

TỔNG QUAN GIÁ TRỊ GI (GLYCEMIC INDEX) CỦA GẠO

BÙI CHÍ BỬU

Ngày 26 tháng 5 năm 2021

Lúa gạo được xem là loài cây lương thực có giá trị GI (glycemic index) cao. Tuy nhiên, điều này còn tùy thuộc vào giống lúa, kết hợp với những yếu tố về thành phần hóa học tinh bột, quy trình chế biến. Người ta dùng cơm làm lương thực căn bản hàng ngày, do vậy, sự nhập vào cơ thể một lượng glycemic khá lớn cho cư dân ăn cơm trên thế giới đang gấp phải vấn đề về sự điều tiết của insulin. Giống lúa có giá trị GI thấp là mục tiêu săn tìm của nhà chọn giống hiện nay (Kaur et al. 2016). Người Á Châu tiêu thụ số lượng gạo rất lớn hàng ngày, lượng glycaemic có khả năng tiêu hóa được nhập vào cơ thể là đặc điểm phải xem xét. Chỉ số phản ánh hàm lượng glucose tăng cấp tính trong máu (acute blood glucose-raising) đã được nghiên cứu. Mức độ cao hơn bình thường của **glycaemic** xảy ra ngay sau bữa cơm dẫn đến bệnh tiểu đường mạn tính, đặc biệt là tiểu đường type 2 hội chứng **Mellitus** và **CVD** (Blaak et al. 2012). Có sự tương quan rất rõ giữa ăn nhiều cơm gạo trắng kèm theo rủi ro của bệnh tiểu đường type 2, mang hội chứng Mellitus, rủi ro xảy ra cho người châu Á nhiều hơn người châu Âu (Hu et al. 2012; Neal 2012). Tiến trình xay chà gạo có ảnh hưởng rất rõ trong các nghiệm thức so sánh thời gian nấu chín cơm, với gạo lứt thường cho PPG (postprandial glucose: glucose nagy sau khi ăn) và PPI (postprandial insulin: insulin ngay sau khi ăn) thấp hơn gạo chà quá trắng (Boers et al. 2015).

Atkinson et al. (2008) đã liệt kê giá trị GI của hơn 2.480 mẫu thực phẩm. Sản phẩm từ sữa, rau đậu, và trái cây được xem là thực phẩm có GI thấp. Bánh mì, ngũ cốc phục vụ ăn sáng, và cơm bao gồm cơm hạt nguyên, đều có hai khả năng: GI cao và GI thấp. Hệ số tương quan của 20 thực phẩm quan trọng được xét nghiệm với bệnh tiểu đường là tương quan thuận với GI, hệ số tương quan $r = 0.94$ ($P < 0.001$).

Bảng 1: Giá trị GI của thực phẩm thông thường (Atkinson et al. 2008)

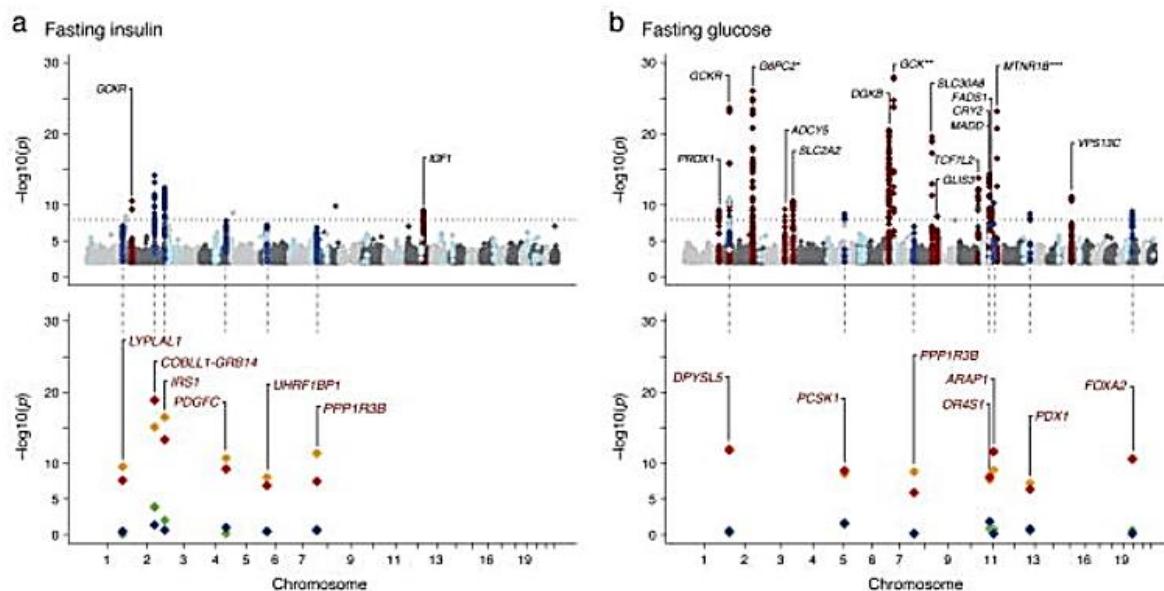
Table 1—The average GI of 62 common foods derived from multiple studies by different laboratories

High-carbohydrate foods		Breakfast cereals		Fruit and fruit products		Vegetables	
White wheat bread*	75 ± 2	Comflakes	81 ± 6	Apple, raw†	36 ± 2	Potato, boiled	78 ± 4
Whole wheat/whole meal bread	74 ± 2	Wheat flake biscuits	69 ± 2	Orange, raw†	43 ± 3	Potato, instant mash	87 ± 3
Specialty grain bread	53 ± 2	Porridge, rolled oats	55 ± 2	Banana, raw†	51 ± 3	Potato, french fries	63 ± 5
Unleavened wheat bread	70 ± 5	Instant oat porridge	79 ± 3	Pineapple, raw	59 ± 8	Carrots, boiled	39 ± 4
Wheat roti	62 ± 3	Rice porridge/congee	78 ± 9	Mango, raw†	51 ± 5	Sweet potato, boiled	63 ± 6
Chapatti	52 ± 4	Millet porridge	67 ± 5	Watermelon, raw	76 ± 4	Pumpkin, boiled	64 ± 7
Corn tortilla	46 ± 4	Muesli	57 ± 2	Dates, raw	42 ± 4	Plantain/green banana	55 ± 6
White rice, boiled*	73 ± 4			Peaches, canned†	43 ± 5	Taro, boiled	53 ± 2
Brown rice, boiled	68 ± 4			Strawberry jam/jelly	49 ± 3	Vegetable soup	48 ± 5
Barley	28 ± 2			Apple juice	41 ± 2		
Sweet corn	52 ± 5			Orange juice	50 ± 2		
Spaghetti, white	49 ± 2						
Spaghetti, whole meal	48 ± 5						
Rice noodle†	53 ± 7						
Udon noodles	55 ± 7						
Couscous†	65 ± 4						
Dairy products and alternatives		Legumes		Snack products		Sugars	
Milk, full fat	39 ± 3	Chickpeas	28 ± 9	Chocolate	40 ± 3	Fructose	15 ± 4
Milk, skim	37 ± 4	Kidney beans	24 ± 4	Popcorn	65 ± 5	Sucrose	65 ± 4
Ice cream	51 ± 3	Lentils	32 ± 5	Potato crisps	56 ± 3	Glucose	103 ± 3
Yogurt, fruit	41 ± 2	Soya beans	16 ± 1	Soft drink/soda	59 ± 3	Honey	61 ± 3
Soy milk	34 ± 4			Rice crackers/crisps	87 ± 2		
Rice milk	86 ± 7						

Data are means ± SEM. *Low-GI varieties were also identified. †Average of all available data.

DI TRUYỀN

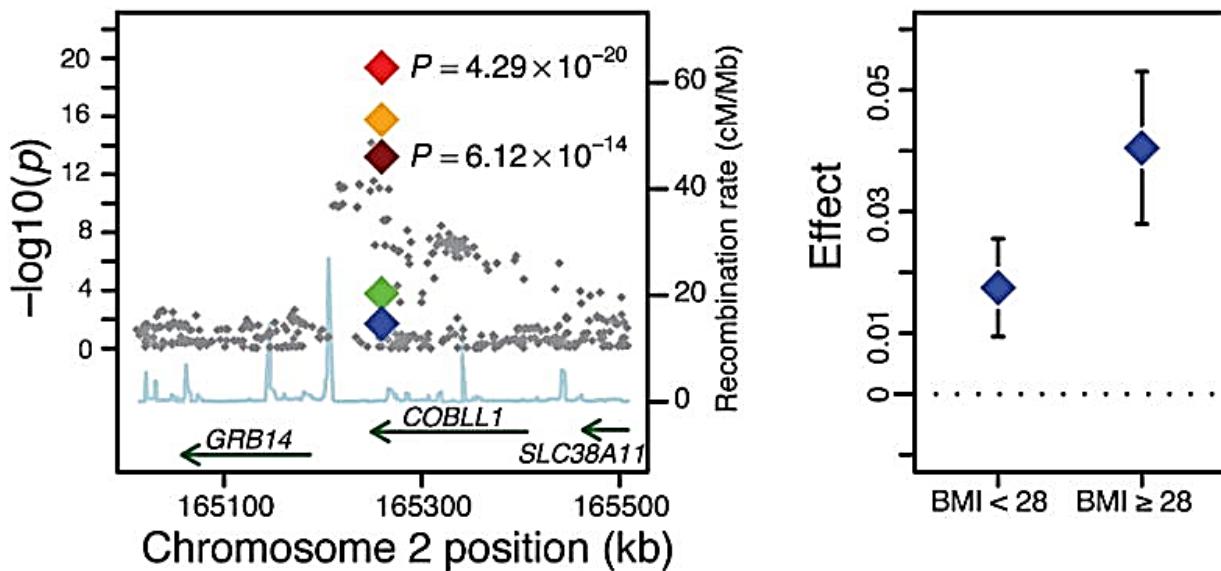
Công trình đồ sộ của Manning và hàng trăm tác giả cùng đứng tên về “sử dụng GWAS để phân lập các loci liên quan di truyền” điều khiển sự phát sinh bệnh tiêu đường **T2D** (type 2 diabetes) và chức năng lỗi của tế bào beta (beta-cell dysfunction). Sự kiện ấy đã làm rõ bản chất di truyền của phản ứng kháng lại insulin như thế nào (insulin resistance) (Manning et al. 2012). Người ta giả định rằng các gen có trong chu trình kháng insulin đã không tái lập lại, bởi tỷ lệ khác biệt của BMI (body mass index) và tương tác giữa BMI với các biến thể di truyền vô cùng phức tạp.



Hình 1: Biểu đồ chạy với phần mềm JMA (joint meta-analysis) đối với tính trạng **fasting insulin** (1a top) và **fasting glucose** (1b top): 17 loci được quan sát (màu đỏ) và 50 loci được phân tích tiếp sau đó (màu xanh lơ nhạt và đậm). Trong số đó, 12 có ý nghĩa thống kê trong GWAS theo kết quả phát hiện sự phối hợp và theo sau là JMA (xanh lơ đậm). Giá trị P của 12 loci này theo mô phỏng toán học số lượng: JMA (đỏ), ảnh hưởng chính điều khiển BMI (vàng cam), tương tác với BMI có tính liên tục (xanh lá cây), tương tác với dichotomous BMI (xanh lơ). * *G6PC2* JMA P value: 1.7×10^{-113} , ** *GCK* JMA P value: 8.3×10^{-56} , *** *MTNR1B* JMA P value: 4.38×10^{-105} (Manning et al. 2012).

Công trình của nhà khoa học **Sreenivasulu** tại IRRI phối hợp với đồng nghiệp (Guzman et al. 2017) tập trung vào ngân hàng gen cây lúa, nhằm xác định mẫu giống có GI thấp. Dòng lúa có tính trạng tiêu hóa tinh bột chậm (**slower starch digestibility**) là cơ hội tốt để giảm thiểu số bệnh nhân tiêu đường type II và những bệnh do biến chứng của tiêu đường. Tuy nhiên, việc sàng lọc di truyền GI thấp (low glycemic index) trong chương trình cải tiến giống lúa chưa thể tiến hành hoàn chỉnh, vì phải đầu tư nhiều thời gian và kinh phí nghiên cứu. Người ta tiến hành đánh giá khả năng sử dụng *in vitro* để thủy phân glucose hạt cơm, khả năng hoạt hóa của tinh bột trong quá trình hạt nảy mầm, và biến thiên di truyền của cấu trúc tinh bột cũng như thành phần hợp chất của hạt trưởng thành để tách biệt những điểm khác nhau của tính trạng tiêu hóa tinh bột (Guzman et al. 2017).

COBLL1-GRB14 (rs7607980)



Hình 2: Vị trí của locus *COBLL1-GRB14* trong hệ gen người (Manning et al. 2012).

Những thành phần để vận hành tinh bột (starch mobilization), tính trạng “resistant starch”, chuỗi phân tử amylose và amylopectin, tinh thể đường tự do trong khi hạt nẩy mầm cho thấy tiến trình ấy rất giống với khả năng tiêu hóa trong ruột non và dạ dày của người (human gastrointestinal). Sự kết hợp của những chỉ thị sinh hóa ấy có thể được người ta sử dụng như một phương pháp nghiên cứu luân phiên nhau, để dự đoán được giá trị GI.Thêm vào đó, người ta tiến hành phân tích hệ transcriptome của phân tử “**stored mRNA transcripts**” của những dòng lúa có giá trị GI thấp. Kết quả có khác biệt về biến dưỡng tinh bột. Người ta xác định được tầm quan trọng của những chu trình dự trữ chất biến dưỡng trong hạt ảnh hưởng đến khả năng tiêu hóa. Phân tích tiến trình ấy được sự trợ giúp tích cực của cơ sở dữ liệu “hệ biến dưỡng” (metabolomics data). Kết quả cho thấy: “resistant starch”, polysaccharides không phải là tinh bột ở thành tế bào, những flavonoids; chúng đã góp phần đáng kể vào khả năng tiêu hóa chậm như vậy. Những kiến thức mới này có thể dẫn chúng ta đi đến kế hoạch cải tiến giống lúa như thế nào để có dòng lúa đạt giá trị GI thấp, đáp ứng yêu cầu phẩm chất dinh dưỡng cho con người, nhằm giảm thiểu bệnh gây ra bởi thức ăn (de Guzman et al. 2017).

Thế giới đang đối diện với cái chết bởi những bệnh tật mà mình không biết **NCDs** (non-communicable diseases) như đái tháo đường kiệu mellitus (diabetes mellitus), béo phì (obesity) và bệnh do tim mạch (cardiovascular ailments). Tổ chức sức khỏe thế giới dự đoán có 630 triệu người ở các quốc gia đã phát triển và đang phát triển, đều có xu hướng mắc bệnh tiểu đường (diabetes) gia tăng vào năm 2030 (World Health Organization 2016). Béo phì đã và đang gia tăng gấp hai lần trên thế giới, ảnh hưởng chủ yếu vào dân số trẻ (Misra et al. 2010). Năm 2015, 31% bệnh nhân chết bởi các bệnh liên quan đến tim mạch (World Health Organization 2015). Nó là nguyên nhân dẫn tới cái chết trên toàn cầu. Thống kê sức khỏe đang báo động vào thực phẩm ăn uống hàng ngày của chúng ta. Do đó, các chương trình cải tiến giống cây trồng đang được xem xét lại với mong muốn làm đa dạng hóa khả năng tiêu hóa các sản phẩm tinh bột trong thức ăn. Ví dụ, mè cốc tinh bột là thức ăn chính của con người có khả năng tiêu hóa chậm (slowly digestible) sẽ là mục tiêu phát triển, nâng cao tỷ lệ **amylose : RS** (resistant starch). Resistant starch là gì? Resistant starch là một carbohydrate kháng tiêu hóa trong ruột non và kháng lên men trong ruột già. Đây là

một kết quả làm tăng tỷ lệ amylose hoặc tăng chuỗi phân tử dài amylopectin, để làm giảm phản ứng glycemic (Butardo et al. 2011, 2012; Dhital et al. 2015; Butardo et al. 2017).

Glycemic index (GI) được định nghĩa là lĩnh vực thuộc về phản ứng glucose trong máu, đo được sau hai giờ, khi số lượng carbohydrate được cố định, được tiêu thụ bởi người, so với nghiệm thức thực phẩm đối chứng, đó là bánh mì trắng hoặc dung dịch glucose chuẩn (Jenkins et al. 1981). Đây là chỉ thị chẩn đoán chuẩn khi định tính thực phẩm có tinh bột, và khi đánh giá phẩm chất carbohydrate trong thức ăn (Atkinson et al. 2008). GI chịu ảnh hưởng bởi cấu trúc và thành phần của tinh bột (Butterworth et al. 2012). Phương pháp đáng tin cậy nhất và được chấp nhận nhiều nhất là đo giá trị GI *in vivo* với những xét nghiệm y sinh trên người tình nguyện. Tuy nhiên, cách tiếp cận này rất mắc tiền và bị ảnh hưởng nặng nề bởi yếu tố di truyền, sinh lý và trạng thái biến đổi của người tình nguyện. Biến thiên trong phương pháp xác định giá trị GI của nhiều phòng thí nghiệm hiện nay khá phức tạp (Matthan et al. 2016; Vega-López et al. 2007, Venn và Green 2007). Phương pháp dựa vào kết quả xác định *in vitro* của GI đã được phát triển (Woolnough et al. 2008) nhận được sự chấp nhận đại chúng. Phương pháp này sử dụng sự thủy phân của enzyme bắt chước giống như khả năng tiêu hóa tinh bột của người (Dona et al. 2010).

Sự phân giải tinh bột trong hệ tiêu hóa người bao gồm rất nhiều bước có liên quan mật thiết với nhau, giống như sự phát triển của “*in vitro simulation*” (mô phỏng *in vitro*) còn nhiều thách thức. Đầu tiên, tinh bột bị phá gãy bởi sự thay đổi cơ học khi người ta nhai cơm. Tiếp theo sau là cơm trộn lẫn vào nước bọt chứa α -amylases trong miếng (Strocchi và Levitt 1991; Juliano 1985). Tiến trình áy tiếp tục đi vào dạ dày và ruột non. Nơi đó, **pancreatic α -amylase** phân giải tinh bột thành những **oligosaccharides** để chuyển hóa thành phân tử glucose, nhờ hoạt động của các men **maltase, isomaltase** và **glucoamylase**. Nếu sự tiêu hóa này chậm vừa đủ mà tinh bột có thể duy trì cho đến hết đoạn ruột non, vật chất còn thừa lại được xem như là **RS** (resistant starch). Vật chất RS này đi vào ruột già, nơi đó, chúng bị lên men theo cách thức giống nhau, cho ra những chất xoáy lợi ích cho sức khỏe hệ ruột (gut health) (Nugent 2005; Sajilata et al. 2006; Topping 2007).

Những hệ thống *in vitro* có tính chất tự động hóa như vậy, bắt chước hệ tiêu hóa trong ống tiêu hóa người. Người ta áp dụng mô phỏng áy để phân tích GI (Woolnough et al. 2008; Hur et al. 2011), nhưng hiệu quả thấp. Điều thú vị là tiêu hóa tinh bột trong động vật có thể so sánh với quá trình vận động tinh bột trong hạt nẩy mầm của thực vật. Giai đoạn hạt nẩy mầm, dự trữ tinh bột trong hạt xảy. Tinh bột được vận hành bởi hệ men **endohydrolases, glucosidases**. Chúng tác động trên những liên kết α -1,4 glucan của amylose, để giải phóng ra phân tử đường đơn (Bewley et al. 2013). Trong trường hợp amylopectin, một enzyme có tính chất bổ sung, rất chuyên biệt để cắt α -1,6 (gọi là **debranching enzyme**) rất cần cho kết quả phóng thích glucose từ maltodextrins (Murata et al. 1968). Về mặt so sánh, những enzymes có tính chất hoạt tính mạnh với carbohydrate được sử dụng làm đứt gãy tinh bột, trong xét nghiệm *in vivo* hoặc *in vitro*, để đo giá trị của GI. Phân giải amylose (amylolysis) của những hạt tinh bột trong giai đoạn hạt nẩy mầm là con đường biến đổi chính đối với việc sử dụng tinh bột trong nội nhũ. Cao điểm của đứt gãy tinh bột trong hạt nẩy mầm xảy ra sau 4 ngày hạt hút nước và ôxy, đi liền với hoạt động của men α -amylase gia tăng (Murata 1968). Hoạt động phối hợp của các α -amylases, enzymes cắt nhánh và α -glucosidases dẫn đến kết quả phóng thích glucose, rồi chuyển hóa thành sucrose trong mô scutellum, vận chuyển vật liệu này đến phôi mầm, làm kích hoạt hạt nẩy mầm và giúp tăng trưởng thân mầm, rễ mầm (Nomura và Kono 1969). Nhờ xét nghiệm hạt nẩy mầm chi tiết, người ta dự đoán được khả năng tiêu hóa của hạt, sự phân giải amylose *in vitro*.

Nhóm nghiên cứu của de Guzman et al. (2017) đã phân lập được giá trị GI của 27 giống lúa khác nhau, bao gồm một dòng đột biến IR36 có hàm lượng amylose cao được gọi là **IR36 amylose extender** (viết tắt là **IR36ae**) (Fitzgerald et al. 2011; Butardo et al. 2011). Năm giống lúa tuy

chọn có hàm lượng khác nhau về phản ứng của GI. Tỷ lệ tinh bột tổng số, RS, amylose và amylopectin được đo đến trong hạt thóc trưởng thành, tại những thời điểm khác nhau, nhằm xem xét sự vận hành của tinh bột (starch mobilization patterns) khi hạt nẩy mầm. Người ta áp dụng phương pháp **genome-wide transcriptome** và phân tích **metabolome** trên mẫu hạt của giống lúa có giá trị GI thấp, trung bình và cao (de Guzman et al. 2017).

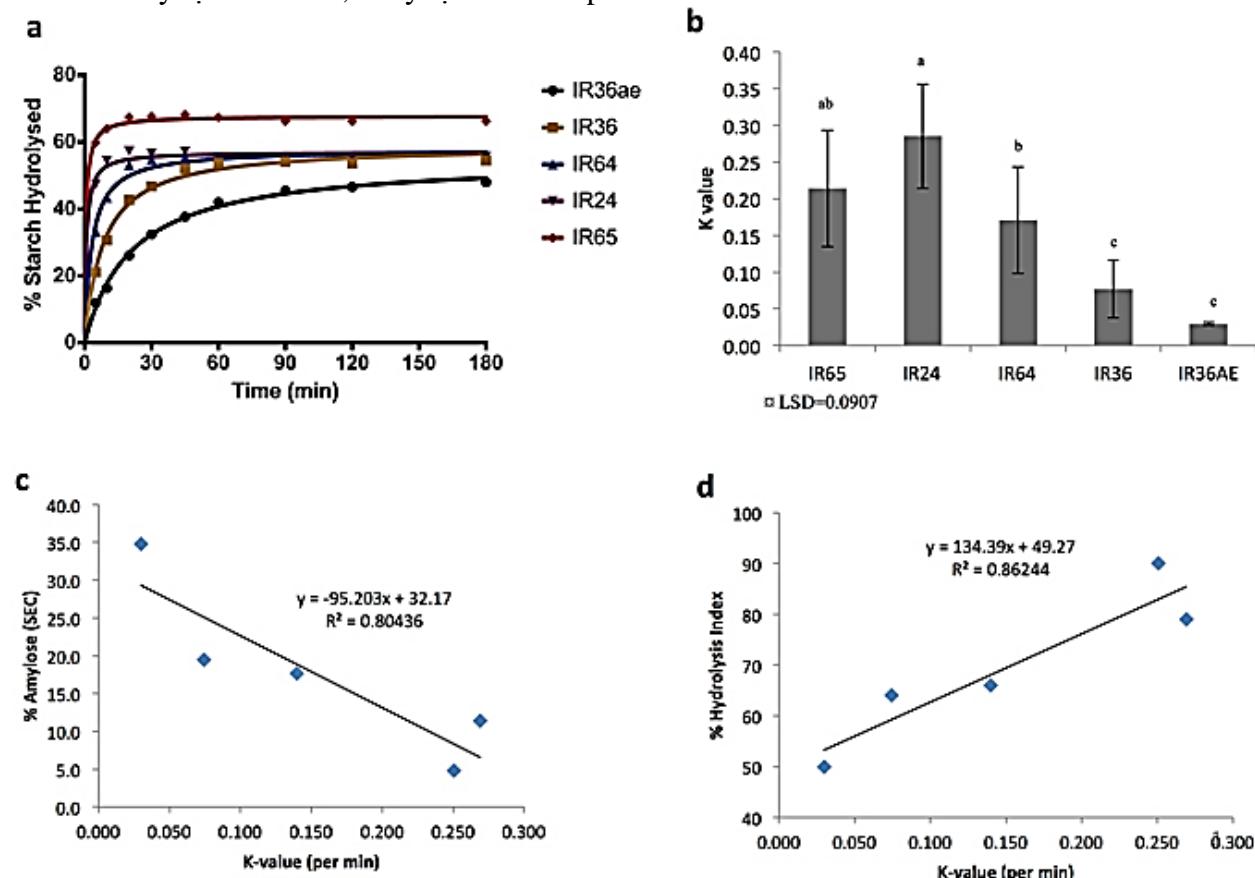
IR36ae (đối chứng) có mức độ amylose và RS cao nhất; có giá trị GI thấp nhất.

Tương quan giữa GI với thành phần tinh bột được phản ánh thông qua % **amylose 1 (AM1)**, amylose có chuỗi phân tử dài), **amylose 2 (AM2)**, amylopectin có chuỗi phân tử dài như amylose), **medium chain amylopectin (MCAP)** và **short chain amylopectin (SCAP)**.

Kết quả hệ số tương quan giữa GI với AM1 ($R = -0.67$) và AM2 ($R = -0.62$). Mặt khác, **SCAP fraction** có tương quan thuận với GI, hệ số tương quan là 0,63.

MCAP có tương quan thấp với GI, hệ số tương quan không có ý nghĩa về thống kê.

Như vậy, mức độ AM1 và AM2 càng cao càng làm giảm giá trị GI. Giống lúa có GI thấp nhất là IR36ae có tỷ lệ cao AM1, có tỷ lệ SCAP thấp nhất.



Hình 3: Động thái tiêu hóa của năm dòng lúa tương phản nhau. (a) *In vitro* starch digestion bơi hạt cơm có amylose bị phân giải (b) “digestion rate” ổn định như một hằng số (*k value*) theo phép tính LOS (logarithm of slope). Động thái tiêu hóa tinh bột được mô phỏng bằng *k value* với (c) % amylose và (d) giá trị GI dự báo (de Guzman et al. 2017).

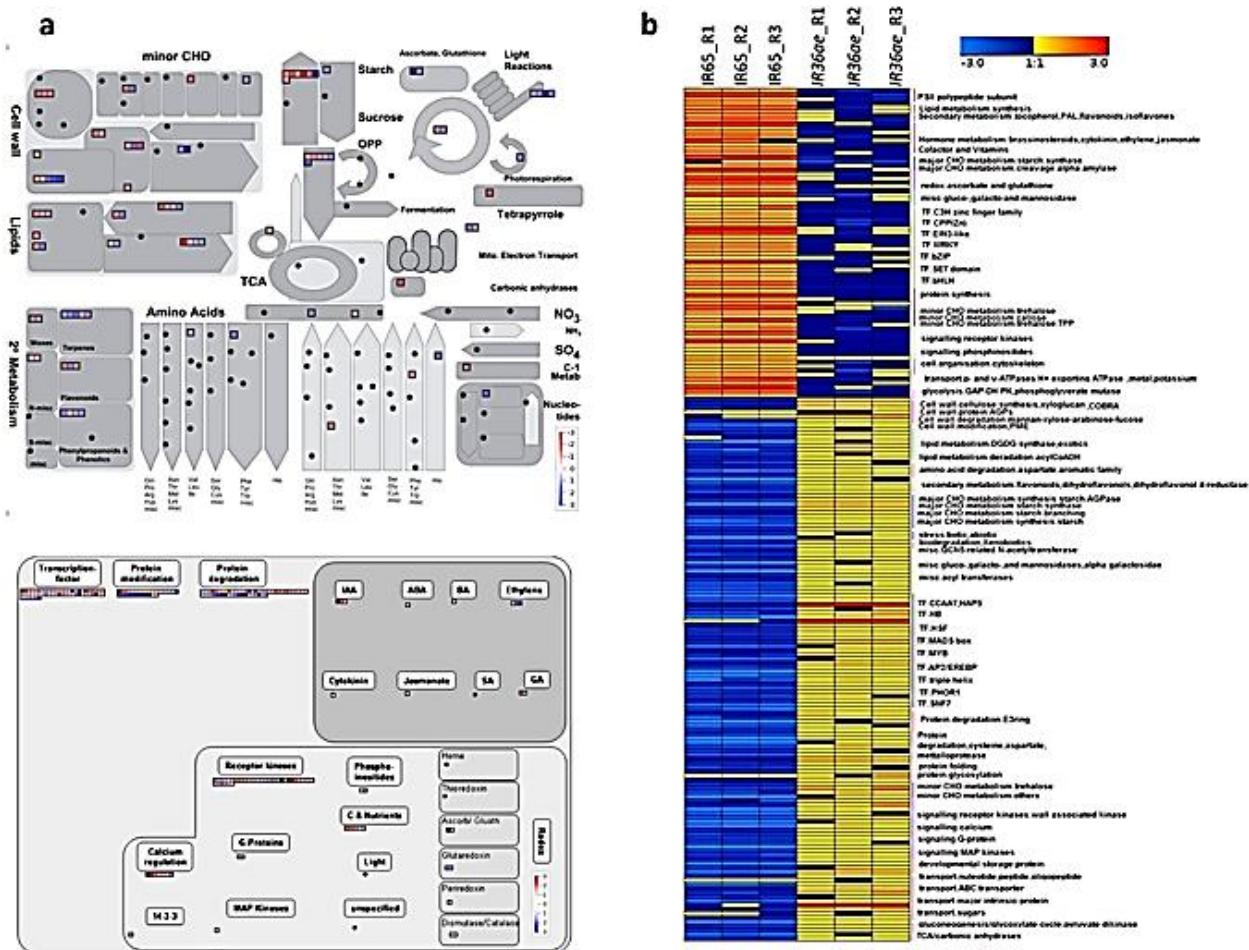
Bảng 2: Thông số ba hạng mức giá trị GI. Kết quả “positive” được đánh dấu (●) và “negative” là (○) (de Guzman et al. 2017).

Parameters	Low GI	Intermediate GI	High GI
<i>In vitro glycemic index measurement</i>			
<55 Predictive glycemic index value	●	○	○
<0.025 digestion rate constant (<i>k</i> value)	●	○	○
<i>Mature grain (Day 0)</i>			
≥2% Resistant starch	●	○	○
≥10% Amylose 1 (DP > 1000)	●	○	○
≥10% Amylose 2 (DP 121–1000)	●	○	○
≥50% Short-chain amylopectin (DP 6–36)	○	●	●
<i>Changes during starch mobilization (8 days after imbibition)</i>			
≥30% Decrease in total starch	○	○	●
Decrease in resistant starch	●	●	○
Decrease in Amylose 1 (DP > 1000)	●	●	○
Decrease in Amylose 2 (DP 121–1000)	○	●	●
Increase in medium-chain amylopectin (DP 37–120)	●	●	○
%mol difference: increase in DP 6–16	○	NA	●
%mol difference: increase in DP 13–22	●	NA	○
%mol difference: increase in DP ≥ 41	●	○	○
<15% increase in free glucose (day 0 vs day 4)	●	○	○

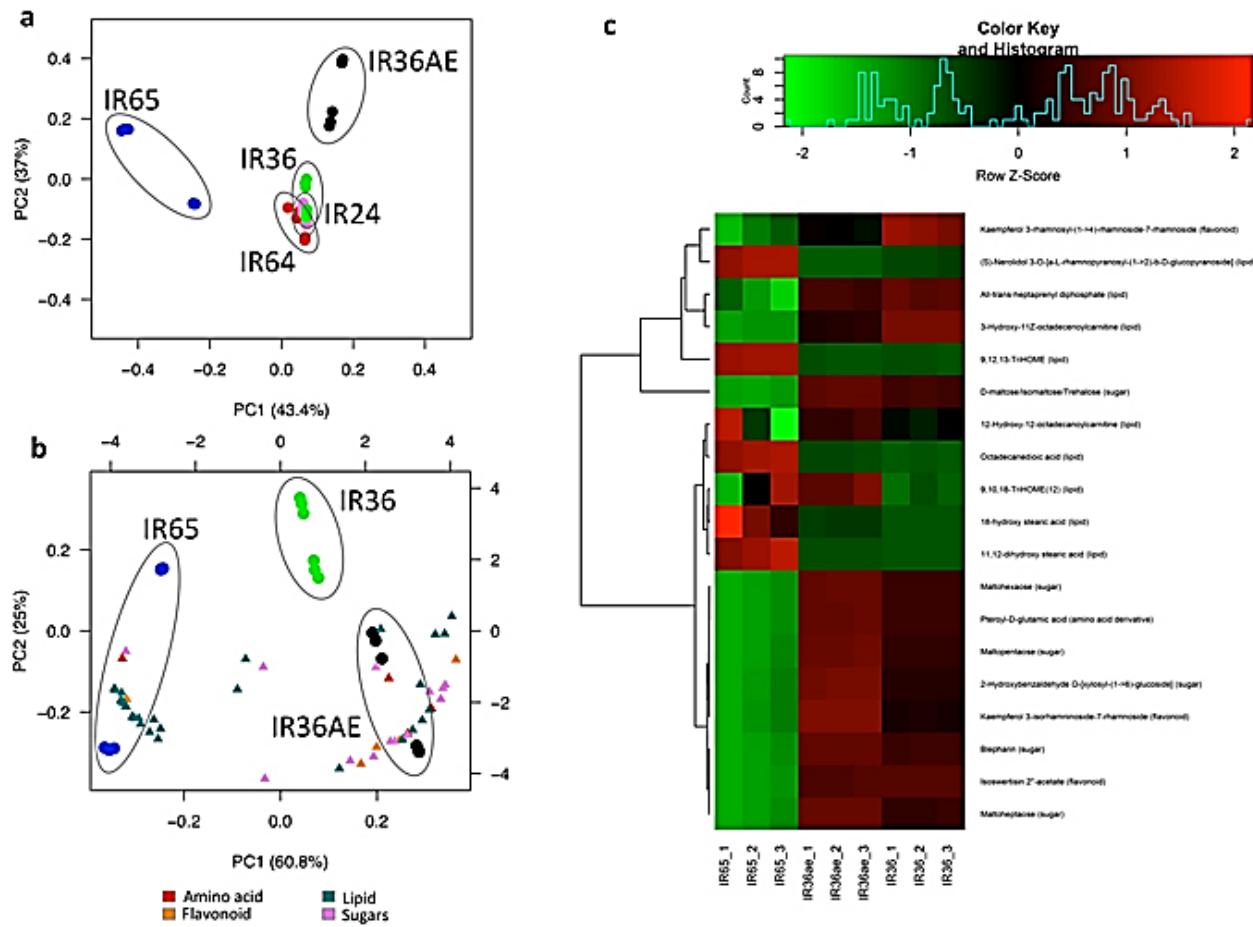
Phân tích “Genome-wide transcriptome” tính trạng GI từ các dòng lúa khác nhau để tìm hiểu các chu trình biến dưỡng đang diễn ra trên cơ sở sự có mặt của phân tử **stored mRNA** ở hạt thóc trưởng thành hoàn toàn. Có tổng cộng **1511 gen** được tìm thấy, chúng biểu hiện rất khác nhau giữa GI cao (IR65) và GI thấp (IR36ae). Trong tổng số gen ấy, có **821 gen** điều tiết theo kiểu “up” đối với dòng lúa có giá trị GI thấp. **690 gen** điều tiết theo kiểu “down”. Sự thay đổi **DEGs** (differentially expressed genes) được tính toán giữa dòng lúa GI cao và GI thấp hiển thị trên giản đồ **MapMan metabolic** và **Regulatory pathway chart**. Giá trị biểu hiện bình thường trên **heat map** đã được chú thích di truyền chi tiết (gene annotation). Dòng lúa có GI thấp, người ta quan sát thấy phân tử transcript hiển thị rất phong phú trong chu trình tích tụ và dự trữ tinh bột [hệ men **ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase) large and small subunits, granule bound starch synthase 1 (GBSS 1), starch synthase 3 (SS 3), plant glycogenin-like starch initiation protein**

(**PGSIP**, sugar transporters], hê men **pyruvate orthophosphate dikinase (PPDK)** và protein dù trũ (Glutelin type-A 3, Glutelin type-B 1, Glutelin type-B 2, Glutelin type-B 4, và Glutelin type-B 5) (de Guzman et al. 2017).

Biến dưỡng thành tế bào có khác biệt đáng chú ý như biến dưỡng lipid và các chu trình isoflavonoid giữa dòng lúa GI thấp và GI cao. Trong chu trình biến dưỡng ở thành tế bào, sự điều tiết gen theo kiểu “up” là ưu tiên liên quan đến sinh tổng hợp cellulose, xyloglucan, homogalacturonan, arabinogalactan và expansins; trong dòng lúa có GI thấp. Các chu trình dự trữ lipid, người ta quan sát thấy có sự phong phú rất cao của phân tử transcript khi sinh tổng hợp phospholipid (phosphoethanolamine N-methyltransferase) và tổng hợp glycolipid (digalactosyldiacylglycerol synthase 1). Như vậy, phức hợp starch-lipid trong dòng lúa GI thấp là vô cùng quan trọng, hậu quả làm tăng hàm lượng amylose. Trong những phân tử **regulators** như vậy, sự điều tiết theo kiểu “up” luôn được ưu tiên của dòng lúa có GI thấp với nhiều MYB transcription factors (TFs) bao gồm *GAMYB*, *bHLH*, *Homeobox Hox29*, *MADSbox27*, *WRKY75*, kinases thành tế bào, nhiều receptor kinases và đường + tín hiệu dinh dưỡng (de Guzman et al. 2017).



Hình 3: Phân tích transcriptome của giống lúa GI thấp so sánh với giống lúa GI cao. **(a) MapMan** chỉ ra sự khác biệt các cơ chất biến đổi (metabolites) giữa giống GI thấp với GI cao; **(b) heatmap** chỉ rõ sự biểu hiện gen khác nhau (de Guzman et al. 2017).

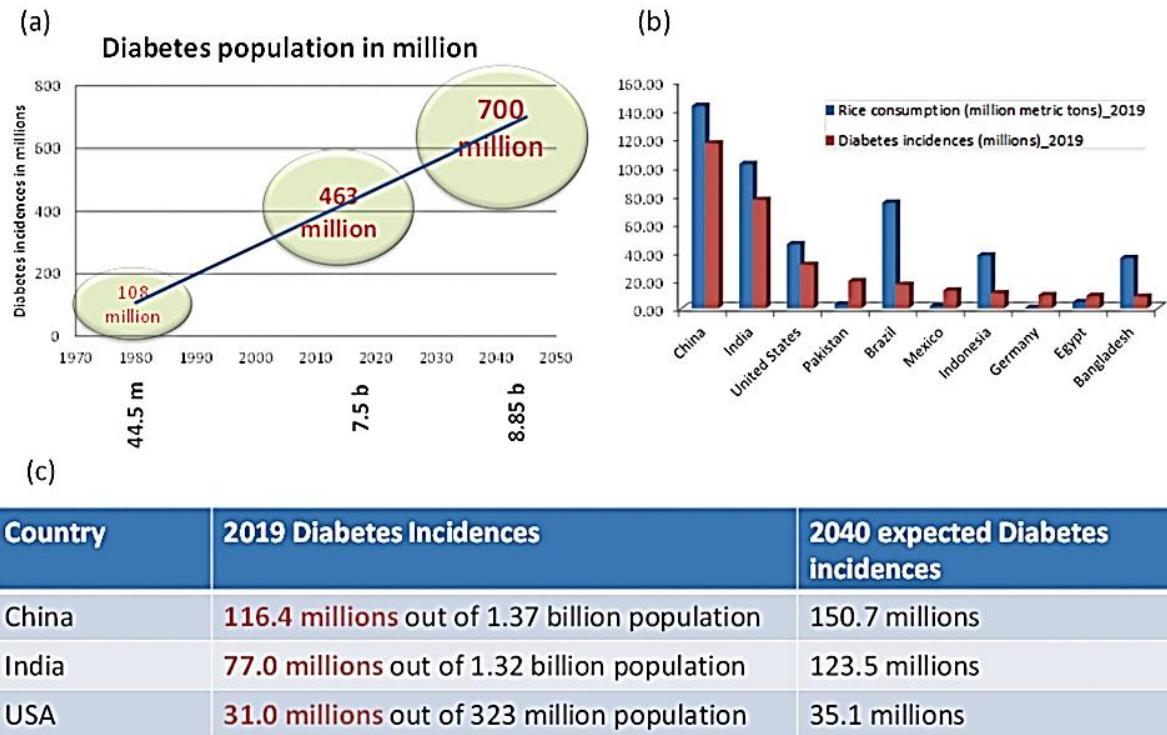


Hình 4: Phân tích Metabolomics của dòng lúa GI thấp và GI cao. **PCA plot** của (a) 5 dòng lúa tương phản nhau; (b) xếp lớp khác nhau cơ chất biến dưỡng (metabolites), có trong dòng lúa GI thấp, trung bình, cao; (c) **Heatmap** biểu thị mức độ biểu hiện của những metabolites rất khác biệt theo giá trị GI (de Guzman et al. 2017).

TẦM QUAN TRỌNG CỦA GI THẤP TRONG GIÓNG LÚA MỚI

Thành công của cách mạng xanh (1960-2000) đã dẫn đến sự tăng lên gấp đôi năng suất cây trồng lương thực chủ lực một cách ngoạn mục (Pingali 2012). Báo cáo của Liên Hiệp Quốc (UN 2019) ghi nhận dân cư thành thị sẽ chiếm 68% trên toàn cầu vào năm 2050, với mức tăng cao nhất trong lịch sử đô thị hóa làm thay đổi thu nhập của các nước. Lượng tiêu dùng sẽ gia tăng về carbohydrates tinh chế, nguồn thực phẩm động vật như thịt và sữa, đi kèm theo là hiện tượng tiêu thụ nhiều chất béo động vật, thực vật, muối và đường. Sự chuyển dịch nhanh như vậy cộng thêm giá thành ngày càng rẻ, dẫn đến kết quả **NCD** (non-communicable diseases: bệnh không có thông tin báo trước) như béo phì, bệnh tiểu đường, bệnh tim mạch (CVD), và ung thư (Reynolds et al. 2019).

Thế giới hiện có 463 triệu người mắc bệnh tiểu đường (74,9% đang sống ở các nước có thu nhập trung bình thấp) dẫn đến 4,2 triệu người chết; chi phí chữa trị tiêu tốn 760,3 tỷ đô la Mỹ vào năm 2019 (International Diabetes Federation 2019). Lúa gạo là nguồn lương thực chính cho đại đa số dân cư châu Á, cung cấp 40% calories hàng ngày.



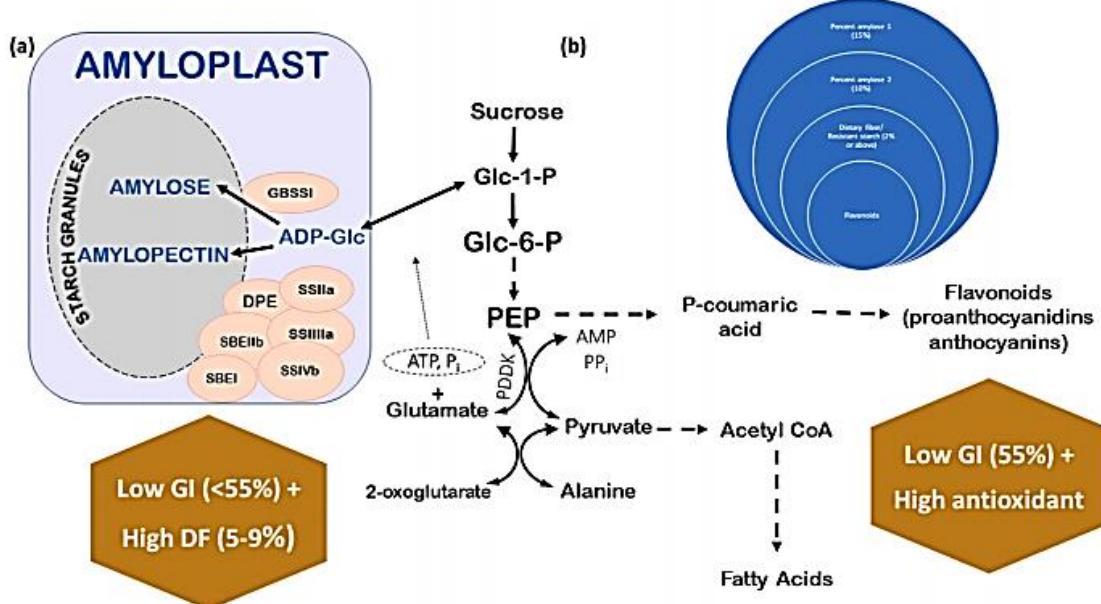
Hình 5: Mô phỏng toán học về biến thiên số bệnh nhân đái tháo đường từ 2019 đến 2040 dự báo (Jukanti et al. 2020).

Gạo đang dần dần thay thế lương thực là cây có củ ở vùng cận Sahara, châu Phi. Các nước Trung Đông có nhu cầu gạo tăng gấp đôi. Các nước châu Mỹ La tinh có nhu cầu gạo tăng 40% trong giai đoạn 1990–2010. Brazil tuy không phải là nước Á Châu nhưng là một trong 10 quốc gia sản xuất lúa chủ lực của thế giới. Thị hiếu về phẩm chất cơm thay đổi theo vùng trên địa cầu chúng ta sống. Nhật Bản, Đài Loan, Cambodia, Thái Lan, một phần của Lào PDR, Úc, vùng bắc và tây nam Trung Quốc, miền Nam Việt Nam thích phẩm chất gạo dẻo, mềm hoặc gạo dính. Cơm có hàm lượng amylose trung bình được ưa thích ở Nam Á, Trung Đông, châu Mỹ La tinh và Bắc Mỹ. Đáng chú ý là, một ít quốc gia như Miến Điện, Sri Lanka, một số bang của Ấn Độ và Indonesia thích cơm khô cứng, hàm lượng amylose cao (Calingacion et al. 2014; Custodio et al. 2019).

Trong hạt gạo, tinh bột dự trữ chiếm hơn 80% (với tỷ lệ hết sức thay đổi của hợp phần amylose và amylopectin), có 6–8% proteins; trong khi đó, hàm lượng lipids, DF (dietary fiber), khoáng và chất biến dưỡng thứ cấp chỉ ở dạng vết (trace) định vị trong lớp cám gạo, chúng bị mất đi khi xay chà và đánh bóng gạo (Butardo và Sreenivasulu 2016). Tinh bột thường bị thủy phân trong hệ tiêu hóa của người để biến đổi thành glucose. Glucose được tế bào sử dụng để tạo ra năng lượng cần thiết phục vụ các chức năng biến dưỡng và năng lượng dư thừa được dự trữ ở trạng thái glycogen/chất béo cho giai đoạn sau cùng. Người ta tổng kết rằng nếu tiêu dùng còn dư thừa nguồn đường như vậy và thực phẩm có giá trị glycemic cao với chất xơ dễ tiêu (DF) thấp đều gây ra những rủi ro lớn cho sức khỏe con người, dẫn đến béo phì, tiểu đường type 2 và những bệnh NCDs khác nhau sẽ xảy ra như ngừng tim đột ngột và ung thư (Reynolds et al. 2019). Giống lúa có hàm lượng amylose cao đang được thao tác với nhiều công nghệ chế biến khác nhau để có giá trị GI thấp hơn (lower glycemic index) theo định hướng tương lai; thông qua công nghệ giảm mức độ xay chà gạo quá kỹ; công nghệ gạo đồ; công nghệ cơm sấy, để có thể ăn mà không cần nấu, chỉ cho nước vào mẫu gạo sấy (Boers et al. 2015; Toutounji et al. 2019).

Một tổng quan khá nổi tiếng về cách tiếp cận làm thấp hơn giá trị GI của gạo có tác động đến sức khỏe con người, mà cách tiếp cận trước đây không có. Người ta gọi cách tiếp cận như vậy là “**lacuna multi-disciplinary approaches**”, nhấn mạnh thao tác quan trọng làm thấp đi GI thông qua cải tiến giống lúa bằng đột biến, chuyển gen đích, du nhập gen mục tiêu điều khiển tính trạng GI thấp, trong các chương trình chọn giống lúa cao sản có phẩm chất gạo tốt.

Những phương pháp tiếp cận có tính chất “kết hợp khôn khéo” giữa sự cải biến có tính chất nội tại (intrinsic) và cải biến do tác động từ bên ngoài (extrinsic), sẽ đảm bảo được sản lượng thóc ổn định với giống lúa mới có giá trị GI thấp, đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của đa số người tiêu dùng. Trên cơ sở khái niệm thức ăn hàng ngày của chúng ta là thuốc (medicine), việc đa dạng hóa nguồn thực phẩm kết hợp GI thấp là chiến lược chăm sóc sức khỏe con người theo hướng bền vững (sustained human health) (Jukanti et al. 2020).



Hình 6: Những gen chủ lực tác động đến glycemic index của hạt gạo, thông qua (a) tính trạng amylose và resistant starch, (b) tính trạng glycolysis flux và cơ chất biến diễn thứ cấp. Gen mục tiêu được trình bày trong bảng 1 (Jukanti et al. 2020).

Bảng 3: Di truyền của tính trạng RS (resistant starch), chất xơ dẽ tiêu (dietary fibre) và GI thấp (Jukanti et al. 2020).

Genetics of resistant starch, dietary fibre and low glycemic index.

No.	QTL/Gene	Phenotype			Morphology	Reference
		Amylose	Chalk	GI/RS		
Resistant Starch (RS) and Dietary Fibre Regulators						
1	<i>chr06_1765761</i> , Granule Bound Starch synthase I [GBSS1] (<i>Wx</i> locus) <i>chr06_6168586</i> , SNP is 0.6 Mb from <i>SSIIa</i> (Os06g0229800, chr06:6748398-6753302)	10.7–0.7%	-	0.03–2.42% [RS]	SNP is responsible for AAC variation. RS has a positive correlation with AAC. Starch formed with a functional <i>SSIIa</i> has higher degree of crystallinity, more resistant to enzyme digestion, leading to a higher RS content.	Bao, Zhou, Xu, He, and Park (2017)
	<i>chr08_23391108</i> , SNP is 2.5 Mb from <i>Isoamylase 1</i> (Os08g0520900, chr08:25893657–25900342)	10.7–0.7%	-	0.03–2.42% [RS]	Explained 12.6% of the phenotypic variation in RS.	
	<i>chr09_5975264</i> , SNP is 1.27 Mb from <i>ADP-GPSI</i> (Os09g029820, chr09: 7245434–7249813)	10.7–0.7%	-	0.03–2.42% [RS]	SNP is associated with RS content ($p = 3.43 \times 10^{-5}$).	
2	<i>hp-BEIIb</i> , <i>SBEIIb</i> hairpin RNA (LOC_Os02g32660)	$34.0 \pm 1.6\%$	75–100% /grain	4.8 ± 0.2 (predicted GI is 44)	Big and small rounded starch granules (SGs) with large spaces and loss of compound granular organization.	Butardo et al. (2011)
	<i>ami-BEIIb</i> , <i>SBEIIb</i> artificial micro RNA (LOC_Os02g32660)	$41.2 \pm 0.5\%$	25–50% /grain	0.4 ± 0.2 (predicted GI is 79)	Decrease in the proportion of amylopectin short chains (DP 6–12) with an increase in the longer chains (DP > 14) in <i>hp-BEIIb</i> and <i>ami-BEIIb</i> lines.	
	IR 36ae, Amylose extender mutant	-	-	3.1 ± 0.0 (predicted GI is 54)		
3	<i>sbel</i> , mutants of <i>SBEI</i> (GenBank Accession no GQ150904.1) <i>sbelb</i> , mutants of <i>SBEIIb</i> (GenBank Accession no GQ150916.1)	~12–5.0%	0–10% /grain	~0.1%	SGs of <i>sbelb</i> heterogeneous in size and shape and large spaces in between. <i>sbelb</i> lines had significant increase in amylopectin longer chains with DP > 14 and a concomitant decrease in the short chains of DP 6–12.	Sun et al. (2017)
		~21–25%	~75–100% /grain	~5–10.0%	SGs from <i>sbel</i> lines were big, rounded, and irregularly arranged.	
4	<i>crnf-yc12</i> , mutant of NF-YC12 (LOC_Os10g11580) <i>crnf-yb1</i> , mutant of NF-YB1 (LOC_Os02g49410) <i>crbhlh144</i> , mutants of bHLH144 (LOC_Os04g35010)	13.9–4.2% 18.6–19.2 (WT) 15.2–6.9% 18.6–19.2 (WT) 17.9–8.6% 18.6–19.2 (WT)	50–60% >60.0%	Fibre: ~1.65% Fibre: ~1.6% Fibre: ~1.7%	NY-YB1 mutants had reduced grain size, and higher viscosity values compared to WT.	Bello et al. (2019)
5	<i>b10</i> , mutant of <i>SSIIa</i> (LOC_Os08g09230)	>30.0%	Floury endosperm	~5.8%	SGs of <i>b10</i> and <i>SSIIa</i> RNAi were rounded, variable in size and shape with irregular surfaces. <i>b10</i> had higher amylose-lipid complex with lower crystallinity; this complex constitutes the RS type 5.	Zhou et al. (2016)
	<i>ssIIIassIIa</i> (<i>b10</i>)/ <i>Wx^aWx^a</i> <i>ssIIIassIIa</i> (<i>b10</i>)/ <i>Wx^bWx^b</i>	- -	- -	6.1% 2.6%	Highly significant correlation (0.47) between RS and <i>Wx</i> strongly suggested that RS variation among plants carrying <i>ssIIa</i> arises from the different <i>Wx</i> alleles.	
High Amylose Regulators						
6	<i>ss3a</i> , null mutant of <i>SSIIa</i> (Os <i>SSIIa</i>)	30.8% 22.0% (WT)	-	-	Both spherical and compound-type SGs were observed. Amyloplasts had rounded surfaces with possible SG joints. Putative envelope shreds were detected.	Toyosawa et al. (2016)
	<i>ss4b</i> , mutant of <i>SSIVb</i> (Os <i>SSIVb</i>) <i>ss3a ss4b</i> , double mutant of <i>SSIIa</i> and <i>SSIVb</i>	14.6% 33.3–33.6%	- -	- -	SGs were sharp edged and polyhedral. SGs were not compound but spherical. SGs were not held together by the envelope but putative shreds were detected on some SGs.	
7	<i>OEt_r</i> , overexpression of <i>OsCDPK1</i> <i>Ri</i> , RNA gene silenced form of <i>OsCDPK1</i>	14.3–15.6% 25.8–26.6%	100% @ low temperature (LT) & high temperature (HT) ~6.6% @ LT; ~49 .0% @ HT	- -	SGs were large and tightly packed in the WT/ <i>Ri</i> endosperms, small and loosely packed in the <i>OEt_r</i> endosperm. <i>OsCDPK1</i> affects the starch granule size and packing density. Dehulled <i>OEt_r</i> grains were all the floury-kernel phenotype.	Jiang et al. (2018)
8	TRS, a high amylose line developed by antisense inhibition of <i>SBEI</i> and <i>SBEIIb</i>	Polygonal SGs (AC - 26.1–26.5%) Aggregate SGs (AC - 38.3–40.0%) Elongated SGs (AC -	-	-	Among the different types of SGs, gradual reduction in the short-chain proportion of DP 6–12 and DP 13–24 while a gradual increase in DP ≥ 37 was observed. The average amylopectin chain length was 31.2 in TRS compared to 22.8 in WT.	Wang et al. (2018)

Table 1 (continued)

No.	QTL/Gene	Phenotype		Morphology	Reference
		Amylose	Chalk		
9	<i>ss3a/ss2b</i> , mutant generated from wild-type <i>japonica</i> rice which lacks <i>SSIIa</i> activity	62.4–64.5% Hollow SGs AC - 74.9–76.7%) 45.0%	-	-	Significantly fewer amylopectin short chains with DP ≤ 13 in <i>ss3a/be2b</i> compared to WT were observed. But, long chain with DP ≥ 25 were higher in <i>ss3a/be2b</i> . Some SGs in <i>ss3a/be2b</i> were peanut-shaped. The starch granule surface in <i>ss3a/be2b</i> was smooth.
Floury Endosperm Regulators					
10	<i>flo2</i> , Floury Endosperm2 (FLO2) mutant (LOC_Os04g55230)	~11.6%	Dull grain type	-	Parenchyma cells in the SGs were relatively rough with loosely arranged in mutants compared to compact and interlocked in WT. SGs of <i>flo2</i> were spherical/round and uneven. Short chains with DP 6–12 increased in M14 and intermediate chains with DP 13–50 decreased.
11	M14, floury endosperm mutant (<i>OsPPDKB</i>)	13.8%	Floury endosperm	-	The inner endosperm of M14 contained a large number of single and abnormal weakly stained granules.
12	<i>flo 6</i> , Floury Endosperm6 (FLO6) mutant (Os03g0686900)	~13.0%	Floury endosperm	-	Smaller, irregular, with rough surfaces and scattered SGs were noticed. Three types of abnormal amyloplasts observed. The DP of 9–15 was significantly decreased, whereas 6–8 and 16–40 was slightly increased in <i>flo6</i> endosperm.
14	<i>flo15</i> , Floury Endosperm15 (FLO15) mutant (<i>OsGLY17</i>) (Os05g0230900)	-	Centre of <i>flo15</i> endosperm was floury-white, periphery was translucent	-	<i>flo15</i> had higher proportions of starch chains of DP 6–13 and lower proportions of DP 14–56. 6 DAF: few abnormal amorphous amyloplasts (weakly stained), indicating the absence of SGs. Also, smaller amyloplasts, very weakly stained aggregated in the cytosol. 9 DAF: poorly developed amyloplasts and smaller amyloplasts increased. 12 DAF: three kinds of abnormal amyloplasts were scattered in the cytosol.
15	<i>flo 16</i> , Floury Endosperm6 (FLO16) mutant (NAD-dependent cytosolic malate dehydrogenase; Os10 g0478200)	~16.0%	-	-	The endosperm of <i>flo16</i> consisted of small, spherical and loosely packed SGs with large air spaces The DP of 6–10 and 13–14 were significantly increased; DP 11–12 and DP 15–48 were decreased. The mature grains of <i>flo16</i> were opaque and slightly shrunken.
16	<i>fse1</i> , Floury Shrunken Endosperm (<i>FSE1</i>) mutant (Phospholipase-like; LOC_Os08g01920)	~15.0%	Floury and shrunken endosperm	-	<i>fse1</i> endosperm has loosely packed, small, and spherical starch grains with large air spaces. The short and long chains with DP of 6–8 and ≥16 DP, decreased, and the middle chains with 9–15 DP increased.
17	<i>fgr1</i> , Floury and Growth Retardation 1 (<i>FGR1</i>) mutant (Nuclear localized Pentatricopeptide repeat [OsNPPR1]; Os08g0290000)	~22.0%	Opaque endosperm	-	<i>fgr1</i> mutant endosperm cells had loosely arranged, round, single SGs. Despite its nuclear localization, <i>OsNPPR1</i> indirectly regulates mitochondrial function.
Starch Biosynthesis Regulators					
18	<i>rsr1</i> , a mutant of Rice Starch Regulator1 (<i>RSR1</i>), an APETALA2/ethylene responsive element binding protein family TF	~19.0% (<i>rsr1</i>) ~13.5% (WT)	Interior endosperm chalky, exterior normal of <i>rsr1</i>	-	The 1000-grain weight and yield per plant of <i>rsr1</i> was increased. Chains with DP of 5–8 and 18–38 were increased, and those with DP of 9–17 decreased in <i>rsr1</i> . Starch of <i>rsr1</i> endosperm is more readily gelatinized and gelatinization temperatures were ~10 °C lower than WT. In <i>rsr1</i> , <i>OsBEI</i> , <i>OsBEIIb</i> , <i>OsSSI</i> , <i>OsSSIIa</i> , and

Table 1 (continued)

No.	QTL/Gene	Phenotype			Morphology	Reference
		Amylose	Chalk	GI/RS		
19	<i>SERF1</i> , knock-out mutant of Salt Responsive ERF1, a TF	Increased starch content compared to WT	-	-	<i>OsSIIla</i> were up-regulated during seed development, significantly at 3/6 DAP. <i>SERF1</i> directly regulates Rice Prolamin-Box Binding Factor (<i>RPBF</i>), TF that is a positive regulator of grain filling. <i>GBSS1</i> , <i>SSI</i> , <i>SIIla</i> , and <i>AGPL2</i> are up-regulated in <i>SERF1</i> grains.	Schmidt et al. (2014)
20	<i>osbzip58</i> , a null mutant of a basic leucine zipper transcription factor (<i>OsBZIP58</i>)	~17.0% (<i>osbzip58</i>) ~12.0% (WT)	White belly with a floury-white core occupying the centre to the ventral region of the seed.	-	<i>SERF1</i> is a direct upstream regulator of <i>GBSS1</i> . <i>OsbZIP58</i> binds directly to the promoters of <i>OsAGPL3</i> , <i>Wx</i> , <i>OsSIIla</i> , <i>SBE1</i> , <i>OsBEIb</i> , and <i>ISA2</i> , regulating their expression. <i>osbzip58</i> had densely packed, polyhedral SGs in dorsal endosperm, similar to WT. The ventral part had loosely packed, spherical SGs with large air spaces. <i>osbzip58</i> had a higher proportion of chains with DP of 6–11, and a lower proportion of chains with DP of 13–21.	Wang, Xu, Zhu, Liu, and Cai (2013)
21	<i>WR11</i> , WRINKLED1 belongs to AP2/EREBP TF	-	-	-	Fatty acids (FAs) content at 14 DAF endosperm in <i>WR11</i> had significantly lower FAs than WT. Seed coat including aleurone layer (SCAL) from <i>WR11</i> had more oil bodies than WT. Starch content in endosperm of developing and mature seeds was increased significantly in <i>WR11</i> . Expression levels of <i>AGPS2b</i> , <i>SSI</i> , and <i>BEI</i> are significantly increased in <i>WR11</i> . The developing endosperm of <i>WR11</i> had higher 16:0 FAs and lower 18:1.	Yang, Tian, Gao, and Yang (2019)
22	Overexpressing <i>ZmES22</i> , a MADS TF	~10–12% 14.0% (WT)	-	-	Reduced 1000-grain weight and total starch content, and soluble sugar was significantly higher. Reduced fractions of long branched starch. SGs were loosely packed, spherical with large spaces. <i>ZmES22</i> binds to the promoter of <i>OsGIF1</i> and downregulates it during rice grain filling.	Zha et al. (2019)
23	<i>OsBP-5</i> , a MYC protein with bHLH DNA-binding domain, and <i>OsEBP-89</i> , a EREBP family of TF	-	-	-	Co-regulates in young rice grain filling. <i>OsBP-5</i> and <i>OsEBP-89</i> proteins act synergistically, perhaps as a heterodimer, to regulate the transcription of rice <i>Wx</i> . RNAi of <i>OsBP-5</i> reduced the amylose content from over 23% to no change.	Zhu, Cai, Wang, and Hong (2003)
24	<i>nf-yc12</i> , NF-YC12 mutant that encodes a putative nuclear factor-Y transcription factor subunit C	-	-	-	<i>NF-YC12</i> regulates the rice sucrose transporter (<i>OsSUT1</i>) in coordination with <i>NF-YB1</i> in the aleurone layer. <i>NF-YC12</i> directly binds to the promoters of <i>FLO6</i> and <i>glutamine synthetase 1</i> (<i>OsGST1;3</i>) in developing endosperm. The inner starchy endosperm of <i>nf-yc12</i> appeared to be floury-white. <i>nf-yc12</i> grains indicated that SGs were small, round, and loosely packed.	Xiong et al. (2019)
Glycolysis Regulators						
25	<i>pfp1-3</i> , mutant of Pyrophosphate-fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase [PFP1]; LOC_Os06g13810)	-	Opaque and brittle endosperm, with a floury appearance	-	Mutant endosperm showed small, spherical and loosely packed starch grains with large air spaces. Amylopectin in <i>pfp1-3</i> seeds had more short chains with DP ranging from 8 to 15 and 16 to 50.	Chen et al. (2020)
26	<i>ospk2</i> , mutant of plastidic pyruvate kinase [<i>OsPK2</i>]; (Os07g0181000)	~10.0–11.0%	Interior of <i>ospk2</i> endosperm was opaque with white-core; periphery was transparent	-	Central endosperm cells of <i>ospk2</i> had single, smaller, scattered, spherical and loosely packed starch granules. The proportion of short chains with DP of 6–12 decreased, while the proportion of intermediate chains with DP of 13–25 was elevated in <i>ospk2</i> .	Cai et al. (2018)
Other Regulators						
27	<i>ssg4</i> , mutant of substandard starch grain4 [<i>SSG4</i>]; Os1g0179400)	Lower starch content compared to WT	-	-	Lower number of large (5–10-fold higher) and round starch granules in the mutant. The amylopectin chain-length distribution of <i>ssg4</i> starch is normal.	Matsushima et al. (2014)
28	<i>ssg6</i> , mutant of substandard starch grain6 [<i>SSG6</i>]; Os06g0130400)	~13.0%	-	-	Mature <i>ssg6</i> endosperm showed enlarged (>2 times) starch granules (SGs).	Matsushima et al. (2016)

29	<i>SSI-RNAi</i> , Starch Synthase I suppressed by RNAi (Os06g0160700)	18.9–19.8%	7.2–10.1%	-	<p>Slightly chalky compared to WT</p> <p>The number of starch granules was increased in enlarged SGs of <i>ssg6</i>. Contrastingly, the size of starch granules decreased slightly in <i>ssg6</i>.</p> <p><i>SSI</i> suppression reduced the proportion of chains with DP 8–13, increased very short chain with DP 6–7 and 16–21.</p> <p>Interestingly, the suppression did not disturb the starch granule morphology and particle-size distribution.</p>	Zhao et al. (2019)
----	---	------------	-----------	---	---	--------------------

Gạo lứt (brown rice) của cả hai giống lúa có amylose cao (AC cao) và AC thấp đều biểu hiện “gastric emptying” trì hoãn. Sự khác biệt chỉ rõ ràng khi nào lớp cám bị tách ra trong quy trình lau bóng gạo trắng, với gạo amylose thấp có gastric emptying cao nhất (Pletsch và Hamaker, 2018). Chú thích: “Gastric emptying” là tiến trình mà thành phần trong dạ dày được chuyển hết xuống tá tràng (duodenum). Do đó, người tiêu dùng thích ăn gạo thật trắng bóng, có nghĩa là đang ăn cơm với GI cao một cách tự nhiên. Giống lúa có amylose thấp, kèm theo là hàm lượng RS thấp hơn (resistant starch) và hàm lượng DF ở trạng thái vết (trace amounts of DF), hoàn tất nhu cầu calo hàng ngày (Butardo và Sreenivasulu 2016; Guzman et al. 2017).

Chỉnh sửa gen

Hệ thống chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 với đột biến có chỉ đích gen *sbeI* (japonica cv. Kitaakekhông làm thay đổi tỷ lệ amylose : amylopectin. Tuy nhiên, điểm đích ở exon số 3 của gen *sbeIIb* bị ức chế đã dẫn đến làm tăng chuỗi dài amylopectin, tăng RS (5–9%), làm tiêu hóa chậm hơn và làm thay đổi bản chất “viscosity”, nhiệt độ hóa hò GT (Sun et al. 2017).

Ức chế liên tục gen *sbeI* và *sbeIIb* của giống lúa indica Taichung dẫn đến sự phát triển tinh thể tinh bột dị hợp (kiểu hexagonal, aggregated, elongated và hollow starch), trong khi giống nguyên bản (WT) chỉ biểu hiện kiểu hexagonal starch granules (Wang et al. 2018). Làm câm gen *sbeIIb* trong nội nhũ gạo rice thông qua phân tử **hairpin RNA (hp-RNA; hp-SBEIIb)** và thao tác kỹ thuật **micro RNA (amiRNA; ami-sbe2b)** cho ra kiểu hình “amylose extender” có nghĩa là làm tăng AC và RS (Butardo et al. 2011). GI dự đoán trong dòng lúa *ami-be2b* là 44 so với giống lúa nguyên bản Nipponbare có GI là 85.

Gen đột biến

Ức chế hệ men **starch synthase** bởi gen đột biến (*ss3a*, *ss4b*, double mutant *ss3a/ ss2b*) và ức chế hệ men **starch branching** (*sbeI*, *sbeIIb*) dẫn đến kết quả làm tăng amylose, trên 30% với hàm lượng RS cũng tăng; từ đó, giá trị GI sẽ thấp (bảng 1). Trong khi SBEI vận chuyển chuỗi dây dài, thì SBEIIb vận chuyển chuỗi dây ngắn (**α-1, 6 glucosidic linkages** trong **α-glucans**) theo quá trình tổng hợp amylopectin (Nakamura et al. 2010).

Mặc dù việc đính tính các đột biến amylose cao trên cơ sở di truyền phân tử đãng sau kết quả hình thành RS (Zhou et al. 2016), nhưng hiểu biết ấy vẫn chưa giúp nhà chọn giống tạo ra giống lúa GI thấp một cách dễ dàng, bởi vì có hiện tượng gen đa tính trạng (**pleiotropy effect**) đối với trường hợp di truyền “GI thấp”, dẫn đến kết quả năng suất giảm, đặc biệt khối lượng 1.000 hạt giảm sâu, kiến trúc hạt tinh bột biến dạng với sự tăng lên độ bắc bụng, tuy không làm giảm phẩm chất cơm nhưng giảm thị hiếu người tiêu dùng, cơm cứng. Nhiều dòng lúa RS cao đáp ứng với yêu cầu sức khỏe ví dụ như có lợi cho vi khuẩn đường ruột, ngăn ngừa ung thư ruột kết và cho kết quả “glucose homeostasis” (bảo hòa và nhốt giữ glucose trong không bào) trong trường hợp người bệnh tiểu đường (Li et al. 2019).

Gen có liên quan đến amino acid và protein cần thiết cho con người là gen đột biến *flo2* (được phân lập trong giống lúa japonica cv. Kinmaze). Gạo Kinmaze có hàm lượng lysine và histidine cao (Kumamaru et al. 1997). Gen này được “fine mapped” tại locus *Os04g0645100* mã hóa protein có tên là **tetratricopeptide repeat-encoding** (She et al. 2010). Protein dự trữ có tên là **glutelin** và

globulin, cũng như **alanine amino transferase (OsAlaAT1)**, được gen *flo2 mutant* điều tiết theo kiểu “down” cho kiểu hình “floury” (Yang et al. 2015). Gen đột biến *flo3* được mô tả là mã hóa protein dự trữ 16 kDa globulin (Nishio và Iida 1993).

Gen đột biến *flo4* mã hóa **pyruvate orthophosphate dikinase (PPDK)** đóng vai trò trung tâm là giữ cửa cho tiến trình điều tiết dòng chảy carbon **giữa sinh tổng hợp tinh bột và glycolysis-channeled free fatty acid** (Zhang et al. 2018).

Người ta thấy rằng chính PPDK cung cấp PPi mà PPI sẽ được sử dụng bởi hệ men **AGPase** như một cơ chất cần thiết để tổng hợp ra tinh bột (Ordonio và Matsuoka 2016). Trong cây lúa, những đột biến của **fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase (PFP)** chuyển hóa ngược thành **fructose-6-phosphate** rồi thành **fructose-1,6-bisphosphate**, điều khiển dòng chảy carbohydrate đến phản ứng phân giải glucose (Chen et al. 2020). Hơn nữa, đột biến trong nội nhũ *pfp* (giống lúa japonica cv. Hwacheong) có tinh thể tinh bột hình cầu, nhỏ, khoang chứa không khí lớn không giống như kiểu bình thường “hexagonal” trong giống nguyên bản WT, với suy giảm rất đáng kể chiều dài của hạt gạo, KL 1000 hạt, hàm lượng tinh bột. Dòng đột biến kép *pfp* điều tiết theo kiểu “up” liên quan đến nhiều enzymes gắn bởi quá trình tổng hợp tinh bột. Biến dường carbon ở tế bào phục vụ sinh tổng hợp tinh bột có cấu trúc phân nhánh của amylopectin bị suy giảm và cấu trúc nhánh ngắn amylose tăng, với DP là 8–15 trong dòng đột biến so với 16–50 trong dòng nguyên bản WT (Chen et al. 2020). Đặc biệt là tinh bột của dòng đột biến tiêu hóa dễ dàng hơn dòng WT; khoảng 70% phôi mầm trưởng thành biểu hiện sự phát triển lá mầm không bình thường (Chen et al. 2020).

Chọn giống chính xác (precision breeding)

Cho đến nay, tiến bộ trong cải tiến giống lúa có GI thấp còn khá hạn chế. Khó khăn lớn nhất là kiểu hình nông học của giống lúa “GI thấp” chưa theo ý muốn, chi phí phân tích mẫu đất tiền theo chuẩn y khoa, hiệu quả còn thấp, đầu tư thời gian quá lâu.

Yêu cầu tiên quyết của cải tiến giống lúa low-GI là thanh lọc nguồn vật liệu phải đa dạng di truyền với mức độ chính xác về kiểu hình GI *in vitro*, sáng tạo ra quần thể làm bản đồ di truyền phân giải cao và định nghĩa di truyền, chỉ thị phân tử liên kết chặt với gen đích nhằm thực hiện chiến lược “genomic-assisted breeding”.

Giống lúa vật liệu ban đầu là **Doongara** (Fitzgerald et al. 2011), giống **ISM** (Improved Samba Mahsuri) (Sundaram et al. 2018) là nguồn bô mẹ tốt có GI thấp đã được người ta xác nhận. Giống lúa **low-GI** có dạng hạt thon dài trung bình, **ISM** được du nhập nguồn gen kháng bệnh bạc lá là **Xa21, xa13** và **xa5**, ISM đạt năng suất khá 25–40% hơn giống nhiễm bệnh Samba Mahsuri. Tuy nhiên, cải tiến gạo ngon cơm có thể chấp nhận được rộng rãi (palatability) còn một thách thức lớn. Đó là phẩm chất cơm phải chắc chắn đáp ứng thị hiếu người tiêu dùng đại chúng. Mọi cố gắng đang đổ dồn về nội dung cải tiến GI và RS trong chương trình cải tiến giống lúa hiện nay (Parween et al. 2020).

Gen **Wxa (G allele)** ở “splice site” tại exon thứ nhất, cận biên với intron của gen **GBSSI**, liên quan đến biến dị di truyền GI từ “trung bình đến cao”. Phân tử SNP bổ sung vào (T>C) tại exon-10 (được biết là *Wxlv*) được tìm thấy ảnh hưởng đến tính trạng FV (final viscosity) của cơm, FV độc lập với amylose/GI (Anacleto et al. 2019). Hai SNP này phối hợp trên GC haplotype gắn với GI hàm lượng trung bình, có cấu trúc hạt cơm mềm (FV trung bình), đã tăng cường nguồn vật liệu bô mẹ cho ngân hàng gen lúa ở Đông Nam Á. Làm giàu GC haplotype trong ngân hàng vật liệu lai sẽ là những cơ hội tốt giúp nhà chọn giống phối hợp GI trung bình liên kết với phẩm chất cơm dễ chấp nhận được bởi người tiêu dùng. Còn GT haplotype gắn với GI trung bình và cơm cứng (FV cao) là ưu thế của ngân hàng gen vùng Pacific, lục địa Á châu, Nam Mỹ. Nguồn TC haplotype liên quan đến GI cao và cơm mềm có rất nhiều ở ngân hàng gen của Thái Lan, Myanmar và Laos. Đáng

chú ý là GC hoặc GT haplotypes luôn có ở Ấn Độ, Bangladesh, do vậy, sàng lọc dòng lúa trên cơ sở tính trạng AC có thể làm nhầm lẫn các giống lúa amylose cao thông qua dự đoán cấu trúc hạt bởi vì dự đoán cấu trúc như vậy thông qua phuong sai di truyền để sàng lọc di truyền cần phải có hệ thống theo dõi (monitor) hai phân tử SNPs này một cách cẩn thận (Anacleto et al. 2019). Nucleotide C trong *Ex10-115* một alen tổ tiên (*Wxlv-w*) có trong loài lúa hoang *Oryza rufipogon*, lúa hoang này có vai trò quan trọng trong sự tiến hóa alen *Wx*, được du nhập vào các dòng NILs (near isogenic lines) biểu hiện AC cao, độ bền thẻ gel GC thuộc loại mềm, FV thấp (Zhang et al. 2019).

Thao tác kỹ thuật có liên quan đến cấu trúc tinh bột và chất biến dưỡng thứ cấp (secondary metabolites), ví dụ: **flavonoids** có ảnh hưởng nhất định đến khả năng tiêu hóa. Tính trạng di truyền này được tìm thấy trên bản đồ di truyền ở nhiễm sắc thể 7, đoạn phân tử từ 6.067.391 bp đến 6.379.622 bp (Butardo et al. 2017).

Giống lúa có màu sắc với chất biến dưỡng “bioactive” ví dụ như các hợp chất chứa phenol, flavonoids và sắc tố anthocyanins trong hạt gạo đều là những chỉ dẫn liên quan đến giá trị GI thấp (Mbanjo et al. 2020).

Kết quả sàng lọc có hệ thống *in vivo*, những mẫu giống lúa GI thấp (~50–55) với hàm lượng amylose khoảng 25% hoặc thấp hơn một chút đều có liên quan đến độ mềm cơm (Anacleto et al. 2019). Đây là tiêu chí chọn lựa vật liệu di truyền trong tương lai để cải tiến giống lúa.

Chiến lược MAS (marker-assisted selection) nhằm cải tiến giống lúa có GI thấp là chiến lược tiếp cận với “molecular breeding” nhằm tìm gen đích trong quá trình sinh tổng hợp tinh bột và chất biến dưỡng thứ cấp. Bởi vì chúng có ảnh hưởng nhất định đến giá trị GI. Ảnh hưởng của những “gene markers” này đối với tính trạng GI cần được nghiên cứu trên cơ sở xác định QTL chủ lực điều khiển GI (Jukanti et al. 2020).

GIÁ TRỊ GI CỦA GIỐNG LÚA VIỆT NAM

Đại học Sydney đã tài trợ cho nhóm nghiên cứu của Chan et al. (2001), tiến hành nghiên cứu hiện trạng gạo Việt, với các sản phẩm được chế biến từ gạo.

Mẫu phân tích “plasma glucose” và đường chuẩn “plasma glucose curves” (AUC) được sử dụng để đo giá trị GI của thực phẩm khảo sát, sử dụng cơ sở dữ liệu tham chiếu glucose thực phẩm (giá trị GI của glucose = 100). Giá trị trung bình GI của từng mẫu thực phẩm được tính toán trong từng nhóm mỗi nhóm có 12 mẫu đối với nhóm người châu Á và Caucasian ($n=6$).

Ba mẫu giống lúa có giá trị GI cao (86–109), trong khi đó sản phẩm của chúng như bún, hủ tiếu sợi có giá trị GI thấp (39–61); rất đáng ngạc nhiên. Thực phẩm ngọt nhiều đường có giá trị GI trung bình (54–79). Các giá trị GI của 9 loại thực phẩm được tính toán độc lập nhau giữa hai nhóm sắc tộc không khác biệt có ý nghĩa về thống kê ($P=0.26$). Giống lúa cao sản Thái Lan có giá trị GI cao. Hủ tiếu sợi, bún sợi từ gạo có giá trị GI thấp được người tiêu dùng ưa chuộng ở châu Á và Việt Nam, bảng 4 (Chan et al. 2001).

Giá trị GI (%) được tính theo công thức sau đây:

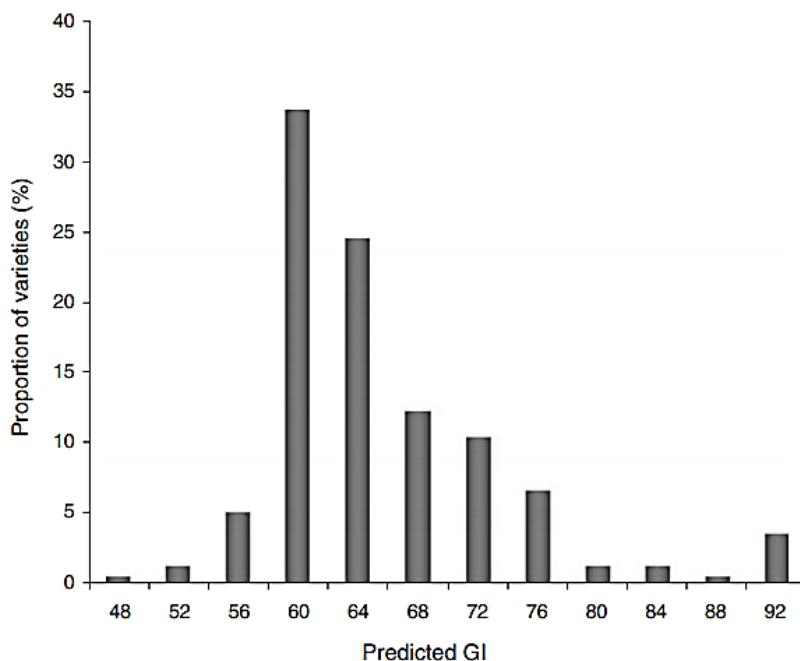
$$\frac{120 \text{ min glucose AUC value for the test food}}{\text{Mean AUC value for the same carbohydrate portion of the reference food}} \times 100$$

Bảng 4: Giá trị GI của thực phẩm từ gạo (glucose 25%), hai racial groups là người châu Á và người Caucasian (n = 6) (Chan et al. 2001)

<i>Test foods</i>		<i>All subjects</i>	<i>Caucasian</i>	<i>Asian</i>
<i>Noodles</i>	Mung bean noodles	39±9 (n=11)	51±16 (n=5)	28±9
	Rice noodles, dried	61±6	65±8	57±9
	Rice noodles fresh	40±5	47±8	34±4
<i>Rices</i>	Broken rice ^a	86±8 (n=11)	107±17	79±10
	Glutinous rice ^b	94±6 (n=11)	101±11	95±9
<i>Sweet foods</i>	Jasmine rice, long grain ^c	109±10	123±17	94±8
	Custard apple, fresh	58±5	51±7	65±8
	Lychees, canned, drained ^d	79±8	81±13	76±10
	Milk, full-cream condensed, sweetened	61±6 (n=11)	71±14	62±8

Liên quan giữa GI và các tính trạng phẩm chất hạt (Fitzgerald et al. 2011)

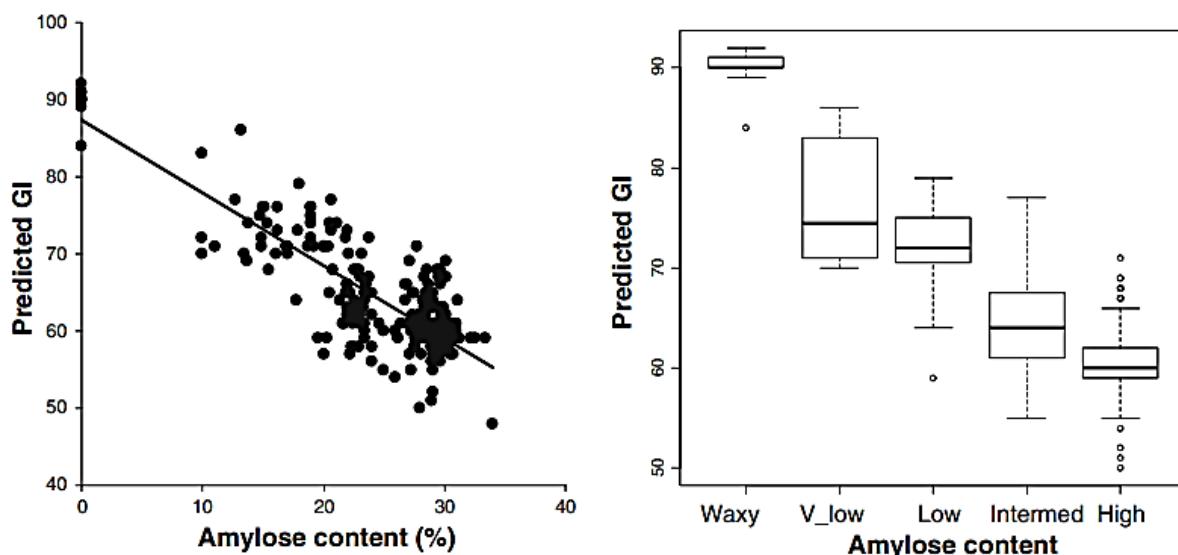
Bà Melissa Fitzgerald tại IRRI đã tiến hành khảo sát tập đoàn giống lúa có nguồn gốc từ nhiều quốc gia khác nhau, kết quả giá trị GI dự đoán biến thiên từ 48 đến 92 (hình 7). Bảng 5 cho thấy hầu hết các alen của gen *Wx*, có giá trị GI trung bình khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê ở mức độ 0,05, với alen lặn *wx* có GI cao nhất; alen trội *Wxa* có GI thấp nhất.



Hình 7: Biến thiên giá trị GI dự đoán của 235 giống lúa (phẩm chất cơm của gạo được chà bông) (Fitzgerald et al. 2011)

Bảng 5 Giá trị trung bình GI khác biệt có ý nghĩa trong từng alen của gen *Waxy* theo trắc nghiệm Welch's T test và pairwise comparisons s ($p < 0.05$) (Fitzgerald et al. 2011)

Mutation	Predicted GI
<i>wx</i>	89.70 ^a
<i>Wx^{op}</i>	76.50 ^b
<i>Wx^b</i>	72.04 ^b
<i>Wxⁱⁿ</i>	64.33 ^c
<i>Wx^a</i>	60.53 ^d



Hình 8: (a) hệ số tương quan r^2 là 0.73 giữa amylose và GI trong dung lượng mẫu 235 giống lúa; (b) box và whiskers plot của GI vs. amylose (Fitzgerald et al. 2011).

Kết luận

Lúa gạo là nguồn cung cấp calorie chính cho hơn một nửa dân số toàn cầu, trong khi nhu cầu tiêu dùng đang quan tâm nhiều hơn giá trị GI. Thành phần trong hạt gạo đang được thao tác bởi những kỹ thuật di truyền khá sâu nhằm mục tiêu thay đổi hình thát hạt tinh bột, tinh thể hạt tinh bột và khả năng tiêu hóa chúng tương ứng với mục tiêu giá trị GI thấp. Điều này được người ta xem xét có hệ thống trong dòng chảy carbon (carbon flux) từ việc tổng hợp chuỗi amylopectin đến amylose hoặc thay đổi amylopectin với sự ưa thích của người tiêu dùng cao hơn trong thực tế. Sự chỉ định rõ ràng carbon đều hướng đến những sản phẩm dự trữ trong hạt gạo, ví dụ như amino acids, protein, lipid, và các chất biến dưỡng thứ cấp (flavonoids). Chúng được biết có ảnh hưởng nhất định đến khả năng tiêu hóa theo hướng vì sức khỏe bền vững của người tiêu dùng gạo. Cơ chế phân tử có tính chất chi tiết này chưa được biết hết, như lồng ghép GI và RS trong một chương trình cải tiến giống lúa như thế nào; chưa kể làm sao cân bằng được mục tiêu GI với năng suất cao, không có tác động xấu đến phẩm chất cơm và đặc điểm cấu trúc hạt tinh bột (Jukanti et al. 2020).

Tài liệu tham khảo

- Anacleto R, Badoni S, Parween S, Butardo VM, Misra G, Cuevas RP et al. 2019. Integrating a genome-wide association study with a large-scale transcriptome analysis to predict genetic regions influencing the glycaemic index and texture in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 17(7):1261–1275.
- Atkinson FS, Foster-Powell K, Brand-Miller JC. 2008. International Tables of Glycemic Index and Glycemic Load Values: 2008. *Diabetes Care* 31(12): 2281–2283.
- Bewley JD, Bradford K, Hilhorst H, Nonogaki H. 2013. In *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy* Ch. 5, 183–246 (Springer-Verlag, 2013).
- Blaak EE, Antoine JM, Benton D, et al. 2012. Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. *Obes Rev* 13, 923–984.
- Boers HM, Seijen ten Hoorn J, Mela DJ. 2015. A systematic review of the influence of rice characteristics and processing methods on postprandial glycaemic and insulinemic responses. *Br. J. Nutr.* 114(7): 1035–1045.
- Butardo V Jr. et al. 2011. Impact of down-regulation of starch branching enzyme IIb in rice by artificial microRNA- and hairpin RNA-mediated RNA silencing. *J. Exp. Bot.* 62:4927–4941.
- Butardo V Jr. et al. 2012. Biomolecular analyses of starch and starch granule proteins in the high-amylase rice mutant Goami 2. *J. Agric. Food Chem.* 60:11576–11585.
- Butardo V Jr. et al. 2017. Systems Genetics Identifies a Novel Regulatory Domain of Amylose Synthesis. *Plant Physiol.* 173:887–906.
- Butardo VM, Fitzgerald MA, Bird AR, Gidley MJ, Flanagan BM, Larroque O et al. 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*, 62(14): 4927–4941.
- Butardo VM, Sreenivasulu N. 2016. Tailoring grain storage reserves for a healthier rice diet and its comparative status with other cereals. In International review of cell and molecular biology. Vol. 323, pp. 31–70.
- Butterworth P, Warren F, Grassby T, Patel H, Ellis P. 2012. Analysis of starch amylolysis using plots for first-order kinetics. *Carbohydr. Polym.* 87:2189–2197.
- Calingacion M, Laborte A, Nelson A, Resurreccion A, Concepcion JC, Daygon VD et al. 2014. Diversity of global rice markets and the science required for consumer-targeted rice breeding. *PloS One*, 9(1), Article e85106.
- Chan HMS, Brand-Miller JC, Holt SHA, Wilson D, Rozman M, Petocz P. 2001. The glycaemic index values of Vietnamese foods. *European Journal of Clinical Nutrition* volume 55, pages1076–1083.
- Chen C, He B, Liu X, Ma X, Liu Y, Yao HY et al. 2020. Pyrophosphate-fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase (PFP1) regulates starch biosynthesis and seed development via heterotetramer formation in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Biotechnology Journal*, 18(1): 83–95.
- Custodio MC, Cuevas RP, Ynion J, Laborte AG, Velasco ML, Demont M. 2019. Rice quality: How is it defined by consumers, industry, food scientists, and geneticists? *Trends in Food Science & Technology*, 92:122–137.
- Dhital S, Butardo V, Jobling SMG. 2015. Rice starch granule amylolysis – Differentiating effects of particle size,morphology, thermal properties and crystalline polymorph. *Carb. Polymers*. 115:305–316.
- Dona AC, Pages G, Gilbert RG, Kuchel PW. 2010. Digestion of starch: *In vivo* and *in vitro* kinetic models used to characterise oligosaccharide or glucose release. *Carbohydr. Polym.* 80:599–617.
- Fitzgerald MA, Rahman S, Resurreccion AP, Concepcion J, Daygon VD, Dipti SS, Kabir KA, Klingner B, Morell MK, Bird AR. 2011. Identification of a major genetic determinant of glycaemic index in rice. *Rice*. 2011;4:66–74.
- Guzman MK de, Parween S, Butardo VM, Alhambra CM, Anacleto R, Seiler C, Bird AR, Chow CP, Sreenivasulu N. 2017. Investigating glycemic potential of rice by unraveling compositional variations in mature grain and starch mobilization patterns during seed germination. *Sci. Rep.* 7(1):5854.
- Hu EA, Pan A, Malik V, et al. 2012. White rice consumption and risk of type 2 diabetes: meta-analysis and systematic review. *Br Med J* 344, e1454.
- Hur SJ, Lim BO, Decker EA, 2011. McClements DJ. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chem.* 125:1–12.
- International Diabetes Federation. 2019. IDF diabetes atlas (the 9th ed.) Retrieved from <https://www.diabetesatlas.org/en/>.
- Jenkins DJ, et al. 1981. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr.* 34:362–366.
- Jukanti AK, Pautong PA, Liu QQ, Sreenivasulu N. 2020. Review - Low glycemic index rice - a desired trait in starchy staples. *Trends in Food Science & Technology* 106:132–149.

- Juliano BO. 1985. In *Rice: Chemistry and Technology* (eds Juliano, B. O.) 59–60 (American Association of Cereal Chemists, 1985).
- Kaur B, Ranawana V, Henry J. 2016. The Glycemic Index of Rice and Rice Products: A Review, and Table of GI Values. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56(2):215-36.
- Kumamaru T, Sato H, Satoh H. 1997. High-lysine mutants of rice, *Oryza sativa* L. *Plant Breeding*, 116(3), 245–249.
- Kumar A, Sahu C, A Panda PA, Biswal M, Sah RP, Lal MK, Baig MJ, Swain P, Behera L, Chattopadhyay K, Sharma S. 2020. Phytic acid content may affect starch digestibility and glycemic index value of rice (*Oryza sativa* L.). *J. Sci. Food Agric.* 15;100(4):1598-1607.
- Li H, Gidley MJ, Dhital S. 2019. High-amylase starches to bridge the “fiber gap”: Development, structure, and nutritional functionality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2): 362–379.
- Manning AK et al. 2012. A genome-wide approach accounting for body mass index identifies genetic variants influencing fasting glycemic traits and insulin resistance. *Nat. Genet.* 44(6): 659–669.
- Matthan R, Ausman L, Meng H, Tighiouart H, Lichtenstein A. 2016. Estimating the reliability of glycemic index values and potential sources of methodological and biological variability. *Am J Clin Nutr.* 104:1004–1013.
- Mbanjo EGN, Kretzschmar T, Jones H, Ereful N, Blanchard C, Boyd LA et al. 2020. The genetic basis and nutritional benefits of pigmented rice grain. *Frontiers in Genetics*, 11: 229.
- Misra A, Singhal N, Khurana L. 2010 Obesity, the metabolic syndrome, and type 2 diabetes in developing countries: Role of dietary fats and oils. *J. Am. Coll. Nutr.* 29:289S–301S.
- Murata T, Akazawa T, Fukuchi S. 1968. Enzymic Mechanism of Starch Breakdown in Germinating Rice Seeds I. An Analytical Study. *Plant Physiology*. 43:1899–1905.
- Nakamura Y, Utsumi Y, Sawada T, Aihara S, Utsumi C, Yoshida M et al. 2010. Characterization of the reactions of starch branching enzymes from rice endosperm. *Plant and Cell Physiology*, 51(5): 776–794.
- Neal B. 2012. White rice and risk of type 2 diabetes. *Br Med J* 344, e2021.
- Nishio T, Iida S. 1993. Mutants having a low content of 16-kDa allergenic protein in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 86(2): 317–321.
- Nomura T, Kono Y, Akazawa T. 1969. Enzymic Mechanism of Starch Breakdown in Germinating Rice Seeds II. Scutellum as the Site of Sucrose Synthesis. *Plant Physiol.* 44:765–769.
- Nugent AP. 2005. Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*. 30:27–54.
- Ordonio RL, Matsuoka M. 2016. Increasing resistant starch content in rice for better consumer health. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(45): 12616–12618.
- Parween S, Anonuevo JJ, Butardo VM Jr., Misra G, Anacleto R, Llorente C et al. 2020. Balancing the double-edged sword effect of increased resistant starch content and its impact on rice texture: Its genetics and molecular physiological mechanisms. *Plant Biotechnology Journal*, 18(8):1763–1777
- Pingali PL. 2012. Green revolution: Impacts, limits, and the path ahead. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, pp. 12302–12308.
- Pletsch EA, Hamaker BR. 2018. Brown rice compared to white rice slows gastric emptying in humans. *European Journal of Clinical Nutrition*, 72(3): 367–373.
- Reynolds A, Mann J, Cummings J, Winter N, Mete E, Te Morenga L. 2019. Carbohydrate quality and human health: A series of systematic reviews and metaanalyses. *Lancet* (London, England), 393(10170): 434–445.
- Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR. 2006. Resistant starch - A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 5:1–17.
- She KC, Kusano H, Koizumi K, Yamakawa H, Hakata M, Imamura T et al. 2010. A novel factor FLOURY ENDOSPERM2 is involved in regulation of rice grain size and starch quality. *The Plant Cell Online*, 22(10): 3280–3294.
- Strocchi A, Levitt MD. Measurement of starch absorption in humans. 1991. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 69:108–110.
- Sun Y, Jiao G, Liu Z, Zhang X, Li J, Guo X et al. 2017. Generation of highamylose rice through CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of starch branching enzymes. *Frontiers of Plant Science*, 8(298).
- Topping DL. 2007. Cereal complex carbohydrates and their contribution to human health. *Journal Long Form workform*. 46:220–229.
- Toutounji MR, Farahnaky A, Santhakumar AB, Oli P, Butardo VM, Blanchard CL. 2019. Intrinsic and extrinsic factors affecting rice starch digestibility. *Trends in Food Science & Technology*, 88(10170): 10–22.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs PD. 2019. World urbanization prospects: The 2018 revision. In *World urbanization prospects: The 2018 revision*.
- Vega-López SAL, Griffith J, Lichtenstein A. 2007. Interindividual variability and intra-individual reproducibility of glycemic index values for commercial white bread. *Diabetes Care* 30: 1412–1417.

- Venn BJ, Green TJ. 2007. Glycemic index and glycemic load: measurement issues and their effect on diet–disease relationships. *Eur. J. Clin. Nutr.* **61**:S122–S131.
- Wang J, Hu P, Lin L, Chen Z, Liu Q, Wei C. 2018. Gradually decreasing starch branching enzyme expression is responsible for the formation of heterogeneous starch granules. *Plant Physiology*, **176**(1): 582–595.
- Woolnough JW, Monro JA, Brennan CS, Bird AR. 2008. Simulating human carbohydrate digestion *in vitro*: a review of methods and the need for standardisation. *Int. J. Food Sci. Technol.* **43**:2245–2256.
- World Health Organization. 2015. Global Health Estimates 2015: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000–2015.
- World Health Organization. 2016. *Global report on diabetes*. 20–31.
- Yang J, Kim SR, Lee SK, Choi H, Jeon JS, An G. 2015. Alanine aminotransferase 1 (OsAlaAT1) plays an essential role in the regulation of starch storage in rice endosperm. *Plant Science*, **240**:79–89.
- Zhang C, Zhu J, Chen S, Fan X, Li Q, Lu Y et al. 2019. *Wxlv*, the ancestral allele of rice waxy gene. *Molecular Plant*, **12**(8): 1157–1166.
- Zhang L, Zhao L, Lin L, Zhao L, Liu Q, Wei C. 2018. A novel mutation of OsPPDKB, encoding pyruvate orthophosphate dikinase, affects metabolism and structure of starch in the rice endosperm. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**(8):2268.
- Zhou H, Wang L, Liu G, Meng X, Jing Y, Shu X et al. 2016. Critical roles of soluble starch synthase SSIIIa and granule-bound starch synthase Waxy in synthesizing resistant starch in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **113**(45):12844–12849.