

TĂNG CƯỜNG GIÁ TRỊ DINH DƯỠNG CỦA NGŨ BẰNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Nguyễn Đức Thành

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Nhu cầu về ngô ngày càng tăng trên phạm vi thế giới và Việt Nam. Ngô cũng giống như các cây ngũ cốc khác có hàm lượng một số chất dinh dưỡng quan trọng thấp, đặc biệt là các chất như lysine, vitamin A, acid folic, sắt, kẽm và selenium. Chính vì thế, các nhà khoa học đã có nhiều nỗ lực trong nghiên cứu nâng cao giá trị dinh dưỡng của cây ngũ cốc nói chung và cây ngô nói riêng. Bài báo này tổng quan các kết quả nghiên cứu về cải tiến dinh dưỡng của cây ngô bằng công nghệ sinh học. Trong đó tập trung vào các công trình cải tiến chất lượng protein, hàm lượng carotenoid và các vi dưỡng chất như sắt và kẽm. Những kết quả nghiên cứu này đã mở ra triển vọng cho việc cải tiến chất lượng dinh dưỡng ở cây ngũ cốc, trong đó có cây ngô nói riêng; đồng thời cũng cho thấy những vấn đề cần được tiếp tục nghiên cứu về hướng này.

Từ khóa: *Zea mays*, cây ngũ cốc, công nghệ sinh học, giá trị dinh dưỡng, protein chất lượng cao, vitamin A.

Nhìn chung, các loại hạt ngũ cốc đều nghèo các chất như lysine, vitamin A, folic acid, sắt, kẽm và selenium, trong khi các chất này lại hết sức quan trọng cho trao đổi chất và phát triển bình thường của con người. Một phần ba dân số thế giới phân lớn ở châu Phi và Đông Nam Á sử dụng ngũ cốc như nguồn dinh dưỡng chính (Christou & Twyman, 2004). Nhu cầu về lương thực, thức ăn chăn nuôi và nhiên liệu trên thế giới ngày một tăng và đã vượt xa so với khả năng sản xuất. Theo dự báo, đến 2020 nhu cầu về ngũ cốc trên thế giới tăng 45%; trong khi ở châu Á, nhu cầu về ngô sẽ tăng 87% so với 1995 (IFPRI, 2003). Ở Việt Nam, ngô là cây lương thực đứng thứ hai sau cây lúa. Sản lượng ngô ở Việt Nam không đáp ứng do yêu cầu ngày càng tăng, vì vậy, việc nhập khẩu ngô ngày một gia tăng. Năm 2013, Việt Nam phải nhập khẩu 2,6 triệu tấn, năm 2014 trên 3,0 triệu tấn (Mai Xuan Trieu, 2014), năm 2015 lên tới 7,55 triệu tấn, tăng 71,2% so với năm 2014 (<http://cafef.vn/nong-thuysan.html>). Nhu cầu ngày càng tăng, trong khi chất lượng dinh dưỡng của ngô lại kém, chính vì vậy, việc thiếu dinh dưỡng do sử dụng ngô là một thách thức lớn đối với thế giới và Việt Nam. Đây cũng là lý do cho nhiều nỗ lực trong nghiên cứu nhằm cải thiện giá trị dinh dưỡng của cây ngũ cốc nói chung và cây ngô nói riêng. Bài báo này tổng quan các kết quả nghiên cứu về nâng cao chất

lượng dinh dưỡng của cây ngô bằng công nghệ sinh học nhằm cung cấp những cơ sở khoa học và thực tiễn cho việc tăng cường giá trị dinh dưỡng của cây ngô. Những kết quả nghiên cứu nhận được về cải tiến chất lượng protein, gia tăng tổng hợp carotenoid, các nguyên tố vi lượng sắt và kẽm v.v. đã mở ra triển vọng cho việc cải thiện chất lượng dinh dưỡng ở ngô và các cây ngũ cốc; đồng thời cũng cho thấy những vấn đề cần được tiếp tục nghiên cứu.

Thành phần dinh dưỡng của ngô

Thành phần dinh dưỡng chủ yếu của ngô bao gồm protein, lipid, carbohydrate, một số vitamin (B1, PP) và các carotenoid tiền vitamin A.

Hàm lượng protein của các giống ngô thường dao động từ 8 đến 11% (<http://www.fao.org/docrep/t0395e/t0395e03.htm>). Protein chính của ngô là zein, một loại prolamine gần như không có lysine và tryptophan. Trong hạt ngô toàn phần có 4-5% lipid, phần lớn tập trung ở mầm. Trong chất béo của ngô có 50% là acid linoleic, 31% là oleic acid, 13% là panmitic acid và 3% là stearic acid. Carbohydrate trong ngô chiếm khoảng 72-73%, chủ yếu là tinh bột. Ngoài ra ở hạt ngô non có thêm một số đường đơn và đường kép. Ngô chứa ít canxi nhưng nhiều phospho. Vitamin tập trung ở lớp ngoài hạt ngô và ở mầm. Ngô có

nhiều vitamin B1 nhưng vitamin PP thấp cộng với việc thiếu tryptophan-một tiền chất để tạo vitamin PP. Vì vậy, nếu ăn ngô đơn thuần và kéo dài sẽ mắc bệnh Pellagra (bệnh thiếu vitamin PP).

Hàm lượng carotenoid tiền vitamin A ở ngô rất thấp. Trong hạt ngô chứa chủ yếu các dạng carotenoid tiền vitamin A gồm α -carotene, β -carotene và β -cryptoxanthin nhưng hàm lượng thấp với giá trị tương ứng từ 0,0-1,3; 0,13-2,7 và 0,13-1,9 nmol/g (Kurilich Juvik, 1999). Hiện nay, nhờ sự cố gắng trong nghiên cứu cải tạo giống, các nhà khoa học đã tạo được giống ngô có hàm lượng β -carotene tổng số đạt 15 μ g/g so với 0,1 μ g/g ở giống ngô bình thường (<http://www.news.uiuc.edu/news/08/0117maize.html>). Tuy nhiên, hàm lượng này vẫn rất thấp khi so sánh với carrot (83,32 μ g/g) (<http://www.healthaliciousness.com/articles/natural-food-sources-of-beta-carotene.php>).

Hàm lượng các chất vi lượng như sắt và kẽm ở ngô cũng thấp (Bouis, 2000; Welch Graham, 2002). Hàm lượng kẽm trung bình trong hạt ngô là 2,0 mg/100 g hạt (Ortiz-Monasterio et al., 2007) còn hàm lượng sắt chỉ từ 1,2 đến 3,6 mg/100 g (Queiroz et al., 2011).

Do thiếu lysine, tryptophan, ít tiền vitamin A, kẽm và sắt nên chất lượng dinh dưỡng của ngô là rất kém. Để cải thiện chất lượng dinh dưỡng của ngô đã có nhiều cố gắng trong việc tạo giống ngô chất lượng protein cao (Sofi et al., 2009), gia tăng hàm lượng carotenoid, đặc biệt là các carotenoid tiền vitamin A (WHO, 2009), tăng hàm lượng sắt (Tako et al., 2013) và kẽm (Welch Graham, 2002).

Các cách tiếp cận cho tăng cường chất lượng dinh dưỡng ở ngô

Hội nghị ngô châu Á lần thứ 12 và Hội đàm chuyên gia cho các vấn đề về “Ngô cho an ninh lương thực, thức ăn chăn nuôi, dinh dưỡng và môi trường” diễn ra tại Bangkok từ 29/10 đến 01/11/2014 do Hội các viện nghiên cứu nông nghiệp châu Á-Thái Bình Dương, Trung tâm Cải tiến lúa mì và ngô (CYMMIT), Tổ chức Nông Lương quốc tế (FAO) và Cục Nông nghiệp Thái Lan tổ chức đã đưa ra các khuyến cáo về phát triển cây ngô trong vùng. Các

chuyên gia đã khuyến cáo việc phát triển các giống ngô có hàm lượng dầu cao, protein chất lượng và tăng cường tổng hợp carotenoid tiền vitamin A cần được ưu tiên phát triển. Ngoài ra, các giống ngô với hàm lượng methionine, zeaxanthin, vitamin E cũng cần được quan tâm. Chính vì vậy, cải tiến chất lượng các giống ngô là yếu tố then chốt xác định sản lượng và năng suất ngô. Do đó, vấn đề cấp thiết là phải tạo ra các giống ngô có chất lượng hạt tốt với các tính trạng cần thiết như chất lượng protein, hàm lượng carotenoid cao.

Để tăng cường chất lượng protein, có thể sử dụng đột biến (Mertz et al., 1964; Nelson et al., 1965) và kỹ thuật di truyền (Segal et al., 2003; Lang et al., 2004; Yu et al., 2004; Hoang et al., 2005; Yue et al., 2014). Với sự phát triển của các nghiên cứu ở mức độ phân tử, việc ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn giống ngô với protein chất lượng cao cũng là một cách tiếp cận hứa hẹn (Babu et al., 2005; Danson et al., 2006).

Ngoài protein, carotenoid tiền vitamin A, hàm lượng sắt và kẽm trong hạt ngô cũng là đối tượng hiện đang được quan tâm trong chiến lược tăng cường giá trị dinh dưỡng của các cây ngũ cốc nói chung (Masuda et al., 2012; Velu et al., 2014) và ngô nói riêng (Hadley et al., 2002; Saltzman et al., 2013).

Gia tăng hàm lượng carotenoid tiền vitamin A có thể sử dụng công nghệ gen với việc sử dụng các gen tham gia vào quá trình tổng hợp (Fraser Bramley, 2004; Zhu et al., 2008) và tích lũy carotenoid (Li et al., 2012).

Để tăng cường hàm lượng các kim loại vi lượng trong cây có thể bổ sung kim loại vào phân bón (Lyons et al., 2004), hay sử dụng phương thức trồng trọt truyền thống (Ortiz-Monasterio et al., 2007) hoặc phương thức trồng trọt truyền thống kết hợp với đột biến để cải tiến hàm lượng dinh dưỡng của cây. Xác định các giống cây ngũ cốc có hàm lượng vi dưỡng chất cao và sử dụng phương pháp chọn bằng chỉ thị phân tử để chuyển các tính trạng này vào các cây trồng phổ biến cũng là một hướng tiếp cận nhiều triển vọng (White Broadley, 2005).

Tăng cường chất lượng protein của ngô

Giống như các cây ngũ cốc, protein của ngô

nghèo dinh dưỡng do có hàm lượng các acid amin không thay thế thấp. Hàm lượng lysine trong protein ngô chỉ đạt dưới 3%, thấp hơn nhiều so với khuyến cáo của FAO đối với dinh dưỡng ở người là 5,5% (FAO, 1973). Ngoài ra, các acid amin khác của ngô như tryptophan, threonine và methionine trong protein ngô cũng thấp (Shewry Tatham, 1999; Shewry, 2000).

Protein ngô chứa 3% albumin, 3% globulin, 60% prolamin và 34% glutelin. Prolamin của ngô, còn gọi là zein được chia thành các loại α , β , γ và δ -zein phụ thuộc vào tính tan và cấu tạo protein. Zein giàu glutamine, proline, alanine và leusine nhưng hầu như không có hai acid amin không thay thế là lysine và tryptophan (Sofi et al., 2009). Nếu hàm lượng prolamin cao sẽ dẫn đến thiếu lysine và tryptophan và protein bị kém chất lượng. Thiếu một số acid amin không thay thế trong đó có lysine chất lượng dinh dưỡng của cây có thể giảm 50 đến 75% và dẫn đến hiện tượng thiếu protein ở người và làm giảm khả năng kháng bệnh, giảm protein máu, làm chậm phát triển thể chất và trí tuệ của trẻ vị thành niên và hội chứng này được gọi là hiện tượng thiếu dinh dưỡng năng lượng protein. Theo ước tính của Tổ chức Y tế thế giới có tới 30% dân số các nước đang phát triển bị hội chứng này (WHO, 2007). Các nghiên cứu ở Ấn Độ Singh et al., 1980) cho thấy, trẻ em được nuôi dưỡng bằng ngô có protein chất lượng cao khỏe mạnh hơn, sinh trưởng tốt hơn và tử vong ít hơn so với trẻ nuôi bằng ngô bình thường. Các nghiên cứu ở Ethiopia cũng cho kết quả tương tự (Akalu et al., 2010). Đối với chăn nuôi, ngô với protein chất lượng cao đặc biệt có ý nghĩa với lợn và gia cầm. Lợn và gia cầm nuôi bằng ngô protein chất lượng cao có mức độ tăng trưởng tốt hơn. Ở Brazil và El-sanvado, việc sử dụng ngô protein chất lượng cao có thể giảm sử dụng thức ăn bằng đậu tương khoảng 50% và giảm được việc sử dụng lysine tổng hợp (Lopez-Pereira, 1992), kết quả giảm được 3-5% chi phí thức ăn cho lợn và gia cầm. Ở Trung Quốc, việc sử dụng giống ngô protein chất lượng cao trong chăn nuôi đã giúp gia tăng thể trọng và hàm lượng acid amin ở lợn (Zhai, 2002).

Hiện nay trên thế giới, ngô protein chất lượng cao được trồng khoảng 2,5 triệu ha. Ở

Trung Quốc, một số giống ngô protein chất lượng cao đang được trồng trên 1000 ha và dự báo đến 2020 sẽ có khoảng 30% diện tích ngô của nước này được trồng bằng ngô protein chất lượng cao (Gill, 2008). Ở Việt Nam, việc trồng ngô với chất lượng protein cao còn rất hạn chế. Hiện nay ở Việt Nam mới sử dụng một số dòng ngô của CIMMYT như CML161, CML163 và CML165 làm bố mẹ để tạo cặp lai. Cho đến nay, Việt Nam chưa có một nghiên cứu nào về cải thiện chất lượng protein ngô.

Một trong các công trình đầu tiên về tăng cường chất lượng protein (tăng lysine hoặc tryptophan) đó là chọn các đột biến làm giảm hàm lượng zein, trong đó có các đột biến mang gen *opaque-2 (o2)* và *floury-2 (fl2)* Mertz et al., 1964; Nelson et al., 1965). Tuy nhiên, các đột biến này có nội nhũ trắng xốp dễ bị phá hủy, dễ bị bệnh và năng suất thấp (Lambert et al., 1969; Ortega et al., 1983). Một hướng nghiên cứu được đề xuất để giải quyết vấn đề này là cải biến di truyền cấu trúc của nội nhũ nhưng hướng này khó đưa vào thực tế vì phải biến đổi nhiều gen mới có thể cải tiến được nội nhũ (Hoang et al., 2004). Hy vọng thương mại hóa giống ngô có protein chất lượng cao được bắt đầu vào những năm 90 của thế kỷ trước, khi dòng ngô với đột biến *Opaque 2* mới được gọi là ngô protein chất lượng cao (QPM) được phát triển (Glover, 1992; Gibbon Larkins, 2005). Kiểu gen QPM có các tính trạng bắp và năng suất như các giống ngô khác, nhưng hiệu quả hơn về mặt dinh dưỡng, đặc biệt là đối với trẻ em ở các nước đang phát triển (Akalu et al., 2010).

Sử dụng kỹ thuật di truyền để cải tiến chất lượng protein ở ngô là một ứng dụng đầy triển vọng của công nghệ sinh học vì các phương pháp truyền thống còn nhiều hạn chế. Việc tạo ra protein có tỷ lệ lysine cao là cách tiếp cận duy nhất để cải tiến protein hạt (Sofi et al., 2009). Có hai chiến lược để tăng hàm lượng lysine trong protein: một là làm giảm sự tổng hợp zein và hai là tăng hàm lượng acid amin (lysine) tự do và sử dụng gen mã hóa cho protein giàu lysine.

Segal et al. (2003) và Hoang et al. (2005) đã sử dụng kỹ thuật RNAi để ức chế tổng hợp 22 kDa α -zein và 19 kDa α -zein ở giống ngô đột

biến O2 đã làm gia tăng hàm lượng lysine từ 16 đến 20%. Khi sử dụng RNA sợi đôi (dsRNA) để làm giảm sự tổng hợp đồng thời 22 kDa α -zein và 19 kDa α -zein đã gia tăng hàm lượng lysine từ 2,83% lên 5,63% và hàm lượng tryptophan từ 0,69% đến 1,22%. Ngoài ra, do tính chất trội của gen chuyển nên dễ dàng duy trì chất lượng so với đột biến lặn O2.

Các acid amin không thay thế như lysine, threonine và methionine ở thực vật được tổng hợp từ aspartic acid theo một chu trình phức tạp và thường có hiện tượng ức chế ngược (feed back inhibition). Aspartate kinase (AK) và dihydropicolinate synthase (DHPS) là các enzyme then chốt của chu trình này. AK có vai trò quan trọng ở giai đoạn đầu và bị ức chế bởi lysine và threonine còn DHPS ở giai đoạn cuối bị ức chế bởi lysine. Zhu et al. (2007) biểu hiện DHPS ở ngô và đã thu được cây ngô có hàm lượng lysine tự do trong hạt tăng từ 2 đến 30% trên tổng acid amin. Năm 2006, Monsanto đã đưa vào sản xuất giống ngô chuyển gen với hàm lượng lysine cao nhờ sự biểu hiện của gen *DHPS* có nguồn gốc từ *Corynebacterium* dưới sự điều khiển của promoter *globulin-1*. Hàm lượng lysine tự do trong hạt tăng từ 2500-2800 ppm lên 3500-5300 ppm. Tuy nhiên, việc sử dụng các gen từ nguồn vi sinh vật trong tạo giống cây trồng chuyển gen đã và đang tạo nên sự hoài nghi về tính an toàn của cây chuyển gen.

Hiện nay cách tiếp cận sử dụng các gen từ cây trồng trong tạo cây trồng chuyển gen (cistrangenic) đang được quan tâm để phát triển cây chuyển gen thân thiện với môi trường. Chiến lược cải tiến di truyền tăng chất lượng protein ở ngô bằng việc gia tăng hàm lượng lysine đặc biệt là lysine ở cây ngô bằng sử dụng các gen tổng hợp protein giàu lysine như *SB401* (Yu et al., 2004), *SBgLR* (Lang et al., 2004; Wang et al., 2013), *GhLRP* (Tang et al., 2013; Yue et al., 2014) từ một số cây trồng đang được quan tâm.

Gen *SBgLR* được phân lập và tách dòng từ thư viện DNA genome của khoai tây bằng việc sử dụng cDNA *SB401* làm đoạn dò. Gen *SBgLR* có 3 exon và 2 intron mã hóa cho protein gồm 211 amino acid, đây là gen mã hóa cho protein giàu lysine tự nhiên với hàm lượng lysine lên

tới 18,93%. Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy chuyển các gen *SBgLR*, *SB401* (từ khoai tây) dưới sự điều khiển của promoter *P19z* đặc hiệu cho việc biểu hiện protein dự trữ ở hạt ngô đã gia tăng hàm lượng lysine từ 16,1 đến 54,8% (Yu et al., 2004; Lang et al., 2004) so với đối chứng không chuyển gen. Gần đây gen tự nhiên mã hóa cho protein giàu lysine *GhLRP* (từ cây bông) cũng được phân lập, gen này mã hóa cho protein giàu lysine (18,97% thể tích/thể tích) và cũng đã được chuyển vào cây ngô dưới sự điều khiển của promoter *F128* đặc hiệu cho thể hiện gen ở hạt và hàm lượng lysine trong hạt ngô chuyển gen đã tăng từ 16,2 đến 65% (Yue et al., 2014). Đây là những cơ sở rất quan trọng cho nghiên cứu cải tiến chất lượng protein ở ngô bằng các gen tự nhiên mã hóa cho protein chất lượng cao.

Bên cạnh công nghệ gen, chọn giống nhờ chỉ thị phân tử (MAS) cũng đã có những kết quả khả quan. Babu et al. (2005) sử dụng MAS để chọn dòng ngô bố mẹ cho ngô lai protein chất lượng cao (QPM). Các tác giả đã phát triển được giống ngô lai Vivek-9 có chất lượng protein cao với thời gian chỉ bằng nửa so với chọn giống truyền thống. Danson et al. (2006) đã sử dụng các chỉ thị phân tử để chuyển gen *o2* vào các dòng ngô bố mẹ kháng chất diệt cỏ. Các tác giả nhận thấy việc sử dụng chỉ thị liên quan đến chất lượng protein và cải biến nội nhũ có thể tăng cường hiệu quả chọn lọc giống ngô với bấp được cải tiến và protein chất lượng cao.

Tăng cường hàm lượng carotenoid ở ngô

Carotenoid đại diện cho nhóm sắc tố đỏ, da cam, vàng phổ biến trong tự nhiên. Đây chủ yếu là nhóm C_{40} isoprenoid có vai trò quan trọng cho dinh dưỡng và sức khỏe con người. Bởi vì người không tổng hợp được vitamin A từ các isoprenoid nội sinh. Carotenoid thực vật là nguồn tiền vitamin A chính cho con người. Thiếu vitamin A là vấn đề quan trọng trong dinh dưỡng ở nhiều nơi trên thế giới, ảnh hưởng tới 250 triệu người trên thế giới và dẫn đến mù lòa cho 500.000 trẻ em hàng năm (WHO, 2009). Ngoài ra carotenoid còn có tác dụng giảm ung thư và các bệnh tim mạch (Giovannucci, 1999; Hadley et al., 2002), đặc biệt là lycopene (LYC) đỏ của cà-rốt. Các carotenoid không màu trong

quả cà chua như phytoene (PE) và phytofluene (PF) còn có vai trò là các chất có hoạt tính sinh học quan trọng đối với người và động vật. Trong chăn nuôi, nhu cầu lớn nhất về carotenoid được biết đến là nuôi cá hồi và gia cầm (Tyczkowski Hamilton, 1986).

Các phương pháp cải tiến hàm lượng Carotenoid trong thực vật

Để cải tiến hàm lượng carotenoid trong cây cần điều khiển được mức độ tăng carotenoid tổng số, bao gồm tăng tổng hợp, giảm phân hủy và tối ưu hóa dự trữ. Do đó, muốn cải tiến hàm lượng carotenoid có thể can thiệp vào chu trình tổng hợp bằng việc tăng cường biểu hiện hoặc ức chế một số gen mã hóa cho các enzyme then chốt như *PSY*, *PDS*, *ZDS*, *CrtISO* v.v. và tạo cơ quan dự trữ tối ưu.

Đã có nhiều khám phá tạo điều kiện cho việc cải thiện hàm lượng carotenoid như: xác định, phân lập và nghiên cứu các đặc điểm của các gen tham gia sinh tổng hợp carotenoid từ vi khuẩn và cơ thể đa bào (Hirschberg, 2001; Dallapenna Pogson, 2006) tạo cây chuyển gen siêu biểu hiện các gen liên quan đến sinh tổng hợp carotenoid; phát triển các công nghệ RNAi; định dạng phiên mã và trao đổi chất (transcriptional, metabolic profiling). Các khám phá này đã mở rộng hiểu biết của chúng ta về carotenoid và vai trò cũng như ảnh hưởng đa chiều của chúng.

Chuyển gen làm thay đổi sự biểu hiện các gen tham gia vào quá trình tổng hợp carotenoid đã thành công trong việc cải tiến hàm lượng carotenoid ở một số cây trồng nhằm tăng cường giá trị dinh dưỡng (Sandman, 2002; Fraser, Bramley, 2004; Taylor Ramsay, 2005; Botella-Pavia et al., 2006). Siêu biểu hiện một số gen tham gia vào tổng hợp carotenoid ở nội nhũ của lúa đã đạt được hàm lượng lên tới 31 $\mu\text{g/g}$ β -carotene, mức đáp ứng được khẩu phần vitamin A cho trẻ em sử dụng gạo hàng ngày (Paine et al., 2005). Với phương pháp tương tự, khoai tây “vàng” (Diretto et al., 2007), hạt cải dầu chứa tổng carotenoid tăng tới 50 lần đã được tạo ra (Shewmaker et al., 1999). Thêm nữa, bằng công nghệ chất trao đổi chất đã tạo ra các cây khoai tây, cà chua chứa nhiều β -carotene, lycopene và zeaxanthin (Briat et al., 1995; Romer et al., 2000).

Siêu biểu hiện gen *PSY* ở lúa dưới sự điều khiển của promoter hoạt động đặc hiệu trong mô nội nhũ đã tạo ra hạt chuyển gen tích lũy hàm lượng phytoene tới 0,75 $\mu\text{g/g}$ khối lượng khô (Burkhardt et al., 1997). Đây cũng chính là công trình đầu tiên mở ra khả năng cải tiến giống lúa theo hướng tạo cây lúa giàu carotenoid. Gen *PSY* từ ngô cũng được chuyển vào lúa tạo ra cây “lúa vàng 2” có hàm lượng β -carotene tối đa và carotenoid tổng số là 31 và 36 $\mu\text{g/g}$ khối lượng khô (Paine et al., 2005).

Siêu biểu hiện gen *CrtI* dưới sự điều khiển của promoter *CaMV 35S* (Romer et al., 2000) đã gia tăng đáng kể hàm lượng β -carotene và xanthophyll, tuy nhiên lại giảm hàm lượng lycopene và carotenoid tổng số trong quả cà chua chuyển gen. Siêu biểu hiện gen *CrtI* còn gia tăng mức độ biểu hiện các gen (*PDS*, *ZDS* and *LCY-b*). Tăng β -carotene ở quả nhưng không giảm carotenoid khi thể hiện *LCY-b* của *Arabidopsis* dưới sự điều khiển của *PDS* promoter (Rosati et al., 2000).

Ức chế các gen *LCY-e* (As-e) hoặc *CHY* (As-h) trong củ khoai tây nhằm tăng cường hàm lượng carotenoid cũng đã được tiến hành (Diretto et al., 2007), các gen *CrtI* và *CrtY* được chuyển vào khoai tây tuy nhiên hàm lượng β -carotene và corotenoid tổng số tăng không đáng kể nhưng lại giảm carotenoid ở lá.

Các gen *CrtB*, *CrtI* và *CrtY* từ vi khuẩn đã được chuyển vào khoai tây và tạo ra củ khoai tây vàng với hàm lượng β -carotene lên tới 47 $\mu\text{g/g}$ khối lượng khô (Diretto et al., 2007; Diretto et al., 2010).

Zhu et al. (2008) đã chuyển 5 gen tổng hợp carotenoid với các tổ hợp khác nhau vào dòng ngô M37WW không có carotenoid ở nội nhũ vì thiếu enzyme phytoene synthase (*PSY1*), bao gồm: *PacrtI* (*Potatoea ananatis* phytoene desaturase), *Glycb* (*Gentiana lutea* lycopene β -cyclase), *Glbch* (*G. lutea* β -carotene hydroxylase) và *ParacrtW* (*Paracoccus* β -carotene ketolase). Mỗi gen được điều khiển bởi một promoter khác nhau hoạt động đặc hiệu trong mô nội nhũ (*glutenin* lúa mì, *hordein* lúa mạch, *prolamin* lúa, *glutelin-1* lúa và γ -zein ngô). Tác giả đã phát hiện thấy có sự tương

quan giữa kiểu hình và sự biểu hiện của các gen chuyên. Kiểu hình 1 (Ph-1) biểu hiện gen *Zmpsy1* có màu giống màu của ngô vàng tự nhiên, kiểu hình 2 (Ph-2) biểu hiện gen *Pacrt1* có màu vàng nhạt. Sự biểu hiện kết hợp cả hai gen *Zmpsy1* và *Pacrt1* trong kiểu hình 3 (Ph-3) tạo ra màu vàng đỏ, trong khi sự kết hợp biểu hiện gen *Glycb* với hai gen *Zmpsy1* và *Pacrt1* trong kiểu hình 4 (Ph-4) lại tạo ra kiểu hình có màu vàng cam rõ ràng. Các kiểu hình Ph-5, Ph-6, and Ph-7 là kết quả của sự biểu hiện gen ketolase của vi khuẩn *ParacrtW* với *Zmpsy1*, *Pacrt1*, *Glbch*, *Zmpsy1*, *Pacrt1* và *Glycb*, hoặc *Zmpsy1*, *Pacrt1*, *Glycb* và *Glbch*. Các kiểu hình này có màu vàng đặc trưng đến màu đỏ.

Cây ngô chuyển gen *crtB* (mã hóa cho phytoene synthase) và *crtI* (mã hóa cho bốn bước giảm bão hòa trong chu trình tổng hợp carotenoid, được xúc tác bởi phytoene desaturase và *z*-carotene desaturase) dưới sự điều khiển của chuỗi siêu khởi động γ -zein promoter cho thể hiện gen ở nội nhũ đã được công bố và tổng carotenoid đã tăng tới 34 lần so với cây ngô không chuyển gen. Mặc dù đã có những thành công nhất định nhưng trong nhiều trường hợp, việc chỉ biến đổi các gen tham gia vào tổng hợp thì chưa đủ để đạt được mức tăng carotenoids theo mong đợi (Fraser Bramley, 2004).

Carotenoid ở thực vật được tổng hợp ở màng các lục thể và dự trữ nhiều ở sắc lạp của hoa, quả và rễ (Howitt Pogson, 2006). Sắc lạp có cơ chế đặc biệt cho dự trữ lượng lớn carotenoid bằng việc tạo ra các cấu trúc được gọi là cấu trúc carotenoid-lipoprotein nằm bên trong sắc lạp. Điều khiển sự hình thành cơ quan dự trữ mở ra một chiến lược mới cho công nghệ trao đổi chất cải thiện hàm lượng carotenoid ở các mô dự trữ của các cây lương thực. Ở rất nhiều mô không màu hoặc ít sắc tố như rễ và hạt, carotenoid được dự trữ ít ở lục thể như lục thể tạo bột (aminoplast) của hạt lúa, lúa mì, lúa miến, ngô và lục thể chứa lipid (elaioplast) của cải dầu, hướng dương. Một trong các nguyên nhân của việc tích lũy ít trong các mô này là việc thiếu chỗ dự trữ để chứa các sản phẩm cuối của quá trình tổng hợp carotenoid.

Cấu trúc dự trữ carotenoid cấu tạo bởi carotenoid, lipid và protein. Sự thay đổi thành

phần các chất này dẫn đến hình thành các thể cấu trúc dự trữ carotenoid khác nhau trong sắc lạp (Camara et al., 1995). Tổng hợp các thành phần của các cấu trúc dự trữ carotenoid đóng vai trò cơ bản trong dự trữ và tích lũy carotenoid. Các tế bào của tảo *Dunaliella bardawil* tổng hợp rất mạnh β -carotene ở lục thể khi có stress và việc siêu sản xuất này được cho là phụ thuộc vào sự hình thành cấu trúc cô lập hơn là sự thể hiện các gen hoặc các enzyme liên quan đến tổng hợp carotenoid (Rabbani et al., 1988). Các nghiên cứu này chỉ rõ sự hình thành các cấu trúc cô lập carotenoid để dự trữ đóng vai trò quan trọng trong điều hòa dự trữ carotenoid.

Kết quả nghiên cứu của Lu et al. (2006) đã cho thấy gen *Or* mã hóa protein giàu DnaJ cysteine liên quan đến sự tích lũy carotenoid. Gần đây, nghiên cứu biểu hiện gen *Or* ở khoai tây dẫn đến sự tăng cường dự trữ carotenoid mà không ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp carotenoid (Li et al., 2012), điều này cho thấy, tiềm năng sử dụng gen này để cải thiện hàm lượng carotenoid của các cây lương thực như lúa mì, lúa, lúa mạch, ngô, khoai tây và sản theo hướng tối ưu việc điều khiển hình thành cấu trúc dự trữ.

Ở Việt Nam, nghiên cứu nhằm cải thiện hàm lượng carotenoid đã được tiến hành trên cây lúa bằng việc chuyển gen tham gia vào tổng hợp β -carotene từ cây lúa chuyển gen “Golden Rice” vào một số giống lúa năng suất cao như AS996 và OM1490 bằng phương pháp lai ngược (back cross) (Tran Thi Cuc Hoa & Pham Trung Nghia, 2010). Việc nghiên cứu tăng cường thể hiện gen *Crt1* bằng các promoter khác nhau để cải tiến hàm lượng β -carotene ở lúa cũng đã được tiến hành (Tran Thi Cuc Hoa et al., 2005). Ngoài ra, chưa có công bố nào về nghiên cứu cải thiện hàm lượng carotenoid ở các cây lương thực, bao gồm cả cây ngô.

Các nghiên cứu liên quan đến cải tiến hàm lượng carotenoid ở cây ngô

Trừ giống ngô vàng có hàm lượng β -carotene cao (tuy nhiên giống ngô vàng lại không được sử dụng nhiều làm thức ăn cho người mà chủ yếu làm thức ăn gia súc), các giống ngô khác chỉ chứa 0,1 $\mu\text{g/g}$

(<http://www.news.uiuc.edu/news/08/0117maize.html>) còn các giống ngô trắng thì không chứa β -carotene. Chính vì thế, hạt ngô được xem như một đối tượng quan trọng trong công nghệ cải tiến các chất trao đổi chất nhằm gia tăng hàm lượng zeaxanthin, lutein và provitamin A carotenoid trong các cây lương thực (Messias et al., 2014). Ngô có quan hệ tiến hóa gần với một số cây lương thực khác trong họ Poaceae nên cũng có thể sử dụng các gen tham gia vào quá trình biến đổi tiền vitamin A được phát hiện ở ngô cho các loài cây thân cỏ khác (Wurtzel et al., 2012).

Nghiên cứu quá trình tổng hợp carotenoid ở ngô đã cho thấy gen *PSY*, đặc biệt là *PSY1*, ngoài chức năng quan trọng trong tổng hợp các carotenoid ở nội nhũ, gen này còn có vai trò đối với khả năng chịu nhiệt (Zhu et al., 2008).

Ở mức độ phiên mã, các gen *CrtISO*, *ZEP1* và *ZEP2* có mức độ biểu hiện tương quan ngược với hàm lượng carotenoid ở hạt, trong khi nhiều gen cần thiết cho tạo ra các tiền chất cho isoprenoid lại có tương quan thuận, trong đó có các gen như *DXS3*, *DXR*, *HDR* và *GGPPS1* (Vallabhaneni et al., 2009).

Sự phân giải carotenoid là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tích lũy và thành phần carotenoid. Có cả một họ enzyme cắt carotenoid violaxanthin và neoxanthin thành ABA và các chất trung gian thành apocarotenoids. Nhiều gen phân giải carotenoid đã được xác định ở ngô. Gen *ZmCCD1* liên kết với locus *cap1* (*wc1*) trội và allel *wc1* biểu hiện làm giảm hàm lượng carotenoid nội nhũ. Đã có chứng minh về ảnh hưởng của mức độ biểu hiện gen do có nhiều bản sao của *ZmCCD1* khi thể hiện dẫn đến sự giảm hàm lượng carotenoid (Vallabhaneni et al., 2010).

Thành phần của carotenoid là yếu tố quan trọng cần quan tâm bởi vì chỉ có các carotenoid với vòng β -ionone mới chuyển thành vitamin A. Vì thế, β -carotene là tiền vitamin A quan trọng do đó nó là carotenoid tuyệt vời để cải tiến chất lượng dinh dưỡng ở ngô. Tối ưu hóa tích lũy β -carotene cần tăng cường nhánh b- của chu trình tổng hợp cùng với việc giảm hydroxyl hóa β -carotene thành các hợp chất xanthophyll không có hoạt tính vitamin A. Hoạt động của *LCYE*

dẫn đến hình thành α -carotene và lutein, do đó làm giảm β -carotene. Có các locus *LCYE* khác nhau ảnh hưởng đến tích lũy β -carotene. Ngoài việc mã hóa cho hydroxylase, *LCYE* và *Hydroxylase3* (*HYD3*) cũng có vai trò trong điều hòa tích lũy β -carotene. Vì vậy, *LCYE* và *HYD3* là hai gen quan trọng và hứa hẹn cho việc cải thiện hàm lượng β -carotene. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có công trình nào xác định chính xác được các allel cụ thể của các gen này cho sự điều hòa tăng cường tích lũy carotenoid ở ngô và các cây ngũ cốc khác.

Một cách tiếp cận khác đang được thực hiện, đó là tăng cường điều hòa tổng hợp các tiền chất isoprenoid ở nội nhũ. Vallabhaneni et al. (2009) đã chỉ ra số lượng các chuỗi phiên mã của các gen *DXS3*, *DXR*, *HDR* và *GGPPS1* tỷ lệ thuận với hàm lượng carotenoid ở nội nhũ, vì thế các gen này có tiềm năng lớn cho cải tiến hàm lượng carotenoid. Siêu biểu hiện *DXS* ở *Arabidopsis* đã gia tăng hàm lượng isoprenoid bao gồm cả carotenoid (Estevez et al., 2001). Gần đây, với việc sử dụng thiết bị hiện đại cho phân tích liên kết rộng hệ gen (genome-wide association analysis - GWAA) các nhà nghiên cứu đã xác định được *CRTRB1*, *LCYE* và các gen khác hoặc các vùng genome chi phối các bước quan trọng ở giai đoạn trước chu trình tổng hợp như *DXS1*, *GGPS1*, và *GGPS*. Các gen này có vai trò quan trọng trong tích lũy các chất trung gian isoprenoid. Các gen hoạt động sau tổng hợp như *HYD5*, *CCD1* và *ZEP1* được xác định liên quan đến sự hydroxyl hóa và phân giải carotenoid. Các SNP (single nucleotide polymorphism) nằm trên hoặc gần các vùng này đã được xác định và đây có thể là các đích quan trọng cho việc cải tiến hàm lượng carotenoid ở cây ngô (Suwarno et al., 2015).

Ứng dụng công nghệ gen để biểu hiện các gen điều hòa tích lũy carotenoid là một hướng quan trọng cho cải tiến hàm lượng carotenoid. Các dòng ngô chuyển gen tích lũy các chất trung gian của keto-carotenoid có hạt thay đổi từ màu trắng và vàng đến màu đỏ sẫm đã được tạo ra từ giống ngô trắng (Aluru et al., 2008; Zhu et al., 2008).

Như vậy, các nghiên cứu về quá trình tổng hợp carotenoid và các quá trình trước cũng như

sau tổng hợp carotenoid đã xác định được một số gen điều hòa các quá trình này. Thêm vào đó, việc xác định các gen mã hóa cho các thành phần của cấu trúc dự trữ carotenoid cũng là những cơ sở khoa học quan trọng cho các nghiên cứu nhằm cải tiến hàm lượng carotenoid ở các cây ngũ cốc nói chung và cây ngô nói riêng.

Tăng cường các chất khoáng vi lượng ở ngô

Việc thiếu một số khoáng chất vi lượng như sắt và kẽm gây ra vấn đề nghiêm trọng cho sức khỏe đối với trên hai tỷ người trên thế giới. Sắt đóng vai trò quan trọng trong hàng loạt chu trình trao đổi chất như quang hợp, hô hấp, tổng hợp chlorophyll (Briat et al., 1995; Briat & Lobreaux, 1997). Ở người, sắt đóng vai trò quan trọng như mang oxy từ phổi đến các mô. Sắt là thành phần then chốt của hemoglobin, là môi trường vận chuyển electron trong tế bào dưới dạng cytochrome, tạo điều kiện cho việc sử dụng, tích lũy oxy trong cơ và là thành phần không thể thiếu cho các phản ứng enzyme trong các mô khác nhau. Thiếu sắt có thể dẫn đến thiếu máu, sinh trưởng kém, làm chậm phát triển thần kinh vận động và phát triển nhận thức, phá hủy cơ chế miễn dịch dẫn đến tăng bệnh tật và tử vong (WHO, 2001; Neumann et al., 2004). Bệnh thiếu máu ảnh hưởng đến 1/3 dân số thế giới (FAO, 2006; Stein, 2010). Kẽm là cofactor của hơn 300 enzyme, tham gia vào phiên mã DNA, chuyển hóa protein, acid nucleic, carbohydrate và lipid (Broadley et al., 2007; Palmer & Guerinot, 2009; Ishimaru et al., 2011) và điều chỉnh các quá trình sinh học (Rhodes & Klug, 1993; Vallee & Falchuk, 1993). Thiếu kẽm dẫn đến các bệnh tiêu chảy, hô hấp, sốt rét (WHO, 2002; Maret & Sandstead, 2006), các hệ tiêu hóa, hệ thần kinh trung ương, hệ miễn dịch, xương, hệ sinh sản là những hệ thống bị ảnh hưởng nhiều nếu thiếu kẽm (Roohani et al., 2013).

Tương tự các cây ngũ cốc khác, hàm lượng sắt và kẽm trong hạt ngô rất thấp (Bouis, 2000; Welch & Graham, 2002) với giá trị tương ứng 12,2 đến 26,7 mg/kg và 17,5 đến 42 mg/kg (Queiroz et al., 2011).

Nếu như công nghệ các chất trao đổi chất (metabolomic engineering) là công cụ hiệu quả

cho việc tăng cường các chất dinh dưỡng hữu cơ ở thực vật thì tăng cường các chất khoáng vi lượng (sắt, kẽm) cần có cách tiếp cận khác bởi vì thực vật không tổng hợp các chất này mà phải nhận gián tiếp từ môi trường xung quanh. Để tăng cường các chất khoáng vi lượng, có một số phương pháp như chuyển gen để gia tăng hàm lượng các chất khoáng vi lượng chủ yếu là sắt và kẽm bằng cách tăng cường hiệu quả hấp thụ và vận chuyển các chất này ở mô sử dụng và tăng cường lượng khoáng chất tích lũy trong thực vật (Goto et al., 1999; Masuda et al., 2009; Masuda et al., 2014). Để làm việc này, việc tìm các gen điều hòa sự tích lũy sắt và kẽm là điều kiện đầu tiên cho chương trình chọn giống bằng tăng cường sinh học (biofortification). Chọn giống nhờ chỉ thị phân tử (MAS) cũng là phương pháp có thể sử dụng. Để có thể sử dụng MAS cần xác định các QTL/gen liên quan đến hàm lượng sắt và kẽm. Một số bản đồ QTL cho mục đích này ở ngô đã được xây dựng (Lungaho et al., 2011; Qin et al., 2012). Jin et al. (2013) đã xác định được 5 QTL quan trọng bằng phương pháp phân tích QTL và 10 MQTL bằng phương pháp phân tích QTL tổng hợp (Meta-analysis for QTL) và xác định được vùng genome quan trọng cho hàm lượng sắt và kẽm ở hạt ngô.

Thảo luận và kết luận

Những kết quả nghiên cứu nhằm tăng cường chất lượng dinh dưỡng ở cây ngũ cốc nói chung và ở cây ngô nói riêng đã cho thấy triển vọng trong việc cải tiến chất lượng dinh dưỡng của ngô. Tuy nhiên, chúng ta vẫn còn rất nhiều vấn đề cần tiếp tục nghiên cứu và xem xét, ví dụ như nghiên cứu sự ảnh hưởng của việc cải tiến chất lượng dinh dưỡng đến sinh trưởng và phát triển của cây, nghiên cứu việc tìm kiếm các gen quan trọng trong chu trình tổng hợp, vận chuyển và tích lũy các chất tăng cường dinh dưỡng, nghiên cứu cải tiến công nghệ di truyền hay vấn đề về việc chấp nhận sử dụng sản phẩm của cây trồng biến đổi gen v.v. Tuy vậy, nhiều kỹ thuật mới, công nghệ mới và các kết quả khoa học mới đã và đang giúp chúng ta hiểu biết sâu hơn về cây ngô như việc giải mã genome cùng với các thông tin đầy đủ về hệ phiên mã, hệ protein

và hệ trao đổi chất là những cơ sở then chốt cho việc cải tiến chất lượng dinh dưỡng ở ngô.

Tóm lại, chọn tạo giống truyền thống, chọn giống bằng công nghệ di truyền và trợ giúp của chỉ thị phân tử đã và đang là những công cụ hữu hiệu cho mục đích tăng cường giá trị dinh dưỡng ở ngô. Đã có nhiều kết quả ấn tượng về chuyên các gen tăng cường tổng hợp và tích lũy các acid amin không thay thế, các carotenoid tiền vitamin A; các gen giúp tăng cường hấp thụ và tích lũy sắt và kẽm, đồng thời việc tìm ra các QTL quan trọng cho các tích trạng dinh dưỡng đã mở ra triển vọng trong chọn giống ngô có chất lượng dinh dưỡng cao nhờ sự trợ giúp của chỉ thị phân tử. Bên cạnh đó, việc phát triển và tiếp cận nhanh chóng các thông tin từ các nghiên cứu di truyền và hệ gen cùng với việc cải tiến công nghệ di truyền hiện đại, hiệu quả sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho mục đích tăng cường giá trị dinh dưỡng của ngô cũng như các cây ngũ cốc khác.

Lời cảm ơn: Tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Công nghệ Sinh học và Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ kinh phí đề tài cấp cơ sở CS15-01 (2015-2016) và đề tài cấp Viện Hàn lâm KH&CNVN VAST02-03 (2016-2017) cho nghiên cứu liên quan đến cải tiến chất lượng dinh dưỡng ở ngô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aluru M., Xu Y., Guo R., Wang Z. G., Li S. S., White W., Wang K., Rodermeil S., 2008. Generation of transgenic maize with enhanced provitamin A content. *J. Exp. Bot.*, 59: 3551-3562.
- Akalu G., Taffesse S., Gunaratna N. S., De Groote H., 2010. The effectiveness of quality protein maize in improving the nutritional status of young children in the Ethiopian highlands. *Food Nutr. Bull.*, 31: 418-430.
- Babu R., Nair S., Kumar A., Venkatesh S., Shekhar J., Singh N. N., Gupta H., 2005. Two generation marker aided backcrossing for rapid conversion of normal maize lines to quality protein maize. *Thero. Appl. Genet.*, 111: 888-897.
- Bouis H. E., 2000. Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. *Nutrition*, 16: 701-704.
- Botella-Pavia P., Rodriguez-Concepcion M., 2006. Carotenoid biotechnology in plants for nutritionally improved foods. *Physiol. Plant*, 126: 369-381.
- Briat J. F., Fobis-Loisy I., Grignon N., Lobreaux S., Pascal N., Savino G., Thoirion S., Wiren N. V., Wuytswinkel O. V., 1995. Cellular and molecular aspects of iron metabolism in plants. *Biol. Cell*, 84: 69-81.
- Briat J. F., Lobréaux S., 1997. Iron transport and storage in plants. *Trends Plant Sci.*, 2: 187-193.
- Broadley M. R., White P. J., Hammond J.P., Zelko I., Lux A. 2007. Zinc in plants. *New Phytol.*, 173: 677-702.
- Burkhardt P. K., Beyer P., Wunn J., Kloti A., Armstrong G. A., Schledz M., Von Lintig J., Potrykus I., 1997. Transgenic rice (*Oryza sativa*) endosperm expressing daffodil (*Narcissus pseudonarcissus*) phytoene synthase accumulates phytoene, a key intermediate of provitamin A biosynthesis. *Plant Journal*, 11(5): 1071-1078.
- Camara B., Huguency P., Bouvier F., Kuntz M., Moneger R., 1995. Biochemistry and molecular biology of chromoplast development. *Int. Rev. Cytol.*, 163: 175-247.
- Christou P., Twyman R. M., 2004. The potential of genetically enhanced plants to address food insecurity. *Nutr. Res. Rev.*, 17: 23-42.
- Danson J., Mbogori M., Kimani M., Lagat M., Kuria A., Diallo A., 2006. Marker-assisted introgression of opaque 2 gene into herbicide tolerant elite maize inbred lines. *Afr. J. Biotech.*, 5: 2417-2422.
- Dellapenna D., Pogson B. J., 2006. Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 57:711-738.
- Diretto G., Al-Babili S., Tavazza R., Papacchioli V., Beyer P., Giuliano G., 2007. Metabolic engineering of potato carotenoid content through tuber-specific

- overexpression of a bacterial mini-pathway. *PLoS ONE* 2:e350
- Diretto G., Al-Babili S., Tavazza R., Scossa F., Papacchioli V., Migliore M., Beyer P., Giuliano G., 2010. Transcriptional-metabolic networks in β -carotene-enriched potato tubers: the long and winding road to the golden phenotype. *Plant Physiol.*, 154: 899-912.
- Ducieux L. J., Morris W. L., Hedley P. E., Shepherd T., Davies H. V., Millam S., Taylor M. A., 2005. Metabolic engineering of high carotenoid potato tubers containing enhanced levels of beta-carotene and lutein. *J. Exp. Bot.*, 56:81-89.
- Estevez J. M., Cantero A., Reindl A., Reichler S., Leon P., 2001. 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, a limiting enzyme for plastidic isoprenoid biosynthesis in plants. *J. Biol. Chem.*, 276: 22901-22909.
- FAO, 1973. Energy and Protein Requirements; FAO Nutritional Meeting Report Series 52; WHO Technical Report Series 522: Rome, Italy, 1973.
- FAO, 2006. The State of Food Insecurity in the World 2006, FAO.
- Fraser P. D., Bramley P. M., 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Prog. Lipid. Res.*, 43: 228-265.
- Gibbon B. C., Larkins B. A., 2005. Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. *Trends Genet.*, 21: 227-233.
- Gill G., 2008. Quality protein maize and special purpose maize improvement. In *Recent Advances in crop improvement, CAS training at PAU from 05-25 Feb*, 377-385.
- Giovannucci E., 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J. Natl. Cancer Inst.*, 91: 317-331.
- Glover D. V., 1992. Corn protein-genetics, breeding, and value in foods and feeds. In *Quality Protein Maize* (Mertz, E. ed.), pp. 49-78. St. Paul: American Association of Cereal Chemists.
- Goto F., Yoshihara T., Shigemoto N., Toki S., Takaiwa F., 1999. Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. *Nat. Biotechnol.*, 17: 282-286.
- Hadley C. W., Miller E. C., Schwartz S. J., Clinton S. K., 2002. Tomatoes, lycopene, and prostate cancer: progress and promise. *Exp. Biol. Med.*, 227: 869-880.
- Hirschberg J., 2001. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 4(3): 210-218.
- Hoekenga O. A., Lung'aho M. G., Tako E., Kochian L. V., Glahn R. P., 2011. Iron biofortification of maize grain. *Plant Genet Resources: Characterization and Utilization*, 9(2): 327-329.
- Howitt C. A., Pogson B. J., 2006. Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. *Plant Cell Environ.*, 29:435-445.
- Huang S., Adams Zhou W. Q., Malloy K. P., Voyles D. A., Anthony J., Kriz A. L., Luethy M. H., 2004. Improving nutritional quality of maize proteins by expressing sense and antisense zein genes. *J. Agricul. Food Chem.*, 52(7): 1958-1964.
- Huang S., Kruger D., Grizz A., Ordene R., Florida C., Adams W., Brown W., Luethy M., 2005. High lysine corn produced by combination of enhanced lysine biosynthesis and reduced zein accumulation. *Plant Biotech. J.*, 3: 555-569.
- IFPRI, 2003. 2025 Projections. International model for policy analysis of agriculture commodities and trade (IMPACT) special project: Global Trend in Food Security & Demand. IFPRI, Washington, D.C.
- Ishimaru Y., Bashir K., Nishizawa N. K., 2011. Zn uptake and translocation in rice plants. *Rice*, 4: 21-27.
- Jin T., Zhou J., Chen J., Zhu L., Zhao Y., Huang Y., 2013. The genetic architecture of zinc and iron content in maize grains as revealed by QTL mapping and meta-analysis. *Breed. Sci.*, 63: 317-324; doi:10.1270/jsbbs.63.317.
- Kurilich A.C., Juvik J.A., 1999. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in

- Zea mays*. J. Agric. Food. Chem., 47:1948-55.
- Lang Z., Zhao Q., Yu J., Zhu D., Ao G., 2004. Cloning of potato *SBgLR* gene and its intron splicing in transgenic maize. Plant Sci., 166: 1227-1233.
- Lambert R., Alexander D., Dudley J., 1969. Relative performance of normal and modified protein (opaque-2) maize hybrids. Crop Sci., 9: 242-243.
- Li L., Yang Y., Xu Q., Owsiany K., Welsch R., Chitchumroonchokchai C., Lu S., Van Eck J., Deng X. X., Failla M., Thannhauser T. W., 2012. The *Or* gene enhances carotenoid accumulation and stability during post-harvest storage of potato tubers. Mol. Plant, 5(2): 339-352.
- Lopez-Pereira M. A., 1992. The economics of quality protein maize fully acknowledged as an animal feed: case studies of Brazil and El Salvador. CIMMYT Economics Working Paper 92-06. CIMMYT, Mexico, D.F.
- Lu S., Eck Van J., Zhou X., Lopez A.B., O'Halloran D. M., Cosman K. M., Conlin B. J., Paolillo D. J., Garvin D. F., Vrebalov J., Kochian L. V., Kupper H., Earle E. D., Cao J., Li L., 2006. The cauliflower *Or* gene encodes a DnaJ cysteine-rich domain containing protein that mediates high levels of beta-carotene accumulation. Plant Cell, 18: 3594-3605.
- Lung'aho M. G., Mwaniki A. M., Szalma S. J., Hart J. J., Rutzke M. A., Kochian L. V., Glahn R. P., Hoekenga O. A., 2011. Genetic and physiological analysis of iron biofortification in maize kernels. PLoS One 6: e20429. doi: 10.1371/journal.pone.0020429.
- Lyons G. H., Stangoulis J., Graham R. D., 2004. Exploiting micronutrient interaction to optimize biofortification programs: The case for inclusion of selenium and iodine in the Harvest Plus Program. Nutr. Rev., 62: 247-252.
- Mai Xuan Trieu, 2014. Maize production in Vietnam. 12 Maize conference and expert consultation on "Maize for food, feed, nutrition and environmental security" 30 October-01 November, 2014, Bangkok, Thailand. Extended Summaries. pp. 332-338.
- Maret W., Sandstead H. H., 2006. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. J. Trace Elem. Med. Biol., 20: 3-18.
- Masuda H., Usuda K., Kobayashi T., Ishimaru Y., Kakei Y., Takahashi M., Higuchi K., Nakanishi H., Mori S., Naoko K., Nishizawa N. K., 2009. Overexpression of the barley nicotianamine synthase gene HvNAS1 increase iron and zinc concentrations in rice grains. Rice, 2: 155-166.
- Masuda H., Ishimaru Y., Aung M. S., Kobayashi T., Kakei Y., Takahashi M., Higuchi K., Nakanishi H., Nishizawa N. K., 2012. Iron biofortification in rice by the introduction of multiple genes involved in iron nutrition. Sci. Report 2: 543 DOI: 10.1038/srep00543.
- Messias R. S., Galli V., dos Anjose Silva S. D., Rombaldi C. V., 2014. Carotenoid biosynthetic and catabolic pathways: Gene expression and carotenoid content in grains of maize landraces. Nutrients, 6: 546-563.
- Mertz E. T., Bates L. S., Nelson E. Z., 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. Science, 145: 279-280.
- Nelson E. Z., Mertz E. T., Bates L. S., 1965. Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. Science, 150: 1469-1470.
- Neumann C. G., Gewa C., Bwibo N. O., 2004. Child nutrition in developing countries. Pediatr Ann, 33(10): 658-674.
- Ortega E. I., Bates L. S., 1983. Biochemical and agronomic studies of two modified hard-endosperm *opaque-2* maize (*Zea mays* L.) populations. Cereal Chem., 60: 107-111.
- Ortiz-Monasterio J. I., Palacios-Rojas N., Meng E., Pixley K., Trethowan R., Pena R. J., 2007. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. J. Cereal Sci., 46:293-307.

- Paine J. A., Shipton C. A., Chaggar S., Howells R. M., Kennedy M. J., Vernon G., Wright S. Y., Hinchliffe E., Adams J. L., Silverstone A. L., Drake R., 2005. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. *Nat. Biotechnol.*, 23: 482-487.
- Palmer C. M., Guerinot M. L., 2009. Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Nat. Chem. Biol.*, 5: 333-340.
- Queiroz V. A. V., de Oliveira Guimaraes P. E., Queiroz L. R., de Oliveira Guedes E., Vasconcelos V. D. B., Guimaras L. J., de Aquino Ribeiro P. E., Schaffert R. E., 2011. Iron and zinc availability in maize lines. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 31(3): 577-583.
- Qin H. N., Cai Y. L., Liu Z. Z., Wang G. Q., Wang J. G., Guo Y. Wang H., 2012. Identification of QTL for zinc and iron concentration in maize kernel and cob. *Euphytica*, 187: 345-358.
- Rabbani S., Beyer P., Lintig J., Huguency P., Kleinig H., 1998. Induced beta-carotene synthesis driven by triacylglycerol deposition in the unicellular alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiol.*, 116: 1239-1248.
- Rhodes D., Klug A., 1993. Zinc fingers. *Sci. Am.*, 268: 56-65.
- Romer S., Fraser P. D., Kiano J. W., Shipton C. A., Misawa N., Schuch W., Bramley P. M., 2000. Elevation of the provitamin A content of transgenic tomato plants. *Nat. Biotechnol.*, 18: 666-669.
- Rosati C., Aquilani R., Dharmapuri S., Pallara P., Marusic C., Tavazza R., Bouvier F., Camara B., Guiliano G., 2000. Metabolic engineering of beta-carotene and lycopene content in tomato fruit. *Plant Journal*, 24(3): 413-420.
- Roohani N., Hurrell R., Kelishadi R., Schulin R., 2013. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 18(2):144-157.
- Saltzman A., Birol E., Bouis H. E., Boy E., De Moura F. F., Islam Y., Pfeiffer W. H., 2013. Biofortification: Progress toward a more nourishing future. *Global Food Security*, 2: 9-17.
- Sandmann G., 2002. Molecular evolution of carotenoid biosynthesis from bacteria to plants. *Physiol. Plant*, 116: 431-440.
- Segal G., Songh R., Messing J., 2003. A new opaque variant of maize by single dominant RNA-I inducing transgene. *Genet.*, 165: 387-397.
- Shewmaker C. K., Sheehy J. A., Daley M., Colburn S., Ke D. Y., 1999. Seed-specific overexpression of phytoene synthase: increase in carotenoids and other metabolic effects. *Plant J.*, 20: 401-412.
- Shewry P. R., Tatham A. S., 1999. The characteristics, structures and evolutionary relationships of prolamins. In *Seed Proteins*; Shewry, P. R., Casey, R., Eds.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands, pp 11-33.
- Shewry P. R., 2000. Seed proteins. In *Seed Technology and its Biological Basis*; Black, M., Bewley, J. D., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2000; pp 42-84.
- Singh J., Koshy S., Agarwal K., Singh N. N., Lodha M., Sethi A., 1980. Relative efficiency of opaque-2 maize in growth of preschool children. *Ind. J. Nutr. Dietet.*, 17: 326-334.
- Sofi P. A., Wani S. A., Rather A. G., Wani S. H., 2009. Review article: Quality protein maize (QPM): Genetic manipulation for the nutritional fortification of maize. *J. Plant Breed. Crop Sci.*, 1(6): 244-253.
- Stein A. J., 2010. Global impacts of human mineral malnutrition. *Plant Soil*, 335: 133-154.
- Suwarno W. B., Pixley K. V., Palacios-Rojas N., Kaeppler S. M., Babu R., 2015. Genome-wide association analysis reveals new targets for carotenoid biofortification in maize. *Theor. Appl. Genet.*, 128: 851-864.
- Tako E., Hoekenga O. A., Kochian L. V., Glahn R. P., 2013. High bioavailability iron maize

- (*Zea mays* L.) developed through molecular breeding provides more absorbable iron in vitro (Caco-2 model) and in vivo (*Gallus gallus*). Nutrition Journal, 12: 3. doi:10.1186/1475-2891-12-3
- Tang M., He X., Luo Y., Ma L., Tang X., Huang K., 2013. Nutritional assessment of transgenic lysine-rich maize compared with conventional quality protein maize. J. Sci. Food Agric., 93: 1049-1054.
- Taylor M., Ramsay G., 2005. Carotenoid biosynthesis in plant storage organs: recent advances and prospects for improving plant food quality. Physiol. Plant, 124:143-151.
- Tran Thi Cuc Hoa, Al-Babili S., Schaub P., Potrykus I., Beyer P., 2005. Approach to improve *CrtI* expression in rice endosperm for increasing the β -carotene in Gold Rice. Omonrice, 13: 1-11.
- Tran Thi Cuc Hoa, Pham Trung Nghia, 2010. Expression of β -Carotene in advanced back crosses of the high-yield rice varieties to the transgenic gold rice lines. Omonrice, 17: 1-7.
- Tyczkowski J. K., Hamilton P. B., 1986. Absorption, transport, and deposition in chickens of lutein diester, a carotenoid extracted from marigold (*Tagetes erecta*) petals. Poultry Sci., 65: 1526-1531.
- Vallabhaneni R., Gallagher C. E., Lic ciardello N., Cuttriss A. J., Quinlan R. F., Wurtzel E. T., 2009. Metabolite sorting of a germplasm collection reveals the Hydroxylase3 locus as a new target for maize provitamin A biofortification. Plant Physiol., 151:1635-1645.
- Vallabhaneni R., Bradbury L. M. T., Wurtzel E. T., 2010. The carotenoid dioxygenase gene family in maize, sorghum, and rice. Arch. Biochem. Biophys., 504: 104-111.
- Vallee B. L., Falchuk K. H., 1993. The biochemical basis of zinc physiology. Physiol. Rev., 73: 79-118.
- Velu G., Ortiz-Monasterio I., Cakmak I., Hao Y., Singh R. P., 2014. Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. J. Cereal Sc., 59(3): 365-372.
- Wang M., Liu C., Li S., Zhu D., Zhao Q., Yu J., 2013. Improved nutritive quality and salt resistance in transgenic maize by simultaneously overexpression of a natural Lysine-rich protein gene, *SBGLR*, and an ERF transcription factor gene, *TSRF1*. Int. J. Mol. Sci., 14: 9459-9474.
- Welch R. M., Graham R. D., 2002. Breeding crops for enhanced micronutrient content. Plant Soil, 245: 205-214.
- White P. J., Broadley M. R., 2005. Biofortifying crops with essential mineral elements. Trends Plant Sci., 10: 586-593.
- WHO, 2002. World Health Report 2002. <http://www.who.int/whr/2002/en/>.
- WHO, 2001. Iron deficiency anemia assessment, prevention and control. A guide for program managers. Geneva: WHO/NDH: 15-21.
- WHO, 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition. In: Report of a joint WHO/FAO/UNU experts concl. Geneva: Switzerland WHO Press, http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf.
- WHO, 2009. Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005. In: WHO Global Database on Vitamin A Deficiency, pp 1-55.
- Wurtzel T. E., Cuttriss A., Vallabhaneni R., 2012. Maize provitamin A carotenoids, current resources, and future metabolic engineering challenges. Frontiers in Plant Sci., 3:1-12, doi: 10.3389/fpls.2012.00029.
- Yu J., Peng P., Zhang X., Zhao Q., Zhu D., Sun X., Liu J., Ao G., 2004. Seed-specific expression of the lysine-rich protein gene sb401 significantly increases both lysine and total protein content in maize seeds. Mol. Breed., 14: 1-7.
- Yue J., Li C., Zhao Q., Zhu D., Yu J., 2014. Seed-specific expression of a Lysine-rich protein gene, *GhLRP*, from cotton significantly increases the Lysine content in maize seeds. Int. J. Mol. Sci., 15: 5350-5365. doi:10.3390/ijms15045350.

- Zhai S., 2002. Nutritional evaluation and utilization of QPM Zhang Dan 9404 in laying ren feeds. M.Sc. Thesis. North Western Agri. & Forestry Univ. of Sci. & Tech, China, 13-21.
- Zhu C., Naqvi S., Sonia G., Pelacho A., Capell T., Christou P., 2007. Transgenic strategies for nutritional enhancement of plant. Trends Plant Sci 12: 548-555.
- Zhu C. F., Naqvi S., Breitenbach J., Sandmann G., Christou P., Capell T., 2008. Combinatorial genetic transformation generates a library of metabolic phenotypes for the carotenoid pathway in maize. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105: 18232-18237.
- <http://www.fao.org/docrep/t0395e/t0395e03.htm>.
- <http://www.healthaliciousness.com/articles/natural-food-sources-of-beta-carotene.php>.
- <http://www.news.uiuc.edu/news/08/0117maize.html>.
- <http://cafef.vn/nong-thuy-san>.

THE ENHANCEMENT OF NUTRITION VALUE OF MAIZE BY BIOTECHNOLOGY

Nguyen Duc Thanh

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

The demand on maize is increasing both in the world and Vietnam. While, as other cereals, maize is low in important nutrition compounds, especially, lysine, vitamin A, folic acid, iron, zinc and selenium. Therefore, there have been many attempts in the researches on improvement of nutrition value of cereal crops, in general, and maize, in particular. This article reviews the published results obtained from the studies aimed to enhance maize nutrition value by biotechnological tools. Especially, the progress in the improvement of protein quality, carotenoid content and micro-nutrition elements such as ferrous and zinc will be highlighted. The published results showed bright prospect for the improvement of nutrition value of maize and other cereal crops as well as the issues that need the further investigation.

Keywords: *Zea mays*, Biotechnology, cereals, nutrition value, high quality protein, vitamin A.

Citation: Nguyen Duc Thanh, 2017. The enhancement of nutrition value of maize by biotechnology. Tap chi Sinh hoc, 39(1): 1-14. DOI: 10.15625/0866-7160/v39n1.7909.

**Corresponding author:* nguyenducthanh_pcg@ibt.ac.vn.

Received 17 March 2016, accepted 20 March 2017