BIOMICS

ISSN 2221-6197 https://biomicsj.ru

Органолептический контроль нокаутного CRISPR/Cas редактирования у растений. Обзор литературы

Е.В. Михайлова*, Ю.М. Никоноров, Ал.Х. Баймиев

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Российская Федерация,
*E-mail: mikhele@list.ru

Резюме

Нокаутное CRISPR/Cas редактирование геномов растений может применяться как при проведении модельных экспериментов, направленных на разработку этой технологии, так и для внесения целевых мутаций, приводящих к созданию форм растений с новыми полезными признаками. Важным аспектом, ускоряющим получение желаемых результатов, является быстрая валидация факта проведенного редактирования. Опосредованно таковой может служить органолептический контроль произошедших изменений в геноме путем визуальной оценки или с помощью обоняния. Соответственно в качестве репортерных генов для этих целей могут быть ген фитоендесатуразы, нарушение которого вызывает побеление растений, либо ген бетаин альдегид дегидрогеназы 2 (*BADH2*), нарушение которого ведет к изменению метаболизма γ-аминомасляного альдегида и появлению 2-ацетил-1-пирролина, обладающего сильным ароматом, напоминающим запах попкорна. История изучения гена *BADH2* берет начало с душистого риса *Oryza sativa* разновидности basmati, несущего природную мутацию в данном гене и за счет этого накапливающего 2-ацетил-1-пирролин. В настоящее время ген *BADH2*, характеризующийся высоким эволюционным консерватизмом, и помимо риса секвенирован у нескольких видов растений из разных семейств. Путем нокаутирования гена *BADH2* создан ряд сельскохозяйственных культур, среди которых сорго, арахис, рапс, рис, соя. При этом CRISPR/Cas нокаутное редактирование в отдельных случаях может проводиться без встраивания в геном чужеродной ДНК, имитируя тем самым природные мутационные процессы, что согласно законодательствам некоторых стран позволяет не считать их ГМО.

Ключевые слова: CRISPR/Cas редактирование, рис, растения, бетаин альдегид дегидрогеназа 2, BADH2, запах, аромат, 2-ацетил-1-пирролин

Цитирование: Михайлова Е.В., Никоноров Ю.М., Баймиев Ал.Х. Органолептический контроль нокаутного CRISPR/Cas редактирования у растений. Обзор литературы. *Biomics*. 2025. 17(3). 206-216. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-16

Organoleptic control of the knockout CRISPR/Cas editing in plants. A review

E.V. Mikhaylova*, Yu.M. Nikonorov, Al.Kh. Baymiev

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation
*E-mail: mikhele@list.ru

Resume

Knockout CRISPR/Cas editing of plant genomes can be used both in model experiments aimed at the development of this technology, and in introducing targeted mutations to create plants s with new traits. Possibility to obtain information about the editing event in a quick and easy way accelerates getting the desired results. Organoleptic control of changes in the genome can indirectly serve this purpose by allowing visual or olfactic assessment. This can be achieved through a knockout of the phytoendesaturase gene, which causes albinism in plants, and the betaine aldehyde dehydrogenase 2 (*BADH2*) gene, which leads to a change in the metabolism of γ aminobutyric aldehyde and the synthesis of 2 acetyl-1-pyrroline, characterized by a strong aroma reminiscent of popcorn. The history of studying the *BADH2* gene begins with the aromatic rice *Oryza sativa* of the basmati variety, which carries a natural mutation in this gene and thereby accumulates 2 acetyl-1-pyrroline. The *BADH2* gene, characterized by high evolutionary conservatism, has been also sequenced in several plant species from different families. A number of gene edited crops have been produced by knockout of the *BADH2* gene, including sorghum, peanuts, rapeseed, rice, and soybeans. In some cases, CRISPR/Cas knockout editing can be performed without inserting foreign DNA into the genome, thereby mimicking naturally occuring mutations. According to the laws of some countries, such plants are not considered GMOs.

Keywords: CRISPR/Cas editing, rice, plants, betaine aldehyde dehydrogenase 2, BADH2, odor, fragrance, 2 acetyl-1-pyrroline

Citation: Mikhaylova E.V., Nikonorov Yu.M., Baymiev Al.Kh. Organoleptic control of the knockout CRISPR/Cas editing in plants. Review. *Biomics*. 2025. 17(3). 206-216. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-16

Введение

Органолептический контроль подразумевает детекцию свойств или характеристик продуктов и/или живых организмов, в том для оценки успешности генно-инженерных манипуляций, с помощью зрения, обоняния, вкуса. Это позволяет зачастую обходиться на начальном этапе работы без использования специальных приборов, что значительно упрощает и ускоряет эту процедуру. Органолептический контроль позволяет в том числе судить о произошедшем нокаутном редактировании, если его целью является нарушение работы какого-либо фермента, чтобы прервать известный путь метаболизма веществ вторичного происхождения, ведущего к накоплению видимых глазом или улавливаемых обонянием изменений генома.

Одним из таких генов, нокаут которого ведет к появлению растений с белесым фенотипом, является фитоендесатураза, участвующая в метаболизме каротиноидов. При этом нарушение работы данного фермента в результате нокаутного CRISPR/Cas редактирования служит практически исключительно для проведения модельных экспериментов для контроля произошедших генно-инженерных манипуляций, включая доставку соответствующих компонентов к месту редактирования. Для подтверждения запланированных событий необходим в дальнейшем этап секвенирования ДНК, но для него можно ограничиваться только теми образцами, которые предварительно отобраны с помощью такого органолептического подхода. В случае нокаутного редактирования гена фитоендесатуразы это будут растения-альбиносы, в разной степени проявляющие такой фенотип. Примеров редактирования гена фитоендесатуразы довольно много и здесь стоит привести лишь отдельные работы последних лет со следующими видами растений: ястребинка *Hieracium piloselloides* [Henderson et al., 2020], каштан *Castanea sativa* [Pavese et al., 2021], голубика *Vaccinum corymbosum* [Vaia et al., 2022], перец *Capsicum annuum* [Bulle et al., 2024], голубиный горох *Cajanus cajan* [Senthil et al., 2025].

Однако большей научной новизной обладает нокаутное редактирование гена бетаин альдегид дегидрогеназы (BADH2), приводящее к накоплению кетонового производного пирролина - 2-ацетил-1-пирролина (2-AP), обладающего характерным запахом, напоминающим запах тропического растения пандана *Pandanus amaryllifolius* или запах кукурузного попкорна[1]. Помимо проведения модельных экспериментов с быстрым первичным отбором геном-редактированных растений, нокаут этого гена может иметь и хозяйственное значение, включая создание коммерческих сортов растений, обладающих притягательным запахом и при этом фактически не являющимися ГМО, поскольку в

[1] попкорн приобретает характерный запах за счет реакции Майяра в виде сахароаминной конденсации, которая происходит при нагревании

данном случае нокаутное редактирование может быть осуществлено без встраивания в геном растения чужеродной ДНК и тем самым имитировать происходящие в природе процессы, не подпадающие под законодательные ограничения некоторых стран, чему мы ранее уделили значительное внимание [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2019; Михайлова и др. (Mikhaylova et al.), 2022].

Краткая история обнаружения 2-АР на примере душистого риса и *fgr* гена в нем

Было давно известно, что некоторые разновидности риса *Oryza sativa* (в частности, басмати[2]) обладают сильным запахом, напоминающим аромат плодов тропического дерева пандан или более знакомый жителям других регионов нашей планеты запах попкорна. Первые попытки обнаружить основной носитель данного запаха у риса относятся к середине 1960-х гг. [Wakte et al., 2016], но лишь в начале 1980-х гг. с помощью газовой хромато-масс спектрометрии было обнаружено, что отвечает за привлекательный аромат некоторых разновидностей риса главным образом вещество 2-ацетил-1-пирролин, которого в рисе басмати обнаруживается до 8% от общего количества летучих масел [Buttery et al., 1982]. Проведенный этими авторами анализ летучих соединений риса позволил обнаружить 64 пахучих соединения, при этом подтвердив, что основной вклад вносит 2-ацетил-1-пирролин [Buttery et al., 1988]. Затем это вещество были обнаружено в попкорне [Buttery et al., 1994; Schieberle, 1995] и у пандана [Timmaraju et al., 2005].

Однако так называемый *fgr* (*fragrance*) ген долго оставался неизвестен, хотя использование микросателлитных маркеров [Cordeiro et al., 2002] и выявление однонуклеотидного полиморфизма в предполагаемой области расположения этого гена в геноме риса позволило установить его локализацию на хромосоме 8. После завершения секвенирования полных геномов риса [Goff et al., 2002; Yu et al., 2002] удалось сузить зону поиска, ограничив ее участком генома размером 386591 п.н. После ресеквенирования17 генов из этого участка ДНК, в одном из них был обнаружен полиморфизм, ведущий к нарушению его работы [Bradbury et al., 2005]. Оказалось, что этот ген *OsBADH2* кодирует бетаин альдегид дегидрогеназу 2, и состоит из 15 экзонов. Делеция, обнаруженная в 7 экзоне нарушала функционирование белка, приводя таким образом к безэнизматическому накоплению 2-ацетил-1-пирролина вместо ферментативного образования γ-аминомасляной кислоты из γ-аминомасляного альдегида. При этом нужно отметить, что гомологичный ген альдегид дегидрогеназы 1 *OsBADH1* находится у риса на хромосоме 4.

Бетаин альдегид дегидрогеназы 2 растений

Бетаин альдегид дегидрогеназы 2 формируют семейство 10 в суперсемействе альдегид дегидрогеназ растений [Fitzgerald et al., 2009; Brocker et al., 2013]. После выявления фермента, ответственного за аромат у риса, интерес к бетаин альдегид дегидрогеназам 2 у различных видов растений заметно возрос. При исследовании разных образцов пахучего риса были обнаружены иные нарушения гена *OsBADH2* в разных экзонах, а также в промоторной области [Shi et al., 2014; Chandanshive et al., 2024]. Помимо риса, у ряда растений в результате секвенирования были обнаружены нарушения гена бетаин альдегид дегидрогеназы 2 в виде замен несинонимичных нуклеотидов, протяженных делеций, в том числе вызывающих преждевременную терминацию, что приводит к появлению соответствующего аромата у сортов сои *Glycine max* [Juwattanasomran et al., 2011], у сорго *Sorghum bicolor* [Yundaeng et al., 2013], огурца *Cucumis sativus* [Yundaeng et al., 2015], у тыквы *Cucurbita moschata* [Zhao et al., 2025]. Но наибольший интерес, исходя из масштабов его потребления, вызывал, безусловно, рис (хотя не только он), поскольку генетическим аспектам его пахучести посвящено довольно много обзоров [Wei et al., 2017; Okpala et al., 2019; Bigyan et al., 2021; Imran et al., 2023; Huang et al., 2024].Широкий интерес вызывают также произведенные с рисом и другими видами растений генно-инженерные манипуляции, рассматриваемые в следующем разделе данной статьи.

Геномное редактирование бетаин альдегид дегидрогеназы 2 растений

Первые попытки снизить уровень экспрессии гена *OsBADH2* у риса были осуществлены с помощью РНК-интерференции под управлением 2×35S промотора, что привело к значительному увеличению продукции 2-АР [Niu et al., 2008]. Другими авторами была создана amiRNA (artificial microRNA), последовательность которой была помещена под убиквитиновый промотор, а также под эндосперм-специфичный промотор *GluC*, но только первый вариант привел к созданию трансгенных растений со сниженным уровнем бетаин альдегид дегидрогеназы 2, что повысило содержание 2-АР [Chen et al., 2012]. Позже технология РНК-интерференции привела к 14-ти кратному уменьшению продукции бетаин альдегид дегидрогеназы 2 и к появлению попкорнового аромата у образца риса, не обладавшего ранее таким запахом [Khandagale et al., 2020].

[2] басмати с языка хинди переводится как «душистый»

До широкого распространения удобной CRISPR/Cas технологии геномного редактирования нокаутирование гена *OsBADH2* у риса было проведено с использованием TALEN [Shan et al., 2015]. Так, среди 20 полученных гигромицин-устойчивых трансгенных линий риса были отобраны шесть, у которых секвенирование по Сэнгеру выбранного в качестве мишени четвертого экзона гена *OsBADH2* показало наличие различных делеций, что обеспечивало существенное накопление 2-AP по сравнению с полным отсутствием этого соединения в исходной линии. Авторы сделали вывод о возможности использования TALEN технологии для придания растениям важных агрономических черт, в том числе привлекательного запаха.

Появление CRISPR/Cas технологии привело к выполнению многочисленных работ по нокаутированию гена альдегид дегидрогеназы 2 и соответственно созданию душистых форм риса. При этом в ряде работ параллельно велось редактирование и других важных генов. Так, было показано, что у нескольких линий риса возникшие после нокаутного редактирования второго экзона инделы обеспечили увеличение концентрации 2-AP и придали привлекательный запах таким безароматным сортам риса разновидностей как japonica, так и indica, у которых также были также обнаружены один короткий индел и три однонуклеотидных замены в 7 экзоне [Hui et al., 2022]. Недавно сообщено о придании попкорнового запаха популярному indica сорту риса IR-64, несущему функциональный ген бетаин альдегид дегидрогеназы 2 путем нокаутного редактирования седьмого экзона последнего [Bhatt et al., 2025]. При этом авторы отметили отсутствие неспецифического редактирования, но обратили внимание на некоторое снижение урожайности. Ранее такой эффект снижения урожайности после подобного нокаутного редактирования риса был показан в другой работе [Liao et al., 2024].

В нескольких исследованиях велось одновременное нокаутное редактирование бетаин альдегид дегидрогеназы 2 и гена *Waxy*, ответственного за синтез амилозы, что приводило к увеличению содержания 2-AP и снижению содержания амилозы соответственно [Tian et al., 2023; Zhang et al., 2023; Wu et al., 2025]. При этом в последней работе вместе с ожидаемыми изменениями содержания 2-AP и амилозы отмечалось изменение экспрессии генов, участвующих в биосинтезе каротиноидов, а также некоторых углеводов.

В одной из работ кроме гена бетаин альдегид дегидрогеназы 2 проводилось нокаутное CRISPR/Cas редактирование еще трех генов гомеологов цитохрома P450 и обнаружено ожидаемое появление 2-AP и возникновение соответствующего аромата, а также увеличение размера зерен при отсутствии нецелевого редактирования [Usman et al., 2020]. Другими авторами сообщено о мультиплексном нокаутном редактировании сразу пяти генов риса, включая ген *BADH2*, мишенью в котором послужил второй экзон [He et al., 2024]. В результате были получены три гомозиготных мутантных линии, пригодные для ведения дальнейшей селекционной работы.

Помимо риса, являющегося второй по объему выращивания после пшеницы злаковой культурой в мире, придание привлекательного аромата может быть востребовано и для других сельскохозяйственных растений. С помощью CRISPR/Cas технологии нокаут гомологов *BADH2* в последние годы проводился для ряда видов, включая третью и пятую по масштабам возделывания культуры, а именно кукурузу и сорго. Так, для двух вариантов генов бетаин альдегид дегидрогеназы 2 кукурузы *Zea mays ZmBADH2a* и *ZmBADH2b* были подобраны 6 гидовых РНК, обеспечивших нарушение пары этих генов, приведшее к появлению в зернах 2-AP, и как следствие соответствующего аромата [Wang et al., 2021]. При этом нарушение только одного гена из данной пары не изменяло стандартного пути метаболизма γ-аминомасляного альдегида, и запаха не появлялось. У сорго *Sorghum bicolor* также с помощью CRISPR/Cas технологии был нарушен ген бетаин альдегид дегидрогеназы 2, мишенью в котором был выбран пятый экзон, что придало зернам и листьям попкорновый аромат [Zhang et al., 2022]. Для другого злака – возделываемого в Китае и Юго-Восточной Азии лисохвостного просо *Setaria italica* в качестве мишени для CRISPR/Cas редактирования был выбран первый экзон гена *SiBADH2*, что привело к появлению запаха у растения [Zhang et al., 2023]. Нокаутное редактирование второго экзона гена бетаин альдегид дегидрогеназы 2 рапса *Brassica napus BnaALDH10A9* привело к накоплению в растении 2-AP и созданию линии рапса с попкорновым запахом [Wu et al., 2025]. Также недавно сообщено о создании первого сорта арахиса *Arachis hypogaea* с сильным ароматом попкорна путем нокаутного CRISPR/Cas редактирования первого экзона гена бетаин альдегид дегидрогеназы 2 [Xue et al., 2025].

Отдельного внимания заслуживает соя *Glycine max*, у которой для отдельных образцов характерно присутствие попкорнового запаха благодаря наличию 2-AP из-за нарушения гена бетаин альдегид дегидрогеназы 2 *GmBADH2* в виде отдельных замен нуклеотидов и делеций в первом и десятом экзонах. При этом у сои также как и у многих других растений в геноме содержится еще ген бетаин альдегид дегидрогеназы 1. В двух схожих работах было исследовано, как каждый из них связан с

метаболизмом γ-аминомасляного альдегида [Qian et al., 2022; Xie et al., 2024]. В первой работе после нарушения первого экзона удалось выяснить, что ген *GmBADH2* в большей степени ответственен за появление запаха, тогда как во второй работе после нокаутного редактирования 4 экзона авторы пришли к заключению, что нарушения и гена *GmBADH1*, и гена *GmBADH2* способно приводить к накоплению 2-АР.

Структурная организация и эволюционная консервативность гена бетаин альдегид дегидрогеназы 2 растений

Как уже говорилось выше, ген бетаин альдегид дегидрогеназы 2 риса состоит из 15 экзонов и соответственно 14 интронов [Buttery et al., 2005], что, оказалось характерно для всех изученных видов растений (рис. 1). Впрочем, размеры интронов между видами варьируют в довольно широких пределах в отличие от кодирующих областей. В GenBank имеется большое количество нуклеотидных последовательностей генов бетаин альдегид дегидрогеназы 2 риса в виде их кДНК копий размерами 1512 п.н., кодирующими полноценный белок длиной 503 аминокислоты. При этом полноразмерные гены *OsBADH2* с интронами имеют размеры около 6150 п.н.

Рис. 1. Схема экзон (пронумерованные прямоугольники) / интронной (линии) структуры гена бетаин альдегид дегидрогеназы 2 растений. (масштаб не соблюден)
Fig. 1. Scheme of the exon (numbered rectangles) / intron (lines) structure of the betaine aldehyde dehydrogenase 2 gene in plants. (not scaled)

В GenBank содержатся также нуклеотидные последовательности генов *BADH2* и для ряда других видов растений как из класса однодольных (сорго *Sorghum bicolor*, пандан *Pandanus amaryllifolius*, кокос *Cocos nucifera*), так и двудольных (соя *Glycime max*, огурец *Cucumis sativus*, тополь *Populus euphratica*, табак *Nicotiana tabacum*, дереза *Lycium barbarium*). Кодируемые ими белки характеризуются следующими размерами: у огурца, тополя, пандана, кокоса также как и у риса бетаин альдегил дегидрогеназа состоит из 503 аминокислот; у табака – из 504; у сорго – из 505; а у дерезы этот фермент чуть длиннее – 508 аминокислотных остатков. Проведенное сравнение аминокислотных последовательностей бетаин альдегид дегидрогеназ этих видов растений показало их высокое сходство и позволило построить филогенетическое древо, отражающее в целом их систематические положения (рис. 2). Так, злаковые формируют отдельную кладу, а пандан и кокос, будучи однодольными растениями, выделяются от всех остальных. Что касается двудольных растений, то они подразделились на ряд ветвей, но стоит обратить внимание на табак и дерезу, относящихся к одному семейству пасленовых, у которых гораздо больше общего между собой.

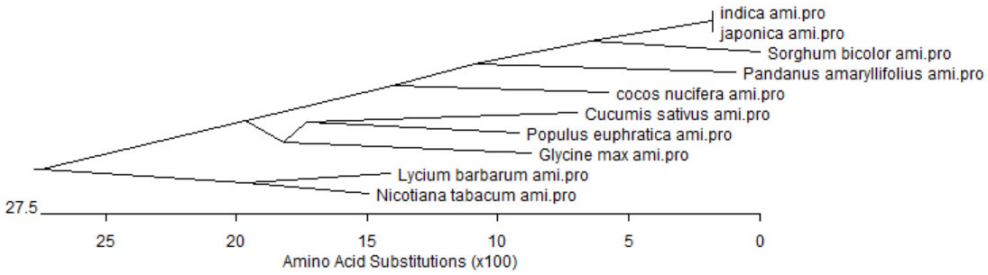

Рис. 2. Филогенетическое древо ряда видов растений, построенное на сравнении аминокислотных последовательностей бетаин альдегид дегидрогеназ 2
Fig. 2. Phylogenetic tree of a number of plant species constructed by comparing the amino acid sequences of betaine aldehyde dehydrogenase 2

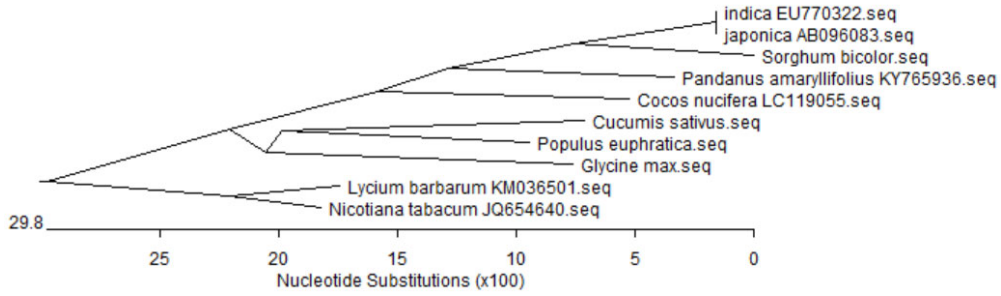

Рис. 3. Филогенетическое древо ряда видов растений, построенное на сравнении нуклеотидных последовательностей бетаин альдегид дегидрогеназ 2
Fig. 3. Phylogenetic tree of a number of plant species constructed by comparing the nucleotide sequences of betaine aldehyde dehydrogenase 2

Сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей генов бетаин альдегид дегидрогеназ 2 демонстрирует для них схожую картину филогенетического древа. При этом для проведения нокаутного CRISPR/Cas редактирования генов *BADH2* иных видов растений в связи с необходимостью подбора эффективных гидовых РНК представляют больший интерес нуклеотидные последовательности данных генов. Проведенное множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей программой MegAlign из пакета программ LaserGene фирмы DNA Star, Inc. (США) показывает наличие у близких видов протяженных гомологичных участков, для которых с учетом экзон/интронной структуры генов BADH2 могут подбираться универсальные гидовые РНК с помощью специализированных программ дизайна гидРНК, довольно подробно рассмотренных нами ранее [Гераценков и др. 2020].

Заключение

При проведении модельных экспериментов по нокаутному редактированию с помощью CRISPR/Cas технологии важное значение имеет четкий контроль произведенных изменений генома, что может быть достигнуто за счетвыбора в качестве мишеней маркерных (селективных, репортерных) генов. Наиболее подходящими при первичном скрининге являются те, что позволяют органолептически (например, визуально или по запаху) увидеть эффект проводимого редактирования. Таковыми для растений могут служить ген фитоендесатуразы, а также ген бетаин альдегид дегидрогеназы 2. При этом последний также способен придавать растениям полезные свойства, а именно привлекательный аромат, напоминающий запах попкорна[3]. За последние годы, помимо риса, ряду других сельскохозяйственных растений (арахис, кукуруза, сорго) такой аромат удалось придать или увеличить его проявление. Нельзя исключать в дальнейшем расширение перечня видов подобных растений, а также их выхода на рынок, поскольку нокаутное редактирование может проводиться без внедрения чужеродной ДНК, что формально делает такие растения уже не ГМО. Это снимает препятствия к их возделыванию в ряде стран, где нокаутные растения приравнены к сортам, полученным методами обычной селекции. Что касается использования гена *BADH2* в качестве репортера, то, несмотря на его меньшие удобство и универсальность по сравнению с геном фитоендесатуразы, при необходимости получения здорового семенного потомства от редактированных растений, он вполне может быть использован.

Финансирование

Работа выполнена в рамках госзадания № 1022040500077-6.

Литература

1. Гераценков Г.А, Рожнова Н.А, Кулуев Б.Р. и др. Дизайн РНК-гидов для CRISPR/CAS редактирования геномов растений. *Молекулярная биология*. 2020. 54(1). 29-50. doi: 10.31857/S0026898420010061
2. Кулуев Б.Р., Гумерова Г.Р., Михайлова Е.В. и др. Доставка CRISPR/CAS-компонентов в клетки высших растений для редактирования их геномов. *Физиология растений*. 2019. 66(5). 339-353. doi: 10.1134/S0015330319050117
3. Михайлова Е.В., Хуснутдинов Э.А., Чемерис А.В. и др. Доступный арсенал для CRISPR/Cas

[3] хотя, безусловно, нужно иметь в виду, что не всем такой запах может нравиться

геномного редактирования растений. *Физиология растений*. 2022. 69(1). 38-53.doi: 10.31857/S0015330322010134

4. Bhatt V, Ramkumar TR, Barvkar V et al. Targeted disruption of OsBADH2 induces basmati aroma in the popular indica rice variety IR-64 using CRISPR/Cas9. *Plant Physiology Reports.* 2025. doi: 10.1007/s40502-025-00901-z
5. Bigyan KC, Pandit R, Regmi R et al. Genetic basis of rice aroma gene and its application in rice genetics and breeding: A review. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences* 2021. 111(3). 170-175. doi: 10.18551/rjoas.2021-03.20
6. Bradbury LM, Fitzgerald TL, Henry RJ et al. The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnol J*. 2005. 3(3). 363-370. doi: 10.1111/j.1467-7652.2005.00131.x
7. Brocker C, Vasiliou M, Carpenter S et al. Aldehyde dehydrogenase (ALDH) superfamily in plants: gene nomenclature and comparative genomics. *Planta*. 2013. 237(1). 189-210. doi: 10.1007/s00425-012-1749-0
8. Bulle M, Venkatapuram AK, Abbagani S, Kirti PB. CRISPR/Cas9 based genome editing of Phytoene desaturase (PDS) gene in chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Genet Eng Biotechnol*. 2024. 22(2). 100380. doi: 10.1016/j.jgeb.2024.100380
9. Buttery RG, Ling LC, Juliano BO. 2-Acetyl-1-Pyrroline: An Important Aroma Component of Cooked Rice. *Chemistry and Industry (London).* 1982. (23). 958-959.
10. Buttery RG, Stern DJ, Ling LC. Studies on Flavor Volatiles of Some Sweet Corn Products. *J. Agric. Food Chem*. 1994. 42(3). 791–795. doi: 10.1021/jf00039a038
11. Buttery RG, Turnbaugh JG, Ling LC. Contribution of volatiles to rice aroma. *J. Agric. Food Chem*. 1988. 36(5). 1006–1009. doi: 10.1021/jf00083a025
12. Chandanshive S, Mathure S, Nadaf A. Multiple mutations in BADH2 gene reveal the novel fragrance allele in indica rice (*Oryza sativa* L.). *J Genet*. 2024. 103. 13. doi: 10.1007/s12041-024-01464-y
13. Chen M, Wei X, Shao G et al. Fragrance of the rice grain achieved via artificial microRNA induced down regulation of OsBADH2. *Plant Breeding*. 2012. 131(5). 584-590. doi: 10.1111/j.1439-0523.2012.01989.x
14. Cordeiro GM, Christopher MJ, Henry RJ et al. Identification of microsatellite markers for fragrance in rice by analysis of the rice genome sequence. *Molecular Breeding*. 2002. 9. 245–250. doi.org/10.1023/A:1020350725667
15. Fitzgerald TL, Waters DL, Henry RJ. Betaine aldehyde dehydrogenase in plants. *Plant Biol (Stuttg)*. 2009. 11(2). 119-130. doi: 10.1111/j.1438-8677.2008.00161.x
16. Goff SA, Ricke D, Lan TH et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science*. 2002. 296(5565). 92-100. doi: 10.1126/science.1068275
17. He D, Zhou R, Huang C et al. Improvement of Flowering Stage in Japonica Rice Variety Jiahe212 by Using CRISPR/Cas9 System. *Plants (Basel).* 2024. 13(15). 2166. doi: 10.3390/plants13152166
18. Henderson SW, Henderson ST, Goetz M et al. Efficient CRISPR/Cas9-Mediated Knockout of an Endogenous Phytoene Desaturase Gene in T1 Progeny of Apomictic Hieracium Enables New Strategies for Apomixis Gene Identification. *Genes (Basel).* 2020. 11(9). 1064. doi: 10.3390/genes11091064
19. Huang Y, Huang L, Cheng M et al. , Li C, Zhou X, Ullah A, Sarfraz S, Khatab A, Xie G. Progresses in biosynthesis pathway, regulation mechanism and potential application of 2-acetyl-1-pyrroline in fragrant rice. *Plant Physiol Biochem.* 2024. 215.109047. doi: 10.1016/j.plaphy.2024.109047
20. Hui S, Li H, Mawia AM et al. Production of aromatic three-line hybrid rice using novel alleles of BADH2. *Plant Biotechnol J*. 2022. 20(1). 59-74. doi: 10.1111/pbi.13695
21. Imran M, Shafiq S, Ashraf U et al. Biosynthesis of 2-Acetyl-1-pyrroline in Fragrant Rice: Recent Insights into Agro-management, Environmental Factors, and Functional Genomics. *J Agric Food Chem.* 2023. 71(10). 4201-4215. doi: 10.1021/acs.jafc.2c07934
22. Jin Q, Waters D, Cordeiro GM et al. A single nucleotide polymorphism (SNP) marker linked to the fragrance gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*. 2003. 165(2). 359-364. doi: 10.1016/S0168-9452(03)00195-X
23. Juwattanasomran R, Somta P, Chankaew S et al. A SNP in GmBADH2 gene associates with fragrance in vegetable soybean variety "Kaori" and SNAP marker development for the fragrance. *Theor Appl Genet.* 2011. 122(3). 533-541. doi: 10.1007/s00122-010-1467-6
24. Khandagale KS, Chavhan R, Nadaf AB. RNAi-mediated down regulation of BADH2 gene for expression of 2-acetyl-1-pyrroline in non-scented indica rice IR-64 (*Oryza sativa* L.). *3 Biotech.* 2020. 10(4). 145. doi: 10.1007/s13205-020-2131-8
25. Liao Y, Li M, Wu H et al. Generation of aroma in three-line hybrid rice through CRISPR/Cas9 editing of betaine aldehyde dehydrogenase2 (OsBADH2). *Physiol Plant*. 2024. 176(1). e14206. doi: 10.1111/ppl.14206
26. Niu X, Tang W, Huang W et al. RNAi-directed downregulation of OsBADH2 results in aroma (2-acetyl-1-pyrroline) production in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biol*. 2008. 8. 100. doi: 10.1186/1471-2229-8-100
27. Okpala NE, Mo Z, Duan M et al. The genetics and biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline in fragrant rice.

Plant Physiol Biochem. 2019. 135. 272-276. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.12.012
28. Pavese V, Moglia A, Corredoira E et al. First Report of CRISPR/Cas9 Gene Editing in Castanea sativa Mill. *Front Plant Sci.* 2021. 25(12). 728516. doi: 10.3389/fpls.2021.728516
29. Qian L, Jin H, Yang Q et al. A Sequence Variation in GmBADH2 Enhances Soybean Aroma and Is a Functional Marker for Improving Soybean Flavor. *Int J Mol Sci.* 2022. 23(8). 4116. doi: 10.3390/ijms23084116
30. Senthil K, Rathinam M, Parashar M et al. Establishing a CRISPR/Cas9 genome editing framework in pigeonpea (Cajanus cajan L.) by targeting phytoene desaturase (PDS) gene disruption. *J Genet Eng Biotechnol.* 2025. 23(1). 100465. doi: 10.1016/j.jgeb.2025.100465
31. Schieberle P. Quantitation of Important Roast-Smelling Odorants in Popcorn by Stable Isotope Dilution Assays and Model Studies on Flavor Formation during Popping. *J. Agric. Food Chem.* 1995. 43(9). 2442–2448. doi: 10.1021/jf00057a024
32. Shan Q, Zhang Y, Chen K et al. Creation of fragrant rice by targeted knockout of the OsBADH2 gene using TALEN technology. *Plant Biotechnol J.* 2015. 13(6). 791-800. doi: 10.1111/pbi.12312
33. Shi Y, Zhao G, Xu X et al. Discovery of a new fragrance allele and development of functional markers for identifying diverse fragrant genotypes in rice. *Mol Breeding*. 2014. 33. 701–708. doi.org/10.1007/s11032-013-9986-x
34. Tian Y, Zhou Y, Gao G et al. Creation of Two-Line Fragrant Glutinous Hybrid Rice by Editing the Wx and OsBADH2 Genes via the CRISPR/Cas9 System. *Int J Mol Sci.* 2023. 24(1). 849. doi: 10.3390/ijms24010849
35. Thimmaraju R, Bhagyalakshmi N, Narayan Ms et al. *In vitro* culture of *Pandanus amaryllifolius* and enhancement of 2-acetyl-1-pyrroline, the major flavouring compound of aromatic rice, by precursor feeding of L-proline. *J Science Food Agriculture*. 2005. 85(15). 2527-2534. DOI: 10.1002/jsfa.2286
36. Usman B, Nawaz G, Zhao N et al. Generation of High Yielding and Fragrant Rice (*Oryza sativa* L.) Lines by CRISPR/Cas9 Targeted Mutagenesis of Three Homoeologs of Cytochrome P450 Gene Family and OsBADH2 and Transcriptome and Proteome Profiling of Revealed Changes Triggered by Mutations. *Plants (Basel)*. 2020. 9(6). 788. doi: 10.3390/plants9060788
37. Vaia G, Pavese V, Moglia A et al. Knockout of phytoene desaturase gene using CRISPR/Cas9 in highbush blueberry. *Front Plant Sci.* 2022. 13. 1074541. doi: 10.3389/fpls.2022.1074541
38. Wakte K, Zanan R, Hinge V et al. Thirty-three years of 2-acetyl-1-pyrroline, a principal basmati aroma compound in scented rice (*Oryza sativa* L.): a status review. *J Sci Food Agric.* 2017. 97(2). 384-395. doi: 10.1002/jsfa.7875
39. Wang Y, Liu X, Zheng X et al. Creation of aromatic maize by CRISPR/Cas. *J Integr Plant Biol.* 2021. 63(9). 1664-1670. doi: 10.1111/jipb.13105
40. Wei X, Handoko DD, Pather L et al. Evaluation of 2-acetyl-1-pyrroline in foods, with an emphasis on rice flavour. *Food Chem.* 232. 531-544. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.005
41. Wu J, Xu J, He A et al. Generating fragrant oilseed rape using CRISPR/Cas9-mediated gene editing. *Plant Physiol.* 2024. 197(1) kiae660. doi: 10.1093/plphys/kiae660
42. Wu W, Miao R, Li Z et al. CRISPR/Cas9-mediated editing of BADH2 and Wx genes for the development of novel aromatic and soft-textured black and red rice. *Physiol Plant.* 2025. 177(2). e70194. doi: 10.1111/ppl.70194
43. Xie H, Song M, Cao X et al. Breeding exceptionally fragrant soybeans for soy milk with strong aroma. *J Integr Plant Biol.* 2024. 66(4). 642-644. doi: 10.1111/jipb.13631
44. Xue L, Qu P, Zhao H et al. Creation of fragrant peanut using CRISPR/Cas9. *J Integr Plant Biol.* 2025. 67(6). 1438-1440. doi: 10.1111/jipb.13864
45. Yu J, Hu S, Wang J. et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*. 2002. 296(5565). 79-92. doi: 10.1126/science.1068037
46. Yundaeng C, Somta P, Tangphatsornruang S et al. A single base substitution in BADH/AMADH is responsible for fragrance in cucumber (*Cucumis sativus* L.), and development of SNAP markers for the fragrance. *Theor Appl Genet.* 128(9). 1881-1892. doi: 10.1007/s00122-015-2554-5
47. Yundaeng C, Somta P, Tangphatsornruang S et al. Gene discovery and functional marker development for fragrance in sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench). *Theor Appl Genet.* 2013. 126(11). 2897-2906. doi: 10.1007/s00122-013-2180-z
48. Zhang C, Yun P, Xia J et al. CRISPR/Cas9-mediated editing of Wx and BADH2 genes created glutinous and aromatic two-line hybrid rice. *Mol Breed.* 2023. 43(4). 24. doi: 10.1007/s11032-023-01368-2
49. Zhang D, Tang S, Xie P et al. Creation of fragrant sorghum by CRISPR/Cas9. *J Integr Plant Biol.* 2022. 64(5). 961-964. doi: 10.1111/jipb.13232
50. Zhang Y, He Q, Zhang S et al. *De novo* creation of popcorn-like fragrant foxtail millet. *J Integr Plant Biol.* 2023. 65(11). 2412-2415. doi: 10.1111/jipb.13556
51. Zhao G, Deng L, Liu X et al. A mutation in CmoBADH results in the production of 2-acetyl-1-pyrroline, conferring a 'taro-like' aroma in Cucurbita moschata. *Theor Appl Genet.* 2025. 138(11). 265. doi: 10.1007/s00122-025-05050-3

References

1. Bhatt V, Ramkumar TR, Barvkar V et al. Targeted disruption of OsBADH2 induces basmati aroma in the popular indica rice variety IR-64 using CRISPR/Cas9. *Plant Physiology Reports.* 2025. doi: 10.1007/s40502-025-00901-z
2. Bigyan KC, Pandit R, Regmi R et al. Genetic basis of rice aroma gene and its application in rice genetics and breeding: A review. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences* 2021. 111(3). 170-175. doi: 10.18551/rjoas.2021-03.20
3. Bradbury LM, Fitzgerald TL, Henry RJ et al. The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnol J*. 2005. 3(3). 363-370. doi: 10.1111/j.1467-7652.2005.00131.x
4. Brocker C, Vasiliou M, Carpenter S et al. Aldehyde dehydrogenase (ALDH) superfamily in plants: gene nomenclature and comparative genomics. *Planta*. 2013. 237(1). 189-210. doi: 10.1007/s00425-012-1749-0
5. Bulle M, Venkatapuram AK, Abbagani S, Kirti PB. CRISPR/Cas9 based genome editing of Phytoene desaturase (PDS) gene in chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Genet Eng Biotechnol*. 2024. 22(2). 100380. doi: 10.1016/j.jgeb.2024.100380
6. Buttery RG, Ling LC, Juliano BO. 2-Acetyl-1-Pyrroline: An Important Aroma Component of Cooked Rice. *Chemistry and Industry (London).* 1982. (23). 958-959.
7. Buttery RG, Stern DJ, Ling LC. Studies on Flavor Volatiles of Some Sweet Corn Products. *J. Agric. Food Chem*. 1994. 42(3). 791–795. doi: 10.1021/jf00039a038
8. Buttery RG, Turnbaugh JG, Ling LC. Contribution of volatiles to rice aroma. *J. Agric. Food Chem*. 1988. 36(5). 1006–1009. doi: 10.1021/jf00083a025
9. Chandanshive S, Mathure S, Nadaf A. Multiple mutations in BADH2 gene reveal the novel fragrance allele in indica rice (*Oryza sativa* L.). *J Genet*. 2024. 103. 13. doi: 10.1007/s12041-024-01464-y
10. Chen M, Wei X, Shao G et al. Fragrance of the rice grain achieved via artificial microRNA induced down regulation of OsBADH2. *Plant Breeding*. 2012. 131(5). 584-590. doi: 10.1111/j.1439-0523.2012.01989.x
11. Cordeiro GM, Christopher MJ, Henry RJ et al. Identification of microsatellite markers for fragrance in rice by analysis of the rice genome sequence. *Molecular Breeding*. 2002. 9. 245–250. doi.org/10.1023/A:1020350725667
12. Fitzgerald TL, Waters DL, Henry RJ. Betaine aldehyde dehydrogenase in plants. *Plant Biol (Stuttg)*. 2009. 11(2). 119-130. doi: 10.1111/j.1438-8677.2008.00161.x
13. Gerashchenkov GA, Rozhnova NA, Kuluev BR et al. Design of Guide RNA for CRISPR/Cas Plant Genome Editing. Molecular Biology. 2020. 54(1). 24-42. DOI: 10.1134/S0026893320010069
14. Goff SA, Ricke D, Lan TH et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science*. 2002. 296(5565). 92-100. doi: 10.1126/science.1068275
15. He D, Zhou R, Huang C et al. Improvement of Flowering Stage in Japonica Rice Variety Jiahe212 by Using CRISPR/Cas9 System. *Plants (Basel).* 2024. 13(15). 2166. doi: 10.3390/plants13152166
16. Henderson SW, Henderson ST, Goetz M et al. Efficient CRISPR/Cas9-Mediated Knockout of an Endogenous Phytoene Desaturase Gene in T1 Progeny of Apomictic Hieracium Enables New Strategies for Apomixis Gene Identification. *Genes (Basel).* 2020. 11(9). 1064. doi: 10.3390/genes11091064
17. Huang Y, Huang L, Cheng M et al. , Li C, Zhou X, Ullah A, Sarfraz S, Khatab A, Xie G. Progresses in biosynthesis pathway, regulation mechanism and potential application of 2-acetyl-1-pyrroline in fragrant rice. *Plant Physiol Biochem.* 2024. 215.109047. doi: 10.1016/j.plaphy.2024.109047
18. Hui S, Li H, Mawia AM et al. Production of aromatic three-line hybrid rice using novel alleles of BADH2. *Plant Biotechnol J*. 2022. 20(1). 59-74. doi: 10.1111/pbi.13695
19. Imran M, Shafiq S, Ashraf U et al. Biosynthesis of 2-Acetyl-1-pyrroline in Fragrant Rice: Recent Insights into Agro-management, Environmental Factors, and Functional Genomics. *J Agric Food Chem.* 2023. 71(10). 4201-4215. doi: 10.1021/acs.jafc.2c07934
20. Jin Q, Waters D, Cordeiro GM et al. A single nucleotide polymorphism (SNP) marker linked to the fragrance gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*. 2003. 165(2). 359-364. doi: 10.1016/S0168-9452(03)00195-X
21. Juwattanasomran R, Somta P, Chankaew S et al. A SNP in GmBADH2 gene associates with fragrance in vegetable soybean variety "Kaori" and SNAP marker development for the fragrance. *Theor Appl Genet.* 2011. 122(3). 533-541. doi: 10.1007/s00122-010-1467-6
22. Khandagale KS, Chavhan R, Nadaf AB. RNAi-mediated down regulation of BADH2 gene for expression of 2-acetyl-1-pyrroline in non-scented indica rice IR-64 (*Oryza sativa* L.). *3 Biotech*. 2020. 10(4). 145. doi: 10.1007/s13205-020-2131-8
23. Kuluev BR, Gumerova GR, Mikhaylova EV et al. Delivery of CRISPR/Cas components into higher plant cells for genome editing. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019. 66(5). 694-706. DOI: 10.1134/S102144371905011X
24. Liao Y, Li M, Wu H et al. Generation of aroma in three-line hybrid rice through CRISPR/Cas9 editing of

betaine aldehyde dehydrogenase2 (OsBADH2). *Physiol Plant*. 2024. 176(1). e14206. doi: 10.1111/ppl.14206

25. Mikhaylova EV, Khusnutdinov EA, Chemeris AV et al. Available Toolkits for CRISPR/CAS Genome Editing in Plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. 69. 3. DOI: 10.1134/S1021443722010137

26. Niu X, Tang W, Huang W et al. RNAi-directed downregulation of OsBADH2 results in aroma (2-acetyl-1-pyrroline) production in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biol*. 2008. 8. 100. doi: 10.1186/1471-2229-8-100

27. Okpala NE, Mo Z, Duan M et al. The genetics and biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline in fragrant rice. *Plant Physiol Biochem*. 2019. 135. 272-276. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.12.012

28. Pavese V, Moglia A, Corredoira E et al. First Report of CRISPR/Cas9 Gene Editing in Castanea sativa Mill. *Front Plant Sci.* 2021. 25(12). 728516. doi: 10.3389/fpls.2021.728516

29. Qian L, Jin H, Yang Q et al. A Sequence Variation in GmBADH2 Enhances Soybean Aroma and Is a Functional Marker for Improving Soybean Flavor. *Int J Mol Sci.* 2022. 23(8). 4116. doi: 10.3390/ijms23084116

30. Senthil K, Rathinam M, Parashar M et al. Establishing a CRISPR/Cas9 genome editing framework in pigeonpea (Cajanus cajan L.) by targeting phytoene desaturase (PDS) gene disruption. *J Genet Eng Biotechnol.* 2025. 23(1). 100465. doi: 10.1016/j.jgeb.2025.100465

31. Schieberle P. Quantitation of Important Roast-Smelling Odorants in Popcorn by Stable Isotope Dilution Assays and Model Studies on Flavor Formation during Popping. *J. Agric. Food Chem.* 1995. 43(9). 2442–2448. doi: 10.1021/jf00057a024

32. Shan Q, Zhang Y, Chen K et al. Creation of fragrant rice by targeted knockout of the OsBADH2 gene using TALEN technology. *Plant Biotechnol J.* 2015. 13(6). 791-800. doi: 10.1111/pbi.12312

33. Shi Y, Zhao G, Xu X et al. Discovery of a new fragrance allele and development of functional markers for identifying diverse fragrant genotypes in rice. *Mol Breeding*. 2014. 33. 701–708. doi.org/10.1007/s11032-013-9986-x

34. Tian Y, Zhou Y, Gao G et al. Creation of Two-Line Fragrant Glutinous Hybrid Rice by Editing the Wx and OsBADH2 Genes via the CRISPR/Cas9 System. *Int J Mol Sci.* 2023. 24(1). 849. doi: 10.3390/ijms24010849

35. Thimmaraju R, Bhagyalakshmi N, Narayan Ms et al. *In vitro* culture of *Pandanus amaryllifolius* and enhancement of 2-acetyl-1-pyrroline, the major flavouring compound of aromatic rice, by precursor feeding of L-proline. *J Science Food Agriculture*. 2005. 85(15). 2527-2534. DOI: 10.1002/jsfa.2286

36. Usman B, Nawaz G, Zhao N et al. Generation of High Yielding and Fragrant Rice (*Oryza sativa* L.) Lines by CRISPR/Cas9 Targeted Mutagenesis of Three Homoeologs of Cytochrome P450 Gene Family and OsBADH2 and Transcriptome and Proteome Profiling of Revealed Changes Triggered by Mutations. *Plants (Basel).* 2020. 9(6). 788. doi: 10.3390/plants9060788

37. Vaia G, Pavese V, Moglia A et al. Knockout of phytoene desaturase gene using CRISPR/Cas9 in highbush blueberry. *Front Plant Sci.* 2022. 13. 1074541. doi: 10.3389/fpls.2022.1074541

38. Wakte K, Zanan R, Hinge V et al. Thirty-three years of 2-acetyl-1-pyrroline, a principal basmati aroma compound in scented rice (*Oryza sativa* L.): a status review. *J Sci Food Agric.* 2017. 97(2). 384-395. doi: 10.1002/jsfa.7875

39. Wang Y, Liu X, Zheng X et al. Creation of aromatic maize by CRISPR/Cas. *J Integr Plant Biol.* 2021. 63(9). 1664-1670. doi: 10.1111/jipb.13105

40. Wei X, Handoko DD, Pather L et al. Evaluation of 2-acetyl-1-pyrroline in foods, with an emphasis on rice flavour. *Food Chem.* 232. 531-544. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.005

41. Wu J, Xu J, He A et al. Generating fragrant oilseed rape using CRISPR/Cas9-mediated gene editing. *Plant Physiol.* 2024. 197(1) kiae660. doi: 10.1093/plphys/kiae660

42. Wu W, Miao R, Li Z et al. CRISPR/Cas9-mediated editing of BADH2 and Wx genes for the development of novel aromatic and soft-textured black and red rice. *Physiol Plant.* 2025. 177(2). e70194. doi: 10.1111/ppl.70194

43. Xie H, Song M, Cao X et al. Breeding exceptionally fragrant soybeans for soy milk with strong aroma. *J Integr Plant Biol.* 2024. 66(4). 642-644. doi: 10.1111/jipb.13631

44. Xue L, Qu P, Zhao H et al. Creation of fragrant peanut using CRISPR/Cas9. *J Integr Plant Biol.* 2025. 67(6). 1438-1440. doi: 10.1111/jipb.13864

45. Yu J, Hu S, Wang J. et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*. 2002. 296(5565). 79-92. doi: 10.1126/science.1068037

46. Yundaeng C, Somta P, Tangphatsornruang S et al. A single base substitution in BADH/AMADH is responsible for fragrance in cucumber (*Cucumis sativus* L.), and development of SNAP markers for the fragrance. *Theor Appl Genet.* 128(9). 1881-1892. doi: 10.1007/s00122-015-2554-5

47. Yundaeng C, Somta P, Tangphatsornruang S et al. Gene discovery and functional marker development for fragrance in sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench). *Theor Appl Genet.* 2013. 126(11). 2897-2906. doi: 10.1007/s00122-013-2180-z

48. Zhang C, Yun P, Xia J et al. CRISPR/Cas9-mediated editing of Wx and BADH2 genes created glutinous and aromatic two-line hybrid rice. *Mol Breed.* 2023. 43(4). 24. doi: 10.1007/s11032-023-01368-2

49. Zhang D, Tang S, Xie P et al. Creation of fragrant sorghum by CRISPR/Cas9. *J Integr Plant Biol.* 2022. 64(5). 961-964. doi: 10.1111/jipb.13232

50. Zhang Y, He Q, Zhang S et al. *De novo* creation of popcorn-like fragrant foxtail millet. *J Integr Plant Biol.* 2023. 65(11). 2412-2415. doi: 10.1111/jipb.13556

51. Zhao G, Deng L, Liu X et al. A mutation in CmoBADH results in the production of 2-acetyl-1-pyrroline, conferring a 'taro-like' aroma in Cucurbita moschata. *Theor Appl Genet.* 2025. 138(11). 265. doi: 10.1007/s00122-025-05050-3