XÁC ĐỊNH QTL CHO KHẢ NĂNG CHỐNG CHỊU VỚI NGẬP ÚNG Ở GIAI ĐOẠN CÂY CON CỦA ĐẬU TƯƠNG (*Glycine max* L. MERR.)

Sanjeev Kumar Dhungana [1], **Hong-Sik, Kim** [1,*], **Beom-Kyu Kang** [1], **Jeong-Hyun Seo** [1], **Hyun-Tae Kim** [1], **Sang-Ouk Shin** [1], **Jae-Hyeon Oh** [2] and **In-Youl Baek** [1]

[1] Upland Crop Breeding Research Division, Department of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Miryang 50424, Korea
[2] Gene Engineering Division, Department of Agricultural Biotechnology, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Jeonju 54874, Korea
[*] Author to whom correspondence should be addressed.

TÓM TẮT

Căng thẳng do ngập úng là một vấn đề nghiêm trọng trong sản xuất đậu tương, làm giảm năng suất đáng kể. Mùa mưa bắt đầu trong thời kỳ sinh trưởng sớm của đậu tương ở Hàn Quốc và một số nơi khác trên thế giới có khả năng khiến cây đậu tương bị ngập úng. Mục tiêu của nghiên cứu này là lập bản đồ các locus tính trạng số lượng (QTL) cho khả năng chịu ngập bằng cách sử dụng quần thể dòng lai tái tổ hợp (RIL) có nguồn gốc từ sự lai tạo giữa các giống Danbaekkong (chịu ngập) và NTS1116 (mẫn cảm với ngập) trồng trong nhà nhựa trong hai năm. Cây bị ngập úng ở giai đoạn V1-V2 bằng cách ngâm nước cách bề mặt đất khoảng 10cm. Hàm lượng diệp lục lá và trọng lượng khô của chồi được đo trong điều kiện có kiểm soát và ngập nước để lập bản đồ QTL. Bản đồ di truyền được xây dựng bằng cách sử dụng 1.689 điểm đánh dấu đa hình thu được từ các điểm đánh dấu 180K Axiom® SoyaSNP được sử dụng để xác định kiểu gen của quần thể. Mười QTL với điểm số chênh lệch là 3,39–5,14 logarit và 8,1–30,7% các biến thể kiểu hình (PVE) đã được xác định trên bảy nhiễm sắc thể. Một QTL trên nhiễm sắc thể 6 và 15 và hai QTL trên nhiễm sắc thể 7 đã được phát hiện ít nhất trong hai môi trường khác nhau gây ra tới 30,7% PVE, cho thấy những ứng dụng tiềm năng của chúng trong việc lai tạo đậu tương chịu ngập. Các kết quả có thể hữu ích trong việc khám phá thêm cơ sở di truyền của khả năng chịu ngập úng và phát triển các giống đậu tương có khả năng chống chịu.

Từ khóa: Chống chịu ngập úng; hàm lượng diệp lục trong lá; phân tích QTL; giai đoạn cây con; khối lượng chồi khô; đậu tương

1. GIỚI THIỆU

Sự gia tăng trong sản xuất các loại cây trồng chính như lúa mì, ngô, gạo và đậu tương có vai trò quan trọng đối với an ninh lương thực toàn cầu. Tuy nhiên, năng suất của nhiều loại cây trồng bị ảnh hưởng tiêu cực bởi các yếu tố khác nhau bao gồm biến đổi khí hậu, được cho là làm nghiêm trọng thêm một số căng thẳng sinh học và phi sinh học, như ngập úng [1, 2]. Nhiều nỗ lực khác nhau, bao gồm cả việc phát triển các giống cây trồng có khả năng chống chịu, đã được thực hiện để tăng năng suất đậu tương bằng cách giảm thiểu tác động tiêu cực của những căng thẳng đó [3, 4, 5]. Căng thẳng do ngập úng làm giảm năng suất đáng kể ở đậu tương [6, 7] vì cây đậu tương nhạy cảm với căng thẳng do ngập úng ở các giai đoạn khác nhau, chẳng hạn như nảy mầm [8, 9] và các giai đoạn sinh sản cũng như sinh dưỡng sớm [10, 11]. Sự trùng hợp của lượng mưa lớn trong giai đoạn đầu sinh trưởng làm cho cây đậu tương có khả năng chịu ngập úng ở vùng đất thấp, vùng cao cũng như ruộng lúa trong điều kiện thoát nước kém. Đặc biệt, việc canh tác cây trồng cạn trên ruộng lúa gặp nhiều thách thức hơn ở một số nước như Hàn Quốc và Nhật Bản [12, 13]. Tính chất thoát nước kém của đất lúa làm cho cây đậu tương dễ bị ngập úng

hơn. Do đó, việc phát triển đậu tương chịu được ngập úng có thể có tầm quan trọng lớn để tăng năng suất đậu tương trong điều kiện ngập.

Ngập úng làm cho môi trường đất thiếu oxy và tình trạng ngập kéo dài dẫn đến tình trạng thiếu oxy, làm cây trồng chậm sinh trưởng và phát triển do không được cung cấp đủ oxy [14]. Sự sinh trưởng và phát triển chậm trong điều kiện môi trường ít hoặc không có oxy về cơ bản liên quan đến khả năng chuyển hóa nitơ của thực vật bị giảm sút [15, 16]. Mặc dù các loại cây họ đậu, như đậu tương, có khả năng cố định nitơ trong khí quyển vào đất, nhưng chúng cần một lượng oxy đủ để thực hiện quá trình cố định như vậy, chúng sẽ chậm phát triển trong điều kiện thiếu oxy [17]. Điều kiện ít hoặc không có oxy không chỉ làm giảm sự cố định nitơ mà còn làm giảm sự hấp thụ nitơ [18, 19]. Ngoài ra, sự thiếu hụt oxy hạn chế sự tổng hợp adenosine triphosphate, khi chuyển đổi thành adenosine diphosphate sẽ tạo ra năng lượng cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của cây [20]. Việc giảm nồng độ oxy trong điều kiện ngập úng có thể dẫn đến nồng độ carbon dioxide tăng cao, tạo ra một môi trường đất độc hại [21, 22]. Sự phổ biến của một môi trường oxy thấp ít bất lợi hơn nhiều so với độc tính carbon dioxide, gây ra úa lá, làm chậm sự phát triển của rễ và có thể chết cây đậu tương [21].

Khả năng chống chịu với ngập úng là một đặc điểm số lượng phức tạp được quy định bởi nhiều gen và cũng bị ảnh hưởng rất nhiều bởi các điều kiện môi trường [23, 24]. Việc xác định các vùng di truyền tính đến các biến thể tính trạng số lượng rất hữu ích để hiểu cấu tạo di truyền của một tính trạng và sau đó để cải thiện tính trạng mong muốn thông qua chọn lọc có hỗ trợ đánh dấu (MAS). Một số nghiên cứu lập bản đồ di truyền về khả năng chịu ngập úng ở đậu tương đã được thực hiện [25, 26, 27, 28]. Hầu hết các nghiên cứu dựa trên các phép đo gián tiếp về các đặc điểm kiểu hình như sự thay đổi năng suất hoặc sự khác biệt trực quan về mức độ tổn thương của cây trồng do ngập [11, 12, 25, 26, 27, 28]. Tuy nhiên, việc lựa chọn và đo lường chính xác các tính trạng thích hợp là rất quan trọng để xác định chính xác các locus tính trạng số lượng (QTL) cho khả năng chống chịu căng thẳng [29, 30]. Hàm lượng diệp lục lá (CC) và trọng lượng khô của chồi (DW) là một trong những tính trạng chịu ảnh hưởng lớn do ngập úng [25, 31, 32]. CC, DW, và các giá trị chỉ số của chúng đã được xem xét để xác định QTL chịu được ngập ở đậu tương [33, 34] cũng như trong các loại cây trồng khác như đậu thông thường [35], lúa mì [36, 37, 38] và lúa mạch [39]. Một nghiên cứu tương tự để xác định QTL liên quan đến khả năng chịu ngập được thực hiện bởi Dhungana và cs [34] sử dụng bố mẹ chung NTS1116 cũng được sử dụng trong nghiên cứu này. Cần phải đối chiếu và so sánh kết quả của những nghiên cứu này vì kết quả của QTL có thể bị ảnh hưởng bởi nền tảng di truyền và/hoặc môi trường [40, 41]. Do đó, thông tin bổ sung về QTL từ các nền tảng di truyền tương đương có thể hữu ích hơn trong các chương trình chọn giống đậu tương chịu ngập úng. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định QTL khả năng chống chịu ngập úng ở giai đoạn cây con của đậu tương bằng cách sử dụng quần thể dòng lai tái tổ hợp (RIL).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu thực vật

Một quần thể RIL đã được phát triển thông qua phương pháp chiết xuất một hạt bằng cách sử dụng các giống cây trồng Danbaekkong (giống mẹ) và NTS1116 (giống bố). Quần thể gồm 152 dòng ($F_{6:7}$ và $F_{7:8}$) được sử dụng để lập bản đồ QTL về khả năng chịu ngập. Các cặp bố mẹ để phát triển quần thể RIL đã được chọn dựa trên một báo cáo trước đây [42], trong đó 192 mầm đậu tương đã được sàng lọc về khả năng chịu ngập và nhận

thấy rằng Danbaekkong là giống chống chịu và NTS1116 là giống mẫn cảm. Hơn nữa, Danbaekkong và giống bố mẹ chịu úng khác Paldalkong đã được sử dụng trong một nghiên cứu trước đây [34] lần lượt nằm trong số các giống đậu tương ưu tú và dòng bố mẹ ở Hàn Quốc [43]. Ngoài ra, Danbaekkong có khả năng chống lại bệnh đốm lá do vi khuẩn [44] và Paldalkong có khả năng chống lại virus khảm đậu tương [45].

2.2. Kiểu hình

Giống bố mẹ và RIL được trồng trong nhà nhựa ở điều kiện nhiệt độ và ánh sáng xung quanh vào năm 2017 và 2018. Vào tháng 6 năm 2017, hạt giống được gieo trong thùng thép không gỉ có kích thước 2×1×0,6m ở khoảng cách 5cm giữa các hàng và cây. Vì nhiệt độ đất trong hộp thép không gỉ và nhựa (1,58×1,13×0,60m) không chênh lệch đáng kể, nên cả hai loại thùng này đều được sử dụng để trồng cây vào năm 2018. Sự khác biệt có thể không phát hiện được trong môi trường đất giữa thùng kim loại và nhựa đã giảm nhiều hơn bằng cách trồng các kiểu gen giống nhau trong cùng một loại thùng chứa trong điều kiện ngập và có kiểm soát. Khoảng cách cây được tăng lên trong năm 2018 để giữ hàng cách hàng 10cm và cây cách cây 7,5cm, và hạt được gieo vào tháng 5. Trong cả hai năm, các thùng chứa đầy hỗn hợp đất bao gồm đất, cát và phân trộn theo tỷ lệ bằng nhau. Cây được trồng trong điều kiện bình thường cho đến V1–V2, và sau đó những cây được chỉ định phải chịu ngập trong 14 ngày bằng cách giữ nước cách bề mặt đất khoảng 10cm. Mặt khác, các cây được chỉ định đối chứng được phép phát triển trong điều kiện bình thường trong suốt thời gian thí nghiệm. Trong năm 2017, một cây duy nhất được coi là một lần nhân rộng; tuy nhiên, vào năm 2018, giá trị trung bình của ba cây trồng gần nhau của cùng một kiểu gen được lấy làm một lần lặp lại. Trong cả hai năm, các cây được trồng theo thiết kế hoàn chỉnh ngẫu nhiên với ba lần lặp lại trong điều kiện có kiểm soát và ngập.

Dữ liệu CC và DW thu thập từ các cây trồng trong điều kiện kiểm soát và ngập được xem xét để lập bản đồ QTL. Máy đo chất diệp lục (SPAD-502Plus, Công ty Camera Minolta, Osaka, Nhật Bản), được sử dụng rộng rãi để xác định độ xanh của lá cây, được sử dụng để đo CC của cây đậu tương. CC được đo trên lá giữa của lá thứ hai và thứ ba ở thời điểm tương ứng 12 và 13 ngày sau khi ngập (DAF). Để giảm thiểu sự biến đổi có thể có trong CC do việc đọc phân tích thực vật trong đất (SPAD), hai giá trị thu được từ hai lá khác nhau của mỗi cây được tính trung bình. Đối với phép đo DW, cây được thu hoạch ở 14 DAF. Các phần trên mặt đất của cây được giữ trong túi giấy và sấy khô trong lò (60^0C) đến khối lượng không đổi. Ngoài CC và DW, các giá trị chỉ số của chúng (CCI và DWI, tương ứng) cũng được tính toán và đưa vào phân tích QTL. CCI và DWI được tính toán riêng biệt bằng tỷ lệ giữa các giá trị của chúng (trung bình của ba lần lặp lại) trong điều kiện ngập với điều kiện kiểm soát. Chỉ số chịu ngập (FTI) được tính là giá trị trung bình của CCI và DWI và cũng được xem xét để phân tích QTL.

2.3. Tách chiết DNA và định dạng kiểu gen

Để tách chiết DNA bộ gen, các cây bố mẹ và RIL được trồng trong khay cho đến giai đoạn V2 và các lá cắt bỏ từ 3–4 cây của mỗi kiểu gen được thu hoạch hàng loạt và bảo quản ở -80^0C. Khoảng 100mg lá phồng đã được nghiền trong các ống 2mL bằng máy nghiền hạt (TissueLyser II, Qiagen, Hilden, Đức). Các lá bột được sử dụng để chiết xuất DNA bằng bộ dụng cụ (ExgeneTM Plant SV Miniprep Kit, GeneAll, Seoul, Korea) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. DNA được rửa giải với 50µL Buffer AE được cung cấp

trong kit. Bố mẹ và 152 dòng RIL được định kiểu gen bằng cách sử dụng mảng 180K Axiom® SoyaSNP [46].

2.4. Phân tích dữ liệu

Phân tích biến thiên (ANOVA), xây dựng tần số phân bố của quần thể RIL và phân tích tương quan được thực hiện bằng SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Hệ số di truyền theo nghĩa rộng (H2) được tính toán bằng một phương trình được mô tả trước đó [47] với một số sửa đổi.

$H2 = \sigma2G / (\sigma2G + \sigma2GY / Y + \sigma2GE / E + \sigma2YGE / YE + \sigma2e / YEr)$, (1)

trong đó E, G, Y và r biểu thị số lượng môi trường, kiểu gen, năm và các lần lặp lại tương ứng. Tương tự, σ2G, σ2GY, σ2GE, σ2YGE và σ2e lần lượt là các thành phần của phương sai đối với kiểu gen, kiểu gen × môi trường, năm × kiểu gen × môi trường và sai số.

2.5. Lập bản đồ liên kết và Phân tích QTL

Chỉ có những marker đa hình giữa hai bố mẹ được chọn từ 180K SNP. Các marker đa hình được phân tích thêm để tìm ra các marker dư thừa. Các marker thừa có các kiểu phân ly giống hệt nhau và tập hợp ở cùng một vị trí di truyền trong khi xây dựng bản đồ liên kết và do đó không thể cung cấp thêm đóng góp cho nghiên cứu di truyền [48]. Do đó, các marker thừa được tách ra bằng cách sử dụng hàm Bin trong IciMapping [49] trước khi xây dựng bản đồ. Tiêu chí để loại bỏ các marker thừa bằng cách sử dụng chức năng Bin được đặt là độ méo phân tích đáng kể của $p < 0,001$ và dữ liệu bị thiếu với >10%. Sau khi loại bỏ các marker thừa, một bản đồ liên kết đã được xây dựng bằng chức năng Bản đồ của IciMapping theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các tham số cho chức năng Bản đồ được điều chỉnh dưới dạng nhóm theo ngưỡng tỷ lệ chênh lệch (LOD) logarit 3.0, thứ tự theo nnTwoOpt và gợn sóng theo tổng các phân số tái tổ hợp liền kề.

QTL về khả năng chịu ngập được xác định bằng cách sử dụng bản đồ khoảng thời gian tổng hợp (CIM) trong QTL Cartographer V2.5 (có tại http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/, truy cập vào ngày 6 tháng 2 năm 2020) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với các thông số được điều chỉnh: Model 6, hồi quy tiến và lùi, tốc độ đi bộ là 1,0 cM và QTL giả định với kích thước cửa sổ là 10 cM. Số lượng marker kiểm soát là 5, là một tham số mặc định. Ngưỡng LOD cho mỗi tính trạng được xác định bằng cách sử dụng 1000 phép thử hoán vị ở $p < 0,05$. Sau khi hoàn thành phân tích, thông tin QTL được trích xuất bằng cách điều chỉnh tối thiểu 20 cM khoảng thời gian hỗ trợ giữa QTL và 2-LOD. QTL được đặt tên theo phương pháp được áp dụng trong một báo cáo trước đó [34].

2.6. Sàng lọc các gen ứng viên

Các gen ứng viên nằm trong vùng QTL được tìm kiếm bằng SoyBase (www.soybase.org, truy cập vào ngày 2 tháng 5 năm 2021) và Phytozome (www.phytozome.net, truy cập vào ngày 2 tháng 5 năm 2021). Vì nhiễm sắc thể 3 và 7 chứa nhiều hơn một QTL với ít nhất một trong số >10% kiểu hình biến thiên (PVE), các gen ứng viên được tìm kiếm trong vùng QTL của hai nhiễm sắc thể này. Các gen được tìm kiếm dựa trên các chức năng của chúng liên quan đến phản ứng với căng thẳng, hàm lượng chất diệp lục, quang hợp và/hoặc sự phát triển của cây trồng. Phiên bản gen Glyma 1.1 được sử dụng để thu thập thông tin gen.

3. KẾT QUẢ

3.1. Sự biến đổi kiểu hình và tương quan giữa các tính trạng

CC của giống bố mẹ và RILs năm 2018 cao hơn năm 2017 trong điều kiện kiểm soát cũng như ngập; tuy nhiên, DW đã cao hơn trong năm 2017 (Bảng 1). Trong điều kiện kiểm soát, CC của NTS1116 (33,38) cao hơn của Danbaekkong (31,92) vào năm 2017 nhưng cả hai bố mẹ đều có cùng giá trị vào năm 2018. Trong điều kiện xử lý ngập, NTS1116 (14,32 và 21,56) có CC thấp hơn của Danbaekkong (20,25 và 27,01) tương ứng trong năm 2017 và 2018. DW của bố mẹ mẫn cảm (NTS1116) cao hơn trong đối chứng nhưng thấp hơn trong điều kiện ngập so với bố mẹ chống chịu (Danbaekkong) trong cả hai năm.

Bảng 1. Hàm lượng diệp lục lá (CC) và khối lượng chồi khô (DW) của bố mẹ (Danbaekkong và NTS1116) và các dòng lai tái tổ hợp trong điều kiện có kiểm soát và ngập trong hai năm.

Công thức	Đặc điểm	Năm	Giống bố mẹ		RIL		H^2 (1)
			Danbaekkong (TB ± sai số)	NTS1116 (TB ± sai số)	Trung bình	Khoảng	
Có kiểm soát	CC	2017	31,92 ± 5,11	33,38 ± 5,26	32,55	21,00-39,58	
		2018	35,09 ± 2,54	35,09 ± 2,22	37,60	33,04-41,27	
		TB (2)	33,50 ± 2,24	34,24 ± 1,21	35,24	21,00-41,27	
	DW (g)	2017	1,54 ± 0,71	1,89 ± 1,64	1,60	0,49-3,80	
		2018	1,51 ± 0,52	1,55 ± 0,32	2,21	0,88-3,44	
		TB	1,53 ± 0,02	1,72 ± 0,24	1,92	0,49-3,80	
Ngập	CC	2017	20,25 ± 7,33	14,32 ± 2,42	20,67	9,80-29,38	
		2018	27,01 ± 2,86	21,56 ± 2,97	20,70	12,64-30,04	
		TB	23,63 ± 4,78	17,94 ± 5,12	20,73	9,80-30,04	
	DW (g)	2017	1,01 ± 0,59	0,82 ± 0,42	1,10	0,31-1,87	
		2018	0,85 ± 0,05	0,71 ± 0,16	1,03	0,48-1,90	
		TB	0,93 ± 0,11	0,77 ± 0,09	1,06	0,31-1,90	
Kết hợp (3)	CC (%)						68,35
	DW (%)						68,42

(1) Hệ số di truyền theo nghĩa rộng, được tính trên cơ sở trung bình dòng. (2) Giá trị trung bình của hai năm. (3) Có kiểm soát và ngập.

Giá trị CCI, DWI và FTI của Danbaekkong cao hơn NTS1116 trong cả hai năm (Bảng 2). Giá trị CCI, DWI và FTI của RIL trong năm 2017 (0,66, 0,79 và 0,72) cao hơn so với năm 2018 (0,55, 0,47 và 0,51).

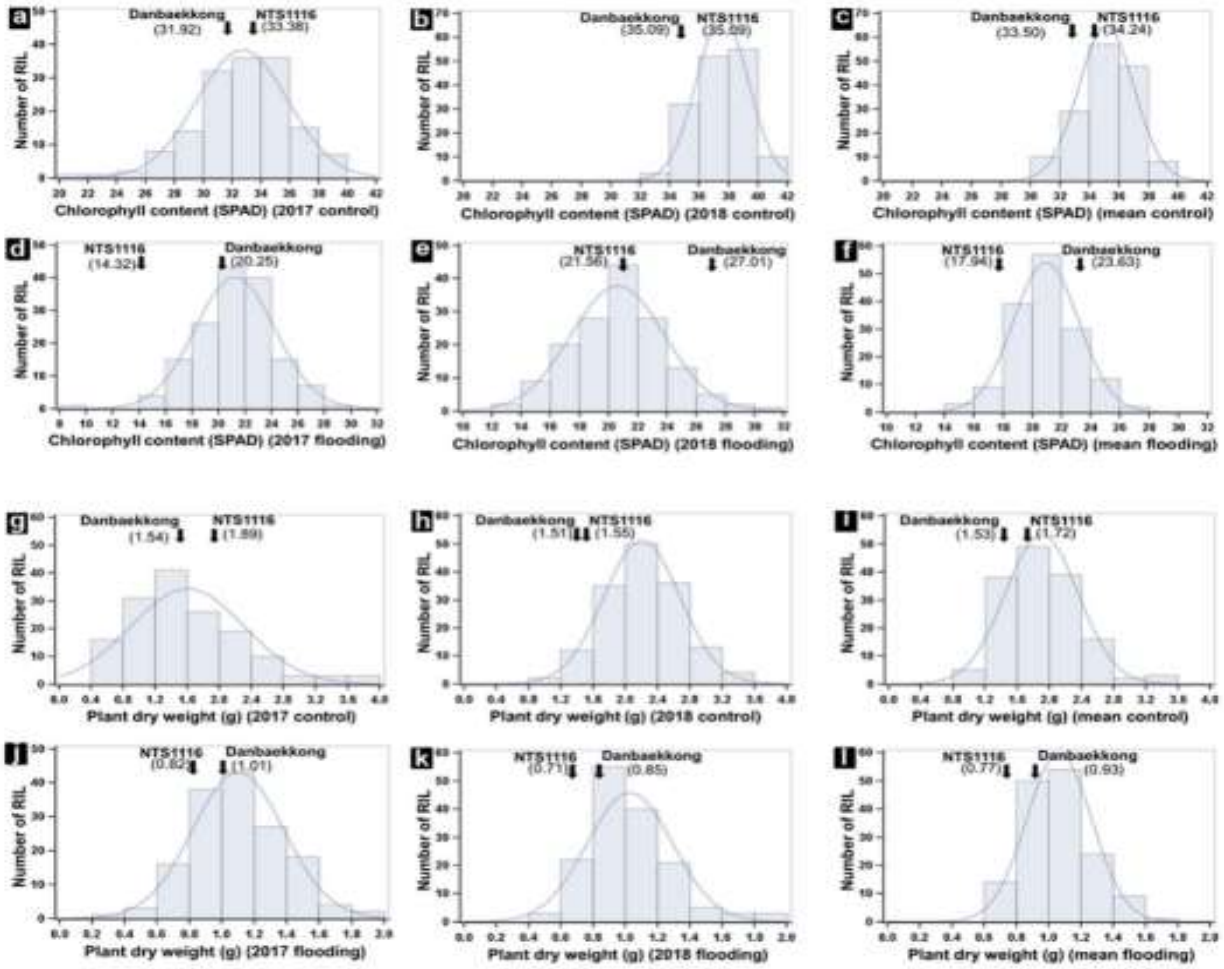
Bảng 2. Chỉ số hàm lượng diệp lục trong lá (CCI), chỉ số trọng lượng chồi khô (DWI), và chỉ số chịu ngập (FTI) của bố mẹ (Danbaekkong và NTS1116) và các dòng lai tái tổ hợp qua hai năm.

Đặc điểm	**Năm**	**Bố mẹ**		**RIL**	
		Danbaekkong	**NTS1116**	**Tring bình**	**Khoảng**
CCI	2017	0,63	0,43	0,66	0,29-0,97
	2018	0,77	0,61	0,55	0,35-0,80
	TB (1)	0,70	0,52	0,60	0,29-0,97

DWI	2017	0,66	0,43	0,79	0,25-2,0,0
	2018	0,56	0,46	0,47	0,27-0,89
	TB	0,61	0,45	0,63	0,25-2,00
FTI	2017	0,65	0,43	0,72	0,30-1,39
	2018	0,67	0,54	0,51	0,35-0,75
	TB	0,66	0,48	0,62	0,30-1,39

(1) Giá trị trung bình của 2 năm

Hệ số di truyền theo nghĩa rộng (H^2) được tính toán trên cơ sở trung bình dòng và được tìm thấy là gần như bằng nhau cho cả hai tính trạng, CC (68,35%) và DW (68,42%) (Bảng 1). Sự khác biệt về CC và DW giữa các RIL trong hai năm cho thấy sự phân bố liên tục với sự phân tách mạnh mẽ (Hình 1). ANOVA đối với CC và DW trong điều trị ngập lụt chỉ ra rằng cả hai đặc điểm này khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các RIL, trong vòng hai năm (ngoại trừ ảnh hưởng hàng năm đối với CC), và tương tác của chúng (Bảng bổ sung S1).



Hình 1. Tần suất phân bố hàm lượng diệp lục lá (giá trị CC, SPAD) và trọng lượng chồi khô (DW, g) của 152 dòng lai tái tổ hợp (RILs) trong điều kiện có kiểm soát và ngập trong hai năm. (**a – c**) CC năm 2017, 2018 và trung bình của hai năm có kiểm soát; (**d – f**) CC năm 2017, 2018 và trung bình của hai năm bị ngập; (**g – i**) DW trong năm 2017, 2018 và trung bình của hai năm có kiểm soát; (**j – l**) DW trong năm 2017, 2018 và trung bình của hai năm trong điều kiện ngập.

Mối tương quan thuận đáng kể được tìm thấy giữa CC và DW trong điều kiện kiểm soát (0,42) và ngập lụt (0,16) trong năm 2017. Mối tương quan giữa hai đặc điểm trong năm 2018 là đáng kể, bất kể nó là tích cực (0,17) trong điều kiện kiểm soát hay tiêu cực (−0,26) trong điều kiện ngập nước.

3.2. Bản đồ liên kết

Tổng số 22.587 (12,52%) marker SNP được tìm thấy là đa hình giữa bố và mẹ, trong số 180.375 marker có kiểu gen. Các marker đa hình được thực hiện chức năng Bin để loại bỏ các marker thừa (Bảng bổ sung S2), và do đó 1.689 SNP vẫn còn để xây dựng bản đồ liên kết của 20 nhiễm sắc thể (Hình bổ sung S1). Độ dài tích lũy của bản đồ liên kết là 4.293,98cM với trung bình giữa các marker là 2,54cM. Nhóm liên kết dài nhất (392,82cM) và ngắn nhất (88,16cM) lần lượt được hình thành bởi các nhiễm sắc thể số 4 và 16.

3.3. Phân tích QTL trong tình trạng ngập và chỉ số (CCI, DWI và FTI)

Mười QTL về khả năng chịu ngập đã được xác định được phân bố trên bảy nhiễm sắc thể (Hình bổ sung S2; Bảng 3). QTL được xác định đồng thời trong các môi trường khác nhau, các marker chồng chéo hoặc liền kề được báo cáo là cùng một QTL. Chúng cho thấy khoảng từ 3,39 đến 5,14 điểm LOD và 8,1 đến 30,7% PVE.

Bảng 3. QTL liên quan đến khả năng chịu ngập được xác định trong một quần thể dòng lai tái tổ hợp có nguồn gốc từ Danbaekkong × NTS1116

QTL Name [1]	Environment [2]	Chr (LG) [3]	Position (cM)	Marker Interval	Physical Position [4] (bp)	LOD [5]	PVE [6] (%)	Additive [7]
qSFT_3-38	2018DWI	3 (N)	36.8–40.9	AX-90428828–AX-90340803	37,447,696–38,227,564	5.14	11.8	−0.0509
qSFT_3-64	2018DWI	3 (N)	62.8–71.3	AX-90323988–AX-90489054	42,201,780–43,325,752	3.39	8.3	0.0314
qSFT_4-17	2017CCF	4 (C1)	267.5–290.6	AX-90368307–AX-90363550	6,322,051–41,712,698	3.51	8.2	−0.8676
qSFT_6-66	2017DWI	6 (C2)	200.5–215.2	AX-90332662–AX-90454533	18,319,783–47,839,535	4.55	10.4	−0.1081
	2017FTI		200.5–215.2	AX-90332662–AX-90454533	18,319,783–47,839,535	4.50	10.2	−0.064
qSFT_7-3	2017FTI	7 (M)	77.9–115.2	AX-90495740–AX-90333525	418,570–7,905,015	3.98	30.7	−0.1081
	2017DWI		77.9–115.2	AX-90495740–AX-90333525	418,570–7,905,015	4.10	25.6	−0.1656
	MeanDWI		114.8–115.2	AX-90362660–AX-90333525	7,854,359–7,905,015	3.89	8.9	−0.0546
qSFT_7-14	2017FTI		116.3–134.5	AX-90316460–AX-90415397	7,984,980–15,641,186	4.22	12.8	−0.0701
	MeanFTI	7 (M)	121.2–121.9	AX-90474615–AX-90329820	9,874,757–10,187,432	4.63	10.4	−0.0351
qSFT_13-53	2018CCF	13 (F)	66.1–72.6	AX-90380240–AX-90439239	26,719,782–30,966,459	3.64	8.1	−0.9293
qSFT_15-67	2018CCF	15 (E)	125.3–140.9	AX-90306554–AX-90488715	6,048,170–8,976,050	4.70	10.6	−1.1020
	MeanCCI		129.5–131.3	AX-90436179–AX-90424048	7,732,934–8,240,500	3.63	8.6	−0.0223
qSFT_16-40	2018CCI	16 (J)	43.8–76.3	AX-90320765–AX-90450566	26,236,346–35,344,890	3.85	9.7	−0.0274
qSFT_16-62	2018CCF	16 (J)	83.7–87.2	AX-90329889–AX-90316894	36,148,023–36,625,433	3.78	8.9	−0.9824

1 QTL được phát hiện đồng thời trong các môi trường khác nhau, marker liền kề hoặc chồng chéo được coi là cùng một QTL.
2 CC: hàm lượng diệp lục lá, DW: trọng lượng chồi khô, C: đối chứng, F: ngập, I: chỉ số, FTI: chỉ số chịu ngập, Mean: giá trị trung bình năm 2017 và 2018.
3 Nhóm nhiễm sắc thể (Chr) và liên kết (LG).
4 Vị trí vật lý của marker.
5 Lôgarit của giá trị chênh lệch ở khả năng xảy ra cao nhất của QTL.
6 Sự biến đổi kiểu hình được giải thích bằng QTL.
7 Hiệu ứng cộng, giá trị dương chỉ ra rằng Danbaekkong đã đóng góp alen và giá trị âm cho biết NTS1116 đã đóng góp alen cho sự biến đổi kiểu hình. QTL được xác định bằng cách điều chỉnh tối thiểu 20 cM giữa QTL và 2-LOD dựa trên vị trí (centiMorgans).

Năm QTL được tìm thấy đối với CC trên bốn nhiễm sắc thể trong điều kiện ngập và CCI từ 3,51 đến 4,70 LOD và 8,2 đến 10,6% PVE. QTL qSFT_4-17 và qSFT_15-67 được xác định trong điều kiện ngập trong năm 2017 và 2018 cho thấy điểm LOD tương ứng thấp nhất (3,51) và cao nhất (4,70).

Tổng cộng có bốn QTL cho DW, phân bố trên ba nhiễm sắc thể, được phát hiện trong điều kiện ngập và DWI. QTL qSFT_7-3 và qSFT_3-64 được xác định theo DWI trong năm 2017 và 2018 cho thấy PVE tương ứng cao nhất (25,6%) và thấp nhất (8,3%). QTL qSFT_6-86 có các marker AX-90332834 và AX-90380396 đã được phát hiện trong DWI và FTI vào năm 2017. Tương tự, QTL qSFT_7-3 được xác định theo DWI và FTI vào năm 2017 cũng như DWI trung bình.

3.4. Sàng lọc các gen ứng viên trong các điểm nóng của QTL

Vị trí bộ gen chứa một số lượng lớn QTL trong một vùng của nhiễm sắc thể được coi là một điểm nóng của QTL. Nhiễm sắc thể 3 và 7 chứa ít nhất hai QTL chính (> 10% PVE), và do đó được chọn để tìm kiếm các gen ứng viên. Chức năng chú thích của các gen, nằm trong các điểm nóng của QTL, có liên quan đến phản ứng căng thẳng, sinh tổng hợp chất diệp lục và yếu tố điều hòa tăng trưởng (Bảng bổ sung S3).

4. THẢO LUẬN

Căng thẳng do ngập ảnh hưởng tiêu cực đến hàm lượng diệp lục và làm giảm tích lũy sinh khối và năng suất hạt ở đậu tương [32, 50]. Việc phát triển các giống đậu tương chịu ngập úng có ý nghĩa to lớn để giảm thiểu tổn thất năng suất, do đó việc thu thập thông tin về cơ sở di truyền về khả năng chịu ngập thông qua phân tích QTL sẽ rất hữu ích.

H^2 đối với CC và DW có thể bị ảnh hưởng bởi sự tương tác đáng kể của RIL × năm, cho thấy những tác động đáng kể của môi trường đối với CC và DW. Sự khác biệt về nhiệt độ không khí giữa hai năm có thể đóng một vai trò nhất định đối với tương tác RIL × năm đáng kể. Hệ số di truyền có thể thay đổi theo thời gian vì sự thay đổi phương sai di truyền do các yếu tố môi trường có thể ảnh hưởng đến sự tương tác giữa gen và môi trường [51]. Nhiệt độ trung bình hàng tháng năm 2017 (32,2^{0}C) cao hơn năm 2018 (28,7^{0}C) trong quá trình sinh trưởng của cây. CC trong năm 2018 cao hơn có thể do nhiệt độ thấp hơn [52]. Các mối tương quan không nhất quán được quan sát thấy giữa CC và DW trong điều kiện có kiểm soát và ngập trong hai năm cũng được phản ánh trong giá trị DW cao hơn của RIL trong điều kiện có kiểm soát nhưng thấp hơn trong điều kiện ngập trong năm 2018 so với năm 2017. Kết quả tương tự đã được quan sát trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi, nơi mà lập bản đồ của quần thể RILs với nền tảng di truyền khác nhau được định hình về khả năng chịu ngập trong giai đoạn sinh trưởng sớm [34].

Sự phân bố của quần thể RIL đối với các giá trị CC và DW cho thấy sự biến đổi liên tục về các tính trạng với sự phân li vượt trội, có thể được sử dụng để chọn những RIL có kiểu hình vượt trội. Dựa trên giá trị FTI trung bình của hai năm, 41 và 10 RIL lần lượt cho thấy sự phân ly dương tính và âm tính (Bảng bổ sung S4). Hơn nữa, sự phân ly đột biến thu được trong nghiên cứu này có thể cung cấp các dòng đậu tương mới có thể được khai thác trong các chương trình chọn giống chịu ngập úng [34, 53]. Sự khác biệt về CCI, DWI và FTI giữa hai cá thể bố mẹ và phạm vi rộng của các giá trị trong quần thể RIL trong cả hai năm mô tả sự phù hợp của quần thể trong việc lập bản đồ QTL cho khả năng chịu ngập. Việc áp dụng phương pháp định lượng kiểu hình thay vì quan sát bằng mắt để đo khả năng chịu ngập có thể làm tăng độ tin cậy của kết quả QTL.

Năm QTL được xác định trong nghiên cứu này chồng lên các vị trí của nhiễm sắc thể hoặc được lập bản đồ trong vùng lân cận của các gen ứng viên và/hoặc QTL liên quan đến khả năng chống chịu với các căng thẳng phi sinh học, bao gồm cả ngập úng. Một QTL chính qSFT_7-3 (lên đến 30,7% PVE) cùng khu vực hóa với một QTL đã được báo cáo trước đây về khả năng chịu ngập úng ở đậu tương [54]. Các QTL chính này bao gồm một số gen ứng cử viên (DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 31, yếu tố phiên mã WRKY 55, Dof domain, protein zinc finger và protein B-box zinc finger) liên quan đến căng thẳng phi sinh học ở các loại cây trồng khác nhau, bao gồm cả đậu tương [55, 56, 57, 58, 59, 60]. Các báo cáo cho thấy rằng một số gen phản ứng với nhiều căng thẳng phi sinh học, ví dụ gien VlWRKY3 thúc đẩy khả năng chịu mặn và hạn hán trong thời kỳ nảy mầm, cây con và giai đoạn cây trưởng thành của cây *Arabidopsis thaliana* chuyển gen [61] phản ứng với căng thẳng phi sinh học giúp tăng cường hạn hán, ngập úng và khả năng chống chịu căng thẳng thẩm thấu ở vừng [62] và họ gen DGK đáp ứng theo phương pháp xử lý polyethylene glycol, muối, kiềm và muối/kiềm ở đậu tương [63]. Các gen ứng viên *Glyma03g34900*, *Glyma03g35010* và *Glyma03g35180* liên quan đến căng thẳng và/hoặc yếu tố điều hòa tăng trưởng được tìm thấy trong QTL *qSFT_3-64*. QTL trên nhiễm sắc thể số 7 chứa một số gen ứng cử viên liên quan đến yếu tố tăng trưởng rễ và chồi, huỳnh quang diệp lục, phản ứng với stress, thu ánh sáng và protein liên kết a/b của diệp lục (Bảng bổ sung S3), cho biết vai trò của chúng đối với CC và DW của cây đậu tương. QTL *qSFT_7-3* cũng được tìm thấy bao phủ vị trí nhiễm sắc thể của các marker SNP (gây ra tới 5,7% PVE) liên quan đến khả năng chịu ngập ở giai đoạn sinh trưởng sớm của đậu tương [54]. QTL gây ra tới 10,9% PVE cho chỉ số năng suất ngập úng ở đậu tương [11] được tìm thấy trong QTL *qSFT_13-53*. Một số gen ứng viên liên quan đến khả năng chống chịu căng thẳng như *Glyma13g27120*, *Glyma13g27410* và *Glyma13g29760* cũng nằm trong vùng QTL của nhiễm sắc thể 13. Một gen ứng viên Glyma15g10750 mã hóa cho methionine sulfoxide reductase được tìm thấy trong QTL *qSFT_15-67*, ngụ ý vai trò của nó trong khả năng chịu ngập úng. Methionine sulfoxide reductase phản ứng với các căng thẳng phi sinh học ở đậu tương [64, 65, 66].

QTL *qSFT_7-3* được xác định trong các điểm nóng QTL, chồng lên các vị trí vật lý của QTL được phát hiện trong các nghiên cứu trước đây. Ngoài ra, hai SNP (AX-90363591 và AX-90445362) trên nhiễm sắc thể số 13 có liên quan đến QTL chịu ngập úng [34] cũng được tìm thấy có liên quan đến QTL trong nghiên cứu này (Hình bổ sung S3). Hơn nữa, một báo cáo giải mã trình tự RNA [67] tiết lộ rằng một số gen liên quan đến căng thẳng phi sinh học xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (*LOC100799976*), polygalacturonase (*GLYMA_07G066900*), protein liên kết calmodulin (*GLYMA_07G008400*), gen NAC của đậu tương (*GLYMA_050600*) Gen RNA helicase (*GLYMA_07G056600*) và yếu tố liên kết phản ứng với mất nước (*GLYMA_07G017300*), được điều hòa ở bố mẹ chống chịu Danbaekkong và bố mẹ mẫn cảm NTS1116, nằm ở các điểm nóng QTL trên nhiễm sắc thể 7. Báo cáo giải trình tự ARN này cũng hỗ trợ độ tin cậy của QTL được xác định trong nghiên cứu này. Việc cùng khu vực hóa QTL liên quan đến khả năng chịu ngập được xác định trong các nghiên cứu hiện tại và trước đây, được thực hiện ở cùng một giai đoạn và/hoặc các giai đoạn sinh trưởng khác nhau của đậu tương sử dụng nền tảng đa dạng di truyền, chỉ ra rằng QTL có thể được ứng dụng thực tế và được sử dụng để cải thiện khả năng chịu ngập úng của các giống đậu tương. Mặc dù một số QTL được xác định trong nghiên cứu này nằm trong hoặc gần QTL hoặc các gen ứng cử viên cho khả năng chịu ngập úng, nhiều trong số chúng không được xác định nhất quán trong các môi trường khác nhau có thể do sự tham gia của một số cơ chế sinh hóa trong khả năng chịu căng thẳng phi sinh học [68] và ảnh hưởng của môi trường

trồng trọt [69]. Hơn nữa, một số gen của các con đường trao đổi chất khác nhau như SnRK1A [70], N-end-rule [71, 72] và glycolytic [73] được báo cáo là tương tác để chống chịu ngập úng.

5. KẾT LUẬN

Tổng số 10 QTL về khả năng chịu ngập đã được xác định trên bảy nhiễm sắc thể. Một số QTL được tìm thấy trùng lặp trong khi những QTL khác nằm trong vùng lân cận của một số QTL liên quan đến căng thẳng và/hoặc gen ứng cử viên đã được báo cáo trước đó. Ít nhất một QTL trên nhiễm sắc thể 6 và 7 đã được xác định trong nhiều môi trường. Vì khả năng chống chịu căng thẳng phi sinh học ở thực vật là một hiện tượng phức tạp và đa chiều nên việc phân tích QTL về khả năng chịu ngập bằng cách sử dụng dữ liệu kiểu hình có nguồn gốc (chẳng hạn như CCI, DWI và FTI) có thể hữu ích như dữ liệu thu được từ các phép đo trực tiếp (ví dụ: CC và DW). Nghiên cứu này có thể áp dụng trong việc tìm hiểu cơ sở di truyền của khả năng chịu ngập và sử dụng QTL trong các chương trình chọn giống. Nghiên cứu đang được tiến hành để phân tích sự biểu hiện của các gen ứng cử viên nằm ở các điểm nóng QTL, sử dụng các RIL chống chịu và mẫn cảm với ngập úng được trồng trong điều kiện có kiểm soát và ngập úng. QTL có thể được chuyển vào các kiểu gen đậu tương quan tâm để nâng cao khả năng chống chịu ngập úng của chúng bằng cách áp dụng công nghệ MAS. Việc áp dụng nghiên cứu này thậm chí có thể tăng lên trong bối cảnh biến đổi khí hậu và hậu quả tiềm tàng của các trận lũ lụt gia tăng.

Xem bảng và hình bổ sung tại https://www.mdpi.com/article/10.3390/agronomy11050908/s1

Tài liệu tham khảo

1. Najafi, E.; Devineni, N.; Khanbilvardi, R.M.; Kogan, F. Understanding the Changes in Global Crop Yields Through Changes in Climate and Technology. *Earth's Futur.* **2018**, *6*, 410–427. [**Google Scholar**] [**CrossRef**]
2. Bailey-Serres, J.; Fukao, T.; Gibbs, D.J.; Holdsworth, M.J.; Lee, S.C.; Licausi, F.; Perata, P.; Voesenek, L.A.C.J.; van Dongen, J.T. Making sense of low oxygen sensing. Trends Plant Sci. 2012, 17, 129–138. [Google Scholar] [CrossRef]
3. Shanmugam, S.; Zhao, S.; Nandy, S.; Srivastava, V.; Khodakovskaya, M. Modification of soybean growth and abiotic stress tolerance by expression of truncated ERECTA protein from Arabidopsis thaliana. PLoS ONE 2020, 15, e0233383. [Google Scholar] [CrossRef]
4. Qin, D.; Liu, X.-Y.; Miceli, C.; Zhang, Q.; Wang, P. Soybean plants expressing the Bacillus thuringiensis cry8-like gene show resistance to Holotrichia parallela. BMC Biotechnol. 2019, 19, 66. [Google Scholar] [CrossRef]
5. Ramalingam, J.; Alagarasan, G.; Savitha, P.; Lydia, K.; Pothiraj, G.; Vijayakumar, E.; Sudhagar, R.; Singh, A.; Vedna, K.; Vanniarajan, C. Improved host-plant resistance to Phytophthora rot and powdery mildew in soybean (Glycine max (L.) Merr.). Sci. Rep. 2020, 10, 13928. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
6. Valliyodan, B.; Van Toai, T.T.; Alves, J.D.; de Fátima, P.; Goulart, P.; Lee, J.D.; Fritschi, F.B.; Rahman, M.A.; Islam, R.; Shannon, J.G.; et al. Expression of Root-Related Transcription Factors Associated with Flooding Tolerance of Soybean (Glycine max). Int. J. Mol. Sci. 2014, 15, 17622–17643. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
7. Ye, H.; Song, L.; Chen, H.; Valliyodan, B.; Cheng, P.; Ali, L.; Vuong, T.; Wu, C.; Orlowski, J.; Buckley, B.; et al. A major natural genetic variation associated with root system architecture and plasticity improves waterlogging tolerance and yield in soybean. Plant Cell Environ. 2018, 41, 2169–2182. [Google Scholar] [CrossRef]
8. Hou, F.F.; Thseng, F.S. Studies on the flooding tolerance of soybean seed: Varietal differences. Euphytica 1991, 57, 169–173. [Google Scholar] [CrossRef]
9. Wu, C.; Chen, P.; Hummer, W.; Zeng, A.; Klepadlo, M. Effect of Flood Stress on Soybean Seed Germination in the Field. Am. J. Plant Sci. 2017, 8, 53–68. [Google Scholar] [CrossRef]
10. Linkemer, G.; Board, J.E.; Musgrave, M.E. Waterlogging Effects on Growth and Yield Components in Late-Planted Soybean. Crop. Sci. 1998, 38, 1576–1584. [Google Scholar] [CrossRef]

11. 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. Mapping of Quantitative Trait Loci Associated with Resistance toPhytophthora sojaeand Flooding Tolerance in Soybean. Crop. Sci. 2012, 52, 2481–2493. [Google Scholar] [CrossRef]
12. Githiri, S.M.; Watanabe, S.; Harada, K.; Takahashi, R. QTL analysis of flooding tolerance in soybean at an early vegetative growth stage. Plant Breed. 2006, 125, 613–618. [Google Scholar] [CrossRef]
13. Kokubun, M. Genetic and cultural improvement of soybean for waterlogged conditions in Asia. Field Crop. Res. 2013, 152, 3–7. [Google Scholar] [CrossRef]
14. Patil, P.K.; Singh, A.K.; Tripathi, N.; Yadav, D.; Hemantaranjan, A. Flooding: Abiotic Constraint Limiting Vegetable Productivity. Adv. Plants Agric. Res. 2014, 1, 96–103. [Google Scholar] [CrossRef]
15. Henshaw, T.L.; Gilbert, R.A.; Scholberg, J.M.S.; Sinclair, T.R. Soya Bean (Glycine max L. Merr.) Genotype Response to Early-season Flooding: I. Root and Nodule Development. J. Agron. Crop. Sci. 2007, 193, 177–188. [Google Scholar] [CrossRef]
16. Maekawa, T.; Shimamura, S.; Shimada, S. Effects of Short-Term Waterlogging on Soybean Nodule Nitrogen Fixation at Different Soil Reductions and Temperatures. Plant Prod. Sci. 2011, 14, 349–358. [Google Scholar] [CrossRef]
17. Arrese-Igor, C.; Royuela, M.; Aparicio-Tejo, P.M. Responses of Nodulated Legumes to Oxygen Deficiency. In Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate; Jackson, M.B., Black, C.R., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1993; pp. 423–432. ISBN 978-3-642-78535-1. [Google Scholar]
18. Oliveira, H.C.; Sodek, L. Effect of oxygen deficiency on nitrogen assimilation and amino acid metabolism of soybean root segments. Amino Acids 2013, 44, 743–755. [Google Scholar] [CrossRef]
19. Oliveira, H.C.; Freschi, L.; Sodek, L. Nitrogen metabolism and translocation in soybean plants subjected to root oxygen deficiency. Plant Physiol. Biochem. 2013, 66, 141–149. [Google Scholar] [CrossRef]
20. Limami, A.M.; Diab, H.; Lothier, J. Nitrogen metabolism in plants under low oxygen stress. Planta 2014, 239, 531–541. [Google Scholar] [CrossRef]
21. Boru, G.; VanToai, T.; Alves, J.; Hua, D.; Knee, M. Responses of Soybean to Oxygen Deficiency and Elevated Root-zone Carbon Dioxide Concentration. Ann. Bot. 2003, 91, 447–453. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
22. Araki, H. Water uptake of soybean (Glycine max L. Merr.) during exposure to O2 deficiency and field level CO2 concentration in the root zone. Field Crop. Res. 2006, 96, 98–105. [Google Scholar] [CrossRef]
23. Chen, W.; Yao, Q.; Patil, G.B.; Agarwal, G.; Deshmukh, R.K.; Lin, L.; Wang, B.; Wang, Y.; Prince, S.J.; Song, L.; et al. Identification and Comparative Analysis of Differential Gene Expression in Soybean Leaf Tissue under Drought and Flooding Stress Revealed by RNA-Seq. Front. Plant Sci. 2016, 7, 1044. [Google Scholar] [CrossRef]
24. Zhou, M. Improvement of Plant Waterlogging Tolerance. In Waterlogging Signalling and Tolerance in Plants; Mancuso, S., Shabala, S., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2010; pp. 267–285. ISBN 978-3-642-10304-9. [Google Scholar]
25. VanToai, T.T.; St. Martin, S.K.; Chase, K.; Boru, G.; Schnipke, V.; Schmitthenner, A.F.; Lark, K.G. Identification of a QTL Associated with Tolerance of Soybean to Soil Waterlogging. Crop. Sci. 2001, 41, 1247–1252. [Google Scholar] [CrossRef]
26. Reyna, N.; Cornelious, B.; Shannon, J.G.; Sneller, C.H. Evaluation of a QTL for Waterlogging Tolerance in Southern Soybean Germplasm. Crop. Sci. 2003, 43, 2077–2082. [Google Scholar] [CrossRef]
27. Cornelious, B.; Chen, P.; Chen, Y.; De Leon, N.; Shannon, J.G.; Wang, D. Identification of QTLs Underlying Water-Logging Tolerance in Soybean. Mol. Breed. 2005, 16, 103–112. [Google Scholar] [CrossRef]
28. Sayama, T.; Nakazaki, T.; Ishikawa, G.; Yagasaki, K.; Yamada, N.; Hirota, N.; Hirata, K.; Yoshikawa, T.; Saito, H.; Teraishi, M.; et al. QTL analysis of seed-flooding tolerance in soybean (Glycine max [L.] Merr.). Plant Sci. 2009, 176, 514–521. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
29. Salekdeh, G.H.; Reynolds, M.; Bennett, J.; Boyer, J. Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. Trends Plant Sci. 2009, 14, 488–496. [Google Scholar] [CrossRef]
30. Berger, B.; Parent, B.; Tester, M. High-throughput shoot imaging to study drought responses. J. Exp. Bot. 2010, 61, 3519–3528. [Google Scholar] [CrossRef]
31. Cho, J.-W.; Ji, H.C.; Yamakawa, T. Comparison of Photosynthetic Response of Two Soybean Cultivars to Soil Flooding. J. Fac. Agric. Kyushu Univ. 2006, 51, 227–232. [Google Scholar] [CrossRef]
32. Shimono, H.; Konno, T.; Sakai, H.; Sameshima, R. Interactive Effects of Elevated Atmospheric CO2 and Waterlogging on Vegetative Growth of Soybean (Glycine max (L.) Merr.). Plant Prod. Sci. 2012, 15, 238–245. [Google Scholar] [CrossRef]
33. Hummer, W.S. Linkage Mapping for Soybean (Glycine max) Flood Tolerance. Master's Thesis, University of Arkansas, Fayetteville, NC, USA, 2018. [Google Scholar]
34. Dhungana, S.K.; Kim, H.-S.; Kang, B.-K.; Seo, J.-H.; Kim, H.-T.; Shin, S.-O.; Park, C.-H.; Kwak, D.-Y. Quantitative trait loci mapping for flooding tolerance at an early growth stage of soybean recombinant inbred line population. Plant Breed. 2020, 139, 626–638. [Google Scholar] [CrossRef]
35. Soltani, A.; MafiMoghaddam, S.; Oladzad-Abbasabadi, A.; Walter, K.; Kearns, P.J.; Vasquez-Guzman, J.; Mamidi, S.; Lee, R.; Shade, A.L.; Jacobs, J.L.; et al. Genetic Analysis of Flooding Tolerance in an Andean

Diversity Panel of Dry Bean (Phaseolus vulgaris L.). Front. Plant Sci. 2018, 9, 767. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
36. Yu, M.; Chen, G.-Y. Conditional QTL mapping for waterlogging tolerance in two RILs populations of wheat. SpringerPlus 2013, 2, 245. [Google Scholar] [CrossRef]
37. Yu, M.; Mao, S.; Chen, G.; Liu, Y.; Li, W.; Wei, Y.; Liu, C.; Zheng, Y. QTLs for Waterlogging Tolerance at Germination and Seedling Stages in Population of Recombinant Inbred Lines Derived from a Cross Between Synthetic and Cultivated Wheat Genotypes. J. Integr. Agric. 2014, 13, 31–39. [Google Scholar] [CrossRef]
38. Ballesteros, D.C.; Mason, R.E.; Addison, C.K.; Acuña, M.A.; Arguello, M.N.; Subramanian, N.; Miller, R.G.; Sater, H.; Gbur, E.E.; Miller, D.; et al. Tolerance of wheat to vegetative stage soil waterlogging is conditioned by both constitutive and adaptive QTL. Euphytica 2015, 201, 329–343. [Google Scholar] [CrossRef]
39. Li, H.; Vaillancourt, R.; Mendham, N.; Zhou, M. Comparative mapping of quantitative trait loci associated with waterlogging tolerance in barley (Hordeum vulgare L.). BMC Genom. 2008, 9, 401. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
40. Liao, C.Y.; Wu, P.; Hu, B.; Yi, K.K. Effects of genetic background and environment on QTLs and epistasis for rice (Oryza sativa L.) panicle number. Theor. Appl. Genet. 2001, 103, 104–111. [Google Scholar] [CrossRef]
41. Xie, X.-W.; Xu, M.-R.; Zang, J.-P.; Sun, Y.; Zhu, L.-H.; Xu, J.-L.; Zhou, Y.-L.; Li, Z.-K. Genetic Background and Environmental Effects on QTLs for Sheath Blight Resistance Revealed by Reciprocal Introgression Lines in Rice. Acta Agron. Sin. 2008, 34, 1885–1893. [Google Scholar] [CrossRef]
42. Koo, S.C.; Kim, H.T.; Kang, B.K.; Lee, Y.H.; Oh, K.W.; Baek, I.Y.; Yun, H.T.; Choi, M.S.; Kim, H.Y. Screening of Flooding Tolerance in Soybean Germplasm Collection. Korean J. Breed. Sci. 2014, 46, 129–135. [Google Scholar] [CrossRef]
43. Lee, C.; Choi, M.-S.; Kim, H.-T.; Yun, H.-T.; Lee, B.; Chung, Y.-S.; Kim, R.W.; Choi, H.-K. Soybean [Glycine max (L.) Merrill]: Importance as A Crop and Pedigree Reconstruction of Korean Varieties. Plant Breed. Biotechnol. 2015, 3, 179–196. [Google Scholar] [CrossRef]
44. Kim, D.H.; Kim, K.H.; Van, K.; Kim, M.Y.; Lee, S.-H. Fine mapping of a resistance gene to bacterial leaf pustule in soybean. Theor. Appl. Genet. 2010, 120, 1443–1450. [Google Scholar] [CrossRef]
45. Hong, E.H.; Kim, S.D.; Hwang, Y.H.; Lee, Y.H.; Moon, Y.H.; Park, E.H.; Park, R.K. A Semi-Dwarf, High Density-Adaptable and High Yielding Soybean Variety “Paldalkong. ” Res. Rep. Rural Dev. Adm. Crop. 1987, 29, 203–209. [Google Scholar]
46. Lee, Y.-G.; Jeong, N.; Kim, J.H.; Lee, K.; Kim, K.H.; Pirani, A.; Ha, B.-K.; Kang, S.-T.; Park, B.-S.; Moon, J.-K.; et al. Development, validation and genetic analysis of a large soybean SNP genotyping array. Plant J. 2015, 81, 625–636. [Google Scholar] [CrossRef]
47. Toker, C. Estimates of broad-sense heritability for seed yield and yield criteria in faba bean (Vicia faba L.). Hereditas 2004, 140, 222–225. [Google Scholar] [CrossRef]
48. Meng, L.; Li, H.; Zhang, L.; Wang, J. QTL IciMapping: Integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. Crop. J. 2015, 3, 269–283. [Google Scholar] [CrossRef]
49. Wang, J.; Li, H.; Zhang, L.; Meng, L. Users’ Manual of QTL IciMapping; The Quantitative Genetics Group, Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS): Beijing, China; Genetic Resources Program, International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT): Mexico City, Mexico, 2016. [Google Scholar]
50. Wu, C.; Zeng, A.; Chen, P.; Florez-Palacios, L.; Hummer, W.; Mokua, J.; Klepadlo, M.; Yan, L.; Ma, Q.; Cheng, Y. An effective field screening method for flood tolerance in soybean. Plant Breed. 2017, 136, 710–719. [Google Scholar] [CrossRef]
51. Wray, N.R.; Visscher, P.M. Estimating Trait Heritability. Nat. Educ. 2008, 1, 29. [Google Scholar]
52. Djanaguiraman, M.; Prasad, P.V.; Boyle, D.L.; Schapaugh, W.T. High-Temperature Stress and Soybean Leaves: Leaf Anatomy and Photosynthesis. Crop. Sci. 2011, 51, 2125–2131. [Google Scholar] [CrossRef]
53. Rieseberg, L.H.; Archer, M.A.; Wayne, R.K. Transgressive segregation, adaptation and speciation. Heredity 1999, 83, 363–372. [Google Scholar] [CrossRef]
54. Wu, C.; Mozzoni, L.A.; Moseley, D.; Hummer, W.; Ye, H.; Chen, P.; Shannon, G.; Nguyen, H. Genome-wide association mapping of flooding tolerance in soybean. Mol. Breed. 2020, 40, 4. [Google Scholar] [CrossRef]
55. Nguyen, H.T.M.; Neelakadan, A.K.; Quach, T.N.; Valliyodan, B.; Kumar, R.; Zhang, Z.; Nguyen, H.T. Molecular characterization of Glycine max squalene synthase genes in seed phytosterol biosynthesis. Plant Physiol. Biochem. 2013, 73, 23–32. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
56. Cheng, S.; Huang, Y.; Zhu, N.; Zhao, Y. The rice WUSCHEL-related homeobox genes are involved in reproductive organ development, hormone signaling and abiotic stress response. Gene 2014, 549, 266–274. [Google Scholar] [CrossRef]

57. Ma, J.; Li, M.-Y.; Wang, F.; Tang, J.; Xiong, A.-S. Genome-wide analysis of Dof family transcription factors and their responses to abiotic stresses in Chinese cabbage. BMC Genom. 2015, 16, 33. [Google Scholar] [CrossRef]
58. Zhu, M.; Chen, G.; Dong, T.; Wang, L.; Zhang, J.; Zhao, Z.; Hu, Z. SlDEAD31, a Putative DEAD-Box RNA Helicase Gene, Regulates Salt and Drought Tolerance and Stress-Related Genes in Tomato. PLoS ONE 2015, 10, e0133849. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
59. Song, H.; Wang, P.; Hou, L.; Zhao, S.; Zhao, C.; Xia, H.; Li, P.; Zhang, Y.; Bian, X.; Wang, X. Global Analysis of WRKY Genes and Their Response to Dehydration and Salt Stress in Soybean. Front. Plant Sci. 2016, 7, 9. [Google Scholar] [CrossRef]
60. Liu, X.; Li, R.; Dai, Y.; Yuan, L.; Sun, Q.; Zhang, S.; Wang, X. A B-box zinc finger protein, MdBBX10, enhanced salt and drought stresses tolerance in Arabidopsis. Plant Mol. Biol. 2019, 99, 437–447. [Google Scholar] [CrossRef]
61. Guo, R.; Qiao, H.; Zhao, J.; Wang, X.; Tu, M.; Guo, C.; Wan, R.; Li, Z.; Wang, X. The Grape VlWRKY3 Gene Promotes Abiotic and Biotic Stress Tolerance in Transgenic Arabidopsis thaliana. Front. Plant Sci. 2018, 9, 545. [Google Scholar] [CrossRef]
62. Dossa, K.; Mmadi, M.A.; Zhou, R.; Zhang, T.; Su, R.; Zhang, Y.; Wang, L.; You, J.; Zhang, X. Depicting the Core Transcriptome Modulating Multiple Abiotic Stresses Responses in Sesame (Sesamum indicum L.). Int. J. Mol. Sci. 2019, 20, 3930. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
63. Carther, K.; Ketehouli, T.; Ye, N.; Yang, Y.-H.; Wang, N.; Dong, Y.-Y.; Yao, N.; Liu, X.-M.; Liu, W.-C.; Li, X.-W.; et al. Comprehensive Genomic Analysis and Expression Profiling of Diacylglycerol Kinase (DGK) Gene Family in Soybean (Glycine max) under Abiotic Stresses. Int. J. Mol. Sci. 2019, 20, 1361. [Google Scholar] [CrossRef]
64. Chu, H.D.; Nguyen, K.-L.; Watanabe, Y.; Le, D.T.; Tran, L.-S.P. Expression analyses of soybean genes encoding methionine-R-sulfoxide reductase under various conditions suggest a possible role in the adaptation to stress. Appl. Biol. Chem. 2016, 59, 681–687. [Google Scholar] [CrossRef]
65. Sun, X.; Sun, M.; Jia, B.; Qin, Z.; Yang, K.; Chen, C.; Yu, Q.; Zhu, Y. A Glycine soja methionine sulfoxide reductase B5a interacts with the Ca2+/CAM-binding kinase GsCBRLK and activates ROS signaling under carbonate alkaline stress. Plant J. 2016, 86, 514–529. [Google Scholar] [CrossRef]
66. Rey, P.; Tarrago, L. Physiological Roles of Plant Methionine Sulfoxide Reductases in Redox Homeostasis and Signaling. Antioxidants 2018, 7, 114. [Google Scholar] [CrossRef]
67. Dhungana, S.K.; Kim, H.-S.; Kang, B.-K.; Seo, J.-H.; Kim, H.-T.; Oh, J.-H.; Shin, S.-O.; Baek, I.-Y. Analysis of differentially expressed genes in soybean leaf tissue of tolerant and susceptible cultivars under flooding stress revealed by RNA sequencing. J. Crop. Sci. Biotechnol. 2021, 24, 83–91. [Google Scholar] [CrossRef]
68. Deshmukh, R.; Sonah, H.; Patil, G.; Chen, W.; Prince, S.; Mutava, R.; Vuong, T.; Valliyodan, B.; Nguyen, H.T. Integrating omic approaches for abiotic stress tolerance in soybean. Front. Plant Sci. 2014, 5, 244. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
69. Sareen, S.; Tyagi, B.S.; Sarial, A.K.; Tiwari, V.; Sharma, I. Trait analysis, diversity, and genotype × environment interaction in some wheat landraces evaluated under drought and heat stress conditions. Chil. J. Agric. Res. 2014, 74, 135–142. [Google Scholar] [CrossRef]
70. Lee, K.-W.; Chen, P.-W.; Lu, C.-A.; Chen, S.; Ho, T.-H.D.; Yu, S.-M. Coordinated Responses to Oxygen and Sugar Deficiency Allow Rice Seedlings to Tolerate Flooding. Sci. Signal. 2009, 2, ra61. [Google Scholar] [CrossRef]
71. Gonzali, S.; Loreti, E.; Cardarelli, F.; Novi, G.; Parlanti, S.; Pucciariello, C.; Bassolino, L.; Banti, V.; Licausi, F.; Perata, P. Universal stress protein HRU1 mediates ROS homeostasis under anoxia. Nat. Plants 2015, 1, 15151. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
72. Mendiondo, G.M.; Gibbs, D.J.; Szurman-Zubrzycka, M.; Korn, A.; Marquez, J.; Szarejko, I.; Maluszynski, M.; King, J.; Axcell, B.; Smart, K.; et al. Enhanced waterlogging tolerance in barley by manipulation of expression of the N-end rule pathway E3 ligase PROTEOLYSIS6. Plant Biotechnol. J. 2016, 14, 40–50. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
73. Oh, M.; Komatsu, S. Characterization of proteins in soybean roots under flooding and drought stresses. J. Proteom. 2015, 114, 161–181. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]