

# XÁC ĐỊNH QTL LÀM CƠ SỞ CHO KHẢ NĂNG CHỊU NGẬP ÚNG Ở CÂY ĐẬU TƯƠNG (*Glycine max*)

Jun Zhang<sup>1,2</sup>, Samuel Clay McDonald<sup>2</sup>, Chengjun Wu<sup>3</sup>, Miles W. Ingwers<sup>2</sup>,  
Hussein Abdel-Haleem<sup>2,4</sup>, Pengyin Chen<sup>5</sup>, Zenglu Li<sup>2</sup>

1. Khoa Nông học, Đại học Nông nghiệp Cát Lâm, Trường Xuân, Cát Lâm, Trung Quốc.
2. Khoa Khoa học Đất và Cây trồng Viện Chọn giống cây trồng, Di truyền và Gen, Đại học Georgia, Athens, Georgia, Mỹ.
3. Khoa Khoa học Cây trồng, Đất và Môi trường, Đại học Arkansas, Fayetteville, Arkansas, Mỹ.
4. Trung tâm nghiên cứu nông nghiệp vùng đất khô cằn, USDA-ARS, Maricopa, Arizona, Mỹ
5. Trung tâm Nghiên cứu Fisher Delta, Đại học Missouri, Portageville, Missouri, Mỹ

## TÓM TẮT

Ngập úng thường gây ra tình trạng thiếu oxy (hypoxia) ở thực vật, gây tổn thương rễ và ảnh hưởng đáng kể đến sự tăng trưởng, tỷ lệ sống và năng suất của cây đậu tương. Việc xác định các locus tính trạng số lượng (QTLs) và hiểu được sự di truyền của khả năng chịu ngập sẽ giúp phát triển các giống đậu tương có khả năng chịu ngập. Mục tiêu của nghiên cứu này là lập bản đồ các QTL chịu trách nhiệm về khả năng chịu ngập úng bằng cách sử dụng quần thể dòng thuần tái tổ hợp có nguồn gốc từ F5 (RIL) có nguồn gốc từ tổ hợp lai Benning × PI 416937. RIL, cùng với bố mẹ Benning và PI 416937, được trồng vào năm 2012, 2014 và 2015 tại Stuttgart, AR, và được tạo kiểu hình về khả năng chịu ngập úng bằng cách xác định trực quan sức khỏe của cây và tỷ lệ sống sót của cây trên đồng ruộng. Quần thể được định kiểu gen bằng SoySNP6K Infinium BeadChips. Phân tích phương sai cho thấy tác động đáng kể của kiểu gen, môi trường và tương tác kiểu gen × môi trường ( $P < 0,0001$ ) đối với khả năng chịu ngập. Phân tích QTL đã phát hiện chín QTL có ý nghĩa (logarit của tỷ lệ chênh lệch [LOD]  $> 3.0$ ) đối với khả năng chịu ngập trên các nhiễm sắc thể (Chrs) 1, 4, 5, 16 và 18 cho cả điểm số chịu ngập (FTS) và tỷ lệ sống sót (SR) khi sử dụng phương pháp tốt nhất các giá trị dự đoán không thiên vị tuyến tính (BLUP) trong ba năm. Ba QTL, nằm ở Chrs 1, 5 và 16, là điểm chung cho cả tính trạng FTS và SR, và các QTL riêng lẻ giải thích 7,6–11,0% biến thể kiểu hình. Kết quả cho thấy khả năng chịu ngập là một đặc điểm phức tạp, được kiểm soát bởi nhiều QTL và bị ảnh hưởng đáng kể bởi các tương tác QTL × môi trường. QTL và thông tin marker có thể được sử dụng để hỗ trợ các nhà lai tạo đậu tương phát triển các giống chịu ngập.

## 1. GIỚI THIỆU

Đậu tương là cây trồng quan trọng toàn cầu được sử dụng làm thực phẩm cho con người, thức ăn gia súc, nhiên liệu sinh học và nhiều sản phẩm khác. Theo dự báo nông nghiệp đến năm 2028 của Bộ Nông nghiệp Mỹ (USDA), thương mại đậu tương thế giới được dự đoán sẽ tăng 23% và đạt 196 triệu tấn (O'Donoghue và ctv, 2019). Điều này cho thấy nhu cầu về đậu tương đang tăng lên hàng năm.

Những thay đổi về điều kiện khí hậu làm tăng tần suất thời tiết cực đoan. Cơ quan Hàng không và Vũ trụ Quốc gia (NASA) dự đoán rằng số lượng các hiện tượng mưa cực đoan sẽ tăng 30% vào năm 2030 và 65% vào năm 2090 (Rosenzweig và ctv, 2002). Ngập úng là một căng thẳng phi sinh học lớn ở khu vực đồng bằng sông Mississippi của Mỹ, các khu vực gió mùa của châu Á và các khu vực khác có lượng mưa cao định kỳ. Đậu

trương rất nhạy cảm với ngập úng (Hou & Thseng, 1991), và căng thẳng do ngập úng thường dẫn đến giảm đáng kể năng suất hạt. Đậu trương đặc biệt dễ bị ảnh hưởng bởi ngập úng trong giai đoạn đầu phát triển khi có nguy cơ thiệt hại kinh tế lớn (Kokubun, 2013; Valliyodan và ctv, 2014; VanToai và ctv, 2010). Theo báo cáo, ngập úng kéo dài ít nhất hai ngày có thể làm giảm năng suất 18% trong giai đoạn sinh dưỡng và 26% trong giai đoạn sinh sản sớm của đậu trương (Scott và ctv, 1989). Ngập úng ảnh hưởng đến khoảng 16% diện tích sản xuất đậu trương trên thế giới và dẫn đến thiệt hại hàng tỷ đô la doanh thu mỗi năm (Ahmed và ctv, 2013; Valliyodan và ctv, 2014, 2017; Wu, Zeng, Chen, Hummer và ctv, 2017).

Trong ba thập kỷ qua, đã có nhiều nghiên cứu tập trung vào các phản ứng sinh lý, sinh hóa, giải phẫu và hình thái của cây đậu trương đối với stress ngập úng (Borella và ctv, 2017; Oosterhuis và ctv, 1990; Thomas và ctv, 2005). Tình trạng thiếu oxy trong đất do ngập úng là yếu tố chính làm giảm năng suất đậu trương (Hossain & Uddin, 2011) vì sự khuếch tán oxy qua nước chậm hơn so với không khí (Armstrong & Drew, 2002). Việc thiếu oxy sẽ ức chế sự hấp thụ nitơ và khoáng chất, làm chậm sự phát triển của rễ và tạo nốt sần ở đậu trương (Bacanawo & Purcell, 1999; Cho & Yamakawa, 2006; Henshaw và ctv, 2007; Nguyen và ctv, 2017; Rhine và ctv, 2010; Sallam & Scott, 1987). Trong thời gian ngập úng, việc vận chuyển nitơ và khoáng chất đến các chồi của cây có thể không đầy đủ, dẫn đến cây bị héo và còi cọc (Nathanson và ctv, 1984). Ngoài ra, việc giảm độ dẫn của khí khổng làm giảm tốc độ quang hợp của lá dưới áp lực ngập úng, và cây bị ngập úng tăng khả năng chết do bệnh tật (Oosterhuis và ctv, 1990; VanToai và ctv, 1994). Tác động tích lũy của những điều kiện này là giảm năng suất hoặc chết cây (Linkemer và ctv, 1998).

Đậu trương đã phát triển các cơ chế để chịu đựng ngập úng và giảm tổn thất năng suất dưới áp lực ngập úng. Các cơ chế này bao gồm tăng lượng đường hòa tan, hình thành khí mô, hình thành rễ bất định (Kim và ctv, 2015; Valliyodan và ctv, 2014), tăng quá trình đường phân (Valliyodan và ctv, 2017) và bảo vệ chống oxy hóa để chống lại stress oxy hóa gây ra do ngập úng (Ahmed và ctv, 2013). Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo biến thể di truyền về khả năng chịu ngập ở đậu trương (VanToai và ctv, 1994; Wu, Zeng, Chen, Florez-Palacios và ctv, 2017; Wu và ctv, 2020). Một số giống đậu trương đã được xác định là nguồn cung cấp alen chống chịu ngập tiềm năng, bao gồm Archer, Misuzudaiz, PI 408105A, PI 561271, PI 567651 và PI 567343, và một số giống đậu trương đại (*Glycine soja*) cũng thể hiện khả năng chịu ngập tốt (Valliyodan và ctv, 2017).

Lập bản đồ gen đã xác định được các vùng gen liên quan đến khả năng chịu ngập ở nhiều loại cây trồng quan trọng về mặt kinh tế. Đáng chú ý nhất là nghiên cứu rộng rãi về các giống lúa chịu ngập (*Oryza sativa*) đã dẫn đến việc phát hiện ra SUBMERGENCE 1 (SUB1), là một địa điểm chính về khả năng chịu ngập (Xu & Mackill, 1996). Các locus chịu ngập được lập bản đồ ở Nicaragua teosinte (*Zea nicaraguensis*) (Mano & Omori, 2013), một họ hàng hoang dại của ngô (*Zea mays*), đã dẫn đến sự phát triển của các giống ngô lai chịu ngập với một QTL được đưa vào từ teosinte (Mano & Omori, 2015).

Các vùng gen quy định khả năng chịu ngập ở cây đậu trương cũng đã được phát hiện bằng bản đồ gen. Sử dụng hai quần thể dòng cận huyết tái tổ hợp (RIL) có nguồn gốc từ Archer × Minsoy và Archer × Noir 1, một QTL liên quan đến sự phát triển của cây và năng suất hạt dưới áp lực ngập úng đã được xác định trên nhiễm sắc thể (Chr) 18 gần SSR điểm đánh dấu Sat\_064. Alen Sat\_064 được thừa hưởng từ Archer trong cả hai quần thể đều có ý nghĩa ở hai trong số ba môi trường được tạo kiểu hình và chiếm 8–9% và

22–33% biến đổi kiểu hình trong sự phát triển của cây và năng suất hạt, tương ứng, trong điều kiện bị ngập úng (VanToai và ctv, 2001). Tương tự, hai quần thể RIL có nguồn gốc từ A5403 × Archer và P9641 × Archer, được tạo kiểu hình trong ba năm, được sử dụng để lập bản đồ các QTL liên quan đến khả năng chịu ngập úng. Tương tác đáng kể ( $P < 0,05$ ) kiểu gen × năm đã được quan sát đối với quần thể A5403 × Archer. Tuy nhiên, tương tác kiểu gen × năm không có ý nghĩa đối với quần thể P9641 × Archer. Phân tích bản đồ khoảng tổng hợp (CIM) đã xác định một QTL trên Chr 5 gần Satt385 trong quần thể A5403 × Archer vào năm 2003 và một QTL khác trên Chr 13 gần Satt269. Cả hai QTL đều có alen thuận lợi từ Archer và chiếm 10% và 16% biến thể kiểu hình tương ứng (Cornelious và ctv, 2005). Mặc dù cả hai nghiên cứu đều sử dụng giống bố mẹ chung là Archer (Cornelious và ctv, 2005; VanToai và ctv, 2001), các QTL về khả năng chịu ngập là khác nhau.

Sử dụng 60 RIL được chọn ngẫu nhiên từ tổ hợp lai Misuzudaizu × Moshidou Gong 503, Githiri và ctv (2006) đã xác định bảy QTL cho khả năng chịu ngập úng bằng cách sử dụng phương pháp tạo kiểu hình nhà kính trong hơn 2 năm. Các QTL được chỉ định từ ft1 đến ft7 và nằm trên các Chrs 6, 2, 19, 11, 14, 7 và 10 tương ứng. QTL ft1 trên Chr 6 được phát hiện trong cả hai năm, chiếm 49,2% và 30,5% biến thể kiểu hình lần lượt vào năm 2002 và 2003. Trong một nghiên cứu khác sử dụng 188 RIL có nguồn gốc từ F7 được phát triển từ tổ hợp lai S99-2281 × PI 408105A, việc đánh giá ngập úng được tiến hành trong hai năm ở Ohio và một năm ở Missouri. Điểm chống chịu ngập úng (FTS) đã được thực hiện và chỉ số năng suất ngập úng (FYI) được tính toán dựa trên năng suất của các ô bị ngập chia cho năng suất của các ô đối chứng. Bốn vùng gen được phát hiện cho cả FTS và FYI trong ba môi trường. Các alen thuận lợi, đến từ cả bố và mẹ, giải thích 7,7–19,7% biến thể kiểu hình và các QTL không nhất quán giữa các môi trường (Nguyen và ctv, 2012).

Gần đây nhất, bằng cách đánh giá một nhóm gồm 384 cây đậu tương PI về khả năng chịu ngập úng trong 2 năm và sử dụng phương pháp nghiên cứu kết hợp trên toàn bộ bộ gen (GWAS), Wu và ctv (2020) đã xác định được 14 đa hình đơn nucleotide (SNP) tại 5 locus trên 5 nhiễm sắc thể có liên quan đáng kể đến khả năng chống chịu ngập úng trong 2 năm [ $-\log_{10}(P) \geq 2,5$ ]. Sử dụng nhiều công cụ khai thác dữ liệu tin sinh học, Lai và ctv (2021) đã ưu tiên tổng cộng 83 gen chịu ngập từ 36.705 gen thử nghiệm theo các điểm giới hạn thích hợp. Những gen này có thể đóng vai trò là nguồn tài nguyên quý giá cho việc khám phá gen chống chịu ngập úng trong tương lai. Dựa trên những báo cáo trước đây, có vẻ như khả năng chịu ngập là một đặc điểm phức tạp. Cho đến nay, không có QTL chính nào được xác định về khả năng chịu ngập và các QTL được xác định không nhất quán giữa các môi trường.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá thiệt hại trên lá và tỷ lệ sống sót (SR) của 146 RIL trong điều kiện ngập lụt trong ba năm. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định các QTL điều hòa khả năng chịu ngập ở đậu tương và hỗ trợ các nhà chọn giống phát triển các giống đậu tương có khả năng chịu ngập bằng chọn lọc có hỗ trợ chỉ thị.

## **2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP**

### **2.1 Vật liệu cây trồng và phát triển quần thể**

Quần thể lập bản đồ được phát triển từ tổ hợp lai Benning × PI 416937 và nâng cao thông qua phương pháp nhân giống một hạt (SSD) để tạo ra 146 RIL có nguồn gốc từ F5. PI 416937 là một bổ sung trong Bộ sưu tập mầm đậu tương của USDA từ Nhật Bản

với kiểu hình khác biệt với tổ tiên của các giống đậu tương Bắc Mỹ (*Glycine max* [L.] Merr.). Benning là một giống cây trồng thành thuộc nhóm VII được phát triển tại Đại học Georgia (Boerma và ctv, 1997). Quần thể này được chọn để tạo kiểu hình ngập úng vì các nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra rằng Benning tương đối chịu được ngập úng, trong khi PI 416937 nhạy cảm với ngập úng ở giai đoạn tăng trưởng R1 được xác định bởi Fehr và Caviness (1977).

## 2.2 Đánh giá khả năng chịu úng trên đồng ruộng

146 RIL cùng với cả bố và mẹ Benning và PI 416937 đã được trồng trong các năm 2012, 2014 và 2015 ở Stuttgart, AR, để tạo ra kiểu hình chống chịu ngập úng. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối đầy đủ ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại mỗi năm. Ô bao gồm một hàng với chiều dài hàng 3 m và khoảng cách hàng 75cm. Các ô được gieo với mật độ khoảng 33 hạt/m.

Xử lý ngập úng được áp dụng từ giai đoạn tăng trưởng V5 đến R1 trong chín ngày với 10–16cm nước trên bề mặt đất theo phương pháp được mô tả bởi Wu, Zeng, Chen, Florez-Palacios và ctv (2017). RIL và bố mẹ của chúng được đánh giá về khả năng chịu ngập úng bằng cách sử dụng phương pháp xác định trực quan về sức khỏe cây trồng và SR trên đồng ruộng. Sau khi các điều kiện ngập úng lắng xuống, xếp hạng khả năng chịu đựng của cây trồng được ghi lại ba lần (một lần mỗi ngày trong ba ngày). Thiệt hại trên lá cây được đánh giá theo thang điểm từ 1 đến 9, trong đó 1 = 0–10%, 2 = 11–20%, 3 = 21–30%, 4 = 31–40%, 5 = 41–50%, 6 = 51–60%, 7 = 61–70%, 8 = 71–85% và 9 = 86–100%. Xếp hạng trung bình trong ba ngày đánh giá được sử dụng làm FTS cho mỗi dòng. Ngoài ra, số lượng cây trồng ban đầu được đếm trước khi xử lý ngập úng và sau đó đếm số lượng cây trồng sống sót sau đó. SR được tính bằng tỷ lệ số cây sống sót so với số cây ban đầu trong ô đó.

## 2.3 Lập bản đồ liên kết và phân tích QTL

DNA bộ gen của bố mẹ và 146 RIL có nguồn gốc từ F5 được chiết xuất bằng phương pháp CTAB chuẩn (Murray & Thompson, 1980) với những sửa đổi nhỏ. Kiểu gen SNP được thực hiện bằng cách sử dụng nền tảng Illumina với SoySNP6K BeadChips tại Phòng thí nghiệm cải tiến và bộ gen đậu tương, USDA-ARS, Beltsville, MD. Các alen SNP được gọi bằng cách sử dụng Mô-đun kiểu gen GenomeStudio (Illumina, Inc., San Diego, CA). Các marker SNP cũng được kiểm tra trực quan và sửa lỗi gọi sai, nên theta và đọc kém trước khi phân tích. Tổng cộng có 2.028 trong số 6.000 SNP là đa hình trong quần thể RIL.

Bản đồ liên kết được xây dựng với JoinMap 4.0 (Van Ooijen, 2006). Các marker đã được sắp xếp bằng công cụ 'tần số kiểu gen locus' để phân biệt độ méo và giá trị chi bình phương. Các SNP có giá trị chi bình phương đáng kể trên 40,0 và hơn 20% giá trị bị thiếu đã bị xóa. Bốn mươi sáu SNP đã bị loại khỏi các phân tích sử dụng các tiêu chí này. Dị hợp tử được xác định bằng công cụ 'tần số kiểu gen cá nhân' trong JoinMap 4.0. Mười sáu dòng đã bị loại khỏi 146 dòng ban đầu bằng cách sử dụng ngưỡng > 20% SNP dị hợp tử.

Phân tích QTL được thực hiện bằng phương pháp CIM trong Windows QTL Cartographer v.2.5 (Wang và ctv, 2012). Logarit của ngưỡng chênh lệch (LOD) cho mỗi tính trạng được tính bằng cách sử dụng 1.000 hoán vị tương ứng với mức ý nghĩa toàn bộ bộ gen là 0,05. Vị trí vật lý của các QTL giả định trong tổ hợp trình tự bộ gen đậu tương *Wm82.a1* đã được chuyển đổi thành các vị trí vật lý trong tổ hợp *Wm82.a2* (Song và ctv,

2016) để so sánh với các QTL được báo cáo. Các QTL được báo cáo về các tính trạng liên quan đến khả năng chịu ngập được lấy từ SoyBase hoặc các ấn phẩm. Các vị trí vật lý gần đúng (*Wm82.a2*) của các marker SSR liên quan cho các QTL được báo cáo đã được sử dụng để so sánh.

## 2.4 Phân tích thống kê

Phân tích phương sai (ANOVA) được thực hiện với quy trình GLM của phần mềm SAS 9.4 (SAS Institute Inc., 2013, Cary, NC). Hệ số di truyền theo nghĩa rộng đối với quần thể RIL được ước tính dựa trên kết quả ANOVA và bình phương trung bình dự kiến (EMS) sử dụng phương trình dưới đây (Fehr, 1987):

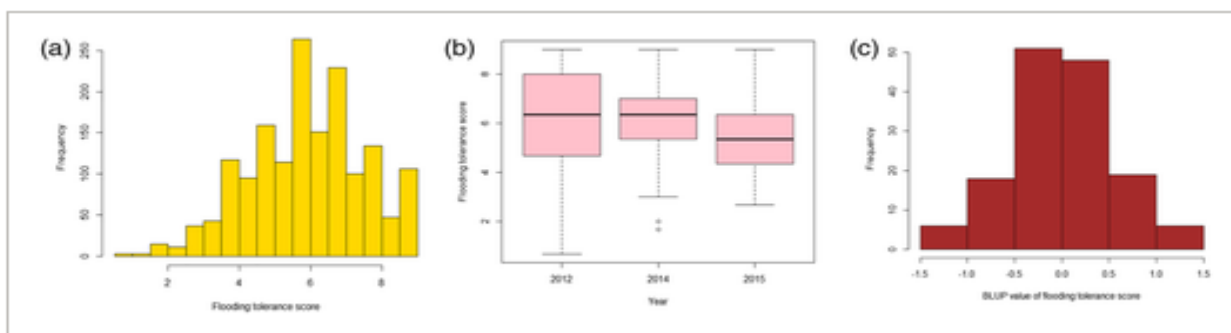
$$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \frac{\sigma_{ge}^2}{e} + \frac{\sigma_e^2}{re}}$$

trong đó  $H^2$  đại diện cho khả năng di truyền theo nghĩa rộng,  $\sigma_g^2$  là phương sai di truyền,  $\sigma_{ge}^2$  là phương sai đối với tương tác giữa kiểu gen  $\times$  môi trường,  $\sigma_e^2$  là lỗi thử nghiệm (du),  $r$  là số lần lặp lại và  $e$  là số lượng môi trường. Biểu đồ phân phối giá trị trung bình của cha mẹ và RIL được tạo ra trong R (Nhóm R Core, 2018) và các giá trị dự đoán không thiên lệch tuyến tính (BLUP) tốt nhất cho RIL được ước tính bằng JMP Pro 14.1.0 (SAS Institute Inc., 1989–2020, Cary, NC). Mô hình được xây dựng bằng cách xử lý kiểu gen, môi trường, tương tác kiểu gen  $\times$  môi trường và sao chép trong môi trường dưới dạng các biến ngẫu nhiên bằng cách sử dụng tính cách bình phương nhỏ nhất tiêu chuẩn và phương pháp REML. Việc sử dụng các giá trị BLUP cho từng kiểu gen trong các môi trường đã giúp giải thích cho sự thay đổi do các yếu tố môi trường gây ra và các giá trị BLUP này sau đó được sử dụng làm giá trị kiểu hình cho các phân tích QTL tiếp theo.

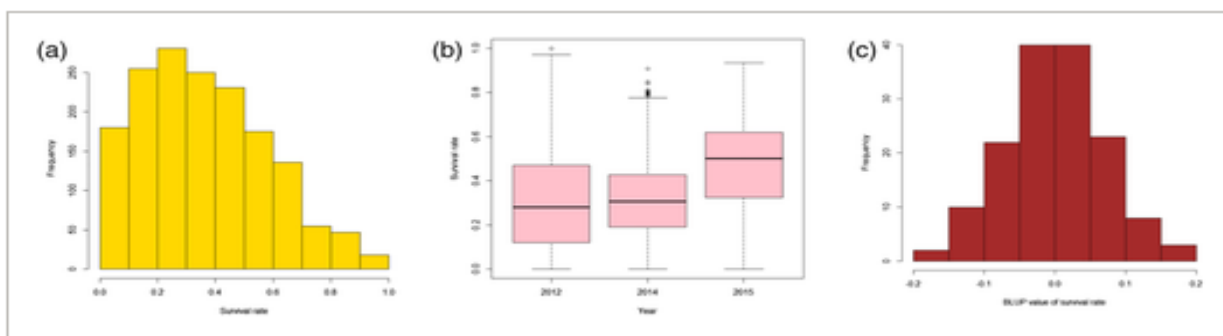
## 3. KẾT QUẢ

### 3.1 Biến dị di truyền của các kiểu hình chịu ngập úng

Trong vòng 3 năm, 146 kiểu gen đậu tương và hai dòng bố mẹ đã được đánh giá bằng cách xử lý ngập nước trên đồng ruộng. Các bản phân phối của FTS và SR lần lượt được hiển thị trong Hình 1a và 2a, phù hợp với các bản phân phối bình thường. Một số ngoại lệ đã được quan sát đối với FTS vào năm 2014 (Hình 1b) và đối với SR vào năm 2012 và 2014 (Hình 2b). Các giá trị BLUP cho cả FTS và SR cũng cho thấy các phân phối bình thường (Hình 1c và 2c) và có mối tương quan đáng kể với các giá trị RIL trung bình bình phương nhỏ nhất ( $P < 0,01$ ).



**Hình 1.** Phân bố điểm chịu ngập của quần thể RIL. (a) Sự phân bố kiểu hình của điểm số chịu ngập giữa các RIL; (b) biểu đồ hộp về khả năng chịu ngập năm 2012, 2014 và 2015; và (c) sự phân bố kiểu hình của điểm số chịu ngập dựa trên BLUP có giá trị trong ba năm.



**Hình 2.** Phân bố tỷ lệ sống sót của quần thể RIL. ( a ) Sự phân bố kiểu hình của tỷ lệ sống giữa các RIL; (b) biểu đồ tỷ lệ sống vào năm 2012, 2014 và 2015; và (c) phân phối kiểu hình của tỷ lệ sống sót dựa trên BLUP có giá trị trong ba năm.

Các phản ứng khác nhau giữa các RIL đối với căng thẳng ngập úng đã được quan sát thấy trong hơn ba năm. Dưới áp lực ngập úng, một sự khác biệt lớn đã được quan sát giữa các RIL đối với cả tính trạng FTS và SR. Các giá trị của FTS nằm trong khoảng từ 0,7–9,0 với giá trị trung bình là 6,0 và SR nằm trong khoảng từ 0–1 với giá trị trung bình là 0,4 khi xử lý ngập lụt. Benning có giá trị trung bình là 4,2 đối với FTS và 0,6 đối với SR trong đánh giá thực địa. Ngược lại, PI 416937 có giá trị trung bình là 6,5 đối với FTS và 0,3 đối với SR trong ba năm, khác biệt đáng kể so với Benning ( $P < 0,01$ ). Nhìn chung, mối tương quan nghịch giữa hai đặc điểm này rất có ý nghĩa trong mỗi ba năm ( $r = -0,91$ ) và trong ba năm ( $r = -0,90$ ) ( $P < .001$ ) như mong đợi. Cả hai tính trạng FTS và SR đều có hệ số di truyền theo nghĩa rộng từ trung bình đến cao ( $H^2 = 0,57-0,74$ ) trong 3 năm.

ANOVA cho cả FTS và SR chỉ ra rằng ảnh hưởng của kiểu gen và môi trường là đáng kể ( $P < 0,0001$ ); sự tương tác của kiểu gen  $\times$  môi trường cũng rất quan trọng ( $P < 0,0001$ , Bảng 1), cho thấy môi trường tác động đáng kể đến phản ứng của các kiểu gen đối với căng thẳng ngập úng.

**Bảng 1.** Phân tích phương sai của điểm số chịu ngập (FTS) và tỷ lệ sống sót (SR) đối với các dòng tái tổ hợp và bố mẹ trong điều kiện ngập úng

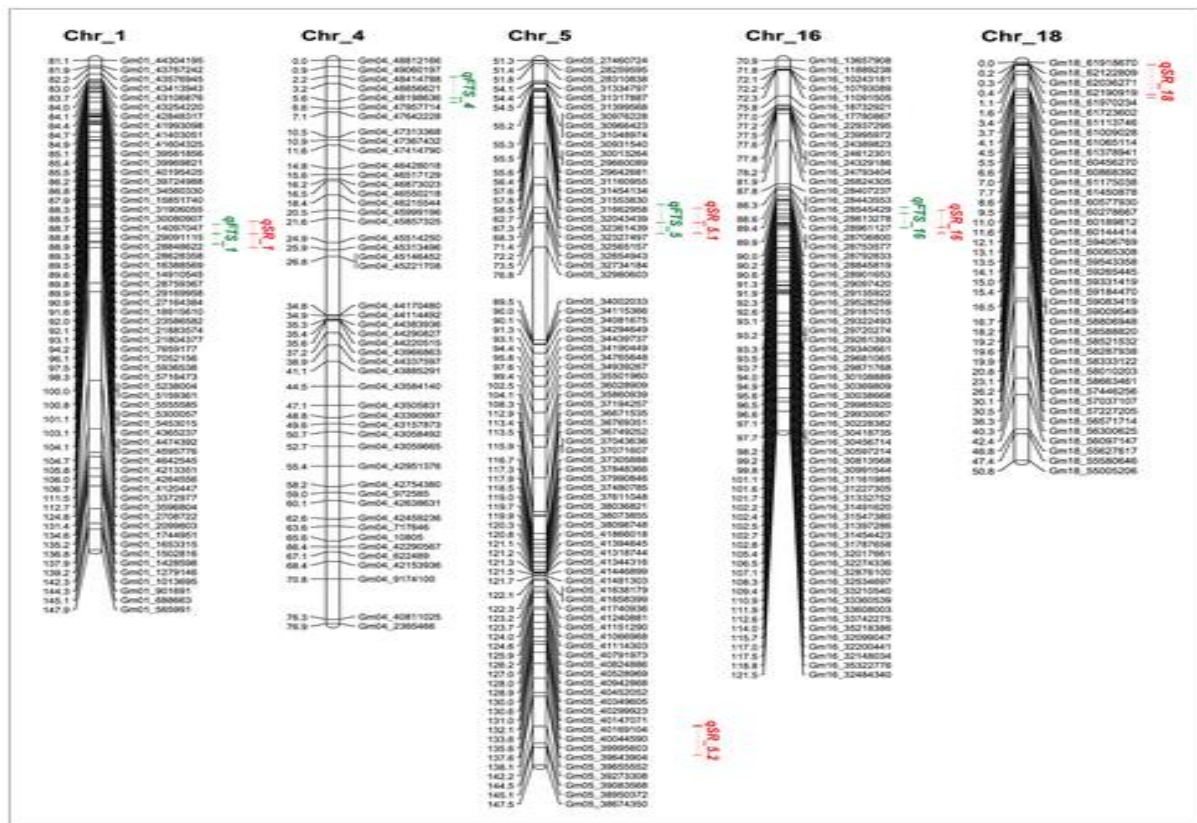
Tính trạng	Nguồn	DF	MS	F value	P value
FTS	Replicate	3	3,9	2,4	0,07
	Genotype (G)	147	8,0	4,9	$< 0,0001$
	Environment (E)	2	74,0	45,5	$< 0,0001$
	G x E	294	3,1	1,9	$< 0,0001$
SR	Replicate	3	0,1	2,3	0,07
	Genotype (G)	147	0,1	4,2	$< 0,0001$
	Environment (E)	2	3,5	112,8	$< 0,0001$
	G x E	294	0,1	1,6	$< 0,0001$

Ghi chú: DF: bậc tự do; MS: bình phương.

### 3.2 Lập bản đồ liên kết và phân tích QTL cho khả năng chịu ngập

Sử dụng dữ liệu kiểu gen SNP, 20 nhóm liên kết đã được xây dựng, tương ứng với 20 nhiễm sắc thể đậu tương (Song và ctv, 2016), trải dài 3061cM với khoảng marker trung bình là 1,5cM. Hầu hết tất cả các vị trí bin trong bộ gen đậu tương đều được thể hiện trong bản đồ liên kết (Song và ctv, 2016).

Giá trị BLUP được ước tính từ dữ liệu kiểu hình trong 3 năm và sau đó được sử dụng để phân tích QTL cho cả tính trạng FTS và SR. Việc sử dụng các giá trị BLUP trên các môi trường đã giúp tính đến sự thay đổi do môi trường gây ra. Sử dụng các BLUP được tính toán trong vòng 3 năm, CIM đã xác định được bốn QTL cho FTS nằm ở các Chrs 1, 4, 5 và 16, với 8,2–10,6% biến thể kiểu hình được giải thích bởi mỗi QTL này (Hình 3).



**Hình 3.** Các QTL được xác định bằng cách sử dụng phân tích BLUP trong quần thể RIL có nguồn gốc từ Benning × PI 416937 cho điểm số chịu ngập và tỷ lệ sống sót. Chỉ các phân đoạn của các nhóm liên kết chứa các QTL được hiển thị trong biểu đồ. Màu xanh lục = QTL cho điểm chịu ngập (FTS); màu đỏ = QTL cho tỷ lệ sống sót (SRs).

Trong số bốn QTL này đối với FTS, ba QTL ( $qFTS_1$ ,  $qFTS_4$  và  $qFTS_5$ ), nằm trên Chrs 1, 4 và 5, có hiệu ứng di truyền cộng gộp tiêu cực, cho thấy các alen thuận lợi đến từ Benning, trong khi QTL thứ tư ( $qFTS_{16}$ ), nằm trên Chr. 16, được thừa hưởng các alen thuận lợi từ PI 416937 (Bảng 2).

Năm QTL đã được phát hiện vào Chrs 1, 5, 16 và 18 cho tính trạng SR bằng cách sử dụng BLUP, chiếm 6,9 – 11% biến thể kiểu hình (Hình 3). Trong số năm QTL này cho SR, ba QTL ( $qSR_1$ ,  $qSR_{5.1}$  và  $qSR_{5.2}$ ) lần lượt nằm trên Chrs 1 và 5, và có hiệu ứng di truyền bổ sung tích cực, cho thấy rằng các alen thuận lợi là từ Benning, trong khi alen thứ tư và các QTL thứ năm ( $qFTS_{16}$  và  $qFTS_{18}$ ), lần lượt nằm trên Chrs 16 và 18, thừa hưởng các alen thuận lợi từ PI 416937 (Bảng 2). Bằng cách so sánh, ba SR QTL ( $qSR_1$ ,  $qSR_{5.1}$  và  $qSR_{16}$ ) được phát hiện với BLUP giống hệt hoặc tương tự với các QTL của FTS ( $qFTS_{q1}$ ,  $qFTS_5$  và  $qFTS_{16}$ ). Trong số ba QTL phổ biến này cho cả FTS và SR, hai QTL ( $qSR_1$  và  $qSR_5$  cho SR và  $qFTS_{q1}$  và  $qFTS_5$  cho FTS) có các alen thuận lợi từ Benning. Mỗi QTL này giải thích 7,6–11,7% biến thể kiểu hình.

**Bảng 2.** Các QTL được phát hiện cho điểm số chịu ngập (FTS) và tỷ lệ sống sót (SR) trong quần thể dòng lai tái tổ hợp có nguồn gốc từ Benning × PI 416937

Tính trạng	Tên QTL (a)	Nhiễm sắc thể	Marker liên kết chặt chẽ (b)	Vị trí vật lý (c)	Vị trí di truyền (d)	LOD	R <sup>2</sup> (%)	Hiệu ứng phụ	Nguồn alen thuận lợi
FTS	qFTS_1	1	Gm01_4642545_A_G	4.664.561	104,8	4,6	10,6	-0,22	Benning
	qFTS_4	4	Gm04_48198636_G_A	51.330.095	5,2	3,9	9,2	-0,21	Benning
	qFTS_5	5	Gm05_32734184_G_A	33.001.491	73,5	3,9	9,1	-0,20	Benning
	qFTS_16	16	Gm16_29135922_C_T	29.502.854	91,8	3,5	8,2	0,20	PI 416937
SR	qSR_1	1	Gm01_4642545_A_G	4.664.561	104,8	3,6	8,2	0,02	Benning
	qSR_5.1	5	Gm05_32734184_G_A	33.001.491	73,5	4,6	11,0	0,03	Benning
	qSR_5.2	5	Gm05_39273308_T_G	41.075.707	142,2	3,4	6,9	0,02	Benning
	qSR_16	16	Gm16_29871768_C_T	30.209.315	93,7	3,2	7,6	-0,02	PI 416937
	qSR_18	18	Gm18_61065114_G_A	56.766.936	4,1	3,4	7,8	-0,02	PI 416937

Ghi chú: LOD: logarit của ngưỡng chênh lệch.

(a) Tên của các QTL được xác định.

(b) ID marker SNP trong Glyma1.01.

(c) Các vị trí vật lý dựa trên Glyma.Wm82.a2.v1.

(d) Khoảng cách từ đỉnh của mỗi nhóm liên kết.

#### 4. THẢO LUẬN

Đậu tương nhạy cảm với căng thẳng ngập úng. Có thể chia quá trình sinh trưởng và phát triển của cây đậu tương thành 2 thời kỳ: thời kỳ sinh dưỡng và thời kỳ sinh sản. Giai đoạn sinh sản sớm thường nhạy cảm hơn với ngập úng so với giai đoạn sinh dưỡng (Wu, Zeng, Chen, Florez-Palacios và ctv, 2017). Các kết quả trước đây đã chỉ ra rằng R3 là giai đoạn nhạy cảm nhất với áp lực ngập úng với năng suất giảm 93% và giai đoạn R1 và R5 là giai đoạn nhạy cảm thứ hai, với năng suất giảm 67% khi ngập úng xảy ra ở cả hai giai đoạn (Linkemer và ctv, 1998). Một nghiên cứu gần đây của Wu, Zeng, Chen, Florez-Palacios và ctv (2017) chỉ ra rằng giai đoạn tăng trưởng R1 nhạy cảm hơn với ngập úng so với giai đoạn tăng trưởng V5. Do đó, thời gian ngâm nước tối ưu cho khả năng chịu ngập của kiểu hình là chín ngày ở giai đoạn V5 và sáu ngày ở giai đoạn R1 (Wu, Zeng, Chen, Florez-Palacios và ctv, 2017). Do sự khác biệt về thời gian đáo hạn giữa các RIL này, nên có thể có những khác biệt nhỏ trong thời kỳ tăng trưởng của chúng. Do đó, thật hợp lý khi chúng tôi chọn các giai đoạn tăng trưởng từ V5 đến R1 để gây áp lực ngập úng trong quá trình thí nghiệm.

Các biến thể di truyền đáng kể giữa các RIL và giữa bố và mẹ đã được quan sát thấy trong nghiên cứu này và trong các nghiên cứu trước đó (VanToai và ctv, 1994; Wu, Zeng, Chen, Florez-Palacios và ctv, 2017). Điều này về cơ bản là quan trọng để tạo giống chịu úng trong các chương trình chọn giống. Mặc dù các hệ số tương quan giữa các năm là đáng kể, nhưng tương đối thấp, cho thấy môi trường và kiểu gen do tương tác môi trường đóng vai trò quan trọng đối với cả FTS và SR như được chỉ ra bởi ANOVA (Bảng 1). Trong mỗi ba năm, các môi trường quan trọng đáng kể đối với FTS và SR đã được quan sát như mong đợi ( $P < 0,001$ , Bảng 2). Mỗi tương quan có ý nghĩa mạnh mẽ giữa FTS và SR và các QTL phổ biến được xác định cho cả hai tính trạng gợi ý kiểu hình nhất quán cho khả năng chịu ngập trong một năm nhất định và một trong hai phương pháp có thể được sử dụng để đánh giá khả năng chịu ngập trên đồng ruộng.



Việc tích hợp hiệu quả các alen chịu ngập trong các chương trình chọn giống đòi hỏi các QTL ổn định qua các năm và các địa điểm (Nguyen và ctv, 2017). Trong nghiên cứu này, hệ số di truyền của FTS và SR là cao. Tuy nhiên, tất cả các QTL được xác định đều có tác dụng tương đối nhỏ. Điều này cho thấy khả năng chịu ngập là một tính trạng định lượng được kiểm soát bởi nhiều QTL và bị ảnh hưởng đáng kể bởi môi trường và tương tác kiểu gen  $\times$  môi trường. Với tác động của các QTL tương đối nhỏ (7–15%), có thể khó sử dụng các marker để lựa chọn các QTL này có sự hỗ trợ của marker. Lựa chọn bộ gen đã được chứng minh là có thể thu được các hiệu ứng marker từ nhỏ đến trung bình (Meuwissen và ctv, 2001; Stewart-Brown và ctv, 2019; Whittaker và ctv, 2000). Bao gồm cả việc chọn lọc khả năng chịu ngập trong các mô hình chọn lọc gen cho năng suất có thể là một chiến lược tốt để tạo giống chịu ngập trong một chương trình chọn giống.

27 QTL chịu ngập ứng từ 15 nhóm liên kết đã được báo cáo trên SoyBase (<http://www.soybase.org>) (Grant và ctv, 2010). Các QTL được lập bản đồ trong nghiên cứu này cho cả hai tính trạng FTS và SR được đặt trên các Chrs 1, 4, 5, 16 và 18 dựa trên các giá trị BLUP trong ba năm (Bảng 2). Theo vị trí vật lý của các QTL này và các QTL được báo cáo từ các nghiên cứu trước đó, 5 vùng gen liên quan đến 7 QTL cho cả FTS và SR trùng lặp với các vùng được báo cáo trong các nghiên cứu trước đó (Cornelious và ctv, 2005; Githiri và ctv, 2006; Rizal & Karki, 2011; Sayama và ctv, 2009; VanToai và ctv, 2001; Wu và ctv, 2020) (Bảng 3).

Có thể lưu ý rằng một QTL được báo cáo từ nghiên cứu này, nằm trên Chr 4 (*qFTS\_4*), trùng lặp với các vùng gen (Khả năng chịu ngập ứng 4-8 và 7-3) được báo cáo trong hai nghiên cứu độc lập của Githiri và ctv (2006) và Sayama và ctv (2009). Vùng gen này trên Chr 4 được chỉ định bởi *qFTS\_4* có các alen thuận lợi từ Benning. Khả năng chịu ngập 4-8 được báo cáo là có ảnh hưởng đến số ngày ra hoa và có thể tạo điều kiện cho sự phục hồi sau áp lực ngập úng (Githiri và ctv, 2006). Khả năng chịu ngập 7-3 ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm của hạt sau khi ngâm hạt trong nước 24 h (Sayama và ctv, 2009). Sáu vùng gen được báo cáo trong nghiên cứu này trùng lặp với vùng gen được báo cáo bởi năm nghiên cứu trước đó (Cornelious và ctv, 2005; Githiri và ctv, 2006; Rizal & Karki, 2011; Sayama và ctv, 2009; VanToai và ctv, 2001). Điều này cho thấy rằng các QTL này có thể có vai trò trong việc chống chịu ngập úng mặc dù tác động của chúng tương đối nhỏ. Một nghiên cứu tiếp theo là cần thiết để xác nhận thêm các QTL này.

Dựa trên vị trí di truyền của các marker SNP, trong ba QTL phổ biến cho cả tính trạng FTS và SR, hai QTL (*qSR\_1* và *qSR\_5* cho SR và *qFTS\_q1* và *qFTS\_5.1* cho FTS) có các alen thuận lợi từ Benning (Bảng 2). Mặc dù tương tác quan trọng giữa kiểu gen  $\times$  môi trường đã được quan sát, những QTL này có thể đóng một vai trò quan trọng trong khả năng chống chịu ngập úng. Các QTL trên nhiều môi trường với hiệu ứng nhỏ cũng đã được báo cáo bởi các nghiên cứu trước đây (Cornelious và ctv, 2005; Githiri và ctv, 2006; Rizal & Karki, 2011; Sayama và ctv, 2009; VanToai và ctv, 2001). Kết quả của chúng tôi đồng ý với những nghiên cứu trước đây. Một QTL hiệu ứng lớn, ft1 ( $R^2 = 30,5 - 49,0\%$ ) đã được báo cáo bởi Githiri và ctv (2006). Tuy nhiên, nó được lập bản đồ trong một quần thể rất nhỏ bao gồm 60 RIL và kết quả có thể cần được xác nhận với một quần thể lớn hơn.

**Bảng 3.** So sánh các QTL được xác định trong nghiên cứu này với các QTL được báo cáo trước đó

Tên QTL	Nhiệm sắc thể	Markers liên kế SNP (a)	Khoảng QTL (b)	QTL từ SoyBase/ publicatons	SSR liên kết	Vị trí vật lý <sup>(b)</sup>	LOD	Tham khảo	Tính trạng kiểu hình
qFTS_1	1	Gm01_4120447_C_T - Gm01_4365237_T_C	4.142.416 - 4.387.206	Kháng ngập 6-1	Satt184	1.473.591	2,3	Rizal và Karki (2011)	Hạt nảy mầm (alcohol dehydrogenase)
qSR1 qFTS_4	4	Gm04_47957714_A_C - Gm04_48414788_T_C	51.089.231 - 51.546.265	Kháng ngập 7-3	Satt338	50.092.364	2,4	Sayama và ctv (2009)	Hạt kháng ngập (tỷ lệ nảy mầm)
				Kháng ngập 7-3	Satt180	50.430.436	2,2	Sayama và ctv (2009)	Hạt kháng ngập (tỷ lệ nảy mầm bình thường)
				Kháng ngập 4-8	Satt164	50.808.584	2,2	Githiri và ctv (2006)	Chín trong điều kiện ngập
qFTS_q5	5	Gm0532327497_T_C - Gm05_32980603_A_G	32.594.828 - 33.248.314	Kháng ngập 3-1	Satt385	35.536.817	2,5	Cornelious và ctv (2005)	Kháng ngập
qSR_q5.1									
qFTS_16	16	Gm16_28901653_G_A - Gm16_29720274_A_G	29.464.485 - 30.476.393	-	Sat_396	34.028.234	-	Cornelious và ctv (2005)	Kháng ngập
qSR_16									
qSR_18	18	Gm18_61378941_A_G - Gm18_62036271_A_G	57.080.773 - 57.745.955	Kháng ngập 1-1	Sat_064	56.333.703	3,2	VanToai và ctv (2001)	Năng suất cao trong điều kiện ngập

Ghi chú: LOD: logarit của ngưỡng chênh lệch.

a: ID đánh dấu SNP trong Glyma1.01.

b: Vị trí vật lý của marker SNP dựa trên Glyma.Wm82.a2.v1.

PI 416937, một trong những giống bố mẹ của quần thể RIL trong nghiên cứu này, là giống đậu tương trưởng thành nhóm V từ Kanagawa, Nhật Bản, và có mặt trong phả hệ của nhiều giống cây trồng ở Đông Nam Mỹ (Stewart-Brown và ctv, 2020). Sự gia nhập được báo cáo là có nhiều đặc điểm độc đáo, bao gồm khả năng kháng nhôm (Villagarcia và ctv, 2001), các đặc điểm liên quan đến hạn hán được kiểm soát về mặt sinh lý (Sloane và ctv, 1990), rễ xơ phát triển (Abdel-Haleem và ctv, 2011; Pantalone và ctv, 1996) và héo tán chậm (King và ctv, 2009). Nghiên cứu mở rộng đã được thực hiện để mô tả cơ sở di truyền của tính trạng héo chậm ở PI 416937; bảy QTL đã được lập bản đồ cho đặc điểm làm héo tán cây (Abdel-Haleem và ctv, 2012), và những thay đổi phiên mã qua trung gian của năm gen trong các QTL này đã được xác định (Shin và ctv, 2015).

Dựa trên kết quả từ nghiên cứu này, PI 416937 tương đối nhạy cảm với căng thẳng ngập úng, cho thấy khả năng chống chịu hạn hán và ngập úng có thể có các cơ chế sinh lý và kiểm soát di truyền khác nhau. Các đặc tính chống chịu hạn hán và nhạy cảm với căng thẳng do ngập úng của giống mới này có thể rất quan trọng để hiểu được cơ sở sinh học và di truyền của căng thẳng phi sinh học, từ đó có thể góp phần tạo ra các giống đậu tương có khả năng chống lại căng thẳng phi sinh học cao hơn.

Bố mẹ chịu ngập Benning là một dòng ưu tú thích nghi với Đông Nam Mỹ. Điều này cho thấy rằng một số biến thể di truyền về khả năng chịu ngập có thể đã có sẵn trong nguồn gen ở Bắc Mỹ và sẽ dễ dàng nhân giống hơn so với các nguồn bổ sung không được điều chỉnh. Phương pháp áp đặt căng thẳng ngập úng nhân tạo của chúng tôi sẽ hữu ích để sàng lọc vật liệu nhân giống khi các thử nghiệm đa địa điểm ở các khu vực dễ bị ngập úng là không khả thi. Ngoài ra, sử dụng SR như một chỉ số về khả năng chịu ngập úng trong các chương trình nhân giống giúp dễ dàng định lượng khả năng chịu ngập úng.

## 5. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chín QTL quan trọng đã được phát hiện trên năm nhiễm sắc thể đối với FTS và SR trong ba năm. Bằng cách so sánh, ba QTL đã được phát hiện cho cả FTS và SR, giải thích 7,6–11,0% biến thể kiểu hình tương ứng. Trong ba QTL phổ biến này, hai QTL ( $qSR_1$  và  $qSR_5$  cho SR và  $qFTS_{q1}$  và  $qFTS_{5.1}$  cho FTS) có alen thuận lợi từ Benning, trong khi một QTL chung ( $qFTS_{16}$  cho FTS và  $qSR_{16}$  cho SR) có alen thuận lợi từ PI 416937. Nó có thể kết luận rằng khả năng chịu ngập là một tính trạng phức tạp bị ảnh hưởng bởi sự tương tác giữa kiểu gen, môi trường và kiểu gen  $\times$  môi trường. Do những tác động nhỏ của QTL, việc nhân giống để chống chịu ngập úng có thể yêu cầu một cách tiếp cận tích hợp dự đoán bộ gen và sàng lọc thực địa.

## 6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdel-Haleem, H., Carter, T. E., Purcell, L. C., King, C. A., Ries, L. L., Chen, P., Schapaugh, W., Sinclair, T. R., & Boerma, H. R. (2012). Mapping of quantitative trait loci for canopy-wilting trait in soybean (*Glycine max* L. Merr). *Theoretical and Applied Genetics*, **125**, 837–846. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1876-9>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Abdel-Haleem, H., Lee, G. J., & Boerma, R. H. (2011). Identification of QTL for increased fibrous roots in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, **122**(5), 935–946. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1500-9>
  - [View](#)
  - [PubMedWeb of Science®Google Scholar](#)

- Ahmed, F., Rafii, M., Ismail, M. R., Juraimi, A. S., Rahim, H. A., Asfaliza, R., & Latif, M. A. (2013). Waterlogging tolerance of crops: Breeding, mechanism of tolerance, molecular approaches, and future prospects. *BioMed Research International*, **2013**, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/963525>
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Armstrong, W., & Drew, M. C. (2002). Root growth and metabolism under oxygen deficiency. In W. Yoav, E. Amram, & K. Uzi (Eds.), *Plant root: The hidden half* (3rd ed., pp. 729–761). Marcel Dekker Inc.
  - [Google Scholar](#)
- Bacanamwo, M., & Purcell, L. C. (1999). Soybean dry matter and N accumulation responses to flooding stress, N sources and hypoxia. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 689–696.
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Boerma, H. R., Hussey, R. S., Phillips, D. V., Wood, E. D., Rowan, G. B., & Finnerty, S. L. (1997). Registration of 'Benning' soybean. *Crop Science*, **37**, 1982.
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Borella, J., Oliveira, H. C., de Oliveira, D. S. C., Braga, E. J. B., de Oliveira, A. C. B., Sodek, L., & do Amarante, L. (2017). Hypoxia-driven changes in glycolytic and tricarboxylic acid cycle metabolites of two nodulated soybean genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, **133**, 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.10.007>
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Cho, J. W., & Yamakawa, T. (2006). Effects on growth and seed yield of small soybean cultivars of flooding conditions in paddy field. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, **51**, 189–193.
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Cornelious, B., Chen, P., Chen, Y., de Leon, N., Shannon, J. G., & Wang, D. (2005). Identification of QTLs underlying water-logging tolerance in soybean. *Molecular Breeding*, **16**, 103–112. <https://doi.org/10.1007/s11032-005-5911-2>
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Fehr, W. R. (1987). *Principles of cultivar development*. Macmillian.
  - [CASGoogle Scholar](#)
- Fehr, W. R. & Caviness, C. E. (1977) Stages of soybean development. Special Report 87. <http://lib.dr.iastate.edu/specialreports/87>
  - [Google Scholar](#)
- Githiri, S. M., Watanabe, S., Harada, K., & Takahashi, R. (2006). QTL analysis of flooding tolerance in soybean at an early vegetative growth stage. *Plant Breeding*, **125**, 613–618.
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Grant, D., Nelson, R. T., Cannon, S. B., & Shoemaker, R. C. (2010). SoyBase, the USDA-ARS soybean genetics and genomics database. *Nucleic Acids Research*, **38**, D843–D846. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01291.x>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Henshaw, T. L., Gilbert, R. A., Scholberg, J. M. S., & Sinclair, T. R. (2007). Soya bean (*Glycine max* L. Merr.) genotype response to early-season flooding: I. Root and nodule development. *Journal of Agronomy and Crop Science*, **193**, 177–188. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2007.00257.x>
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Hossain, M. A., & Uddin, S. N. (2011). Mechanism of waterlogging tolerance in wheat: Morphological and metabolic adaptations under hypoxia or anoxia. *Australian Journal of Crop Science*, **5**, 1094–1101.
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Hou, F. F., & Thseng, F. S. (1991). Studies on the flooding tolerance of soybean seed: Varietal differences. *Euphytica*, **57**, 169–173.

- [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Kim, Y. H., Hwang, S. J., Wagas, M., Khan, A. L., Lee, J. H., Lee, J. D., Nguyen, H. T., & Lee, I. J. (2015). Comparative analysis of endogenous hormones level in two soybean (*Glycine max* L.) lines differing in waterlogging tolerance. *Frontiers in Plant Science*, **6**, 714.
  - [View](#)
  - [PubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- King, C. A., Purcell, L. C., & Brye, K. R. (2009). Differential wilting among soybean genotypes in response to water deficit. *Crop Science*, **49**, 290– 298.
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Kokubun, M. (2013). Genetic and cultural improvement of soybean for waterlogged conditions in Asia. *Field Crops Research*, **152**, 3– 7. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.09.022>
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Lai, M. C., Lai, Z. Y., Jhan, L. H., Lai, Y. S., & Kao, C. F. (2021). Prioritization and evaluation of flooding tolerance genes in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Frontiers in Genetics*, **11**, 612131.
  - [View](#)
  - [PubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Linkemer, G., Board, J. E., & Musgrave, M. E. (1998). Waterlogging effects on growth and yield components in late-planted soybean. *Crop Science*, **38**, 1576– 1584. <https://doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183X003800060028x>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Mano, Y., & Omori, F. (2013). Flooding tolerance in interspecific introgression lines containing chromosome segments from teosinte (*Zea nicaraguensis*) in maize (*Zea mays* subsp. *mays*). *Annals of Botany*, **112**, 1125– 1139. <https://doi.org/10.1093/aob/mct160>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Mano, Y., & Omori, F. (2015). Flooding tolerance in maize (*Zea mays* subsp. *mays*) F1 hybrids containing a QTL introgressed from teosinte (*Zea nicaraguensis*). *Euphytica*, **205**, 255– 267. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1449-5>
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Meuwissen, T., Hayes, B., & Goddard, M. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, **157**, 1819– 1829.
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Murray, M. G., & Thompson, W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, **8**, 4321– 4325. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Nathanson, K., Lawn, R. J., de Jabrun, P. L. M., & Byth, D. E. (1984). Growth, nodulation and nitrogen accumulation by soybean in saturated soil culture. *Field Crops Research*, **8**, 73– 92. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(84\)90053-4](https://doi.org/10.1016/0378-4290(84)90053-4)
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Nguyen, L. V., Takahashi, R., Githiri, S. M., Rodriguez, T. O., Tsutsumi, N., Kajihara, S., Sayama, T., Ishimoto, M., Harada, K., Suematsu, K., Abiko, T., & Mochizuki, T. (2017). Mapping quantitative trait loci for root development under hypoxia conditions in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Theoretical and Applied Genetics*, **130**, 743– 755. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2847-3>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Nguyen, V. T., Vuong, T. D., VanToai, T., Lee, J. D., Wu, X., Mian, M. A. R., Dorrance, A. E., Shannon, J. G., & Nguyen, H. T. (2012). Mapping of quantitative trait loci associated with resistance to *Phytophthora sojae* and flooding tolerance in soybean. *Crop Science*, **52**, 2481– 2493. <https://doi.org/10.2135/cropsci2011.09.0466>
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)

- O'Donoghue, E., Hansen, J., & Stallings, D. (2019). *USDA agriculture predictions to 2028*. United States Department of Agriculture. <https://www.usda.gov/oce/commodity/projections/>
  - [Google Scholar](#)
- Oosterhuis, D. M., Scott, H. D., Hampton, R. E., & Wullschleger, S. D. (1990). Physiological responses of two soybean [*Glycine max* (L.) Merr] cultivars to short-term flooding. *Environmental and Experimental Botany*, **30**, 85– 92. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(90\)90012-S](https://doi.org/10.1016/0098-8472(90)90012-S)
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Pantalone, V. R., Rebetzke, G. J., Burton, J. W., & Carter, T. E. (1996). Phenotypic evaluation of root traits in soybean and applicability to plant breeding. *Crop Science*, **36**, 456– 459. <https://doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600020039x>
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- R Core Team. (2018). *R: A language and environment for statistical computing* ( 3.5.1 ed.). R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
  - [Google Scholar](#)
- Rhine, M. D., Stevens, G., Shannon, G., Wrather, A., & Sleper, D. (2010). Yield and nutritional responses to waterlogging of soybean cultivars. *Irrigation Science*, **28**, 135– 142.
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Rizal, G., & Karki, S. (2011). Alcohol dehydrogenase (ADH) activity in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) under flooding stress. *Electronic Journal of Plant Breeding*, **2**, 50– 57.
  - [Google Scholar](#)
- Rosenzweig, C., Tubiello, F. N., Goldberg, R., Mills, E., & Bloomfield, J. (2002). Increased crop damage in the U.S. from excess precipitation under climate change. *Global Environmental Change*, **12**, 197– 202. [https://doi.org/10.1016/S0959-3780\(02\)00008-0](https://doi.org/10.1016/S0959-3780(02)00008-0)
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Sallam, A., & Scott, H. D. (1987). Effects of prolonged flooding on soybeans during early vegetative growth. *Soil Science*, **144**, 61– 66.
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Sayama, T., Nakazaki, T., Ishikawa, G., Yagasaki, K., Yamada, N., Hirota, N., Hirata, K., Yoshikawa, T., Saito, H., Teraishi, M., Okumoto, Y., Tsukiyama, T., & Tanisaka, T. (2009). QTL analysis of seed-flooding tolerance in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). *Plant Science*, **176**, 514– 521. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.01.007>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Scott, H. D., DeAngulo, J., Daniels, M. B., & Wood, L. S. (1989). Flood duration effects on soybean growth and yield. *Agronomy Journal*, **81**, 631– 636. <https://doi.org/10.2134/agronj1989.00021962008100040016x>
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Shin, J. H., Vaughn, J. N., Abdel-Haleem, H., Chavarro, C., Abernathy, B., Kim, K. D., Jackson, S. A., & Li, Z. (2015). Transcriptomic changes due to water deficit define a general soybean response and accession-specific pathways for drought avoidance. *BMC Plant Biology*, **15**, 1– 13. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0422-8>
  - [View](#)
  - [PubMedWeb of Science®Google Scholar](#)
- Sloane, R. J., Patterson, R. P., & Carter, T. E. (1990). Field drought tolerance of a soybean plant introduction. *Crop Science*, **30**, 118– 123. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183x003000010027x>
  - [View](#)
  - [Web of Science®Google Scholar](#)
- Song, Q., Jenkins, J., Jia, G. F., Hyten, D. L., Pantalone, V., Jackson, S. A., Schmutz, J., & Cregan, P. B. (2016). Construction of high resolution genetic linkage maps to improve the soybean genome sequence assembly Glyma1.01. *BMC Genomics*, **17**, 33. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2344-0>
  - [View](#)
  - [PubMedWeb of Science®Google Scholar](#)

- Stewart-Brown, B. B., Song, Q., Vaughn, J. N., & Li, Z. (2019). Genomic selection for yield and seed composition traits within an applied soybean breeding program. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, **9**(7), 2253– 2265. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200917>
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science@Google Scholar](#)
- Stewart-Brown, B. B., Vaughn, J. N., Carter, T. E. Jr., & Li, Z. (2020). Characterizing the impact of an exotic soybean line on elite cultivar development. *PLoS ONE*, **15**(7), e0235434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235434>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science@Google Scholar](#)
- Thomas, A. L., Guerreiro, S. M. C., & Sodek, L. (2005). Aerenchyma formation and recovery from hypoxia of the flooded root system of nodulated soybean. *Annals of Botany*, **96**, 1191– 1198. <https://doi.org/10.1093/aob/mci272>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science@Google Scholar](#)
- Valliyodan, B., VanToai, T. T., Alves, J. D., Goulart, P. D. P., Lee, J. D., Fritschi, F. B., Rahman, M. A., Islam, R., Shannon, J. G., & Nguyen, H. T. (2014). Expression of root-related transcription factors associated with flooding tolerance of soybean (*Glycine max*). *International Journal of Molecular Sciences*, **15**, 17622– 17643. <https://doi.org/10.3390/ijms151017622>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science@Google Scholar](#)
- Valliyodan, B., Ye, H., Song, L., Murphy, M., Shannon, J. G., & Nguyen, H. T. (2017). Genetic diversity and genomic strategies for improving drought and waterlogging tolerance in soybeans. *Journal of Experimental Botany*, **68**, 1835– 1849. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw433>
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science@Google Scholar](#)
- Van Ooijen, J. W. (2006). *JoinMap 4.0, software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations*. Kyazma BV.
  - [Google Scholar](#)
- VanToai, T. T., Beuerlein, J. E., Schmitthenner, A. F., & Stmartin, S. K. (1994). Genetic variability for flooding tolerance in soybeans. *Crop Science*, **34**, 1112– 1115. <https://doi.org/10.2135/cropsci1994.0011183X003400040051x>
  - [View](#)
  - [Web of Science@Google Scholar](#)
- VanToai, T. T., Hoa, T. T. C., Nguyen, T. N. H., Nguyen, T. H., Shannon, G., & Mohammed, A. R. (2010). Flooding tolerance of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] germplasm from Southeast Asia under field and screen-house environments. *Open Agriculture Journal*, **4**, 38– 46.
  - [View](#)
  - [Google Scholar](#)
- VanToai, T. T., St Martin, S. K., Chase, K., Boru, G., Schnipke, V., Schmitthenner, A. F., & Lark, K. G. (2001). Identification of a QTL associated with tolerance of soybean to soil waterlogging. *Crop Science*, **41**, 1247– 1252. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.4141247x>
  - [View](#)
  - [Web of Science@Google Scholar](#)
- Villagarcia, M. R., Carter, T. E., Rufty, T. W., Niewoehner, A. S., Jennette, M. W., & Arrellano, C. (2001). Genotypic rankings for aluminum tolerance of soybean roots grown in hydroponics and sand culture. *Crop Science*, **41**, 1499– 1507.
  - [View](#)
  - [Web of Science@Google Scholar](#)
- Wang, S., Basten, C. J., & Zeng, Z. B. (2012). *Windows QTL Cartographer* ( 2.5 ed.). Department of Statistics, North Carolina State University.
  - [Google Scholar](#)
- Whittaker, J., Thompson, R., & Denham, M. (2000). Marker-assisted selection using ridge regression. *Genetics Research*, **75**(2), 249– 252.
  - [View](#)
  - [CASPubMedWeb of Science@Google Scholar](#)
- Wu, C., Mozzoni, L. A., Moseley, D., Hummer, W., Ye, H., Chen, P., Shannon, G., & Nguyen, H. (2020). Genome-wide association mapping of flooding tolerance in soybean. *Molecular Breeding*, **40**, 1– 14.

- [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Wu, C., Zeng, A., Chen, P., Florez-Palacios, L., Hummer, W., Moku, J., Klepadlo, M., Yan, L., Ma, Q., & Cheng, Y. (2017). An effective field screening method for flood tolerance in soybean. *Plant Breeding*, **136**, 710– 719. <https://doi.org/10.1111/pbr.12487>
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Wu, C., Zeng, A., Chen, P., Hummer, W., Moku, J., Shannon, J. G., & Nguyen, H. T. (2017). Evaluation and development of flood-tolerant soybean cultivars. *Plant Breeding*, **136**, 913– 923. <https://doi.org/10.1111/pbr.12542>
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)
- Xu, K., & Mackill, D. J. (1996). A major locus for submergence tolerance mapped on rice chromosome 9. *Molecular Breeding*, **2**, 219– 224. <https://doi.org/10.1007/BF00564199>
  - [View](#)
  - [CASWeb of Science®Google Scholar](#)