CẢI TIẾN GIỐNG LÚA NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG GẠO - TIẾP CẬN TỪ GIÁC ĐỘ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

GS.TS BÙI CHÍ BỬU
Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

GS.TS NGUYỄN THỊ LANG
Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

Trong thời gian gần đây, Đảng và Nhà nước đã ban hành một số chính sách nhằm khuyến khích khả năng cạnh tranh của nông sản, mở rộng thị trường và khắc phục tình trạng chia cắt giữa sản xuất, thu mua, chế biến và thị trường. Tuy nhiên, người nông dân trồng lúa vẫn có thu nhập khá thấp so với mức thu nhập trung bình của cả nước mà nguyên nhân chính liên quan đến năng suất và phẩm chất lúa gạo trong nước. Việc cải tiến giống lúa, nâng cao chất lượng gạo là một cách tiếp cận với mục tiêu phát triển sản xuất lúa gạo hiệu quả cao và bền vững, giúp chủ động cung cấp lương thực trong điều kiện diện tích trồng lúa bị co hẹp của giai đoạn công nghiệp hóa, đồng thời phục vụ hiệu quả mục tiêu xuất khẩu lúa gạo của quốc gia. Bài viết tiếp cận vấn đề này từ giác độ công nghệ sinh học.

Trong 2 năm 2000 và 2001, Chính phủ đã ban hành các văn bản về tăng cường khả năng cạnh tranh của nông - lâm sản, mở rộng thị trường và liên kết theo hợp đồng giữa người sản xuất và các doanh nghiệp, nhằm khắc phục tình trạng chia cắt giữa sản xuất, thu mua, chế biến và thị trường. Văn kiện Đại hội IX của Đảng đã đề ra nhiệm vụ đẩy nhanh công nghiệp hóa, hiện đại hóa nông nghiệp, nông thôn. Thực hiện Nghị quyết của Đại hội IX, cơ cấu nông nghiệp đã có chuyển dịch rõ rệt: diện tích lúa giảm 180.000 ha nhưng sản lượng tăng từ 32,5 triệu tấn (năm 2000) lên gần 36 triệu tấn (năm 2005) và gần 40 triệu tấn (năm 2010); xuất khẩu nông sản năm 2010 đạt 19 tỷ USD. Trong giai đoạn 2000-2007, nền nông nghiệp Việt Nam đạt tốc độ tăng trưởng 5,24%/năm về giá trị tổng sản lượng và 3,71%/năm về giá trị gia tăng, trong khi đó, nông dân trồng lúa có thu nhập ở mức 360 USD là khá thấp (bằng 1/3 trung bình của cả nước - số liệu năm 2009). Việc cải tiến giống lúa, nâng cao chất lượng gạo là một cách tiếp cận với mục tiêu phát triển sản xuất lúa gạo theo hướng hiện đại, hiệu quả và bền vững.

Nâng cao phẩm chất lúa gạo

Gia tăng chất lượng lúa gạo được hiểu theo cả 2 nội dung: phẩm chất thương mại và phẩm chất dinh dưỡng. Chất lượng hạt gạo được đánh giá theo các yếu tố gồm: chất lượng xay chà, chất lượng cơm và chất lượng dinh dưỡng. Thị hiếu của người tiêu dùng thường chú ý đến chất lượng cơm sau khi nấu. Chất lượng cơm phụ thuộc vào hàm lượng amylose (AC - khả năng giữ nước trong hạt gạo), độ trở hồ, độ bền thể gel; hàm lượng dinh dưỡng phụ thuộc vào lượng protein, vitamin, khoáng vi lượng. Trước năm 1990, 80% số giống lúa Việt Nam có hàm lượng amylose cao (> 25%), sau đó tỷ lệ này giảm dần, với những giống lúa chủ lực hạt dài, hàm lượng amylose thấp đến trung bình, đã cạnh tranh được với gạo trắng của Thái Lan (chỉ trừ giống gạo thơm vì đây là giống truyền thống). Để cải tiến tính trạng hàm lượng AC, các nhà khoa học trong nước đã dành nhiều công sức nghiên cứu điều khiển thành công gen waxy trên nhiễm sắc thể số 6.

Nâng cao phẩm chất thương mại

Chiều dài hạt gạo: là tính trạng ổn định nhất, ít bị ảnh hưởng bởi môi trường, được điều khiển bởi đa gen. Thứ tự mức độ tính trội được ghi nhận như sau: hạt dài > hạt trung bình > hạt ngắn > hạt rất ngắn. Thị hiếu người tiêu dùng về dạng hạt rất khác nhau, có nơi thích hạt tròn, có nơi thích hạt gạo dài trung bình, nhưng được tiêu thụ nhiều nhất trên thị trường quốc tế là hạt gạo thon dài. Tỷ lệ vỏ trấu trung bình từ 20-22%, dao động ở mức 18-26%. Cám và phôi hạt chiếm 8-10%, do đó, tỷ lệ gạo trắng thường ở vào khoảng 70%. Tỷ lệ gạo nguyên biến động rất lớn và chịu ảnh hưởng lớn bởi môi trường, đặc biệt là nhiệt độ và độ ẩm trong suốt thời gian chín cho đến cả sau khi thu hoạch, đặc biệt là điều kiện phơi sấy, bảo quản.

Kích thước hạt do đa gen tương tác cộng tính điều khiển. Chiều dài và hình dạng hạt di truyền theo số lượng. Độ trong suốt của hạt gạo phụ thuộc vào tính chất của phôi nhũ, vết đục xuất hiện ở lưng, bụng hoặc trung tâm hạt gạo. Hạt tinh bột ở vùng bạc bụng sắp xếp rời rạc, có cấu trúc kém chặt chẽ hơn vùng trong suốt, tạo khe hở chứa không khí giữa các hạt tinh bột hình thành vết đục. Tính trạng này di truyền độc lập với các đặc tính nông học khác. Sự thay đổi của khí hậu (nhiệt độ cao khi lúa trổ bông) có ảnh hưởng đáng kể đến việc tăng độ bạc bụng. Các thí nghiệm thực hiện tại vùng lúa của Viện Nghiên cứu lúa quốc tế - IRRI cho thấy, ở thời kỳ lúa từ trổ đến chắc hạt, nếu điều kiện nhiệt độ đêm/ngày vào khoảng 20/30^{0}C, lúa sẽ đạt 80% số hạt chắc, tuy nhiên độ bạc bụng lại khá cao (80%). Trong khi đó, trong điều kiện nhiệt độ đêm/ngày là 15/25^{0}C, tỷ lệ hạt chắc đạt thấp hơn nhưng tỷ lệ bạc bụng của hạt gạo lại rất thấp (thấp hơn 20%). Độ bạc trắng ở trung tâm hạt do gen *wc* điều khiển, còn độ bạc trắng ở bụng hạt do gen *wb*.

Hạt gạo thon dài được tiêu thụ nhiều nhất trên thị trường quốc tế

Độ dẻo của cơm: amylose được xem là tính trạng có ý nghĩa quyết định đến sự mềm cơm. Hàm lượng amylose cao có tính trội không hoàn toàn so với hàm lượng amylose thấp, do một gen điều khiển kèm theo một số modifiers (gen phụ có tính chất cải tiến). Gen điều khiển sự co dãn hàm lượng amylose *ae* (amylose extender) được xác định trên nhiễm sắc thể số 2 (Kaushik và Khush, 1991). Thành tựu có ý nghĩa trong nghiên cứu di truyền phân tử về chất lượng cơm có thể được ghi nhận qua công trình bản đồ liên kết gen hệ enzyme III của tinh bột trong hạt gạo trên nhiễm sắc thể số 2, với hai chỉ thị kế cận CDO 718 và RG 157. Amylose được đo lường bằng phương pháp hấp thu phổ sóng "amylose - iodine complex". Trên thế giới, mạng lưới chất lượng lúa gạo (INQR - International Network for Quality Rice) đã điều tra số liệu biến thiên giữa các phòng thí nghiệm khi phân tích amylose và xác định tại sao có sự sai lệch này. Phương pháp phân tích amylose không hề đơn giản và đòi hỏi độ chính xác với điều kiện chuẩn mực. Phân tích QTL (phân tích di truyền các gen điều khiển tính trạng số lượng) kiểm soát hàm lượng amylose cho thấy, vùng giả định nằm trên nhiễm sắc thể số 5 và 6 với gen *wx* và các alen khác, giải thích biến thiên kiểu hình 91,1% trong quãng giữa hai marker RG573-C624. Năm 2003, Yanagisawa và các cộng sự đã dùng kỹ thuật SNP (single nucleotide polymorphism) và dCAPS (derived cleaved amplified polymorphic sequence) để tìm kiếm gen *wx-D1* trong lúa và lúa mì mã hóa protein wx-D1

thông qua phân tích immunoblot. Hàm lượng amylose còn chịu ảnh hưởng của tương tác: tính cộng x tính cộng và tương tác trội x trội trong phân tích epistasis. Năm 2004, Nguyễn Thị Lang và các cộng sự đã phát hiện hàm lượng amylosa được kiểm soát bởi gen chính định vị trên nhiễm sắc thể số 5 và 6 liên kết với chỉ thị RM42 (nhiễm sắc thể số 5) và wx (nhiễm sắc thể số 6).

Nhiệt độ hóa hồ (GT) do gen *alk* và *qASS-6* điều khiển. Trong một số nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ hóa hồ có liên quan đến hàm lượng amylose. Gen *alk* và *qASS-6* có sự liên kết với gen *wx* (McKenzie và Rutger 1983). Nhiệt độ hóa hồ có quyết định rất lớn đến hàm lượng amylose (Jennings và các cộng sự, 1979). Gen chính và gen phụ liên quan đến nhiệt độ hóa hồ đều nằm trên nhiễm sắc thể số 6, quãng giữa hai chỉ thị CT201 - RZ450 (Lu và ctv, 1996; Matsuki và ctv, 2003; He và ctv, 1999).

Mùi thơm của cơm: 2-acetyl-1-pyrroline được tìm thấy trong giống Basmati 370 và Jasmine quyết định mùi thơm. Ngoài ra, còn có pentanol, hexanol, benzaldehyde tham gia vào mùi thơm của gạo. Năm 1992, GS Gyn Ahn cùng các cộng sự thuộc Đại học Pohang (Hàn Quốc) đã xác định gen *fgr* định vị trên nhiễm sắc thể số 8 thông qua kỹ thuật RFLP, điều khiển mùi thơm. Gen lặn *fgr* liên kết chặt chẽ với chỉ thị RG28 với khoảng cách di truyền 4,5cM.. Nguyễn Thị Lang và các cộng sự (2002) đã sử dụng chỉ thị RM223 liên kết với *fgr* trên nhiễm sắc thể số 8 với khoảng cách di truyền 1,6 cM trong chọn tạo giống lúa cao sản có mùi thơm và phát triển thành công các giống OM 4900, OM 6161, OM 6162.

Năm 2009, Mariafe Calingacion cùng các cộng sự thuộc IRRI và Đại học Cornell (Mỹ) đã nghiên cứu nguồn gốc của lúa thơm trên cơ sở di truyền thông qua xác định gen *betaine aldehyde dehydrogenase* (BADH2) điều khiển mùi thơm (Chen và ctv, 2000). Khi phân lập 8 alen không có chức năng theo giả định của BADH2 cho thấy có sự khác biệt về địa lý và nguồn gốc di truyền. Cho dù nguồn gốc khác biệt nhiều, nhưng có một alen *badh 2.1*, được xem như alen ưu thế trội trong tất cả giống lúa thơm đã biểu hiện kể cả ở giống Basmati và các loại hình Jasmine khác. Phân tích haplotype cho thấy nguồn gốc của alen badh 2.1 trong loại hình *japonica* và nó chứng minh rằng có sự du nhập alen này từ japonica vào indica. Các mẫu giống "Basmati-like" rất gần với tổ tiên japonica (haplotype) của chúng trên vùng có độ lớn 5,3 Mb chứa BADH2. Điều này cho thấy, có sự tiến hóa giữa các giống Basmati và nguồn gen *japonica*. Năm 2009, Vito M. Butardo cùng cộng sự thuộc CSIRO, Đại học Queensland (Australia) đã kết hợp với Melissa A. Fitzgerald (IRRI) thực hiện nghiên cứu di truyền chỉ số glycemic và "tinh bột kháng" (resistant starch) trong cây lúa bằng kỹ thuật làm im lặng gen (RNAi) (Fitzgerald và ctv, 2009; Burtado Vito và các cộng sự, 2011). Chỉ số glycemic thấp và mức độ "resistant starch" cao rất có ích cho nghiên cứu di truyền phẩm chất gạo ở mức độ phân tử. Các dạng đồng phân của enzym có tính chọn lọc đối với tinh bột có thể biểu hiện (hoặc không biểu hiện) làm cho lộ trình hình thành tinh bột khá đa dạng trong quá trình làm ra amylose và amylopectin.

Nâng cao phẩm chất dinh dưỡng

Nâng cao hàm lượng protein: hàm lượng axit phytic có trong hạt gạo giúp ruột non dễ dàng hấp thu sắt. Giống lúa có gen *LPA* do một đột biến được ghi nhận, làm giảm đáng kể axit phytic trong gạo, đã và đang được khai thác trong các chương trình cải tiến giống lúa. Đột biến axit phytic thấp được tạo ra do các tác nhân đột biến trên ngô, lúa gạo, lúa mạch và đậu nành. Đột biến *lpa2* làm giảm lượng axit phytic nhưng làm tích lũy InsP3, InsP4 và InsP5 (Raboy và ctv, 2003) trong khi đột biến *lpa1* làm giảm lượng axit phytic nhưng không tích lũy inositol polyphosphate. Tại Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long, các nhà khoa học đã sử dụng OM 1490 và OMCS 2000 xử lý phóng xạ (bằng hóa chất và tia gamma) giúp tạo ra gen lặn *lpa* mới định vị trên nhiễm sắc thể số 3, tuy nhiên điểm hạn chế của gen là kiểu hình kém ổn định. Gần đây, phát hiện của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long về quần thể lúa hoang ở Đồng Tháp Mười *Oryza rufupogon* có chứa hàm lượng axit phytic đã được các chuyên gia của IAEA đánh giá cao. Tính đến nay, công nghệ sinh học có thể tạo ra những giống lúa làm thực phẩm chức năng như sau: 1- Lúa biotech ngăn ngừa bệnh cao huyết áp (gen mã hóa GABA và NA); 2- Lúa biotech tích tụ "Type II collagen telogeneric" trong mô sụn giúp phòng chống và chữa trị bệnh viêm khớp; 3- Lúa biotech thể hiện protein ACE chống bệnh

cao huyết áp; 4- Lúa biotech tạo ra vaccine chống lại giun sán.

Hàm lượng protein trong cây lúa (GPC) biến động từ 6-12%, tỷ lệ này cao hay thấp thường do yếu tố giống quyết định 40%, còn 60% do ảnh hưởng của môi trường và thời gian bảo quản hạt (thời gian tồn trữ lúa trong kho càng lâu, hàm lượng protein càng giảm). Hàm lượng protein bị ảnh hưởng của giống và môi trường khá nhiều nhưng thành phần axit amin của lúa rất cân đối, ví dụ lysin luôn chiếm trung bình từ 3,5-4,0% (cao hơn rất nhiều so với ngô). Chưa kể yếu tố di truyền của tính trạng hàm lượng protein trong hạt rất phức tạp và bị ảnh hưởng bởi yếu tố môi trường, thời gian sinh trưởng. Chỉ thị RM234 định vị trên nhiễm sắc thể số 7, cho đa hình với 3 alen có kích thước lần lượt là 163 bp, 156 bp, 145 bp đã được Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long khai thác trong cải tiến giống lúa có hàm lượng protein cao (> 8%). Arthur Z. Wang và các cộng sự (2009) thuộc Đại học National Chung - Hsing (Đài Loan) đã nghiên cứu proteomics cám gạo với 12-20% protein và là nguồn để phát triển thực phẩm chức năng mới. Kết quả điện di 2 chiều cho thấy sự khác biệt của cám trong gạo với thành phần bên trong nội nhũ (cụ thể, có 238 protein spot được phân lập bằng sắc khí khối phổ - linear ion trap mass spectrometer và 87 proteins được tìm thấy). UP01-PINHA, UP03-PINHA, REF-HEVBR, REHYA-ORYSI và REHYB-ORYSI biểu hiện trong hầu hết các mẫu protein. Protein cám gạo đóng góp 14 "terms" của hợp phần tế bào, 6 "terms" của tiến trình sinh học và 7 "terms" của chức năng phân tử theo dữ liệu GOA (gene ontology annotation) của EMBL-EBI. Trong trường hợp không biết về dữ liệu (để giải thích trình tự), hầu hết những điểm protein như vậy đều định vị trong tế bào chất, tham gia tiến trình biến dưỡng, hoạt động xúc tác "oxidoreductase". Tất cả các điểm protein này có chức năng của enzym, kết hợp với tính kháng stress. Điều này cho thấy các protein cám gạo có chức năng đồng nhất và biểu thị nhiều chức năng mới.

Nâng cao hàm lượng một số hoạt chất đặc thù trong gạo: hàng năm, trên thế giới có khoảng 1 triệu người chết do hội chứng anemia. Nhu cầu sắt mỗi ngày là 1 mg nhưng chỉ có 10-15% lượng sắt đó được hấp thu vào cơ thể trong khi tỷ lệ bổ sung sắt mỗi ngày cho người trưởng thành là 10-15 mg, trẻ em từ 8-10 mg. Gạo thông thường chỉ cho 2 mg sắt trong 200 g nhưng sắt trong gạo bị phytate giữ chặt nên để lượng sắt cần can thiệp bằng các biện pháp công nghệ sinh học.

Năm 2009, trong công trình nghiên cứu về hiện tượng thiếu sắt với hội chứng anemia (IDA) tại các nước đang phát triển, GS Gyn Ahn cùng các cộng sự đã nghiên cứu việc chuyển gen "ferritin" của đậu tương vào lúa giúp gia tăng hàm lượng sắt trong cơm, tập trung nghiên cứu nicotianamine (NA) như một "chất vận chuyển" đối với ion kim loại - là thành phần chủ chốt trong trạng thái tối ưu chuyển hóa sắt trong cây lúa (iron homeostasis). Từ đó, nhóm nghiên cứu đã phân lập được 3 gen NAS, trong đó có 2 gen quan trọng là *OsNAS3* trên nhiễm sắc thể số 7 và *OsNAS2* trên nhiễm sắc thể số 3.

GS Naoko K. Nishizawa cùng các cộng sự thuộc Đại học Tokyo (Nhật Bản) đã nghiên cứu sự hấp thu sắt và cách thức sắt chuyển hóa vào trong hạt gạo (mặc dù sắt có nhiều trong đất nhưng hầu hết ở dạng không hòa tan Fe^{3+}). Lúa tiết ra mugineic acid phytosiderophores để bắt giữ Fe^{3+} trong đất và tạo ra Fe^{3+}phytosiderophore. Nicotianamine, tiền chất trực tiếp của phytosiderophore, là một thuốc thải của nhiều kim loại di động, đặc biệt là Fe^{2+} đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa sắt vào các cơ quan sinh dưỡng và sinh thực của cây lúa. Việc gia tăng hấp thu sắt từ đất là tiền đề làm gia tăng hàm lượng sắt trong hạt gạo. Các nhà khoa học Nhật Bản đã đạt được nhiều thành tựu trong nghiên cứu, phân lập thành công nhiều gen điều khiển sự hấp thu và vận chuyển sắt trong cây lúa (ví dụ, gen mã hoá enzym trong sinh tổng hợp phytosiderophore). Gen mã hoá enzym sẽ vận chuyển Fe^{3+} phytosiderophore hoặc Fe^{2+} nicotianamine, 3 yếu tố phiên mã trong cây lúa: IDEF1, IDEF2 và IRO2, tham gia trong cơ chế phân tử điều hòa gen dưới điều kiện thiếu sắt đã được phân lập. Họ sử dụng các gen này làm gia tăng sự tích tụ hàm lượng sắt trong hạt gạo.

Bổ sung vitamin A ở lúa chuyển gen lúa vàng: kết quả điều tra của WHO cho thấy, 40% số trẻ em dưới 5 tuổi, 30% số trẻ em trong tuổi đến trường và 50% số phụ nữ mang thai có triệu chứng thiếu vitamin A. GS Ingo Potrykus và Peter Beyer cùng cộng sự (trong dự án quốc tế HarPlus) đã tạo

ra giống lúa vàng (Golden Rice) bằng biến đổi gen chứa nhiều vitamin A, sắt, kẽm phù hợp với các quốc gia thuộc khu vực Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam. Dự kiến trong năm nay (2013), giống này sẽ được trồng ở Philipines. Qua 10 năm thử nghiệm cho thấy, Golden Rice cho các kết quả tốt về chất lượng dinh dưỡng nhưng trong các văn bản pháp lý của nhiều quốc gia ASEAN, cây trồng biến đổi gen chưa được thừa nhận nên giống này chưa được đưa vào sản xuất.

Kết luận

Thách thức đặt ra cho nhân loại là diện tích và lượng nước tưới cho nông nghiệp đang giảm đi, trong khi dân số gia tăng. Như vậy, nhu cầu lương thực sẽ tăng gấp đôi vào năm 2050 so với 2000. Phẩm chất dinh dưỡng, phẩm chất thương mại là vấn đề mà các nước đang phát triển xuất phát từ nền nông nghiệp như nước ta cần quan tâm. Với khẩu phần ít nhưng có tỷ lệ năng lượng trong hạt gạo cao, hàm lượng dinh dưỡng tốt sẽ là lời giải hiệu quả cho cả bài toán lương thực và xuất khẩu nếu muốn thực hiện hiệu quả mục tiêu "dân giàu, nước mạnh". Muốn vậy, chúng ta nên dành nhiều cơ hội cho công nghệ sinh học phát triển một cách thuận lợi ■

Tài liệu tham khảo

Tiếng Việt

1. Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Thị Tâm, Trần Lũy, Đỗ Tâm, Bùi Chí Bửu, 2004, Nghiên cứu chọn tạo giống lúa có phẩm chất gạo tốt ở Đồng bằng sông Cửu Long. Hội nghị quốc gia về chọn tạo giống lúa. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long, Cần Thơ, 14-15.7.2004. Nhà xuất bản Nông nghiệp, trang 19-38.

Tiếng Anh

1. Ahn S.N., C.N. Bollich, A.M. McClung and S.D. Tanksley, 1993. RFLP analysis of genome regions associated with cooked kernel elongation in rice. Theor. Applied Genet., 87: 27-32.

2. Butardo Vito M., Melissa A. Fitzgerald, A.R. Bird, M.J. Gidley, B.M. Flanagan, O. Larroque, A.P. Resurreccion, H.K.C. Laidlaw, S.A. Jobling, M.K. Morell and S. Rahman, 2011. Impact of down-regulation of *starch branching enzyme IIb* in rice by artificial microRNA and hairpin RNA-mediated RNA silencing. Journal of Experimental Botany: 1-15.

3. Chen S, Y. Yang, W. Shi, Q. Ji., F. He, Z. Zhang, Z. Cheng, X. Liu and M. Xu, 2000. *Badh2*, Encoding Betaine Aldehyde Dehydrogenase, Inhibits the Biosynthesis of 2-Acetyl-1-Pyrroline, a Major Component in Rice Fragrance. Plant Cell, 2008 July; 20(7): 1850-1861.

4. Fitzgerald M.A., Bergman C.J., Resurreccion A.P., et al, 2009. Addressing the dilemmas of measuring amylose in rice. Cereal Chemistry 86, 492-498.

5. Haruhiko Inoue, Takanori Kobayashi, TomokoNozoye, Michiko Takahashi, Yusuke Kakei, Kazumasa Suzuki, Mikio Nakazono, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, and Naoko K. Nishizawa, 2009. 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. The Journal of Biological Chemistry 284(6): 3470-3479.

6. He P., S.G. Hi, Q. Quian, Y.Q. Ma, Z. Li, W.M. Wang, Y. Chen, I.H. Zhu, 1999. Genetic analysis of rice grain quality. Theor Appl Gennet 98: 502-508.

7. Jenning P.R., W.R. Coffman, H.E. Kaufman, 1979. Rice Improvement. IRRI, Los Banos, Laguna, Philippines. 186 pp.

8. Lu T.J., J.L. Jane, P.L. Keeling and G.W. Singletary, 1996. Maize starch fine structure affected by ear developmental temperature. Carbohydr. Res. 282: 157-170.

9. Matsuki J., Y. Takeshi, K. Kohyama, and T. Sasaki, 2003. Effects of Environmental Temperatureon Structure and Gelatinization Properties of Wheat. Starch Cereal Chem. 80(4): 476-480.

10 Mc Kenzie K.S., J.N. Rutger, 1983. Genetic analysis of amylose content, alkali spreading score, and grain dimensions in rice. Crop Sci. 23: 306-313.

11. Nguyen Thi Lang and Bui Chi Buu, 2002. Identification and fine mapping of SSR marker linked to *fgr* gene of rice. OMonRice 10: 16-22.

12. Nguyen Van Bo and Bui Chi Buu. 2010, Rice production in Vietnam: Achievements, Opportunities and Challenges. Vietnam, Fifty Years of Rice Research and Development. B.B Bong, N.V Bo, B.C Buu eds. Agric Publishing House, Hanoi 2010: 19-36.

13. Potrykus Ingor, 2000. The "Golden Rice Tale". AgrioBioWorld. http://www.agbioworld.org/biotech-info/topics/goldenrice/tale.html .

14. Raboy V., F. Paola, F. Gerbasi, A. Kevin Young, Sierra D. Stoneberg, Suewiya G. Pickett, Andrew T. Bauman, Pushpalatha P.N. Murthy, William F. Sheridan and David S. Ertl, 2003. Origin and Seed Phenotype of Maize low phytic acid 1-1 and low phytic acid 2-1.

15. Wang A.Z., M.Y. Chou, C.W. Liu, C.C. Lai, C.S. Wang, 2009. Proteomic characterization of rice bran. National Chung Hsing University. Taiwan 16 pp.

16. Yanagisawa S, S.D. Yoo and J. Sheen, 2003. Differential regulation of EIN3 stability by glucose and ethylene signalling in plants. Nature 425: 521-525.