

综述 Review

植物中的草酸: 合成、降解及其积累调控

蔡晓锋, 徐晨曦, 王小丽, 葛晨辉, 王全华*

上海师范大学生命与环境科学学院, 植物种质资源开发协同创新中心, 上海200234

摘要: 草酸是植物体内一种简单的二元酸, 在植物中广泛分布, 具有重要的生理功能。然而草酸作为一种抗营养素, 大量食用含草酸的蔬菜可以显著影响矿物元素的吸收和增加患肾结石的风险。植物中草酸的合成有三条途径, 即乙醛酸/乙醇酸途径、抗坏血酸途径和草酰乙酸合成途径; 草酸的降解也有三种方式, 即经过氧化、脱羧和乙酰化作用最终生成CO₂。植物草酸的积累受品种和施肥及种植季节等农艺管理技术的影响。

关键词: 植物; 草酸; 乙醛酸; 草酰乙酸; 农艺技术

The Oxalic Acid in Plants: Biosynthesis, Degradation and Its Accumulation Regulation

CAI Xiao-Feng, XU Chen-Xi, WANG Xiao-Li, GE Chen-Hui, WANG Quan-Hua*

College of Life and Environment Sciences, Collaborative Innovation Center for Plant Germplasm Resources Development, Shanghai Normal University, Shanghai 200234

Abstract: Oxalic acid (OA), the smallest (two-carbon) dicarboxylic acid, is broadly distributed in plants and has various physiological functions. However, oxalic acid is an antinutrient, and excessive consumption of oxalate-rich foods inhibits mineral absorption and increases risk of some diseases such as kidney stones in the digestive system. It has been proposed that oxalic acid is biosynthesized via three pathways, namely glyoxylate/glycolate, ascorbate and oxaloacetate. The degradation of oxalate occurs through oxidation, decarboxylation and acetylation. Besides, the accumulation of oxalic acid is affected by varieties and agronomic measurements.

Key words: plant; oxalic acid; glyoxylate; oxaloacetate; agronomic techniques

1 植物草酸简介

草酸是一种简单的低分子量的二元羧酸, 在绿藻、真菌、地衣和植物体内广泛存在, 约占植物干重的3%~10%, 被认为是碳类代谢最终的情性产物(Mehta和Datta 1991; Nakata 2003)。草酸在植物中存在2种形态: 可溶性草酸和不可溶性草酸。可溶性草酸主要与Na⁺、K⁺和NH₄⁺结合存在, 而不溶性草酸主要与Ca²⁺、Mg²⁺和Fe²⁺结合形成固体结晶(Savage 2000)。草酸在植物体内的积累受到很多因素的影响, 包括物种、品种和施肥等(Freidig和Goldman 2011; Liu等2014a), 甚至在同一个物种的不同品种之间草酸含量也存在很大差异(Szalai等2010; Koh等2012)。

草酸在植物体内起着重要的生物学功能。它参与细胞体内Ca²⁺、pH和渗透压等的调节, 以及植物病原菌防御反应与铝毒害解除等(Klug和Horst

2010; Zhang等2013)。草酸可以使植物通过积累渗透物质调节气孔开放, 抑制ABA介导的气孔关闭(Guimaraes和Stotz 2004)。草酸还可以作为次级毒性分子参与O₃介导的PCD过程(Tran等2013)。降低转基因番茄体内草酸的含量, 可以提高番茄果实中的矿物营养和微量元素的含量(Chakraborty等2013)。在荨麻刺毛中草酸是一种重要的产生疼痛的毒素(Fu等2006)。另外植物体内形成的草酸钙晶体还有助于植物抵御嘴嚼口器害虫噬咬(Korth等2006)。草酸生理功能的多样性表明研究草酸的合成与代谢及其调控机理具有重要的意义。

2 植物草酸的合成

目前有关植物草酸的合成途径虽然还存在很

收稿 2015-01-03 修定 2015-01-27

资助 上海市协同创新中心项目(ZF1205)。

* 通讯作者(E-mail: wqh6352083@126.com; Tel: 021-64321102)。

大的争议,但根据研究结果提出了植物草酸合成的3条途径(图1),即:光呼吸有关的乙醛酸/乙醇酸途径、抗坏血酸途径和草酰乙酸途径。

氧化光呼吸途径中的乙醛酸/乙醇酸一直被认为是合成草酸的有效前体,即通过乙醇酸氧化酶(glycolate oxidase, GLO)氧化乙醛酸生成草酸(Richardson和Tolbert 1961; Nakata 2003),但该途径是否是合成草酸的有效途径在植物中仍然具有很大的争论。如前期的研究表明植物中草酸的合成积累受到光合作用的影响,而最近的研究证明草酸的积累与光合作用没有直接的相关性(Ji和Peng 2005)。另外早期的同位素示踪显示 ^{18}O 标记的乙醛酸并不能转化为草酸(Raven等1982),浮萍中草酸还可以在沒有GLO/光呼吸的黑暗或愈伤组织中积累,但用 ^{14}C 标记的乙醛酸却能在浮萍中转化为草酸钙晶体(Franceschi 1987)。最新的研究还表明

在水稻中草酸的积累并不依赖于光呼吸,但光呼吸途径中的乙醛酸确实是草酸合成的有效前体物质(Yu等2010);有报道证明乙醛酸循环途径中的异柠檬酸裂解酶(isocitrate lyase, ICL)与草酸的合成相关,在水稻中超量表达ICL可以显著提高转基因水稻中的草酸含量(Millerd等1962; Yu等2010)。另外, GLO是位于过氧化物酶体中的光呼吸途径的关键基因,在水稻中GLO基因主要在调控光合作用中起重要功能,而对草酸的积累没有贡献(Xu等2009),这说明可能存在一种不依赖于光呼吸的乙醛酸途径用于合成草酸,如乙醛酸循环和TCA循环等(Yu等2010)。

有研究表明抗坏血酸也是草酸合成的前体物质(Ishikawa等2006),在浮萍、丝兰和大藻中,利用同位素 ^{14}C 标记的抗坏血酸(1和2位C)可以导致草酸含量的升高,并且以同位素 ^{14}C 标记的抗坏血酸

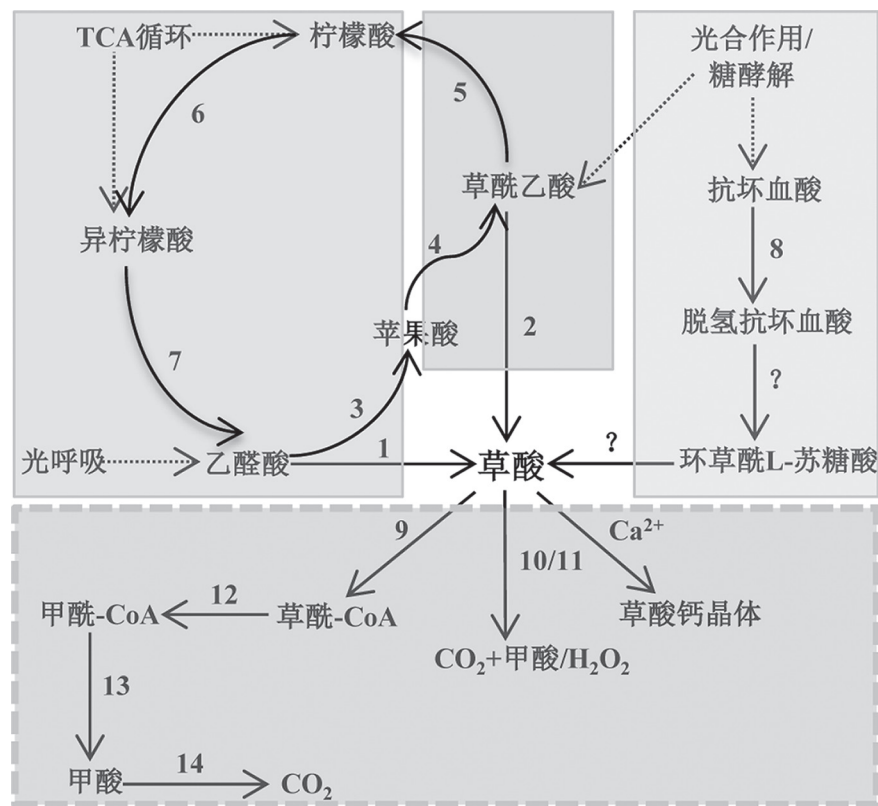


图1 植物中草酸合成与降解途径简图

Fig.1 A schematic model of oxalate biosynthesis and degradation

参考Yu等(2010), Parsons和Fry (2012)和Foster等(2012)等文献修改。催化反应的酶1: 乙醇酸氧化酶; 2: 草酰乙酸裂解酶; 3: 苹果酸合成酶; 4: 苹果酸脱氢酶; 5: 柠檬酸合成酶; 6: 顺乌头酸酶; 7: 异柠檬酸裂解酶; 8: 抗坏血酸过氧化酶/氧化酶; 9: 草酰-CoA合成酶; 10: 草酸脱羧酶; 11: 草酸氧化酶; 12: 草酰-CoA脱羧酶; 13: 甲酰-CoA水解酶; 14: 甲酰-CoA脱氢酶。实线方框表示草酸合成途径; 虚线方框表示草酸降解途径。

合成前体(1位C)也可以导致草酸含量的升高, 认为抗坏血酸通过C2/C3裂解形成草酸, 且该过程可能发生在植物特化晶体异细胞(*crystal idioblasts*)的液泡中(Horner等2000; Keates等2000; Kostman等2001); 抗坏血酸的氧化产物脱氢抗坏血酸可以进一步氧化生成环草酰-L-苏糖酸, 最终水解产生草酸和L-苏糖酸(Parsons和Fry 2012)。而在菠菜刚展开的叶片中同位素标记的抗坏血酸合成草酸的效率并不高(Fujii等1993); 在水稻和荞麦中饲喂外源抗坏血酸后叶片中草酸含量提高不显著(李宝盛和彭新湘2006), 这些结果表明在不同的植物中抗坏血酸做为草酸的合成前体可能有不同的合成效率, 或在不同的植物中草酸合成的主导途径可能不尽相同。在蒺藜苜蓿中筛选鉴定出4个草酸钙相关的突变体, *mod1* (*mesophyll oxalate defective 1*)、*mod2*、*mod3*和*mod4*, 这四个突变体中草酸含量都高于野生型, 并且突变体中抗坏血酸的含量明显低于野生型。对突变体幼苗饲喂抗坏血酸可以明显增加突变体中草酸的含量, 这些表明抗坏血酸可能是草酸合成的有效前体物质。目前关于抗坏血酸对草酸合成的贡献尚未定论, 相关的酶基因仍没有鉴定, 但在水稻中干涉抗坏血酸合成途径最后一步酶L-半乳糖-1,4-内酯脱氢酶(L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase, GLDH)基因显著降低了水稻中的抗坏血酸含量, 却并没有引起草酸含量的下降(Yu等2010), 因此植物中是否存在抗坏血酸合成草酸的代谢途径尚需进一步研究。

植物中第三条草酸合成途径是通过草酰裂解形成草酸, 该反应主要由草酰乙酸裂解酶催化完成, 但该途径仅在甜菜根和菠菜粗提取物中报道过(Chang和Beever 1968), 并没有后续的研究文献。另外在生菜中还提出了一个利用乳酸脱氢酶歧化乙醛酸生成草酸和乙醇酸的途径(Davies和Asker 1983), 随后的研究表明该途径在菠菜中并不存在(Sugiyama和Taniguchi 1997)。尽管有关植物草酸合成的途径仍没有定论, 但越来越多的研究表明在不同的物种中甚至是不同的组织器官中可能存在不同的草酸主要生物合成途径。

3 植物草酸的降解

草酸的降解也有3种不同的方式, 即: 氧化、脱羧和乙酰化(图1)。草酸在草酸氧化酶作用下被

氧化为 CO_2 和 H_2O_2 , 而被草酸脱羧酶催化直接生成甲酸和 CO_2 (Svedruzic等2005; Li等2011); 草酸也可以在草酰-CoA合成酶作用下生成草酰-CoA, 然后再经过草酰-CoA脱羧酶、甲酰-CoA水解酶和甲酰-CoA脱氢酶3步酶促反应最终降解为 CO_2 (Foster等2012)。另外草酸还可以结合植物体内的 Ca^{2+} 形成草酸钙晶体(Nakata 2012)。

草酸氧化酶是降解草酸的重要酶类, 可有效的解除病原菌诱导产生的草酸毒害和延缓其侵染, 在植物的生长发育和防御反应中起重要作用。异源超量表达草酸氧化酶可以显著增加转基因植株对病原真菌的抗性(Hu等2003; Dong等2008; Walz等2008; Li等2011)。草酸脱羧酶是另一种降解草酸的酶类, 超量表达真菌草酸脱羧酶可以显著降低番茄果实中草酸的含量, 并提高果实中的矿质营养元素的含量(Chakraborty等2013); 还可以增强对病原菌的抗性(Kesarwani等2000; Cunha等2010)。草酰-CoA合成酶是第三种降解草酸的酶类, 拟南芥草酰-CoA合成酶突变体显示: 在突变体中草酸不能降解生成 CO_2 , 并且突变体中草酸的含量是正常植株的2~3倍左右, 而超量表达草酰-CoA合成酶基因显著降低转基因拟南芥中的草酸含量(Foster等2012)。这些结果也说明利用草酸降解途径降低植物中的草酸含量是一种行之有效的方

4 植物草酸积累的调节

植物草酸的积累受品种、施肥和种植季节等的影响, 与耕作方式没有关系(Koh等2012)。因此, 在植物生长过程中, 可以通过改进农艺技术调节植物体内的草酸含量。如施用硝态氮肥比用铵态氮肥、尿素或有机氮肥更能刺激植物草酸含量的积累, 并且发现同时施用铵态氮肥能明显抑制草酸含量的升高(Stagnari等2007; Szalai等2010; Al Daini等2013; Liu等2014a)。草酸的积累还受到硝态氮的吸收和同化作用的影响。增加硝态氮肥可以激发根系吸收硝态氮的能力和增加叶片硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)和谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)的活性, 促进植物体内阳离子的积累, 进而激发草酸的合成维持植物体内的pH平衡; NR或GS抑制剂可以显著抑制硝态氮的吸收和草酸的含量的提升(Sugiyama和Okutani 1996; Tian等2008; Liu等2014b)。在NR干涉转基因水稻

中,即使是大量增加外施硝酸盐的浓度,水稻草酸含量也不会升高,这说明外施硝态氮肥增加植物草酸含量是依赖于NR催化的硝酸盐的还原,而不是硝态氮肥和硝酸盐的还原(Tian等2008)。

草酸的积累还受到溶液pH值的影响,pH值由6.0升为8.0后,菠菜叶片内草酸含量的积累明显升高(Liu等2014a)。另一方面,如果无土栽培的植物长期施用高浓度的铵态氮肥极易导致植物毒性,造成植物生物量的下降。因此在无土栽培的菠菜采收前短期升高铵态氮肥的含量是降低菠菜叶片草酸含量的有效方法,并同时增加抗氧化物的含量(Lin等2014)。

其他含K、Na和Ca元素的肥料也可以影响植物体内草酸的含量,如提高含K元素的肥料可以增加植物体内可溶性草酸的含量,降低不可溶性草酸的含量;而提高含Ca元素的肥料则可以降低植物体内可溶性草酸的含量,增加不可溶性草酸的含量(Rahman和Kawamura 2011)。

植物体内草酸含量也受到种植时间的影响。在洋葱鳞茎中,不同的定植时间可以显著影响草酸的含量,如最早定植的洋葱和最晚定植的洋葱鳞茎中草酸含量相差19% (Caruso等2014);在菠菜中,不同季节栽培的菠菜草酸含量差别巨大,同时生长速度快的品种草酸含量比生长速度慢的品种草酸含量低(Kawazu等2003; Kaminishi和Kita 2006)。

此外,贮藏中对洋葱鳞茎用N₂和N₂O处理也可以增加洋葱鳞茎的草酸含量(Benkeblia和Varoquaux 2003)。种植在热带的牧草比种植在温带的牧草积累更多的草酸,但草酸的含量与温度没有显著相关性(Rahman和Kawamura 2011)。另外,铝胁迫也可以影响植物草酸含量的变化,在茶籽苗培养基中添加铝离子后幼苗根系分泌草酸,分泌草酸的量随铝离子浓度的增加而升高(Morita等2011)。

5 小结与展望

目前植物草酸的研究比较落后,主要研究热点仍集中在草酸积累及调控的生理生化水平上,虽然已提出几条草酸合成与降解的途径,但草酸代谢的分子机制尚未完全解析清楚,并且克隆代谢关键基因及调控因子的数目很少,尚无草酸代

谢分子标记的开发及应用研究报道,严重滞碍了现代分子育种手段在低草酸育种中的应用和推广。因此,阐明植物草酸合成与降解的生物途径,解析其分子机制,挖掘更多的草酸代谢关键基因和调控因子,将有助于通过分子手段改良和创造低草酸含量植物尤其是蔬菜新品种。

随着测序技术的发展和测序成本的不断下降,植物基因组或转录组测序数据量增长迅速,完成和积累了大量的SNP和InDel标记;自然界植物中草酸含量变异丰富,为利用全基因组关联分析筛选草酸代谢相关位点或候选基因提供便利,同时也为寻找和开发草酸代谢分子标记提供支持。另一方面,传统遗传定位技术结合BSA基因组重测序和转录组测序研究分析植物草酸代谢的候选基因或位点,并筛选高/低草酸含量植物中差异表达基因,构建植物草酸代谢调控网络。随着分子生物学研究技术和手段的飞速发展,将逐步加速植物草酸代谢调控机制的解析,为低草酸含量植物分子育种提供新的保障。

参考文献

- 李宝盛,彭新湘(2006). 植物叶片中抗坏血酸含量与草酸积累的关系. 植物生理学报, 42 (1): 31~33
- Al Daini H, Norman HC, Young P, Barrett-Lennard EG (2013). The source of nitrogen (NH₄⁺ or NO₃⁻) affects the concentration of oxalate in the shoots and the growth of *Atriplex nummularia* (oldman saltbush). *Funct Plant Biol*, 40: 1057~1064
- Benkeblia N, Varoquaux P (2003). Effect of nitrous oxide (N₂O) on respiration rate, soluble sugars and quality attributes of onion bulbs *Allium cepa* cv. Rouge Amposta during storage. *Postharvest Biol Technol*, 30: 161~168
- Caruso G, Conti S, Villari G, Borrelli C, Melchionna G, Minutolo M, Russo G, Amalfitano C (2014). Effects of transplanting time and plant density on yield, quality and antioxidant content of onion (*Allium cepa* L.) in Southern Italy. *Sci Horticulture-Amsterdam*, 166: 111~120
- Chakraborty N, Ghosh R, Ghosh S, Narula K, Tayal R, Datta A, Chakraborty S (2013). Reduction of oxalate levels in tomato fruit and consequent metabolic remodeling following overexpression of a fungal oxalate decarboxylase. *Plant Physiol*, 162: 364~378
- Chang CC, Beevers H (1968). Biogenesis of oxalate in plant tissues. *Plant Physiol*, 43: 1821~1828
- Cunha WG, Tinoco MLP, Pancoti HL, Ribeiro RE, Aragao FJL (2010). High resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in transgenic soybean plants transformed to express an oxalate decarboxylase gene. *Plant Pathol*, 59: 654~660
- Davies DD, Asker H (1983). Synthesis of oxalic acid by enzymes from lettuce leaves. *Plant Physiol*, 72: 134~138

- Dong X, Ji R, Guo X, Foster SJ, Chen H, Dong C, Liu Y, Hu Q, Liu S (2008). Expressing a gene encoding wheat oxalate oxidase enhances resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in oilseed rape (*Brassica napus*). *Planta*, 228: 331~340
- Foster J, Kim HU, Nakata PA, Browse J (2012). A previously unknown oxalyl-CoA synthetase is important for oxalate catabolism in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24: 1217~1229
- Franceschi VR (1987). Oxalic acid metabolism and calcium oxalate formation in *Lemna minor* L. *Plant Cell Environ*, 10: 397~406
- Freidig AK, Goldman IL (2011). Variation in oxalic acid content among commercial table beet cultivars and related crops. *J Am Soc Hort Sci*, 136: 54~60
- Fu HY, Chen SJ, Chen RF, Ding WH, Kuo-Huang LL, Huang RN (2006). Identification of oxalic acid and tartaric acid as major persistent pain-inducing toxins in the stinging hairs of the nettle, *Urtica thunbergiana*. *Ann Bot*, 98: 57~65
- Fujii N, Watanabe M, Watanabe Y, Shimada N (1993). Fate of oxalate biosynthesis from glycolate and ascorbic acid in spinach leaves. *Soil Sci Plant Nutr*, 39: 627~634
- Guimaraes RL, Stotz HU (2004). Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. *Plant Physiol*, 136: 3703~3711
- Horner HT, Kausch AP, Wagner BL (2000). Ascorbic acid: a precursor of oxalate in crystal idioblasts of *Yucca torreyi* in liquid root culture. *Int J Plant Sci*, 161: 861~868
- Hu X, Bidney DL, Yalpani N, Duvick JP, Crasta O, Folkerts O, Lu G (2003). Overexpression of a gene encoding hydrogen peroxide-generating oxalate oxidase evokes defense responses in sunflower. *Plant Physiol*, 133: 170~181
- Ishikawa T, Dowdle J, Smirnoff N (2006). Progress in manipulating ascorbic acid biosynthesis and accumulation in plants. *Physiol Plant*, 126: 343~355
- Ji XM, Peng XX (2005). Oxalate accumulation as regulated by nitrogen forms and its relationship to photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.). *J Integr Plant Biol*, 47: 831~838
- Kaminishi A, Kita N (2006). Seasonal change of nitrate and oxalate concentration in relation to the growth rate of spinach cultivars. *Hortscience*, 41: 1589~1595
- Kawazu Y, Okimura M, Ishii T, Yui S (2003). Varietal and seasonal differences in oxalate content of spinach. *Sci Hort- Amsterdam*, 97: 203~210
- Keates SE, Tarlyn NM, Loewus FA, Franceschi VR (2000). L-Ascorbic acid and L-galactose are sources for oxalic acid and calcium oxalate in *Pistia stratiotes*. *Phytochemistry*, 53: 433~440
- Kesarwani M, Azam M, Natarajan K, Mehta A, Datta A (2000). Oxalate decarboxylase from *Collybia velutipes*: molecular cloning and its overexpression to confer resistance to fungal infection in transgenic tobacco and tomato. *J Biol Chem*, 275: 7230~7238
- Klug B, Horst WJ (2010). Oxalate exudation into the root-tip water free space confers protection from aluminum toxicity and allows aluminum accumulation in the symplast in buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *New Phytol*, 187: 380~391
- Koh E, Charoenprasert S, Mitchell AE (2012). Effect of organic and conventional cropping systems on ascorbic acid, vitamin C, flavonoids, nitrate, and oxalate in 27 varieties of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *J Agric Food Chem*, 60: 3144~3150
- Korth KL, Doege SJ, Park SH, Goggin FL, Wang Q, Gomez SK, Liu G, Jia L, Nakata PA (2006). *Medicago truncatula* mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects. *Plant Physiol*, 141: 188~195
- Kostman TA, Tarlyn NM, Loewus FA, Franceschi VR (2001). Biosynthesis of L-ascorbic acid and conversion of carbons 1 and 2 of L-ascorbic acid to oxalic acid occurs within individual calcium oxalate crystal idioblasts. *Plant Physiol*, 125: 634~640
- Li W, Li WX, Jia L, Gang YZ, Min DZ (2011). Research on oxalate oxidase and its genes in plants. *Agric Sci Tech*, 12: 11~13, 19
- Lin XY, Liu XX, Zhang YP, Zhou YQ, Hu Y, Chen QH, Zhang YS, Jin CW (2014). Short-term alteration of nitrogen supply prior to harvest affects quality in hydroponic-cultivated spinach (*Spinacia oleracea*). *J Sci Food Agric*, 94: 1020~1025
- Liu XX, Lu LL, Chen QH, Ding WY, Dai PB, Hu Y, Yu Y, Jin CW, Lin XY (2014a). Ammonium reduces oxalate accumulation in different spinach (*Spinacia oleracea* L.) genotypes by inhibiting root uptake of nitrate. *Food Chem*, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.06.122
- Liu XX, Zhou K, Hu Y, Jin R, Lu LL, Jin CW, Lin XY (2014b). Oxalate synthesis in leaves is associated with root uptake of nitrate and its assimilation in spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants. *J Sci Food Agric*, doi: 10.1002/jsfa.6926
- Mehta A, Datta A (1991). Oxalate decarboxylase from *Collybia velutipes*. Purification, characterization, and cDNA cloning. *J Biol Chem*, 266: 23548~23553
- Millerd A, Morton RK, Wells JRE (1962). Role of isocitrate lyase in synthesis of oxalic acid in plants. *Nature*, 196: 955~956
- Morita A, Yanagisawa O, Maeda S, Takatsu S, Ikka T (2011). Tea plant (*Camellia sinensis* L.) roots secrete oxalic acid and caffeine into medium containing aluminum. *Soil Sci Plant Nutr*, 57: 796~802
- Nakata PA (2003). Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Sci*, 164: 901~909
- Nakata PA (2012). Engineering calcium oxalate crystal formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 53: 1275~1282
- Parsons HT, Fry SC (2012). Oxidation of dehydroascorbic acid and 2,3-diketogulonate under plant apoplastic conditions. *Phytochemistry*, 75: 41~49
- Rahman MM, Kawamura O (2011). Oxalate accumulation in forage plants: some agronomic, climatic and genetic aspects. *Asian-Australas J Anim Sci*, 24: 439~448
- Raven JA, Griffiths H, Glidewell SM, Preston T (1982). The mechanism of oxalate biosynthesis in higher plants: investigations with the stable isotopes ¹⁸O and ¹³C. *Proc R Soc Lond B*, 216: 87~101
- Richardson KE, Tolbert NE (1961). Oxidation of glyoxylic acid to oxalic acid by glycolic acid oxidase. *J Biol Chem*, 236: 1280~1284
- Savage G (2000). Effect of cooking on the soluble and insoluble oxalate content of some new zealand foods. *J Food Compos Anal*, 13: 201~206
- Stagnari F, Di Bitetto V, Pisante M (2007). Effects of N fertilizers and rates on yield, safety and nutrients in processing spinach geno-

- types. *Sci Hortic-Amsterdam*, 114: 225~233
- Sugiyama N, Okutani I (1996). Relationship between nitrate reduction and oxalate synthesis in spinach leaves. *J Plant Physiol*, 149: 14~18
- Sugiyama N, Taniguchi N (1997). Evaluation of the role of lactate dehydrogenase in oxalate synthesis. *Phytochemistry*, 44: 571~574
- Svedruzic D, Jonsson S, Toyota CG, Reinhardt LA, Ricagno S, Lindqvist Y, Richards NG (2005). The enzymes of oxalate metabolism: unexpected structures and mechanisms. *Arch Biochem Biophys*, 433: 176~192
- Szalai G, Dai N, Danin A, Dudai N, Barazani O (2010). Effect of nitrogen source in the fertilizing solution on nutritional quality of three members of the *Portulaca oleracea* aggregate. *J Sci Food Agric*, 90: 2039~2045
- Tian H, Jiang LR, Liu E, Zhang JJ, Liu F, Peng XX (2008). Dependence of nitrate-induced oxalate accumulation on nitrate reduction in rice leaves. *Physiol Plant*, 133: 180~189
- Walz A, Zingen-Sell I, Loeffler M, Sauer M (2008). Expression of an oxalate oxidase gene in tomato and severity of disease caused by *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Pathol*, 57: 453~458
- Xu HW, Zhang JJ, Zeng JW, Jiang LR, Liu E, Peng CL, He ZH, Peng XX (2009). Inducible antisense suppression of glycolate oxidase reveals its strong regulation over photosynthesis in rice. *J Exp Bot*, 60: 1799~1809
- Yu L, Jiang JZ, Zhang C, Jiang LR, Ye NH, Lu YS, Yang GZ, Liu E, Peng CL, He ZH et al (2010). Glyoxylate rather than ascorbate is an efficient precursor for oxalate biosynthesis in rice. *J Exp Bot*, 61: 1625~1634
- Zhang B, Oakes AD, Newhouse AE, Baier KM, Maynard CA, Powell WA (2013). A threshold level of oxalate oxidase transgene expression reduces *Cryphonectria parasitica*-induced necrosis in a transgenic American chestnut (*Castanea dentata*) leaf bioassay. *Transgenic Res*, 22: 973~982