

# ĐIỀU CHỈNH PHẢN ỨNG HẠN CỦA ĐẬU TƯƠNG BẰNG CÁCH XỬ LÝ MEPIQUAT CHLORIDE

Xiyue Wang<sup>1</sup>, Xinyu Zhou<sup>1</sup>, Zhipeng Qu<sup>1</sup>, Chao Yan<sup>1</sup>, Chunmei Ma<sup>1</sup>, Jun Liu<sup>2</sup>  
và Shoukun Dong<sup>1</sup>  
*Võ Như Cẩm biên dịch.*

1. Cao đẳng Nông nghiệp, Đại học Nông nghiệp Đông Bắc, Cáp Nhĩ Tân, Trung Quốc
2. Phòng thí nghiệm Hệ gen chức năng và Tin sinh học, Viện Khoa học Cây trồng, Viện Khoa học Nông nghiệp Trung Quốc, Bắc Kinh, Trung Quốc

**Giới thiệu:** Đậu tương là cây trồng quan trọng nhất trên thế giới và hạn hán có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của chúng và cuối cùng là năng suất. Ứng dụng mepiquat chloride (MC) qua lá có khả năng làm giảm bớt thiệt hại do hạn hán gây ra ở thực vật; tuy nhiên, cơ chế điều hòa MC đối với phản ứng hạn hán của cây đậu tương vẫn chưa được nghiên cứu.

**Phương pháp:** Nghiên cứu này khảo sát cơ chế điều hòa ứng phó với khô hạn của cây đậu tương bằng mepiquat chloride ở hai giống đậu tương Heinong 65 (HN65) miễn cảm và Heinong44 (HN44) chịu hạn, theo ba kịch bản xử lý, bình thường, khô hạn và khô hạn + Điều kiện MC

**Kết quả và thảo luận:** MC thúc đẩy tích lũy chất khô khi bị hạn hán, giảm chiều cao cây, giảm hoạt động của enzyme chống oxy hóa và giảm đáng kể hàm lượng malondialdehyd. Quá trình thu nhận ánh sáng, hệ thống ảnh I và II bị ức chế; tuy nhiên, sự tích lũy và điều hòa lại một số axit amin và flavonoid của MC đã được quan sát. Phân tích kết hợp đa omics cho thấy quá trình chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic và quá trình sinh tổng hợp isoflavone là những quá trình cốt lõi mà MC điều chỉnh phản ứng hạn hán ở đậu tương. Các gen ứng cử viên như *LOC100816177*, *SOMT-2*, *LOC100784120*, *LOC100797504*, *LOC100794610* và *LOC100819853* được xác định là rất quan trọng đối với tính kháng hạn của đậu tương. Cuối cùng, một mô hình đã được xây dựng để mô tả một cách có hệ thống cơ chế điều tiết của ứng dụng MC trên cây đậu tương khi bị khô hạn. Nghiên cứu này lấp đầy khoảng trống nghiên cứu của MC trong lĩnh vực kháng bệnh đậu tương.

## 1. GIỚI THIỆU

Đậu tương (*Glycine max*) là một trong những cây trồng quan trọng nhất hiện đang được trồng, cũng là nguyên liệu thô chính để sản xuất dầu thực vật và protein (Liu và cs, 2020). Đậu tương chứa nhiều chất hóa học thực vật, bao gồm các hợp chất phenolic và isoflavone. Ngoài ra, chúng được coi là một loại thực phẩm truyền thống tốt cho sức khỏe nhờ giá trị dinh dưỡng cao (Wang và Komatsu, 2017). Hơn nữa, chúng rất quan trọng trong sản xuất thức ăn chăn nuôi (Tyczewska và cs, 2016). Năng suất và sản lượng đậu tương toàn cầu trên mỗi ha đã tăng liên tục trong thế kỷ qua nhờ những tiến bộ trong canh tác nông nghiệp và giống cây trồng phù hợp với các vĩ độ khác nhau (Ainsworth và cs, 2012). Tuy nhiên, vẫn còn nhiều phạm vi để cải thiện việc chọn giống đậu tương để tăng năng suất của chúng. Cho đến nay, lai tạo và chọn giống phân tử đã được tiến hành như một phần của chọn giống đậu tương (Cao và cs, 2022). Tuy nhiên, một số yếu tố môi trường nhất định, chẳng hạn như hạn hán, nhiễm mặn và nhiệt độ cực cao, đã được phát hiện là hạn chế nghiêm trọng sự lây lan của thực vật, ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và phát triển, đồng thời làm giảm sản lượng cây trồng (Zhang và cs, 2022).

Hạn hán là một trong những căng thẳng phi sinh học chính ngăn cản sự phát triển và năng suất của cây trồng và gây nguy hiểm cho tính bền vững của sản xuất cây trồng. Nó cản trở sự phát triển của thực vật bằng cách làm gián đoạn dòng chảy của nước và giảm lượng nước cung cấp (Dubey và cs, 2021). Đáng chú ý, ở cấp độ tế bào và sinh vật, thực vật đã phát triển các phản ứng sinh lý và sinh hóa đối với hạn hán (Razi và Muneer, 2021). Cây bị hạn hán có lá vàng và quăn hoặc héo. Ngoài ra, hạn hán ảnh hưởng đến hình thái của rễ, dẫn đến giảm chiều dài, diện tích và đường kính của rễ (Bashir và cs, 2019). Theo lý thuyết sinh lý học, hạn hán làm tăng khả năng chống oxy hóa, hoạt động của enzyme chống oxy hóa và tích lũy chất điều chỉnh thẩm thấu trong thực vật (Wang và cs, 2022a). Hơn nữa, kích thích tố thực vật ảnh hưởng đáng kể đến phản ứng của thực vật đối với áp lực hạn hán. Ví dụ, áp lực hạn hán dẫn đến sự tích tụ thường xuyên của axit abscisic (ABA) (Waadt và cs, 2022). Ngoài ra, khô hạn có thể gây hại cho khả năng tổng hợp oxy của thực vật, điển hình là làm giảm khả năng quang hợp và đặc tính huỳnh quang của chất diệp lục (Yang và cs, 2019). Các nghiên cứu về hạn hán đã tiến xa hơn mức độ sinh lý học và hiện bao gồm việc kiểm tra kỹ lưỡng các cơ chế phân tử. Trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi, chúng tôi đã phát hiện ra một hệ thống chống hạn tập trung vào con đường đường phân, chu trình axit tricarboxylic (TCA) và con đường pentose phosphate, cũng như các gen ứng cử viên tiềm năng cho khả năng chống hạn (Wang và cs, 2022b). Hiểu được cơ chế của hạn hán có thể cho phép các nhà nghiên cứu cải thiện khả năng chống hạn của thực vật bằng cách sử dụng các kỹ thuật nhất định, bao gồm công nghệ chỉnh sửa gen và lai tạo. Tuy nhiên, việc chọn giống có sức đề kháng cao thường đòi hỏi thời gian dài và tốn kém.

Hiện tại, một số hóa chất ngoại sinh, chẳng hạn như melatonin, thường được sử dụng để tăng cường sự phát triển của cây trồng và khả năng chống chịu căng thẳng (Tiwari và cs, 2021). Mepiquat chloride (MC), một chất ức chế tăng trưởng thực vật nội sinh, thường được sử dụng trong bông vải. Việc làm chậm hoạt động của gibberellin (GA) liên quan đến sự kéo dài tế bào sẽ ngăn chặn việc kích hoạt các đường truyền tín hiệu, ức chế sự phát triển sinh dưỡng và phá vỡ cân bằng nội môi GA bằng cách kích hoạt các gen đặc hiệu tại vị trí, cuối cùng dẫn đến cây lùn (Tung và cs, 2020). Ngoài ra, nghiên cứu trước đây của chúng tôi đã chứng minh rằng MC ngăn chặn sự phát triển của đậu tương bằng cách ngăn chặn việc sản xuất GA, zeatin, brassinolide và các hormone thực vật khác, cũng như các gen liên quan đến quá trình xây dựng và truyền tín hiệu của thành tế bào; hơn nữa, chúng tôi phát hiện ra rằng MC có thể chịu được hạn hán. Việc sử dụng MC trong các trường hợp nước điển hình dẫn đến sự tích tụ một lượng đáng kể flavonoid và tăng lượng ABA ở mức độ nội tiết tố (Wang và cs, 2022c). Ngoài ra, một số nghiên cứu tiết lộ rằng MC cải thiện khả năng chống lại căng thẳng. Ví dụ, Liu và cs (2018) phát hiện ra rằng việc sử dụng MC có thể cải thiện chức năng trao đổi chất sinh lý của thực vật bằng cách tăng hàm lượng chất diệp lục và protein hòa tan trong lá hướng dương, tăng tích lũy axit amin tự do, giảm sản xuất malondialdehyd (MDA) và tăng cường hoạt động của catalase (CAT), men bảo vệ peroxidase (POD) và superoxide dismutase (SOD). Luo và cs (2010) đã chứng minh rằng xử lý MC điều chỉnh đáng kể khả năng chịu lạnh và tăng trưởng của ớt ngọt, bằng chứng là sự gia tăng hoạt động SOD và CAT, tăng các hợp chất điều chỉnh thẩm thấu như proline và đường hòa tan trong lá, và tích lũy thêm ABA, làm giảm thiệt hại do ứng suất nhiệt độ thấp gây ra. Tuy nhiên, cơ chế phân tử tiềm năng của việc điều chỉnh MC đối với phản ứng hạn hán của đậu tương vẫn chưa được biết.

Trong nghiên cứu này, tác động của MC đối với sự tăng trưởng và sinh lý của cây đậu tương khi bị khô hạn đã được báo cáo một cách có hệ thống bằng cách áp dụng MC cho

lá và mô phỏng hạn hán bằng Polyethylene Glycol (PEG-6000). Cơ chế phân tử của MC điều chỉnh phản ứng của đậu tương đối với hạn hán đã được phân tích sâu hơn, giúp lấp đầy khoảng trống nghiên cứu của MC trong lĩnh vực chống chịu căng thẳng của đậu tương và đặt nền tảng cho việc thúc đẩy MC trong sản xuất đậu tương.

## **2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP**

### **2.1 Vật liệu thí nghiệm và thiết kế thí nghiệm**

Hai giống Heinong 65 (HN65) nhạy cảm và Heinong 44 (HN44) chịu hạn được chọn làm vật liệu thí nghiệm vì khả năng chịu hạn khác biệt ở giai đoạn cây con (Wang và cs, 2022d). Phương pháp canh tác trên cát được sử dụng cho thí nghiệm. Tám hạt được gieo mỗi chậu và tỉa thưa thành ba cây con mỗi chậu khi lá thật phát triển đầy đủ. Chúng được tưới một lần mỗi ngày bằng nước cất (500mL) cho đến khi lá thật phát triển đầy đủ, và sau đó bằng dung dịch dinh dưỡng Hoagland (500mL) một lần mỗi ngày cho đến khi lá thật nở ra hoàn toàn. Các nghiệm thức sau đây được áp dụng khi đậu tương đạt đến giai đoạn cây con (V3): Nghiệm thức 1 (điều kiện bình thường), điều kiện nước bình thường được duy trì bằng cách bổ sung 500mL dung dịch dinh dưỡng Hoagland hàng ngày. Nghiệm thức 2 (hạn hán), điều kiện nước bình thường được duy trì trong 3 ngày đầu tiên, và nghiệm thức hạn hán được áp dụng sau đó. Dung dịch dinh dưỡng Hoagland (500mL) chứa 15% PEG-6000 được sử dụng một lần mỗi ngày trong 4 ngày tiếp theo. Nghiệm thức 3 (hạn + MC): Dung dịch MC (100 mg/L) phun đều lên các lá cho đến khi lá ướt hoàn toàn nhưng không nhỏ giọt. Điều kiện nước bình thường được duy trì trong 3 ngày đầu tiên. Sau đó, một phương pháp xử lý căng thẳng hạn hán đã được áp dụng, và trong 4 ngày tiếp theo, 500mL dung dịch dinh dưỡng chứa 15% PEG-6000 được sử dụng mỗi ngày một lần. Tất cả các phương pháp xử lý sau đó đã được lấy mẫu và đo lường. Để đảm bảo đủ vật liệu thí nghiệm, mỗi nghiệm thức giữ lại 30 chậu, duy trì hơn ba lần lặp lại sinh học (bao gồm cả phép đo hình thái và sinh lý). Để hiểu được quy định về hạn hán của MC ở cấp độ phân tử, phân tích phiên mã và chuyển hóa được thực hiện trong các nghiệm thức 2 và 3, bao gồm hai nhóm, HN44 hạn so với HN44 hạn + MC và HN65 hạn so với HN65 hạn + MC (Sau đây gọi là Nhóm HN44 và Nhóm HN65, tương ứng).

### **2.2 Xác định các chỉ tiêu hình thái, sinh lý**

Chiều cao cây được đo bằng thước mét. Đối với trọng lượng khô của lá và thân, cây được cắt ở vết sẹo của lá mầm, lá và thân được tách thủ công và cho vào phong bì giấy, sau đó phong bì này được niêm phong. Chúng được sấy khô trong lò ở 65°C trong 3 ngày và được cân bằng cân.

Phương pháp axit thiobarbituric được sử dụng để xác định nồng độ MDA. Hàm lượng proline được xác định bằng kỹ thuật axit indenetrione-sulfosalicylic. Kỹ thuật nitroblue tetrazolium (NBT) được sử dụng để đo hoạt động SOD và guaiacol được sử dụng để đo hoạt động POD. Những kỹ thuật này được trình bày chi tiết trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi (Dong và cs, 2019). Excel (Microsoft 365MSO) đã được sử dụng để vẽ biểu đồ thanh. Hàm lượng chất diệp lục tương đối được xác định bằng MultispeQV2.0.

### **2.3 Phương pháp thí nghiệm phiên mã và chuyển hóa**

Tổng cộng có 12 thư viện DNA bổ sung (cDNA) đã được xây dựng (bao gồm ba lần lặp lại nghiệm thức 2 và 3). Các thư viện cDNA đã được giải trình tự trên nền tảng giải trình tự Illumina. Dữ liệu gốc được lọc bằng fastp 0.19.3. HISAT v2.1.0 đã tạo một chỉ mục và căn chỉnh các lần đọc sạch theo bộ gen tham chiếu. DESeq2 v1.22.1 được sử dụng để tiến

hành phân tích biểu thức khác biệt giữa hai nhóm và kỹ thuật Stewamini & Hochberg được áp dụng để điều chỉnh giá trị P. Đối với biểu thức chênh lệch đáng kể, giá trị P được điều chỉnh và  $|\log_2$  thay đổi đã được sử dụng làm tiêu chí.  $|\log_2$  thay đổi  $\geq 1$  và FDR  $< 0,05$  là tiêu chí sàng lọc các gen biểu hiện khác nhau (DEG). Thử nghiệm siêu hình học tạo thành nền tảng cho phân tích làm giàu của các gen có biểu hiện khác biệt. Thử nghiệm phân phối siêu bội cho Gen và Bộ gen Bách khoa Kyoto (KEGG) được thực hiện dựa trên lộ trình.

Việc chuẩn bị sơ bộ các chất chuyển hóa được thực hiện theo các giao thức đã được thiết lập tại Công ty TNHH Công nghệ sinh học Metware (Vũ Hán, Trung Quốc).  $VIP \geq 1$  và  $|\log_2$  thay đổi  $\geq 1$  đã được sử dụng để xác định các chất chuyển hóa được điều chỉnh đáng kể giữa các nhóm. Bằng cách sử dụng gói R MetaboAnalystR, các giá trị biến quan trọng trong phép chiếu (VIP) đã được trích xuất từ dữ liệu Phân tích phân biệt phân biệt bình phương nhỏ nhất một phần trực giao (OPLS-DA), đồng thời tạo ra các biểu đồ điểm số và hoán vị. Dữ liệu được lấy trung bình làm trung tâm và được biến đổi logarit ( $\log_2$ ) trước OPLS-DA. Hàm thống kê pcomp trong R đã thực hiện phân tích thành phần chính không giám sát (PCA) ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)). Các chất chuyển hóa được phát hiện đã được chú thích bằng cách sử dụng cơ sở dữ liệu KEGG. Phiên bản R (gói cơ bản) 3.5.1, đã được sử dụng cho PCA. OPLS-DA được thực hiện bằng R (MetaboAnalystR; phiên bản 1.0.1). Cytoscape đã được sử dụng để tạo các mạng tương quan.

## 2.4 Phương pháp phát hiện phản ứng chuỗi polymerase định lượng thời gian thực

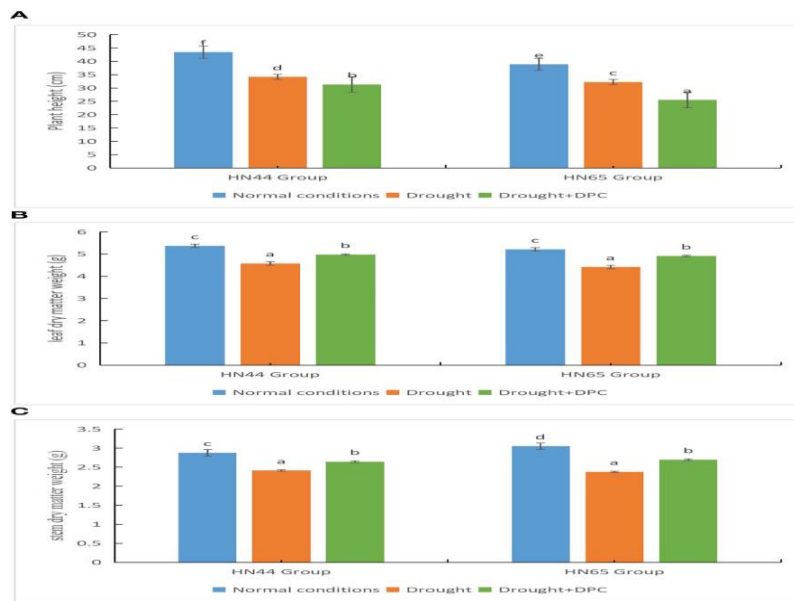
Công ty TNHH Công nghệ sinh học Norminkoda (Vũ Hán, Trung Quốc) đã thực hiện phát hiện qPCR. Sử dụng MonScript™ RTIII All-in-One Mix với dsDNase, phiên mã ngược toàn bộ RNA thành cDNA. Các đoạn mồi được sử dụng trong qPCR được trình bày trong Bảng bổ trợ S1. Quy trình PCR được thực hiện như sau: Đầu tiên, quá trình kích hoạt nhiệt ban đầu của PCR được thực hiện ở  $90^\circ\text{C}$  trong hai phút cho một chu kỳ. Thứ hai, biến tính ở  $95^\circ\text{C}$  trong 5 giây, kết hợp ủ/kéo dài ở  $60^\circ\text{C}$  trong 30 giây, 40 chu kỳ. Cuối cùng, đường cong nóng chảy đã được phân tích. Để xác định biểu hiện tương đối của các gen, gen tham chiếu bên trong ACT11 đã được sử dụng và phương pháp  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  đã được áp dụng.

## 3. KẾT QUẢ

### 3.1 MC làm giảm chiều cao cây nhưng thúc đẩy tích lũy chất khô khi bị hạn hán

Trước tiên, chúng tôi so sánh sự phát triển của thực vật trong ba điều kiện xử lý, tức là bình thường, áp lực hạn và hạn + MC. Trong điều kiện bình thường, hai giống (HN44 và HN65) có chiều cao lần lượt là 43,5cm và 38,9cm. Chiều cao của hai giống cây giảm mạnh khi bị hạn, lần lượt là 34,2cm và 32,2cm. Khi xử lý hạn hán + MC, chiều cao cây tiếp tục giảm xuống lần lượt là 31,3cm và 25,5cm, và sự khác biệt giữa các nghiệm thức là đáng kể (Hình 1A). Ngoài ra, trọng lượng chất khô của lá khác nhau đáng kể giữa các nghiệm thức (Hình 1B). Ở điều kiện bình thường, khối lượng khô của lá của hai giống lần lượt đạt 5,37g và 5,21g. Khi bị hạn, trọng lượng khô của lá của hai giống giảm đáng kể, tương ứng là 4,58g và 4,42g. Ở nghiệm thức hạn + MC, trọng lượng khô của lá cao hơn so với nghiệm thức hạn, lần lượt là 4,97g và 4,91g. Trọng lượng chất khô của thân cũng khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức (Hình 1C). Trọng lượng khô của thân trong điều kiện bình thường là 2,88g và 3,05g, trong khi chúng giảm mạnh xuống còn 2,41g và 2,38g tương ứng khi bị hạn. Trọng lượng khô của thân cây khi xử lý khô hạn + MC cao

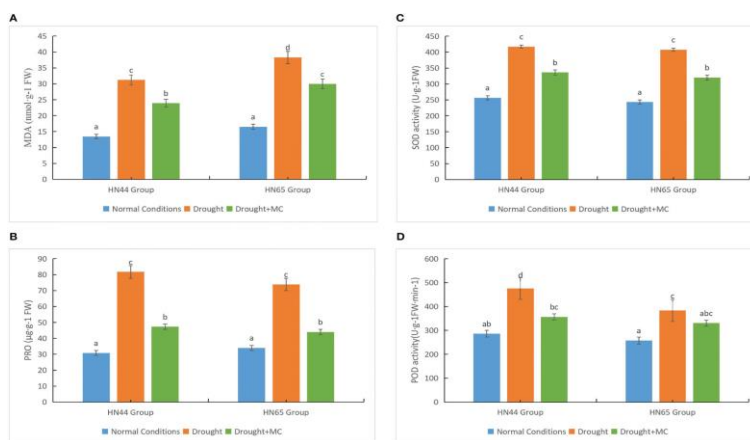
hơn so với khi xử lý hạn, lần lượt là 2,64g và 2,69g, cho thấy rằng MC đóng một vai trò cụ thể trong điều kiện áp lực hạn hán trong việc thúc đẩy tăng trưởng thực vật.



**Hình 1.** Đánh giá tình trạng tăng trưởng giữa các nghiệm thức. (A) Chiều cao cây. (B) Trọng lượng khô của lá. (C) Trọng lượng khô của thân cây. Các chữ cái khác nhau trong mỗi giống thể hiện 5% sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức.

### 3.2 MC giảm bớt thiệt hại thực vật do hạn hán gây ra

Chúng tôi đã nghiên cứu sự tích lũy MDA và proline cũng như hoạt động của SOD và POD để làm sáng tỏ các tác động sinh lý của MC đối với đậu tương khi bị hạn hán. Hạn hán dẫn đến giảm tích lũy MDA ở hai giống so với điều kiện nước bình thường (Hình 2A); tuy nhiên, mức MDA trong HN65 cao hơn, cho thấy mức độ thiệt hại nhiều hơn so với HN44. Hơn nữa, nồng độ MDA của hai giống giảm mạnh khi xử lý hạn + MC và MC làm giảm quá trình peroxy hóa lipid màng. Dưới áp lực hạn, hàm lượng proline của hai giống tăng lên rất nhiều (Hình 2B), với HN44 có hàm lượng proline cao hơn HN65. Tuy nhiên, hàm lượng proline giảm đáng kể khi xử lý hạn + MC, vì MC làm giảm đáng kể sự tích lũy proline. Hoạt động SOD và POD của hai giống tăng mạnh khi bị hạn, với hoạt động SOD ở HN44 luôn cao hơn ở HN65 (Hình 2C, D). Hoạt động POD của HN44 giảm mạnh khi xử lý hạn + MC, trong khi của HN65 giảm, mặc dù không đáng kể. Nhìn chung, HN44 có khả năng chống chịu hạn tốt hơn và MC đã giảm bớt thiệt hại do hạn gây ra ở một mức độ nào đó.



**Hình 2.** Đánh giá khả năng chịu hạn giữa các phương pháp xử lý khác nhau. (A) malondialdehyde (MDA), (B) proline, (C) superoxide dismutase (SOD) và (D) peroxidase (POD).

Các chữ cái khác nhau trong mỗi giống thể hiện 5 % sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức.

### 3.3 Đánh giá dữ liệu phiên mã và xác định gen khác biệt

Mười hai thư viện cDNA (bao gồm ba lần lặp lại sinh học cho mỗi lần xử lý) đã được xây dựng và giải trình tự để biết phản ứng của hai giống đậu tương đối với hạn. Mỗi thư viện cDNA tạo ra từ 58–71 triệu lượt đọc thô và từ 56–66 triệu lượt đọc tinh, mang lại 108,75 G lượt đọc tinh (Bảng hỗ trợ S2). Cơ sở tinh của mỗi mẫu được phân phối trong khoảng từ 8,45–9,99 G. Cơ sở Q30 chiếm hơn 93,2% tổng hàm lượng cơ sở, trong khi cơ sở GC chiếm từ 44,53–45,67%. Tỷ lệ so sánh của từng mẫu là trên 96,2% khi các lần đọc tinh được so sánh với bộ gen tham chiếu, chứng tỏ rằng chất lượng giải trình tự là tốt và có thể thực hiện phân tích tiếp theo.

Dưới áp lực hạn, MC thể hiện nhiều tác động khác nhau đối với hai giống đậu tương. Giống HN44 có 2476 DEG, bao gồm 674 gen điều hòa giảm và 1802 gen điều hòa tăng. Giống HN65 có 2752 DEG, bao gồm 1430 gen điều hòa giảm và 1322 gen điều hòa tăng. Tổng cộng hai giống này cùng thể hiện 756 DEG.

### 3.4 Phân tích chức năng của các gen khác biệt

Để hiểu cấu hình chức năng của các gen khác biệt, chú thích bản thể gen của các gen khác biệt đã được thực hiện (Hình S1). DEG trong HN44 đặc biệt phong phú trong một số thành phần liên quan đến quang hợp, bao gồm quá trình sinh tổng hợp chất diệp lục, quá trình chuyển hóa chất diệp lục, thu nhận ánh sáng, quang hợp, hệ thống quang điện 1, quá trình chuyển hóa sắc tố và phản ứng với cường độ ánh sáng cao. Ngoài ra, các con đường khác, chẳng hạn như tổng hợp và chuyển hóa vitamin E, cũng được tham gia. DEGs trong HN65 chủ yếu được làm giàu trong chuyển hóa glucose, cân bằng ion kim loại tế bào, phát triển lớp biểu bì, sinh tổng hợp axit béo, chuyển hóa axit béo, chuyển hóa lipid, quang hợp, phản ứng ánh sáng, chuỗi vận chuyển điện tử quang hợp, hệ thống quang không gian ngoại bào, thành tế bào thực vật, liên kết ion sắt, và các mặt hàng khác. Việc áp dụng MC đã ảnh hưởng đến các quá trình liên quan đến quang hợp ở hai giống.

Phân tích làm giàu đáng kể của KEGG đã được thực hiện để hiểu rõ hơn về các con đường trao đổi chất liên quan đến DEG (Hình S2). Quang hợp, protein ăng-ten quang hợp, chuyển hóa porphyrin và chất diệp lục, sinh tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp và tương tác mầm bệnh thực vật là năm yếu tố được làm giàu đáng kể nhất trong HN44. Ngoài ra, sự tương tác giữa mầm bệnh thực vật, con đường truyền tín hiệu MAPK giữa thực vật, truyền tín hiệu hormone thực vật, chuỗi sinh tổng hợp glycosphingolipid-ganglio và sinh tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp là năm yếu tố được làm giàu đáng kể nhất trong HN65.

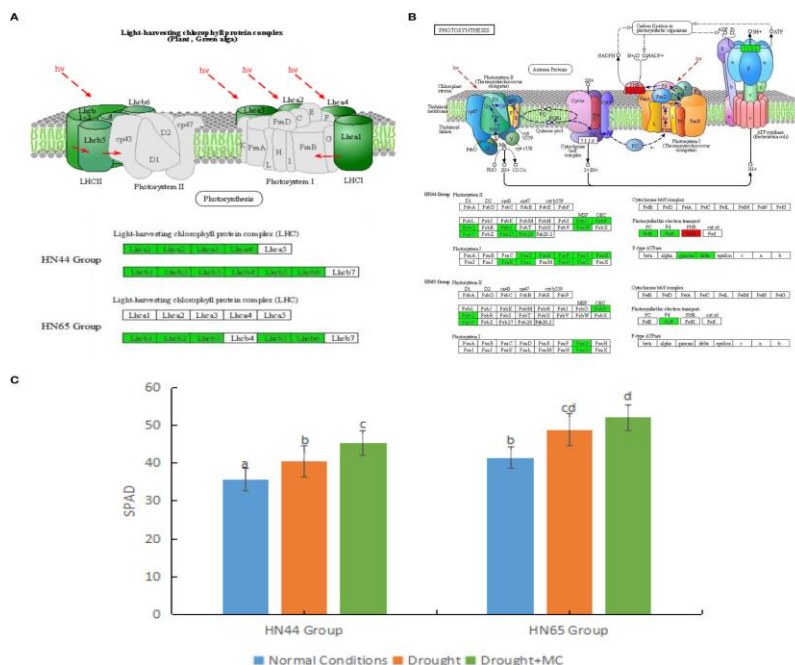
### 3.5 Ảnh hưởng của MC đến hệ thống quang hợp khi bị hạn

Đầu tiên, quá trình bắt sáng ở cả hai giống đều bị ảnh hưởng (Hình 3A). Ở HN44, các gen mã hóa các protein phức hợp I thu nhận ánh sáng Lhca1, Lhca2, Lhca3 và Lhca4 được điều hòa quá mức và các gen mã hóa các protein phức hợp II thu nhận ánh sáng Lhcb1, Lhcb2, Lhcb3, Lhcb4, Lhcb5 và Lhcb6 bị điều chỉnh quá mức. Ở HN65, các gen mã hóa các protein phức hợp II thu nhận ánh sáng Lhcb1, Lhcb2, Lhcb3, Lhcb5 và Lhcb6 đã được điều chỉnh quá mức. Quá trình điều chỉnh giảm của các protein này thể hiện sự giảm hiệu quả thu nhận ánh sáng của hai giống.

MC tiếp tục ức chế quá trình quang hợp của đậu tương dưới áp lực hạn (Hình 3B). Do giảm hiệu quả thu ánh sáng, các quá trình khác cũng bị ảnh hưởng. Ở HN44, MC có tác dụng ức chế quang hợp mạnh hơn. Trong hệ thống quang hợp II, các gen mã hóa PsbO,



PsbP, PsbQ, PsbS, PsbW, PsbY, Psb27 và Psb28 bị điều hòa quá mức. Trong hệ thống quang hợp I, các gen mã hóa các tiểu đơn vị quang hợp PsaD, PsaE, PsaF, PsaG, PsaH, PsaK, PsaL, PsaN và PsaO bị điều chỉnh quá mức. Ngoài ra, các gen mã hóa plastocyanin và ferredoxin được điều chỉnh quá mức trong quá trình vận chuyển điện tử quang hợp.



**Hình 3.** Tác dụng của MC đối với hệ thống quang hợp dưới áp lực hạn.

(A) hệ thống thu ánh sáng

(B) quang hợp.

(C) hàm lượng chất diệp lục tương đối.

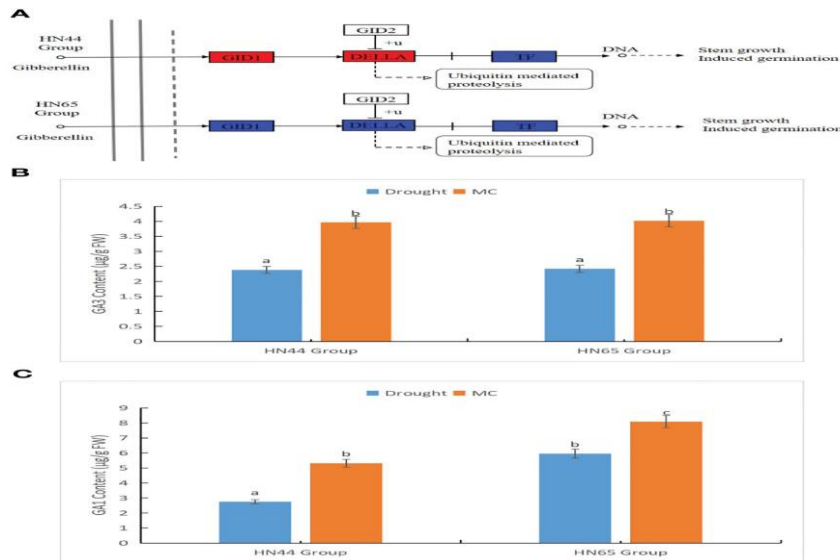
Các chữ cái khác nhau trong mỗi giống thể hiện 5% sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức.

Ngược lại, *LOC100777573* ( $\text{Log}_2\text{FC} = 2,08$ ), chỉ mã hóa NADP + reductase, đã được điều chỉnh tăng, trong khi các gen mã hóa ATPF1G và ATPF1D đã được điều chỉnh quá mức. Ở HN65, tác dụng ức chế quang hợp của MC yếu hơn so với HN44. Trong hệ thống quang hợp I, chỉ có các gen mã hóa PsaG và PsaO được điều chỉnh ngược, trong khi ở hệ thống quang hợp II, tất cả các gen mã hóa PsbP, PsbQ và PsbY đều được điều chỉnh ngược và tất cả các gen mã hóa ferredoxin trong quá trình vận chuyển điện tử quang hợp đều bị điều chỉnh ngược. Sự biểu hiện của protein họ PsbP, PsbQ, PsaG và PsaO có thể liên quan chặt chẽ với MC. Chúng tôi cũng quan sát thấy sự gia tăng hàm lượng chất diệp lục tương đối (Hình 3). Khi hai giống đậu tương chịu hạn, hàm lượng chất diệp lục tương đối tăng lên đáng kể. Sau khi ứng dụng MC, hàm lượng chất diệp lục tương đối tăng lên đáng kể trong HN44. Tuy nhiên, giá trị SPAD của HN44 nhìn chung thấp hơn HN65.

### 3.6 Tác dụng của MC đối với quá trình chuyển hóa GA khi bị hạn hán

Chúng tôi đã nghiên cứu thêm về tác động của MC đối với quá trình chuyển hóa GA khi bị hạn (Hình 4A).

Trong Nhóm HN44, chín gen đã tham gia vào con đường này. Ba gen liên quan đến *GID1* (*GID1*), *LOC100806530* ( $\text{Log}_2\text{FC} = 2,91$ , giống bên dưới), *LOC100779813* (2,18) và *LOC100788435* (1,65), đã được điều chỉnh tăng. Ngoài ra, *LOC100796434* (1,05), mã hóa protein DELLA, đã được điều chỉnh tăng và bị ảnh hưởng bởi quá trình quang hợp. Ngược lại, năm gen mã hóa yếu tố tương tác phytochrom 4 (*PIF4*) chỉ được điều chỉnh tăng bởi *LOC100807098* (3,44) và bốn gen còn lại *LOC100784531* (-1,20), *LOC100798855* (-1,61), *LOC100814124* (-1,23) và *LOC100819517* (-1,74) đã được điều chỉnh giảm.



**Hình 4.** Tác dụng của MC đối với quá trình chuyển hóa gibberellin dưới áp lực hạn hán.

(A) con đường trao đổi chất gibberellin (GA).

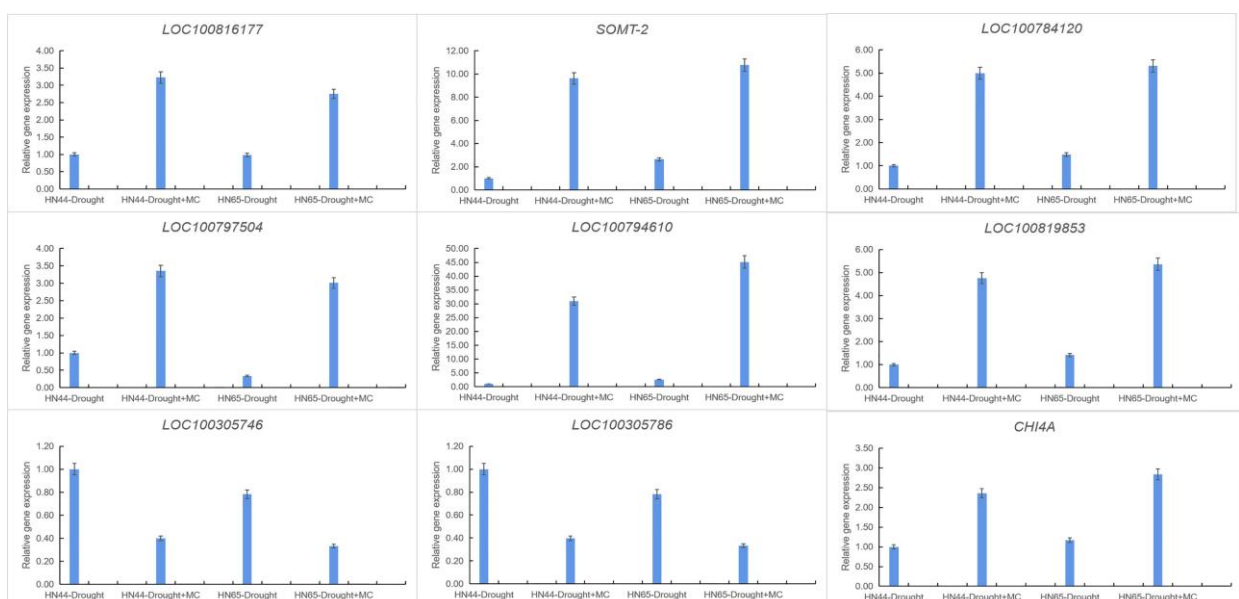
(B) hàm lượng GA3.

(C) hàm lượng GA1.

Các chữ cái khác nhau trong mỗi giống thể hiện 5% sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức.

Trong HN65, 16 gen đã tham gia vào con đường này; *LOC100812133* (1.43), *LOC106797394* (1.39), *LOC100779813* (1.54) và *LOC100788435* (1.92) mã hóa *GID1* được điều chỉnh tăng, *LOC100795069* (-2.52) được điều chỉnh giảm và *LOC100775665* (1.148) và Protein DELLA mã hóa *LOC100788103* (1.20) đã được điều chỉnh lại. Ngoài ra, chỉ một trong số chín gen mã hóa PIF4, *LOC100811345* (1.37), được điều chỉnh tăng. Ở mức độ sinh lý, chúng tôi đo sự thay đổi hàm lượng của một số hormone trong họ GA. GA 9, GA 15, GA 7, GA 20, GA 53, GA 4 và GA 24 không được phát hiện và nội dung GA 1, GA 19 và GA 3 đã thay đổi sau khi áp dụng MC. Hàm lượng GAs 3 và 1 trong hai giống tăng đáng kể sau khi bón MC dưới áp lực hạn (Hình 4B, C), trong khi hàm lượng GA 19 giảm đáng kể. Trong điều kiện hạn, hàm lượng GA19 trong HN44 là 0,73 µg/g FW và hàm lượng trong HN65 là 0,34 µg/g FW, trong khi GA 19 không được phát hiện sau khi bón MC. Nhìn chung, quá trình trao đổi chất của GA được tăng cường ở cấp độ phiên mã, và ở cấp độ sinh lý, GAs 1 và 3 cũng được tăng lên, do đó duy trì sự phát triển của thân cây dưới áp lực hạn.

### 3.7. Xác thực qRT-PCR



**Hình 5.** Biểu hiện gen được phân tích bằng phương pháp PCR thời gian thực định lượng so với phương pháp kiểm soát hán. Gen ACT11 được sử dụng làm gen tham chiếu nội bộ

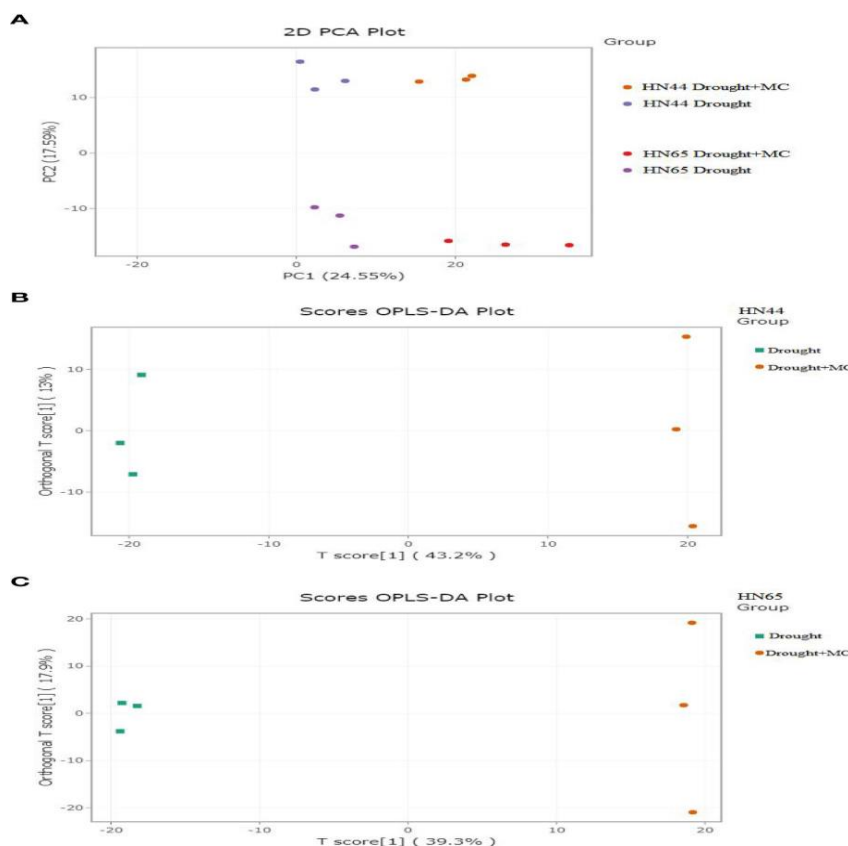


để chuẩn hóa biểu hiện. Các thanh lỗi cho biết SD của ba lần sao chép sinh học qRT-PCR.

Chín gen quan trọng đã được chọn để xác minh qRT-PCR nhằm xác nhận tính hợp lệ của dữ liệu phiên mã (Hình 5). *LOC100816177* tham gia vào quá trình chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic, *SOMT-2*, *LOC100784120*, *LOC100797504*, *LOC100794610* và *LOC100819853* tham gia vào quá trình sinh tổng hợp isoflavone, *LOC100305746* và *LOC100305786* tham gia vào quá trình quang hợp và *CHI4A* tham gia vào quá trình sinh tổng hợp flavonoid. Kết quả qPCR của chín gen được phát hiện phù hợp với xu hướng biểu hiện RNA-Seq. Những kết quả này cho thấy độ tin cậy cao của dữ liệu RNA-Seq.

### 3.8 PCA và OPLS-DA

Phân tích PCA được tiến hành trên các mẫu. Có sự khác biệt rõ ràng giữa các nhóm bị ảnh hưởng bởi hạn và những nhóm bị ảnh hưởng bởi hạn + MC (Hình 6A), cho thấy rằng ứng dụng MC dẫn đến những thay đổi chuyển hóa đáng kể giữa hai giống. Hồi quy bình phương nhỏ nhất từng phần được sử dụng để tạo mô hình quan hệ giữa biểu hiện chất chuyển hóa và phân loại mẫu. Các kết quả đã chứng minh rằng R2X, R2Y và Q2 lần lượt cao hơn 0,562, 0,846 và 0,936 trên bốn bộ mẫu, cho thấy mức độ nhạy cảm của các chất chuyển hóa đối với tình trạng hạn (Hình 6B, C). Mô hình được coi là chính xác, bởi vì R2Y' và Q2' đều nhỏ hơn so với mô hình ban đầu. Các chất chuyển hóa khác biệt sau đó được kiểm tra bằng phân tích giá trị VIP.

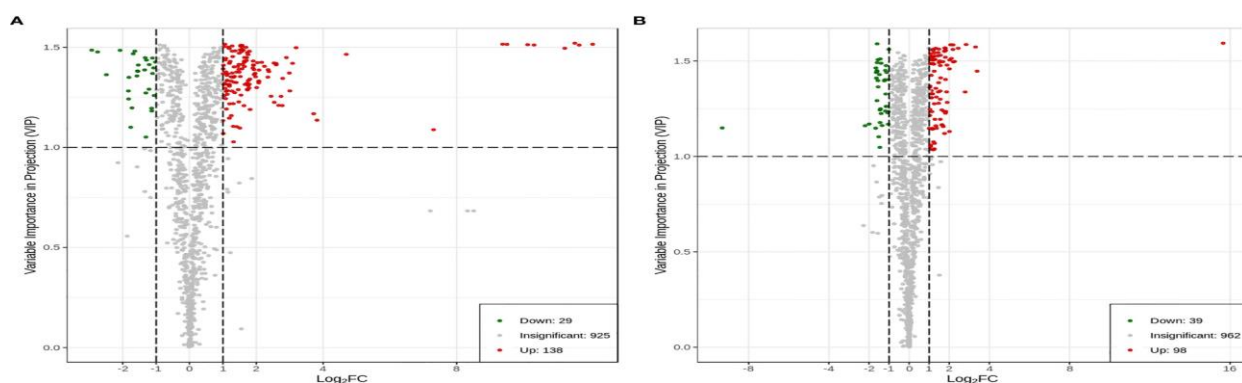


**Hình 6.** Biểu đồ điểm PCA và OPLS-DA. (A) phân tích thành phần chính (PCA). (B, C) OPLS-DA.

### 3.9 Xác định và phân loại các chất chuyển hóa khác nhau trong hai giống

Tổng cộng có 167 chất chuyển hóa khác biệt (138 chất điều hòa tăng và 29 chất điều hòa giảm) được tạo ra trong HN44 (Bảng bổ trợ S3) và 137 chất chuyển hóa khác nhau (98

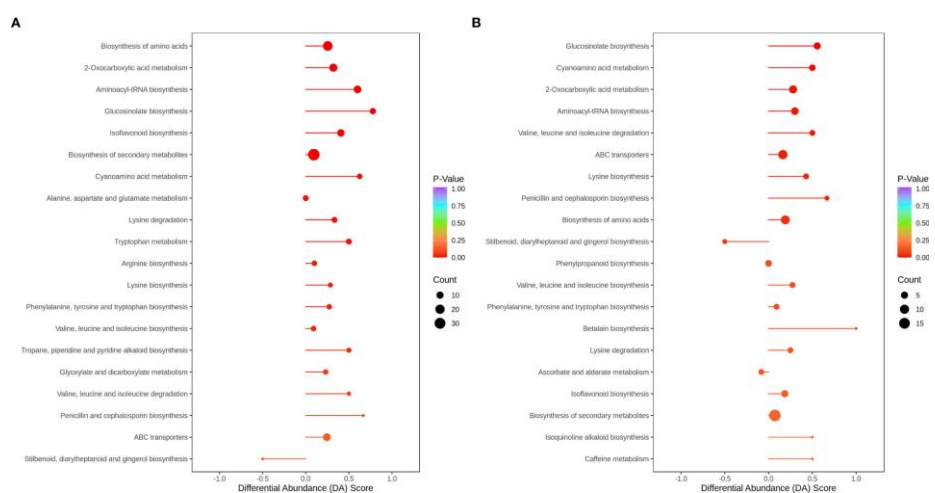
chất điều hòa tăng và 39 chất điều hòa giảm) được tạo ra trong HN65 (Bảng bổ sung S4). Hình 7 cho thấy biểu đồ núi lửa so sánh theo cặp của các chất chuyển hóa khác biệt.



**Hình 7.** Biểu đồ núi lửa của các chất chuyển hóa khác nhau. (A) HN44; (B) HN65.

### 3.10 Phân tích những thay đổi toàn cầu trong các con đường trao đổi chất

Trong HN44, chỉ có quá trình sinh tổng hợp stilbenoid, diarylheptanoid và gingerol được điều chỉnh giảm trong 20 con đường làm giàu trao đổi chất hàng đầu và các kiểu biểu hiện của 19 con đường còn lại có xu hướng được điều chỉnh tăng. Dựa trên giá trị P, các chất chuyển hóa khác nhau chủ yếu được làm giàu trong quá trình sinh tổng hợp axit amin, chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic, sinh tổng hợp aminoacyl-tRNA, sinh tổng hợp glucosinolate và sinh tổng hợp isoflavonoid. Trong HN65, chỉ có quá trình sinh tổng hợp stilbenoid, Diarylheptanoid và gingerol, cũng như quá trình chuyển hóa ascorbate và aldarate có xu hướng được điều chỉnh giảm trong 20 con đường làm giàu trao đổi chất hàng đầu và các kiểu biểu hiện của 18 con đường còn lại có xu hướng được điều chỉnh. Các chất chuyển hóa khác biệt chủ yếu được làm giàu trong quá trình sinh tổng hợp glucosinolate, chuyển hóa axit cyanoamino, chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic, sinh tổng hợp aminoacyl-tRNA và phân hủy valine, leucine và isoleucine. MC đã cải thiện quá trình chuyển hóa flavonoid và axit amin dưới áp lực hạn ở đậu tương (Hình 8).



**Hình 8.** Biểu đồ điểm phong phú khác nhau cho các chất chuyển hóa. (A) HN44; (B) HN65.

### 3.11. Sự tích tụ flavonoid và axit amin do MC gây ra khi bị hạn

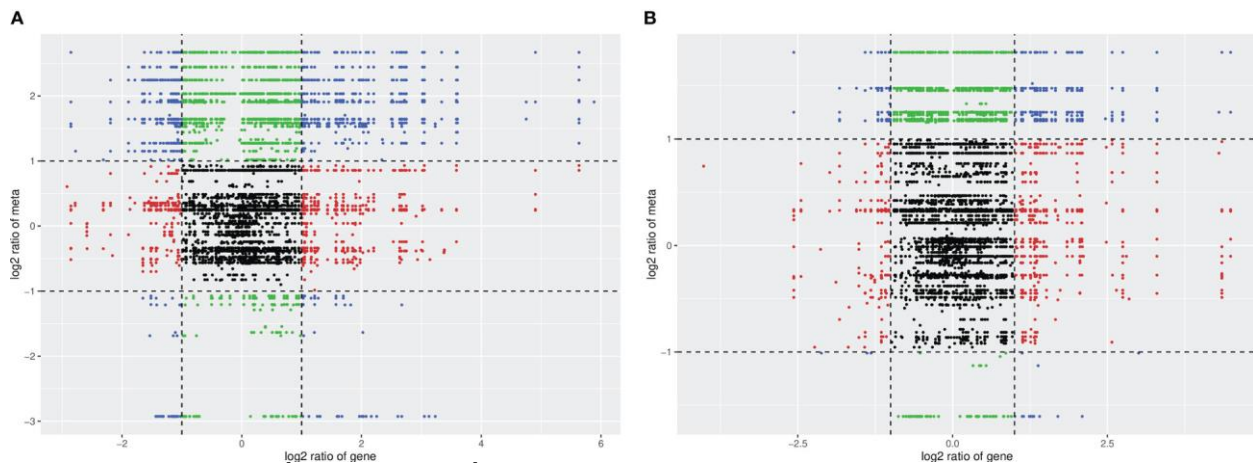
MC đã làm cho hai giống tích lũy một lượng lớn flavonoid và axit amin ở cấp độ trao đổi chất khi bị hạn. Tổng cộng có 55 flavonoid (6 điều chỉnh giảm) đã được tích lũy trong HN44, 48 (8 điều hòa chỉnh) trong HN65 và 24 flavonoid đã được phát hiện giữa hai giống. Ngoại trừ sự biểu hiện ngược lại của isorhamnetin-7-O-glucoside giữa hai giống (được điều chỉnh tăng ở HN44 và điều chỉnh giảm ở HN65), 23 flavonoid khác đã được điều chỉnh tăng. Trong số các chất tích lũy, giá trị Log2FC của HN44 cũng chủ yếu lớn

hơn so với HN65 và giá trị Log<sub>2</sub>FC của các chất, chẳng hạn như prunetin-4'-O-glucoside và izalpinin, lần lượt đạt 10,12 và 9,5. Ngoài ra, hai giống này đã tích lũy một số flavonoid độc đáo để chống lại hạn, chẳng hạn như 7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone, formononetin và garbanzol ở HN44, và chrysin, tectochrysin và 3'-methoxydaidze ở HN65. Tuy nhiên, HN44 có nhiều chất chuyển hóa flavonoid được điều chỉnh hơn.

Về tích lũy axit amin, 31 (tất cả được điều chỉnh) và 22 (hai axit amin bị điều chỉnh) và các dẫn xuất của chúng lần lượt được tích lũy trong HN44 và HN65; 18 chất và sự tích lũy của một số chất chuyển hóa marker chịu hạn phổ biến nhất định, chẳng hạn như L-proline và L-phenylalanine, đã được phát hiện giữa hai giống. Trong số 18 axit amin tích lũy, giá trị Log<sub>2</sub>FC của HN44 lớn hơn HN65. Ngoài ra, hai giống này đã tích lũy một số axit amin nhất định để chống chịu hạn, chẳng hạn như L-lysine, L-histidine và L-homomethionine trong HN44, và N-acetyl-L-glycine, cyclo (Ala-Gly) và glycyl-tryptophan trong HN65. Tuy nhiên, HN44 có nhiều chất chuyển hóa axit amin được điều chỉnh hơn.

### 3.12. Phân tích tương quan giữa gen và chất chuyển hóa

Hình 9 chỉ ra rằng sự khác biệt về gen và chất chuyển hóa của hai giống chủ yếu phân bố ở góc phần tư thứ hai, thứ tư, thứ sáu và thứ tám. Mức độ phong phú biểu hiện của các chất chuyển hóa cao hơn so với các gen ở góc phần tư thứ hai và thứ tư. Các chất chuyển hóa được điều hòa tăng, trong khi các gen không thay đổi hoặc bị điều hòa giảm. Ở góc phần tư thứ sáu và thứ tám, mức độ phong phú biểu hiện của các chất chuyển hóa thấp hơn so với mức độ biểu hiện của gen; các gen được điều chỉnh tăng, trong khi các chất chuyển hóa không thay đổi hoặc được điều chỉnh giảm. Dưới áp lực hạn + MC, mức độ phiên mã và trao đổi chất trong HN44 tăng lên, mức độ phiên mã trong HN65 bị ức chế nhẹ và mức độ trao đổi chất tăng lên.

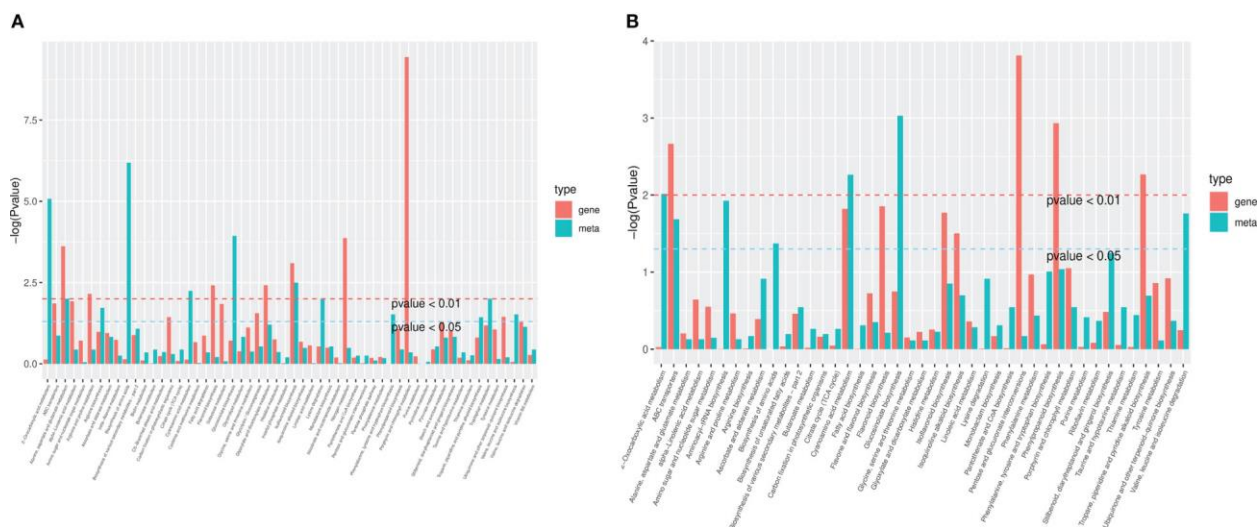


**Hình 9.** Sơ đồ chín góc phần tư phân tích tương quan. (A) HN44; (B) HN65.

### 3.13. Con đường làm giàu của các gen và chất chuyển hóa khác nhau

Các gen khác biệt và chất chuyển hóa của cùng một nhóm được lập bản đồ đồng thời vào con đường KEGG để hiểu rõ hơn về mối quan hệ giữa gen và chất chuyển hóa (Hình 10). Trong HN44, các gen khác biệt và các chất chuyển hóa tham gia vào 56 con đường, chủ yếu được làm giàu trong quá trình sinh tổng hợp axit amin, chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic, sinh tổng hợp glucosinolate, sinh tổng hợp isoflavonoid, chuyển hóa axit cyanoamino và các con đường khác. Ở HN65, các gen khác biệt và các chất chuyển hóa tham gia vào 43 con đường, chủ yếu được làm giàu trong quá trình sinh tổng hợp

glucosinolate, chuyển hóa axit cyanoamino, chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic, sinh tổng hợp aminoacyl-tRNA và phân hủy valine, leucine và isoleucine.



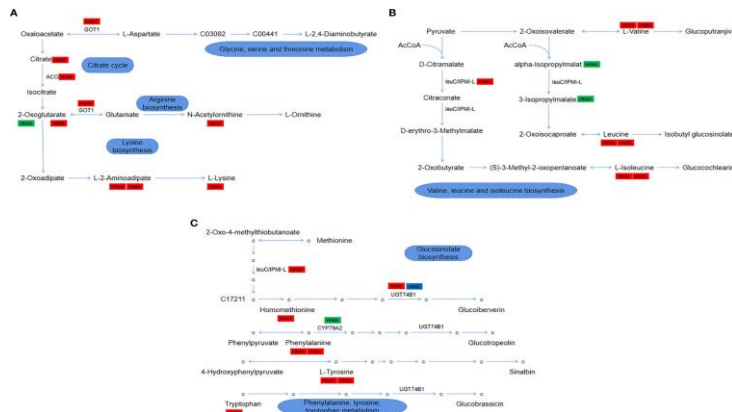
**Hình 10.** Biểu đồ làm giàu Gen và Bộ gen (KEGG) của Bách khoa Kyoto về các gen và chất chuyển hóa khác nhau. (A) HN44; (B) HN65.

### 3.14. Hệ thống chuyển hóa axit amin được xếp tầng bởi 2-oxyaxit

Xử lý hạn + MC đã kích hoạt con đường chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic, bao gồm quá trình chuyển hóa/tổng hợp các axit amin khác nhau và đóng vai trò thiết yếu trong khả năng chống hạn của đậu tương. Trong HN44, 5 gen và 14 chất chuyển hóa đã tham gia vào con đường này; trong HN65, 3 gen và 7 chất chuyển hóa đã tham gia. Như được minh họa trong Hình 11A, nó chủ yếu bao gồm bốn phần: chuyển hóa glycine, serine và threonine, chu trình citrate, sinh tổng hợp arginine và sinh tổng hợp lysine. Trong HN44, ứng dụng MC dẫn đến sự tích tụ citrate (1.33) và *LOC100778506* (3.05) mã hóa aconitate hydratase (ACO) được điều chỉnh tăng để thúc đẩy quá trình chuyển đổi axit xitric thành axit isocitric.  $\alpha$ -ketoglutarate (-2,49) được điều chỉnh giảm do sự điều chỉnh tăng của *AAT* (1,62) mã hóa aspartate aminotransferase (*GOT1*), làm tăng tốc quá trình chuyển hóa của  $\alpha$ -ketoglutarate và tiền chất xuôi dòng của nó để tổng hợp ornithine, N-acetylmethionine (1,75), là cũng được tích lũy. Trong quá trình tổng hợp lysine, hàm lượng L-alpha-aminoadipate (2,24) tăng lên, chất này chủ yếu tham gia vào con đường AAA (2-ketoglutarate  $\rightarrow$  2-aminoadipic acid  $\rightarrow$  lysine), dẫn đến sự tích tụ lysine (1,53). Trong HN65, chỉ có hai chất chuyển hóa,  $\alpha$ -ketoglutarate (1,55) và L-alpha-aminoadipate (1,48), được tham gia; như thể hiện trong Hình 11B, chủ yếu liên quan đến quá trình sinh tổng hợp valine, leucine và isoleucine. *LOC100811656* (2.95), mã hóa IPMI-L trong HN44, đã được điều chỉnh tăng để thúc đẩy quá trình sinh tổng hợp leucine và isoleucine, điều này cũng dẫn đến sự tích tụ của cả leucine (1.64) và isoleucine (1.59) và sự gia tăng của hàm lượng valine (1.44). Ngoài ra, hai chất chuyển hóa trung gian là axit 2-isopropylmalic (-1,54) và 3-isopropylmalate (-1,56) đã được điều chỉnh giảm. Ở HN65, chỉ có ba chất chuyển hóa được tích lũy, trong đó, leucine (1,19), isoleucine (1,19) và valine (1,22) được điều chỉnh tăng và không quan sát thấy sự thay đổi gen nào. Mặc dù ba axit amin này được tích lũy giữa hai giống nhưng sự thay đổi nếp gấp của HN44 lớn hơn. Như thể hiện trong Hình 11C, chủ yếu liên quan đến quá trình sinh tổng hợp glucosinolate và chuyển hóa phenylalanine, tyrosine và tryptophan. Bốn axit amin, homomethionine (1,09), tryptophan (1,79), tyrosine (1,27) và phenylalanine (1,57), được tích lũy trong HN44 sau khi ứng dụng MC. Ngoài ra, hai gen mã hóa N-hydroxythioamide S-beta-glucosyltransferase (*UGT74B1*), *LOC100783133* (1.28) và *LOC100816177* (1.48), đã



được điều chỉnh tăng cường để thúc đẩy chuyển hóa homomethionine và tryptophan. Trong HN65, hai axit amin, phenylalanine (1,20) và tyrosine (1,19), đã được điều chỉnh tăng và *LOC100786887* (-2,15) mã hóa phenylalanine N-monooxygenase (*CYP79A2*) đã được điều chỉnh quá mức. Giữa hai gen mã hóa *UGT74B1*, *LOC100816177* (1,40) được điều chỉnh tăng và *LOC100783761* (-1,04) được điều chỉnh giảm. Nói chung, HN44 thể hiện nhiều loại chất chuyển hóa và gen hơn, yếu tố điều chỉnh tăng thường lớn hơn so với HN65. Những gen/chất chuyển hóa này đóng một vai trò quan trọng trong khả năng chống hạn.

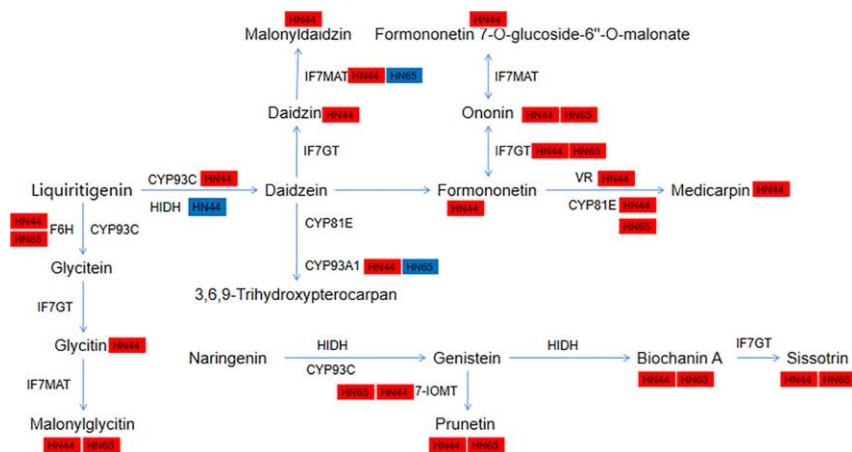


**Hình 11.** (A) Mô-đun 1: chuyển hóa glycine, serine và threonine, chu trình citrate, sinh tổng hợp arginine và sinh tổng hợp lysine; (B) Mô-đun 2: sinh tổng hợp valine, leucine và isoleucine; (C) Mô-đun 3: sinh tổng hợp glucosinolate, chuyển hóa phenylalanine, tyrosine và tryptophan.

### 3.15 Hệ thống chống oxy hóa chủ yếu là Isoflavone

Ứng dụng trước của MC đã dẫn đến sự “bùng nổ” tổng hợp isoflavone dưới áp lực hạn. Tổng cộng có 11 chất chuyển hóa và 19 gen liên quan đến HN44, 5 chất chuyển hóa và 15 gen liên quan đến HN65. Chúng tôi chú thích thêm các gen và chất chuyển hóa mã hóa các enzym khác nhau trong con đường này (Hình 12). Trong HN44, *IFS2* (3.26) và 2-hydroxyisoflavanone synthase (*CYP93C*) mã hóa 2-hydroxyisoflavanone (*CYP93C*) được điều chỉnh tăng, *HIDH* (1.63) được điều chỉnh tăng và *LOC100817797* (-1.16) được điều chỉnh ít. *LOC100819853* (1.60) và *SOMT-2* (2.89) mã hóa isoflavone 7-O-methyltransferase (7-IOMT) đã được điều chỉnh lại và hai gen isoflavone 7-O-glucosyltransferase (*IF7GT*) *GMUGT4* (1.30) và *LOC100775378* (3.28) đã được điều chỉnh lại. Điều này làm tăng hàm lượng các chất chuyển hóa ở giữa và dưới của con đường này, chủ yếu bao gồm prunetin (1,42), biochanin A (1,32) và sissotrin (1,76). Ngoài ra, gen flavonoid 6-hydroxylase (F6H) *LOC100797504* (1.51) đã được điều chỉnh tăng và mã hóa isoflavone 7-O-glucoside-6''-O-malonyltransferase (*IF7MAT*) bốn gen *IF7MaT* (1.10), *LOC100813644* (3.84), *LOC100814826* (1,90) và *LOC100815354* (1,14) được điều chỉnh tăng, và các chất chuyển hóa xuôi dòng của nó là glycitein 7-O-glucoside (1,20) và malonylglycitin (4,69) được tích lũy. Ngoài ra, formononetin 7-O-glucoside (2,53) và formononetin 7-O-glucoside-6''-O-malonat (2,16) được điều chỉnh tăng ở phần sau của formononetin (3,00). Trong con đường daidzein → medicarpin, hai gen vestitone reductase (VR) *LOC100194416* (2,08) và *LOC547660* (2,22) và ba gen *CYP81E* *CYP81E11* (2,15), *LOC100784120* (1,68) và *LOC100794610* (5,00) đã được điều chỉnh tăng, cuối cùng dẫn đến tích tụ mecarpin (7.31). Hai chất chuyển hóa ở hạ nguồn của daidzein, daidzein 7-O-glucoside (1,25), malonyldaidzin (1,81) và *CYP93A1* (4,12) mã hóa 3,9-dihydroxypterocarpan 6a-monooxygenase, đã được điều chỉnh tăng. Trong HN65, năm chất chuyển hóa được điều hòa tăng cường ononin (1,03), malonylglycitin (1,16), prunetin (1,33), biochanin A (1,16) và sissotrin (1,82) đã được phát hiện trong HN44. Các gen khác, bao gồm *CYP71D10* (1.87), *LOC100797504* (2.96) và *LOC100816377* (1.77) mã hóa enzyme F6H và hai gen 7-IOMT *LOC100819853* (1.27) và *SOMT-2* (1.43) cũng được điều chỉnh tăng. *GMUGT4* (1.39) và *LOC112999750*

(1.91) mã hóa IF7GT và *LOC100784120* (1.54), *LOC100790507* (7.10) và *LOC100794610* (3.45) mã hóa *CYP81E* đã được điều chỉnh lại. Không giống như trong HN44, mã hóa *IF7MaT* (1.09) và *LOC100814826* (1.33) *IF7MAT* đã được điều chỉnh tăng và *LOC100801403* (-1.07) đã được điều chỉnh lại trong HN65. *LOC100807166* (1.10) mã hóa *CYP93A1* đã được điều chỉnh tăng và *CYP76O2* (-1,89) đã được điều chỉnh giảm trong HN65. Nhìn chung, HN44 có nhiều loại chất chuyển hóa và gen được điều chỉnh hơn. Một số gen cốt lõi và chất chuyển hóa của F6H, 7-IOMT, IF7GT và *CYP81E*, chẳng hạn như prunetin và biochanin A, có thể liên quan chặt chẽ với MC.

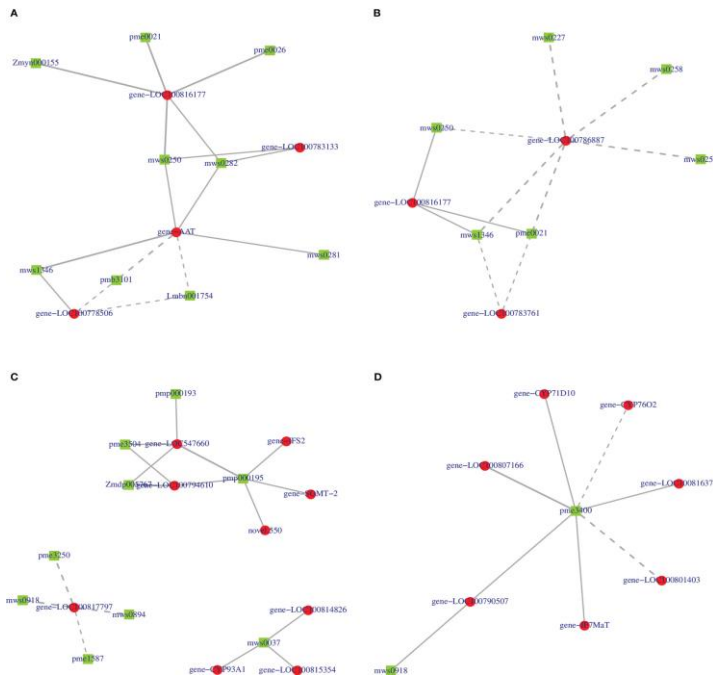


**Hình 12.** Những thay đổi của gen và chất chuyển hóa trong con đường sinh tổng hợp isoflavone.

### 3.16. Mạng lưới tương quan của gen và chất chuyển hóa

Chúng tôi tiếp tục xây dựng một mạng lưới tương quan của chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic (ko01210) và sinh tổng hợp isoflavonoid (ko00943) cho hai giống để giải thích mối tương quan giữa các chất chuyển hóa và gen. Trong con đường ko01210, chín chất chuyển hóa của HN44 đã điều chỉnh con đường này bằng cách nhắm đích bốn gen *LOC100816177*, *LOC100783133*, *AAT*, và *LOC100778506* (Hình 13A), trong đó, axit 2-isopropylmalic và axit 3-isopropylmalic có tương quan nghịch với *AAT* và *LOC100778506*, và bảy chất chuyển hóa còn lại có tương quan thuận với gen mục tiêu. Sáu chất chuyển hóa trong HN65 nhắm vào ba gen, *LOC100786887*, *LOC100816177* và *LOC100783761* (Hình 13B), trong đó, chỉ tyrosine, axit DL-2-aminoadipic và phenylalanine có tương quan thuận với *LOC100816177*, và cả sáu chất chuyển hóa đều có tương quan nghịch với *LOC100786887* và *LOC100783761*. Trong con đường ko00943, chín gen trong HN44 đã hình thành ba mạng lưới phụ với chín chất chuyển hóa (Hình 13C). Đầu tiên, bốn chất chuyển hóa, biochanin A, prunetin, daidzin và glycitin, có tương quan nghịch với *LOC100817797*, điều này giải thích sự điều chỉnh giảm của *LOC100817797* trong HN44. Thứ hai, ba gen có mối tương quan tích cực với formononetin. Thứ ba, năm gen tương quan thuận với 6''-O-malonylglycitin. Ngoài ra, 6''-O-malonyldaidzin, nonin và formononetin-7-O-(6''-malonyl) glucoside có tương quan thuận với *LOC547660* và *LOC100794610*. Ở HN65, bảy gen và hai chất chuyển hóa đã hình thành một mạng lưới tương quan (Hình 13D). Với sissotrin là mục tiêu, năm gen có mối tương quan thuận, *CYP76O2* và *LOC100801403* có mối tương quan nghịch và prunetin có mối tương quan thuận với *LOC100790507*. Tóm lại, nhiều gen nhắm vào một chất chuyển hóa hoặc nhiều chất chuyển hóa nhắm vào một gen để điều chỉnh các con đường này. Do đó, làm rõ mối tương quan giữa các gen khác biệt và các chất chuyển hóa là điều cần thiết để sàng lọc các dấu ấn sinh học. Dựa trên giống đậu tương, các gen cốt lõi như *LOC100816177*, *AAT* và *LOC100786887* và các chất chuyển hóa cốt lõi như prunetin, biochanin A và sissotrin có liên quan chặt chẽ với MC.

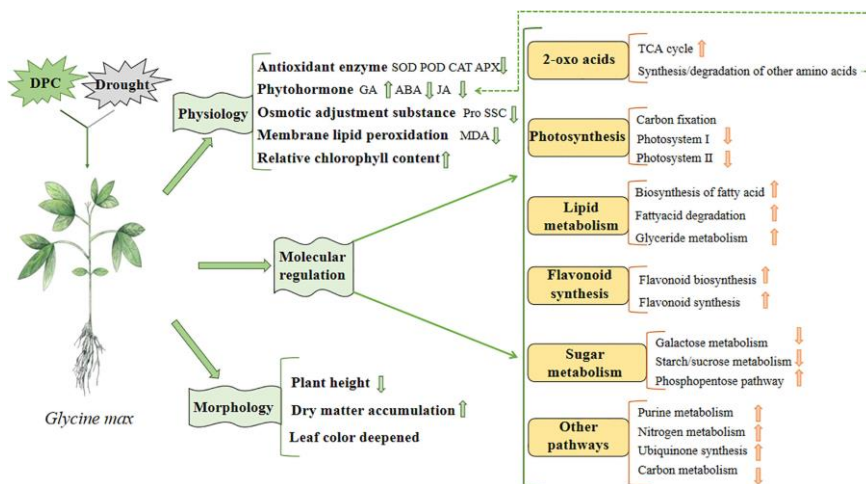




**Hình 13.** (A) chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic của HN44; (B) chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic của HN65. (C) sinh tổng hợp isoflavonoid của HN44. (D) sinh tổng hợp isoflavonoid của HN65.

### 3.17. Xây dựng mạng lưới điều tiết toàn diện MC ứng phó hạn cho đậu tương

Dựa trên các nghiên cứu trước đây của chúng tôi, kết hợp với dữ liệu sinh lý và omics, chúng tôi đã xây dựng một mô hình để minh họa tác động của tiền xử lý MC đối với cây đậu tương khi bị hạn (Hình 14). Về sinh trưởng, chiều cao cây giảm so với khi xử lý hạn; tuy nhiên, về mặt sinh lý, sự tích lũy chất khô tăng lên, màu lá đậm hơn, hoạt tính của enzyme chống oxy hóa giảm, hoạt tính của ABA và axit jasmonic (JA) giảm, hoạt động của GA tăng lên, hàm lượng proline giảm, quá trình peroxy hóa lipid màng yếu đi và hàm lượng diệp lục tương đối tăng lên. Hơn nữa, liên quan đến quy định phân tử, chu trình TCA, tổng hợp axit amin, tổng hợp flavonoid, chuyển hóa chất béo, chuyển hóa purine, chuyển hóa nitơ, tổng hợp ubiquinone và con đường pentose phosphate đã được tăng cường; tuy nhiên, quá trình quang hợp và chuyển hóa tinh bột và sucrose bị ức chế.



**Hình 14.** Sơ đồ mô hình MC điều hòa đậu tương ứng phó với hạn.

## 4. THẢO LUẬN

MC là chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng rộng rãi nhất trên toàn thế giới. Nó thể hiện hiệu quả hấp thụ và dẫn truyền bên trong thực vật và có tác dụng điều tiết nhất định đối với hình dạng hình học của thực vật (Rosolem và cs, 2013). Với nghiên cứu ngày càng tăng, các chức năng tích lũy của MC trong sản xuất thực vật đã được phát hiện. Hân

và cs (2009) đã báo cáo rằng ứng dụng MC làm tăng hàm lượng chất diệp lục, hoạt động của rễ và hoạt động peroxidase của cây giống roi nhỏ cao. MC thúc đẩy sự phát triển của cây con và nâng cao sức đề kháng của cây con. Du và cs (2014) đã báo cáo rằng MC đã tăng hoạt động POD của rễ của năm giống khoai lang dưới áp lực hạn và giảm nồng độ phân tử khối MDA trong rễ của từng giống khoai lang. Trong nghiên cứu của chúng tôi, việc áp dụng MC làm giảm chiều cao cây nhưng tăng tích lũy chất khô trong điều kiện hạn (Hình 1) và giảm hàm lượng SOD, POD, MDA và proline (so với xử lý hạn) (Hình 2). Theo Lü và cs (2019), mức độ căng thẳng hạn và hoạt động của enzyme chống oxy hóa có mối tương quan ở một mức độ nào đó. Với mức độ căng thẳng ngày càng tăng, hoạt động của enzyme chống oxy hóa tăng lên trong một phạm vi nhất định. Dù tăng hay giảm, chúng tôi cho rằng hoạt tính của các enzym chống oxy hóa quan sát được trong nghiên cứu này là hợp lý so với các nghiên cứu khác. Khả năng chịu hạn của thực vật tương quan với khả năng duy trì trạng thái cân bằng của quá trình chuyển hóa oxy hoạt động dưới áp lực hạn. Sau khi xử lý hạn, thực vật thể hiện hàm lượng ROS cao hơn và hoạt động của enzyme chống oxy hóa tăng lên ngay lập tức. Sau khi bón MC ngoại sinh, khả năng chống hạn được cải thiện hơn nữa. Con đường kháng hạn (chẳng hạn như sự tích tụ của flavonoid) và khả năng làm sạch của ROS đã được tăng thêm. Khi nồng độ ROS giảm dần để đạt trạng thái cân bằng động, hoạt tính của các enzym chống oxy hóa giảm dần. Tương tự, mức MDA giảm cũng thể hiện mức độ hạn giảm. Ngoài ra, hoạt động của enzyme chống oxy hóa bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố, bao gồm thời gian căng thẳng và mức độ căng thẳng.

Quang hợp là một quá trình gồm nhiều bước, được kiểm soát chặt chẽ (Tanaka và Makino, 2009). Nó đặc biệt quan trọng trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây vì nó đóng góp nguồn carbon duy nhất quan trọng cho sự phát triển của cây (Nowicka và cs, 2018). Thiếu nước dẫn đến các phản ứng khác nhau của cây trồng, hạn chế sự sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây trồng. Ở các giai đoạn hiện tượng học khác nhau, phản ứng sinh lý và hình thái này có thể thấy rõ (Mukarram và cs, 2021a). Hơn nữa, phần lớn các xáo trộn môi trường dẫn đến tăng sản xuất ROS. Trong những trường hợp điển hình hoặc không căng thẳng, phần lớn thực vật duy trì cân bằng nội môi ổn định. Ngược lại, một số loài thực vật trong các môi trường sống khác nhau đã được quan sát thấy tích lũy ROS do áp lực hạn và mức độ ROS tăng lên trong điều kiện căng thẳng là rất đáng kể. Tuy nhiên, nồng độ ROS vượt quá khả năng dập tắt của thực vật có thể phá hủy axit nucleic, sắc tố quang hợp, protein và lipid màng, gây ra stress oxy hóa (Corpas và cs, 2020; Mukarram và cs, 2021b). Do đó, quá trình quang hợp thường bị ức chế khi thực vật bị căng thẳng. Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo rằng MC ức chế quá trình quang hợp, chủ yếu bằng cách giảm tỷ lệ quang hợp ròng của thực vật, mặc dù nó cũng làm tăng lượng chất diệp lục (diệp lục a + b). Sự gia tăng đáng kể chất diệp lục do ứng dụng MC không dẫn đến tốc độ quang hợp cao hơn (Tung và cs, 2019), và không có lời giải thích hợp lý nào cho tình trạng này. Trong các nghiên cứu trước đây của mình, chúng tôi cũng nhận thấy quá trình điều chỉnh giảm của các protein thu nhận ánh sáng LHCA1, LHCA2, LHCB1 và LHCB2, cũng như ức chế PsaO, PsaG và PsaN trong hệ thống quang hợp I và PsbS trong hệ thống quang hợp II (Wang và cs, 2022c). Dưới áp lực hạn + MC, hệ thống quang hợp bị ức chế hơn nữa, bao gồm ức chế mạnh hơn quá trình bắt sáng và ức chế hệ thống quang hợp I và II, nghiêm trọng hơn ở giống chịu hạn HN44. Đồng thời, chúng tôi nhận thấy sự gia tăng hàm lượng chất diệp lục tương đối (Hình 3). Dựa trên các kết quả thử nghiệm ở trên, chúng tôi suy đoán rằng tình trạng này có thể là do “hiệu ứng bù” hoặc “cơ chế điều chỉnh phản hồi tiêu cực”. Tuy nhiên, hàm lượng chất diệp lục tăng lên không thể bù đắp cho quá trình quang hợp giảm.

Hạn hán có thể làm giảm sản lượng nông nghiệp hàng năm đáng kể hơn tất cả các bệnh cộng lại. Thực vật thay đổi sinh lý của chúng, thay đổi sự phát triển và cấu trúc của rễ, đồng thời đóng khí khổng trên không để điều chỉnh độ dốc của nước trong đất. Những phản ứng đặc hiệu của mô này làm thay đổi quá trình truyền tín hiệu của tế bào, có thể gây ra hiện tượng nở hoa sớm hoặc chậm phát triển và thường là năng suất kém hơn. Theo các nghiên cứu sinh lý và phân tử của cây mẫu *Arabidopsis thaliana* (Gupta và cs, 2020), tín hiệu hormone thực vật là chìa khóa để kiểm soát các phản ứng đối với hạn hoặc thiếu nước. Nir và cs (2014) tiết lộ rằng việc giảm mức GA hoặc tín hiệu làm tăng sức đề kháng của thực vật đối với các tác nhân gây ô nhiễm môi trường. Hàm lượng GA giảm khi mức độ hạn tăng. Do đó, mức độ GA cũng có thể phản ánh mức độ hạn ở một mức độ nhất định (Zhou và cs, 2022). Trong các nghiên cứu trước đây, MC được sử dụng làm chất ức chế GA trong sản xuất thực vật (Wang và cs, 2014), làm giảm nồng độ GA và cản trở sự di chuyển của tế bào, dẫn đến giãn thành tế bào (Yang và cs, 1996). Do đó, MC có khả năng ảnh hưởng đến khả năng kháng hạn của cây trồng. Trong nghiên cứu này, đáng chú ý là mức độ GA trong điều kiện hạn + MC cao hơn so với khi xử lý hạn (GA1 và GA3), có thể là do MC làm giảm bớt căng thẳng do hạn, do đó làm tăng mức độ GA. Tuy nhiên, điều này mâu thuẫn với tác dụng ức chế sinh tổng hợp GA của nó; do đó, sự xuất hiện của hiện tượng này không thể được giải thích rõ ràng. Ngẫu nhiên, đây là nghiên cứu đầu tiên báo cáo tác dụng ức chế của MC đối với GA19 khi bị hạn.

Axit 2-oxocarboxylic kết nối các con đường chuyển hóa/tổng hợp axit amin khác nhau, bao gồm chu trình axit tricarboxylic và đóng vai trò quan trọng trong khả năng kháng hạn của thực vật. Dương và cs (2022), người đã kiểm tra phản ứng của cây mía đối với hạn, đã báo cáo rằng quá trình chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic là con đường làm giàu quan trọng nhất. Trong nghiên cứu này, quá trình chuyển hóa axit 2-oxocarboxylic được phát hiện đóng vai trò thiết yếu ở cả hai giống đậu tương. Ứng dụng MC trong điều kiện hạn tiếp tục kích hoạt quá trình này ở hai giống (Hình 11). Một số axit amin như valine, leucine, isoleucine, phenylalanine và tyrosine, và các enzym liên quan đến tổng hợp/chuyển hóa axit amin đã được điều chỉnh lại. Flavonoid, tích tụ đáng kể trong các điều kiện căng thẳng phi sinh học khác nhau, có liên quan chặt chẽ với phenylalanine hoặc tyrosine (Heinemann và Hildebrandt, 2021). Ở đây, HN44 có nhiều chất chuyển hóa và gen được điều chỉnh hơn trong con đường này, chẳng hạn như axit xitric và lysine. Axit citric làm trung gian cho chu trình TCA và lysine cũng đã được chứng minh là đóng một vai trò quan trọng đối với tình trạng căng thẳng của cây trồng (Wang và cs, 2022e). You và cs (2019) đã báo cáo rằng vùng chịu hạn cho thấy hàm lượng arginine, ABA, proline và lysine cao khi bị hạn, nhấn mạnh vai trò quan trọng của quá trình chuyển hóa axit amin đối với khả năng chịu hạn của vùng. Sự khác biệt về khả năng chịu hạn giữa hai giống có thể là do các axit amin này, giúp HN44 có khả năng chịu hạn cao hơn.

Flavonoid là chất chuyển hóa thứ cấp được tìm thấy trong thực vật; chúng là thành phần thiết yếu của nhiều quá trình sinh học và phản ứng của thực vật với môi trường của chúng (Shen và cs, 2022). Ứng dụng trước của MC gây ra sự tích lũy lớn flavonoid dưới áp lực hạn, trong đó, isoflavone chiếm tỷ lệ lớn nhất (27/55 ở HN44 và 15/48 ở HN65). Isoflavone là một phân lớp độc đáo và quan trọng của các hợp chất flavonoid, chủ yếu được tìm thấy trong các loại đậu, đặc biệt là đậu tương (Brodowska, 2017). Chúng thể hiện các đặc tính chống oxy hóa mạnh và các đặc tính làm sạch nhất định đối với các gốc tự do. Ngoài ra, chúng đóng vai trò là phytoalexin kháng khuẩn và điều chỉnh quần thể vi sinh vật vùng rễ để tác động đến sự phát triển và hình thành năng suất cây trồng (Weston và Mathesius, 2013; Sugiyama và cs, 2017; Wang và cs, 2018). Các flavonoid này loại bỏ

một phần ROS được tạo ra khi bị hạn, do đó làm giảm sự tích tụ ROS trong thực vật; điều này có thể giải thích hoạt động của enzyme chống oxy hóa thấp hơn trong xử lý hạn + MC so với xử lý hạn. Trong HN44, các flavonoid này có giá trị FC cao hơn và khả năng làm sạch đối với ROS. Ứng dụng trước của MC tiếp tục phân bổ nhiều flavonoid hơn trong hai giống và sự tích lũy các chất này đã cải thiện hơn nữa mức độ kháng hạn.

Cuối cùng, chúng tôi đã kết hợp dữ liệu sinh lý học, hình thái học, phiên mã và chuyển hóa để xây dựng một mô hình chứng minh tác dụng điều tiết của MC đối với sự tăng trưởng và khả năng chống chịu của cây đậu tương khi bị hạn (Hình 14). So với xử lý hạn, MC làm giảm hoạt động của enzyme chống oxy hóa và peroxy hóa lipid màng, thúc đẩy tăng trưởng của đậu tương và ảnh hưởng đến một số con đường bao gồm chuyển hóa 2-oxoacid, quang hợp, chuyển hóa chất béo, tổng hợp flavonoid, chuyển hóa đường và chuyển hóa nitơ dưới áp lực hạn. Trong tương lai, chúng tôi dự định tiết lộ tác dụng điều chỉnh của MC đối với đậu tương bị hạn bằng công nghệ proteomics, để làm phong phú thêm cơ chế điều tiết của MC, bổ sung những nơi không được thể hiện trong mô hình và cuối cùng là hoàn thành việc xây dựng mạng lưới điều tiết đồng bộ.

## 5. KẾT LUẬN

Bằng cách kết hợp các kỹ thuật sinh lý và kỹ thuật omics, chúng tôi đã báo cáo cơ chế điều chỉnh MC đối với phản ứng của đậu tương đối với hạn. MC làm giảm đáng kể thiệt hại thực vật do mất nước và giảm peroxid hóa lipid màng. Ngoài ra, nó loại bỏ ROS dư thừa bằng cách thúc đẩy sự tích tụ axit amin và flavonoid, do đó cải thiện khả năng kháng hạn của cây trồng. Nghiên cứu của chúng tôi cung cấp cơ sở lý thuyết cho việc sử dụng MC trong đậu tương và tiết lộ cơ chế phân tử điều chỉnh MC đối với phản ứng hạn của đậu tương.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ainsworth, E. A., Yendrek, C. R., Skoneczka, J. A., Long, S. P. (2012). Accelerating yield potential in soybean: potential targets for biotechnological improvement. *Plant Cell Environ.* 35 (1), 38–52. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02378.x

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Bashir, W., Anwar, S., Zhao, Q., Hussain, I., Xie, F. (2019). Interactive effect of drought and cadmium stress on soybean root morphology and gene expression. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 175, 90–101. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.03.042

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Brodowska, K. M. (2017). Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *Eur. J. Biol. Res.* 7, 108–123. doi: 10.5281/zenodo.545778

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Cao, P., Zhao, Y., Wu, F., Xin, D., Liu, C., Wu, X., et al. (2022). Multi-omics techniques for soybean molecular breeding. *Int. J. Mol. Sci.* 23 (9), 4994. doi: 10.3390/ijms23094994

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Corpas, F. J., González-Gordo, S., Palma, J. M. (2020). Plant peroxisomes: a factory of reactive species. *Front. Plant Sci.* 11. doi: 10.3389/fpls.2020.00853

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Dong, S., Jiang, Y., Dong, Y., Wang, L., Wang, W., Ma, Z., et al. (2019). A study on soybean responses to drought stress and rehydration. *Saudi J. Biol. Sci.* 26 (8), 2006–2017. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.08.005

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Du, Z., Wang, B., Xie, B., Zhang, H., Wang, Q., Zhang, L. (2014). Effects of plant growth regulators on physiological and biochemical characteristics of roots in summer sweetpotato seedlings under simulated drought stress. *Acat Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*. 23 (10), 97–104. doi: 10.7606/j.issn.1004-1389.2014.10.017

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Dubey, A., Kumar, A., Malla, M. A., Chowdhary, K., Singh, G., Ravikanth, G., et al. (2021). Approaches for the amelioration of adverse effects of drought stress on crop plants. *Front. Biosci.* 26 (10), 928–947. doi: 10.52586/4998

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Gupta, A., Rico-Medina, A., Caño-Delgado, A. I. (2020). The physiology of plant responses to drought. *Science* 368 (6488), 266–269. doi: 10.1126/science.aaz7614

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Han, J., Zhang, Z., Tang, J., Feng, Y., Fu, Y. (2009). Effects of mepiquat chloride and/or calcium chloride on growth of tall fescue seedlings. *Hubei Agric. Sci.* 48 (3), 657–659. doi: 10.3969/j.issn.0439-8114.2009.03.046

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Heinemann, B., Hildebrandt, T. M. (2021). The role of amino acid metabolism in signaling and metabolic adaptation to stress-induced energy deficiency in plants. *J. Exp. Bot.* 72 (13), 4634–4645. doi: 10.1093/jxb/erab182

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Liu, Y., Xu, A., Duan, W., Wang, P., Liu, S. (2018). Effects of mepiquat chloride, paclobutrazol and chlorocholine chloride on physiological characteristics of sunflower. *Chin. J. Oil Crop Sci.* 40 (2), 241–246. doi: 10.7505/j.issn.1007-9084.2018.02.010

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Liu, S., Zhang, M., Feng, F., Tian, Z. (2020). Toward a "green revolution" for soybean. *Mol. Plant* 13 (5), 688–697. doi: 10.1016/j.molp.2020.03.002

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Lü, X. P., Gao, H. J., Zhang, L., Wang, Y. P., Shao, K. Z., Zhao, Q., et al. (2019). Dynamic responses of haloxylon ammodendron to various degrees of simulated drought stress. *Plant Physiol. Biochem.* 139, 121–131. doi: 10.1016/j.plaphy.2019.03.019

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Luo, L., Xu, F., Hong, S., Weng, H., Duan, L., Li, Z. (2010). Inducing effects of mepiquat chloride on the chilling resistance of sweet pepper (*Capsicum annuum*) seedlings. *Chin. J. Pestic. Sci.* 12, 142–148. doi: 10.3969/j.issn.1008-7303.2010.02.05

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Mukarram, M., Choudhary, S., Kurjak, D., Petek, A., Khan, M. (2021a). Drought: sensing, signalling, effects and tolerance in higher plants. *Physiol. Plant* 172 (2), 1291–1300. doi: 10.1111/pp1.13423



[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Mukarram, M., Khan, M., Corpas, F. J. (2021b). Silicon nanoparticles elicit an increase in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Steud.) wats) agronomic parameters with a higher essential oil yield. *J. Hazard. Mater.* 412, 125254. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125254

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Nir, I., Moshelion, M., Weiss, D. (2014). The arabidopsis gibberellin methyl transferase 1 suppresses gibberellin activity, reduces whole-plant transpiration and promotes drought tolerance in transgenic tomato. *Plant Cell Environ.* 37 (1), 113–123. doi: 10.1111/pce.12135

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Nowicka, B., Ciura, J., Szymańska, R., Kruk, J. (2018). Improving photosynthesis, plant productivity and abiotic stress tolerance - current trends and future perspectives. *J. Plant Physiol.* 231, 415–433. doi: 10.1016/j.jplph.2018.10.022

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Razi, K., Muneer, S. (2021). Drought stress-induced physiological mechanisms, signaling pathways and molecular response of chloroplasts in common vegetable crops. *Crit. Rev. Biotechnol.* 41 (5), 669–691. doi: 10.1080/07388551.2021.1874280

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Rosolem, C. A., Oosterhuis, D. M., Souza, F. S. D. (2013). Cotton response to mepiquat chloride and temperature. *Sci. Agric.* 70, 82–87. doi: 10.1590/S0103-90162013000200004

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., Jin, B. (2022). Plant flavonoids: classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chem.* 383, 132531. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132531

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Sugiyama, A., Yamazaki, Y., Hamamoto, S., Takase, H., Yazaki, K. (2017). Synthesis and secretion of isoflavones by field-grown soybean. *Plant Cell Physiol.* 58 (9), 1594–1600. doi: 10.1093/pcp/pcx084

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Tanaka, A., Makino, A. (2009). Photosynthetic research in plant science. *Plant Cell Physiol.* 50 (4), 681–683. doi: 10.1093/pcp/pcp040

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Tiwari, R. K., Lal, M. K., Kumar, R., Chourasia, K. N., Naga, K. C., Kumar, D., et al. (2021). Mechanistic insights on melatonin-mediated drought stress mitigation in plants. *Physiol. Plant* 172 (2), 1212–1226. doi: 10.1111/ppl.13307

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Tung, S. A., Huang, Y., Ali, S., Hafeez, A., Shah, A. N., Ma, X., et al. (2019). Mepiquat chloride effects on potassium acquisition and functional leaf physiology as well as lint yield in highly dense late-sown cotton. *Ind. Crops Prod.* 129, 142–155. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.11.056

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)



Tung, S. A., Huang, Y., Hafeez, A., Ali, S., Liu, A., Chattha, M. S., et al. (2020). Morphophysiological effects and molecular mode of action of mepiquat chloride application in cotton: a review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 20 (4), 2073–2086. doi: 10.1007/s42729-020-00276-0

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Tyczewska, A., Gracz, J., Kuczyński, J., Twardowski, T. (2016). Deciphering the soybean molecular stress response *via* high-throughput approaches. *Acta Biochim. Pol.* 63 (4), 631–643. doi: 10.18388/abp.2016\_1340

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Waadt, R., Seller, C. A., Hsu, P. K., Takahashi, Y., Munemasa, S., Schroeder, J. I. (2022). Plant hormone regulation of abiotic stress responses. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 23 (10), 680–694. doi: 10.1038/s41580-022-00479-6

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Wang, X., Komatsu, S. (2017). Improvement of soybean products through the response mechanism analysis using proteomic technique. *Adv. Food Nutr. Res.* 82, 117–148. doi: 10.1016/bs.afnr.2016.12.006

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Wang, X., Li, X., Dong, S. (2022d). Screening and identification of drought tolerance of spring soybean at seedling stage under climate change. *Front. Sustain. Food Syst.*, 6:988319. doi: 10.3389/fsufs.2022.988319

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Wang, X., Li, Y., Wang, X., Li, X., Dong, S. (2022e). Physiology and metabonomics reveal differences in drought resistance among soybean varieties. *Bot. Stud.* 63 (1), 8. doi: 10.1186/s40529-022-00339-8

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Wang, T., Liu, Y., Li, X., Xu, Q., Feng, Y., Yang, S. (2018). Isoflavones from green vegetable soya beans and their antimicrobial and antioxidant activities. *J. Sci. Food Agric.* 98 (5), 2043–2047. doi: 10.1002/jsfa.8663

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Wang, L., Mu, C., Du, M., Chen, Y., Tian, X., Zhang, M., et al. (2014). The effect of mepiquat chloride on elongation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) internode is associated with low concentration of gibberellic acid. *Plant Sci.* 225, 15–23. doi: 10.1016/j.plantsci.2014.05.005

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Wang, X., Song, S., Wang, X., Liu, J., Dong, S. (2022b). Transcriptomic and metabolomic analysis of seedling-stage soybean responses to PEG-simulated drought stress. *Int. J. Mol. Sci.* 23 (12), 6869. doi: 10.3390/ijms23126869

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Wang, X., Wu, Z., Zhou, Q., Wang, X., Song, S., Dong, S. (2022a). Physiological response of soybean plants to water deficit. *Front. Plant Sci.* 12. doi: 10.3389/fpls.2021.809692

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Wang, X., Zhou, Q., Wang, X., Song, S., Liu, J., Dong, S. (2022c). Mepiquat chloride inhibits soybean growth but improves drought resistance. *Front. Plant Sci.* 13. doi: 10.3389/fpls.2022.982415

[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Weston, L. A., Mathesius, U. (2013). Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. *J. Chem. Ecol.* 39, 283–297. doi: 10.1007/s10886-013-0248-5

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Yang, S., Chu, N., Zhou, H., Li, J., Feng, N., Su, J., et al. (2022). Integrated analysis of transcriptome and metabolome reveals the regulation of chitoooligosaccharide on drought tolerance in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrid) under drought stress. *Int. J. Mol. Sci.* 23 (17), 9737. doi: 10.3390/ijms23179737

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Yang, T., Davies, P. J., Reid, J. B. (1996). Genetic dissection of the relative roles of auxin and gibberellin in the regulation of stem elongation in intact light-grown peas. *Plant Physiol.* 110, 1029–1034. doi: 10.1104/pp.110.3.1029

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Yang, L., Zhao, Y., Zhang, Q., Cheng, L., Han, M., Ren, Y., et al. (2019). Effects of drought-re-watering-drought on the photosynthesis physiology and secondary metabolite production of bupleurum chinense DC. *Plant Cell Rep.* 38 (9), 1181–1197. doi: 10.1007/s00299-019-02436-8

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

You, J., Zhang, Y., Liu, A., Li, D., Wang, X., Dossa, K., et al. (2019). Transcriptomic and metabolomic profiling of drought-tolerant and susceptible sesame genotypes in response to drought stress. *BMC Plant Biol.* 19 (1), 267. doi: 10.1186/s12870-019-1880-1

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Zhang, H., Zhu, J., Gong, Z., Zhu, J. K. (2022). Abiotic stress responses in plants. *Nat. Rev. Genet.* 23 (2), 104–119. doi: 10.1038/s41576-021-00413-0

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

Zhou, Q., Li, Y., Wang, X., Yan, C., Ma, C., Liu, J., et al. (2022). Effects of different drought degrees on physiological characteristics and endogenous hormones of soybean. *Plants* 11 (17), 2282. doi: 10.3390/plants11172282

[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)