

# Nghiên cứu liên kết trên toàn hệ gen (GWAS) về khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của cây lúa

Dương Xuân Tú<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Hương<sup>1</sup>, Lê Thị Thanh<sup>1</sup>, Nguyễn Thế Dương<sup>1</sup>, Simon McQueen Mason<sup>2</sup>, Claire Halpin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Đại học York, Vương quốc Anh

<sup>3</sup>Đại học Dundee, Vương quốc Anh

Ngày nhận bài 4/9/2020; ngày chuyển phản biện 11/9/2020; ngày nhận phản biện 16/10/2020; ngày chấp nhận đăng 21/10/2020

## Tóm tắt:

Nghiên cứu liên kết trên toàn hệ gen (genome-wide association study - GWAS) là một công cụ hiện đại để xây dựng bản đồ di truyền liên kết các tính trạng số lượng (QTL) ở cây trồng. Trong nghiên cứu này, các tác giả đưa ra kết quả GWAS tính trạng khả năng đường hóa của cây lúa dựa trên cơ sở dữ liệu giải trình tự kiểu gen (GBS) và khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của 170 mẫu giống lúa thuộc nhóm Indica được thu thập ở Việt Nam. Kết quả thu được 328.656 SNP trên 12 nhiễm sắc thể (NST), trung bình 1 SNP/1 kb. Khả năng đường hóa từ rơm rạ của 170 mẫu giống lúa dao động từ 27,92 đến 132,56 nmol/mg/h (vụ xuân 2017) và 31,98-148,63 nmol/mg/h (vụ mùa 2017). Kết quả GWAS, tại giá trị  $\text{Log}_{10}(\text{P-value}) \geq 3$  đã xác định được 7 vị trí SNP trên NST số 6 với mức ý nghĩa  $p < 0,001$  và tần số alen từ 23 đến 35% liên quan đến khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của cây lúa. Tại vị trí của các SNP này (peak SNP), 24 gen đã được dự kiến nằm trong các vùng QTL liên quan đến khả năng đường hóa ở rơm rạ của cây lúa. Trong đó, 4 gen là LOC\_Os06g39070 (GT1), LOC\_Os06g39080 (GT1), LOC\_Os06g39390 (AT10) và LOC\_Os06g39470 (AT8) có các chức năng liên quan đến tổng hợp chất ở thành tế bào và khả năng phân hủy lignocellulose ở cây lúa. Các gen này được tiếp tục nghiên cứu để phát triển các chỉ thị phân tử sử dụng trong chọn tạo giống lúa theo hướng có rơm rạ chuyển hóa đường cao.

**Từ khóa:** chuyển hóa đường, liên kết không cân bằng, lúa, nghiên cứu trên hệ gen, rơm rạ.

**Chỉ số phân loại:** 4.6

## Bật vấn đề

Cây lúa (*Oryza sativa* L.) là nguồn cung cấp lương thực cho hơn một nửa dân số trên thế giới, đặc biệt là nguồn lương thực chủ yếu ở các quốc gia châu Á [1]. Tuy nhiên, sản xuất lúa hiện nay đang phải đối mặt với những hệ quả của biến đổi khí hậu như xâm nhập mặn và những diễn biến bất thường của thời tiết (hạn, úng, lũ lụt, nóng...). Mặt khác, sản xuất lúa cũng là một trong những tác nhân gây biến đổi khí hậu do tạo ra phát thải, đặc biệt là việc đốt rơm rạ sau khi thu hoạch lúa.

Khi rơm rạ bị đốt cháy sẽ giải phóng ra các chất khí  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ , các oxit ni tơ ( $\text{NO}_x$ ) và một lượng tương đối nhỏ dioxit sulphur ( $\text{SO}_2$ ). Các chất khí này thải ra bầu khí quyển là những chất gây hiệu ứng nhà kính [2, 3]. Tỷ lệ rơm rạ sau thu hoạch chiếm 50-70% tổng sinh khối, tùy thuộc vào giống và kỹ thuật canh tác [4, 5]. Hàng năm thế giới sản xuất được 780-800 triệu tấn lúa thì cũng đồng thời tạo ra 800-1.000 triệu tấn rơm rạ [1]. Theo Tổng cục Thống

kê (2016, 2017, 2018), sản lượng lúa của Việt Nam trong những năm gần đây đạt trung bình 43,3 triệu tấn/năm, tương đương với sản lượng rơm rạ tạo ra là 50-55 triệu tấn. Nguồn phế thải này nếu được khai thác hợp lý sẽ mang lại lợi ích không nhỏ, nhưng nếu chúng bị đốt ngay sau khi thu hoạch sẽ tạo ra một lượng phát thải đáng kể cho bầu khí quyển.

Chuyển hóa xenlulo thành đường trong rơm rạ là một yếu tố quan trọng quyết định đến chất lượng khai thác và sử dụng rơm rạ vào các mục đích như chế biến thức ăn chăn nuôi, nhiên liệu sinh học, sản xuất nấm, phân bón... Nhiều nhà khoa học trên thế giới đã tiến hành các nghiên cứu để kích thích việc sử dụng rơm rạ vào sản xuất ethanol sinh học [6, 7]. Để sản xuất ethanol từ rơm rạ, bước đầu cần phải chuyển hóa được chúng thành đường. Rơm rạ càng dễ phân hủy, càng tạo điều kiện thuận lợi và hiệu suất đạt được càng cao trong quá trình thủy phân thành đường [8]. Đây chính là điều cốt lõi để có thể tận dụng triệt để nguồn rơm rạ từ sản xuất lúa gạo. Từ đây một số hướng nghiên cứu đã được mở ra, trong đó nghiên cứu di truyền bằng công nghệ sinh học,

\*Tác giả liên hệ: Email: duongtu390a@hotmail.com

# Genome-wide association study (GWAS) for digestibility in rice straw

Xuan Tu Duong<sup>1\*</sup>, Thi Huong Nguyen<sup>1</sup>, Thi Thanh Le<sup>1</sup>,  
The Duong Nguyen<sup>1</sup>, Simon McQueen Mason<sup>2</sup>, Claire Halpin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Field Crops Research Institute, VAAS

<sup>2</sup>York University, United Kingdom

<sup>3</sup>Dundee University, United Kingdom

Received 4 September 2020; accepted 21 October 2020

## Abstract:

Genome-wide association study (GWAS) based on linkage disequilibrium (LD) of single nucleotide polymorphism (SNP) provides a promising tool for the detection and fine mapping of quantitative trait loci (QTL) in plants. In this study, the authors showed GWAS for saccharification (digestibility) trait of rice straw-based on genotyping by sequencing (GBS) and the ability of sugar released from the straw of 170 rice accessions of Indica rice subspecies that were collected in Vietnam. In the GBS result, the authors obtained a total of 328,656 SNPs stored in Hapmap on the 12 chromosomes. The average density of SNP markers in our panel was 1SNP/1 kb in the rice genome. The saccharification (sugar released) from the straw of 170 rice accessions ranged from 27.92-132.56 nmol/mg/hour (for straw harvested in Spring 2017) and from 31.98-148.63 nmol/mg/hour (for straw harvested in Summer season 2017). The results of GWAS for saccharification, at  $\text{Log}_{10}(\text{P-value}) \geq 3$  with significant  $p < 0.001$  the authors identified 7 peak SNPs on chromosome 6 with the frequency of minor allele from 23 to 35%. Based on the LD to search within  $\pm 200$  kb of peak SNP, and based on whether the function of the genes had been characterized before in rice, the authors identified 24 candidate genes on chromosome 6 for saccharification. Among them, 4 genes are LOC\_Os06g39070 (GT1), LOC\_Os06g39080 (GT1), LOC\_Os06g39390 (AT10) and LOC\_Os06g39470 (AT8) have functions related to cell wall synthesis and lignocellulose degradation in rice. These candidate genes are further researched to develop molecular markers used in rice breeding with the trait of high saccharification of straw and to detect genes for high saccharification rice straw.

**Keywords:** genome-wide association study, linkage disequilibrium, rice, saccharification, straw.

**Classification number:** 4.6

đặc biệt GWAS là công cụ hỗ trợ tốt cho các nhà chọn giống có cơ sở để chọn tạo được những giống lúa mới đáp ứng cho sản xuất, đồng thời rơm rạ có khả năng chuyển hóa đường cao sẽ kích thích việc khai thác và sử dụng rơm rạ, hạn chế tối đa việc đốt rơm rạ sau khi thu hoạch lúa.

GWAS dựa trên liên kết LD là một công nghệ mới cho việc xây dựng bản đồ các QTL kiểm soát các tính trạng trên toàn hệ gen với sự tiếp cận kiểu gen và kiểu hình mức phân giải cao [9]. GWAS đầu tiên được sử dụng ở người, sau đó đã trở thành một công cụ hiệu quả để xác định vị trí các gen quy định tính trạng ở nhiều loài cây trồng [10]. Giải trình tự kiểu gen với mật độ cao các SNP trên toàn hệ gen để tìm ra các trình tự đơn (haplotype) và từng vị trí SNP liên quan đến sự biến động hoặc sự sai khác của tính trạng ở các cá thể, từ đó xác định được các QTL kiểm soát tính trạng [11]. Trong những năm gần đây, sự phát triển của công nghệ hiện đại trong việc giải trình tự ADN với mật độ cao của các SNP trên toàn hệ gen, chi phí thấp đã tạo điều kiện cho sự phát triển của GWAS có hiệu quả hơn trên quần thể tự nhiên [12]. Trên thế giới cũng đã có một số công bố sử dụng GWAS để xác định các QTL kiểm soát khả năng chuyển hóa đường từ thân lá ở các loài cây trồng khác nhau như cỏ Miscanthus [13], ngô [14], cỏ alfalfa [15], lúa mạch [16]. Tuy nhiên, chuyển hóa đường từ lignocellulose là một tính trạng rất khó để đánh giá cả trên đồng ruộng và trong phòng thí nghiệm [17]. Đối với cây lúa, đã có thành công trong việc giải mã bộ gen lúa và nghiên cứu bộ gen của 3.010 mẫu giống lúa ở khu vực Đông - Nam châu Á [18], đồng thời lúa là loài tự thụ cao, có kích cỡ bộ gen nhỏ (khoảng 430 triệu gen) nên trong GWAS sẽ dễ đưa ra gen dự kiến [18]. Juan và cs (2018) [19] đã thành công trong sử dụng công nghệ GWAS để tìm ra các QTL kiểm soát các tính trạng quan trọng như thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, số bông trên cây, số hạt trên bông và độ dài bông của 193 mẫu giống lúa thuộc loài phụ Japonica. Đối với nhóm giống lúa Indica, cũng đã có những ứng dụng thành công GWAS để xác định các QTL kiểm soát các tính trạng quan trọng của cây lúa [20, 21].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành GWAS trên 170 mẫu giống lúa thuộc loài phụ Indica để dự kiến các gen nằm trên vùng QTL kiểm soát khả năng đường hóa từ rơm rạ của cây lúa. Kết quả của nghiên cứu này sẽ được tiếp tục cho các nghiên cứu tiếp theo để tìm ra gen kiểm soát tính trạng khả năng đường hóa ở cây lúa và phát triển chỉ thị phân tử cho chọn tạo giống lúa có rơm rạ chuyển hóa đường cao, nâng cao chất lượng rơm rạ để tăng cường khai thác, hạn chế việc đốt rơm rạ sau khi thu hoạch, hạn chế phát thải trong sản xuất lúa gạo.

## Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### Vật liệu nghiên cứu

170 mẫu giống lúa thuộc loài phụ Indica được thu thập tại các vùng sản xuất lúa của Việt Nam, bao gồm các giống

lúa bản địa, các giống lúa cải tiến và một số nguồn gen nhập nội đang được lưu giữ. Các mẫu giống lúa được trồng tại Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm, được thu mẫu ADN trong vụ mùa 2014 và vụ xuân 2016 cho GBS và thu mẫu rơm rạ cho phân tích khả năng đường hóa trong vụ xuân và vụ mùa 2017.

**Phương pháp nghiên cứu**

**Gieo trồng 170 mẫu giống lúa trên đồng ruộng để thu mẫu rơm rạ:** được bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh với 5 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm là 5 m<sup>2</sup>, mật độ 45 cây/m<sup>2</sup>. Kỹ thuật gieo trồng được áp dụng chung theo quy trình thí nghiệm của Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm.

**Tách chiết ADN:** mẫu lá lúa được thu tại thời điểm 30 ngày tuổi để tách chiết ADN, 2 g/cây. Sử dụng kit tách chiết DNeasy plant mini kit-Qiagen (DNeasy Plant Mini Kit and DNeasy Plant Maxi Kit Handbook 8/2000).

**Thu mẫu rơm rạ:** thu của 10 cây mẫu trong mỗi ô thí nghiệm ngay sau khi thu hoạch hạt ở giai đoạn chín 90%; thu phần thân cây từ đốt thứ 2 tính từ mặt đất, loại bỏ đốt mang bông và lá. Các mẫu rơm rạ sau khi thu hoạch được sấy khô đến khối lượng không đổi, được khử trùng trước khi gửi sang Đại học York (Vương quốc Anh) phân tích.

**Phân tích chuyển hóa đường từ rơm rạ:** được thực hiện tại Trung tâm Sản phẩm Nông nghiệp mới (Center for Novel Agricultural Product - CNAP), Đại học York, Vương quốc Anh theo phương pháp tự động được miêu tả bởi Gomez và cs (2011) [22] (hình 1).



Hình 1. Các bước trong phân tích đường hóa từ rơm rạ của cây lúa [22].

**Giải trình tự kiểu gen GBS:** được thực hiện trên Illumina platform tại Đại học Cornell (Mỹ), theo phương pháp được miêu tả bởi Elshire và cs (2011) [23]. Số liệu sau giải trình tự được xử lý bằng phần mềm TASSEL 3.0 [24].

**Phân tích GWAS:** kết hợp dữ liệu GBS và kết quả phân tích đường hóa trong rơm rạ của 170 mẫu giống lúa theo [25], xác định các SNP trong liên kết LD cho khả năng đường hóa.

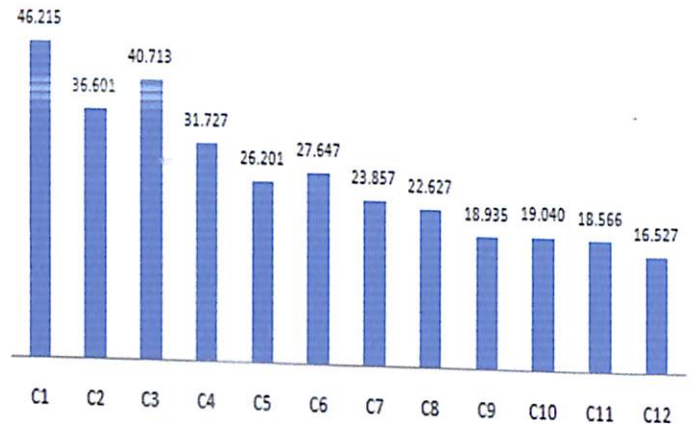
**Dự kiến các QTL/gen:** từ vị trí các SNP trong liên kết LD, tra cứu trong “Rice Genome Annotation Project” (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) và “3010 genome diversity” [18] để dự kiến các gen.

**Kết quả và thảo luận**

**GBS của 170 mẫu giống lúa**

Kết quả GBS đã đưa ra tổng số 328.656 SNP trên mạch đơn (HapMap) toàn bộ 12 NST của 170 mẫu giống lúa (hình

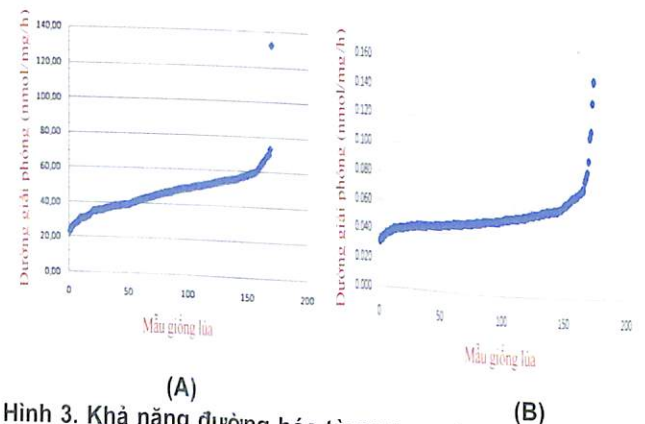
2) với mật độ trung bình là 1 SNP/1 kb trên toàn hệ gen. Mật độ SNP này là thấp hơn so với công bố của một số nghiên cứu gần đây là 1,7 SNP/kb [20] và 1,1 SNP/1 kb [21]. Các SNP này được sử dụng trong GWAS để tìm ra liên kết LD là nguyên nhân dẫn đến sự sai khác chuyển hóa đường trong rơm rạ của các mẫu giống lúa, từ đó dự kiến các gen nằm trong các vùng QTL liên quan đến chuyển hóa đường từ rơm rạ của cây lúa.



Hình 2. Số lượng các SNP được tìm ra trên 170 mẫu giống lúa nghiên cứu.

**Phân tích chuyển hóa đường từ rơm rạ của 170 mẫu giống lúa**

Kết quả phân tích mẫu rơm rạ của 170 mẫu giống lúa cho thấy sự khác nhau về khả năng chuyển hóa đường ở 2 thời vụ thu hoạch. Khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của các mẫu giống thu hoạch trong vụ xuân 2017 dao động trong khoảng từ 22,9 nmol/mg/h (ở giống nếp đỏ đuôi trâu) đến 132,6 nmol/mg/h (ở giống U17). Trong khi các mẫu rơm rạ thu trong vụ mùa 2017 có khả năng chuyển hóa đường ở mức cao hơn, dao động từ 32,0 nmol/mg/h (ở giống Lúa nương-2) đến 148,6 nmol/mg/h (ở giống Khẩu munuong) (hình 3).



Hình 3. Khả năng đường hóa từ rơm rạ của 170 mẫu giống lúa. (A) Các mẫu rơm rạ thu hoạch trong vụ xuân 2017; (B) Các mẫu rơm rạ thu trong vụ mùa 2017.

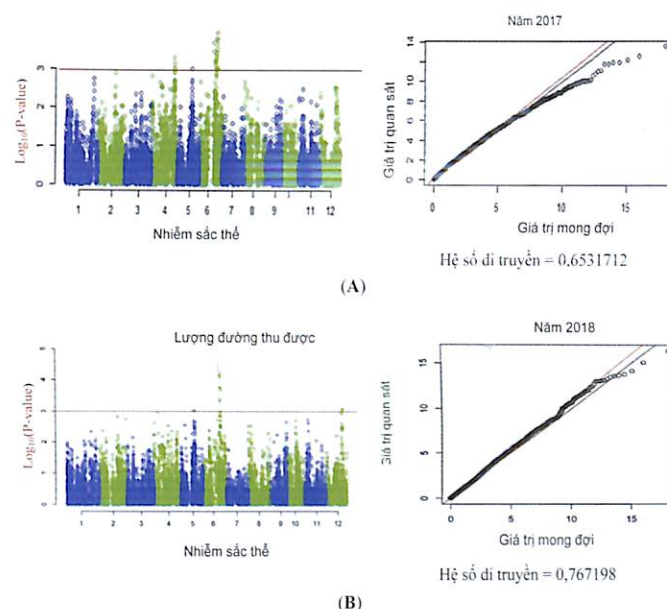
Có sự khác biệt về chuyển hóa đường từ rơm rạ của các giống lúa khác nhau trong cùng một thời vụ và cùng điều kiện canh tác. Sự khác biệt này cũng xảy ra đối với cùng một giống ở các thời vụ khác nhau (bảng 1).

**Bảng 1.** Danh sách mẫu giống cho khả năng chuyển hóa đường thấp nhất và cao nhất từ rơm rạ được thu hoạch trong vụ xuân và vụ mùa 2017.

TT	Tên mẫu giống	Khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ (nmol/mg/h)		
		Vụ xuân 2017	Vụ mùa 2017	Trung bình
<b>Nhóm mẫu giống có rơm rạ cho khả năng chuyển hóa đường thấp</b>				
1	Quế thơm	27,92	38,70	33,31
2	142m12	30,53	37,76	34,14
3	OM6377	35,31	36,22	35,76
4	SH4-11	30,94	42,29	36,61
5	IRBB3	30,63	43,65	37,14
6	Xi23	40,58	33,72	37,15
7	Lúa nương -2	42,74	31,98	37,36
8	10L142	37,65	39,12	38,38
9	OM2517	32,14	44,82	38,48
10	OM4325	27,79	50,22	39,00
<b>Nhóm mẫu giống có rơm rạ cho khả năng chuyển hóa đường cao</b>				
1	Tan nhe -1	54,62	72,13	63,38
2	IRBB7-196	44,22	83,35	63,78
3	AG-504	57,64	72,49	65,07
4	Khẩu lạn, gan mọn	37,84	94,28	66,06
5	Tê ka chặm pi	48,23	86,31	67,27
6	Khẩu lạn, gan mọn -1	35,57	110,15	72,86
7	AC5/149-13	73,26	80,50	76,88
8	Khẩu mumoong	38,06	133,90	85,98
9	Khẩu munuong	55,29	148,63	101,96
10	U17	132,56	114,00	123,28

Kết quả phân tích GWAS đã đưa ra hệ số tương quan di truyền khả năng chuyển hóa đường (phân hủy lignocellulose) từ rơm rạ của 170 mẫu giống lúa trong vụ xuân 2017 là 0,6531712 và trong vụ mùa 2017 là 0,767198 (hình 4). Sự khác biệt về khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của cùng một giống tại các thời vụ khác nhau là do ảnh hưởng của điều kiện môi trường. Tuy vậy, mức độ sai khác này cũng thể hiện khác nhau giữa các mẫu giống, sự phản ứng khác nhau của yếu tố di truyền với môi trường dẫn đến sự khác nhau về thành phần và khả năng phân hủy của lignocellulose trên thành tế bào. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Oakey và cs (2013) [17] đã được công

bổ về sự khác biệt khả năng phân hủy lignocellulose trong chuyển hóa đường trong thành phần cellulose của cây lúa do ảnh hưởng của yếu tố môi trường qua các năm khác nhau.



**Hình 4.** GWAS khả năng đường hóa từ rơm rạ trên cơ sở dữ liệu của 170 mẫu giống lúa. (A) Mẫu rơm rạ được thu trong vụ xuân 2017; (B) Mẫu rơm rạ được thu trong vụ mùa 2017.

Ở các tỉnh phía Bắc, vụ lúa xuân (tháng 1-6) và vụ lúa mùa (tháng 6-10) có sự khác biệt về thời tiết với một số yếu tố như: nhiệt độ trung bình, độ ẩm không khí, thời gian chiếu sáng ngày và cường độ ánh sáng. Sự khác biệt này dẫn đến sự khác biệt về sinh trưởng, phát triển, tích lũy chất khô để hình thành sinh khối và các thành phần sinh khối. Đây cũng là nguyên nhân của sự khác biệt về thành phần của sinh khối, hàm lượng và khả năng phân hủy của lignocellulose dẫn đến sự khác nhau về khả năng đường hóa từ rơm rạ của các mẫu giống lúa. Bên cạnh đó, yếu tố di truyền của giống cũng sẽ quyết định đến mức độ phản ứng khác nhau với điều kiện môi trường. Điều này thể hiện rất rõ trong kết quả phân tích của chúng tôi ở trên.

**GWAS xác định các SNP liên kết LD cho khả năng đường hóa**

Phân tích GWAS được thực hiện bởi nhóm nghiên cứu gồm các thành viên của Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm, Đại học York và Dundee, trên cơ sở dữ liệu kiểu gen (GBS) và kiểu hình (khả năng đường hóa từ rơm rạ) của 170 mẫu giống lúa trong vụ xuân 2017 và vụ mùa 2017 (hình 3).

Hệ số tương quan di truyền tính trạng khả năng đường hóa từ rơm rạ được tính trên sự sai kiểu gen và kiểu hình của các mẫu giống trong quần thể được đưa ra trong vụ xuân 2017 là 0,6531712 và vụ mùa 2017 là 0,767198. Tính trạng về khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ ở cây lúa có hệ

số tương quan di truyền là tương đối lớn, thể hiện được sự kiểm soát bởi kiểu gen di truyền trong môi tương tác giữa kiểu gen và môi trường để biểu hiện ra kiểu hình.

Kết quả GWAS tính trạng khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của 170 mẫu giống lúa trong cả 2 vụ, tại giá trị  $\text{Log}_{10}(\text{P-value}) \geq 3$  đã xác định được 7 vị trí SNPs liên kết LD có ý nghĩa ở mức  $p < 0,001$  và tần số alen từ 23 đến 35% (bảng 2). Các SNP trong liên kết LD này có ý nghĩa là nguyên nhân cho sự sai khác về khả năng chuyển hóa đường giữa các giống lúa.

**Bảng 2. Các SNP trong liên kết LD và các gen dự kiến về tính trạng khả năng đường hóa từ rơm rạ của cây lúa được tính ra trên toàn hệ gen.**

Vị trí	Alen chính	Alen thay thế	Tần suất alen thay thế	Gen dự kiến
S6-23197325	C	T	0,23	LOC_Os06g39070 (GT1, enzyme UDP-glucuronosyl và UDP-glucosyl transferase)
S6-23205192	C	G	0,27	LOC_Os06g39080 (GT1, enzyme UDP-glucuronosyl và UDP-glucosyl transferase) LOC_Os06g39100 (biểu hiện protein) LOC_Os06g39110 (biểu hiện protein)
S6-23231889	A	G	0,35	LOC_Os06g39120 (biểu hiện protein) LOC_Os06g39130 (protein giả định) LOC_Os06g39140 (hemoglobin-like protein HbO) LOC_Os06g39200 (biểu hiện protein) LOC_Os06g39230 (biểu hiện protein) LOC_Os06g39240 (nhân tố biệt hóa màng)
S6-23297154	A	G	0,26	LOC_Os06g39260 (vận chuyển UDP glucose) LOC_Os06g39270 (chức năng vận chuyển Flavonoid glucosyl) LOC_Os06g39290 (biểu hiện protein) LOC_Os06g39330 (biểu hiện protein)
S6-23338130	T	C	0,29	LOC_Os06g39344 (enoyl-CoA hydratase/isomerase family protein) LOC_Os06g39370 (vùng protein mang OsFBK16 F) LOC_Os06g39380 (protein giả định) LOC_Os06g39390 (AT10, chức năng vận chuyển Transferase glucuronoarabinoxylan)
S6-23441394	A	G	0,33	LOC_Os06g39410 (biểu hiện protein) LOC_Os06g39420 (biểu hiện protein) LOC_Os06g39440 (chức năng enzyme amidophosphoribosyltransferase)
S6-23451691	T	G	0,25	LOC_Os06g39470 (AT8, enzyme Feruloyl transferase) LOC_Os06g39480 (protein mang SPOC)
				LOC_Os06g39500 (biểu hiện protein)

**Dự kiến các gen cho khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của cây lúa**

Dựa vào kết quả nghiên cứu đã được công bố về phạm vi biến động trong liên kết LD ở cây lúa [26]; kết quả công bố từ “Genomic variation in 3010 diverse accessions of Asian cultivated rice” [18] và “Rice Genome Annotation Project” (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>), chúng tôi đã dự kiến được 24 gen nằm trên các vùng QTL thuộc NST số 6 liên quan đến khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của cây lúa (bảng 2) tại vị trí đỉnh của 7 SNP (peak SNP).

Các gen dự kiến được lựa chọn dựa vào các chức năng của gen đã được công bố hoặc trong nhóm gen tương tự đã được biết đến với vai trò trong sự tổng hợp hoặc biến đổi thành tế bào, liên quan đến phân hủy lignocellulose. Trong đó, LOC\_Os06g39070 và LOC\_Os06g39080 (GT1) được tìm ra trong vùng QTL có sự liên quan chặt đến khả năng chuyển hóa đường cao. Hai gen này cũng được tìm ra chức năng tham gia vào tổng hợp và vận chuyển UDP-glucuronosyl và UDP-glucosyl trong thành tế bào, liên quan đến khả năng phân hủy lignocellulose ở cây lúa [18]; LOC\_Os06g39390 (AT10) có chức năng mã hóa một co-enzyme vận chuyển p-coumaroyl tới arabinoxylan, liên quan đến quá trình tổng hợp thành tế bào và lignocellulose khả năng chuyển hóa đường ở cây lúa [24]. LOC\_Os06g39470 (AT8) cũng đã được tìm ra với chức năng vận chuyển Feruloyl trong trao đổi chất thành tế bào của cây lúa [27]. Kết quả này tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo để tìm ra gen kiểm soát tính trạng khả năng chuyển hóa đường (phân hủy lignocellulose) trong rơm rạ của cây lúa và phát triển chi thị cho chọn giống.

**Kết luận**

Kết quả phân tích trên 170 mẫu giống lúa thu thập ở Việt Nam cho thấy có sự biến động về khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của các mẫu giống trong cùng một điều kiện canh tác và mùa vụ (từ 27,92-132,56 nmol/mg/h trong vụ xuân 2017 và 31,98-148,63 nmol/mg/h trong vụ mùa 2017). Kết quả cũng cho thấy có sự khác nhau về khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ trong cùng một giống được thu hoạch ở thời vụ khác nhau. Kết quả này góp phần khẳng định tính trạng chuyển hóa đường từ rơm rạ của cây lúa là do gen di truyền kiểm soát trong sự tương tác với điều kiện môi trường để hình thành tính trạng. Kết quả GBS trên 170 mẫu giống lúa, đã thu được 328.656 SNP trên 12 NST. GWAS về tính trạng chuyển hóa đường từ rơm rạ của cây lúa trong nghiên cứu này có hệ số tương quan di truyền 0,65-0,77 trong vụ xuân và vụ mùa. Kết quả GWAS đã xác định được 7 vị trí SNPs trên NST số 6 có ý nghĩa ở mức  $p < 0,001$  và tần số alen từ 23 đến 35% trong liên kết LD là nguyên nhân dẫn đến sự sai khác cho khả năng đường hóa từ rơm rạ ở các giống lúa. 24 gen dự kiến chứa các SNP này

trên NST số 6. Trong đó, 4 gen LOC\_Os06g39070 (GT1), LOC\_Os06g39080 (GT1), LOC\_Os06g39390 (AT10) và LOC\_Os06g39470 (AT8) có các chức năng liên quan đến tổng hợp chất ở thành tế bào và khả năng phân hủy lignocellulose ở cây lúa. Kết quả nghiên cứu này rất có ý nghĩa cho việc khai thác (sử dụng cơ sở dữ liệu GBS cho GWAS một số tính trạng khác ở cây lúa) và sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo để tìm ra gen kiểm soát tính trạng khả năng chuyển hóa đường (phân hủy lignocellulose) trong rơm rạ của cây lúa và phát triển chỉ thị cho chọn giống.

## LỜI CẢM ƠN

Công trình này được thực hiện thông qua đề tài “Nghiên cứu phát triển các nguồn gen lúa thích ứng với biến đổi khí hậu (Developing rice resources for resilience to climate change and carbon emission)” do Bộ Khoa học và Công nghệ và Quỹ Newton cấp kinh phí. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] IRRI (2020), *The value of sustainable rice straw management* (retrieved from <https://www.irri.org/rice-straw-management>, on 17 Feb 2020).
- [2] Nguyễn Mậu Dũng (2012), “Ước tính lượng khí thải từ đốt rơm rạ ngoài đồng ruộng tại khu vực Đồng bằng sông Hồng”, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, **10**, tr.24-29.
- [3] L. Wang, R. Templer, R.J. Murphy (2012), “Environmental sustainability of bioethanol production from waste papers: sensitivity to the system boundary”, *Energy and Environmental Science*, **5**, pp.8281-8293.
- [4] Ministry of Economic Affairs (2013), *Rice straw and Wheat straw - Potential feedstocks for the biobased economy*.
- [5] Jiqin Ren, Peixian Yu, Xiaohong Xu (2019), “Review-straw utilization in China - status and recommendations”, *Sustainability*, **11**(6), p.1762.
- [6] P. Binod, et al. (2010), “Bioethanol production from rice straw: an overview”, *Bioresource Technology*, **101**, pp.4767-4774.
- [7] Satya Nagalakshmi, et al. (2013), “Bioethanol production from rice straw residues”, *Brazilian Journal of Microbiology*, **44**, pp.225-234.
- [8] L.D. Gomez, et al. (2008), “Sustainable liquid biofuels from biomass: the writing’s on the walls”, *New Phytol.*, **178**, pp.473-485.
- [9] A. Alqudah, et al. (2019), “GWAS: Fast-forwarding gene identification and characterization in temperate cereals: lessons from Barley - A review”, *Journal of Advance Research*, **22**, pp.119-135.
- [10] X. Huang, B. Han (2014), “Natural variations and genome-wide association studies in crop plants”, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **65**, pp.531-551.
- [11] B. Brachi, et al. (2011), “Genome-wide association studies in plants: the missing heritability is in the field”, *Genome Biology*, **12**(10), p.232.
- [12] S. Atwell, et al. (2010), “Genome-wide association study of 107 phenotypes in a common set of *Arabidopsis thaliana* inbred lines”, *Nature*, **465**, pp.627-631.
- [13] G. Slavov, et al. (2013), “Advances in the genetic dissection of plant cell walls: tools and resources available in *Miscanthus*”, *Frontiers in Plant Science*, **4**, p.217.
- [14] B.W. Penning, et al. (2014), “Genetic determinants for enzymatic digestion of lignocellulosic biomass are independent of those for lignin abundance in a maize recombinant inbred population”, *Plant Physiology*, **165**(4), pp.1475-1487.
- [15] Z. Wang, et al. (2016), “Association mapping for fiber-related traits and digestibility in alfalfa (*Medicago sativa*)”, *Plant Sciences*, **7**, p.331.
- [16] L.D. Gomez, et al. (2010), “Automated saccharification assay for determination of digestibility in plant materials”, *Biotechnol. Biofuels*, **3**, p.23.
- [17] H. Oakey, et al. (2013), “Identification of crop cultivars with consistently high lignocellulosic sugar release requires the use of appropriate statistical design and modelling”, *Biotechnology for Biofuels*, **6**, p.185.
- [18] W. Wang, et al. (2018), “Genomic variation in 3,010 diverse accessions of Asian cultivated rice”, *Nature*, **557**, pp.43-49.
- [19] Juan L. Reig-Valiente, et al. (2018), “Genome-wide association study of agronomic traits in rice cultivated in temperate regions”, *BMC Genomics*, **19**, DOI: 10.1186/s12864-018-5086-y.
- [20] X. Huang, et al. (2010), “Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces”, *Nat. Genet.*, **42**, pp.961-967.
- [21] Zhang Peng, et al. (2019), “Genome-wide association study of important agronomic traits within a core collection of rice (*Oryza sativa* L.)”, *BMC Plant Biology*, **19**, DOI: 10.1186/s12870-019-1842-7.
- [22] L.D. Gomez, et al. (2011), “High-throughput saccharification assay for lignocellulosic materials”, *Journal of Visualized Experiment*, **53**, DOI: 10.3791/3240.
- [23] R.J. Elshire, et al. (2011), “A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species”, *PLOS ONE*, **6**(5), p.19379.
- [24] L.E. Bartley, et al. (2013), “Overexpression of a BAHD acyltransferase, OsAt10, alters rice cell wall hydroxycinnamic acid content and saccharification”, *Plant Physiology*, **161**, pp.1615-1633.
- [25] J.C. Glaubitz, et al. (2014), “TASSEL-GBS: A high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline”, *PLOS ONE*, **9**(2), p.90346.
- [26] K.A. Mather, et al. (2007), “The extent of linkage disequilibrium in rice (*Oryza sativa* L.)”, *Genetics*, **177**(4), pp.2223-2232.
- [27] R.A.C. Mitchell, et al. (2007), “A novel bioinformatics approach identifies candidate genes for the synthesis and feruloylation of arabinoxylan”, *American Society of Plant Biologists*, **144**(1), pp.43-53.