

# TRIỂN VỌNG CỦA HỆ THỐNG CẢM ỨNG ĐƠN BỘI TRUNG GIAN CHỈNH SỬA BỘ GEN Ở CÂY HỌ ĐẬU

Yiqian Liu<sup>1,2</sup>, Musazade Elshan<sup>2</sup>, Geng Li<sup>2,3</sup>, Xiao Han<sup>1</sup>, Xiao Chen<sup>2</sup>  
và Xianzhong Feng<sup>2</sup>,\*ORCID  
*Võ Như Cẩm biên dịch*

1. Cao đẳng Nông học, Đại học Nông nghiệp Cát Lâm, Trường Xuân 130118, Trung Quốc.
2. Phòng thí nghiệm trọng điểm về chọn tạo thiết kế phân tử đậu nành, Phòng thí nghiệm trọng điểm quốc gia về bảo tồn và sử dụng đất đen, Viện Địa lý và sinh thái Nông nghiệp Đông Bắc, Viện Hàn lâm Khoa học Trung Quốc, Trường Xuân 130102, Trung Quốc.
3. Cao đẳng Khoa học sự sống, Đại học Nông nghiệp Cát Lâm, Trường Xuân 130118, Trung Quốc.

## TÓM TẮT

Hệ thống cảm ứng đơn bội trung gian chỉnh sửa bộ gen (HIS) là một chiến lược đầy hứa hẹn để tăng cường hiệu quả chọn giống ở các loại cây họ đậu, đóng vai trò quan trọng đối với nền nông nghiệp bền vững do lợi ích dinh dưỡng và khả năng cố định đạm của chúng. Việc lai tạo cây họ đậu theo phương pháp truyền thống thường chậm và phức tạp do bộ gen của cây họ đậu rất phức tạp và những thách thức liên quan đến nuôi cấy mô. Những tiến bộ gần đây đã mở rộng khả năng ứng dụng của HIS ở cây họ đậu, giúp rút ngắn thời gian của chu kỳ chọn giống. Bằng cách tích hợp công nghệ chỉnh sửa bộ gen với hệ thống lai tạo đơn bội, các nhà nghiên cứu có thể đạt được các sửa đổi di truyền chính xác và nhanh chóng tạo ra các dòng đồng hợp tử, do đó đẩy nhanh đáng kể quá trình phát triển các đặc điểm mong muốn. Bài đánh giá này khám phá tình trạng hiện tại và triển vọng tương lai của HIS chỉnh sửa bộ gen ở cây họ đậu, nhấn mạnh vào cơ chế cảm ứng đơn bội; những đột phá gần đây; và những thách thức kỹ thuật hiện có. Hơn nữa, chúng tôi nhấn mạnh đến sự cần thiết của việc nghiên cứu thêm để tối ưu hóa các hệ thống này trên nhiều loài họ đậu khác nhau, có tiềm năng tăng cường đáng kể hiệu quả chọn giống và góp phần vào tính bền vững của sản xuất cây họ đậu.

**Từ khóa:** dòng cảm ứng đơn bội; sản xuất đơn bội; chỉnh sửa bộ gen; lai tạo cây họ đậu

## 1. GIỚI THIỆU

Các loại cây họ đậu, bao gồm đậu nành (*Glycine max*), đậu Hà Lan (*Pisum sativum*), đậu lăng (*Lens culinaris*) và đậu gà (*Cicer arietinum*), đóng vai trò quan trọng đối với an ninh lương thực toàn cầu, dinh dưỡng và nông nghiệp bền vững. Đậu nành nói riêng, đóng vai trò là nguồn thực phẩm quan trọng trên toàn thế giới, cung cấp protein thực vật có giá trị và góp phần cải thiện sức khỏe đất thông qua quá trình cố định đạm. Tuy nhiên, chọn giống cây họ đậu phải đối mặt với những thách thức do bộ gen phức tạp, lớn của cây họ đậu, cùng với sự đa dạng di truyền đáng kể. Các phương pháp chọn giống truyền thống thường không theo kịp nhu cầu ngày càng tăng về năng suất cao hơn và cải thiện chất lượng cây trồng. Các phương pháp này gặp phải những trở ngại như chu kỳ chọn giống kéo dài, không tương thích về mặt giới tính và rào cản về thụ tinh, làm hạn chế hiệu quả của chúng [1]. Mặc dù chọn giống truyền thống có thể đưa vào các đặc điểm mong muốn, nhưng nó vô tình có thể làm giảm sự đa dạng di truyền, khiến cây trồng dễ bị ảnh hưởng bởi căng thẳng về môi trường hơn và không giải quyết được các vấn đề cấp bách về an ninh lương thực toàn cầu, bao gồm hấp thụ chất dinh dưỡng, kháng sâu bệnh và thời gian thu hoạch ngắn hơn [2]. Để giảm thiểu những hạn chế này, các công cụ phân tử như chọn

lọc di truyền, lai tạo đột biến, hệ gen chức năng và các công nghệ chỉnh sửa bộ gen tiên tiến như CRISPR/Cas đã tạo điều kiện cho việc cải tiến cây trồng chính xác [3] (Bảng 1). Do đó, có nhu cầu cấp thiết về các công cụ chọn giống hiệu quả hơn để vượt qua những rào cản này và đẩy nhanh quá trình phát triển các giống cây họ đậu năng suất cao [4,5,6].

**Bảng 1.** So sánh các phương pháp chọn giống thực vật thông thường và hiện đại.

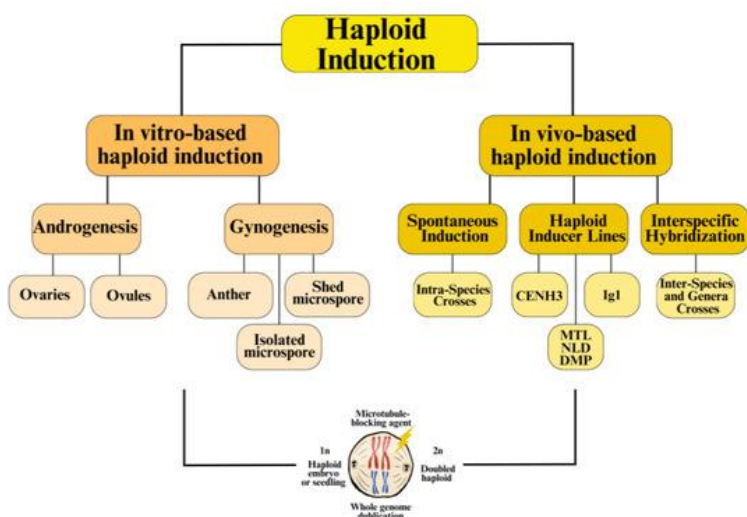
<b>Chọn giống thực vật thông thường</b>	<b>Chọn giống thực vật hiện đại</b>
Chọn lọc kiểu hình, dẫn đến độ chính xác thấp hơn	Chọn lọc kiểu gen và kiểu hình, độ chính xác cao hơn
Chậm phát triển và phát hành các giống mới	Phát triển nhanh các giống mới
Dựa vào lai tạo cho nhiều giống khác nhau	Sử dụng các công cụ tiên tiến như chọn lọc bộ gen và phân tích kiểu hình thông lượng cao (HTP)
Các alen lặn mất nhiều thời gian hơn	Kết hợp hiệu quả các alen lặn bằng cách sử dụng các markers
Phụ thuộc vào kỹ năng của nhà chọn giống, thường không nhất quán	Dựa trên dữ liệu khoa học, có thể sản xuất được nhiều hơn
Yêu cầu trình độ chuyên môn kỹ thuật tối thiểu	Yêu cầu kiến thức di truyền và kỹ thuật tiên tiến
Chi phí thấp do có các công cụ cơ bản	Chi phí cao do công nghệ tiên tiến

Các công nghệ mới, chẳng hạn như hệ thống cảm ứng đơn bội (HIS) và các kỹ thuật chỉnh sửa bộ gen, đang được khám phá để giải quyết các thách thức trong quá trình chọn giống cây họ đậu. Một bước cơ bản trong cả quá trình chọn giống thông thường và hiện đại là lựa chọn dòng thuần chủng, vì dòng thuần chủng là yếu tố cần thiết làm nguồn gốc bố mẹ cho sự phát triển của giống lai [7]. Trong quá trình giảm phân ở thực vật bậc cao, giao tử đực và giao tử cái được tạo ra, mỗi giao tử chứa một nửa số lượng nhiễm sắc thể có trong tế bào soma. Một cây đơn bội, phát triển từ một giao tử thể mà không cần thụ tinh, chỉ sở hữu một bộ nhiễm sắc thể duy nhất. Vì cây đơn bội thường vô sinh nên cần phải nhân đôi nhiễm sắc thể để tạo ra thể hệ con cái ổn định và đồng nhất. Quá trình cảm ứng đơn bội này đóng vai trò là một công cụ mạnh mẽ trong quá trình lai tạo thực vật, tạo điều kiện cho việc tạo ra nhanh chóng các dòng đơn bội kép đồng nhất về mặt di truyền (DH) [8,9]. Lai tạo đơn bội có lợi vì nó đẩy nhanh quá trình phát triển các dòng đồng hợp tử, thường chỉ đạt được trong hai thế hệ, so với 6 – 8 thế hệ theo yêu cầu của các phương pháp tự thụ phấn truyền thống. Bằng cách nhân đôi bộ gen đơn bội, các nhà chọn giống có thể tạo ra các cây đồng hợp tử, ổn định về mặt di truyền và đồng nhất, giúp giảm đáng kể thời gian và công sức cần thiết để phát triển các dòng thuần chủng. Kỹ thuật này ngày càng được sử dụng trong nhiều lĩnh vực, bao gồm làm vườn, phân lập đột biến và giải trình tự toàn bộ bộ gen của các loài dị hợp tử tự nhiên [10,11]. Các chất gây cảm ứng đơn bội giúp khắc phục tình trạng tắc nghẽn di truyền bằng cách cho phép các dòng đồng hợp tử phát triển nhanh hơn, trong khi các công cụ chỉnh sửa bộ gen như CRISPR/Cas9 cung cấp các sửa đổi chính xác, có mục tiêu cho các gen cụ thể [12]. Những đổi mới này đang cách mạng hóa sự hiểu biết của chúng ta về di truyền thực vật và chuyển đổi quá trình lai tạo, cho phép cải thiện nhanh hơn và chính xác hơn các đặc điểm chính như năng suất, khả năng kháng bệnh và khả năng chịu đựng căng thẳng. Do đó, các công nghệ này rất cần thiết cho tương lai của nghiên cứu nông nghiệp, đặc biệt là trong việc giải quyết nhu cầu của hệ thống lương thực toàn cầu. Bài đánh giá này xem xét tiềm năng của HIS do chỉnh sửa bộ gen ở các loại cây họ đậu, tập trung vào những tiến bộ gần đây và những

thách thức đang diễn ra. Cụ thể, bài viết nhấn mạnh vai trò của các công nghệ tiên tiến như CRISPR/Cas9 và CRISPR/Cas12 trong việc chuyển đổi quá trình lai tạo cây họ đậu. Bài đánh giá này nhằm mục đích chứng minh cách các công cụ này có thể tăng cường các đặc điểm chính, bao gồm năng suất, khả năng kháng bệnh và khả năng phục hồi của môi trường. Hơn nữa, bài viết thảo luận về việc tích hợp cảm ứng đơn bội và chỉnh sửa bộ gen để đẩy nhanh quá trình phát triển các giống cây họ đậu năng suất cao, có khả năng phục hồi, qua đó giải quyết các thách thức về an ninh lương thực và tính bền vững toàn cầu.

## 2. CẢM ỨNG ĐƠN BỘI Ở CÂY HỌ ĐẬU

Các loại cây họ đậu, được đặc trưng bởi sự đa dạng di truyền và bộ gen phức tạp, trong lịch sử đã đặt ra những thách thức đối với sản xuất đơn bội [5,6]. Tuy nhiên, những tiến bộ gần đây, bao gồm sản xuất đơn bội tự phát, các kỹ thuật nuôi cấy mô và lai xa, đã mở đường cho việc lai tạo hiệu quả hơn (Hình 1). Mặc dù các phương pháp này có những hạn chế, nhưng chúng thiết lập nền tảng để tích hợp các công cụ hiện đại như dòng cảm ứng đơn bội (HIL) và công nghệ chỉnh sửa bộ gen để đẩy nhanh quá trình cải tiến cây trồng và tăng cường các đặc điểm chính ở các loài họ đậu.



**Hình 1.** Tổng quan về các phương pháp cảm ứng đơn bội ở thực vật. Cảm ứng đơn bội có thể được chia thành các phương pháp trong ống nghiệm (sinh sản vô tính và sinh sản androgen) và trong cơ thể sống (cảm ứng tự phát, HIL và lai giữa các loài). Các tác nhân chặn vi ống phá vỡ sự hình thành sợi thoi phân bào trong quá trình phân chia tế bào, dẫn đến sự nhân đôi toàn bộ bộ gen. Quá trình này chuyển đổi các tế bào đơn bội thành cây DH bằng cách ngăn chặn sự phân ly nhiễm sắc thể, tạo ra các tế bào lưỡng bội.

### 2.1. Sản xuất đơn bội tự phát

Ở một số loài thực vật, đơn bội có thể tự phát sinh do bất thường trong quá trình phát triển của cơ quan sinh sản, thường là do vô sinh ở con đực hoặc con cái. Những gián đoạn tự nhiên này trong quá trình phát triển của phấn hoa hoặc noãn dẫn đến sự hình thành các cây đơn bội. Quá trình sản xuất đơn bội tự phát như vậy đã được ghi nhận ở hơn 400 loài, bao gồm các loại cây trồng có ý nghĩa kinh tế như ngô (*Zea mays*) và thuốc lá (*Nicotiana tabacum*). Ví dụ, ở ngô, gen *ig1* đã được xác định là yếu tố chính trong việc thúc đẩy sự hình thành phôi đơn bội từ tế bào tinh trùng [13]. Mặc dù quá trình sản xuất đơn bội tự phát diễn ra tự nhiên, nhưng tần suất của nó thường thấp và không nhất quán, khiến nó không thực tế đối với các ứng dụng nông nghiệp quy mô lớn. Điều này đặc biệt đúng đối với nhiều loài họ đậu, nơi mà các đơn bội tự nhiên được tạo ra rất hiếm, do đó hạn chế tiềm năng của phương pháp lai tạo này. Ở các loài họ đậu như cỏ linh lăng (*Medicago sativa*), thường được sử dụng làm mô hình cho nghiên cứu di truyền, quá trình sản xuất đơn bội tự phát đã được chứng minh trong điều kiện được kiểm soát. Ví dụ, Saunders và Bingham (1972) đã chỉ ra rằng có thể thu được chất tái sinh alfalfa thành công bằng cách nuôi cấy noãn non trong ống nghiệm [14]. Tuy nhiên, ngay cả trong những trường hợp này, quy trình vẫn không hiệu quả và cần phải tối ưu hóa để khả thi

cho các ứng dụng lai tạo giống thực tế. Mặc dù sản xuất đơn bội tự phát là một hiện tượng sinh học thú vị, nhưng tỷ lệ thành công thấp và khả năng ứng dụng hạn chế ở nhiều loài họ đậu khiến nó kém tin cậy hơn so với các phương pháp sản xuất đơn bội thay thế, chẳng hạn như các phương pháp liên quan đến chất gây cảm ứng đơn bội hoặc xử lý hóa học.

## 2.2. Kỹ thuật nuôi cấy mô

Các kỹ thuật nuôi cấy mô để tạo ra cây đơn bội, bao gồm cả quá trình sinh sản vô tính và sinh sản hữu tính, đóng vai trò là công cụ mạnh mẽ trong quá trình lai tạo cây trồng, tạo điều kiện cho sự phát triển của các dòng đồng nhất về mặt di truyền và đẩy nhanh quá trình sản xuất cây đồng hợp tử [9]. Sinh sản vô tính là quá trình thụ tinh diễn ra, nhưng bộ gen của bố bị loại khỏi quá trình phát triển phôi, dẫn đến cây đơn bội chỉ có nguồn gốc từ vật liệu di truyền của mẹ [15]. Phương pháp này có thể được tạo ra trong ống nghiệm, mang lại những lợi thế như chu kỳ chọn giống ngắn hơn và tạo ra dòng thuần chủng nhanh hơn, rất quan trọng đối với lai tạo và nghiên cứu di truyền. Sự sinh sản vô tính thành công đòi hỏi phải tối ưu hóa các yếu tố như kiểu gen của bố mẹ, thành phần môi trường nuôi cấy và giai đoạn phát triển của giao tử cái (noãn hoặc túi phôi) [16]. Mặc dù phương pháp này đã chứng minh được tính thành công ở các loài như đậu gà (*C. arietinum*), nhưng việc áp dụng nó vào các cây họ đậu thường bị hạn chế bởi những hạn chế liên quan đến sinh học sinh sản và những thách thức trong việc tạo ra sự sinh sản vô tính trong điều kiện *in vitro* được kiểm soát. Ở các loài đậu nành, sự phức tạp của quá trình phát triển noãn và bộ gen lớn hơn, phức tạp hơn càng làm phức tạp thêm quá trình này. Tác động của mẹ và tương tác kiểu gen – môi trường cũng đặt ra những thách thức; tuy nhiên, nghiên cứu đang được tiến hành nhằm mục đích cải tiến các kỹ thuật này để ứng dụng rộng rãi hơn trong quá trình chọn giống cây họ đậu [5,16,17].

Ngược lại, sinh sản hữu tính liên quan đến sự phát triển của phôi đơn bội từ giao tử đực (vi bào tử hoặc bao phấn) mà không cần thụ tinh, tạo ra một cây chỉ được kiểm soát bởi vật liệu di truyền của bố [18]. Kỹ thuật này đã được áp dụng thành công cho nhiều loại cây trồng khác nhau, bao gồm ngô, thuốc lá và lúa mì (*Triticum aestivum*), và lần đầu tiên được chứng minh ở các cây họ đậu như cỏ linh lăng, nơi mà quá trình sinh sản hữu tính được kích thích thông qua nuôi cấy bao phấn vào những năm 1980 [19]. Các loài họ đậu khác, bao gồm đậu Hà Lan (*P. sativum*) [20] và cỏ ba lá (*Trifolium spp.*) [21], cũng đã cho thấy một số thành công với các phương pháp hữu tính, mặc dù tỷ lệ thành công chung vẫn còn thấp. Ở các cây họ đậu như đậu nành, quá trình cảm ứng hữu tính bị cản trở bởi sự loại bỏ bộ gen của bố cao trong quá trình nuôi cấy vi bào tử hoặc bao phấn, cùng với những thách thức liên quan đến sự phát triển của vi bào tử, tính biến đổi kiểu gen và tối ưu hóa môi trường nuôi cấy. Bất chấp những khó khăn này, những tiến bộ trong việc kiểm soát các yếu tố môi trường như nhiệt độ, ánh sáng, chế độ nội tiết tố và cải tiến di truyền hứa hẹn sẽ tăng cường khả năng đáp ứng hữu tính ở các cây họ đậu, có khả năng đẩy nhanh quá trình phát triển các giống cây trồng đồng đều, năng suất cao [22,23].

## 2.3. Các thể đơn bội do lai xa gây ra

Sản xuất thể đơn bội do lai xa gây ra dựa trên hiện tượng loại bỏ nhiễm sắc thể, xảy ra trong quá trình lai giữa các loài. Trong quá trình này, thụ tinh kép dẫn đến sự hình thành hợp tử, nhưng khi các tế bào hợp tử phân chia, nhiễm sắc thể của bố có thể bị loại bỏ một cách chọn lọc, tạo ra phôi đơn bội. Ngoài ra, sự phát triển nội nhũ nhanh chóng cũng có thể góp phần loại bỏ nhiễm sắc thể của bố, thường dẫn đến tình trạng chết yếu hạt [24].

Tuy nhiên, trong một số trường hợp, nuôi cấy phôi lai trong ống nghiệm có thể cứu các thể đơn bội này, cho phép chúng phát triển thành cây khỏe mạnh. Kỹ thuật này đã được chứng minh thành công ở một số loài cây trồng. Ví dụ, vào những năm 1970, các nhà nghiên cứu đã phát hiện ra rằng các giống lai giữa lúa mạch trồng (*Hordeum vulgare*) và *H. bulbosum* có thể tạo ra phôi đơn bội thông qua quá trình loại bỏ nhiễm sắc thể [24]. Tương tự như vậy, lúa mì và ngô đã được lai tạo, với nhiễm sắc thể ngô bị loại bỏ, sau đó là nuôi cấy phôi và nhân đôi nhiễm sắc thể để tạo ra các dòng DH ở lúa mì [5,25]. Các hệ thống này đã được áp dụng hiệu quả ở lúa mạch, lúa mì và các loại ngũ cốc khác để đẩy nhanh quá trình lai tạo.

Tuy nhiên, việc áp dụng các thể đơn bội do lai xa gây ra ở các cây họ đậu đã được chứng minh là khó khăn hơn [26]. Mặc dù về mặt lý thuyết, lai xa có thể gây ra sản xuất đơn bội ở các cây họ đậu, nhưng một số yếu tố hạn chế sự thành công của phương pháp này. Đầu tiên, các loài họ đậu thường biểu hiện các hành vi sinh sản phức tạp và rào cản di truyền mạnh giữa các loài, khiến quá trình lai tạo trở nên khó khăn hoặc không thành công. Ngoài ra, hiệu quả loại bỏ nhiễm sắc thể ở cây họ đậu có xu hướng thấp hơn nhiều so với cây trồng ngũ cốc, càng cản trở việc sử dụng thực tế kỹ thuật này [27].

Ở đậu nành và các cây họ đậu khác, các nỗ lực lai xa đã mang lại kết quả trái chiều. Một số phép lai giữa đậu thường (*Phaseolus vulgaris*) và đậu ngọt (*Lathyrus odoratus*) đã cho thấy tiềm năng tạo ra đơn bội thông qua việc loại bỏ nhiễm sắc thể, nhưng quá trình này vẫn không hiệu quả [28]. Tương tự như vậy, ở đậu Hà Lan (*P. sativum*), trong khi đã thử lai xa với đậu răng ngựa (*Vicia faba*), tỷ lệ thành công thấp và khó khăn trong việc cứu phôi đã khiến cách tiếp cận này phần lớn không thực tế để đẩy nhanh chu kỳ chọn giống ở cây họ đậu [29].

Một thách thức lớn đối với cây họ đậu là việc lai giữa các loài có nền tảng di truyền xa nhau thường dẫn đến tình trạng vô sinh hoặc bộ hạt kém, làm phức tạp quá trình sản xuất phôi đơn bội sống. Không giống như các loại cây ngũ cốc, nơi mà các đơn bội do lai tạo thường thành công hơn do hệ thống sinh sản tương thích hơn và các phương pháp cứu phôi đã được thiết lập tốt hơn, các loại cây họ đậu thường đòi hỏi các phương pháp chuyên biệt để vượt qua những rào cản này [27]. Do đó, các đơn bội do lai tạo xa vẫn chưa trở thành phương pháp tiêu chuẩn để lai tạo các loại cây họ đậu. Tuy nhiên, nghiên cứu về việc thiết lập các HIL đặc hiệu cho cây họ đậu, tương tự như các HIL được phát triển trong ngũ cốc, có thể đưa ra một giải pháp khả thi hơn. Bằng cách xác định các gen hoặc cơ chế cụ thể tạo điều kiện cho việc loại bỏ nhiễm sắc thể ở các loại cây họ đậu, những người lai tạo có khả năng tạo ra các hệ thống hiệu quả hơn để tạo ra các đơn bội, do đó rút ngắn chu kỳ lai tạo và cho phép cải thiện di truyền chính xác hơn [4].

### **3. CÁC DÒNG CẢM ỨNG ĐƠN BỘI TRONG LAI TẠO CÂY HỌ ĐẬU**

Các HIL rất quan trọng trong lai tạo thực vật hiện đại, cho phép sản xuất nhanh các đơn bội có thể được nhân đôi để tạo ra các dòng thuần chủng, dòng hợp tử. Công nghệ này đặc biệt có giá trị đối với các loại cây họ đậu, vốn phức tạp về mặt di truyền và theo truyền thống là thách thức để lai tạo. Các HIL hợp lý hóa quá trình lai tạo bằng cách bỏ qua quá trình tự thụ phấn, giúp giảm đáng kể thời gian cần thiết để phát triển các giống mới [30,31]. Khi kết hợp với các công cụ chỉnh sửa bộ gen như CRISPR/Cas9, HIL tạo điều kiện cải thiện đặc điểm chính xác, đẩy nhanh quá trình cải thiện năng suất, khả năng kháng bệnh và khả năng phục hồi môi trường ở cây họ đậu [12].

### 3.1. Cơ chế của dòng cảm ứng đơn bội

HIL được sử dụng rộng rãi trong lai tạo hiện đại, cho phép sản xuất nhanh các cây đơn bội có thể nhân đôi để tạo thành lưỡng bội đồng hợp tử. HIL đã được áp dụng thành công trên các loại cây trồng như ngô, lúa mì và lúa (*Oryza sativa*), ổn định các dòng đơn bội chỉ trong hai thế hệ, do đó cải thiện hiệu quả lai tạo và chất lượng di truyền [7]. Ngô chủ yếu chứa hai HIL nội bộ: cảm ứng đơn bội dựa trên đột biến giao tử thể bất định 1 (*ig1*) và cảm ứng đơn bội dựa trên dòng ngô cận huyết Stock6. Đột biến *ig1*, được tìm thấy trong dòng cận huyết Wisconsin-23 (W23), có thể tạo ra tỷ lệ cảm ứng đơn bội (HIR) là 3% khi được sử dụng làm bố mẹ. Đơn bội thu được từ dòng có thể cảm ứng này chứa tế bào chất của mẹ và bộ gen của giao tử đực [32]. Mặc dù các đột biến *ig1* biểu hiện tác dụng cảm ứng đơn bội, chúng cũng tác động đến quá trình hình thành giao tử cái, phá vỡ chu kỳ phân chia nhân và biểu hiện tubulin ở giao tử cái. Điều này dẫn đến nguyên phân bất thường ở một số tế bào của túi phôi *ig1*, dẫn đến cấu trúc túi phôi bất thường, thường gây ra tình trạng chết yếu sớm ở hạt [32,33,34]. Điều quan trọng là cơ chế phân tử cụ thể mà các đột biến *ig1* gây ra quá trình sản xuất đơn bội vẫn chưa rõ ràng, hạn chế việc ứng dụng *ig1* HIL.

Nhiều gen khác nhau làm trung gian cho quá trình cảm ứng đơn bội thông qua các cơ chế phân tử riêng biệt. Nghiên cứu sâu rộng đã tập trung vào các cơ chế cảm ứng đơn bội ở ngô, đặc biệt là do phát hiện và ứng dụng HIL tự nhiên Stock6. Bản đồ gen đã xác định được ít nhất bảy vị trí tính trạng định lượng (QTL) có thể liên quan đến chức năng cảm ứng đơn bội của ngô Stock6 [35,36,37]. Các gen chính như MATRILINEAL (MTL), PHOSPHOLIPASE A1 (PLA1), NOT LIKE DAD (NLD) và protein màng DOMAIN OF UNKNOWN FUNCTION 679 (DMP) đã được liên kết với quá trình cảm ứng đơn bội thông qua các con đường phospholipase. Gen DMP có ứng dụng rộng hơn ở thực vật hai lá mầm nhưng thường biểu hiện HIR thấp hơn. Tuy nhiên, việc kết hợp các đột biến ở hai gen đã được chứng minh là làm tăng HIR so với các đột biến gen đơn lẻ. Các nghiên cứu gần đây về một gen cảm ứng đơn bội khác, PHOSPHOLIPASE D3 (PLD3), chỉ ra rằng đột biến của nó có thể làm tăng HIR gấp ba lần khi có dòng đột biến *mtl/zmpla1/nld* [37,38,39]. Kelliher và cs (2017) đã chứng minh rằng protein MTL/PLA trong ngô nhắm vào màng trong của tế bào tinh trùng, trong khi protein bị cắt đứt trong HIL không định vị chính xác, có khả năng ảnh hưởng đến tính toàn vẹn của màng tế bào tinh trùng và các con đường truyền tín hiệu [35]. Phân tích phiên mã RNA của phấn hoa trong quá trình cảm ứng đơn bội đã tiết lộ sự biểu hiện quá mức của các gen đặc hiệu của phấn hoa liên quan đến thành phần màng, chuyển hóa lipid và tín hiệu canxi, cho thấy mối liên hệ với cảm ứng đơn bội [4,40].

Protein CENH3 (histone đặc hiệu tâm động H3), có miền gấp histone đầu C được bảo tồn cao (HFD) và đuôi đầu N có khả năng thay đổi cao, đóng vai trò quan trọng trong việc tải CENH3 trong quá trình giảm phân và điều hòa phân chia tế bào [41]. Trình tự miền đầu N của nó thay đổi đáng kể giữa các loại cây khác nhau. Các lỗi trong quá trình phiên mã, dịch mã, sửa đổi hoặc kết hợp CENH3 có thể phá vỡ quá trình lắp ráp của kinetosome hoàn chỉnh, có khả năng dẫn đến chức năng tâm động bất thường hoặc bất hoạt [42,43,44,45,46]. Đáng chú ý, quá trình lai tạo CENH3 bị biến đổi ở đầu N với loại hoang dã là mẹ tạo ra các đơn bội ở *Arabidopsis* với HIR là 25 – 45%. Chiến lược này cũng đã được chứng minh là có hiệu quả ở lúa mì và ngô, tạo ra HIR lần lượt là 8% và 0,86% [44,47,48,49]. Các đột biến điểm trong HFD đầu C được bảo tồn của AtCENH3 dẫn đến tỷ lệ đơn bội là 0,61 – 44% [12,50]. Các nghiên cứu chỉ ra rằng AtCENH3 bị hư hỏng với các đột biến điểm đầu N hoặc đầu C bị thay đổi không thể được tải lên tâm

động từ cha mẹ HIL trong hợp tử, dẫn đến chức năng tâm động suy yếu và loại bỏ cha mẹ đơn lẻ [51]. Đáng chú ý, *+cenh3* dị hợp tử ở ngô dẫn đến sản xuất đơn bội 5% khi lai xa với mẹ, trong khi tỷ lệ này chỉ là 0,4% ở *Arabidopsis* [51,52]. Sự thoái hóa đặc hiệu của CENH3 được gắn nhãn EYFP của mẹ bằng cách nhắm mục tiêu kháng thể nano cũng dẫn đến sản xuất đơn bội [53]. Những phát hiện này cho thấy rằng lượng CENH3 trên tâm động của mẹ rất quan trọng để duy trì tính toàn vẹn của bộ gen mẹ ở con cái và có thể được sử dụng để lai tạo đơn bội [54].

### **3.2. Phát triển các dòng cảm ứng đơn bội ở cây họ đậu**

Việc ứng dụng HIL ở cây họ đậu vẫn đang trong giai đoạn đầu, chủ yếu là do hệ thống sinh sản phức tạp và các rào cản di truyền đặc trưng của các loại cây trồng này. Không giống như cây một lá mầm, nhiều cây họ đậu thể hiện sự không tương thích bản thân và rào cản lai tạo mạnh, làm phức tạp quá trình phát triển các HIL hiệu quả [55]. Ngoài ra, HIR ở thực vật hai lá mầm, bao gồm cả cây họ đậu, có xu hướng thấp hơn, cản trở việc sử dụng chúng trong các chương trình lai tạo giống. Bất chấp những thách thức này, nghiên cứu gần đây đã cho thấy triển vọng trong việc phát triển các HIL dành riêng cho cây họ đậu. Ở đậu nành, các giao thức đã được sửa đổi có nguồn gốc từ cây ngũ cốc đã đạt được một số thành công, mặc dù HIR vẫn ở mức thấp [56]. Những nỗ lực với các cây họ đậu khác, chẳng hạn như *M. truncatula* [57], đã gặp phải những rào cản tương tự, bao gồm những khó khăn trong quá trình lai tạo và tỷ lệ thành công thấp.

Việc tích hợp các công cụ chỉnh sửa bộ gen như CRISPR/Cas9 mang lại một bước đột phá tiềm năng, cho phép đột biến có mục tiêu ở các gen liên quan đến quá trình phát triển giao tử thể [35,57,58,59]. Khi được tích hợp thành công vào các chương trình lai tạo giống, HIL có thể mang lại những lợi thế đáng kể, chẳng hạn như đẩy nhanh quá trình phát triển các dòng đồng hợp tử cho các đặc điểm như khả năng kháng bệnh, chịu hạn và cải thiện hàm lượng dinh dưỡng. Ví dụ, ở đậu nành, HIL có thể giảm thời gian cần thiết để tạo ra các dòng DH từ 6 – 8 thế hệ tự thụ phấn xuống chỉ còn hai thế hệ, do đó đẩy nhanh quá trình phát triển các giống cây trồng có năng suất cao, kháng stress. Tuy nhiên, để nhận ra đầy đủ tiềm năng của HIL trong lai tạo cây họ đậu, những thách thức như HIR thấp và rào cản lai tạo phải được giải quyết. Những tiến bộ trong kỹ thuật di truyền, chỉnh sửa bộ gen và các giao thức nuôi cấy mô sẽ rất quan trọng để vượt qua những rào cản này và mở khóa những lợi ích của HIL đối với việc cải thiện cây họ đậu.

## **4. HỆ THỐNG CẢM ỨNG ĐƠN BỘI TRUNG GIAN CHỈNH SỬA BỘ GEN**

### **4.1. Những tiến bộ của các dòng cảm ứng đơn bội ở thực vật**

Sự kết hợp của HIL với các công nghệ chỉnh sửa bộ gen, chẳng hạn như CRISPR/Cas9 và CRISPR/Cas12, có tiềm năng hợp lý hóa quá trình lai tạo, đặc biệt là đối với các loại cây trồng phức tạp như cây họ đậu [7,60]. Phương pháp này cho phép tạo ra dòng thuần chủng hiệu quả cùng với chỉnh sửa gen chính xác, đẩy nhanh quá trình phát triển các dòng thuần chủng và tăng cường các đặc điểm chính như năng suất, khả năng kháng bệnh và khả năng chịu stress. Các phương pháp truyền thống để tạo ra dòng thuần chủng tốn nhiều thời gian và công sức, thường đòi hỏi nhiều thế hệ lai tạo và chọn lọc. Ngược lại, chỉnh sửa bộ gen, đặc biệt là sử dụng công nghệ CRISPR/Cas, cung cấp một giải pháp thay thế hiệu quả và chính xác hơn. Các cấu trúc CRISPR/Cas có thể được đưa vào sớm trong quá trình thụ tinh để nhắm mục tiêu và chỉnh sửa bộ gen của cây nhận trong khi loại bỏ bộ gen của tác nhân gây cảm ứng thuần chủng. Điều này tạo ra một cây thuần chủng, sau khi nhiễm sắc thể nhân đôi, trở thành cây thuần chủng đồng hợp tử không chuyên gen đã được chỉnh sửa [61,62]. Chiến lược này đẩy nhanh đáng kể quá trình phát

triển của cây có các đặc điểm mong muốn bằng cách giảm số thể hệ cần thiết để đạt được trạng thái thuần chủng.

Công nghệ CRISPR/Cas9 đã được sử dụng hiệu quả ở ngô để tăng hiệu quả cảm ứng thuần chủng. Jiang và cs (2021) đã chứng minh rằng việc loại bỏ gen *ZmPLD3* đã thúc đẩy HIR từ 1% lên 4% trong dòng đột biến *mtl/zmpla1/nld*, cho thấy tiềm năng của chỉnh sửa bộ gen để cải thiện quá trình cảm ứng đơn bội, một thách thức dai dẳng ở các cây họ đậu [57]. Ngoài ra, gen *ZmPOD65* (*Peroxidase 65*) ở ngô, giúp tăng cường quá trình cảm ứng đơn bội thông qua xử lý phân hoa hóa học, có thể được kết hợp với chỉnh sửa bộ gen để tối ưu hóa quá trình cảm ứng đơn bội ở các cây họ đậu, nơi quá trình cảm ứng đơn bội tự nhiên vẫn còn hạn chế [37,63]. Hệ thống CRISPR/Cas12 (Cpf1) cung cấp một công cụ có giá trị khác để chỉnh sửa gen. Nó nhận ra một trình tự mô típ liền kề protospacer (PAM) khác và tạo ra các đầu dính, cung cấp khả năng chỉnh sửa hiệu quả hơn với ít hiệu ứng ngoài mục tiêu hơn so với CRISPR/Cas9. Bằng cách đưa các cấu trúc CRISPR/Cas12 vào HIL và lai chúng với các dòng cận huyết ưu tú, có thể thu được các thể đơn bội đã chỉnh sửa và nhân đôi để tạo thành các cây lưỡng bội đồng hợp tử.

Việc kết hợp công nghệ chỉnh sửa gen vào HIL giúp đơn giản hóa quá trình lai tạo, giảm thời gian cần thiết để đạt được trạng thái đồng hợp tử so với các phương pháp truyền thống liên quan đến lai tạo và chọn lọc tốn nhiều công sức [64,65]. Phương pháp này đây nhanh chu kỳ lai tạo và có thể tăng cường các đặc điểm chính như năng suất, khả năng kháng bệnh và khả năng chịu hạn ở các cây họ đậu như đậu nành, đậu gà và đậu Hà Lan [64]. Bảng 2 tóm tắt ứng dụng của chỉnh sửa bộ gen trong quá trình phát triển thể đơn bội trên nhiều loại cây trồng khác nhau.

**Bảng 2.** Tóm tắt về các HIL được chỉnh sửa bộ gen bằng CRISPR/Cas9.

Loài	Phương pháp chỉnh sửa bộ gen	Tham khảo
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>CENH3</i> , <i>GFP-CENH3-tailswap</i> (N-terminal fusion green fluorescent protein-tagged)	[47]
	<i>CENH3</i> , <i>CENH3-tailswap</i> (tail switching)	[50,66]
	<i>CENH3</i> point mutation	[50,66]
	<i>BrCENH3/LoCENH3</i> complement <i>AtCENH3</i> (heterologous complementation and N-terminal heterologous exchange)	[44]
<i>AtDMP9</i> knockout, <i>Atdmp/Atdmp</i>	[4]	
<i>Brassica napus</i>	<i>BnaDMP</i> knockout, <i>Bnadmp/Bnadmp</i>	[67,68,69]
<i>B. oleracea</i>	<i>BoC03.DMP9</i> knockout, <i>BoC03.dmp9/BoC03.dmp9</i>	[68]
<i>Citrullus lanatus</i>	<i>DMP</i> point mutation	[70]
<i>G. max</i>	<i>DMP</i> point mutation	[4]
<i>M. sativa</i>	<i>MtDMP</i> knockout, <i>Mtdmp/Mtdmp</i>	[57]
<i>N. tabacum</i>	<i>NtDMP</i> knockout, <i>Ntdmp/Ntdmp</i>	[71]
<i>O. sativa</i>	<i>OsPLA1</i> knockout, <i>Ospla1/Ospla1</i>	[72]
<i>T. aestivum</i>	<i>CENH3</i> knockout, +/ <i>Tacenh3a</i>	[49]
	<i>CENH3</i> knockout, <i>Tamtl/Tamtl</i>	[60]
<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>SIDMP</i> knockout, <i>Sldmp/Sldmp</i>	[73]
<i>S. tuberosum</i>	<i>StDMP</i> knockout, <i>Stdmp/Stdmp</i>	[73]

<i>Z. mays</i>	<i>CENH3</i> , N-terminal modification	[48]
	<i>ZmPLA1</i> knockout, <i>Zmpla1/Zmpla1</i>	[74]
	<i>CENH3</i> knockout, <i>+/cenh3</i>	[52]
	<i>ZmPLD3</i> knockout, <i>Zmpld3/Zmpld3</i>	[70]
	<i>ZmKNL2</i> knockout, <i>Zmknl2/Zmknl2</i>	[75]
	<i>ZmPOD65</i> knockout, <i>Zmpod65/Zmpod65</i>	[63]
	<i>CIDMP4</i> knockout, <i>Cldmp4/Cldmp4</i>	[63]
	<i>CENH3</i> point mutation	
	<i>MTL/NLD/ZMPLA1</i> point mutation	[40,76]

*Ghi chú: Bảng bao gồm các gen chính liên quan đến quá trình cảm ứng đơn bội, được liệt kê theo thứ tự bảng chữ cái như sau: CENTROMERIC HISTONE H3 (CENH3); DOMAIN OF UNKNOWN FUNCTION 679 membrane protein (DMP); KINETOCHORE NULL 2 (KNL2); MATRILINEAL (MTL); NOT LIKE DAD (NLD); PEROXIDASE (POD65); PHOSPHOLIPASE A1 (PLA1); and PHOSPHOLIPASE D3 (PLD3).*

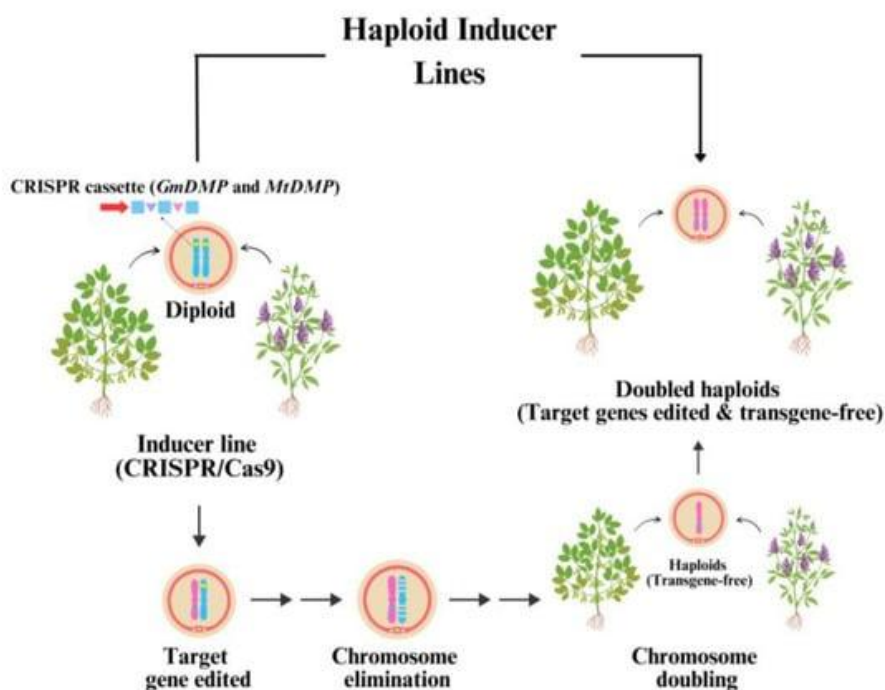
Việc tích hợp chỉnh sửa bộ gen với cảm ứng đơn bội là một chiến lược đầy hứa hẹn để giải quyết những thách thức vốn có trong quá trình lai tạo cây họ đậu. Tuy nhiên, vẫn còn những trở ngại đáng kể trong việc áp dụng hiệu quả các công nghệ này cho cây họ đậu. Một thách thức lớn là HIR tương đối thấp được quan sát thấy ở nhiều loài họ đậu, kết hợp với sự phức tạp về mặt di truyền của bộ gen của chúng. Việc thiết lập các HIL hiệu quả ở cây họ đậu vẫn đang trong giai đoạn đầu của quá trình nghiên cứu [77,78,79,80,81]. Mặc dù đã có những tiến bộ, nhưng việc tối ưu hóa chỉnh sửa bộ gen và các HIL được thiết kế riêng cho cây họ đậu sẽ rất quan trọng để giải phóng toàn bộ tiềm năng của chúng. Phát triển các HIL được chỉnh sửa bộ gen dành riêng cho cây họ đậu là điều cần thiết để khắc phục những hạn chế hiện tại và đẩy nhanh quá trình tạo ra các giống cây họ đậu đồng hợp tử, năng suất cao [82,83,84]. Khi các công nghệ này tiếp tục phát triển, chúng có tiềm năng biến đổi quá trình chọn tạo cây họ đậu, do đó cải thiện an ninh lương thực và tính bền vững của nông nghiệp.

#### **4.2. Hệ thống cảm ứng đơn bội trung gian chỉnh sửa bộ gen ở cây họ đậu**

Việc tích hợp HIL với công nghệ chỉnh sửa bộ gen có tiềm năng to lớn trong việc chuyển đổi quá trình lai tạo cây họ đậu. Sự kết hợp giữa cảm ứng đơn bội và chỉnh sửa gen tạo ra những cơ hội mới để cải thiện hiệu quả lai tạo, tăng cường các đặc điểm mong muốn và giảm chi phí sản xuất ở cây họ đậu. Những tiến bộ gần đây trong lai tạo phân tử đã chỉ ra rằng chỉnh sửa gen có thể tăng cường hiệu quả các gen cụ thể và tạo ra thể đơn bội thông qua lai tạo với các loại hoang dã, mang lại khả năng tiết kiệm chi phí đáng kể và tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong lai tạo phân tử [85,86]. Ví dụ, đột biến ở các đồng đẳng *DMP* đã gây ra sản xuất đơn bội trong quá trình phát triển hạt ở một số cây họ đậu. Ở ngô, đột biến ở *MTL/NLD/PLA1* đã cải thiện đáng kể quá trình cảm ứng đơn bội [35,39,40].

Trong khi *MTL/NLD/PLA1* không được bảo tồn ở thực vật hai lá mầm, thì gen *DMP* được bảo tồn ở thực vật một lá mầm và thực vật hai lá mầm (bao gồm cả cây họ đậu). Sự mất chức năng của các đồng đẳng *DMP* kích hoạt quá trình cảm ứng đơn bội của mẹ ở *Arabidopsis* [4,35], cho thấy rằng HIS in vivo do *DMP* kích hoạt có thể được áp dụng cho các cây họ đậu (Hình 2). Các đồng đẳng của *DMP* đã được xác định trong một số cây họ đậu, bao gồm đậu nành và cỏ linh lăng [56,57], đặt nền tảng cho các hệ thống lai tạo đơn bội cây họ đậu. Các trường hợp thành công của quá trình cảm ứng đơn bội ở đậu

nành và cỏ linh lăng đã chứng minh tiềm năng phát triển nhanh chóng các dòng đồng hợp tử ổn định. Ở đậu nành, quá trình cảm ứng đơn bội đã tạo điều kiện bỏ qua nhiều thế hệ lai tạo truyền thống, đẩy nhanh quá trình tạo ra các giống cây trồng năng suất cao. Hiệu quả lai tạo được cải thiện này rất quan trọng để đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng đối với các loại cây họ đậu, đặc biệt là trong bối cảnh biến đổi khí hậu và các tác nhân gây căng thẳng về môi trường ảnh hưởng đến năng suất cây trồng.



**Hình 2.** Ứng dụng tiềm năng của gen *DMP* ứng viên để cảm ứng đơn bội ở cây họ đậu. Các gen *DMP* ứng viên do CRISPR/Cas9 làm trung gian (ví dụ: *GmDMP* và *MtDMP*) được sử dụng trong HIL để cho phép loại bỏ nhiễm sắc thể, tạo ra các thể đơn bội trải qua quá trình nhân đôi nhiễm sắc thể để tạo thành DH. Những cây được chỉnh sửa gen không có gen chuyển này đóng vai trò là công cụ có giá trị cho các chương trình chọn giống cây họ đậu.

### 4.3. Thách thức và hạn chế

Mặc dù HIS có tiềm năng lớn để đẩy nhanh quá trình lai tạo cây họ đậu, nhưng cần phải giải quyết một số thách thức trước khi áp dụng rộng rãi. Các trở ngại chính bao gồm HIR thấp, các vấn đề kỹ thuật liên quan đến chỉnh sửa bộ gen, mối quan tâm về tính đa dạng di truyền và các rào cản về mặt quy định. Bộ gen lớn và phức tạp của cây họ đậu làm phức tạp quá trình cảm ứng và tái sinh đơn bội, đòi hỏi các biện pháp nông học chuyên biệt và chuyên môn. Ngoài ra, các loài họ đậu như đậu nành và đậu gà thể hiện hiệu quả chuyển đổi thấp, điều này hạn chế sự thành công của các phương pháp cảm ứng đơn bội. Mặc dù nuôi cấy bao phấn và phấn hoa có thể rút ngắn chu kỳ lai tạo và tăng hiệu quả chọn lọc, nhưng chúng thường bị ảnh hưởng bởi khả năng sống của phôi thấp và chết yếu sớm. Do đó, việc phát triển các kỹ thuật cảm ứng đơn bội ổn định và hiệu quả vẫn là nút thắt quan trọng trong quá trình lai tạo cây họ đậu [57]. Nuôi cấy bao phấn hoặc phấn hoa đặc biệt kém hiệu quả ở các loại cây trồng như đậu nành do các bào tử nhỏ không trải qua các giai đoạn phát triển cần thiết để hình thành phôi đơn bội. Chết yếu ở giai đoạn đầu làm giảm thêm tỷ lệ thành công và trong khi nuôi cấy phôi đôi khi có thể cứu phôi, thì quá trình này vẫn đòi hỏi nhiều công sức và dễ thất bại [56,57].

Trong khi cảm ứng đơn bội đẩy nhanh quá trình tạo ra các dòng đồng hợp tử, thì nó cũng gây ra rủi ro cho sự đa dạng di truyền. Các phương pháp lai tạo truyền thống duy trì sự biến đổi di truyền, điều này rất cần thiết để cây trồng thích nghi với những thay đổi của môi trường và chống lại bệnh tật. Tuy nhiên, việc tạo ra các dòng thuần chủng chỉ trong hai thế hệ có thể thu hẹp cơ sở di truyền, đặc biệt là nếu chỉ lai một vài dòng ưu tú [22]. Điều này có thể dẫn đến suy thoái cận huyết hoặc giảm khả năng thích nghi. Để đảm bảo

cải thiện di truyền lâu dài, điều quan trọng là phải tích hợp các nguồn di truyền đa dạng khi sử dụng HIS.

#### 4.4. Triển vọng tương lai

Tương lai của HIS trong lai tạo cây họ đậu có triển vọng to lớn, đặc biệt là trong việc giải quyết các thách thức liên quan đến biến đổi khí hậu, tăng trưởng dân số và mất an ninh lương thực. Những vấn đề này nhấn mạnh nhu cầu cấp thiết về các phương pháp lai tạo nhanh hơn, hiệu quả hơn để tăng năng suất cây trồng, khả năng kháng bệnh và khả năng phục hồi môi trường. Lai tạo đơn bội có thể nhanh chóng ổn định các đặc điểm có lợi và loại bỏ các alen có hại, định vị nó là một công cụ quan trọng để cải thiện cây họ đậu trong những thập kỷ tới. Tuy nhiên, việc khắc phục những hạn chế hiện tại là điều cần thiết để phát huy hết tiềm năng của nó.

Mặc dù HIL đã thành công ở các loài một lá mầm như ngô và lúa mì, nhưng ứng dụng của chúng ở các loài họ đậu vẫn chưa được phát triển. Trọng tâm chính trong tương lai sẽ là tạo ra các HIL hiệu quả hơn phù hợp với các loài họ đậu. Điều này sẽ yêu cầu xác định các vị trí gen và các con đường phân tử tạo điều kiện cho quá trình cảm ứng đơn bội ở các loài họ đậu. Nhu cầu ngày càng tăng đối với các dòng DH đòi hỏi các hệ thống sản xuất quy mô lớn, chi phí thấp. Việc tích hợp các công nghệ phân tích dữ liệu có thể cho phép đánh giá DH thông lượng cao và tạo ra một mô hình lai tạo thông minh.

Việc xác định các HIL đặc hiệu của cây họ đậu có thể giúp giải quyết những hạn chế hiện tại, chẳng hạn như HIR thấp. Việc kết hợp các loại hoang dã hoặc nguồn gen ngoại lai có tiềm năng cảm ứng đơn bội cao có thể mở rộng nguồn gen. Hơn nữa, việc tối ưu hóa các giao thức nuôi cấy mô để cải thiện khả năng sống sót và tái sinh của phôi đơn bội ở các loài như đậu nành, đậu gà và đậu lăng sẽ là chìa khóa để tăng thành công trong việc cứu và tái sinh phôi [87].

#### 5. KẾT LUẬN

Các loại đậu rất quan trọng đối với nền nông nghiệp bền vững, cung cấp các protein thực vật thiết yếu, cải thiện sức khỏe đất thông qua cố định đạm và tăng năng suất đồng ruộng. Chính sửa bộ gen được kích hoạt bởi các chất cảm ứng đơn bội có tiềm năng cách mạng hóa việc lai tạo cây họ đậu bằng cách tạo điều kiện cho sự phát triển nhanh chóng của các giống ưu tú với các đặc điểm được cải thiện. Cuối cùng, sự kết hợp giữa chỉnh sửa bộ gen và HIS hứa hẹn đáng kể trong việc tạo ra các hệ thống nông nghiệp bền vững và phục hồi hơn, do đó giải quyết nhu cầu dinh dưỡng của dân số toàn cầu đang gia tăng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bhargava, A.; Srivastava, S. Plant Breeding. In *Participatory Plant Breeding: Concept and Applications*; Springer: Singapore, 2019; pp. 29–68. [[Google Scholar](#)]
2. Lamichhane, S.; Thapa, S. *Advances from Conventional to Modern Plant Breeding Methodologies*. *Plant Breed. Biotechnol.* **2022**, *10*, 1–14. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
3. Anand, A.; Subramanian, M.; Kar, D. Breeding Techniques to Dispense Higher Genetic Gains. *Front. Plant Sci.* **2023**, *13*, 1076094. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

4. Zhong, Y.; Chen, B.; Li, M.; Wang, D.; Jiao, Y.; Qi, X.; Wang, M.; Liu, Z.; Chen, C.; Wang, Y.; et al. *A DMP-Triggered in Vivo Maternal Haploid Induction System in the Dicotyledonous Arabidopsis*. *Nat. Plants* **2020**, *6*, 466–472. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
5. Murovec, J.; Bohanec, B.; Murovec, J.; Bohanec, B. *Haploids and Doubled Haploids in Plant Breeding*. In *Plant Breeding*; Abdurakhmonov, I.Y., Ed.; IntechOpen: London, UK, 2012; ISBN 978-953-307-932-5. [[Google Scholar](#)]
6. Croser, J.; Lulsdorf, M.; Davies, P.; Clarke, H.; Bayliss, K.L.; Mallikarjuna, N.; Siddique, K.H.M. *Toward Doubled Haploid Production in the Fabaceae: Progress, Constraints, and Opportunities*. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* **2006**, *25*, 139–157. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
7. Jacquier, N.M.A.; Gilles, L.M.; Pyott, D.E.; Martinant, J.-P.; Rogowsky, P.M.; Widiez, T. *Puzzling out Plant Reproduction by Haploid Induction for Innovations in Plant Breeding*. *Nat. Plants* **2020**, *6*, 610–619. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
8. Chaikam, V.; Molenaar, W.; Melchinger, A.E.; Boddupalli, P.M. *Doubled Haploid Technology for Line Development in Maize: Technical Advances and Prospects*. *Theor. Appl. Genet.* **2019**, *132*, 3227–3243. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
9. Zargar, M.; Zavarykina, T.; Voronov, S.; Pronina, I.; Bayat, M. *The Recent Development in Technologies for Attaining Doubled Haploid Plants In Vivo*. *Agriculture* **2022**, *12*, 1595. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
10. Dunwell, J.M. *Haploids in Flowering Plants: Origins and Exploitation*. *Plant Biotechnol. J.* **2010**, *8*, 377–424. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
11. Ravi, M.; Marimuthu, M.P.A.; Tan, E.H.; Maheshwari, S.; Henry, I.M.; Marin-Rodriguez, B.; Urtecho, G.; Tan, J.; Thornhill, K.; Zhu, F.; et al. *A Haploid Genetics Toolbox for Arabidopsis Thaliana*. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 5334. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
12. Kuppu, S.; Ron, M.; Marimuthu, M.P.A.; Li, G.; Huddleson, A.; Siddeek, M.H.; Terry, J.; Buchner, R.; Shabek, N.; Comai, L.; et al. *A Variety of Changes, Including CRISPR/Cas9-Mediated Deletions, in CENH3 Lead to Haploid Induction on Outcrossing*. *Plant Biotechnol. J.* **2020**, *18*, 2068–2080. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
13. Zhang, J.; Tang, W.; Huang, Y.; Niu, X.; Zhao, Y.; Han, Y.; Liu, Y. *Down-Regulation of a LBD-like Gene, OsIG1, Leads to Occurrence of Unusual Double Ovules and Developmental Abnormalities of Various Floral Organs and Megagametophyte in Rice*. *J. Exp. Bot.* **2015**, *66*, 99–112. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Saunders, J.W.; Bingham, E.T. *Production of Alfalfa Plants from Callus Tissue I*. *Crop Sci.* **1972**, *12*, 804–808. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
15. Musial, K.; Bohanec, B.; Jakše, M.; Przywara, L. *The Development of Onion (Allium Cepa L.) Embryo Sacs in Vitro and Gynogenesis Induction in Relation to Flower Size*. *Vitr. Cell. Dev. Biol.-Plant* **2005**, *41*, 446–452. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

16. Forster, B.P.; Heberle-Bors, E.; Kasha, K.J.; Touraev, A. *The Resurgence of Haploids in Higher Plants*. Trends Plant Sci. **2007**, *12*, 368–375. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
17. Kielkowska, A.; Kiszczak, W. *History and Current Status of Haploidization in Carrot (*Daucus Carota L.*)*. Agronomy **2023**, *13*, 676. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
18. GUHA, S.; Maheshwari, S.C. *Cell Division and Differentiation of Embryos in the Pollen Grains of *Datura in Vitro**. Nature **1966**, *212*, 97–98. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
19. Zagorska, N.; Dimitrov, B. *Induced Androgenesis in Alfalfa (*Medicago Sativa L.*)*. Plant Cell Rep. **1995**, *14*, 249–252. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
20. Ochatt, S.; Pech, C.; Grewal, R.; Conreux, C.; Lulsdorf, M.; Jacas, L. *Abiotic Stress Enhances Androgenesis from Isolated Microspores of Some Legume Species (*Fabaceae*)*. J. Plant Physiol. **2009**, *166*, 1314–1328. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
21. Mokhtarzadeh, A.; Constantin, M.J. *Plant Regeneration from Hypocotyl- and Anther-Derived Callus of Berseem Clover 1*. Crop Sci. **1978**, *18*, 567–572. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
22. Dwivedi, S.L.; Britt, A.B.; Tripathi, L.; Sharma, S.; Upadhyaya, H.D.; Ortiz, R. *Haploids: Constraints and Opportunities in Plant Breeding*. Biotechnol. Adv. **2015**, *33*, 812–829. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
23. Datta, S.K. *Androgenic Haploids: Factors Controlling Development and Its Application in Crop Improvement*. Curr. Sci. **2005**, *89*, 1870–1878. [[Google Scholar](#)]
24. Kasha, K.J.; Kao, K.N. *High Frequency Haploid Production in Barley (*Hordeum Vulgare L.*)*. Nature **1970**, *225*, 874–876. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Żur, I.; Adamus, A.; Cegielska-Taras, T.; Cichorz, S.; Dubas, E.; Gajecka, M.; Juzoń-Sikora, K.; Kielkowska, A.; Malicka, M.; Oleszczuk, S. *Doubled Haploids: Contributions of Poland's Academies in Recognizing the Mechanism of Gametophyte Cell Reprogramming and Their Utilization in Breeding of Agricultural and Vegetable Species*. Acta Soc. Bot. Pol. **2022**, *91*, 9128. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
26. Kazimierski, T.; Kazimierska, E.M. *Meiosis in Spontaneous Haploids of White Lupin (*Lupinus albus L. Sl.*)*. Genet. Pol. **1989**, *30*, 47–60. [[Google Scholar](#)]
27. Pratap, A.; Prajapati, U.; Singh, C.M.; Gupta, S.; Rathore, M.; Malviya, N.; Tomar, R.; Gupta, A.K.; Tripathi, S.; Singh, N.P. *Potential, Constraints and Applications of *in Vitro* Methods in Improving Grain Legumes*. Plant Breed. **2018**, *137*, 235–249. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
28. Skrzykowski, W.; Kielkowska, A. *Current Status of Haploidization in Cool-Season Grain Legume Crop Species*. Agriculture **2024**, *14*, 1031. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
29. Gritton, E.T.; Wierzbička, B. *An Embryological Study of a *Pisum Sativum x Vicia Faba* Cross*. Euphytica **1975**, *24*, 277–284. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
30. Watts, A.; Kumar, V.; Raipuria, R.K.; Bhattacharya, R.C. *In Vivo Haploid Production in Crop Plants: Methods and Challenges*. Plant Mol. Biol. Report. **2018**, *36*, 685–694. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

31. Mahato, A.; Chaudhary, H.K. *Relative Efficiency of Maize and Imperata Cylindrica for Haploid Induction in Triticum Durum Following Chromosome Elimination-Mediated Approach of Doubled Haploid Breeding*. *Plant Breed.* **2015**, *134*, 379–383. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
32. Kermicle, J.L. *Androgenesis Conditioned by a Mutation in Maize*. *Science* **1969**, *166*, 1422–1424. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
33. Evans, M.M.S. *The Indeterminate Gametophyte1 Gene of Maize Encodes a LOB Domain Protein Required for Embryo Sac and Leaf Development*. *Plant Cell* **2007**, *19*, 46–62. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Kermicle, J.L. *Pleiotropic Effects on Seed Development of the Indeterminate Gametophyte Gene in Maize*. *Am. J. Bot.* **1971**, *58*, 1–7. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
35. Kelliher, T.; Starr, D.; Richbourg, L.; Chintamanani, S.; Delzer, B.; Nuccio, M.L.; Green, J.; Chen, Z.; McCuiston, J.; Wang, W.; et al. *MATRILINEAL, a Sperm-Specific Phospholipase, Triggers Maize Haploid Induction*. *Nature* **2017**, *542*, 105–109. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Khammona, K.; Demail, A.; Suriharn, K.; Lübberstedt, T.; Wanchana, S.; Thunnon, B.; Poncheewin, W.; Toojinda, T.; Ruanjaichon, V.; Arikrit, S. *Accelerating Haploid Induction Rate and Haploid Validation Through Marker-Assisted Selection for Qhir1 and Qhir8 in Maize*. *Front. Plant Sci.* **2024**, *15*, 1337463. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
37. Li, Y.; Lin, Z.Y.; Yang, Y.; Zhao, H.; Fei, X.; Lizhu, E.; Liu, C.; Chen, S.; Lai, J.; Song, W. *Loss-of-Function Alleles of ZmPLD3 Cause Haploid Induction in Maize*. *Nat. Plants* **2021**, *7*, 1579–1588. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
38. Li, X.; Meng, D.; Chen, S.; Luo, H.; Zhang, Q.; Jin, W.; Yan, J. *Single Nucleus Sequencing Reveals Spermatid Chromosome Fragmentation as a Possible Cause of Maize Haploid Induction*. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 991. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
39. Liu, C.; Li, X.; Meng, D.; Zhong, Y.; Chen, C.; Dong, X.; Xu, X.; Chen, B.; Li, W.; Li, L.; et al. *A 4-Bp Insertion at ZmPLA1 Encoding a Putative Phospholipase A Generates Haploid Induction in Maize*. *Mol. Plant* **2017**, *10*, 520–522. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
40. Zhong, Y.; Liu, C.; Qi, X.; Jiao, Y.; Wang, D.; Wang, Y.; Liu, Z.; Chen, C.; Chen, B.; Tian, X.; et al. *Mutation of ZmDMP Enhances Haploid Induction in Maize*. *Nat. Plants* **2019**, *5*, 575–580. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
41. McKinley, K.L.; Cheeseman, I.M. *The Molecular Basis for Centromere Identity and Function*. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2016**, *17*, 16–29. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
42. Lermontova, I.; Schubert, V.; Fuchs, J.; Klatté, S.; Macas, J.; Schubert, I. *Loading of Arabidopsis Centromeric Histone CENH3 Occurs Mainly during G2 and Requires the Presence of the Histone Fold Domain*. *Plant Cell* **2006**, *18*, 2443–2451. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
43. Ravi, M.; Shibata, F.; Ramahi, J.S.; Nagaki, K.; Chen, C.; Murata, M.; Chan, S.W.L. *Meiosis-Specific Loading of the Centromere-Specific Histone CENH3 in Arabidopsis Thaliana*. *PLoS Genet.* **2011**, *7*, e1002121. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

44. Maheshwari, S.; Tan, E.H.; West, A.; Franklin, F.C.H.; Comai, L.; Chan, S.W.L. *Naturally Occurring Differences in CENH3 Affect Chromosome Segregation in Zygotic Mitosis of Hybrids*. PLoS Genet. **2015**, *11*, e1004970. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Zhang, X.; Li, X.; Marshall, J.B.; Zhong, C.X.; Dawe, R.K. *Phosphoserines on Maize CENTROMERIC HISTONE H3 and Histone H3 Demarcate the Centromere and Pericentromere during Chromosome Segregation*. Plant Cell **2005**, *17*, 572–583. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
46. Allshire, R.C.; Karpen, G.H. *Epigenetic Regulation of Centromeric Chromatin: Old Dogs, New Tricks?* Nat. Rev. Genet. **2008**, *9*, 923–937. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
47. Ravi, M.; Chan, S.W.L. *Haploid Plants Produced by Centromere-Mediated Genome Elimination*. Nature **2010**, *464*, 615–618. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
48. Kelliher, T.; Starr, D.; Wang, W.; McCuiston, J.; Zhong, H.; Nuccio, M.L.; Martin, B. *Maternal Haploids Are Preferentially Induced by CENH3-Tailswap Transgenic Complementation in Maize*. Front. Plant Sci. **2016**, *7*, 414. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
49. Lv, J.; Yu, K.; Wei, J.; Gui, H.; Liu, C.; Liang, D.; Wang, Y.; Zhou, H.; Carlin, R.; Rich, R.; et al. *Generation of Paternal Haploids in Wheat by Genome Editing of the Centromeric Histone CENH3*. Nat. Biotechnol. **2020**, *38*, 1397–1401. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
50. Kuppu, S.; Tan, E.H.; Nguyen, H.; Rodgers, A.; Comai, L.; Chan, S.W.L.; Britt, A.B. *Point Mutations in Centromeric Histone Induce Post-Zygotic Incompatibility and Uniparental Inheritance*. PLoS Genet. **2015**, *11*, e1005494. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
51. Marimuthu, M.P.A.; Maruthachalam, R.; Bondada, R.; Kuppu, S.; Tan, E.H.; Britt, A.; Chan, S.W.L.; Comai, L. *Epigenetically Mismatched Parental Centromeres Trigger Genome Elimination in Hybrids*. Sci. Adv. **2021**, *7*, eabk1151. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
52. Wang, N.; Gent, J.I.; Dawe, R.K. *Haploid Induction by a Maize CenH3 Null Mutant*. Sci. Adv. **2021**, *7*, eabe2299. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
53. Demidov, D.; Lermontova, I.; Moebes, M.; Kochevenko, A.; Fuchs, J.; Weiss, O.; Rutten, T.; Sorge, E.; Zuljan, E.; Giehl, R.F.H.; et al. *Haploid Induction by Nanobody-Targeted Ubiquitin-Proteasome-Based Degradation of EYFP-Tagged CENH3 in Arabidopsis Thaliana*. J. Exp. Bot. **2022**, *73*, 7243–7254. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Li, S.-Z.; Wang, J.; Jia, S.-G.; Wang, K.; Li, H.-J. *Synthetic Apomixis: From Genetic Basis to Agricultural Application*. Seed Biol. **2023**, *2*, 10. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
55. Chen, H.; Zeng, Y.; Yang, Y.; Huang, L.; Tang, B.; Zhang, H.; Hao, F.; Liu, W.; Li, Y.; Liu, Y.; et al. *Allele-Aware Chromosome-Level Genome Assembly and Efficient Transgene-Free Genome Editing for the Autotetraploid Cultivated Alfalfa*. Nat. Commun. **2020**, *11*, 2494. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

56. Zhong, Y.; Yang, M.; Cheng, D.; Liu, J.; Han, Q.; Liu, C.; Qi, X.; Yan, T.; Teng, L.; Xv, C.; et al. *Mutation of GmDMP Genes Triggers Haploid Induction in Soybean*. bioRxiv **2024**. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
57. Wang, N.; Xia, X.; Jiang, T.; Li, L.; Zhang, P.; Niu, L.; Cheng, H.; Wang, K.; Lin, H. *In Planta Haploid Induction by Genome Editing of DMP in the Model Legume Medicago Truncatula*. Plant Biotechnol. J. **2022**, 20, 22. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
58. Qi, X.; Gao, H.; Lv, R.; Mao, W.; Zhu, J.; Liu, C.; Mao, L.; Li, X.; Xie, C. *CRISPR/DCas-Mediated Gene Activation Toolkit Development and Its Application for Parthenogenesis Induction in Maize*. Plant Commun. **2023**, 4, 100449. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
59. Kermicle, J.L. *Indeterminate Gametophyte (Ig): Biology and Use*. In *The Maize Handbook*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1994; pp. 388–393. [[Google Scholar](#)]
60. Liu, H.; Wang, K.; Jia, Z.; Gong, Q.; Lin, Z.; Du, L.; Pei, X.; Ye, X. *Efficient Induction of Haploid Plants in Wheat by Editing of TaMTL Using an Optimized Agrobacterium-Mediated CRISPR System*. J. Exp. Bot. **2020**, 71, 1337–1349. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
61. Jung, J.H.; Seo, Y.W. *Challenges in Wide Implementation of Genome Editing for Crop Improvement*. J. Crop Sci. Biotechnol. **2017**, 20, 129–135. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
62. Uliana Trentin, H.; Frei, U.K.; Lübberstedt, T. *Breeding Maize Maternal Haploid Inducers*. Plants **2020**, 9, 614. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
63. Jiang, C.; Sun, J.; Li, R.; Yan, S.; Chen, W.; Guo, L.; Qin, G.; Wang, P.; Luo, C.; Huang, W.; et al. *A Reactive Oxygen Species Burst Causes Haploid Induction in Maize*. Mol. Plant **2022**, 15, 943–955. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
64. Tao, J.; Bauer, D.E.; Chiarle, R. *Assessing and Advancing the Safety of CRISPR-Cas Tools: From DNA to RNA Editing*. Nat. Commun. **2023**, 14, 212. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Wang, S.; Ouyang, K. *Rapid Creation of CENH3-Mediated Haploid Induction Lines Using a Cytosine Base Editor (CBE)*. Plant Biol. **2023**, 25, 226–230. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Karimi-Ashtiyani, R.; Ishii, T.; Niessen, M.; Stein, N.; Heckmann, S.; Gurushidze, M.; Banaei-Moghaddam, A.M.; Fuchs, J.; Schubert, V.; Koch, K.; et al. *Point Mutation Impairs Centromeric CENH3 Loading and Induces Haploid Plants*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **2015**, 112, 11211–11216. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Zhao, X.; Yuan, K.; Liu, Y.; Zhang, N.; Yang, L.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Ji, J.; Fang, Z.; Han, F.; et al. *In Vivo Maternal Haploid Induction Based on Genome Editing of in Brassica Oleracea*. Plant Biotechnol. J. **2022**, 20, 2242–2244. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
68. Zhong, Y.; Wang, Y.; Chen, B.; Liu, J.; Wang, D.; Li, M.; Qi, X.; Liu, C.; Boutilier, K.; Chen, S. *Establishment of a Dmp Based Maternal Haploid Induction System for*

- Polyplod Brassica Napus and Nicotiana Tabacum*. J. Integr. Plant Biol. **2022**, 64, 1281–1294. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
69. Li, Y.; Li, D.; Xiao, Q.; Wang, H.; Wen, J.; Tu, J.; Shen, J.; Fu, T.; Yi, B. *An in Planta Haploid Induction System in Brassica Napus*. J. Integr. Plant Biol. **2022**, 64, 1140–1144. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
70. Tian, S.; Zhang, J.; Zhao, H.; Zong, M.; Li, M.; Gong, G.; Wang, J.; Zhang, J.; Ren, Y.; Zhang, H.; et al. *Production of Double Haploid Watermelon via Maternal Haploid Induction*. Plant Biotechnol. J. **2023**, 21, 1308–1310. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
71. Zhang, X.; Zhang, L.; Zhang, J.; Jia, M.; Cao, L.; Yu, J.; Zhao, D. *Haploid Induction in Allotetraploid Tobacco Using DMPs Mutation*. Planta **2022**, 255, 98. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
72. Yao, L.; Zhang, Y.; Liu, C.; Liu, Y.; Wang, Y.; Liang, D.; Liu, J.; Sahoo, G.; Kelliher, T. *OsMATL Mutation Induces Haploid Seed Formation in Indica Rice*. Nat. Plants **2018**, 4, 530–533. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
73. Marin-Montes, I.M.; Rodríguez-Pérez, J.E.; Robledo-Paz, A.; de la Cruz-Torres, E.; Peña-Lomelí, A.; Sahagún-Castellanos, J. *Haploid Induction in Tomato (Solanum lycopersicum L.) via Gynogenesis*. Plants **2022**, 11, 1595. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
74. Dong, L.; Li, L.; Liu, C.; Liu, C.; Geng, S.; Li, X.; Huang, C.; Mao, L.; Chen, S.; Xie, C. *Genome Editing and Double-Fluorescence Proteins Enable Robust Maternal Haploid Induction and Identification in Maize*. Mol. Plant **2018**, 11, 1214–1217. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Lai, J.; Zhao, H.; Song, W.; Cui, Y. *Method for Propagating Sterile Male Plant Line*. WO2014063442A1, 1 May 2014. Available online: <https://patents.google.com/patent/WO2014063442A1/en> (accessed on 25 January 2025).
76. Liu, L.; Li, W.; Liu, C.; Chen, B.; Tian, X.; Chen, C.; Li, J.; Chen, S. *In Vivo Haploid Induction Leads to Increased Frequency of Twin-Embryo and Abnormal Fertilization in Maize*. BMC Plant Biol. **2018**, 18, 313. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Cazzola, F.; Bermejo, C.J.; Guindon, M.F.; Cointry, E. *Speed Breeding in Pea (Pisum Sativum L.), an Efficient and Simple System to Accelerate Breeding Programs*. Euphytica **2020**, 216, 178. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
78. Deswal, K. *Progress and Opportunities in Double Haploid Production in Lentil (Lens Culinaris Medik.), Soybean (Glycine Max L. Merr.) and Chickpea (Cicer Arietinum L.)*. J. Pharmacogn. Phytochem. **2018**, 7, 3105–3109. [[Google Scholar](#)]
79. Kozak, K.; Galek, R.; Waheed, M.T.; Sawicka-Sienkiewicz, E. *Anther Culture of Lupinus Angustifolius: Callus Formation and the Development of Multicellular and Embryo-Like Structures*. Plant Growth Regul. **2011**, 66, 145–153. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
80. Cengiz, R. *The Effect of Donors Used in In Vivo Maternal Haploid Technique on Haploid Induction Rate*. Black Sea J. Agric. **2023**, 6, 528–532. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

81. Meng, D.; Luo, H.; Dong, Z.; Huang, W.; Liu, F.; Li, F.; Chen, S.; Yu, H.; Jin, W. *Overexpression of Modified CENH3 in Maize Stock6-Derived Inducer Lines Can Effectively Improve Maternal Haploid Induction Rates*. *Front. Plant Sci.* **2022**, *13*, 892055. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
82. Nawade, B.; Bosamia, T.C.; Lee, J.H.; Jang, J.H.; Lee, O.R. *Genome-Wide Characterization of the Soybean DOMAIN OF UNKNOWN FUNCTION 679 Membrane Protein Gene Family Highlights Their Potential Involvement in Growth and Stress Response*. *Front. Plant Sci.* **2023**, *14*, 1216082. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
83. Jin, C.; Dong, L.; Wei, C.; Wani, M.A.; Yang, C.; Li, S.; Li, F. *Creating Novel Ornamentals via New Strategies in the Era of Genome Editing*. *Front. Plant Sci.* **2023**, *14*, 1142866. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
84. Liu, C.; Li, J.; Chen, M.; Li, W.; Zhong, Y.; Dong, X.; Xu, X.; Chen, C.; Tian, X.; Chen, S. *Development of High-Oil Maize Haploid Inducer with a Novel Phenotyping Strategy*. *Crop J.* **2022**, *10*, 524–531. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
85. Wang, S.; Jin, W.; Wang, K. *Centromere Histone H3- and Phospholipase-Mediated Haploid Induction in Plants*. *Plant Methods* **2019**, *15*, 42. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Ferrie, A.M.R.; Bhowmik, P.; Rajagopalan, N.; Kagale, S. *CRISPR/Cas9-Mediated Targeted Mutagenesis in Wheat Doubled Haploids*. *Methods Mol. Biol.* **2020**, *2072*, 183–198. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Singh, G.; Gudi, S.; Amandeep; Upadhyay, P.; Shekhawat, P.K.; Nayak, G.; Goyal, L.; Kumar, D.; Kumar, P.; Kamboj, A.; et al. *Unlocking the Hidden Variation from Wild Repository for Accelerating Genetic Gain in Legumes*. *Front. Plant Sci.* **2022**, *13*, 1035878. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]