

TẦM QUAN TRỌNG CỦA HIỆN TƯỢNG HÉO TÁN CHẬM ĐỐI VỚI KHẢ NĂNG CHỊU HẠN Ở ĐẬU TƯƠNG

Heng Ye¹, Li Song^{1,2}, William T. Schapaugh³, Md Liakat Ali⁴, Thomas R. Sinclair⁵, Mandeep K. Riar⁵, Raymond N. Mutava¹, Yang Li¹, Tri Vuong¹, Babu Valliyodan¹, Antonio Pizolato Neto¹, Mariola Klepadlo¹, Qijian Song⁶, J. Grover Shannon⁴, Pengyin Chen⁴ and Henry T. Nguyen¹,
Võ Như Cẩm biên dịch.

- (1) Phòng Khoa học Cây trồng, Đại học Missouri, Columbia, MO 65211, Hoa Kỳ
- (2) Phòng thí nghiệm Nghiên cứu Quốc tế về Nông nghiệp và An toàn Nông sản, Viện Phát triển Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp, Dương Châu, 225009, Trung Quốc
- (3) Khoa Nông học, Đại học Bang Kansas, Manhattan, KS 66506, Hoa Kỳ
- (4) Phòng Khoa học Thực vật, Trung tâm Nghiên cứu Đồng bằng Fisher – Đại học Missouri, Portageville, MO 63873, Hoa Kỳ
- (5) Khoa Khoa học Cây trồng, Đại học Bang North Carolina, Raleigh, NC 27695, Hoa Kỳ
- (6) Phòng thí nghiệm gen và cải tiến đậu tương, USDA-ARS, Beltsville, MD 20705, Hoa Kỳ

TÓM TẮT

Héo tán chậm (Slow canopy wilting - SW) là một đặc điểm bảo tồn nước được kiểm soát bởi các locus tính trạng số lượng (QTLs) ở đậu nành nhóm chín muộn [*Glycine max* (L.) Merr.]. Gần đây, hai dòng du nhập (PI 567690 và PI 567731) đã được xác định là dòng SW mới trong các nhóm chín sớm. Ở đây, chúng tôi cho thấy rằng hai dòng PI chia sẻ cùng một chiến lược bảo tồn nước về tốc độ thoát hơi nước giới hạn tối đa như PI 416937. Tuy nhiên, trái ngược với PI 416937, tốc độ thoát hơi nước của những dòng PI này nhạy cảm với chất ức chế aquaporin, cho thấy sự độc lập giữa mức giới hạn tối đa thoát hơi nước và thiếu các aquaporin nhạy cảm với bạc. Các thử nghiệm năng suất của các dòng lai tái tổ hợp được chọn lọc từ hai con lai ưu tú/ngoại lai cung cấp bằng chứng trực tiếp hỗ trợ lợi ích của SW trong khả năng chịu hạn. Bốn QTL SW được lập bản đồ trong một phép lai Pana × PI 567690 tại nhiều môi trường đã được tìm thấy là đồng vị trí với các báo cáo trước đó. Hơn nữa, hai QTL SW mới được lập bản đồ trên nhiễm sắc thể 6 và 10 từ phép lai Magellan × PI 567731. Hai QTL này giải thích sự đóng góp tương đối lớn được quan sát là 20 – 30% và đã được xác nhận trong một nền tảng cận huyết. Những phát hiện này chứng minh tầm quan trọng của SW trong việc bảo vệ năng suất dưới hạn hán và cung cấp nguồn gen để cải thiện khả năng chịu hạn ở đậu nành nhóm chín sớm.

GIỚI THIỆU

Biến đổi khí hậu làm gia tăng sự xuất hiện của các kiểu thời tiết cực đoan, bao gồm các kiểu mưa bất thường, nhiệt độ cao hơn và hậu quả là căng thẳng hạn hán, làm giảm đáng kể sản lượng cây trồng (Lesk và ctv, 2016). Những thiệt hại về năng suất của các cây trồng chính tiếp tục tăng, mặc dù sự gia tăng dần về năng suất thông qua các phương pháp quản lý và nhân giống kể từ những năm 1960 (Boyer, 2013; Lobell và ctv, 2014; Rosenzweig và ctv, 2014). Dự báo năng suất cây trồng sẽ giảm từ 30 đến 82% vào cuối thế kỷ này theo các kịch bản ấm lên hiện nay (Hatfield và ctv, 2011).

Người ta ước tính rằng đậu tương đã giảm ~ 40% năng suất do hạn hán (Specht và ctv, 1999). Để khắc phục những tác động tiêu cực của căng thẳng hạn hán đối với đậu tương, nhiều chiến lược đã được phát triển và áp dụng, chủ yếu bao gồm các biện pháp canh tác nông nghiệp và cải thiện di truyền của các giống đậu tương (Turner, 2000). Lượng mưa

và nước tưới đang được sử dụng hiệu quả hơn; tuy nhiên, khả năng thích ứng của các hệ thống tưới tiêu còn hạn chế ở khu vực và về cơ bản sẽ làm tăng chi phí sản xuất đậu tương (Kebede và ctv, 2014). Rõ ràng, cải thiện khả năng chịu hạn của các giống đậu tương là rất quan trọng về mặt chiến lược để bảo vệ tăng năng suất (Devi và ctv, 2014; Ye và ctv, 2018a). Khả năng chịu hạn ở đậu tương nên được chuyển thành các đặc điểm tăng cường ổn định năng suất hơn là tăng khả năng sống sót trong điều kiện hạn hán (Bartels và ctv, 2006; Blum, 2009; Passioura, 2010; Sinclair, 2011; Ye và ctv, 2018a). Yếu tố thiết yếu để cải thiện khả năng chịu hạn của các loại cây trồng, bao gồm cả đậu tương, là sử dụng nguồn nước sẵn có hiệu quả hơn trong suốt mùa sinh trưởng để hoạt động sinh lý của cây được duy trì cho đến khi trưởng thành (Turner và ctv, 2001; Blum, 2009; Sinclair, 2018 ; Ye và ctv, 2018a).

Các kiểu gen đậu tương khác nhau về thời điểm khởi phát và mức độ nghiêm trọng của hiện tượng héo rũ tán cây do hạn hán (Sloane và ctv, 1990; Carter và ctv, 1999; Valliyodan và ctv, 2017). Khi đất bị khô, các kiểu gen đậu tương có kiểu hình héo tán chậm (SW) héo tán/lá chậm khi so sánh với các dòng héo tán nhanh (FW) (Charlson và ctv, 2009; Valliyodan và ctv, 2017). Đánh giá thực địa đối với các cây du nhập (PI) từ Bộ sưu tập mầm đậu nành USDA đã xác định PI 416937 [nhóm trưởng thành (MG) VI] và PI 471938 (MG V)] thường biểu hiện kiểu hình SW so với các giống cây trồng thương mại (Carter và ctv, 2006; Charlson và ctv, 2009). Đặc điểm này đã được dự đoán bằng cách sử dụng mô hình mô phỏng để cải thiện năng suất trong điều kiện hạn hán lên > 80% các mùa trồng trọt ở hầu hết các vùng của Hoa Kỳ (Sinclair và ctv, 2010). Hiện nay ở Hoa Kỳ, kiểu hình SW đã được sử dụng như một trong những chỉ số để sàng lọc khả năng chịu hạn trên đồng ruộng (Charlson và ctv, 2009) và một số giống đậu tương chịu hạn cho MG muộn (V – VIII) đã được phát triển bởi sử dụng hai dòng PI này, PI 416937 và PI 471938 (Devi và ctv, 2014).

Một trong những cơ sở sinh lý cho SW trong PI 416937 được phát hiện là có liên quan đến tỷ lệ thoát hơi nước hạn chế (TR) trong điều kiện thiếu hụt áp suất hơi khí quyển (VPDs) ~ 2,1 kPa hoặc cao hơn (Fletcher và ctv, 2007). Hạn chế này đối với TR được chứng minh là có liên quan đến độ dẫn thủy lực hạn chế giữa xylem và các tế bào bảo vệ trong lá (Sinclair và ctv, 2008). Hạn chế thủy lực này được cho là có liên quan đến việc thiếu một quần thể nhạy cảm với bạc của aquaporin, vì TR trong PI 416937 không nhạy cảm với xử lý AgNO₃ (Sadok và Sinclair, 2010). Điều thú vị là phản ứng trong quá trình thoát hơi nước đối với việc tăng VPD của dòng SW khác, PI 471938, được phát hiện là tuyến tính không có điểm ngắt. Hơn nữa, sự thoát hơi nước ở PI 471938 nhạy cảm với xử lý AgNO₃, cho thấy sự hiện diện của con đường nhạy cảm với AgNO₃ trong lá của chúng cho phép dẫn thủy lực cao hơn (Sadok và Sinclair, 2010). Những kết quả này chỉ ra rằng có ít nhất hai cơ chế bảo tồn nước riêng biệt có liên quan đến đặc điểm SW ở đậu tương. Ngoài ra, các cơ chế khác, chẳng hạn như thăm dò nguồn nước nhiều hơn bằng rễ, cũng có thể dẫn đến kiểu hình SW. PI 416937 được phát hiện có bộ rễ lớn hơn nhiều so với các dòng FW khác, đây có thể là một yếu tố để nâng cao kiểu hình SW trong điều kiện khô hạn (Hudak và Patterson, 1995).

Nhiều nỗ lực lập bản đồ QTL đã được tiến hành để xác định các vùng gen liên quan đến đặc điểm SW (Valliyodan và ctv, 2017). Công việc lập bản đồ QTL ban đầu được tiến hành trong một quần thể dòng lai tái tổ hợp (RIL) có nguồn gốc từ phép lai Benning x PI 416937. Bảy QTL được lập bản đồ trong quần thể đó và QTL trên nhiễm sắc thể (Chr.) 12 được xác định là QTL chính trên tất cả năm môi trường độc lập với tỷ lệ kiểu hình lên đến 27% (Abdel-Haleem và ctv, 2012). Trong một nghiên cứu lập bản đồ QTL khác được

thực hiện bằng cách sử dụng năm quần thể trong 15 môi trường (địa điểm hoặc năm), tổng số 13 QTL được lập bản đồ cho hiện tượng héo tán với các đóng góp kiểu hình khác nhau ($R^2 = 4 - 29\%$), và phần lớn các QTL này (11/13) có các alen cho SW từ PI 416937 hoặc Jackson (Hwang và ctv, 2015). Trong số 13 QTL này, tám QTL đã được xác nhận thêm và khoảng tin cậy của chúng đã được lọc thông qua phân tích Meta-QTL (Hwang và ctv, 2016). Một nghiên cứu liên kết toàn bộ bộ gen (GWAS) cũng đã được thực hiện và 23 locus giả định đã được xác định có liên quan đến sự héo rũ của tán cây từ một bảng đa dạng gồm 373 kiểu gen đậu tương MG IV (Kaler và ctv, 2017), cho thấy mức độ phức tạp của tính trạng héo tán cây. Mặc dù các QTL có ý nghĩa thống kê đối với SW đã được báo cáo ở đậu tương, hầu hết được phát hiện là không ổn định trên các môi trường và quần thể độc lập. Ví dụ, QTL chính trên Chr. 12 không phát hiện được trong bất kỳ quần thể hoặc môi trường nào được báo cáo bởi Hwang và ctv (2015, 2016); do đó xác nhận QTL cần được thực hiện để xác nhận từng QTL riêng lẻ, đặc biệt là trong nền cận huyết. Ngoài ra, nỗ lực đã được đưa vào lập bản đồ QTL để đáp ứng sự thoát hơi nước đối với các ion bạc trong quần thể Benning \times PI 416937. Bốn QTL đã được xác định ($R^2 = 17,7-24,7\%$), với QTL lớn nhất nằm trên Chr. 12 (Carpentieri-Pipolo và ctv, 2012). Tuy nhiên, alen cho tại vị trí chính này đối với sự không nhạy cảm của thoát hơi nước với các ion bạc là từ bố mẹ FW, Benning (Carpentieri-Pipolo và ctv, 2012). Kết quả này mâu thuẫn với lập bản đồ QTL cho SW trong cùng một quần thể, vì alen cho tại vị trí này cho SW là từ cha mẹ SW, PI 416937 (Abdel-Haleem và ctv, 2012). Do đó, mối tương quan giữa việc thiếu aquaporin nhạy cảm với bạc và kiểu hình SW liên quan đến TR giới hạn tối đa cần được xem xét lại.

Gần đây, hai mầm đậu tương ngoại lai chịu hạn (không thích nghi), PI 567690 và PI 567731 (MG III), đã được xác định để biểu hiện kiểu hình SW nhất quán trên đồng ruộng so với hai giống cây trồng nhạy cảm với khô hạn là Pana và Magellan (Pathan và ctv, 2014). Nhóm chín sớm của hai dòng PI này ủng hộ việc sử dụng chúng trong các nỗ lực lai tạo ở các vùng vĩ độ cao hơn. Tuy nhiên, các cơ chế cơ bản của đặc điểm SW của các PI này vẫn chưa được nghiên cứu. Hơn nữa, các tác động của đặc điểm SW đối với việc bảo vệ năng suất trong điều kiện hạn hán rõ ràng cần được điều tra thêm. Mục tiêu của nghiên cứu này là (i) làm sáng tỏ các cơ chế sinh lý và di truyền liên quan đến đặc điểm SW trong hai nguồn mầm này; (ii) xác định các tác động của SW đối với việc bảo vệ năng suất khi chịu áp lực hạn hán trong các nền tảng di truyền tương tự; và (iii) để xác nhận các yếu tố di truyền chính được lựa chọn (QTL) điều chỉnh SW.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

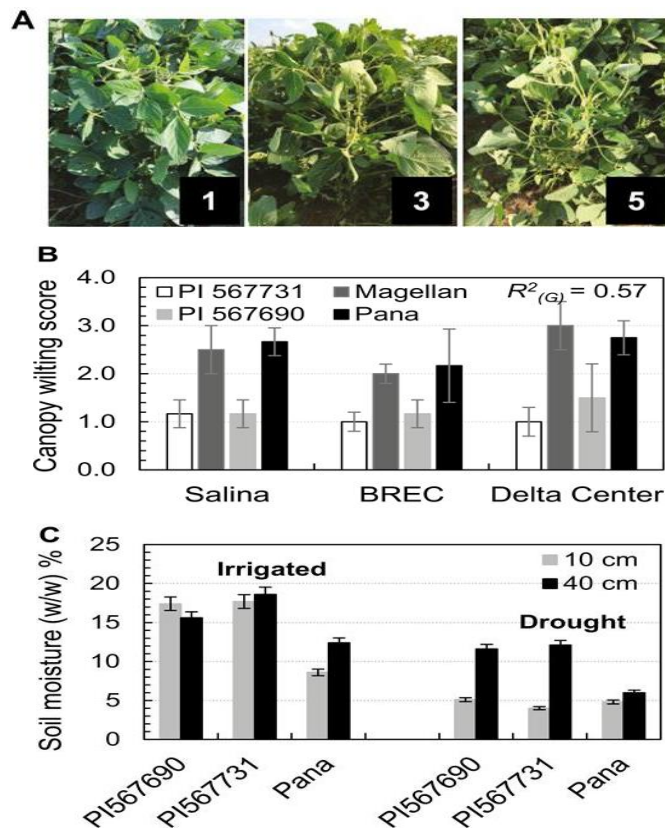
Nguyên liệu thực vật

Hai quần thể đậu tương lập bản đồ được phát triển từ các phép lai Pana \times PI 567690 và Magellan \times PI 567731 sử dụng phương pháp lai một hạt để tạo ra 258 và 160 RIL có thể hệ $F_{7:8}$ tương ứng (xem Hình bổ sung S1 tại JXB trực tuyến). Các RIL đã được nâng cao hơn nữa để tăng hạt giống tại Trung tâm Nghiên cứu Delta (DC), Đại học Missouri, Portageville, MO, Hoa Kỳ. Bốn mươi sáu RIL từ mỗi quần thể này đã được chọn để kiểm tra năng suất dựa trên sự tương phản về độ héo của tán và các đặc điểm nông học khác, bao gồm chiều cao cây, chỗ ở và thời gian sinh trưởng (Bảng bổ sung S1). Các dòng cận huyết (NILs) của các QTL chính được xác định từ các họ lai cận huyết không đồng nhất ở thế hệ $F_{7:8}$ (Hình bổ sung S1). Một cây $F_{7:8}$ đơn lẻ, có kiểu gen dị hợp tử ở vùng QTL, được chọn lọc từ các họ RIL như Ye và ctv mô tả. (2015, 2018b). Các NIL được chọn trong quần thể con cháu của cây $F_{7:8}$ này (Hình bổ sung S1).

Trồng và đánh giá SW trên đồng ruộng

Các dòng bố mẹ và quần thể RIL được đánh giá về đặc điểm SW tại Trung tâm Nghiên cứu và Giáo dục Bradford (BREC), Columbia, MO, DC, và Salina, KS, Hoa Kỳ vào năm 2013, 2014 và 2015. Tại Salina, KS, những RIL được trồng trong các ô dài 3m và khoảng cách hàng 0,75m với 60 hạt mỗi hàng. Ở Missouri, các mảnh đất trên đồi được trồng với 0,75m giữa các hàng và 0,75m giữa các hốc. Mười hạt được gieo trên mỗi hốc và 3 tuần sau khi nảy mầm, các cây được tỉa thưa thành 4 cây/hốc. Ô hốc trước đây đã được phê duyệt như một thiết kế ô hiệu quả để đánh giá kiểu hình SW, vì mật độ cây trồng được thiết kế (4 cây/hốc) có thể dẫn đến sự cạnh tranh đủ nước đối với cây trồng trong điều kiện mưa nhiều (Sloane và ctv, 1990). Để phát triển NIL, hạt giống được gieo trong các ô dài 3 m và khoảng cách hàng 0,75m với 60 hạt/hàng tại BREC. Tại DC, nước có sẵn cho cây được theo dõi bằng đầu dò độ ẩm Delta-T PR2 (thiết bị Delta-T, Cambridge, Vương quốc Anh) ở độ sâu 10cm và 40cm. Trên tất cả các lĩnh vực, việc chấm điểm héo lá bắt đầu khi cây từ giai đoạn sinh trưởng R2 đến R5, khi tán cây đã phát triển đầy đủ (Fehr và ctv, 1971; Pathan và ctv, 2014). Chấm điểm độ héo của tán (WS) được đánh giá khi bất kỳ lần kiểm tra FW nào (Pana) cho thấy tán rõ ràng héo vào lúc sáng muộn hoặc giữa ngày. Dữ liệu được ghi lại về độ héo của lá theo thang điểm 1–5 (1 = không héo, 2 = vài lá trên cùng bị héo, 3 = một nửa số lá bị héo, 4 = héo nghiêm trọng, ~ 75% số lá bị héo, và 5 = héo nghiêm trọng) (Hình. 1A).

Hình 1. Sự héo của tán và sử dụng nước của các dòng bố mẹ trên đồng ruộng



(A) Xác định kiểu hình trên đồng ruộng đối với sự héo của tán cây bằng cách sử dụng điểm số héo của tán cây (WS). WSs được sử dụng để biểu thị mức độ héo của tán cây từ 1 đến 5.

(B) Sự héo tán của các dòng bố mẹ trong điều kiện khô hạn. Dữ liệu được ghi lại cho các dòng tại ba địa điểm trong 2–3 năm. Sự khác biệt đáng kể về kiểu gen đã được quan sát với $P < 0,0001$, giải thích 57% các biến thể kiểu hình dựa trên ANOVA ở ba vị trí.

(C) Độ ẩm của đất bên dưới các đường bố mẹ. Độ ẩm của đất được đo ở 10cm và 40cm bên dưới bề mặt đất của các dòng bố mẹ trồng trên đất cát tại Trung tâm Delta, MO vào năm 2014. Các phép đo được thực hiện 3 tuần sau trận mưa cuối cùng. Các cột và thanh thể hiện giá trị trung bình và SD của 10 lần lặp lại

Trong phân tích dữ liệu, mô hình cho đặc điểm WS là:

$$y_{ijmk} = \mu + g_i + l_j + (gl)_{ij} + (gt)_{im} + (glt)_{ijm} + b_{k(j)} = e_{ijmk} \quad (1)$$

Trong đó μ là giá trị trung bình lớn, g_i là hiệu quả di truyền của kiểu gen thứ i , l_j là ảnh hưởng của vị trí thứ j , t_m là ảnh hưởng của năm thứ m , $(gl)_{ij}$ là sự tương tác giữa kiểu gen thứ i và vị trí thứ j , $(gt)_{im}$ là tương tác giữa kiểu gen thứ i và năm thứ m , $(gl)_{ijm}$ là tương tác giữa kiểu gen thứ i , vị trí thứ j và năm thứ m , $b_{k(j)}$ là khối (thứ k) hiệu ứng trong vị trí thứ j và e_{ijmk} là lỗi ngẫu nhiên theo $N(0, \sigma^2e)$. Việc ước lượng các thành phần phương sai được thực hiện bằng quy trình GLM trong của SAS phiên bản 9.3 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

Đánh giá phản ứng thoát hơi nước đối với VPD và nitrat bạc

Các phản ứng thoát hơi nước của bốn dòng bố mẹ (Pana, Magellan, PI 567690 và PI 567731) đã được xác định như đã mô tả trước đây (Fletcher và ctv, 2007). Cây được trồng trong 4 tuần ở nhiệt độ ngày/đêm 30/26°C trong nhà kính tại Đại học Bang North Carolina. Sau khi đạt được 4 lá nở hoàn toàn, cây được đặt trong các buồng riêng lẻ, trong đó VPD rất đa dạng. Ba mức phơi nhiễm VPD trong hai ngày liên tiếp được áp dụng theo trình tự sau: thấp (0,5 – 1,5 kPa), trung bình (1,5 – 2,5 kPa) và cao (2,5 kPa trở lên). TR của cây được biểu thị bằng tỷ lệ mất nước trên một đơn vị diện tích lá.

TR cho mỗi kiểu gen được hồi quy so với VPD cho mỗi kiểu gen. Để phân tích thống kê, hai phương trình hồi quy đã được áp dụng bằng cách sử dụng hồi quy bình phương nhỏ nhất trong lãng kính Graphpad 2.01 (Graphpad Software Inc., San Diego, CA, USA). Đầu ra chính của phân tích hồi quy là giá trị VPD cho điểm ngắt (BP) nơi hai đoạn tuyến tính cắt nhau.

$$\text{Nếu } VPD < X_0, TR + S_1 (VPD) + C_1 \text{ (dòng 1)}$$

$$\text{Nếu } VPD \geq X_0, TR + S_2 (VPD) + C_2 \text{ (dòng 2) (2)}$$

trong đó X_0 là BP giữa hai đoạn thẳng, S_1 và S_2 tương ứng là độ dốc của đoạn thẳng thứ nhất và thứ hai, và C_1 và C_2 tương ứng là hằng số của đoạn thẳng thứ nhất và thứ hai. Độ dốc của hai hồi quy tuyến tính (S_1 và S_2) được so sánh một cách thống kê để xác định xem chúng có khác biệt đáng kể hay không ($P < 0,05$). Nếu độ dốc khác nhau, hồi quy tuyến tính kép được giữ lại. Khi các độ dốc không khác nhau đáng kể, một hồi quy tuyến tính đơn giản được áp dụng cho tất cả dữ liệu cho kiểu gen đó.

Xử lý bạc nitrat ($AgNO_3$) và phân tích dữ liệu tiếp theo được thực hiện như đã nêu trước đây (Sadok và Sinclair, 2010). Cây được trồng trong 4 tuần trong nhà kính ở nhiệt độ ngày/đêm 30/26°C. Các chồi được tách ra 4 tuần sau khi xuất hiện. Sự thay đổi sau đó trong quá trình thoát hơi nước được đo bằng trọng lượng. VPD của buồng sinh trưởng được giữ trong khoảng 3,3–4,0 kPa. Phần trăm giảm tỷ lệ thoát hơi nước (RTR) đối với từng cây riêng lẻ do xử lý chất ức chế được tính theo công thức sau cho 10 cây cho mỗi dòng:

$$RTR = 100 \times (TR_0 - TR_x) / TR_0 \quad RTR = 100 \times (TR_0 - TR_x) / TR_0 \text{ (3)}$$

trong đó TR_0 = tốc độ thoát hơi nước của cây trong nước và TR_x = tốc độ thoát hơi nước của cây trong dung dịch $AgNO_3$.

Kiểm tra năng suất trong điều kiện ruộng được tưới và nhờ nước mưa

Các ô năng suất 4 hàng tiêu chuẩn được trồng để đánh giá năng suất của các RIL đã chọn trên đất cát tại hai địa điểm: Salina, KS và DC, MO. Tại mỗi vị trí, hai bộ ô năng suất được trồng với ba lần lặp lại, trải qua hai lần xử lý (tưới nước và nhờ nước mưa). Đối với mỗi ô, 600 hạt được gieo thành hàng 4 m với khoảng cách hàng 0,75m. Chỉ hai hàng giữa được thu hoạch để đánh giá năng suất. Tưới nhỏ giọt được áp dụng cho các mảnh ruộng

một lần trong 10 ngày không có mưa vào tháng 7 và tháng 8 đối với các công thức có tưới. Bốn và hai lần tưới đã được áp dụng tương ứng tại Salina, KS, và DC, MO. Không tưới được áp dụng cho các nghiệm thức tưới bằng nước mưa ở cả hai địa điểm. Điều kiện tưới bằng mưa được coi là điều kiện khô hạn tương đối so với điều kiện được tưới, đặc biệt là khả năng giữ nước kém của đất cát.

Xây dựng bản đồ liên kết và phân tích QTL

DNA bộ gen của bố mẹ và RIL của hai quần thể RIL được tách chiết bằng phương pháp cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) chuẩn (Doyle và Doyle, 1990) với những chỉnh sửa nhỏ. Việc phân loại kiểu gen đa hình nucleotide (SNP) đơn được thực hiện bằng cách sử dụng BARCSoySNP6K Illumina Infinium BeadChips (Illumina Inc., San Diego, CA, Hoa Kỳ) tại cơ sở phân loại gen của Đại học Washington, St. Louis, MO, Hoa Kỳ. Các alen SNP được gọi bằng cách sử dụng Mô-đun định kiểu gen GenomeStudio (Song và ctv, 2013). Một bản đồ liên kết di truyền của từng quần thể lập bản đồ đã được xây dựng bằng cách sử dụng chương trình JoinMap 3.0 (Van Ooijen và Voorrips, 2001). Điểm LOD (logarit của tỷ lệ chênh lệch) là 3,0 được sử dụng cho phân tích hai điểm và điểm LOD là 2,0 được sử dụng cho tất cả phân tích ba điểm và đa điểm. Các QTL giả định cho các tính trạng được nghiên cứu ban đầu được phát hiện bằng phương pháp lập bản đồ khoảng (IM) sử dụng chương trình MapQTL 5.0 (Van Ooijen, 2004). Sau đó, lập bản đồ khoảng thời gian tổng hợp (CIM) được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp đa QTL và các đồng yếu tố thích hợp (Van Ooijen và Voorrips, 2001). Giá trị ngưỡng ý nghĩa của điểm LOD được ước tính cho mỗi tính trạng ở mỗi vị trí bằng 1000 hoán vị để xác định QTL ở mức ý nghĩa toàn bộ gen là $P = 0,05$ (Doerge và Churchill, 1996). Tên của QTL được xác định đã được đề cử theo các yêu cầu về danh pháp SoyBase là *qSW_Gm* viết tắt của *qtl_Slow Wilting_Glycine max_chromosome number*.

KẾT QUẢ

Sự héo của tán và sử dụng nước của các dòng bố mẹ trên đồng ruộng

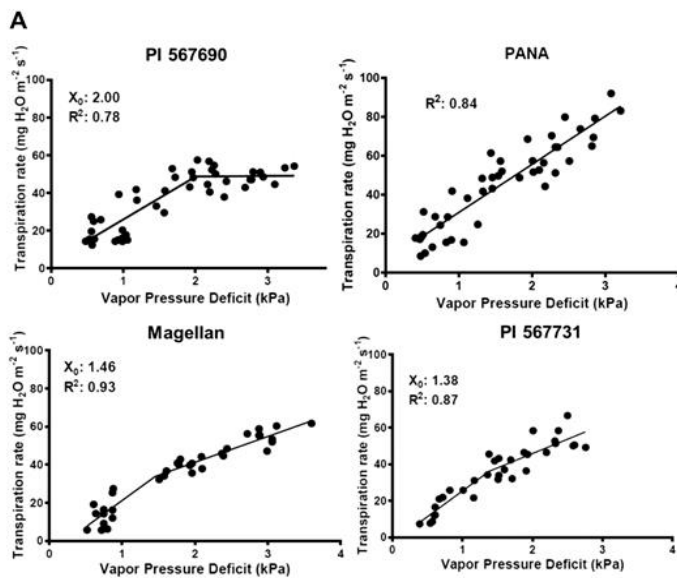
Bốn dòng bố mẹ được trồng ở ba địa điểm trong nhiều năm để đánh giá WSs trên tán cây (Hình. 1A). Hai cặp bố mẹ du nhập, PI 567731 và PI 567690, hầu như không có biểu hiện héo tán ($WS < 1,2$) so với hai cặp bố mẹ ưu tú, Magellan và Pana, trên cả ba vị trí của cả hốc và hàng (Hình 1B). Sự khác biệt đáng kể về kiểu gen trong WS được xác định giữa bố mẹ ngoại lai và bố mẹ ưu tú, giải thích 57% sự khác biệt về kiểu hình giữa các môi trường (địa điểm và năm) (Hình 1B). Trong điều kiện tưới (không căng thẳng), đường FW cho thấy độ ẩm của đất ít hơn đáng kể ở các lớp đất sâu 10cm và 40cm, so với hai đường SW (Hình 1C). Trong điều kiện tưới bằng mưa (khô hạn), độ ẩm của đất bề mặt (độ sâu 10 cm) đều giảm xuống mức ~ 5% (w/w); tuy nhiên, ở các lớp đất sâu hơn (độ sâu 40 cm), hai đường SW vẫn giữ được độ ẩm > 12% so với 7% của đường FW, Pana (Hình 1C). Những kết quả này cho thấy rằng kiểu hình SW trong các dòng ngoại lai này có liên quan đến hiệu quả sử dụng nước và bảo tồn.

Phản ứng thoát hơi nước đối với VPD và chất ức chế aquaporin

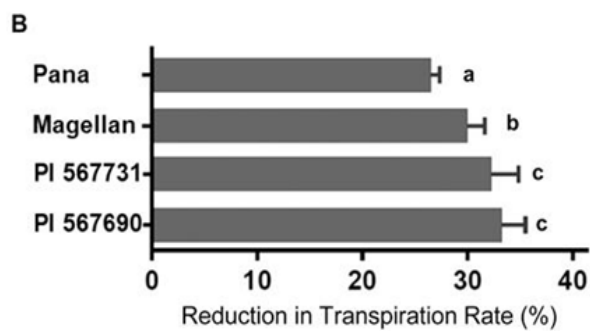
Các phản ứng thoát hơi nước ở bốn dòng bố mẹ đối với sự gia tăng VPD đã được đánh giá thêm. Trong số bốn dòng này, PI 567690, PI 567731 và Magellan được phát hiện có biểu hiện HA trong TR của chúng khi VPD tăng lên (Hình 2A), tương tự như PI 416937 (Fletcher và ctv 2007). PI 567690 thể hiện HA ở TR ở 2,00 kPa, trong khi PI 567731 và

Magellan thể hiện HA ở VPD thấp hơn lần lượt là 1,38 và 1,46 kPa (Hình 2A). Người ta lưu ý rằng PI 567690 cho thấy sự ức chế sự thoát hơi nước mạnh nhất khi VPD tăng lên (Hình. 2A). Đường FS, Pana, không biểu hiện BP, và một hồi quy tuyến tính duy nhất là phù hợp (đường không phải BP) (Hình 2A). Những kết quả này cho thấy ba dòng có BP trong TR (dòng BP) có TR tối đa hạn chế và có thể là ứng cử viên cho SW (Fletcher và ctv, 2007).

Hình 2. Sự khác biệt về tốc độ thoát hơi nước của các dòng bố mẹ khi xử lý thâm hụt áp suất hơi (VPD) và bạc nitrat ngày càng tăng



(A) Tốc độ thoát hơi nước của các dòng bố mẹ theo VPD ngày càng tăng. Tỷ lệ thoát hơi nước được tính theo Công thức 2. X₀ là điểm ngắt giữa các đoạn hai dòng và R² đại diện cho phần các biến thể được giải thích bởi mô hình.



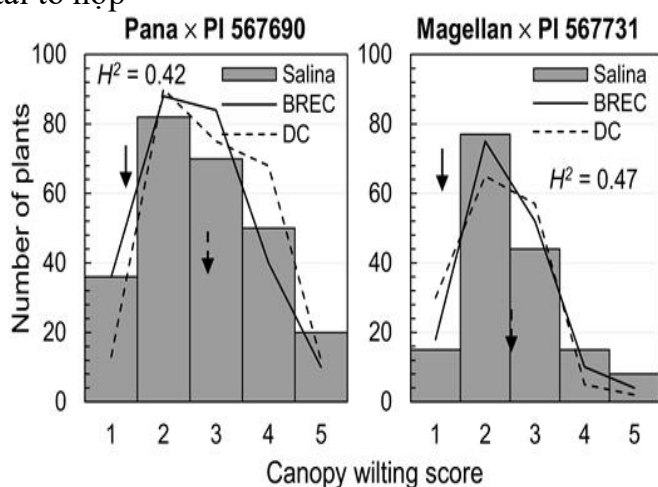
(B) Phản ứng của tốc độ thoát hơi nước của các dòng bố mẹ đối với chất ức chế aquaporin. AgNO₃ được áp dụng cho các chồi đã tách ra (4 tuần sau khi nảy mầm) và tỷ lệ phần trăm giảm tỷ lệ thoát hơi nước đối với từng cây riêng lẻ do xử lý chất ức chế được tính bằng công thức 3. Vào 4 tuần sau khi xuất hiện, phản ứng thoát hơi nước của các chồi tách ra được cho các ion bạc đã được đo lường. Các cột và thanh thể hiện giá trị trung bình và SD của 10 lần lặp lại. So sánh nhiều Duncan được thực hiện để so sánh các trung bình và phân loại dữ liệu thành a, b và c ở P < 0,001.

Các chồi tách ra được xử lý bằng chất ức chế aquaporin (AgNO₃) và RTRs đáng kể đã được quan sát thấy ở cả bốn dòng bố mẹ (Hình 2B). Ba dòng BP (PI 567690, PI 567731 và Magellan) cho thấy độ nhạy lớn hơn trong quá trình thoát hơi nước với xử lý AgNO₃ so với dòng không BP (Pana), không giống như sự thiếu nhạy cảm gần như hoàn toàn trong thoát hơi nước đối với các ion bạc được tìm thấy trước đây trong PI 416937 (Sadok và Sinclair, 2010). Những kết quả này chỉ ra rằng sự thoát hơi nước hạn chế ở các dòng BP có thể không phụ thuộc vào việc thiếu quần thể aquaporin nhạy cảm với bạc được giả thuyết cho PI 416937. Trong tương lai, cần tập trung vào tất cả các quần thể aquaporin bao gồm cả aquaporin nhạy cảm và nhạy cảm với bạc để hiểu được quy định hạn chế thoát hơi nước trong điều kiện VPD cao.

Sự kế thừa của SW và tác dụng của nó đối với việc bảo vệ năng suất trong điều kiện hạn hán

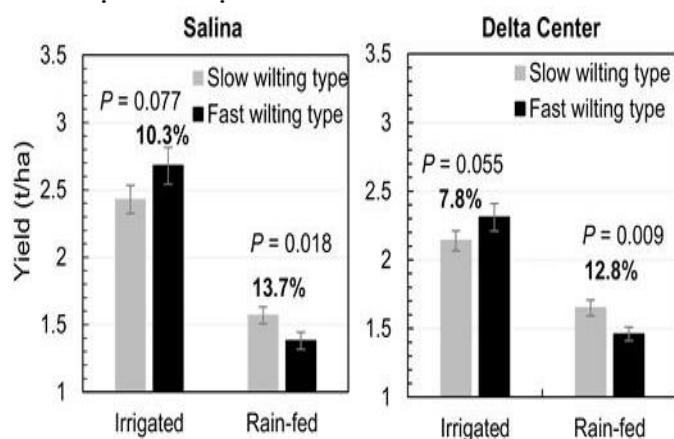
Hai quần thể RIL được phát triển bằng cách lai PI 567690 với Pana và PI 567731 với Magellan (Hình bổ sung S1). Các WS được đánh giá cho các quần thể RIL này tại ba địa điểm trong 1–3 năm (Hình 1A). WS của hai quần thể RIL được phân phối theo định lượng và bình thường (Hình 3), cho thấy WS là một đặc điểm số lượng trong các quần thể này và không cần chuẩn hóa dữ liệu. Sự phân tách quá mức trong WSs được quan sát thấy trong cả hai quần thể lập bản đồ cho cả ba địa điểm (Hình 3). Những kết quả này chỉ ra rằng cả bố mẹ ưu tú và ngoại lai đều phải có locus hỗ trợ hoặc locus cho SW. Hệ số di truyền cảm nhận rộng được phát hiện là 0,42 và 0,47 tương ứng đối với quần thể Pana × PI 567690 và Magellan × PI 567731, trên tất cả môi trường (năm và địa điểm) (Hình 3).

Hình 3. Sự phân bố kiểu hình của điểm héo tán (WS) của hai quần thể lập bản đồ dòng tái tổ hợp



Trung bình của WSs từ nhiều năm cho mỗi địa điểm được sử dụng để tính toán sự phân bố kiểu hình. Các mũi tên có đường liền hoặc đường đứt nét lần lượt chỉ về hoạt động của các giống bố mẹ ngoại lai hoặc được gieo trồng. Hiệu suất làm héo của tán được tính trung bình cho tất cả các môi trường (địa điểm và năm) đối với các dòng bố mẹ. Hệ số di truyền cảm nhận rộng (H^2) được tính toán cho WS trên tất cả môi trường (địa điểm và năm) bằng cách sử dụng Công thức 1.

Hình 4. Vai trò của đặc điểm héo tán cây trong việc bảo vệ năng suất cây trồng trong điều kiện khô hạn



Hai bộ RIL được trồng trên đồng ruộng trong điều kiện tưới tiêu và tưới bằng mưa tại Salina (trái) và Trung tâm Delta (phải). Dữ liệu được hiển thị là giá trị trung bình \pm SD của ô năng suất 23 RIL đối với loại héo chậm hoặc héo nhanh. Trắc nghiệm t-test của Student đã được thực hiện để so sánh trung bình của các đặc điểm giữa hai bộ RIL. Tỷ lệ phần trăm trên các cột cho thấy lợi thế về năng suất của các loại héo tương ứng so với các loại khác.

Việc đánh giá mối quan hệ có thể có giữa sự héo của tán và năng suất được thực hiện bằng cách sử dụng 46 RIL từ hai quần thể. Các RIL này được chọn cho hiệu suất cực cao trong WS với $< 1,5$ (23 SW RIL) và > 3 (23 FW RIL) (Bảng bổ sung S1). 46 RIL này có các đặc điểm nông học tương tự nhau, bao gồm thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, chỗ ở (thấp) và tập tính sinh trưởng quyết định (Bảng bổ sung S1). Trong điều kiện không căng thẳng (được tưới), FW RILs cho thấy lợi thế về năng suất so với SW RILs là 7,8–10,3% ở cả hai địa điểm thử nghiệm; tuy nhiên, những khác biệt này không có ý nghĩa

thống kê (Hình 4). Trong điều kiện căng thẳng do hạn hán (có mưa), FW RILs cho thấy năng suất giảm 48,5% và 36,8% tại hai địa điểm, trong khi SW RILs cho thấy mức giảm năng suất thấp hơn lần lượt là 35,4% và 22,9% (Hình 4). Các dòng SW RIL cho thấy lợi thế về năng suất có ý nghĩa thống kê là 12,8% và 13,7% so với các dòng FW trong điều kiện hạn chế về nước ở cả hai địa điểm (Hình 4). Khi năng suất của các RIL đã chọn được đánh giá riêng biệt cho từng quần thể, một xu hướng tương tự như sự kết hợp của các RIL từ hai quần thể đã được quan sát (Bảng bổ sung S2, S3); tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa giữa FW và SW RIL trong cả hai điều kiện do kích thước mẫu giảm.

QTLs cho SW trong điều kiện hạn hán ở phép lai ưu tú × du nhập

Bản đồ liên kết của hai quần thể RIL được xây dựng bằng cách sử dụng 1601 và 2516 marker SNP đa hình thu được từ việc phân loại kiểu gen BARCSoySNP6K Illumina Infinium BeadChips với khoảng di truyền trung bình là 1,5cM (Bảng 1). Các phân tích QTL tiếp theo trong hai quần thể RIL đã xác định được 10 QTL liên quan đến WSs tán từ mỗi năm và theo địa điểm (Bảng 2). Từ quần thể Pana × PI 567690, tám QTL đã được xác định để định vị ở các vị trí nhiễm sắc thể tương tự với những QTL đã được báo cáo trước đây bởi Abdel-Haleem và ctv (2012), Hwang và ctv (2015) (Bảng 2). Từ quần thể Magellan × PI 567731, hai QTL mới, được đặt tên là *qSW_Gm06* và *qSW_Gm10*, được lập bản đồ là khác biệt với những QTL được báo cáo trước đây (Bảng 2).

Bảng 1. Thông tin về các bản đồ liên kết đã xây dựng cho hai quần thể dòng tái tổ hợp

Nhiễm sắc thể	Pana x PI 567690		Magellan x PI 567731	
	Số marker	Khoảng trung bình (cM)	Số marker	Khoảng trung bình (cM)
1	82	1,1	144	1,6
2	74	1,9	147	1,0
3	89	1,6	114	1,9
4	95	1,2	130	1,5
5	54	2,2	102	1,7
6	87	1,3	126	1,6
7	56	2,1	144	1,5
8	134	2,1	221	1,1
9	80	1,3	130	1,5
10	81	1,2	91	2,0
11	63	1,4	73	2,6
12	62	1,3	110	1,6
13	96	1,4	179	1,1
14	66	1,4	95	1,8
15	69	1,6	113	1,8
16	68	1,4	107	1,7
17	83	1,6	106	1,7
18	85	1,3	151	1,3
19	56	1,6	93	1,4
20	121	1,8	140	1,3
Total	1.601	1,5	2.516	1,5

Trong số 10 QTL từ công việc lập bản đồ hiện tại, sáu QTL được xác định từ hai đến ba môi trường (hoặc năm khác nhau hoặc vị trí khác nhau) (Bảng 2; Hình 5). Bốn trong số chúng được lập bản đồ nhất quán trong hai môi trường với các alen thuận lợi từ PI 567690 cho SW, với mỗi alen giải thích từ 7,8% – 10,4% tổng số các biến thể kiểu hình (Hình 5). Hai QTL mới khác (*qSW_Gm06* và *qSW_Gm10*) được lập bản đồ trong phép lai

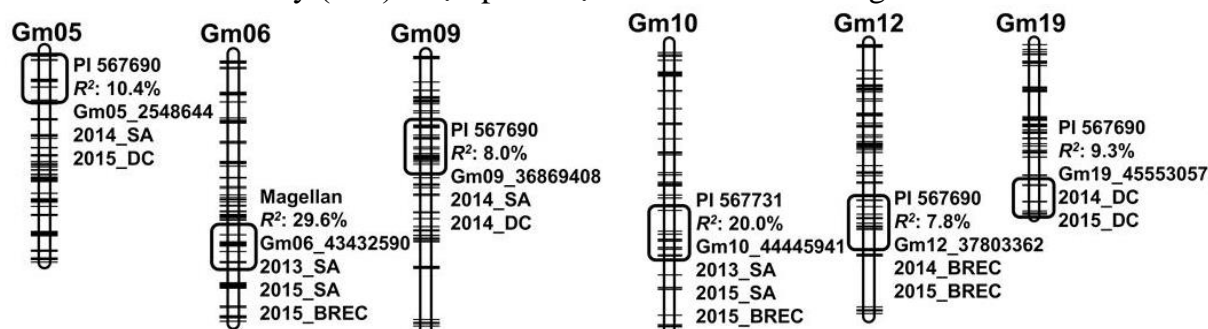
Magellan × PI 567731 trong ba môi trường (Hình 5). Magellan và PI 567731 được phát hiện là đóng góp các alen của nhà tài trợ cho SW tại *qSW_Gm06* và *qSW_Gm10*, tương ứng (Hình 5). Hơn nữa, *qSW_Gm06* và *qSW_Gm10* được xác định là có những đóng góp tương đối lớn vào kiểu hình SW, với mỗi loại giải thích 20 – 29,6% tổng số biến thể kiểu hình (Hình 5). Cần lưu ý rằng trong số sáu QTL từ nhiều môi trường, bốn QTL (*qSW_Gm05*, *qSW_Gm06*, *qSW_Gm09* và *qSW_Gm10*) được phát hiện ở cả hai ô hốc (BREC hoặc DC) và ô hàng (SA), trong khi hai ô còn lại (*qSW_Gm12* và *qSW_Gm19*) chỉ được phát hiện tại các ô hốc (Hình 5). Các yếu tố gây nhiễu khác, chẳng hạn như mật độ cây trồng, có thể dẫn đến sự khác biệt trong phát hiện QTL giữa các ô hốc và ô hàng.

Bảng 2. Tóm tắt các QTL được phát hiện trong lập bản đồ di truyền trước đây và hiện tại

QTL	Donor line	Abdel-Haleem và ctv (2012)	Hwang và ctv (2015)	Nghiên cứu này
<i>qSW-Gm02-1</i>	Benning, Jackson, PI 567690	-	2 quần thể ^a	1 môi trường ^a
<i>qSW-Gm02-2</i>	A5959, PI 416937, PI 567690	2 môi trường ^a	1 quần thể	1 môi trường
<i>qSW-Gm02-3</i>	PI 416937	-	2 quần thể	-
<i>qSW-Gm04</i>	PI 416937, PI 567690	2 môi trường	-	1 môi trường
<i>qSW-Gm05</i>	PI 416937, Jackson, PI 567690	2 môi trường	1 quần thể	2 môi trường
<i>qSW-Gm06</i>	Magellan	-	-	3 môi trường
<i>qSW-Gm08</i>	Jackson, Nannong 1138-2	-	2 quần thể	-
<i>qSW-Gm09</i>	Jackson, A5959, PI 567690	-	2 quần thể	2 môi trường
<i>qSW-Gm10</i>	PI 567731	-	-	3 môi trường
<i>qSW-Gm11</i>	PI 416937, Jackson, PI 424140	-	3 quần thể	-
<i>qSW-Gm12</i>	PI 416937, PI 567690	5 môi trường	-	2 môi trường
<i>qSW-Gm14</i>	Jackson, PI 416937	-	2 quần thể	-
<i>qSW-Gm17-1</i>	KS4895, A5959, Benning, Pana	2 môi trường	4 quần thể	1 môi trường
<i>qSW-Gm17-2</i>	KS 4895	-	2 quần thể	-
<i>qSW-Gm19</i>	PI 416937, Jackson, PI 424140, PI 567690	2 môi trường	3 quần thể	2 môi trường

^a Số môi trường hoặc quần thể trong đó QTL được phát hiện trong nghiên cứu tương ứng.

Hình 5. Vị trí nhiễm sắc thể và các thành phần di truyền của hai QTL có liên quan đến điểm số héo của tán cây (WS) được phát hiện ở nhiều môi trường



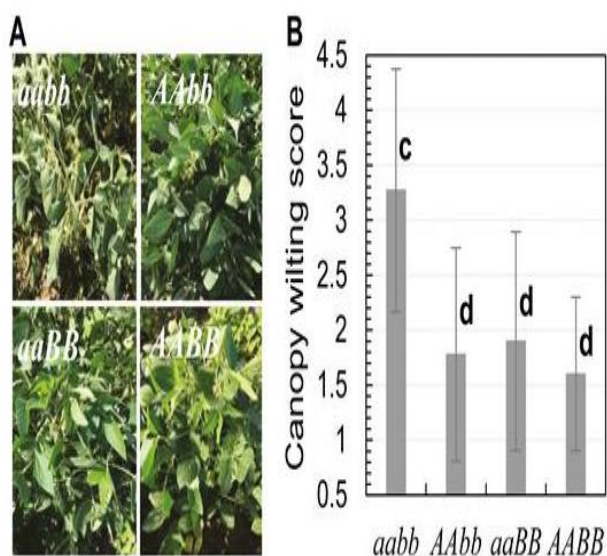
Bản đồ liên kết được xây dựng dựa trên kết quả kiểu gen từ mảng Illumina 6K SNP sử dụng JoinMap 4.0 (Bảng 1). Chú thích của mỗi QTL cho thấy các dòng có alen cho tính trạng héo chậm, phần trăm đóng góp lớn nhất của QTL vào tổng số các biến thể kiểu hình ở nhiều môi

trường, các marker gần nhất của QTL và các môi trường phát hiện QTL tương ứng. Chỉ các QTL được phát hiện trong môi trường ≥ 2 mới được hiển thị.

Cách ly và xác nhận các QTL chính *qSW_Gm06* và *qSW_Gm10*

Trước đây, không có QTL SW nào được xác nhận trong cùng một nền tảng di truyền, chẳng hạn như một nền tảng cận huyết. Vì hai QTL SW chính (*qSW_Gm06* và *qSW_Gm10*) đã được xác định trong nghiên cứu này, các nỗ lực đã được thực hiện để phân lập và xác nhận hai QTL này ở một nền cận huyết. Một RIL (RIL # 049) ở thế hệ F_{7:8} đã được xác định là dị hợp tử ở cả hai vùng *qSW_Gm06* và *qSW_Gm10* bằng cách xác định kiểu gen của các marker bên hông QTL: Gm06_43235059/Gm06_47338142 và Gm10_43894668/Gm10_44744804 tương ứng (Hình bổ sung S1). Các thế hệ con của RIL # 049 với kiểu gen đồng hợp tử ở hai locus được chọn làm NIL cho *qSW_Gm06* và *qSW_Gm10*. Bốn NIL được chọn này được đặt tên là *aabb*, *AAbb*, *aaBB* và *AABB* (Hình bổ sung S1). “aa” hoặc “AA” là viết tắt của NIL với alen cho là FW hoặc SW tại *qSW_Gm06*; trong khi “bb” hoặc “BB” là viết tắt của NIL với alen hỗ trợ cho FW hoặc SW tại *qSW_Gm10*. Dòng *aabb* cho thấy kiểu hình héo rõ rệt trong điều kiện khô hạn (3 tuần không có mưa) (Hình 6A).

Hình 6. Sự khác biệt về kiểu gen về sự héo của tán cây trong điều kiện khô hạn của *qSW_Gm06* và *10*



(A) Hình ảnh đại diện về kiểu hình héo tán của các dòng cận huyết (NILs) đối với *qSW_Gm06* và *10*. Hình ảnh được chụp vào buổi trưa sau 3 tuần không có mưa. “Aa” hoặc “AA” là viết tắt của các NIL có alen cho héo nhanh hoặc héo chậm ở *qSW_Gm06*, trong khi “bb” hoặc “BB” là viết tắt của các NIL có alen cho héo nhanh hoặc héo chậm ở *qSW_Gm10*. (B) Điểm héo tán của các NIL. Các thanh đại diện cho trung bình và các SD của 9–11 cây cho mỗi kiểu gen. Các chữ cái “c” hoặc “d” cho biết kết quả từ thử nghiệm so sánh nhiều lần của Duncan không có ý nghĩa (cùng một chữ cái) hoặc có ý nghĩa (chữ cái khác nhau) ở $P < 0,002$.

Việc bổ sung các alen SW của một trong hai QTL đã ngăn chặn đáng kể sự héo của tán cây từ điểm 3,3 đến $< 1,9$ (Hình 2B). Dòng AABB có biểu hiện héo tán nhẹ nhất; tuy nhiên, sự khác biệt giữa AAbb, aaBB và AABB là không có ý nghĩa thống kê, có thể do kích thước mẫu nhỏ và ứng suất hạn hán không đầy đủ hoặc ảnh hưởng của các locus nhỏ chưa được phát hiện vẫn đang tách biệt trong NILs (Hình 6B). Kiểm tra năng suất của các NIL này là cần thiết để xác nhận lợi ích năng suất của hai QTL này trong điều kiện hạn hán được kiểm soát tốt trong các nghiên cứu trong tương lai. Những nỗ lực này đã phân lập thành công hai QTL mới từ một nền tảng di truyền phức tạp thành một nền cận huyết bằng cách sử dụng chọn lọc có hỗ trợ marker (MAS) và lần đầu tiên xác nhận tác dụng của các QTL SW.

THẢO LUẬN

Cơ chế sinh lý của SW

Kiểu hình SW là một đặc điểm phức tạp có thể tham gia vào các chiến lược bảo tồn nước ở lá và thăm dò nguồn nước bằng rễ (Valliyodan và ctv, 2017). Biến đổi sự thoát hơi nước được coi là một trong những chiến lược quan trọng để cây trồng thích nghi với các điều kiện hạn chế về nước. Sự thoát hơi nước của thực vật tăng lên khi tăng VPD trong khí quyển, nhưng ở một số kiểu gen, TR trở nên hạn chế khi đạt đến VPD nhất định (Sinclair và Bennett, 1998). Phản ứng hạn chế thoát hơi nước này có thể quan trọng trong việc bảo tồn nước trong đất đối với các điều kiện thiếu nước. Hệ quả trực quan của phản ứng hạn chế thoát hơi nước là có thể làm chậm quá trình héo (tức là SW) trong điều kiện khô hạn (Fletcher và ctv, 2007). Trước đây, việc thiếu một quần thể aquaporin nhạy cảm với bạc đã được giả thuyết để giải thích TR giới hạn tối đa của PI 416937 do VPD ngày càng tăng (Sadok và Sinclair, 2010). Trong nghiên cứu này, ba dòng (PI 567690, PI 567731 và Magellan) cho thấy HA trong TR ở VPD là 1,38–2,00kPa (Hình 2A). PI 567690 đặc biệt thú vị, bởi vì độ dốc phía trên BP về cơ bản là nằm ngang, tương tự như độ dốc được tìm thấy trong PI 416937 (Hình 2A), cho thấy rằng PI này nên có tác dụng ức chế sự thoát hơi nước mạnh hơn trong điều kiện khô hạn. Bốn dòng bố mẹ này được xử lý bằng AgNO₃ để xác định xem thử nghiệm này có thể xác nhận giả thuyết trước đó với PI 416937 hay không. Tuy nhiên, không giống như các phát hiện trong PI 416937, sự thoát hơi nước của tất cả các dòng này được chứng minh là nhạy cảm với xử lý AgNO₃ và ba dòng BP thậm chí còn cho thấy độ nhạy lớn hơn dòng không BP (Hình 2B). Những kết quả này chỉ ra rằng cơ chế cho sự thoát hơi nước giới hạn tối đa ở các kiểu gen SW có thể độc lập với việc thiếu aquaporin nhạy cảm với bạc đã được giả thuyết trước đó.

Trước đây, PI 416937 đã được báo cáo là có hệ thống rễ lớn hơn nhiều so với các dòng FW khác, cho thấy sự tồn tại của các cơ chế khác tăng cường kiểu hình SW ngoài khả năng bảo tồn nước thông qua các phản ứng thoát hơi nước hạn chế (Hudak và Patterson, 1995). Do đó, các cơ chế khác, chẳng hạn như hệ thống rễ lớn hơn và/hoặc sâu hơn, cũng có thể xuất hiện trong các dòng SW mới trong nghiên cứu này, vẫn chưa được xác định. Việc phân tích các đặc điểm SW thành các locus di truyền riêng lẻ là cần thiết cho phép các nghiên cứu cơ học chuyên sâu hơn để hiểu đầy đủ về đặc điểm phức tạp này. Sự phát triển của NIL cho SW QTL cho phép phóng to các locus/gen cụ thể và tiến hành các nghiên cứu cơ học sâu hơn nhằm hiểu rõ hơn về các cơ chế sinh lý và phân tử của SW.

Tác động của SW đối với năng suất

Đặc điểm SW được coi là đặc biệt mong muốn trong môi trường có độ ẩm thấp/VPD cao để bảo tồn nước (Fletcher và ctv, 2007). Trong một phân tích mô phỏng, việc áp dụng đặc điểm của TRs giới hạn tối đa được dự đoán sẽ cải thiện năng suất trong điều kiện hạn hán lên >75% (Sinclair và ctv, 2010). Phân tích trước đây về sản xuất đậu tương ở Hoa Kỳ chỉ ra rằng những kiểu gen biểu hiện TRs giới hạn tối đa có khả năng cho năng suất cao hơn do tiết kiệm nước đáng kể trong điều kiện không tưới và VPD cao (Sinclair và ctv, 2010). Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy rằng RIL với đặc điểm SW cho thấy năng suất cao hơn đáng kể trong điều kiện không tưới và VPD cao hơn so với RIL có kiểu hình FW (Hình 4). Những kết quả này lần đầu tiên cung cấp bằng chứng thực nghiệm để hỗ trợ giả thuyết trước đây rằng đặc điểm SW có liên quan đến khả năng chịu hạn ở đậu tương.

Tuy nhiên, khi nguồn cung cấp nước không bị hạn chế, thì TR tối đa có thể dẫn đến hình phạt về năng suất (Sinclair và ctv, 2005). PI 416937 được phát hiện có tiềm năng năng suất thấp (Cho và ctv, 2003). Năng suất thấp của PI 416937 được cho là phù hợp với TR giới hạn tối đa (Fletcher và ctv, 2007). Tuy nhiên, năng suất thấp của dòng PI này cũng có thể là do nền tảng di truyền kỳ lạ của nó, vì các mầm du nhập có xu hướng có tiềm năng năng suất thấp hơn nhiều so với các giống trồng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã kiểm tra tiềm năng năng suất của cả SW và FW RIL và nhận thấy rằng đặc điểm SW có mức phạt năng suất từ 7,8–10,3% trong môi trường được tưới, nơi cung cấp đủ nước (Hình 4). Trong thí nghiệm này, 46 RIL được thử nghiệm đã được chọn từ các quần thể RIL giống nhau để bình thường hóa nền tảng di truyền giữa các kiểu gen SW và FW. Do đó, có thể kết luận rằng TR giới hạn tối đa làm tăng tính ổn định của năng suất, nhưng với mức phạt liên quan đến năng suất trong các mùa hoặc khu vực tăng trưởng tối ưu. Những kết quả này có thể được hiểu là gợi ý rằng kiểu hình SW đặc biệt hữu ích cho việc lai tạo các giống đậu tương cho môi trường có VPD cao và nguồn cung cấp nước thấp.

Sự kế thừa định lượng và sự phức tạp của đặc điểm SW

Trước đây, > 10 QTL SW được lập bản đồ từ một số quần thể và/hoặc môi trường. Phần lớn các QTL này (11/13) được đóng góp từ PI 416937 và Jackson, trong khi bố mẹ FW vẫn cung cấp các alen hỗ trợ ở một vài locus (Bảng 2). Tuy nhiên, hầu hết các QTL được lập bản đồ đều không ổn định giữa các môi trường. Ví dụ, QTL chính trên Chr. 12 được báo cáo trước đây bởi Abdel-Haleem và ctv (2012), không thể phát hiện được trong cùng một quần thể được báo cáo bởi Hwang và ctv (2015, 2016). GWAS trong bảng đa dạng cũng xác nhận độ phức tạp của SW, vì 23 locus giả định có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với đặc điểm này (Kaler và ctv, 2017). Tuy nhiên, tại thời điểm này, không có QTL nào trong số này được báo cáo là đã được xác nhận ở nền tảng di truyền đồng bộ, chẳng hạn như cận huyết.

Trong nghiên cứu này, sáu QTL được lập bản đồ trong hai quần thể RIL trong hơn hai môi trường (Bảng 2; Hình 5). Phần lớn các QTL (4/6) được phát hiện ở cả ô hốc và ô hàng (Hình 5), cho thấy rằng các ô hốc cũng có thể được sử dụng để đánh giá tình trạng héo của tán cây. Tuy nhiên, hai QTL chỉ được phát hiện trong các ô hốc (Hình 5), cho thấy sự tồn tại của các yếu tố gây nhiễu khác trong việc trồng ô hốc, chẳng hạn như mật độ trồng. Sự khác biệt về mật độ trồng có thể ảnh hưởng đến nguồn nước sẵn có trong đất và cuối cùng có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của các kiểu hình héo tán. Trong các nghiên cứu trong tương lai, các ô theo hàng được khuyến nghị tiến hành đánh giá độ héo của tán và khả năng chịu hạn, nếu có không gian và nguồn lực, vì chúng có thể thể hiện tốt nhất sản xuất nông nghiệp thực tế.

Phát triển các NIL và xác nhận các QTL chính

Trong số sáu QTL được lập bản đồ dưới nhiều môi trường, bốn QTL được lập bản đồ từ quần thể Pana × PI 567690 và những QTL này được tìm thấy trùng lặp với các QTL đã được báo cáo trước đây trong các nền tảng di truyền khác nhau (Bảng 2). Thú vị hơn, hai SW QTL mới (*qSW_Gm06* và *qSW_Gm10*) đã được lập bản đồ trong quần thể Magellan × PI 567731 và mỗi bố mẹ đóng góp vào SW tại một điểm (Hình 5). Mặc dù hai QTL này có tác động tương đối lớn hơn đối với SW và ổn định hơn trong các môi trường khác nhau so với các QTL khác (Hình 5), việc xác nhận thêm các QTL này trong một nền tảng di truyền tương tự vẫn là cần thiết. Do đó, hai QTL này đã được MAS phân lập thành nền cận huyết bằng MAS trong họ tổ hợp không đồng nhất (Hình bổ sung S1). Như dự kiến,

các đánh giá sơ bộ tại hiện trường của các NIL đã xác nhận thành công hai QTL này cho kiểu hình SW (Hình 6). Việc xác nhận hai QTL SW trong NIL do MAS phát triển cho thấy rằng việc sử dụng MAS cho đặc điểm phức tạp này trong chọn giống đậu tương là hoàn toàn khả thi và được khuyến nghị, đặc biệt là đối với các QTL chính, chẳng hạn như *qSW_Gm06* và *qSW_Gm10*.

Người ta đưa ra giả thuyết rằng việc xếp chồng các QTL SW có thể cải thiện đáng kể khả năng chịu hạn, đặc biệt là trong các thời kỳ hạn hán nghiêm trọng hoặc kéo dài (Valliyodan và ctv, 2017). Trong nghiên cứu này, xếp chồng cả hai QTL cho thấy hiệu suất SW tăng nhẹ so với việc thêm một trong hai QTL, mặc dù sự khác biệt là không đáng kể về mặt thống kê (Hình 6). Sự không đáng kể này có thể là do kích thước mẫu nhỏ hoặc do hạn hán không đủ (chỉ 3 tuần không có mưa). Cần đánh giá thêm về lợi ích (héo tán và năng suất) của các QTL SW xếp chồng với kích thước mẫu lớn hơn trong điều kiện hạn hán được kiểm soát tốt hơn.