgaris roots [J]. Journal of Proteome Research, 2016, 15(8):2510-2524.

- [51] Preger V, Tango N, Marchand C, et al. Auxin-responsive genes AIR12 code for a new family of plasma membrane b-type cytochromes specific to flowering plants [J]. Plant Physiology, 2009, 150(2):606-620.
- [52] Mateos-Gil P, Letschert S, Dooze S, et al. Super-Resolution imaging of plasma membrane proteins with click chemistry [J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2016, 4:98.
- [53] Letschert S, Goehler A, Franke C A, et al. Super-resolution imaging of plasma membrane glycans [J]. Angewandte Chemie - International Edition, 2014, 53(41):10921-10924.
- [54] Saka S K, Honigsmann A, Eggeling C, et al. Multi-protein assemblies underlie the mesoscale organization of the plasma membrane [J]. Nature Communications, 2014, 5:4509.

在根表皮细胞质膜上,具有类似机制 I 植物 Fe^{2+} 运载体 IRT1 功能^[8]。*naat1* 突变体不能合成铁载体(PS),该突变体在 Fe^{3+} 源条件下生长缓慢,叶片失绿;但在 Fe^{2+} 源条件下正常生长^[9]。这些试验结果说明,水稻虽然不能还原 Fe^{3+} ,但能吸收 Fe^{2+} ^[10-11],所以有些学者直接把水稻定义为混合机制植物(图 1)。

2 缺铁感应

2.1 缺铁感应元件

为了避免自由基的毒害作用,水稻进化出精密的铁吸收调控系统^[12]。水稻缺铁感应元件包括 IDEF1 (iron deficiency - responsive element - binding factor 1)^[13]、HRZ [hemerythrin motif - containing really interesting new gene (RING) - and zinc - finger proteins]^[14]。水稻 HRZ 是拟南芥 BTS 的同源蛋白质^[15]。

2.1.1 IDEF1 与其他缺铁应答相关基因不同,IDEF1 转录本不受铁有效浓度影响,因而推测 IDEF1 位于缺铁应答级联反应的上游,是缺铁感应元件^[16-17]。IDEF1 通过结合基因序列普遍存在的 CATGC 序列^[18]精密调控缺铁应答顺式元件基

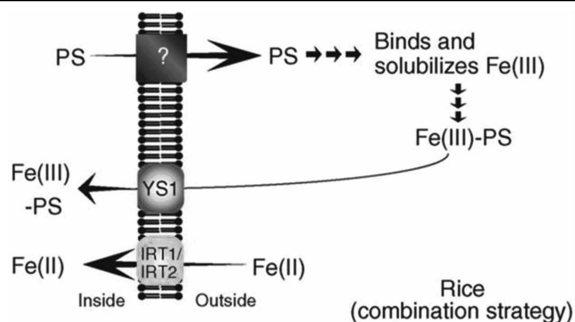


图1 水稻从土壤中吸收铁过程

因^[19]。IDEF1 的组氨酸 - 天冬酰胺重复序列 (histidine - asparagine repeat)、脯氨酸富集区域 (proline - rich regions) (图 2) 是二价金属离子结合域,根据细胞内铁离子浓度在总金属离子浓度中的比例调节水稻缺铁应答反应^[13]。

在铁充足条件下,26S 蛋白酶系统降解 IDEF1,使之维持本底表达^[20]。在缺铁条件下,IBP1 (bowman - birk trypsin inhibitor designated IDEF1 - binding protein 1) 抑制 26S 蛋白酶系统活性,水稻体内 IDEF1 浓度增加,当 IDEF1 积累到阈值浓度时,启动缺铁应答基因^[21]。

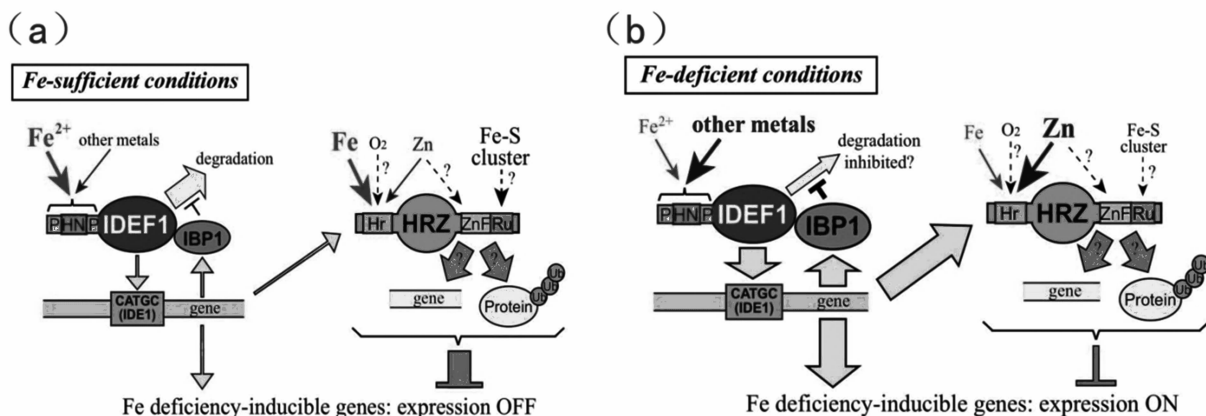


图2 水稻缺铁反应元件图示

2.1.2 HRZs HRZs 是水稻缺铁诱导基因^[14,22],该基因所编码的蛋白质含有保守的 hemerythrin、CHY -、CTCHY -、RING - Zn - fingers、rubredoxin - type fold^[14]。Hemerythrin 结合二价金属,RING - Zn - fingers 是 26S 蛋白酶系统泛素化位点。即使在铁充足条件下,HRZs 敲除植株体内缺铁应答基因都表达,说明 HRZs 通过负向调节缺铁应答系统基因,维持植株体内铁动态平衡^[14]。

2.2 调节缺铁应答的信号分子

IDEF1 根据细胞内铁离子浓度在总金属离子浓度中的比例调节水稻缺铁应答反应^[13],HRZs 的 Hemerythrin 结构域能够结合 2 个铁分子,其中第 2 个位点能结合氧分子,且这个过程可逆。Kobayashi 等的试验结果说明,铁分子和氧分子都是调节缺铁应答的信号分子^[23]。为了避免自由基毒害,水稻体内的铁大多以螯合或铁蛋白质形式存在。HRZs 蛋白质的 rubredoxin - type fold 结构域含有 Fe - S 簇,烟酰胺 (nicotianamine) 和麦根酸 (deoxymugineic acid) 是铁螯合剂,可影响铁在水稻体内的移动性和可利用性,因而推测 Fe - S、烟酰胺、麦根酸是缺铁信号^[23]因子。

缺铁诱导机制 I 植物合成乙烯,但不能诱导机制 II 植物合成乙烯^[3]。水稻是混合机制植物(既可以吸收 Fe^{2+} ,也可以吸收 Fe^{3+})。缺铁诱导水稻合成乙烯,乙烯合成的 1 - 氨基环丙烷 1 - 羧酸 (1 - Aminocyclopropane - 1 - Carboxylic, ACC) 能够增加水稻对缺铁的耐受性;乙烯抑制剂 C^2 和 STS 抑制缺铁应答基因的表达。进一步研究发现,乙烯调节 *OsIRO2* 的表达,*OsIRO2* 调节 *OsNAS1/2* 和 *OsYSL15* 的表达^[24]。目前还不清楚缺铁诱导植物合成乙烯的分子机制^[3]。

生长素和一氧化氮能够正向调节缺铁应答反应^[25]。水稻中的生长素响应转录因子 OsARF12 (auxin response factor, ARF) 突变后,根部构型发生改变,突变体对生长素不敏感,铁含量低于野生型^[26]。细胞分裂素和茉莉酸负向调控水稻缺铁应答^[3]。

3 铁在根部的吸收及运输

3.1 铁的吸收机制——还原机制

3.1.1 Fe^{3+} 的还原 机制 I 植物的三价铁还原酶 FRO (ferric - chelate reductase) 存在于根部,负责还原根际 Fe^{3+} ^[27]。虽然水稻有 2 个 FRO 基因,但在根部检测不到,只

有在叶片能检测到这 2 个基因。*OsFRO1* 基因受锌、锰、铜信号调节,*OsFRO2* 基因参与缺铁应答。这些试验结果说明,*OsFROs* 基因并不参与根际 Fe^{3+} 的还原过程^[8]。因此,有学者认为,水稻缺铁应答不需要还原 Fe^{3+} 。

3.1.2 Fe^{2+} 的吸收 机制 I 植物二价铁转运体 (iron-regulated transporter, IRT) 负责 Fe^{2+} 由根际到根内细胞的运输。目前水稻中只克隆到 2 个 *OsIRT* 基因,这 2 个基因都定位在质膜上,转运铁、锌离子。*OsIRT1* 在根表皮、伸长区外皮层和成熟区皮层的内层、伴胞中表达^[8,28]。组成性 Fe、Mn、Cd 运载体 *OsNRAMP5* 可能参与铁吸收^[29-30]。Fe、Cd 运载体 *OsNRAMP1* 参与根到茎部铁的运输^[31]。

3.2 铁的吸收机制——螯合机制

3.2.1 铁载体的合成 水稻根系所分泌的麦根酸 (mugenic acid, MA) 能够强烈螯合 Fe^{3+} 。后来陆续发现黑麦、小麦、玉米等的根系分泌物阿凡酸 (avenic acid)、啤麦根酸 (disticonic acid) 等也具有相似功能^[32]。这些物质在结构功能上与微生物分泌的铁载体相似,所以将它们统称为植物铁载体 (PS)。MAs 合成途径见图 3^[33]。烟酰胺 (nicotianamine, NA) 在尼克酰胺氨基转移酶 (nicotianamine aminotransferase, NAAT)^[34] 的催化下,形成一种酮类的中间产物,然后经脱氧麦根酸合成酶 (2'-deoxymugeneic acid synthase, DMAS)^[35] 的还原产生 2-脱氧麦根酸。水稻、小麦和玉米只能分泌 2-脱氧麦根酸 (2'-deoxymugeneic acid, DMA),而大麦能够分泌多种形式的麦根酸,所以大麦具有更强的缺铁耐受性^[35]。

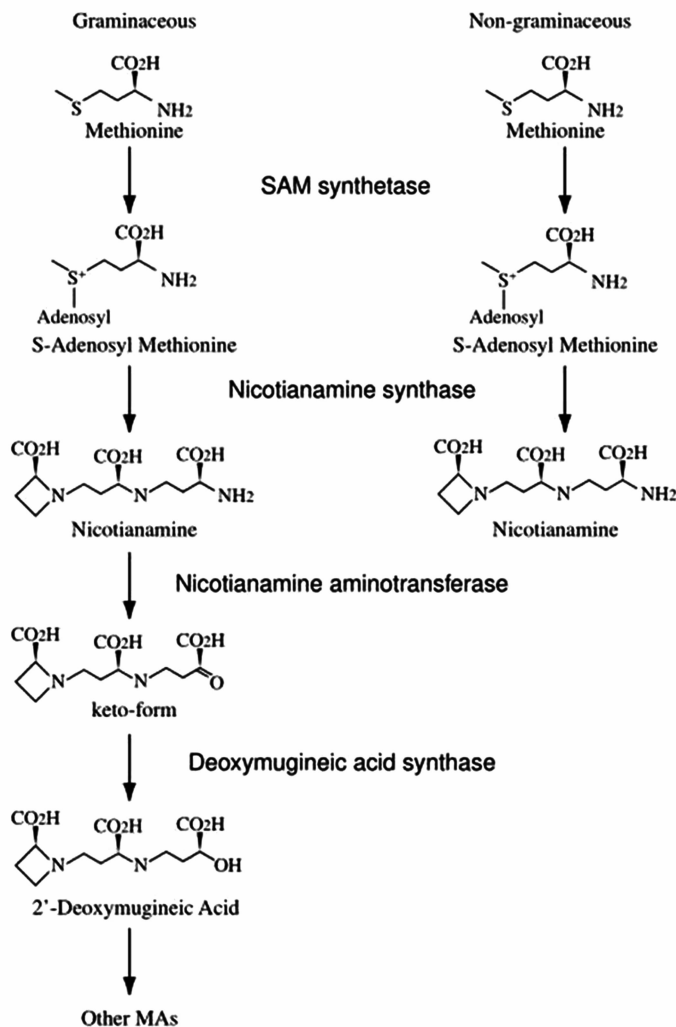
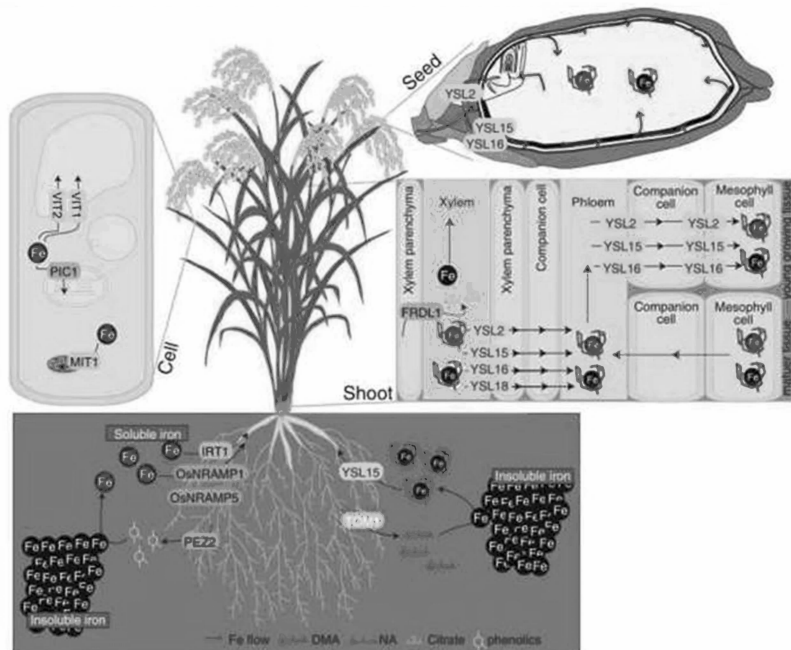


图3 MAs 合成途径^[33]

研究表明,尼克酰胺合成酶 (nicotianamine synthase, NAS)^[33]、尼克酰胺氨基转移酶、脱氧麦根酸合成酶 (2'-deoxymugeneic acid synthase, DMAS) 是 PS 合成的限速酶^[25]。目前已经克隆到 3 个 *NAS* 基因 (*OsNAS1-3*)^[25,33]。在铁充足条件下,*OsNAS1* 和 *OsNAS2* 仅在根中表达,*OsNAS3* 主要在的叶中表达;但在缺铁条件下,*OsNAS1* 和 *OsNAS2* 在根和叶中都强烈表达,*OsNAS3* 基因在根中的表达略微增强,而在叶中的表达受到抑制^[33]。

3.2.2 Fe^{2+} - PS 螯合物的运输 水稻 *OsTOM1* 和大麦 *HvTOM1* 负责转运铁载体到根部^[36]。PS 螯合溶解的 Fe^{3+} 形成 Fe^{3+} - PS 螯合物^[25]。玉米 YS (yellow stripe) 转运体负责将 Fe^{3+} - PS 螯合物运输到根部^[7]。水稻有 18 个 *YSL* (yellow stripe-like) 基因,只有 *OsYSL15* 具有运输 Fe^{3+} - PS 螯合物到根部的功能^[25,37] (图 4)。

IDE1、*IDE2* 是首先被克隆的缺铁感应元件^[38]。*IDE* 结合因子 *IDEF1* 和 *IDEF2*,在水稻根、叶中组成性表达^[18,39]。

图4 水稻铁代谢^[25]

缺铁应答基因 *OsIRO2* 是 bHLH 转录因子, 特异性结合 CACGTGG 序列^[39-40]。*OsIRO2* 调节 Fe(III) - MA 运载体和 MAs 合成途径相关基因 (*OsNAS1*、*OsNAS2*、*OsNAAT1*、*OsDMAS1* 等) 的表达^[18]。*OsIRO3* 负向调节缺铁应答基因^[41]。*OsbHLH133* 调节根茎之间铁的分布^[3]。

4 铁由根到茎的运输

铁在水稻体内主要通过木质部和韧皮部进行运输, 其中韧皮部的铁运输到新叶中, 木质部的铁大多运输到老叶中^[42]。水稻体内大部分铁以铁蛋白质或螯合物的形式存在^[25]。NA、MAs、柠檬酸 (citrate)、酚类物质 (phenolics) 是重要的植物螯合剂, 其中 MAs 是禾本科植物特有的螯合剂^[25]。

4.1 铁在木质部的运输

在木质部的长距离运输中, 铁离子主要与柠檬酸螯合^[25]。*OsFRDL1* 是一个柠檬酸转运子, 可以高效运输水稻根系的铁^[43]。*OsFRDL1* 属于多药及毒性化合物外排家族的基因。*OsFRDL1* 敲除突变体 *osfrdl1* 根部石柱细胞铁含量高, 但叶片铁含量很低, 导致叶片失绿, *osfrdl1* 木质部中柠檬酸和 Fe^{3+} 浓度远低于对照。说明 *OsFRDL1* 主要负责在木质部运输柠檬酸。*OsFRDL1* 主要在长距离运输细胞中表达, 也在生殖器官中表达, 且不受缺铁信号调控^[44]。

OsYSL2 是 Fe(II) - NA 和 Mn(II) - NA 转运体基因, 该基因沉默降低了铁由根向地上部分的转运及在结实过程中向种子中的转运, 因而推测该基因可能参与了 Fe(II) - NA 在木质部中的长距离运输^[45-46]。

原儿茶酸 (protocatechuic acid, PCA)、咖啡酸 (caffeic acid, CA) 等酚类物质能够溶解、螯合质外体沉积的 Fe^{3+} , 并将其还原成 Fe^{2+} ^[47]。PCA 和 CA 的浓度在水稻 *OsPEZ1* (phenolics efflux zero 1, PEZ1) 基因突变体的木质部液中显著降低; 爪蟾卵母细胞中表达 *OsPEZ1* 后能够转运 PCA^[48]。这些研究结果说明, *OsPEZ1* 负责转运 PCA 进入木质部, 调节质

外体铁平衡。*OsPEZ1* 和 *OsPEZ2* (efflux transporters, phenolics efflux zero 1 和 2) 也属于 MATE 转运体家族^[10,30,49]。

4.2 铁在韧皮部的运输

水稻韧皮部铁主要是 Fe(III) - DMA^[50], Fe(II) - NA 的含量相对较少。*OsYSL2* 是 Mn - NA 和 Fe - NA 载体编码基因^[45], 该基因不但参与木质部铁运输, 还在韧皮部 Fe、Mn 运输中发挥重要功能, 说明 Fe(II) - NA 对水稻生长发育也很重要^[45-46]。*OsYSL15* 是根部负责吸收 Fe(III) - DMA 的转运体基因, 但该基因也在维管组织中强烈表达, 说明该基因也参与水稻体内铁运输^[37,51]。*OsYSL18* 是 Fe(III) - DMA 的转运载体基因, 在花粉、花粉管、叶片和叶鞘接头部位的韧皮部中表达, 说明该基因很可能在水稻受精和韧皮部的铁运输中起作用^[52]。*OsYSL16* 编码产物参与体内尤其是生殖器官中 Fe(III) - DMA 的分布及转导, 还负责运输 Cu - NA, 调节体内 Cu 分布^[53]。

5 展望

铁是生物体必需的微量元素, 铁含量不足破坏代谢平衡、危害严重, 但铁含量过高容易引起铁中毒, 所以生物体进化出精密的机制严格调控体内铁含量。表 1 对比了各种强化途径的优缺点。生物强化的花费主要集中在前期品种选育上, 不需要持续的资金支持, 不增加消费者的负担^[16]。统计显示, 一个 75 亿的项目一年能为 375 亿人提供铁生物强化水稻 (<http://www.biokemi.org/biozoom/issues/525/articles/2392>)。2001 年, 在亚洲国际发展银行和国际食物政策研究所 (ADB - IFPRI) 的支持下, 通过 9 个月的人群干预研究发现, 人体内的铁贮存量在富铁水稻品种 IR68144 - 3B - 2 - 2 - 3 干预下增加 20%^[54]。水稻是人类不可或缺的主食, 即使稻米的铁含量只有微量增加, 日积月累也会对人体健康起到深远的影响^[55]。综上所述, 水稻铁生物强化是世界人口, 尤其是贫困人口获得足够膳食营养的最经济、最有效途径, 意义深远^[4]。

表 1 提高水稻铁含量各种途径有缺点对比

途径	优点	缺点
药物强化	见效快	需要持续投入、成本高、难,以推广普及、副作用不明
增施铁肥	见效快	污染环境,铁中毒,植株铁含量提高但人类食用的精米铁含量不一定提高
铁生物强化	周期长	提高精米铁含量,安全,不污染保护环境,成本都花费在早期研发阶段,不增加消费者负担

不同水稻品种资源间的铁含量存在很大的遗传差异^[56~57],所以科研人员能够通过育种手段培育富铁新品种。日本水稻品种 GCN4 和系 026 铁含量比普通水稻铁含量高 3~6 倍^[58]。吴敬德等培育的 IR41994-SO-2-1-3(S1)、IR68144-213-2-2-3(S5) 铁含量分别为 42.86、36.28 mg/kg,均高于普通品种^[59]。李琬等培育的富铁品系中龙粳 201 的 3 年精米平均铁含量为 12.65 mg/kg,是普通品种的 3~4 倍(未发表)。

水稻铁浓度受环境因素影响大^[56,60],且测定成本高。因此,育种者在常规育种的基础上,须要结合分子标记辅助育种技术、转基因技术挖掘和创制富铁新种质,且应加强提高主栽品种精米铁含量和培育广适性富铁品种。培育富铁水稻实际上就是提高水稻对外部环境中铁的吸收、运输和积累能力的过程。因此,研究水稻对铁的吸收、运输、积累机制及其相关控制基因,对铁生物强化育种具有重要意义。

参考文献:

[1] Meng F H, Wei Y Z, Yang X E. Iron content and bioavailability in rice[J]. Journal of Trace Elements in Medicine & Biology, 2005, 18 (4): 333-338.

[2] Guerinot M L, Yi Y. Iron; nutritious, noxious, and not readily available[J]. Plant Physiology, 1994, 104(3): 815-820.

[3] 王 璐. 缺铁响应转录因子 OsbHLH133 的功能和缺铁诱导乙烯合成分子机理的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2013.

[4] Sperotto R A, Ricachenevsky F K, de Abreu W V, et al. Iron biofortification in rice: it's a long way to the top[J]. Plant Science, 2012, 190: 24-39.

[5] Römheld V, Marschner H. Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses[J]. Plant Physiology, 1986, 80(1): 175-180.

[6] Bell W D, Bogorad L, McIlrath W J. Yellow-stripe phenotype in maize I. Effects of ys1 locus on uptake and utilization of iron[J]. Botanical Gazette, 1962, 124(1): 1-8.

[7] 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.

[8] Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, et al. Rice plants take up iron as an Fe³⁺-phytosiderophore and as Fe²⁺[J]. Plant Journal, 2006, 45 (3): 335-346.

[9] Cheng L J, Wang F, Shou H X, et al. Mutation in nicotianamine aminotransferase stimulated the Fe(II) acquisition system and led to iron accumulation in rice[J]. Plant Physiol, 2007, 145(4): 1647-1657.

[10] Bashir K, Ishimaru Y, Shimo H, et al. Rice phenolics efflux transporter 2 (PEZ2) plays an important role in solubilizing apoplasmic iron[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2011, 57(6): 803-812.

[11] Xiong H, Kakei Y, Kobayashi T, et al. Molecular evidence for

phytosiderophore-induced improvement of iron nutrition of peanut intercropped with maize in calcareous soil[J]. Plant, Cell & Environment, 2013, 36(10): 1888-1902.

[12] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants[M]. 2nd ed. London: Academic Press, 1995.

[13] Kobayashi T, Itai R N, Aung M S, et al. The rice transcription factor IDEF1 directly binds to iron and other divalent metals for sensing cellular iron status[J]. The Plant Journal, 2012, 69(1): 81-91.

[14] 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.

[15] Long T A. The bHLH transcription factor POPEYE regulates response to iron deficiency in *Arabidopsis* roots[J]. Plant Cell, 2010, 22(7): 2219-2236.

[16] Kobayashi T, Nishizawa N K. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2012, 63(1): 131-152.

[17] Hindt M N, Guerinot M L. Getting a sense for signals: regulation of the plant iron deficiency response[J]. BBA-Molecular Cell Research, 2012, 1823(9): 1521-1530.

[18] Kobayashi T, Ogo Y, Itai R N, et al. The transcription factor IDEF1 regulates the response to and tolerance of iron deficiency in plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104 (48): 19150-19155.

[19] Kakei Y, Ogo Y, Itai R N, et al. Development of a novel prediction method of cis-elements to hypothesize collaborative functions of cis-element pairs in iron-deficient rice[J]. Rice, 2013, 6 (1): 22.

[20] Kobayashi T, Ogo Y, Aung M S, et al. The spatial expression and regulation of transcription factors IDEF1 and IDEF2[J]. Annals of Botany, 2010, 105(7): 1109-1117.

[21] Zhang L X, Itai R N, Yamakawa T, et al. The Bowman-Birk trypsin inhibitor IBP1 interacts with and prevents degradation of idef1 in rice[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2014, 32(4): 841-851.

[22] 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.

[23] Kobayashi T, Nishizawa N K. Iron sensors and signals in response to iron deficiency[J]. Plant Science, 2014, 224(13): 36-43.

[24] Wu J J, Wang C, Zheng L Q, et al. Ethylene is involved in the regulation of iron homeostasis by regulating the expression of iron-acquisition-related genes in *Oryza sativa* [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 62(2): 667-674.

[25] Bashir K, Nozoye T, Ishimaru Y, et al. Exploiting new tools for iron bio-fortification of rice[J]. Biotechnology Advances, 2013, 31 (8): 1624-1633.

[26] Qi Y H, Wang S K, Shen C J, et al. OsARF12, a transcription activator on auxin response gene, regulates root elongation and affects iron accumulation in rice (*Oryza sativa*) [J]. New Phytologist,

2012,193(1):109–120.

- [27] 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.
- [28] Bughio N, Yamaguchi H, Nishizawa NK et al. Cloning an iron – regulated metal transporter from rice[J]. J Exp Bot, 2002, 53: 1677–1682.
- [29] Ishimaru Y, Bashir K, Nishizawa N K. Zn uptake and translocation in rice plants[J]. Rice, 2011, 4(1): 21–27.
- [30] Ishimaru Y, Kakei Y, Shimo H, et al. A rice phenolic efflux transporter is essential for solubilizing precipitated apoplasmic iron in the plant stele[J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(28): 24649–24655.
- [31] Takahashi R, Ishimaru Y, Senoura T, et al. The OsNRAMP1 iron transporter is involved in Cd accumulation in rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(14): 4843–4850.
- [32] 常正尧. 水稻缺铁胁迫下渗透酶基因的克隆、亚细胞定位及膜泡运输相关基因的分析[D]. 北京:首都师范大学, 2006.
- [33] Inoue H, Higuchi K, Takahashi M et al. Three rice nicotianamine synthase genes, *OsNAS1*, *OsNAS2*, and *OsNAS3* are expressed in cells involved in long – distance transport of iron and differentially regulated by iron[J]. Plant Journal, 2003, 36(3): 366–381.
- [34] Inoue H, Takahashi M, Kobayashi T, et al. Identification and localisation of the rice nicotianamine aminotransferase gene *OsNAAT1* expression suggests the site of phytosiderophore synthesis in rice[J]. Plant Molecular Biology, 2008, 66(1/2): 193–203.
- [35] Bashir K, Nishizawa N. Deoxymugineic acid synthase; a gene important for Fe – acquisition and homeostasis[J]. Plant Signaling & Behavior, 2006, 1(6): 290–292.
- [36] 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.
- [37] Lee S, Chiecko J C, Kim S A, et al. Disruption of *OsYSL15* leads to iron inefficiency in rice plants[J]. Plant Physiology, 2009, 150(2): 786–800.
- [38] Kobayashi T, Nakayama Y, Itai R N, et al. Identification of novel *cis* – acting elements, IDE1 and IDE2, of the barley *IDS2* gene promoter conferring iron – deficiency – inducible, root – specific expression in heterogeneous tobacco plants[J]. The Plant Journal, 2003, 36(6): 780–793.
- [39] Ogo Y, Nakanishi Itai R, Nakanishi H, et al. The rice bHLH protein OsIRO2 is an essential regulator of the genes involved in Fe uptake under Fe – deficient conditions[J]. The Plant Journal, 2007, 51(3): 366–377.
- [40] Ogo Y, Itai R N, Kobayashi T, et al. OsIRO2 is responsible for iron utilization in rice and improves growth and yield in calcareous soil [J]. Plant Molecular Biology, 2011, 75(6): 593–605.
- [41] Zheng L, Cheng Z, Ai C, et al. Nicotianamine, a novel enhancer of rice iron bioavailability to humans [J]. PLoS One, 2010, 5(4): e10190.
- [42] Tsukamoto T, Nakanishi H, Uchida H, et al. ⁵²Fe translocation in barley as monitored by a positron – emitting tracer imaging system (PETIS): evidence for the direct translocation of Fe from roots to young leaves via phloem[J]. Plant and Cell Physiology, 2008, 50(1): 48–57.
- [43] 沈 宏, 杨旭健, 傅友强. 一个水稻铁转运基因(*OsFRDL1*)参与缺氧诱导根系铁膜形成的调节过程[J]. 科学通报, 2014, 59(9): 787–795.
- [44] Inoue H, Mizuno D, Takahashi M, et al. A rice FRD3 – like (*OsFRDL1*) gene is expressed in the cells involved in long – distance transport [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2004, 50(7): 1133–1140.
- [45] Koike S, Inoue H, Mizuno D, et al. OsYSL2 is a rice metal – nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem[J]. The Plant Journal, 2004, 39(3): 415–424.
- [46] Ishimaru Y, Masuda H, Bashir K, et al. Rice metal – nicotianamine transporter, OsYSL2, is required for the long – distance transport of iron and manganese [J]. The Plant Journal, 2010, 62(3): 379–390.
- [47] Yoshino M, Murakami K. Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization [J]. Analytical Biochemistry, 1998, 257(1): 40–44.
- [48] 张会敏. 水稻铁稳态正调控因子 OsPRI1 促进铁平衡[D]. 合肥:中国科学技术大学, 2018.
- [49] Ishimaru Y, Bashir K, Nakanishi H, et al. The role of rice phenolics efflux transporter in solubilizing apoplasmic iron[J]. Plant Signaling & Behavior, 2011, 6(10): 1624–1626.
- [50] Nishiyama R, Kato M, Nagata S, et al. Identification of Zn – nicotianamine and Fe – 2' – deoxymugineic acid in the phloem sap from rice plants (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant and Cell Physiology, 2012, 53(2): 381–390.
- [51] Inoue H, Kobayashi T, Nozoye T, et al. Rice OsYSL15 is an iron – regulated iron (Ⅲ) – deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings [J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(6): 3470–3479.
- [52] Aoyama T, Kobayashi T, Takahashi M, et al. OsYSL18 is a rice iron (Ⅲ) – deoxymugineic acid transporter specifically expressed in reproductive organs and phloem of lamina joints [J]. Plant Molecular Biology, 2009, 70(6): 681–692.
- [53] Zheng L, Yamaji N, Yokosho K, et al. YSL16 is a phloem – localized transporter of the copper – nicotianamine complex that is responsible for copper distribution in rice [J]. The Plant Cell, 2012, 24(9): 3767–3782.
- [54] Haas J D, Beard J L, Murray – Kolb L E, et al. Iron – biofortified rice improves the iron stores of nonanemic Filipino women[J]. The Journal of Nutrition, 2005, 135(12): 2823–2830.
- [55] Gregorio G B, Senadhira D, Htut T. Improving iron and zinc value of rice for human nutrition [J]. Agriculture et Developpement, 1999(23): 77–81.
- [56] Gregorio G B, Senadhira D, Htut H, et al. Breeding for trace mineral density in rice [J]. Food and Nutrition Bulletin, 2000, 21(4): 382–386.
- [57] 曾亚文, 刘家富, 汪禄祥, 等. 云南稻核心种质矿质元素含量及其变种类型[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(1): 26–31.
- [58] 董彦君. 日本新性状稻米品质研究进展[J]. 中国稻米, 1998(1): 36–38.
- [59] 吴敬德, 郑乐娅, 张 瑛, 等. 富含铁锌水稻的筛选[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(4): 635.
- [60] Cabuslay G S, Sison C B, Laureles E, et al. Grain mineral density: nitrogen response and seasonal variation [J]. Workshop on Rice Breeding for Better Nutrition, 2003(4): 7–11.