

TỔNG QUAN DI TRUYỀN MÙI THƠM CỦA HẠT GẠO - PHƯƠNG PHÁP TIẾP CẬN MỚI -

BÙI CHÍ BỬU, IAS
Ngày 24-9-2020

Thị trường lúa gạo là thị trường mong manh, rất hẹp so với mẽ cốc khác, chỉ có 7% tổng sản lượng gạo thế giới vận hành trong thị trường xuất nhập khẩu áy (Giraud 2013; Muthayya et al. 2014). Giống lúa có gạo thơm (gọi chung lúa thơm: aromatic rice) chiếm tỷ trọng đáng kể thị trường gạo xuất khẩu với nhiều đẳng cấp khác nhau, bao gồm loại hình gạo Jasmine và loại hình gạo Basmati. Hai loại hình gạo này có vai trò chủ lực trong sản lượng gạo thơm thế giới (Annex 2011; Giraud 2013; Mahajan et al. 2018). Bộ Nông Nghiệp Hoa Kỳ (USDA) dự đoán nguồn gạo nhập khẩu của Hoa Kỳ là 2,7 triệu cwt năm 2018, với 2,35 triệu cwt gạo thơm, hạt dài bao gồm cả hai loại hình nói trên [Jasmine hoặc Basmati types] (Baldwin and Childs 2018). Di truyền giữa giống lúa thơm liên quan đến quần thể giống lúa khác ở mức độ phân loại 'subpopulations' ngày càng rõ hơn trong xếp hạng nhờ chỉ thị phân tử được áp dụng trong sàng lọc di truyền.

Cây lúa (*Oryza sativa*) đã được loài người thuần hóa trên 10.000 năm trước đây từ nguồn đa dạng di truyền hoang dại của các loài Hòa thảo như *Oryza rufipogon* (Kovach et al. 2007). Nguồn gen phong phú của loại hình lúa trồng thuộc indica và japonica, được giả định là sự phân chia ra cách nay 200.000 - 400.000 năm trong quá trình thuần hóa (Cai và Morishima 2002; Ma và Bennetzen 2004; Vitte et al. 2004). Nhiều kết quả nghiên cứu đã phân lập được 5 quần thể phụ (sub-populations) có khoảng cách di truyền rõ ràng hình thành nên những nhóm giống lúa khác nhau (varietal groups). Nhóm giống lúa trồng indica bao gồm kiểu hình quần thể phụ *indica* và *aus*. Nhóm giống lúa trồng japonica bao gồm kiểu hình quần thể phụ japonica nhiệt đới, japonica ôn đới, và nhóm quần thể phụ aromatic (Glaszmann 1987; Garris et al. 2005; Kovach et al. 2007; Cíván et al. 2015; McCouch et al. 2016).

Tuy nhiên, quần thể phụ aromatic trước đó được người ta cho rằng liên quan gần nhất với loại hình lúa trồng indica trên cơ sở giống nhau về hình thái học của hạt thóc, hạt gạo. Theo kết quả sàng lọc di truyền bằng chỉ thị SSR (simple sequence repeats) lại chứng minh rằng quần thể phụ aromatic có bản chất di truyền gần với loại hình japonica hơn quần thể phụ indica (Sweeney và McCouch 2007).

Hiện nay, theo kết quả phân tích 'resequencing', quần thể phụ aromatic được giải thích là một loại hình pha trộn rất cổ xưa giữa loại hình lúa trồng japonica ôn đới và loại hình *aus*, có một ảnh hưởng nhỏ từ tổ tiên của giống lúa indica (Cíván et al. 2015).

Tại Mỹ, hầu hết nguồn giống bố mẹ thuộc loại hình japonica, với nguồn vật liệu hạt dài kết hợp với loại hình japonica nhiệt đới, và lúa hạt dài trung bình hàm chứa cả kiểu hình từ tổ tiên japonica nhiệt đới và japonica ôn đới (Lu et al. 2005; Zhao et al. 2011).

Hoa kỳ cho phép phát triển 13 giống lúa thơm dẫn xuất từ 6 vật liệu giống lúa thơm làm bố mẹ đã được thu thập trong ngân hàng gen lúa của Hoa Kỳ. Nguồn gen thơm từ vật liệu bố mẹ này là **Delitus, Basmati 370, Jasmine 85, 96A-8**, và hai loại hình Basmati có tính chất bổ sung (Linscombe and Famoso 2017; McClung 2018; Marchetti et al. 1998; Sha et al. 2011; CRRF 2018).

Phương pháp đo lường mùi thơm của gạo và cơm dựa trên nền tảng tính trạng mùi thơm (scent-based), bao gồm thử phản ứng gạo với KOH, kể cả phản ứng nghiền lá hoặc mô thân lúa (Sood and Siddiq 1978). Hợp phân tạo mùi thơm, **2-acetyl1-pyrroline (2AP)**, được xác định là yếu tố then chốt quyết định phẩm chất gạo thơm có trong giống lúa thơm (Buttery et al. 1982). Phương pháp định tính 2AP bằng sắc ký khí [GC: gas chromatography] được nhóm nghiên cứu Petrov et al. (1996) thực hiện và phổ biến quy trình. Kết quả tương quan chặt giữa phương pháp GC và phương pháp cảm quan do người ta người (standard human scent technique), chứng minh rằng phương pháp GC chính xác và ít bị chủ quan (Lorieux et al. 1996).

Phương pháp GC được tin cậy cao nhưng kết quả tương đối thấp vì giá thành làm hạn chế thử nghiệm khi số dòng con lai quá lớn trong chương trình cải tiến giống lúa thơm.

Gen lặn chủ lực **fgf** được tìm thấy trong rất nhiều kết quả nghiên cứu có chức năng mã hóa protein 2AP. Gen này định vị trên nhiễm sắc thể 8, giải thích được 69% biến thiên hàm lượng 2AP (Ahn et al. 1992; Lorieux et al. 1996; Chen et al. 2006).

Gen có tính chất kế dưới đó (underlying gene) là gen **BADH2** mã hóa **betaine aldehyde dehydrogenase (BADH2)**. Đột biến chức năng được minh chứng ở đoạn phân tử bị mất **8 bp**, tại **exon số 7** của gen này (Bradbury et al. 2005a).

Chu trình sinh tổng hợp **2AP** bắt đầu với **proline** bị dị hóa thông qua **putrescine** biến thành **γ -amino butyraldehyde (AB-ald)**, một cơ chất của BADH2. Enzyme hoạt tính BADH2 chuyển hóa **AB-ald** thành **γ -aminobutyric acid (GABA)**. Lúa thơm thiếu một enzyme có chức năng BADH2 dẫn đến tích tụ AB-ald. Do tính chất bất hoạt của enzyme này để chuyển hóa AB-ald thành GABA, nên việc tổng hợp 2AP tăng lên từ kết quả tích tụ AB-ald bị acetyl hóa (Bradbury et al. 2008; Chen et al. 2008).

Cho dù có **10 alen** khác nhau đã được người ta báo cáo có liên quan đến tính trạng mùi thơm, nhưng chỉ có phân tử mất đoạn 8-bp là alen ưu thế nhất quyết định sự thể hiện mùi thơm. Phân tử mất đoạn hoặc thiếu đoạn **8-bp (InDel)** xuất hiện trong 93/124 giống lúa thơm khá đa dạng trên thế giới (80%), bao gồm những giống nổi tiếng như KDML105, Basmati, Della, và Jasmine 85 (Kovach et al. 2009).

Sự phát hiện ra **phân tử mất đoạn 8-bp** đã làm dễ dàng hơn cho phát triển chỉ thị phân tử **InDel** được áp dụng vào nghiên cứu di truyền và chọn giống nhờ marker (Bradbury et al. 2005a, b). Một gen đơn điều khiển biến thiên kiểu hình với khối lượng lớn tính trạng mùi thơm; giá thành và kết quả đánh giá kiểu hình không còn là giới hạn cho nhà chọn giống lúa thơm, làm chiến lược MAS trở nên lý tưởng hơn để có giống phục vụ yêu cầu sản xuất. Cùng mục tiêu như vậy, Hoa Kỳ phát triển phương pháp sử dụng chỉ thị SNP để sàng lọc di truyền tập đoàn vật liệu lúa thơm với phương pháp đánh giá kiểu gen theo **KASP**.

Mục tiêu nhằm (1) định tính sự đa dạng của haplotype gen **BADH2** thông qua *O. sativa*; (2) xác định những haplotypes/alen của BADH2 có trong ngân hàng gen lúa Hoa Kỳ; (3) phát triển và minh chứng **SNP-based kompetitive allele** chuyên phục vụ cho xét nghiệm PCR có tên là **KASP (LGC Group 2016)**.

1. Đa dạng haplotype **BADH2** – gen điều khiển mùi thơm hạt gạo.

Mùi thơm là tính trạng phẩm chất hạt gạo quan trọng, được điều khiển bởi sự đột biến gen trong họ gen **BADH2**. Đây là tính trạng có cơ chế di truyền đơn giản, người ta có thể phát triển dòng lúa thơm thông qua sàng lọc di truyền bằng chỉ thị phân tử trong nhiều chương trình cải tiến giống lúa. Đột biến có chức năng mang tính trội (predominant) trong gen **BADH2**, một phân tử indel với kích thước **8-bp**, có thể được tìm thấy bằng xét nghiệm PCR, nhưng xét nghiệm gắn kết với đánh giá kiểu gen (associated genotyping platforms) vẫn chưa đủ để áp dụng di truyền phân tử trên qui mô lớn và nó không có thể tiếp hợp được với kiểu gen ngoài luồng (outsourcing genotyping). Addison et al. (2020) xác định tính đa dạng của bộ chỉ thị SNP phủ trên toàn bộ gen **BADH2** trong một tập đoàn giống lúa bao gồm **2932** mẫu giống, để tìm ra số **haplotypes** của gen thơm này trong *O. sativa*. Người ta sử dụng **297 SNPs** liên quan đến gen đích, người ta tìm thấy **11 haplotype groups**. Sau đó, người ta đã phân lập được một **minimal set** bao gồm 9 chỉ thị SNPs mang tính chất thông tin đáng tin cậy, biểu hiện tính độc nhất vô nhị của những haplotypes của gen **BADH2**. Chín chỉ thị SNPs này được phát triển thành **KASP assays**. Người ta sử dụng chúng để khảo sát tập đoàn giống lúa thơm Hoa Kỳ gồm 369 mẫu giống. Tập đoàn giống này đặc trưng cho giống lúa cao sản có nguồn gốc bố mẹ là lúa thơm bản địa của Hoa Kỳ. Sáu **haplotypes** đã được tìm thấy trong tập đoàn giống lúa Hoa Kỳ, trong đó, hai haplotypes biểu thị tính chất chủ chốt nhất (85%). Một bộ giống đặc trưng gồm 39 dòng lúa từ những nhóm haplotype đã được đánh giá kiểu hình (tính trạng mùi thơm) để phân biệt lúa thơm và lúa không thơm. Một haplotype (**Hap 6**) được ghi nhận là kết hợp hoàn hảo với kiểu hình **gạo thơm**. Chỉ thị **KASP SNP** có tính chất độc nhất đối với **Hap 6** đã minh chứng rằng đây là kỹ thuật phân biệt đáng tin cậy: giữa giống lúa thơm với giống lúa không thơm trong ngân hàng gen lúa Hoa Kỳ (Addison et al. 2020).

2. Vai trò điều tiết của **proline** đối với mùi thơm

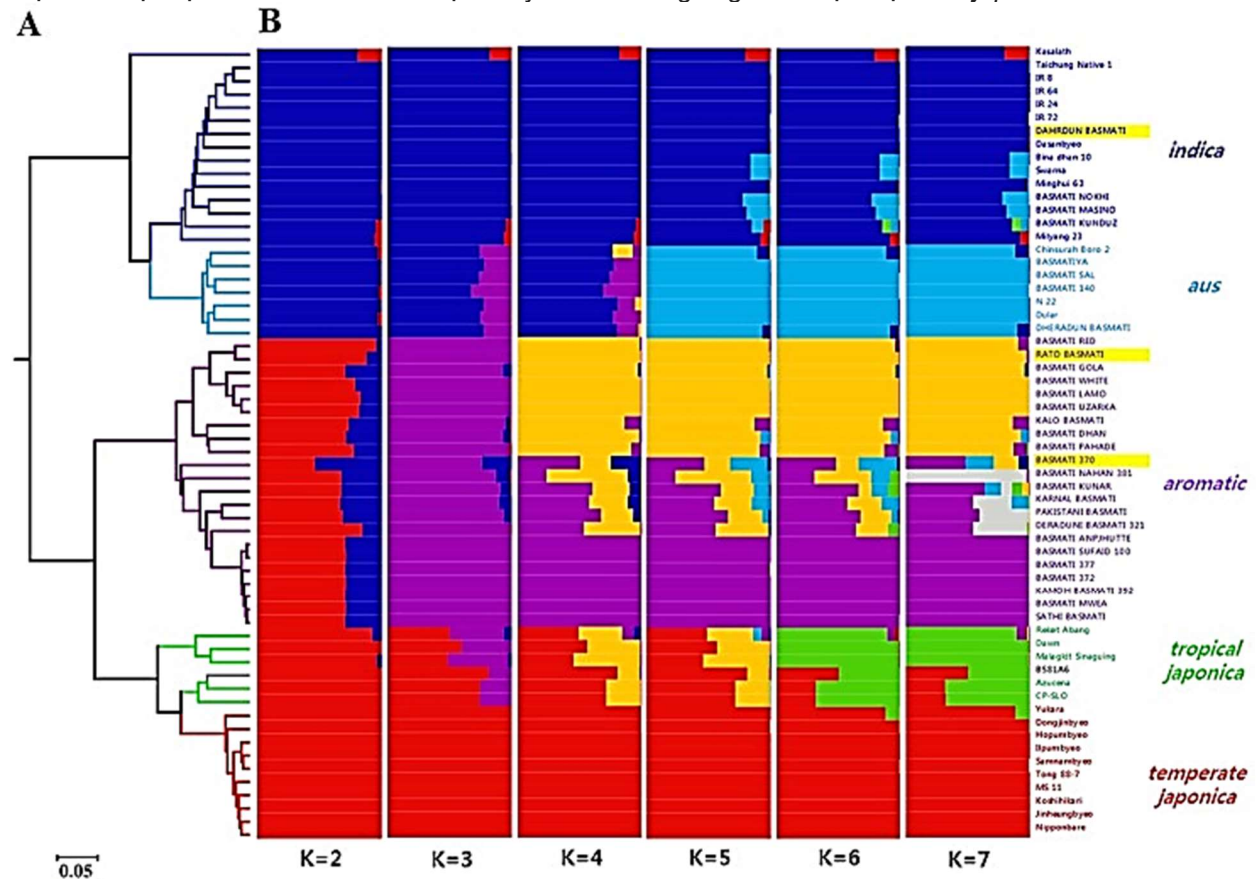
Proline là tiền chất của chu trình sinh tổng hợp 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP), là chìa khóa định tính hợp chất bay hơi có mùi thơm của lúa. Nghiên cứu ảnh hưởng ngoại sinh chất proline trên sinh tổng hợp 2-AP và các tính trạng phẩm chất hạt khác góp phần tạo mùi thơm của gạo, Luo et al. (2020) sử dụng 2 giống lúa thơm indica: "**Meixiangzhan-2**" và "**Xiangyaxiangzhan**", 1 giống lúa thơm japonica: "**Yunjingyou**", để phân tích di truyền. Khi lúa bắt đầu trổ bông, dung dịch proline ở nồng độ 0 (đối chứng), 0,10 (Pro1), 0,20 (Pro2) và 0,50 (Pro3) g L⁻¹ được phun trên lá lúa của các giống khảo nghiệm này. So sánh với nghiệm thức đối chứng, các nghiệm thức Pro1, Pro2 và Pro3 đều gia tăng hàm lượng 2-AP có ý nghĩa. Sự điều tiết để gen thơm biểu hiện theo liều 'up' chịu ảnh hưởng bởi xử lý proline ngoại sinh được quan sát ở nghiệm thức proline, **Δ 1-pyrrolidine-5-carboxylic acid (P5C)** và **Δ 1-pyrroline**, với kết quả hình thành 2-AP. Phun proline làm giảm đáng kể **γ -aminobutyric acid (GABA)**. Bên cạnh đó, nghiệm thức có proline đã làm tăng hoạt tính của **proline dehydrogenase (ProDH)** cũng như mức thể hiện các phân tử transcript của gen **PRODH**. Mặt khác, số phân tử transcript của gen **BADH2** và hoạt tính của **betaine aldehyde dehydrogenase (BADH)** giảm xuống trong nghiệm thức proline. Các nghiệm thức proline (**Pro2** và **Pro3**) còn làm tăng hàm lượng protein trong hạt: 3.57-6.51%. Bên cạnh đó, tỷ lệ gạo bạc bụng giảm xuống: 32.03-34.25%, chỉ số bạc bụng giảm 30.80-48.88% trong nghiệm thức **Pro2** và **Pro3**, giống lúa Meixiangzhan và Xiangyaxiangzhan, trong khi giống Yunjingyou không có ảnh hưởng nào khi phun trên lá

nghiệm thức proline, đến tỷ lệ gạo bạc bụng và chỉ số bạc bụng. Không khác biệt trong phẩm chất xay chà (tỷ lệ gạo lứt, gạo xát trắng, gạo nguyên), hàm lượng amylose giữa đối chứng và nghiệm thức xử lý proline. Xử lý proline ngoại sinh làm tăng sinh tổng hợp 2-AP làm cải tiến gạo thơm hơn của giống lúa thơm (Luo et al. 2020).

3. Di truyền tính trạng mùi thơm của Basmati

Tên gọi Basmati xuất phát từ hai chữ Sanskrit: “Vas” có nghĩa là “aroma” và “matup” có nghĩa là “possessing: sở hữu.” Kết hợp hai chữ này lại với nhau, chúng ta có “Vaasmati,” được người ta đọc trại thành “Basmati” (Siddiq et al. 2012).

Basmati là nhóm giống lúa đặc biệt (*Oryza sativa* L.) vì mùi thơm của nó và phẩm chất gạo thượng hạng, nguồn gốc: chân núi Himalaya (Ấn Độ và Pakistan). Những nghiên cứu di truyền trước đây cho thấy các giống Basmati được xếp vào nhóm lúa *aromatic* (Kishor et al. 2020). Cho dù cố gắng rất nhiều, nhưng quan hệ có tính chất genomic của giống lúa Basmati với các nhóm giống lúa khác; biến thiên hệ gen trong các giống lúa Basmati vẫn chưa được hiểu rõ. Kishor et al. (2020) đã tiến hành kỹ thuật “resequencing” toàn hệ gen cây lúa của 3 giống Basmati bản địa, mật độ phủ: **25X Illumina HiSeq2500**, rồi xây dựng bản đồ di truyền các trình tự DNA nhận biết so với hệ gen tham chiếu của giống lúa Nipponbare (*japonica*), Kasalath (*aus*), và Zhenshan 97 (*indica*). So sánh các trình tự DNA cho thấy những chỉ thị SNP liên kết với gen đích tại vùng mục tiêu của ba giống lúa Basmati. Phân tích SNPs cho thấy các giống Basmati biểu hiện trình tự loại hình *aus* ít có biến dị di truyền hơn các giống lúa thuộc loại hình *japonica* và *indica*.



Hình 1: Phân tích đa dạng di truyền 60 giống lúa thông qua 190 chỉ thị SNPs. (A) UPGMA dendrogram. Nhánh biểu hiện màu sắc tùy vào kết quả đánh giá subpopulation; trên cơ sở $K = 6$, ngoại trừ nhóm lúa *aromatic*, $K = 3$. Nhánh màu xám biểu thị sự pha trộn (admixture). (B) Phân tích kiến trúc quần thể bằng phần mềm STRUCTURE với các giá trị K biến thiên từ 2 đến 7. Ba giống lúa được phân tích genome có màu vàng (Kishor et al. 2020).

Về tin sinh học, phân tích độ phong phú của **GO (gene ontology)**: mức độ biểu hiện của gen và sản phẩm gen góp phần khẳng định bản chất nhóm) cho thấy rằng: SNPs có trong những gen đích với nhiều chức năng về sinh học, phân tử và tế bào. Hơn nữa, kết quả giải thích phần mềm annotation của chùm gen đột biến Basmati được chia sẻ bởi Nipponbare, Kasalath, và Zhenshan 97 cho thấy: mối quan

hệ với tiến trình biến dưỡng, bao gồm hợp chất tạo mùi thơm ở mức độ tế bào, chỉ ra tính trạng thơm (aroma) là đặc điểm quan trọng của hệ gen các giống lúa Basmati. Người ta phân loại 30 giống lúa Basmati truyền thống chia ra thành 3 nhóm di truyền khác nhau: *aromatic* (22 giống), *aus* (4 giống), và *indica* (4 giống), trên cơ sở chạy 'genome-wide SNPs'. Tất cả 22 giống Basmati *aromatic* mang alen ***Badh2*** có chức năng kích hoạt tính trạng mùi thơm. Người ta tiếp tục hoàn thiện phân tích 13 tính trạng nông học chủ chốt và tính trạng phẩm chất hạt của giống lúa Basmati và những giống lúa khác. Ba tính trạng được chú ý là: tỷ lệ hạt dài/rộng [L/l ratio], chiều dài bông (PL), hàm lượng amylose (AC) đều có khác biệt ý nghĩa giữa lúa thơm (*aromatic*) và lúa không thơm (*indica/aus*) ($P < 0.05$ và $P < 0.01$). Phân tích so sánh cấu trúc genome, trên cơ sở biến thể các đoạn trên hệ gen và phân tích GO, kết quả cho thấy hệ gen giống Basmati được dẫn xuất chủ yếu từ loại hình *aus* và *japonica*. Cơ sở dữ liệu 'whole-genome sequence' và thông tin về đa dạng di truyền có từ kết quả thí nghiệm này sẽ là nguồn tư liệu quan trọng phục vụ chọn giống theo nền khoa học phân tử và phục vụ phân tích di truyền các giống lúa Basmati (Kishor et al. 2020).

4. ***OsBADH2*** – alen mới được chỉnh sửa nhờ CRISPR-Cas9

Mùi thơm của hạt gạo là tính trạng phẩm chất hạt quan trọng khẳng định sự chấp nhận của thị trường thế giới. Công trình khoa học nghiên cứu tính trạng aroma cây lúa vô cùng đồ sộ, kết quả đã xác định những thể đột biến của **betaine aldehyde dehydrogenase (*OsBADH2*)** dẫn đến mùi thơm của lúa. Công nghệ chỉnh sửa hệ gen thông qua hệ thống CRISPR/Cas9 đã mở ra con đường mới, thúc đẩy cải tiến giống lúa có phẩm chất gạo mong muốn thông qua đột biến có chủ đích. Ashokkumar et al. (2020) đã tiến hành sử dụng CRISPR/Cas9 để sáng tạo ra alen mới có tên là ***OsBADH2*** du nhập tính trạng thơm vào giống lúa cao sản không thơm **ASD16**. Phân tích PCR những cây transformants giả định nhờ những cặp mồi đánh dấu đích đến những vùng kề cận phân tử **sgRNA** tại exon thứ 7 của gen ***OsBADH2***, kết quả xác định được 37.5% đột biến đa alen có tiềm năng ở thế hệ T_0 . Trắc nghiệm mùi thơm lá lúa của dòng T_0 cho thấy có 13 dòng thuộc 5 sự kiện độc lập sản sinh ra mùi thơm. Phân tích trình tự gen của những dòng lúa thơm T_0 này cho thấy người ta xác định được 22 loại hình đột biến khác nhau định vị tại -17 bp đến +15bp của vùng **sgRNA**. Phân tử mất đoạn -1/-2 bp của dòng lúa # 8-19 và phân tử mất đoạn -8/-5 bp của dòng lúa # 2-16 biểu thị có mùi thơm rất mạnh, kiểu hình này được di truyền ổn định sang thế hệ T_1 . Phổ thể hiện mang tính chất so sánh tính trạng mùi thơm để bay hơi này cho kết quả tìm thấy được hợp chất *aromatic* mới *viz.*, **pyrrolidine, pyridine, pyrazine, pyradazine** và **pyroazole** trong hạt gạo cây T_1 - dòng lúa # 8-19. Người ta chứng minh được CRISPR/Cas9 có khả năng tạo ra alen mới của gen ***OsBADH2*** điều khiển mùi thơm của bất cứ giống lúa không thơm nào đó (Ashokkumar et al. 2020).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahn SN, Bollich CN, Tanksley SD. 1992. RFLP tagging of a gene for aroma in rice. Theor Appl Genet. 84(7–8):825–828. doi: 10.1007/BF00227391.
- Annex. 2011. Business process analysis of the export of jasmine rice from thailand to the United States. Buiness Process Anal. Guid. to Simpl. Trade Proced. pp. 1–68.
- Ashokkumar S, Jaganathan D, Ramanathan V, Rahman H, Palaniswamy K, Kambale R, Muthurajan R. 2020. Creation of novel alleles of fragrance gene *OsBADH2* in rice through CRISPR/Cas9 mediated gene editing. Plos One 15(8):e0237018.
- Baldwin K, Childs N. 2018. USDA Rice Outlook. USDA Rice Outlook.
- Bradbury LMT, Fitzgerald TL, Henry RJ, Jin Q, Waters DLE. 2005a. The gene for fragrance in rice. Plant Biotechnol J. 3(3):363–370.
- Bradbury LMT, Gillies SA, Brushett DJ, Waters DLE, Henry RJ. 2008. Inactivation of an aminoaldehyde dehydrogenase is responsible for fragrance in rice. Plant Mol Biol. 68(4–5):439–449.
- Bradbury LMT, Henry RJ, Jin Q, Reinke RF, Waters DLE. 2005b. A perfect marker for fragrance genotyping in rice. Mol Breed. 16(4):279–283.
- Buttery RG, Ling LC, Juliano BO. 1982. 2-acetyl-1-pyrroline: an important aroma component of cooked rice. Chem Ind 23:958–959.
- Cai HW, Morishima H. 2002. QTL clusters reflect character associations in wild and cultivated rice. Theor Appl Genet. 104(8):1217–1228.
- CCRRF. 2018. Varieties and Seed. Calif. Coop. Rice Res. Found. Exp. Stn. 2018.
- Chen S, Wu J, Yang Y, Shi W, Xu M. 2006. The *fgf* gene responsible for rice fragrance was restricted within 69 kb. Plant Sci. 171(4):505–514.

- Chen S, Yang Y, Shi W, Ji Q, He F, et al. 2008. *Badh2*, encoding betaine aldehyde dehydrogenase, inhibits the biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline, a major component in rice fragrance. *Plant Cell Online*. 20(7):1850–1861.
- Christopher K Addison, Brijesh Angira, Manoch Kongchum, Dustin L Harrell, Niranjan Baisakh, Steven D Linscombe, Adam N Famoso. 2020. Characterization of Haplotype Diversity in the *BADH2* Aroma Gene and Development of a KASP SNP Assay for Predicting Aroma in U.S. Rice. *Rice* (N.Y.) 2020 Jul 14;13(1):47.
- Civán P, Craig H, Cox CJ, Brown TA. 2015. Three geographically separate domestications of Asian rice. *Nat Plants*. 1(November):1–5.
- Garris AJ, Tai TH, Coburn J, Kresovich S, McCouch S. 2005. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics*. 169(3):1631–1638.
- Giraud G. 2013. The World Market of Fragrant Rice, Main Issues and Perspectives The Present Market of Fragrant Rice. *Int Food Agribus Manag Rev* 16(2):1–20.
- Glaszmann JC. 1987. Isozymes and classification of Asian rice varieties. *Theor Appl Genet*. 74(1):21–30.
- Kishor DS, Seo J, Chin JH, Koh HJ. 2020. Evaluation of Whole-Genome Sequence, Genetic Diversity, and Agronomic Traits of Basmati Rice (*Oryza sativa* L.). *Front. Genet*. 11:86.
- Kovach MJ, Calingacion MN, Fitzgerald MA, McCouch SR. 2009. The origin and evolution of fragrance in rice (*Oryza sativa* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci*. 106(34):14444–14,449.
- Kovach MJ, Sweeney MT, McCouch SR. 2007. New insights into the history of rice domestication. *Trends Genet*. 23(11):578–587.
- LGC Group. 2016. SNPLINE genotyping automation.
- Linscombe SD, Sha X, Bond JA, Bearb K, Rush MC, et al. 2006. Registration of ‘Trenasse’ Rice. *Crop Sci*. 2006;46(5):2318. doi: 10.2135/cropsci2006.03.0208.
- Lorieux M, Petrov M, Huang N, Guiderdoni E, Ghesquière A. 1996. Aroma in rice: genetic analysis of a quantitative trait. *Theor Appl Genet*. 93(7):1145–1151.
- Lu H, Redus MA, Coburn JR, Rutger JN, McCouch SR, et al. 2005. Population structure and breeding patterns of 145 U.S. rice cultivars based on SSR marker analysis. *Crop Sci*. 45(1):66–76.
- Luo H, Zhang T, Zheng A, He L, Lai R, Liu J, Xing P, Tang X. 2020. Exogenous proline induces regulation in 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) biosynthesis and quality characters in fragrant rice (*Oryza sativa* L.). *Sci. Rep*. 10(1):13971.
- Ma J, Bennetzen JL. 2004. Rapid recent growth and divergence of rice nuclear genomes. *Proc Natl Acad Sci*. 101(34):12404–12,410.
- Mahajan G, Matloob A, Singh R. 2018. Basmati Rice in the Indian Subcontinent: Strategies to Boost Production and Quality Traits. *Advances in Agronomy*. Elsevier Ltd, pp 159–213.
- Marchetti MA, Bollich CN, Webb BD, Jackson BR, McClung AM et al. 1998. Registration of “Jasmine 85” Rice. *Crop Sci* (38):896
- McClung AM. 2018. New Rice Varieties. United States Dep. Agric. - Agric. Res. Serv.
- McCouch SR, Wright MH, Tung CW, Maron LG, McNally KL et al. 2016. Open access resources for genome-wide association mapping in rice. *Nat Commun* 7. 10.1038/ncomms10532
- Muthayya S, Sugimoto JD, Montgomery S, Maberly GF. 2014. An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. pp. 7–14.
- Petrov M, Danzart M, Giampaoli P, Faure J, Richard H. 1996. Rice aroma analysis: discrimination between a scented and a non-scented rice. *Sci Aliments* (16):347–360
- Sha XY, Linscombe SD, Groth DE, Harrell DL, White LM, et al. 2011. Registration of ‘Jazzman’ Aromatic Long-Grain Rice. *J Plant Regist*. 5(3):304–308.
- Siddiq EA, Vemireddy LR, Nagaraju J. 2012. Basmati rices: genetics, breeding and trade. *Agric. Res*. 1 (1):25–36.
- Sood BC, Siddiq EA. 1978. A rapid technique for scent determination in rice. *Indian J Genet Plant Breed*. 38(2):151–275.
- Sweeney M, McCouch S. 2007. The complex history of the domestication of rice. *Ann Bot*. 100(5):951–957.
- Vitte C, Ishii T, Lamy F, Brar D, Panaud O. 2004. Genomic paleontology provides evidence for two distinct origins of Asian rice (*Oryza sativa* L.) *Mol Genet Genomics*. 272(5):504–511.
- Zhao K, Tung CW, Eizenga GC, Wright MH, Ali ML, et al. 2011. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. *Nat Commun*. 2(1):1–10.