

KIỂM SOÁT DI TRUYỀN CỦA KHẢ NĂNG CHỊU HẠN TRÊN ĐẬU NÀNH DẠI (*GLYCINE SOJA*) Ở CÁC GIAI ĐOẠN SINH DƯỠNG VÀ NẢY MẦM

Thi Cuc Nguyen¹, Hai Anh Tran¹, Jeong Dong Lee¹, Hak Soo Seo²,
Hyun Jo^{1*} và Jong Tae Song^{1*}

¹ Khoa học Sinh học Ứng dụng, Đại học Quốc gia Kyungpook, Daegu, Hàn Quốc

² Khoa Nông nghiệp, Lâm nghiệp và Tài nguyên Sinh học, Đại học Quốc gia Seoul, Seoul, Hàn Quốc

TÓM TẮT

Căng thẳng do hạn hán, đang trở nên phổ biến hơn do biến đổi khí hậu, là một yếu tố phi sinh học quan trọng ảnh hưởng xấu đến sản lượng cây trồng và tính ổn định của năng suất. Đậu nành trồng (*Glycine max*), một loại cây trồng đa năng cho cả người và động vật, biểu hiện tính nhạy cảm với hạn hán, dẫn đến giảm sinh trưởng và phát triển trong điều kiện hạn hán. Tuy nhiên, một số ít nghiên cứu di truyền đã đánh giá phản ứng của đậu nành dại (*Glycine soja*) đối với căng thẳng hạn hán. Trong công trình này, chúng tôi đã tiến hành một nghiên cứu liên kết toàn bộ hệ gen (GWAS) và phân tích các mẫu đậu nành dại để xác định các locus chịu trách nhiệm cho khả năng chịu hạn ở giai đoạn sinh dưỡng (n = 187) và giai đoạn nảy mầm (n = 135) bằng cách sử dụng dữ liệu sắp xếp lại trình tự có sẵn. Phân tích GWAS về điểm héo lá (LWS) đã xác định được 8 đơn nucleotide (SNP) đa hình trên nhiễm sắc thể 10, 11 và 19. Trong số này, đậu nành dại có cả SNP trên nhiễm sắc thể 10 (adenine) và 11 (thymine) tạo ra LWS thấp hơn, cho thấy rằng các SNP này có vai trò quan trọng trong tác động di truyền lên LWS đối với khả năng chịu hạn ở giai đoạn sinh dưỡng. Ở giai đoạn nảy mầm, chín SNP liên quan đến năm phép đo kiểu hình đã được xác định trên nhiễm sắc thể 6, 9, 10, 13, 16 và 17, và các vùng bộ gen được xác định ở giai đoạn nảy mầm khác với các vùng được xác định cho LWS, hỗ trợ cho phát hiện trước đây của chúng tôi rằng có thể không có mối tương quan mạnh mẽ giữa các gen ảnh hưởng đến kiểu hình ở giai đoạn nảy mầm và giai đoạn sinh dưỡng. Nghiên cứu này sẽ có lợi cho các chương trình chọn giống hỗ trợ bằng marker nhằm tăng cường khả năng chịu hạn ở đậu nành.

Từ khóa: căng thẳng phi sinh học; căng thẳng hạn hán; đậu nành dại; giải trình tự thế hệ tiếp theo; lập bản đồ liên kết

1. GIỚI THIỆU

Đậu nành [*Glycine max* (L.) Merr.] chủ yếu được trồng làm nguồn protein cho thức ăn chăn nuôi và dầu thực vật cho con người sử dụng. Đây là một trong những cây họ đậu quan trọng nhất được trồng thương mại trên toàn thế giới [1]. Ngoài các axit amin, khoáng chất trong chế độ ăn uống, vitamin và các chất dinh dưỡng như isoflavone và tocopherol, đây là nguồn protein chất lượng cao giá rẻ (chiếm 40% khối lượng khô) và dầu ăn (chiếm 20% khối lượng khô) [2]. Người ta ước tính rằng có khoảng 12.000 loại thực phẩm bao gồm protein đậu nành và sự đa dạng của các sản phẩm từ đậu nành vẫn đang mở rộng [2,3].

Mặc dù nhiều chuyên gia đã nghiên cứu về khả năng chịu hạn, nhưng việc nghiên cứu liên tục về tình trạng căng thẳng do hạn hán vẫn là điều cần thiết vì việc tăng cường khả năng chịu hạn là mục tiêu quan trọng trong quá trình lai tạo cây trồng trong bối cảnh tình trạng nóng lên toàn cầu và biến đổi khí hậu ngày càng gia tăng. Ban đầu, tình trạng căng thẳng do hạn hán có thể làm thay đổi đáng kể các tính trạng sinh lý và giải phẫu của cây trồng [4]. Ví dụ, hạn hán đã được chứng minh là làm giảm hàm lượng nước tương đối của rễ và trọng lượng rễ tươi [5], mức độ diệp lục [6], độ dẫn khí không [7], hiệu quả

quang hợp và sinh khối [8] và làm tăng nhiệt độ tán cây [9], nhưng nhiều yếu tố khác vẫn chưa được hiểu rõ. Mặc dù có một số đóng góp nhỏ về mặt di truyền, hầu hết các gen kiểm soát tính trạng phức tạp của khả năng chịu hạn đều cần thiết để tăng khả năng chịu hạn về mặt di truyền [10]. Đậu nành là cây trồng nhạy cảm với hạn hán [4,11] và cải thiện khả năng chịu hạn về mặt di truyền là một chiến lược quan trọng để duy trì năng suất trong điều kiện hạn hán. Các tính trạng chịu hạn phải được đưa vào nguồn gen của đậu nành để phát triển các giống cây trồng bảo tồn năng suất bền vững [12].

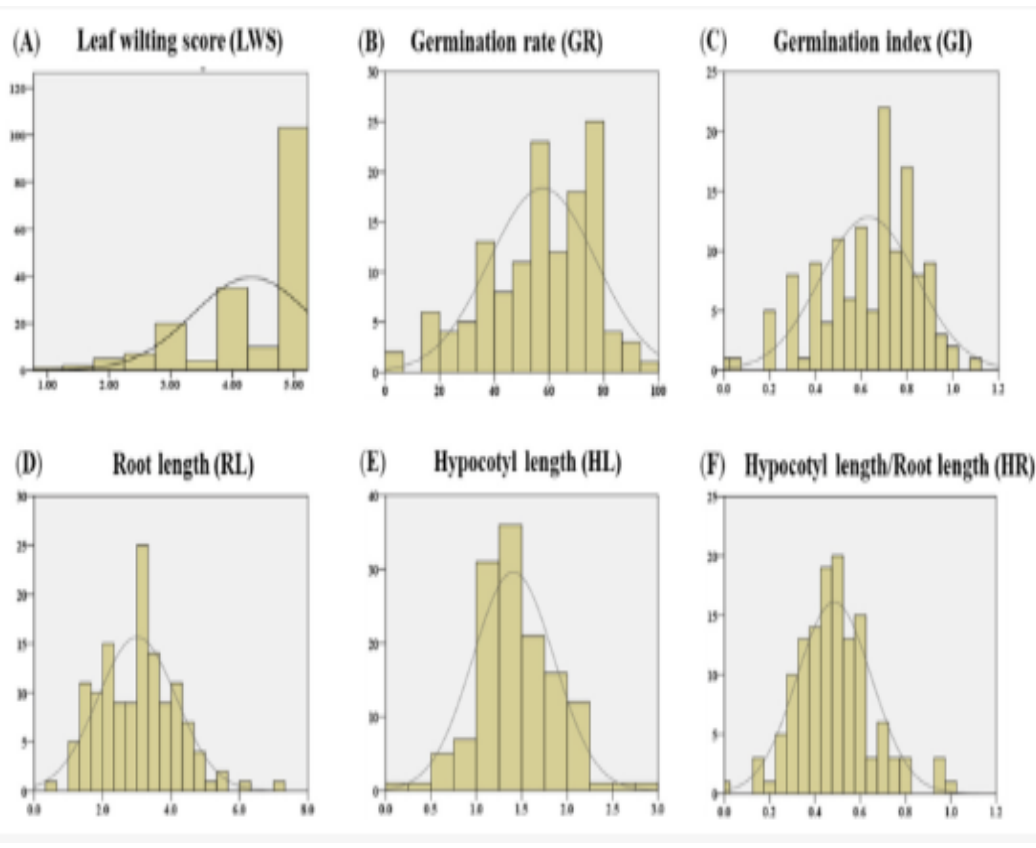
Héo chậm có liên quan đến việc duy trì độ ẩm. Các kiểu gen héo nhanh làm cạn kiệt dự trữ độ ẩm của đất tương đối nhanh [13,14], trong khi đối với các kiểu gen héo chậm, việc bảo tồn nước trong đất dường như có liên quan đến việc giảm độ dẫn thủy lực trong điều kiện thiếu hụt áp suất hơi cao, giúp giảm thoát hơi nước và cải thiện hiệu quả sử dụng nước [15,16]. Bản đồ các tính trạng định lượng (QTL) của các tính trạng liên quan đến hạn hán đã được thực hiện ở đậu nành, đặc biệt chú ý đến năng suất trong điều kiện hạn hán [17,18], rễ xơ [19], hiệu quả sử dụng nước [20,21] và héo tán [22,23,24,25]. Theo một số nghiên cứu, héo tán là một tính trạng phức tạp chủ yếu chịu ảnh hưởng của QTL hoặc tương tác giữa QTL và các yếu tố môi trường [17,18,22,23,24,25,26,27]. Nghiên cứu về khả năng chịu hạn cơ bản của QTL trong giai đoạn này vẫn còn rất hạn chế. Do đó, các nhà lai tạo thấy khó sử dụng thông tin di truyền để xác định tình trạng hạn hán ở giai đoạn này vì cơ chế phân tử cơ bản của khả năng chống hạn của đậu nành trong giai đoạn này vẫn chưa được biết [28].

Các nghiên cứu liên kết toàn bộ hệ gen (GWAS) cho phép xác định các vùng hệ gen liên quan đến các tính trạng cụ thể bằng cách sử dụng các nguồn gen đậu nành đa dạng, đặc biệt là nguồn gen đậu nành trồng. Một số nghiên cứu về đậu nành *G. max* đã sử dụng phương pháp GWAS cho các tính trạng khác nhau trong điều kiện hạn hán, chẳng hạn như héo tán [25,26,28,29], tỷ lệ nảy mầm [28,30,31,32], đặc tính nitơ [33], nhiệt độ tán [34] và tính dẻo của tỷ lệ carbon 13 [35]. Tuy nhiên, có rất ít thông tin di truyền về tổ tiên của nó, đậu nành dại (*Glycine soja* Sieb và Zucc.), liên quan đến phản ứng của nó với căng thẳng hạn hán ở giai đoạn sinh dưỡng hoặc nảy mầm. Do đó, nghiên cứu này nhằm xác định các vùng bộ gen chịu trách nhiệm cho các tính trạng liên quan đến hạn hán ở giai đoạn sinh dưỡng và nảy mầm ở đậu nành dại thông qua phân tích GWAS dựa trên các đơn nucleotide (SNP) đa hình từ dữ liệu sắp xếp lại trình tự có sẵn.

2. KẾT QUẢ

2.1. Phân bố kiểu hình

Điểm héo lá (LWS) được ghi lại trong điều kiện căng thẳng hạn hán để nghiên cứu biến thể kiểu hình trong phản ứng sinh trưởng của cây con đối với hạn hán. LWS bị ảnh hưởng đáng kể bởi căng thẳng hạn hán. Phân bố tần suất của 187 mẫu đậu nành đối với LWS được minh họa trong Hình 1. Dựa trên kết quả nghiên cứu trước đây của chúng tôi [36], các kiểu gen có khả năng chịu hạn cao cho thấy giá trị LWS <1,5, các mẫu có khả năng chịu hạn cao cho thấy giá trị LWS từ 1,5 – 2,5, các kiểu gen trung bình có giá trị LWS từ 2,5 – 3,5, các kiểu gen nhạy cảm cho thấy giá trị LWS từ 3,5 – 4,5 và các mẫu có khả năng nhạy cảm cao cho thấy giá trị LWS >4,5. Kết quả cho thấy một mẫu có khả năng chống chịu cao và bảy mẫu có khả năng chịu hạn. Tỷ lệ trung bình, nhạy cảm và nhạy cảm cao lần lượt là 12,83% (24 mẫu), 18,72% (35 mẫu) và 60,43% (113 mẫu). Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) đối với tính trạng LWS được thể hiện trong Bảng 1. Có sự khác biệt đáng kể về LWS giữa các mẫu ($p < 0,0001$).



Hình 1. Phân bố kiểu hình của điểm héo lá ở giai đoạn sinh dưỡng và các phép đo kiểu hình ở giai đoạn nảy mầm đối với các mẫu đậu nành đại chủng. (A) Điểm héo lá (LWS). (B) Tỷ lệ nảy mầm (GR). (C) Chỉ số nảy mầm (GI). (D) Chiều dài rễ (RL). (E) Chiều dài hạ mầm (HL). (F) Tỷ lệ chiều dài hạ mầm so với chiều dài rễ (HR).

Bảng 1. Giá trị bình phương trung bình cho phân tích phương sai (ANOVA) các tính trạng liên quan đến hạn hán của đậu nành.

Tính trạng	Nguồn biến thiên	Độ tự do	Tổng bình phương	Trung bình tổng bình phương	F	p
LWS	Nghiệm thức	186	501,810	2,700	195,9	<0,0001
	Lần lặp lại	2	0,040	0,020	1,6	0,206
GR	Nghiệm thức	134	142.396,100	1.062,657	1,4	<0,0001
	Lần lặp lại	2	1.359,717	1.179,858	1,5	0,321
GI	Nghiệm thức	134	11,916	0,089	0,7	<0,0001
	Lần lặp lại	2	0,309	0,154	1,2	0,389
RL	Nghiệm thức	134	351,931	2,646	34,7	<0,0001
	Lần lặp lại	2	0,360	0,180	2,4	0,299
HL	Nghiệm thức	134	53,692	0,407	16,0	<0,0001
	Lần lặp lại	2	0,035	0,018	0,7	0,504
HR	Nghiệm thức	134	7,041	0,053	15,8	<0,0001
	Lần lặp lại	2	0,007	0,004	1,1	0,346

LWS: điểm héo lá; GR: tỷ lệ nảy mầm; GI: chỉ số nảy mầm; RL: chiều dài rễ; HL: chiều dài hạ mầm; HR: tỷ lệ chiều dài hạ mầm so với chiều dài rễ.

Phân bố tần suất của 135 mẫu giống đậu nành về tỷ lệ nảy mầm (GR), chỉ số nảy mầm (GI), chiều dài rễ (RL), chiều dài hạ mầm (HL) và tỷ lệ chiều dài hạ mầm so với chiều dài rễ (HR) được mô tả trong Hình 1. Giá trị trung bình của GR, GI, RL, HL và HR lần lượt là 57,6; 0,6; 3,0; 1,4 và 0,5. Phân tích phương sai cho thấy tác động đáng kể của các mẫu giống ($p < 0,0001$) đối với cả năm tính trạng (Bảng 1). Phân tích tương quan cho thấy GR có tương quan mạnh với GI ($r = 0,956$, $p < 0,01$) (Bảng 2), trong khi các tính trạng khác liên quan đến hạn hán ở giai đoạn nảy mầm có tương quan yếu hoặc không có tương quan đáng kể. Kết quả cho thấy GR có tương quan dương với RL ($r = 0,280$, $p <$

0,01) và SL ($r = 0,245, p < 0,01$) nhưng không tương quan với HR ($r = 0,024$, không có ý nghĩa). Tương tự, GI có tương quan dương với RL ($r = 0,257, p < 0,01$) và SL ($r = 0,236, p < 0,01$) nhưng không tương quan với HR ($r = 0,045$, không có ý nghĩa). Tuy nhiên, RL có tương quan âm với HR ($r = -0,403, p < 0,01$) và tương quan dương với HL ($r = 0,450, p < 0,01$). Ngoài ra, HL có tương quan dương với HR ($r = 0,438, p < 0,01$).

Bảng 2. Giá trị r cho các phân tích tương quan của các tính trạng liên quan đến hạn hán ở giai đoạn nảy mầm.

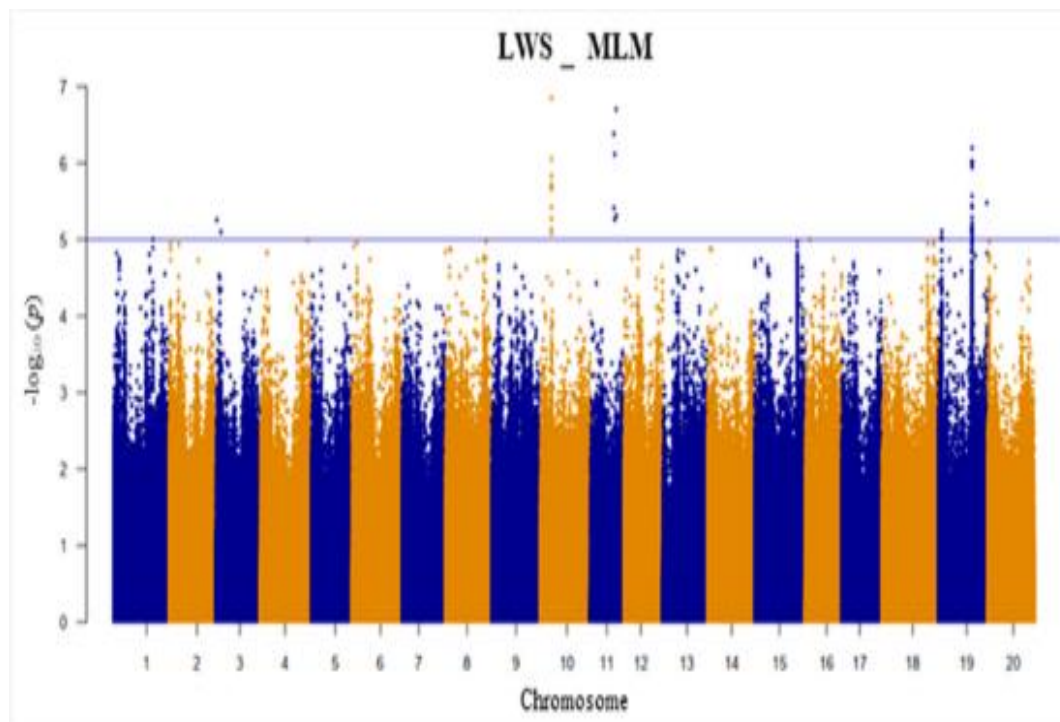
	GR	GI	RL	HL	HR
GR	1				
GI	0,956**	1			
RL	0,280**	0,257**	1		
HL	0,245**	0,236**	0,450**	1	
HR	0,024	0,045	-0,403**	0,438**	1

GR: tỷ lệ nảy mầm; GI: chỉ số nảy mầm; RL: chiều dài rễ; HL: chiều dài hạ mầm; HR: tỷ lệ chiều dài hạ mầm so với chiều dài rễ; **: có ý nghĩa thống kê ở $p < 0,01$.

2.2. Kết quả GWAS

2.2.1. Các SNP liên quan đến khả năng chịu hạn ở đậu nành đại ở giai đoạn sinh trưởng

Nghiên cứu này sử dụng một tập hợp đa dạng gồm 187 mẫu giống *G. soja*. Sau khi loại trừ 20% dữ liệu SNP bị thiếu và các SNP có tần số alen phụ (MAF) $\geq 5\%$, chúng tôi đã thu được 8.775.931 SNP để phân tích thêm. GWAS được phân tích dựa trên mô hình tuyến tính hỗn hợp (MLM) của LWS của cây ở giai đoạn sinh dưỡng (Hình 2).



Hình 2. Biểu đồ Manhattan cho điểm héo lá (LWS) sử dụng phương pháp mô hình tuyến tính hỗn hợp (MLM). Trục x biểu diễn các nhiễm sắc thể; trục y biểu diễn các giá trị $-\log_{10}(p)$. Đường màu xanh biểu thị ngưỡng gợi ý.

Kết quả tóm tắt của phân tích GWAS và các SNP có giá trị $-\log_{10}(p) \geq 5.0$ cho tính trạng LWS được trình bày trong Bảng S1. Chúng tôi xác định rằng các SNP cho tính trạng LWS ở giai đoạn sinh dưỡng được phát hiện trên nhiễm sắc thể 3, 10, 11 và 19.

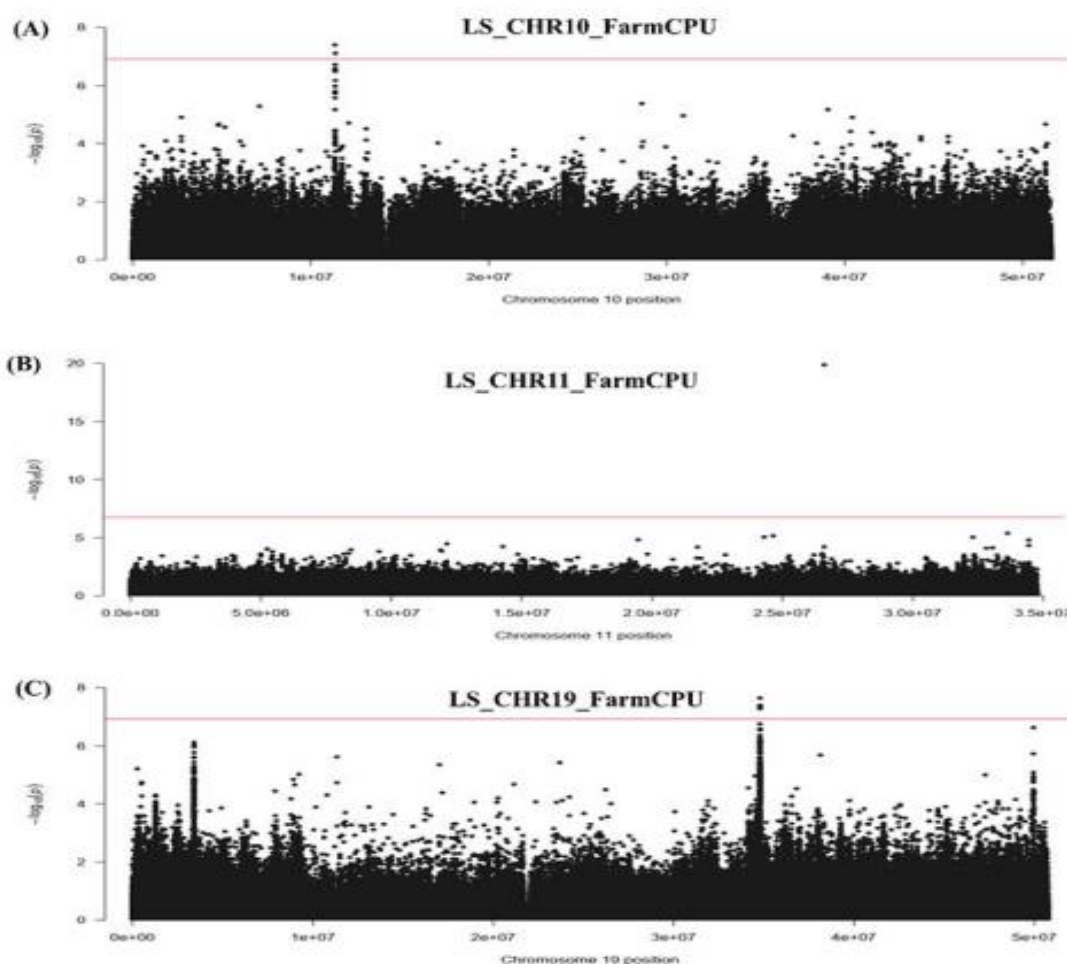
Bảng S1. Các vị trí SNP liên quan đến điểm héo lá (LWS) sử dụng mô hình MLM

TT	Đơn Nucleotide	Nhiễm sắc thể	Vị trí vật lý	$-\log_{10}(p)$	Tần số alen phụ	Hiệu ứng alen
1	D03_678606	3	678.606	5,26	0,08	0,73
2	D03_4908785	3	4.908.785	5,10	0,48	-1,24
3	D10_11383213	10	11.383.213	6,85	0,21	0,51
4	D10_11361356	10	11.361.356	6,05	0,23	-0,47
5	D10_11370645	10	11.370.645	5,84	0,23	-0,39
6	D10_11370246	10	11.370.246	5,73	0,06	0,76
7	D10_11361947	10	11.361.947	5,68	0,25	-0,39
8	D10_11383170	10	11.383.170	5,66	0,15	-0,58
9	D10_11368488	10	11.368.488	5,42	0,05	0,71
10	D10_11373265	10	11.373.265	5,27	0,27	0,36
11	D10_11373824	10	11.373.824	5,13	0,06	0,66
12	D10_11364708	10	11.364.708	5,08	0,05	-0,68
13	D11_26601868	11	26.601.868	6,71	0,05	0,91
14	D11_24303800	11	24.303.800	6,38	0,06	1,00
15	D11_25153234	11	25.153.234	6,12	0,48	1,31
16	D11_24407167	11	24.407.167	5,41	0,14	-0,41
17	D11_26761285	11	26.761.285	5,31	0,18	0,33
18	D11_25219873	11	25.219.873	5,26	0,06	-0,61
19	D19_34790292	19	34.790.292	6,20	0,25	0,44
20	D19_34790013	19	34.790.013	6,02	0,26	0,42
21	D19_34789961	19	34.789.961	6,02	0,15	-0,78
22	D19_34797069	19	34.797.069	5,99	0,16	-0,74
23	D19_34790351	19	34.790.351	5,95	0,27	0,42
24	D19_34782529	19	34.782.529	5,57	0,29	0,39
25	D19_49951972	19	49.951.972	5,48	0,07	-0,95
26	D19_34798807	19	34.798.807	5,45	0,27	0,39
27	D19_34792491	19	34.792.491	5,42	0,15	-0,70
28	D19_34783021	19	34.783.021	5,29	0,27	0,38
29	D19_34791610	19	34.791.610	5,22	0,25	0,39
30	D19_34794372	19	34.794.372	5,16	0,25	0,39
31	D19_34789220	19	34.789.220	5,16	0,15	-0,69
32	D19_34780310	19	34.780.310	5,16	0,14	-0,69
33	D19_34791627	19	34.791.627	5,16	0,14	-0,69
34	D19_34793214	19	34.793.214	5,13	0,28	0,37
35	D19_34781026	19	34.781.026	5,13	0,36	-0,36
36	D19_3413269	19	3.413.269	5,11	0,31	-0,36
37	D19_34792233	19	34.792.233	5,11	0,05	-0,79
38	D19_34781992	19	34.781.992	5,10	0,14	-0,70
39	D19_34796624	19	34.796.624	5,09	0,31	-0,37
40	D19_34796919	19	34.796.919	5,09	0,25	0,39
41	D19_34780775	19	34.780.775	5,05	0,35	0,70
42	D19_3413260	19	3.413.260	5,03	0,36	0,70
43	D19_34781127	19	34.781.127	5,01	0,34	0,66
44	D19_3413703	19	3.413.703	5,00	0,36	0,70

Tuy nhiên, trong phân tích GWAS dựa trên phương pháp thống nhất xác suất tuần hoàn mô hình cố định và ngẫu nhiên (FarmCPU), tám SNP quan trọng nằm trên nhiễm sắc thể 10, 11 và 19 (Bảng 3, Hình S1).

Bảng 3. Các SNP quan trọng nhất liên quan đến điểm héo lá (LWS), được xác định bằng phương pháp FarmCPU.

Tính trạng	NST	Vị trí vật lý	$-\log_{10}(p)$	Trung bình điểm số tính trạng liên quan đến alen SNP				<i>t</i> -Test	MAF	Hiệu ứng alen
				A (n)	T (n)	C (n)	G (n)			
LWS	10	11.361.356	7,4	4,46 (136)	3,63 (35)			<0,0001	0,23	-0,47
	10	11.383.213	7,11		4,5 (129)	3,5 (22)		<0,0001	0,21	0,51
	11	26.601.868	26,26	2,71 (7)			4,38 (172)	<0,0001	0,06	1,04
	19	34.790.292	7,65			3,64 (42)	4,48 (134)	<0,0001	0,25	0,44
	19	34.790.013	7,39	3,69 (45)			4,47 (133)	<0,0001	0,26	0,42
	19	34.789.961	7,39	4,48 (131)	3,72 (46)			<0,0001	0,15	-0,78
	19	34.797.069	7,34	4,50 (129)	3,73 (44)			<0,0001	0,16	-0,74
	19	34.790.351	7,28	3,73 (44)			4,50 (129)	<0,0001	0,27	0,42



Hình S1. Biểu đồ Manhattan cho các SNP liên quan đến điểm héo lá (LWS), được xác định bằng phương pháp FarmCPU, trên nhiễm sắc thể 10 (A), nhiễm sắc thể 11 (B) và nhiễm sắc thể 19 (C). Đường màu đỏ biểu thị ngưỡng có ý nghĩa đã hiệu chỉnh Bonferroni.

Các locus này được sử dụng để tìm biến thể giữa các mẫu tại tám vị trí xảy ra biến thể alen. Tất cả đều cho thấy những thay đổi liên quan đáng kể trong LWS, được xác định bằng cách sử dụng *t*-tests (Bảng 3). Tương tác của các SNP này được trình bày trong Bảng 4. Dựa trên bộ gen đậu nành tham chiếu (Wm82.a2.v1), các SNP D10_11361356 trên nhiễm sắc thể 10, D11_26601868 trên nhiễm sắc thể 11 và D19_34790292 trên nhiễm sắc thể 19 có các nucleotide tham chiếu là adenine (A), guanine (G) và cytosine (C), trong khi các nucleotide thay thế lần lượt là thymine (T), A và G. Sự thay đổi từ G

thành A trên nhiễm sắc thể 11 ảnh hưởng đáng kể hơn đến LWS so với các SNP trên nhiễm sắc thể 10 và 19, và sự xuất hiện của nó luôn khiến LWS nhỏ hơn hoặc bằng 3 (Bảng 4). Tương tác giữa các SNP trên nhiễm sắc thể 10 và 11 tạo ra LWS trung bình thấp hơn so với các tương tác SNP khác (Bảng 4).

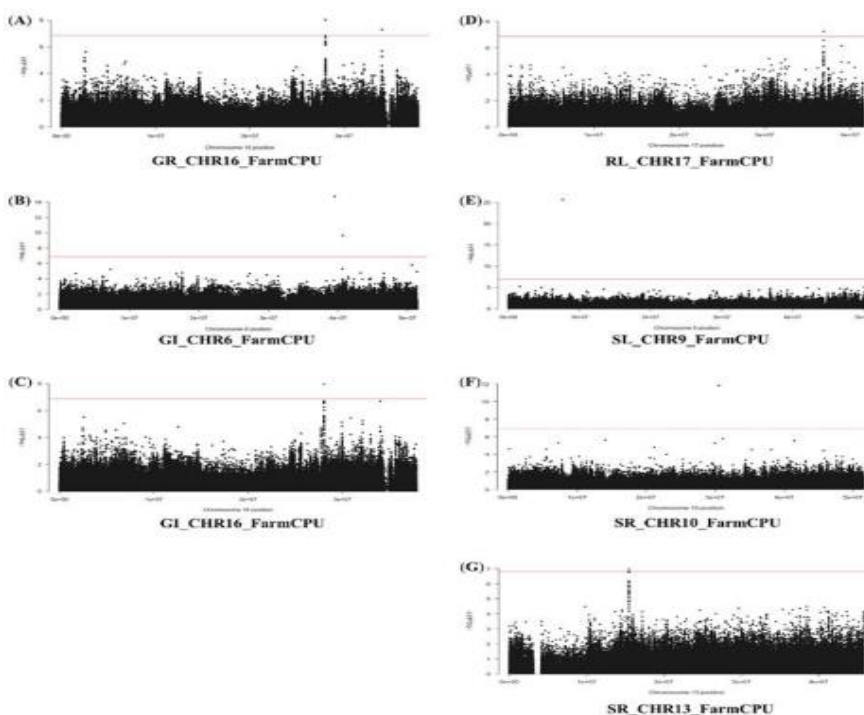
Bảng 4. Biến thể kiểu gen của các SNP quan trọng nhất trên nhiễm sắc thể 10, 11 và 19 trong số 155 mẫu đậu nành đại.

SNP	Kiểu gen							
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8 (tham chiếu)
D10_11361356	T	T	A	A	T	T	A	A
D11_26601868	A	A	A	A	G	G	G	G
D19_34790292	G	C	G	C	C	G	G	C
Số nghiệm thức	1	3	2	3	10	20	98	18
LWS ± SD	2,00± 0,00nd	2,00± 0,87***	2,50± 0,00***	2,33± 0,57***	3,42± 0,74***	3,80± 1,11***	4,72± 0,46***	4,61± 0,50

Phân tích ý nghĩa được thực hiện bằng cách sử dụng G8 làm tham chiếu. Ý nghĩa thống kê được đánh giá bằng cách sử dụng *t*-test. ***: có ý nghĩa ở $p < 0,001$; nd: không xác định; ns: không có ý nghĩa; (SD: độ lệch chuẩn; LWS: điểm héo lá).

2.2.2. Các SNP liên quan đến khả năng chịu hạn ở đậu nành đại ở giai đoạn nảy mầm

Đầu tiên, phân tích GWAS được tiến hành bằng phương pháp MLM cho các phép đo kiểu hình ở giai đoạn nảy mầm (Hình 3). Các kết quả tóm tắt và các SNP có giá trị $-\log_{10}(p) \geq 5.0$ đối với các đặc điểm GR, GI, RL, HL và HR được trình bày trong Bảng S2. Phân tích GWAS cho thấy các SNP liên quan đến GR nằm trên nhiễm sắc thể 1, 6 và 16; các SNP liên quan đến GI nằm trên nhiễm sắc thể 5, 6, 10, 14 và 16; các SNP liên quan đến RL nằm trên nhiễm sắc thể 9 và 17; các SNP liên quan đến HL nằm trên nhiễm sắc thể 8 và 9; và các SNP liên quan đến HR nằm trên nhiễm sắc thể 8, 10 và 13.



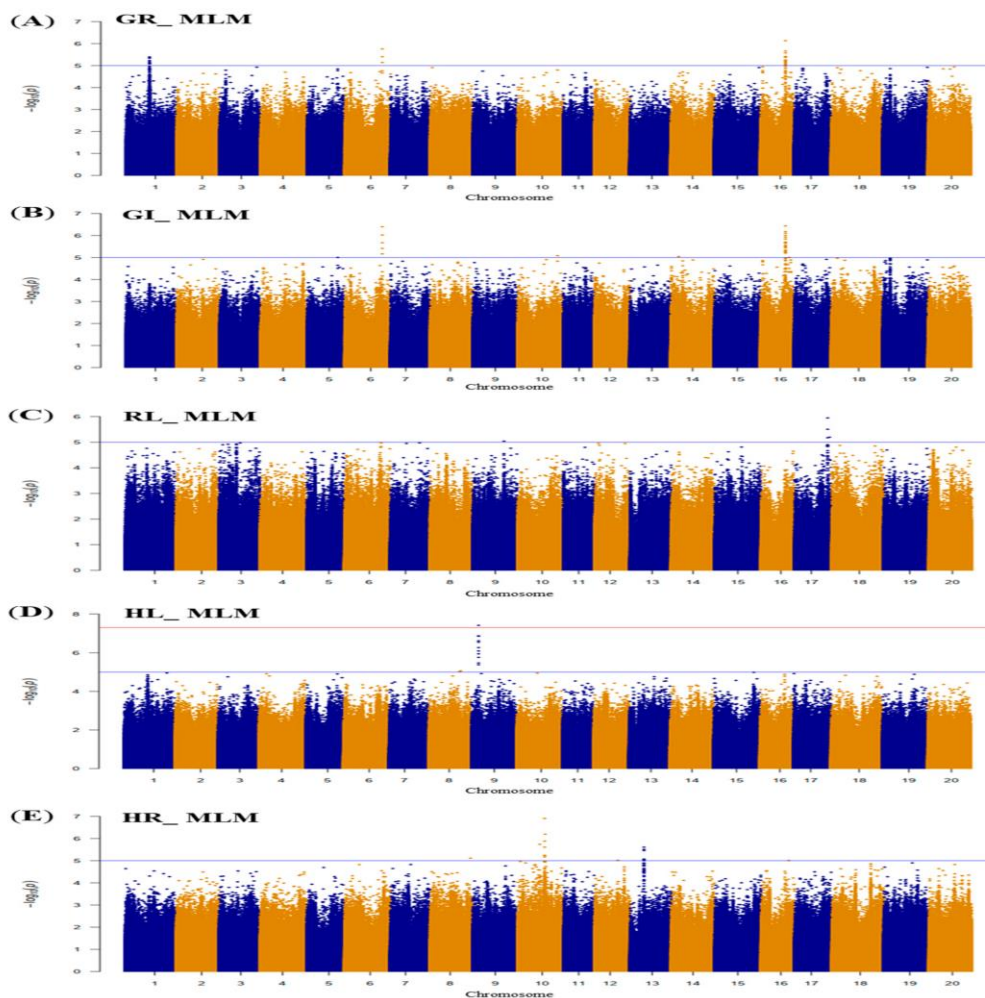
Hình S2. Biểu đồ Manhattan cho các SNP liên quan đến 5 tính trạng liên quan đến hạn hán trong giai đoạn nảy mầm, được xác định bằng phương pháp FarmCPU: (A) Biểu đồ Manhattan cho GR trên nhiễm sắc thể 16, (B và C) Biểu đồ Manhattan cho GI trên nhiễm sắc thể 6 (B) và 16 (C), (D) Biểu đồ Manhattan cho RL trên nhiễm sắc thể 17, (E) Biểu đồ Manhattan cho SL trên nhiễm sắc thể 9, (F và G) Biểu đồ Manhattan cho SR trên nhiễm sắc thể 10 (F) và 13 (G). Đường màu đỏ biểu thị ngưỡng ý nghĩa đã hiệu chỉnh Bonferroni.

Bảng 5. Các SNP quan trọng nhất liên quan đến các tính trạng liên quan đến hạn hán ở giai đoạn nảy mầm, được xác định bằng phương pháp FarmCPU.

Tính trạng	NST	Vị trí vật lý	$-\log_{10}(p)$	Trung bình điểm số tính trạng liên quan đến alen SNP				<i>t</i> -Test	MAF	Hiệu ứng alen
				A (n)	T (n)	C (n)	G (n)			
GR	16	28.071.218	8,04	65,96 (76)			45,84 (37)	<0,0001	0,35	-10,60
	16	34.049.144	7,29		22,71 (7)	61,56 (123)		<0,0001	0,07	-19,53
GI	6	39.541.088	14,75		0,77 (124)	0,23 (6)		<0,0001	0,06	-0,19
	6	40.697.687	9,65		0,77 (13)	0,72 (95)		0,69	0,20	0,08
	16	28.071.218	7,99	0,86 (76)			0,46 (37)	<0,0001	0,35	-0,11
RL	17	36.893.010	7,42	2,93 (126)			5,33 (6)	<0,0001	0,05	1,30
HL	9	7.627.321	25,66	1,35 (124)			1,88 (8)	0,009	0,06	0,70
HR	10	30.512.307	11,81		0,39 (87)	1,00 (8)		<0,0001	0,49	-0,30
	13	15.434.946	6,99	0,37 (122)			0,78 (8)	0,025	0,08	0,14

Chr: nhiễm sắc thể; MAF: tần số alen phụ; GR: tỷ lệ nảy mầm; GI: chỉ số nảy mầm; RL: chiều dài rễ; HL: chiều dài hạ mầm; HR: tỷ lệ chiều dài hạ mầm so với chiều dài rễ.

Chín SNP quan trọng nhất, dựa trên phân tích FarmCPU với ngưỡng hiệu chỉnh Bonferroni, được liệt kê trong Bảng 5 và Hình S2. Các SNP này được sử dụng để tìm biến thể giữa các mẫu tại các vị trí xảy ra biến thể alen, đánh giá ý nghĩa bằng cách sử dụng *t*-test. Trong số chín SNP, một biến thể alen liên quan đến GI không cho thấy tác động đáng kể, trong khi tám biến thể còn lại ảnh hưởng đáng kể đến tính trạng liên quan (Bảng 5). Một SNP chồng chéo trên nhiễm sắc thể 16 (D16_28071218) có liên quan đến cả GR và GI.



Hình 3. Biểu đồ Manhattan của các SNP được thử nghiệm để đo kiểu hình ở giai đoạn nảy mầm bằng mô hình tuyến tính hỗn hợp (MLM). (A) Tỷ lệ nảy mầm (GR). (B) Chỉ số nảy mầm (GI). (C) Chiều dài rễ (RL). (D) Chiều dài hạ tử diệp (HL). (E) Tỷ lệ chiều dài hạ tử diệp so với chiều dài rễ (HR). Trục x biểu diễn nhiễm sắc thể; trục y biểu diễn giá trị $-\log_{10}(p)$. Đường màu xanh biểu thị ngưỡng gợi ý và đường màu đỏ biểu thị ngưỡng có ý nghĩa.

Bảng S2. Các vị trí SNP liên quan đến các đặc điểm liên quan đến hạn hán ở giai đoạn nảy mầm bằng mô hình MLM

Tình trạng	TT	Đơn Nucleotide	Nhiễm sắc thể	Vị trí vật lý	$-\log_{10}(p)$	Tần số alen phụ	Hiệu ứng alen
GR	1	D01_26215864	1	26.215.864	5,39	0,36	-10,86
	2	D01_26316711	1	26.316.711	5,36	0,40	9,96
	3	D01_26257122	1	26.257.122	5,34	0,40	9,94
	4	D01_26215551	1	26.215.551	5,23	0,39	-9,97
	5	D01_26282084	1	26.282.084	5,18	0,40	-9,63
	6	D01_26222278	1	26.222.278	5,17	0,40	-9,87
	7	D01_26326940	1	26.326.940	5,12	0,39	-9,90
	8	D01_26321040	1	26.321.040	5,10	0,22	18,13
	9	D01_26326814	1	26.326.814	5,09	0,40	-9,74
	10	D01_26303437	1	26.303.437	5,07	0,22	17,20
	11	D06_42123850	6	42.123.850	5,76	0,43	24,00
	12	D06_42124109	6	42.124.109	5,40	0,17	-12,06
	13	D06_42124110	6	42.124.110	5,14	0,17	11,40
	14	D16_28071218	16	28.071.218	6,13	0,35	-10,36
	15	D16_28067811	16	28.067.811	5,66	0,42	8,96
	16	D16_28071304	16	28.071.304	5,58	0,43	-9,05
	17	D16_28070894	16	28.070.894	5,42	0,43	-8,73
	18	D16_28067784	16	28.067.784	5,39	0,42	-8,56
	19	D16_28067438	16	28.067.438	5,38	0,40	8,78
	20	D16_28067641	16	28.067.641	5,38	0,42	8,66
	21	D16_28066827	16	28.066.827	5,26	0,44	-8,79
	22	D16_28067070	16	28.067.070	5,25	0,43	8,42
	23	D16_28068557	16	28.068.557	5,21	0,42	8,40
	24	D16_28070272	16	28.070.272	5,17	0,42	-8,35
	25	D16_28071113	16	28.071.113	5,16	0,42	8,42
	26	D16_28073758	16	28.073.758	5,11	0,41	8,35
	27	D16_28070911	16	28.070.911	5,07	0,43	8,38
	28	D16_28068042	16	28.068.042	5,02	0,42	-8,23
GI	1	D05_34301444	5	34.301.444	5,00	0,06	0,19
	2	D06_42123850	6	42.123.850	6,40	0,43	0,28
	3	D06_42124109	6	42.124.109	6,02	0,17	-0,14
	4	D06_42124110	6	42.124.110	5,67	0,18	0,13
	5	D06_39541088	6	39.541.088	5,63	0,06	-0,22
	6	D06_42123869	6	42.123.869	5,41	0,18	0,13
	7	D06_42124015	6	42.124.015	5,16	0,16	-0,13
	8	D10_45104732	10	45.104.732	5,08	0,24	0,11
	9	D14_8837530	14	8.837.530	5,04	0,19	0,39
	10	D16_28071218	16	28.071.218	6,44	0,35	-0,11
	11	D16_28071304	16	28.071.304	6,18	0,43	-0,10
	12	D16_28067811	16	28.067.811	6,10	0,42	0,10
	13	D16_28067438	16	28.067.438	6,01	0,40	0,10
	14	D16_28070894	16	28.070.894	5,92	0,43	-0,10
	15	D16_28067641	16	28.067.641	5,84	0,42	0,10
	16	D16_28067784	16	28.067.784	5,71	0,42	-0,09
	17	D16_28067070	16	28.067.070	5,69	0,43	0,09
	18	D16_28066827	16	28.066.827	5,68	0,44	-0,10
	19	D16_28071113	16	28.071.113	5,68	0,42	0,09
	20	D16_28070272	16	28.070.272	5,65	0,42	-0,09
	21	D16_28070149	16	28.070.149	5,56	0,43	-0,09
	22	D16_28073758	16	28.073.758	5,51	0,41	0,09

	23	D16_28068557	16	28.068.557	5,49	0,42	0,09
	24	D16_28068042	16	28.068.042	5,49	0,42	-0,09
	25	D16_28070911	16	28.070.911	5,44	0,43	0,09
	26	D16_28070766	16	28.070.766	5,34	0,43	0,09
	27	D16_28066626	16	28.066.626	5,29	0,48	-0,09
	28	D16_28064625	16	28.064.625	5,29	0,41	0,09
	29	D16_28073713	16	28.073.713	5,25	0,41	-0,09
	30	D16_28068312	16	28.068.312	5,22	0,43	0,09
	31	D16_28067904	16	28.067.904	5,21	0,44	-0,09
	32	D16_28066590	16	28.066.590	5,20	0,43	-0,09
	33	D16_32152261	16	32.152.261	5,01	0,12	-0,15
RL	1	D09_35052525	9	35.052.525	5,04	0,12	1,25
	2	D17_36893010	17	36.893.010	5,95	0,05	1,32
	3	D17_36891993	17	36.891.993	5,50	0,06	-1,11
	4	D17_38970060	17	38.970.060	5,19	0,07	-1,02
	5	D17_36895042	17	36.895.042	5,17	0,08	-0,99
SL	1	D08_35326877	8	35.326.877	5,06	0,06	-0,50
	2	D08_34470924	8	34.470.924	5,02	0,05	-0,62
	3	D09_7627321	9	7.627.321	7,41	0,06	0,76
	4	D09_7626894	9	7.626.894	6,87	0,07	0,65
	5	D09_7628653	9	7.628.653	6,85	0,07	-0,65
	6	D09_7625511	9	7.625.511	6,61	0,07	0,61
	7	D09_7624666	9	7.624.666	6,54	0,07	-0,60
	8	D09_7627810	9	7.627.810	6,27	0,07	0,65
	9	D09_7627292	9	7.627.292	6,09	0,06	0,66
	10	D09_7627473	9	7.627.473	5,95	0,09	-0,52
	11	D09_7626950	9	7.626.950	5,77	0,08	-0,56
	12	D09_7628184	9	7.628.184	5,47	0,07	0,55
	13	D09_7629485	9	7.629.485	5,38	0,08	-0,51
SR	1	D08_45240267	8	45.240.267	5,11	0,27	0,08
	2	D10_30512307	10	30.512.307	6,91	0,49	-0,43
	3	D10_31015246	10	31.015.246	6,20	0,06	-0,21
	4	D10_30484743	10	30.484.743	5,88	0,06	-0,18
	5	D10_24924454	10	24.924.454	5,74	0,06	0,20
	6	D10_30488650	10	30.488.650	5,61	0,05	-0,19
	7	D10_30487651	10	30.487.651	5,24	0,06	-0,16
	8	D10_30456138	10	30.456.138	5,23	0,08	0,16
	9	D10_30501322	10	30.501.322	5,17	0,06	0,18
	10	D13_15434946	13	15.434.946	5,61	0,08	0,14
	11	D13_15434919	13	15.434.919	5,51	0,08	0,15
	12	D13_15434997	13	15.434.997	5,46	0,09	0,14
	13	D13_15435544	13	15.435.544	5,07	0,06	0,14
	14	D13_15437237	13	15.437.237	5,04	0,07	-0,14
	15	D13_15435890	13	15.435.890	5,04	0,08	-0,13
	16	D13_15433796	13	15.433.796	5,00	0,07	0,15
	17	D13_31192132	13	31.192.132	5,01	0,24	-0,10

2.3. Các gen được cho là có liên quan đến các SNP quan trọng đối với khả năng chịu hạn

2.3.1. Các gen được cho là có liên quan đến các SNP quan trọng đối với LWS

Chúng tôi đã kiểm tra bộ gen tham chiếu đậu nành *Wm82.a2.v1* trong phạm vi 20 kbp của các SNP quan trọng nhất để xác định các gen ứng viên tiềm năng. Bảng 6 tóm tắt 22 gen ứng viên có chú thích liên quan được lấy từ Soybase (<http://www.soybase.org>, truy cập vào ngày 1 tháng 2 năm 2024). Sáu trong số các gen này có liên quan đến LWS ở giai đoạn sinh dưỡng. Những gen này được chú thích trong cơ sở dữ liệu công khai lần lượt là liên quan đến nếp gấp hydrolase alpha/beta, vùng dimer hóa đầu C của họ hAT, superoxide dismutase đồng/kẽm (SODC), miền liên kết DNA helix-loop-helix, loại C₃HC₄ finger kẽm (RING finger)/finger kẽm CHY và yếu tố phiên mã *fus3* chứa miền B3.

Bảng 6. Các gen ứng cử viên được cho là được tìm thấy trong vòng 20 kbp của các SNP quan trọng đối với mỗi tính trạng liên quan đến hạn hán.

Tính trạng	NST	SNP	Gen	Bắt đầu	Kết thúc	Chức năng (PFAM)
LWS	10	D10_11361356	Glyma.10g087500	11,350,383	11,356,511	Alpha/beta hydrolase fold
			Glyma.10g087600	11,364,689	11,366,137	hAT family C-terminal dimerization region
	11	D11_26601868	Glyma.11g192700	26,591,332	26,595,068	Copper/zinc superoxide dismutase (SODC)
			Glyma.11g192800	26,596,271	26,599,470	Helix-loop-helix DNA-binding domain
			Glyma.11g192900	26,604,592	26,608,357	Zinc finger, C ₃ HC ₄ type (RING finger)
19	D19_34797069	Glyma.19g100900	34,806,060	34,810,057	B3DNA binding domain	
GI	6	D06_39541088	Glyma.06G239900	39,530,793	39,532,182	Plastocyanin-like domain
GR, GI	16	D16_28071218	Glyma.16g128600	28,057,444	28,062,790	Protein kinase domain
			Glyma.16g128700	28,077,595	28,080,215	2OG-Fe (II) oxygenase superfamily
GR	16	D16_34049144	Glyma.16g179900	34,036,942	34,040,157	GRAS domain family
RL	17	D17_36893010	Glyma.17g218300	36,878,303	36,882,265	Zn-finger in ubiquitin-hydrolases and other protein
			Glyma.17g218400	36,900,654	36,906,204	BT1 family
HL	9	D09_7627321	Glyma.09g072700	7,619,132	7,620,402	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor
			Glyma.09g072800	7,633,793	7,634,182	Unknown
HR	10	D10_30512307	Glyma.10g119600	30,488,462	30,491,514	K ⁺ potassium transporter/DNA polymerase alpha/epsilon subunit B
			Glyma.10g119700	30,491,587	30,494,187	Microtubule-associated protein (MAP65/ASE1 family)
			Glyma.10g119800	30,514,616	30,515,487	Homeobox-leucine zipper protein
			Glyma.10g119900	3,516,480	30,519,657	Acyltransferase
			Glyma.10g120000	30,522,225	30,525,686	LSM domain
	13	D13_15434946	Glyma.13g056700	15,423,364	15,424,333	Unknown
			Glyma.13g056800	15,431,070	15,433,820	UDP-glucuronosyl and UDP-glucosyl transferase
Glyma.13g056900			15,439,351	15,446,633	WD domain, G-beta repeat	

Chr: nhiễm sắc thể; *LWS*: điểm héo lá; *GR*: tỷ lệ nảy mầm; *GI*: chỉ số nảy mầm; *RL*: chiều dài rễ; *HL*: chiều dài hạ mầm; *HR*: tỷ lệ chiều dài hạ mầm so với chiều dài rễ.

2.3.2. Các gen ứng viên liên quan đến các SNP quan trọng đối với các tính trạng liên quan đến hạn hán ở giai đoạn nảy mầm

Chúng tôi cũng đã kiểm tra bộ gen tham chiếu trong phạm vi 20 kbp của các SNP quan trọng nhất để xác định các gen ứng viên tiềm năng. Bảng 6 tóm tắt 16 gen ứng viên và chú thích có liên quan của chúng. Hai gen liên quan đến GR và GI đã được xác định trên nhiễm sắc thể 16, bao gồm một miền protein kinase và một gen siêu họ oxygenase 2OG-Fe (II). Một gen ứng viên khác đã được xác định trên nhiễm sắc thể 6 (một miền giống plastocyanin) và nhiễm sắc thể 16 (một gen họ miền GRAS), tương ứng liên quan đến GI và GR. Hai gen liên quan đến RL đã được xác định trên nhiễm sắc thể 17, lần lượt được chú thích là “finger Zn trong ubiquitin-hydrolase và protein khác” và “họ BT1”. Ngoài ra, hai gen liên quan đến HL đã được xác định trên nhiễm sắc thể 9; một được chú thích là “chất ức chế invertase/pectin methylesterase thực vật”, và gen còn lại được xác định là gen có chức năng chưa rõ. Các gen liên quan đến HR đã được xác định trên nhiễm sắc thể 10 và 13 và được chú thích là “Chất vận chuyển kali K⁺/DNA polymerase alpha/epsilon subunit B”, “protein liên kết với vi ống”, “protein khóa kéo homeobox-leucine”, “acyltransferase”, “miền LSM”, “UDP-glucuronosyl và UDP-glucosyl transferase”, “miền WD” và “G-beta lặp lại” (Bảng 6).

3. THẢO LUẬN

Đậu nành, một loại cây trồng quan trọng trên toàn cầu, phải đối mặt với tình trạng giảm năng suất đáng kể do căng thẳng hạn hán. Việc phát triển các giống chịu hạn là rất quan trọng, với đậu nành đại là nguồn gen có giá trị. Chỉ số héo là một công cụ thực tế để đánh giá phản ứng của cây đối với căng thẳng hạn hán trên quy mô lớn [37,38]. Nghiên cứu này sử dụng các mẫu giống đậu nành đại từ Hàn Quốc, Trung Quốc, Nhật Bản và Nga [39], đảm bảo nền tảng di truyền đa dạng phù hợp với GWAS nhằm xác định chính xác các vùng bộ gen liên quan đến khả năng chịu hạn. Nghiên cứu hiện tại đã đánh giá phản ứng hạn hán của 187 và 135 mẫu giống đậu nành đại ở giai đoạn sinh dưỡng và nảy mầm. Tám mẫu giống đậu nành đại có giá trị LWS < 2,5 phù hợp để sử dụng trong các chương trình lai tạo nhằm phát triển các giống chịu hạn (Bảng S3).

Bảng S3. Danh sách 243 mẫu vật được sử dụng trong nghiên cứu này

TT	Tên mẫu giống	Quốc gia thu thập và tỉnh thu thập	Màu hoa	Màu vỏ hạt	LWS	GR	GI	RL	HL	HR
1	CHN13	China, Heilongjiang	Tím	Đen		80,00	0,89	3,52	0,57	0,16
2	CHN20	China, Jiangsu	Tím	Đen		50,00	0,56	3,00	1,30	0,33
3	CHN22				2,5					
4	CHN23	China, Jiangsu	Tím	Đen	4					
5	CHN25	China, Jiangsu			5	65,00	0,63	7,25	1,80	0,32
6	CHN28	China, Jilin	Tím	Đen	5	75,00	0,94	2,00	1,05	0,58
7	CHN30	China, Jilin	Tím	Đen		55,00	0,58	1,65	1,60	0,97
8	CHN38	China, Ningxia	Tím	Đen	4,5	40,00	0,42	4,25	1,25	0,29
9	CHN41	China, Shaanxi	Tím	Đen		30,00	0,32	1,25	1,00	0,80
10	CHN43	China, Shandong	Tím	Đen	3	45,00	0,58	1,50	0,88	0,42
11	CHN45	China, Shandong	Tím	Đen	3					
12	CHN46	China, Shandong	Tím	Đen	5	65,00	0,76	1,23	0,73	0,55
13	CHN49	China, Shanghai	Tím	Đen		3,33	0,00	0,50	0,00	0,00
14	CHN54	China, Shaanxi	Tím	Đen		90,00	0,95	5,35	1,95	0,37
15	CHN56	China, Shaanxi	Tím	Vàng		70,00	0,70	3,80	2,15	0,63
16	CHN60	China, Shaanxi	Tím	Đen		75,00	0,78	1,78	0,90	0,51
17	CHN64	China, Zhejiang			4,5	60,00	0,71	4,50	2,10	0,47

18	IT178480	South Korea, ,Chungbuk				40,00	0,40	3,88	1,30	0,45
19	IT182847	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5	55,00	0,66	2,00	1,45	0,73
20	IT182848	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen		15,00	0,22	2,30	1,00	0,49
21	IT182869				3					
22	IT182932	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	4					
23	IT182946	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5	70,00	0,70	4,10	2,05	0,50
24	IT182968				3					
25	IT182976	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5					
26	IT182993	South Korea, Gangwon			5					
27	IT183120	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5	75,00	0,84	3,25	2,15	0,46
28	IT184053	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5					
29	IT184108	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	3					
30	IT184146	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5					
31	IT184194	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5					
32	IT184254	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	4,5	75,00	0,78	2,10	1,40	0,43
33	IT184258	South Korea, Gyeongbuk	Tím	Đen	4	80,00	0,82	2,90	1,00	0,31
34	IT188367	South Korea, Gangwon	Tím	Đen		40,00	0,50	3,15	1,33	0,42
35	IT188404				4	50,00	0,50	1,00	NA	NA
36	IT188418				5	65,00	0,68	2,70	1,45	0,50
37	IT195544	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	4,5					
38	IT195562	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	5					
39	JPN10	Japan, Hokkaido	Tím	Đen		65,00	0,68	2,00	0,62	0,30
40	JPN12	Japan, Aomori	Tím	Đen	5					
41	JPN18	Japan, Akita	Tím	Đen	5	15,00	0,20	1,75	1,00	0,58
42	JPN23				3,5	40,00	0,40	3,15	1,00	0,72
43	JPN24	Japan, Toyama	Tím	Đen	5	65,00	0,68	2,65	1,05	0,40
44	JPN30	Japan, Fukui	Tím	Đen	4	25,00	0,29	3,30	0,43	0,13
45	JPN31	Japan, Nagano	Tím	Đen	5	50,00	0,56	2,75	1,05	0,42
46	JPN32	Japan, Nagano	Tím	Đen	3					
47	JPN38	Japan, Yamanashi	Tím	Đen	4					
48	JPN39	Japan, Saitama	Tím	Nâu		70,00	0,70	3,05	1,48	0,38
49	JPN40	Japan, Gifu	Tím	Đen		55,00	0,57	4,93	1,63	0,33
50	JPN43	Japan, Mie	Tím	Đen	2	70,00	0,79	3,95	1,05	0,28
51	JPN46	Japan, Hyogo	Tím	Đen	4					
52	JPN51	Japan, Hyogo	Tím	Đen	3					
53	JPN71					65,00	0,68	4,10	1,00	0,26
54	JPN8				4,5					
55	PI 342620 A	Russia, Primorye	Tím	Đen		60,00	0,60	4,05	1,78	0,43
56	PI 378685	Japan, Ehime	Tím	Đen		40,00	0,42	3,10	1,65	0,53
57	PI 378689	Japan, Niigata	Tím	Đen		70,00	0,70	4,60	1,55	0,36
58	PI 378691				5					
59	PI 507800 B	Russia, Primorye	Tím	Đen	4	40,00	0,43	3,53	1,40	0,45
60	YWS1016	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5					
61	YWS1023	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	4					
62	YWS1026	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	5					
63	YWS1029	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	4					

64	YWS1031	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen		25,00	0,31	4,45	1,50	0,34
65	YWS1034				5					
66	YWS1041	South Korea, Gyeongbuk	Tím	Đen		70,00	0,70	3,90	2,00	0,51
67	YWS1055				5					
68	YWS1064				5					
69	YWS1089					25,00	0,32	1,75	1,00	0,58
70	YWS1090					35,00	0,37	2,10	1,15	0,44
71	YWS1098	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	2,5					
72	YWS1099	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	5					
73	YWS1100	South Korea, Chungnam	Tím	Đen		80,00	0,80	3,10	1,10	0,32
74	YWS1113				3	70,00	0,70	1,08	0,60	0,40
75	YWS1114	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	4					
76	YWS1123	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	4	45,00	0,48	2,55	1,85	0,57
77	YWS1145				4	50,00	0,50	4,20	1,50	0,36
78	YWS1155	South Korea, Chungnam	Tím	Đen		96,67	1,12	3,00	1,00	0,26
79	YWS1158	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	4					
80	YWS1168	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	5					
81	YWS1175	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	5	70,00	0,84	3,00	1,38	0,58
82	YWS1176	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	5	75,00	0,78	2,65	2,05	0,74
83	YWS1178					20,00	0,28	1,38	1,25	0,58
84	YWS1190	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	5	40,00	0,42	1,40	1,35	0,82
85	YWS1207	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	1,5					
86	YWS121				2,5					
87	YWS1214	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen		80,00	0,84	2,45	1,45	0,59
88	YWS1216	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	4	65,00	0,68	1,50	1,48	0,98
89	YWS1225	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	3					
90	YWS1228				2,5					
91	YWS1229	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	2,5	40,00	0,42	3,03	1,58	0,72
92	YWS124				4					
93	YWS1242				3,5					
94	YWS1243				5					
95	YWS1244					55,00	0,82	3,15	1,48	0,47
96	YWS1247	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	4	65,00	0,83	2,95	1,70	0,52
97	YWS1263	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	5	60,00	0,67	2,80	1,30	0,40
98	YWS1273	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen		50,00	0,53	1,85	1,38	0,61
99	YWS1274	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5					
100	YWS1284	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5	80,00	0,80	1,75	1,05	0,56
101	YWS1285	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5	20,00	0,22	2,00	1,38	0,46
102	YWS1290	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	4	25,00	0,28	1,40	1,05	0,53
103	YWS1309					30,00	0,32	3,00	1,55	0,52
104	YWS1324	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	4					
105	YWS1338	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	5					
106	YWS137				5	60,00	0,68	2,00	1,00	0,50
107	YWS1376	South Korea, Gyeongbuk	Tím	Đen	4	65,00	0,75	3,50	1,58	0,49
108	YWS139				4,5					
109	YWS14				5					

110	YWS1446	South Korea, Gyeongnam	Trắng	Đen	4	50,00	0,50	4,00	1,25	0,43
111	YWS1447	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	3					
112	YWS1452				5					
113	YWS1457				5					
114	YWS1507	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	5					
115	YWS1512	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen		50,00	0,50	2,35	1,45	0,62
116	YWS1516				5					
117	YWS1518	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	5	50,00	0,53	2,93	1,55	0,46
118	YWS1533	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen		80,00	0,84	2,10	1,45	0,69
119	YWS1540	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	4,5					
120	YWS1549	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	3					
121	YWS1558				5	70,00	0,79	3,00	2,15	0,93
122	YWS156				4					
123	YWS1562	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	4					
124	YWS1577	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	5					
125	YWS1580	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	5					
126	YWS1582				4	40,00	0,67	4,93	1,48	0,30
127	YWS1588	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	5	70,00	0,70	2,90	1,80	0,59
128	YWS1592	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5	75,00	0,78	1,60	1,88	0,62
129	YWS1598	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5	56,67	0,71	4,50	2,05	0,46
130	YWS1605	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5					
131	YWS1607	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen		55,00	0,58	3,75	1,38	0,35
132	YWS1608	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5					
133	YWS1610	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5	85,00	0,88	3,50	1,12	0,35
134	YWS1618	South Korea, Jeju	Tím	Đen		75,00	0,78	2,60	1,40	0,52
135	YWS1620	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	4					
136	YWS1621				2					
137	YWS17					60,00	0,60	5,60	1,45	0,25
138	YWS177				3					
139	YWS192				2	35,00	0,44	3,50	1,63	0,42
140	YWS193				5	75,00	0,78	4,18	1,25	0,32
141	YWS199				5	65,00	0,68	3,65	1,57	0,37
142	YWS204				5					
143	YWS219				5					
144	YWS229	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	4	30,00	0,40	3,75	1,00	0,27
145	YWS255	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	3					
146	YWS26				5	75,00	0,79	2,48	1,00	0,40
147	YWS265	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	3					
148	YWS276	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen		60,00	0,71	3,38	1,38	0,41
149	YWS294	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	3					
150	YWS298	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	5					
151	YWS3				5	70,00	0,80	4,50	1,70	0,47
152	YWS300				3	45,00	0,58	1,00	0,88	0,50
153	YWS303				4	45,00	0,51	3,15	1,45	0,44
154	YWS311				5					
155	YWS318				4,5					

156	YWS331	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	4	45,00	0,48	3,50	1,95	0,56
157	YWS333				4,5					
158	YWS34				4					
159	YWS341	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	2,5	30,00	0,32	3,48	1,55	0,41
160	YWS347	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	5					
161	YWS355	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	5					
162	YWS361				5					
163	YWS366	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen		70,00	0,70	3,30	1,45	0,38
164	YWS368	South Korea, Chungbuk	Tím	Đen	5	55,00	0,64	1,80	0,50	0,50
165	YWS371					60,00	0,68	1,95	1,00	0,60
166	YWS39					90,00	0,90	3,75	1,75	0,44
167	YWS393				5					
168	YWS4				5					
169	YWS40				5					
170	YWS412				5					
171	YWS419	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5	35,00	0,39	2,20	1,00	0,45
172	YWS426				5	85,00	0,98	1,75	1,40	0,56
173	YWS427	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5	55,00	0,58	3,10	2,00	0,68
174	YWS432	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5					
175	YWS438	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5	85,00	0,92	3,00	1,48	0,56
176	YWS459	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5					
177	YWS471				4					
178	YWS474	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5	65,00	0,80	3,00	1,75	0,58
179	YWS476				1,5					
180	YWS477	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	4					
181	YWS479	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5	15,00	0,18	2,00	1,75	0,50
182	YWS483	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	5	70,00	0,74	3,13	2,15	0,93
183	YWS505	South Korea, Gangwon	Tím	Đen	4	70,00	0,76	3,15	1,65	0,53
184	YWS519	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen		75,00	0,79	4,75	2,08	0,47
185	YWS525				5					
186	YWS534	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	4,5					
187	YWS538	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5					
188	YWS55					85,00	0,88	3,55	1,98	0,56
189	YWS555				5					
190	YWS560	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	2	80,00	0,75	4,58	0,88	0,20
191	YWS565	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5					
192	YWS574					30,00	0,43	3,20	0,80	0,25
193	YWS580	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5	55,00	0,61	2,33	1,33	0,63
194	YWS583				5	5,00	0,05	1,45	NA	NA
195	YWS586	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5	75,00	1,00	4,00	2,23	0,60
196	YWS59				4					
197	YWS6				5	60,00	0,71	4,85	1,60	0,30
198	YWS61				5	70,00	0,88	2,80	1,60	0,57
199	YWS649	South Korea, Jeju	Tím	Đen		60,00	0,87	1,45	1,30	0,76
200	YWS65					75,00	0,91	3,63	1,55	0,41
201	YWS662	South Korea, Jeju	Tím	Đen	3,5					

202	YWS663					55,00	0,62	2,12	1,10	0,52
203	YWS678	South Korea, Jeju	Tím	Đen	2,5					
204	YWS68					60,00	0,75	2,60	1,20	0,46
205	YWS681	South Korea, Jeju	Tím	Đen	5	70,00	0,74	3,00	1,33	0,39
206	YWS689				5					
207	YWS709				3	50,00	0,53	1,55	1,05	0,49
208	YWS726	South Korea, Chungnam			5	70,00	0,70	3,10	1,10	0,35
209	YWS729	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	3					
210	YWS738	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	5	80,00	0,87	3,50	1,75	0,66
211	YWS74				5					
212	YWS740	South Korea, Chungnam			3,5	45,00	0,50	1,80	1,19	0,54
213	YWS742				5	75,00	0,73	2,08	0,88	0,50
214	YWS75				4					
215	YWS751	South Korea, Chungnam	Tím	Đen		45,00	0,48	1,75	1,00	0,55
216	YWS761	South Korea, Chungnam	Tím	Đen	3					
217	YWS765				5					
218	YWS769	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	4					
219	YWS785	South Korea, Jeonbuk			5					
220	YWS828	South Korea, Gangwon	Tím	Đen		65,00	0,68	3,65	2,58	0,80
221	YWS844				2					
222	YWS847				5					
223	YWS856					80,00	0,89	2,83	1,25	0,44
224	YWS870				5					
225	YWS871				3					
226	YWS876	South Korea, Gyeongbuk	Tím	Đen	5	45,00	0,48	3,00	1,80	0,51
227	YWS88				5	60,00	0,75	1,45	1,00	0,69
228	YWS885	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen	5					
229	YWS900	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen		80,00	0,80	3,95	2,83	0,71
230	YWS909	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen		20,00	0,20	2,38	1,38	0,58
231	YWS91				1	93,33	0,90	3,40	1,00	0,29
232	YWS916	South Korea, Gyeongnam	Tím	Đen		75,00	0,86	6,00	0,97	0,16
233	YWS923	South Korea, Gyeonggi	Tím	Đen	5					
234	YWS932				5	40,00	0,40	2,25	1,00	0,37
235	YWS939	South Korea, Gyeongbuk	Tím	Đen		50,00	0,61	4,00	1,85	0,50
236	YWS941	South Korea, Gyeongbuk	Tím	Đen	5					
237	YWS950	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen		50,00	0,46	4,08	1,88	0,50
238	YWS957	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen		55,00	0,60	3,75	2,35	0,59
239	YWS959	South Korea, Jeonnam	Tím	Đen	5					
240	YWS97					70,00	0,74	4,50	1,53	0,34
241	YWS985	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5					
242	YWS988	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen	5	80,00	0,95	4,05	1,90	0,49
243	YWS992	South Korea, Jeonbuk	Tím	Đen		55,00	0,59	5,00	1,50	0,34

Một số quần thể đậu nành trồng khác nhau đã được sử dụng để xác định các vùng nhiễm sắc thể liên quan đến các tính trạng chịu hạn. Hwang và cs [25] đã xác định được chín nhóm QTL liên quan đến héo chậm nằm trên nhiễm sắc thể 2, 5, 11, 14, 17 và 19, và hai siêu QTL trên nhiễm sắc thể 11 và 19 được xác định là QTL chính. Tuy nhiên, các QTL riêng lẻ trong các nhóm này không ổn định liên tục trong những năm khác nhau [24].

Kwon và cs [40] đã xác định một vùng QTL trên nhiễm sắc thể 10 (*qSW_Gm10*) liên quan đến tốc độ thoát hơi nước hạn chế và độ nhạy cảm với chất ức chế aquaporin bạc nitrat (AgNO_3) chồng lấn một phần với một QTL đã báo cáo trước đó [41]. QTL ổn định này (*qSW_Gm10*) tương tác với một locus mới trên nhiễm sắc thể 1 (*qSW_Gm01*). Hiệu ứng kết hợp của các alen của chúng vượt quá tổng hiệu ứng cộng gộp riêng lẻ của chúng, dẫn đến các giá trị kiểu hình được cải thiện đối với điểm héo và hàm lượng ẩm của lá. Theo Chamarthi và cs [42], các SNP quan trọng trên nhiễm sắc thể 10 và nhiễm sắc thể 11 đã được xác định liên tục đối với khả năng chịu hạn trong các môi trường khác nhau. Một SNP quan trọng khác liên quan đến tình trạng héo tán cây đã được xác định trên nhiễm sắc thể 10 [29]. Trong nghiên cứu này, các SNP quan trọng trên nhiễm sắc thể 10 và 11 có tác động di truyền quan trọng đến tình trạng héo lá ở giai đoạn sinh dưỡng (Bảng 4). Một số ít nghiên cứu GWAS đã được thực hiện bằng cách sử dụng các giống đậu nành đại cho LWS của chúng trong điều kiện hạn hán. Do đó, những phát hiện của nghiên cứu này giúp chúng ta hiểu rõ hơn về các cơ chế di truyền chi phối khả năng chịu hạn ở đậu nành đại trong giai đoạn sinh dưỡng.

Chúng tôi đã sử dụng cơ sở dữ liệu SoyBase để xác định các gen tiềm năng liên quan đến các SNP quan trọng. Tổng cộng có 22 gen được chú thích được tìm thấy trong phạm vi 20 kbp của các SNP quan trọng liên quan đến tất cả các tính trạng liên quan đến hạn hán đã được thử nghiệm (Bảng 6). Nhiều gen trong số này mã hóa các protein liên quan đến phản ứng căng thẳng của thực vật, chẳng hạn như vùng dimer hóa đầu C của họ hAT, superoxide dismutase đồng/kẽm, miền liên kết DNA helix-loop-helix và protein finger kẽm. Ở đậu nành, dữ liệu biểu hiện gen đã chứng minh sự tham gia của *GmCCS7/GmCCS24* (mã hóa chaperone đồng cho superoxide dismutase) trong việc kiểm soát khả năng chịu hạn. Hoạt động của enzyme SOD và các enzyme chống oxy hóa khác tăng lên đã được quan sát thấy ở rễ lông đậu nành biểu hiện *GmCCS7/GmCCS24*, cho thấy khả năng chống chịu hạn hán tốt hơn [43]. Mức độ cao của dehydroascorbate reductase và chloroplastic superoxide dismutase [Cu-Zn] có thể cung cấp khả năng phòng vệ liên quan đến chất chống oxy hóa chống lại thiệt hại do hạn hán ở lúa [44,45] và khoai lang [46]. Một gen tiềm năng liên quan đến LWS được tìm thấy là gen tương đồng *Glyma.11g192700*, được chú thích là “superoxide dismutase đồng/kẽm (SODC)” và nằm trong cùng một vùng với một QTL do Hwang và cs phát hiện [25], *mqCanopy wilt-009*. Do đó, *Glyma.11g192700* có thể liên quan đến khả năng chịu hạn ở giai đoạn sinh dưỡng trong nghiên cứu này. Cần nghiên cứu thêm để xác nhận các gen chịu hạn được xác định trong nghiên cứu này bằng cách tiến hành phân tích liên kết và so sánh mức độ biểu hiện của các gen này ở cây đậu nành được xử lý hạn và được kiểm soát hạn.

Nảy mầm của hạt là một giai đoạn quan trọng trong quá trình sinh trưởng tổng thể của cây trồng và cuối cùng là sản lượng cây trồng. GR đậu nành trong điều kiện hạn hán là một tính trạng định lượng và một số nghiên cứu đã kiểm tra phản ứng hạn hán của đậu nành ở giai đoạn nảy mầm [28,30,31,32]. Liu và cs [28] đã báo cáo mười một SNP cho thấy mối liên hệ đáng kể với GR trên nhiễm sắc thể 5, 6, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 19 và 20 và ba SNP có liên quan đáng kể với RL trên nhiễm sắc thể 9, 17 và 20 từ phân tích GWAS trên 259 đậu nành được trồng. Zhao và cs [30] đã tiến hành phân tích GWAS trên 410 mẫu đậu nành và xác định được tám SNP liên quan đến GR tương đối trên nhiễm sắc thể 1, 4, 5, 8, 11 và 20. Một nghiên cứu khác đã xác định được 28 SNP có liên kết đáng kể với GR trong hai môi trường khác nhau trên nhiễm sắc thể 3, 4 và 18 [31]. Ngoài ra, Sun và cs [32] đã xác định được năm SNP trên nhiễm sắc thể 1, 2, 6, 10 và 20 có liên quan đến chỉ số nảy mầm và một SNP trên nhiễm sắc thể 10 có liên quan đến chỉ số RL

chính. Do đó, dựa trên các nghiên cứu GWAS xem xét đậu nành ở giai đoạn nảy mầm trong điều kiện hạn hán, các QTL liên quan đến kiểu hình GR và RL bị ảnh hưởng bởi các nền tảng di truyền khác nhau của một nhóm liên kết. Ngoài ra, không có báo cáo nào về phân tích GWAS về các mẫu đậu nành đại kiểm tra khả năng chịu hạn ở giai đoạn nảy mầm. Trong nghiên cứu này, năm giá trị chỉ số kiểu hình cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa 135 mẫu đậu nành đại (Hình 1). Phân tích GWAS của chúng tôi đã xác định được chín SNP quan trọng liên quan đến khả năng chịu hạn ở đậu nành đại ở giai đoạn nảy mầm: hai liên quan đến GR trên nhiễm sắc thể 16; hai liên quan đến GI trên nhiễm sắc thể 6 và một liên quan đến GI trên nhiễm sắc thể 16; một liên quan đến RL trên nhiễm sắc thể 17; một liên quan đến HL trên nhiễm sắc thể 9 và hai liên quan đến HR trên nhiễm sắc thể 10 và 13 (Bảng 5). Các vùng bộ gen được xác định này khác với các vùng bộ gen của các nghiên cứu GWAS đã báo cáo trước đây về đậu nành trồng [28,30,31,32]. Ngoài ra, các biện pháp kiểm soát di truyền của GR trong điều kiện hạn hán khác với các biện pháp kiểm soát của RL dựa trên kết quả GWAS ở giai đoạn nảy mầm của nghiên cứu này.

Gen 2-OGD (Pn2-ODD1) đã được Wang và cs phát hiện trong *Pohlia nutans* [47]. Việc biểu hiện quá mức gen này đã tăng cường khả năng đối phó của cây với căng thẳng do độ mặn và hạn hán ở *Arabidopsis* và *Physcomitrella patens*. Phản ứng với căng thẳng phi sinh học có thể bị ảnh hưởng đáng kể bởi 2-OGD, như Chelliah và cs đã chứng minh [48]. Gen mã hóa siêu họ oxy hóa 2OG-Fe (II), *Glyma.16g128700*, đã được xác định là ứng cử viên tiềm năng cho các tính trạng GR và GI. Tuy nhiên, các cơ chế di truyền liên quan đến RL và HL dưới tác động của hạn hán lại khác với các cơ chế liên quan đến GR và GI trong nghiên cứu này. Một protein finger kẽm C_2H_2 hỗ trợ thực vật phản ứng với căng thẳng phi sinh học bằng cách tăng axit abscisic (ABA), proline, carbohydrate và diệp lục hoặc giảm tốc độ mất nước [49], và gen protein finger kẽm đậu nành *GmRZFP1* có thể liên quan đến các con đường truyền tín hiệu liên quan đến phản ứng với hạn hán, muối cao, nhiệt độ cao, nhiệt độ thấp, ethylene và tác nhân gây căng thẳng ABA [50]. Trong nghiên cứu này, *Glyma.17g218300* (finger kẽm trong hydrolase ubiquitin và các protein khác) được phát hiện là một gen tiềm năng ảnh hưởng đến RL trong điều kiện hạn hán ở đậu nành. Cần có thêm nghiên cứu để xác nhận vai trò của các gen đã xác định trong khả năng chịu hạn ở cả giai đoạn sinh dưỡng hoặc nảy mầm. Việc so sánh mức độ biểu hiện gen giữa cây đậu nành chịu hạn và cây đậu nành đối chứng sẽ rất quan trọng trong việc xác nhận sự tham gia của chúng. Những phát hiện này dự kiến sẽ cung cấp những hiểu biết sâu sắc hơn về các cơ chế điều hòa chi phối phản ứng hạn hán ở đậu nành.

Nghiên cứu trước đây của chúng tôi chỉ ra rằng các đánh giá liên quan đến hạn hán ở giai đoạn sinh dưỡng và sinh sản dường như không tương quan với GR và RL ở giai đoạn nảy mầm trong điều kiện hạn hán [36]. Ví dụ, các mẫu đậu nành đại chịu hạn ở giai đoạn sinh dưỡng và sinh sản cho thấy GR và RL thấp hơn đáng kể ở giai đoạn nảy mầm trong điều kiện hạn hán so với điều kiện đối chứng. Tương tự như vậy, ở lúa mạch [51], không có tương quan giữa các đánh giá về khả năng chịu hạn ở giai đoạn nảy mầm và sinh dưỡng. Trong nghiên cứu này, các vùng bộ gen liên quan đến các phép đo kiểu hình ở giai đoạn nảy mầm khác với các vùng liên quan đến LWS, xác nhận các phát hiện trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi [36] (Bảng 4 và Bảng 5). Khả năng chịu hạn là một tính trạng phức tạp được chi phối bởi nhiều gen. Việc hiểu được cơ sở di truyền của khả năng chịu hạn ở đậu nành đại ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau có tiềm năng tăng cường khả năng phục hồi ở các giống đậu nành trồng. Để xác nhận các vùng bộ gen từ kết quả

GWAS, cần phải phân tích liên kết bằng cách sử dụng các quần thể lập bản đồ lưỡng tính, có thể được phát triển từ các mẫu giống đậu nành đại chịu hạn trong nghiên cứu này.

Tóm lại, nghiên cứu này đã đánh giá 187 và 135 mẫu giống *G. soja* về khả năng chịu hạn ở giai đoạn sinh dưỡng và nảy mầm. Phân tích phương sai (ANOVA) đã xác định được sự khác biệt đáng kể giữa các kiểu gen trong các tính trạng liên quan đến hạn hán, bao gồm LWS, GR, GI, RL, HL và HR. Phân tích GWAS đã được thực hiện bằng cách sử dụng 8.775.931 SNP. Đã phát hiện ra tám và chín SNP quan trọng liên quan đến khả năng chịu hạn ở giai đoạn sinh dưỡng và nảy mầm. Đậu nành đại có SNP trên nhiễm sắc thể 10 và 11 tạo ra điểm héo lá thấp hơn so với các tổ hợp alen khác. Do đó, các SNP này được coi là đóng vai trò quan trọng trong tác động di truyền đến tình trạng héo lá ở giai đoạn sinh dưỡng. Ngoài ra, các vùng bộ gen liên quan đến các phép đo kiểu hình ở giai đoạn nảy mầm khác với các vùng liên quan đến LWS, hỗ trợ cho các phát hiện trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi rằng có thể không có mối tương quan mạnh mẽ giữa các gen ảnh hưởng đến kiểu hình được đo ở giai đoạn nảy mầm và giai đoạn sinh dưỡng. Việc xác định các SNP liên quan đến GR, GI, RL và HL trong nghiên cứu này chỉ ra rằng một cơ sở di truyền khác có liên quan đến phản ứng căng thẳng hạn hán của RL và HL so với GR và GI. Những phát hiện này sẽ hữu ích cho các chương trình chọn giống hỗ trợ bằng marker nhằm tăng cường khả năng chịu hạn ở đậu nành.

4. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

4.1. Vật liệu cây trồng

Nghiên cứu này sử dụng một nhóm đa dạng các mẫu giống đậu nành đại có nguồn gốc từ Trung tâm Đa dạng sinh học nông nghiệp quốc gia thuộc Tổng cục Phát triển Nông thôn tại Jeonju, Hàn Quốc (<https://genebank.rda.go.kr/>, truy cập ngày 1 tháng 2 năm 2024) (Bảng S3). 187 mẫu giống đậu nành đại đã được chọn để đánh giá phản ứng kiểu hình đối với căng thẳng hạn hán ở giai đoạn sinh dưỡng và 135 mẫu giống đậu nành đại đã được chọn để đánh giá phản ứng kiểu hình đối với căng thẳng hạn hán ở giai đoạn nảy mầm.

4.2. Đánh giá kiểu hình

4.2.1. Điểm héo lá (LWS) của đậu nành đại ở giai đoạn sinh trưởng

Phân tích kiểu hình của các mẫu giống được xử lý chịu hạn đã được tiến hành trong điều kiện nhà kính tại Đại học Quốc gia Kyungpook, Daegu, Hàn Quốc (36°06'45.8"N 128°38'33.4"E). LWS được đo bằng phương pháp khay nhựa do Nguyen và cs [36] mô tả. Trong thí nghiệm, ban đầu 5 hạt giống được trồng trong mỗi lỗ khay nhựa (46 × 23 × 11 cm) chứa đầy đất (Hanareum; Shinsung Mineral, Goesan, Hàn Quốc). Sau đó, cây con được tỉa thưa còn hai cây trên một hốc, mỗi hốc đại diện cho một lần lặp lại duy nhất. Thí nghiệm được tiến hành theo cặp trong điều kiện được kiểm soát với chu kỳ 14 giờ sáng và 10 giờ tối. Cây đậu nành ở giai đoạn V2, đặc trưng bởi hai lá có ba lá chét, đã chịu điều kiện hạn hán trong bảy ngày và khả năng chịu hạn được đánh giá bằng LWS cho mỗi lần công thức. LWS dao động từ 1 – 5; trong đó 1 biểu thị không héo, 2 biểu thị héo 1 – 25%, 3 biểu thị héo 26 – 50%, 4 biểu thị héo 51 – 75% và 5 biểu thị toàn bộ cây đã chết. Ba thí nghiệm lặp lại đã được tiến hành (từ ngày 29 tháng 8 đến ngày 21 tháng 9 năm 2023, từ ngày 1 tháng 9 đến ngày 25 tháng 9 năm 2023 và từ ngày 4 tháng 9 đến ngày 30 tháng 9 năm 2023) và trung bình các LWS đã được sử dụng để phân tích GWAS.

4.2.2. Các tính trạng liên quan đến hạn hán ở đậu nành đại ở giai đoạn nảy mầm

Tổng cộng 135 mẫu giống *G. soja* do Tổng cục Phát triển Nông thôn, Jeonju, Hàn Quốc phát triển đã được sử dụng để đánh giá phản ứng kiểu hình đối với khả năng chịu hạn ở giai đoạn nảy mầm [52]. Các điều kiện hạn hán được tạo ra bằng cách xử lý hạt giống nảy mầm bằng 12% PEG 6000, như mô tả của Nguyen và cs [36]. Trong thí nghiệm này, 10 hạt giống khỏe mạnh từ mỗi mẫu giống được đặt trên giấy lọc ướt trong đĩa Petri đường kính 9 cm. Các đĩa Petri này được đổ đầy 10 mL dung dịch PEG 6000 hoặc nước cất (để kiểm soát). Hạt giống có rễ dài ≥ 1 cm được coi là đã nảy mầm. Từ mỗi mẫu giống, 5 hạt giống có rễ dài nhất được chọn và chiều dài rễ (RL), chiều dài hạ mầm (HL) của chúng được đo. Tỷ lệ HL so với RL, được gọi là HR, cũng được ghi lại. Thí nghiệm nảy mầm được lặp lại ba lần để xác định tỷ lệ nảy mầm chung. Tỷ lệ nảy mầm (GR) và chỉ số nảy mầm (GI) được tính bằng các phương trình sau:

$$GR = (\text{số hạt nảy mầm})/(\text{số hạt gieo}) \times 100$$

$$GI = GR_d/GR_n$$

trong đó: GR_d và GR_n lần lượt biểu thị GR trong điều kiện hạn hán (PEG 12%) và điều kiện đối chứng (nước cất).

4.3. Phân tích GWAS

Để xác định các locus di truyền kiểm soát khả năng chịu hạn ở giai đoạn sinh trưởng và nảy mầm, chúng tôi đã thu thập dữ liệu trình tự toàn bộ hệ gen (WGS) cho 187 và 135 giống đậu nành đại [53]. Dữ liệu giải trình tự này đã được lập bản đồ vào bộ gen tham chiếu Wm82.a2.v1 của đậu nành Williams 82 [54]. Các SNP có MAF dưới 5% đã được loại bỏ để loại bỏ các SNP chất lượng thấp.

Một phân tích GWAS đã được tiến hành để xác định các locus kiểm soát phản ứng hạn hán, sau đó là xác định gen ứng viên. Phương pháp MLM đã được sử dụng để thực hiện phân tích liên kết. MLM được áp dụng để đánh giá tập dữ liệu bằng gói Công cụ tích hợp dự đoán và liên kết bộ gen (GAPIT) trong R [55]. Biểu đồ Manhattan được vẽ bằng gói R qqman [56]. Dựa trên kết quả MLM, phương pháp FarmCPU được sử dụng để phân tích riêng các SNP khi xem xét nhiễm sắc thể trong GAPIT. Giá trị ngưỡng $-\log_{10}(p)$ kết hợp với hiệu chỉnh Bonferroni được áp dụng để xác định mối liên hệ quan trọng giữa các SNP và các tính trạng kiểu hình.

4.4. Xác định gen ứng viên tiềm năng

Các SNP quan trọng được sử dụng để xác định các gen ứng viên được cho là có ảnh hưởng đến các tính trạng liên quan đến hạn hán bằng cách sử dụng phiên bản Wm82.a2.v1 lắp ráp bộ gen *G. max* (www.soybase.org, truy cập vào ngày 1 tháng 2 năm 2024) [54]. Các gen nằm gần các SNP có liên quan đáng kể đến các tính trạng liên quan đến hạn hán được coi là ứng viên tiềm năng nếu chúng nằm trong phạm vi 20 kbp của SNP. Những khoảng cách này được chọn để phản ánh khoảng cách trung bình giữa các SNP dựa trên sự suy giảm mất cân bằng liên kết ở đậu nành đại. Các gen ứng viên đã được xác định và phân loại để liên quan đến phản ứng liên quan đến khả năng chịu hạn.

4.5. Phân tích thống kê

Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng SPSS (IBM SPSS Inc., Chicago, IL, Hoa Kỳ). Phân tích phương sai (ANOVA) được tiến hành và thống kê mô tả, bao gồm giá trị trung bình và độ lệch chuẩn, được tính toán cho từng tính trạng. Phân phối tần suất kiểu hình của các tính trạng phản ứng với hạn hán được tạo ra và mức độ liên kết giữa các tính

trạng được phân tích dựa trên tương quan của Pearson [57]. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị tính trạng giữa các nhóm SNP được đánh giá bằng *t*-tests.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ravelombola, W.S.; Qin, J.; Shi, A.; Nice, L.; Bao, Y.; Lorenz, A.; Chen, S. Genome-wide association study and genomic selection for tolerance of soybean biomass to soybean cyst nematode infestation. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0235089. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Cai, J.S.; Feng, J.Y.; Ni, Z.J.; Ma, R.H.; Thakur, K.; Wang, S.; Wei, Z.J. An update on the nutritional, functional, sensory characteristics of soy products, and applications of new processing strategies. *Trends Food Sci. Tech.* **2021**, *112*, 676–689. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
3. Frías, E.; Iglesias, Y.; Alvarez-Ordóñez, A.; Prieto, M.; González-Raurich, M.; López, M. Evaluation of cold atmospheric pressure plasma (CAPP) and plasma-activated water (PAW) as alternative non-thermal decontamination technologies for tofu: Impact on microbiological, sensorial and functional quality attributes. *Food Res. Int.* **2020**, *129*, 108859. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Ayman, E.S.; Sorour, S.; Morsi, A.; Islam, M.S.; Ueda, A.; Barutçular, C.; Saneoka, H. Role of osmoprotectants and compost application in improving water stress tolerance in soybean (*Glycine max* L.). *Int. J. Curr. Res.* **2016**, *8*, 25949–25954. [[Google Scholar](#)]
5. Waqar, A.; Bano, A.; Ajmal, M. Effects of PGPR bioinoculants, hydrogel and biochar on growth and physiology of soybean under drought stress. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2022**, *53*, 826–847. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
6. Sadeghi, L.; Rafiee, M.; Daneshian, J. Effect of drought stress and aerosols on yield and some physiological traits of soybean (*Glycine max* L.). *J. Plant Process Function* **2021**, *10*, 263–278. Available online: <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1431-en.html> (accessed on 1 February 2024).
7. Basal, O.; Szabó, A.; Veres, S. Physiology of soybean as affected by PEG-induced drought. *Curr. Plant Biol.* **2020**, *22*, 100135. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
8. Cui, Y.; Ning, S.; Jin, J.; Jiang, S.; Zhou, Y.; Wu, C. Quantitative lasting effects of drought stress at a growth stage on soybean evapotranspiration and aboveground biomass. *Water* **2020**, *13*, 18. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
9. Bazzler, S.K.; Purcell, L.C. Identification of quantitative trait loci associated with canopy temperature in soybean. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 17604. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Sallam, A.; Alqudah, A.M.; Dawood, M.F.; Baenziger, P.S.; Börner, A. Drought stress tolerance in wheat and barley: Advances in physiology, breeding and genetics research. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 31–37. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Shen, Y.; Li, L.; Du, P.; Xing, X.; Gu, Z.; Yu, Z.; Tao, Y.; Jiang, H. Appropriate Drought Training Induces Optimal Drought Tolerance by Inducing Stepwise H₂O₂ Homeostasis in Soybean. *Plants* **2024**, *13*, 1202. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Foyer, C.H.; Lam, H.M.; Nguyen, H.T.; Siddique, K.H.; Varshney, R.K.; Colmer, T.D.; Cowling, W.; Bramley, H.; Mori, T.A.; Hodgson, J.M. Neglecting legumes has

compromised human health and sustainable food production. *Nat. Plants* **2016**, *2*, 16112. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

13. King, C.A.; Purcell, L.C.; Brye, K.R. Differential wilting among soybean genotypes in response to water deficit. *Crop Sci.* **2009**, *49*, 290–298. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

14. Ries, L.L.; Purcell, L.C.; Carter, T.E., Jr.; Edwards, J.T.; King, C.A. Physiological traits contributing to differential canopy wilting in soybean under drought. *Crop Sci.* **2012**, *52*, 272–281. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

15. Sinclair, T.R.; Zwieniecki, M.A.; Holbrook, N.M. Holbrook. Low leaf hydraulic conductance associated with drought tolerance in soybean. *Physiol. Plant.* **2008**, *132*, 446–451. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

16. Devi, M.J.; Sinclair, T.R. Nitrogen Fixation Drought Tolerance of the Slow-Wilting Soybean PI 471938. *Crop Sci.* **2013**, *53*, 2072–2078. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

17. Du, W.; Wang, M.; Fu, S.; Yu, D. Mapping QTLs for seed yield and drought susceptibility index in soybean (*Glycine max* L.) across different environments. *J. Genet. Genom.* **2009**, *36*, 721–731. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

18. Du, W.; Yu, D.; Fu, S. Detection of quantitative trait loci for yield and drought tolerance traits in soybean using a recombinant inbred line population. *J. Integr. Plant Biol.* **2009**, *51*, 868–878. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

19. Abdel-Haleem, H.; Lee, G.J.; Boerma, R.H. Identification of QTL for increased fibrous roots in soybean. *Theor. Appl. Genet.* **2011**, *122*, 935–946. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

20. Mian, M.A.R.; Bailey, M.A.; Ashley, D.A.; Wells, R.; Carter, T.E., Jr.; Parrott, W.A.; Boerma, H.R. Molecular markers associated with water use efficiency and leaf ash in soybean. *Crop Sci.* **1996**, *36*, 1252–1257. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

21. Specht, J.E.; Chase, K.; Macrander, M.; Graef, G.L.; Chung, J.; Markwell, J.P.; Germann, M.; Orf, J.H.; Lark, K.G. Soybean response to water. A QTL analysis of drought tolerance. *Crop Sci.* **2001**, *41*, 493–509. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

22. Abdel-Haleem, H.; Carter, T.E.; Purcell, L.C.; King, C.A.; Ries, L.L.; Chen, P.; Schapaugh, W., Jr.; Sinclair, T.R.; Boerma, H.R. Mapping of quantitative trait loci for canopy-wilting trait in soybean (*Glycine max* L. Merr). *Theor. Appl. Genet.* **2012**, *125*, 837–846. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

23. Charlson, D.V.; Bhatnagar, S.; King, C.A.; Ray, J.D.; Sneller, C.H.; Carter, T.E.; Purcell, L.C. Polygenic inheritance of canopy wilting in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Theor. Appl. Genet.* **2009**, *119*, 587–594. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

24. Hwang, S.; King, C.A.; Chen, P.; Ray, J.D.; Cregan, P.B.; Carter, T.E., Jr.; Li, Z.; Abdel-Haleem, H.; Matson, K.; Schapaugh, W., Jr.; and cs Confirmation of delayed canopy wilting QTLs from multiple soybean mapping populations. *Theor. Appl. Genet.* **2015**, *128*, 2047–2065. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

25. Hwang, S.; King, C.A.; Chen, P.; Ray, J.D.; Cregan, P.B.; Carter, T.E.; Purcell, L.C. Meta-analysis to refine map position and reduce confidence intervals for delayed-canopy-wilting QTLs in soybean. *Mol. Breed.* **2016**, *36*, 91. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

26. Kaler, A.S.; Ray, J.D.; Schapaugh, W.T.; King, C.A.; Purcell, L.C. Genome-wide association mapping of canopy wilting in diverse soybean genotypes. *Theor. Appl. Genet.* **2017**, *130*, 2203–2217. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Steketee, C.J.; Schapaugh, W.T.; Carter, T.E., Jr.; Li, Z. Genome-wide association analyses reveal genomic regions controlling canopy wilting in soybean. *G3 Genes Genomes Genet.* **2020**, *10*, 1413–1425. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Liu, Z.; Li, H.; Gou, Z.; Zhang, Y.; Wang, X.; Ren, H.; Wen, H.; Kang, B.K.; Li, Y.; Yu, L.; và cs Genome-wide association study of soybean seed germination under drought stress. *Mol. Genet. Genom.* **2020**, *295*, 661–673. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Saleem, A.; Roldán-Ruiz, I.; Aper, J.; Muylle, H. Genetic control of tolerance to drought stress in soybean. *BMC Plant Biol.* **2022**, *22*, 615. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
30. Zhao, X.; Liu, Z.; Li, H.; Zhang, Y.; Yu, L.; Qi, X.; Gao, H.; Li, Y.; Qiu, L. Identification of Drought-Tolerance Genes in the Germination Stage of Soybean. *Biology* **2022**, *11*, 1812. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
31. Zhang, W.; Xu, W.; Li, S.; Zhang, H.; Liu, X.; Cui, X.; Song, L.; Zhu, Y.; Chen, X.; Chen, H. GmAOC4 modulates seed germination by regulating JA biosynthesis in soybean. *Theor. Appl. Genet.* **2022**, *135*, 439–447. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Sun, M.; Li, Y.; Zheng, J.; Wu, D.; Li, C.; Li, Z.; Zang, Z.; Zhang, Y.; Fang, Q.; Li, W.; và cs A nuclear factor YB transcription factor, GmNFYB17, regulates resistance to drought stress in soybean. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 7242. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Dhanapal, A.P.; Ray, J.D.; Singh, S.K.; Hoyos-Villegas, V.; Smith, J.R.; Purcell, L.C.; Fritschi, F.B. Genome-wide association analysis of diverse soybean genotypes reveals novel markers for nitrogen traits. *Plant Genome.* **2015**, *8*, 1–15. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Kaler, A.S.; Ray, J.D.; Schapaugh, W.T.; Asebedo, A.R.; King, C.A.; Gbur, E.E.; Purcell, L.C. Association mapping identifies loci for canopy temperature under drought in diverse soybean genotypes. *Euphytica* **2018**, *214*, 135. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
35. Chamarthi, S.K.; Kaler, A.S.; Abdel-Haleem, H.; Fritschi, F.B.; Gillman, J.D.; Ray, J.D.; Smith, J.R.; Purcell, L.C. Identification of genomic regions associated with the plasticity of carbon 13 ratio in soybean. *Plant Genome* **2023**, *16*, e20284. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Nguyen, T.C.; Jo, H.; Tran, H.A.; Lee, J.; Lee, J.-D.; Kim, J.H.; Seo, H.S.; Song, J.T. Assessment of Drought Responses of Wild Soybean Accessions at Different Growth Stages. *Agronomy* **2024**, *14*, 471. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
37. Sloane, R.J.; Patterson, R.P.; Carter, T.E., Jr. Field drought tolerance of a soybean plant introduction. *Crop Sci.* **1990**, *30*, 118–123. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
38. Kunert, K.; Vorster, B.J. In search for drought-tolerant soybean: Is the slow-wilting phenotype more than just a curiosity? *J. Exp. Bot.* **2020**, *71*, 457–460. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

39. Kim, W.J.; Kang, B.H.; Moon, C.Y.; Kang, S.; Shin, S.; Chowdhury, S.; Jeong, S.-C.; Choi, M.-S.; Park, S.-K.; Moon, J.-K.; và cs Genome-Wide Association Study for Agronomic Traits in Wild Soybean (*Glycine soja*). *Agronomy* **2023**, *13*, 739. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
40. Kwon, H.; Kim, M.Y.; Yang, X.; Lee, S.H. Unveiling synergistic QTLs associated with slow wilting in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). *Theor. Appl. Genet.* **2024**, *137*, 85. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Sarkar, S.; Shekoofa, A.; McClure, A.; Gillman, J.D. Phenotyping and quantitative trait locus analysis for the limited transpiration trait in an upper-mid south soybean recombinant inbred line population (“Jackson” × “KS4895”): High throughput aquaporin inhibitor screening. *Front. Plant Sci.* **2022**, *12*, 779834. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Chamarthi, S.K.; Kaler, A.S.; Abdel-Haleem, H.; Fritschi, F.B.; Gillman, J.D.; Ray, J.D.; Smith, J.R.; Dhanapal, A.P.; King, C.A.; Purcell, L.C. Identification and Confirmation of Loci Associated with Canopy Wilting in Soybean Using Genome-Wide Association Mapping. *Front. Plant Sci.* **2021**, *12*, 698116. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Jiao, S.; Feng, R.; He, Y.; Cao, F.; Zhao, Y.; Zhou, J.; Zhai, H.; Bai, X. Genome-Wide Identification and Characterization of Copper Chaperone for Superoxide Dismutase (CCS) Gene Family in Response to Abiotic Stress in Soybean. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 5154. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Ji, K.; Wang, Y.; Sun, W.; Lou, Q.; Mei, H.; Shen, S.; Chen, H. Drought-responsive mechanisms in rice genotypes with contrasting drought tolerance during reproductive stage. *J. Plant Physiol.* **2012**, *169*, 336–344. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Evaristo de Deus, K.; Lanna, A.C.; Abreu, F.R.M.; Dias Silveira, R.D.; Jacinto Pereira, W.; Brondani, C.; Pereira Vianello, R. Molecular and biochemical characterization of superoxide dismutase (SOD) in upland rice under drought. *Aust. J. Crop Sci.* **2015**, *9*, 744–753. [[Google Scholar](#)]
46. Lu, Y.Y.; Deng, X.P.; Kwak, S.S. Over expression of CuZn superoxide dismutase (CuZnSOD) and ascorbate peroxidase (APX) in transgenic sweet potato enhances tolerance and recovery from drought stress. *Afr. J. Biotechnol.* **2010**, *9*, 8378–8391. [[Google Scholar](#)]
47. Wang, H.; Liu, S.; Fan, F.; Yu, Q.; Zhang, P.A. Moss 2-oxoglutarate/Fe(ii)-dependent dioxygenases (2-ODD) gene of flavonoids biosynthesis positively regulates plants abiotic stress tolerance. *Front. Plant Sci.* **2022**, *13*, 850062. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Chelliah, A.; Arumugam, C.; Punchakkara, P.M.; Suthanthiram, B.; Raman, T.; Subbaraya, U. Genome-wide characterization of 2OGD superfamily for mining of susceptibility factors responding to various biotic stresses in *Musa* spp. *Physiol. Mol. Biol. Plants* **2023**, *29*, 1319–1338. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
49. Zang, D.; Li, H.; Xu, H.; Zhang, W.; Zhang, Y.; Shi, X.; Wang, Y. An Arabidopsis zinc finger protein increases abiotic stress tolerance by regulating sodium and potassium homeostasis, reactive oxygen species scavenging and osmotic potential. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 1272. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

50. Wu, X.C.; Cao, X.Y.; Chen, M.; Zhang, X.K.; Liu, Y.N.; Xu, Z.S.; Li, L.C.; Ma, Y.Z. Isolation and expression pattern assay of a C3HC4-type RING zinc finger protein gene *GmRZFP1* in *Glycine max* (L.). *Plant Genet. Res.* **2010**, *11*, 343–348. [[Google Scholar](#)]
51. Moursi, Y.S.; Thabet, S.G.; Amro, A.; Dawood, M.F.A.; Baenziger, P.S.; Sallam, A. Detailed Genetic Analysis for Identifying QTLs Associated with Drought Tolerance at Seed Germination and Seedling Stages in Barley. *Plants* **2020**, *9*, 1425. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Jeong, S.C.; Moon, J.K.; Park, S.K.; Kim, M.S.; Lee, K.; Lee, S.R.; Park, E. Genetic diversity patterns and domestication origin of soybean. *Theor. Appl. Genet.* **2019**, *132*, 1179–1193. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Kim, M.S.; Lozano, R.; Kim, J.H.; Bae, D.N.; Kim, S.T.; Park, J.H.; Choi, M.S.; Kim, J.; Ok, H.C.; Park, S.K.; và cs The patterns of deleterious mutations during the domestication of soybean. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 97. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Schmutz, J.; Cannon, S.B.; Schlueter, J.; Ma, J.; Mitros, T.; Nelson, W.; Hyten, D.L.; Song, Q.; Thelen, J.J.; Cheng, J.; và cs Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* **2010**, *463*, 178–183. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Yu, J.; Pressoir, G.; Briggs, W.H.; Vroh Bi, I.; Yamasaki, M.; Doebley, J.F.; McMullen, M.D.; Gaut, B.S.; Nielsen, D.M.; Holland, J.B. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nat. Genet.* **2006**, *38*, 203–208. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Turner, S.D. qqman: An R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots. *Biorxiv* **2008**, *3*, 731. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
57. Talebi, R.; Fayaz, F.; Naji, N. Effective selection criteria for assessing drought stress tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Gen. App. Plant Physiol.* **2009**, *35*, 64–74. [[Google Scholar](#)]