

水稻种子耐厌氧萌发全基因组关联分析

刘利成^{1,2}, 李小湘², 黎用朝², 潘孝武², 闵 军², 刘三雄²,
刘文强², 胡 敏², 段永红², 余亚莹², 张海清¹

(¹ 湖南农业大学农学院, 长沙 410128; ² 湖南省农业科学院水稻研究所 / 农业部长江中下游籼稻遗传育种重点实验室, 长沙 410125)

摘要: 本研究通过解析水稻芽期耐淹性的遗传基础, 挖掘相关 QTL, 筛选优良单株, 为分子标记辅助育种提供优异种质和理论支撑。选取 318 份国内外水稻种质资源, 在正常有氧和厌氧条件下测定种子萌发期的胚芽鞘长度, 并计算相对胚芽鞘长度, 通过整合基因型和表型数据进行全基因组关联分析。318 份水稻种质间相对胚芽鞘长度差异明显, 相对胚芽鞘长度的平均值为 -0.238, 中位值为 -0.342, 最低值为 -0.923, 最高值为 3.069。全基因组关联分析共鉴定到 83 个 SNP 与种子耐厌氧萌发性状显著相关。通过合并距离较近的 SNP, 共鉴定到 27 个耐厌氧萌发 QTL, 3 个 QTL 与已报道的耐厌氧萌发 QTL 位置相近。其中 *qAG4-2* 与耐厌氧萌发性状的关联度较高, 共有 20 个候选基因位于 *qAG4-2* 内, 其中 1 个基因在厌氧条件下相对于正常有氧条件上调表达, 2 个基因下调表达。本研究挖掘的控制水稻耐厌氧萌发的 QTL 及优异种质资源将为水稻耐厌氧育种提供重要支撑。

关键词: 水稻; 厌氧萌发; 全基因组关联分析

Genome Wide Association Study of Anaerobic Germination Tolerance in Seeds of Rice Accessions

LIU Li-cheng^{1,2}, LI Xiao-xiang², LI Yong-chao², PAN Xiao-wu², MIN Jun², LIU San-xiong²,
LIU Wen-qiang², HU Min², DUAN Yong-hong², YU Ya-ying², ZHANG Hai-qing¹

(¹ College of Agriculture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128; ² Hunan Rice Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Science/Key Laboratory of Indica Rice Genetics and Breeding in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River Valley, Ministry of Agriculture, Changsha 410125)

Abstract: By dissecting genetic basis and identifying QTL related to anaerobic germination related traits in rice, and detecting the elite rice lines carrying favorable alleles, this study provided excellent germplasm for molecular marker-assisted (MAS) breeding. The seeds of 318 rice lines were germinated for measuring coleoptile length under normal and anaerobic conditions. QTL associated with anaerobic germination (AG) tolerance was determined by GWAS and candidate genes were analyzed. The broad variation of AG tolerance was observed among rice accessions ranged from -0.923 to 3.069, with an average of -0.238, a median of -0.342. A total of 27 QTL revealed by 83 SNPs were detected associating with AG tolerance. The QTL locus *qAG4-2* was selected for analysis and 20 candidate genes in the target interval were annotated. Among them, one gene was up-regulated and two genes were down-regulated under normal condition compared to anaerobic condition. The excellent germplasm resources and the QTL loci associating with anaerobic germination were valuable in rice breeding

Key words: rice; anaerobic germination; GWAS

收稿日期: 2021-04-25 修回日期: 2021-08-09 网络出版日期: 2021-08-19

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210425002>

第一作者研究方向为种子科学与技术, Email: liulicheng713@163.com; 李小湘为共同第一作者

通信作者: 张海清, 研究方向为种子科学与技术, Email: hunanhongli@aliyun.com

黎用朝, 研究方向为水稻遗传育种, Email: yongchao_li128@163.com

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-01-14)

Foundation project: Special Project for Modern Agricultural Industrial Technology System of China (CARS-01-14)

水稻是我国重要的粮食作物之一。在过去的 10 年中,由于劳动力短缺,我国部分地区水稻种植方式已经逐渐由传统的育苗移栽向直播方式转变。然而,直播也面临着一些严重影响水稻种子萌发的环境条件,如低温、高温、厌氧及其他恶劣的环境因素^[1]。

相比于玉米和小麦等旱粮作物,水稻种植于水淹条件下,具有较高的耐厌氧萌发能力^[2]。水稻耐厌氧萌发是一个复杂的数量性状,由多个微效 QTL 调控。之前的研究利用连锁群体和关联群体,定位了大量影响水稻耐厌氧萌发的 QTL^[3-9]。例如, Jiang 等^[3] 利用 USSR5(籼稻)和 N22(粳稻)构建的 F₂ 分离群体鉴定到 2 个潜在的与水稻耐厌氧萌发相关的 QTL 位点。以 IR64(籼稻)为轮回亲本与 Kho Hlan On(籼稻)构建 BC₂F₂ 回交群体,共鉴定到 5 个 QTL 与水稻耐厌氧萌发相关^[4]。利用 432 份水稻关联群体, Zhang 等^[9] 在正常有氧和厌氧条件下共鉴定到 2 个和 11 个显著 QTL。Kretschmar 等^[10] 精细定位后发现 *OsTPP7* 参与海藻糖代谢,其高表达可增强水稻的耐厌氧萌发特性。Ye 等^[11] 发现 *OsCBL10* 基因的序列变异与旱稻品种(不耐厌氧)和水稻品种(耐厌氧)的种子厌氧萌发相关。厌氧条件下,植物代谢和生长会受到影响。例如,厌氧条件下,糖酵解途径会受到影响^[10, 12-16]。Shingakiwells 等^[17]、Narsai 等^[18] 尝试从转录组水平去解释水稻胚芽鞘在低氧条件下生长的分子机制,研究发现,厌氧条件下,多种代谢途径参与胚芽鞘伸长,例如碳代谢、发酵、激素诱导、细胞分裂和扩张。

全基因组关联分析是解析表型遗传机制及挖掘 QTL 的重要手段^[19-21]。本实验室前期通过分析 338 份水稻种质资源籽粒中的镉含量,利用全基因组关联分析方法解析了镉含量的遗传基础^[22]。本研究选取 318 份材料,测定正常有氧和厌氧条件下水稻种子胚芽鞘长度,结合高密度的 SNP 标记开展 GWAS 分析。结合已经发表的多个耐厌氧水稻品种厌氧处理后的转录组数据,预测候选基因,深入分析水稻厌氧萌发的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究采用的 318 份水稻品种(详见 <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210425002>,附表 1),包括 139 份地方品种,81 份国外种质资源,82 份培育品种,16 份育种中间材料^[22]。供试种子为湖南

省水稻研究所收集创制的资源与材料。

1.2 种子萌发期耐厌氧表型鉴定

水稻种子置于 50 ℃烘箱烘 72 h 打破休眠,用 1.5% (v/v) 次氯酸钠溶液处理 15 min 并用超纯水洗净。经处理的种子(3 粒)放置于装有 5 mL 超纯水的离心管(10 mL)中并密封,共设置 3 次重复(3 个离心管)。将离心管置于 28 ℃黑暗条件下培养 7 d,测量培养 7 d 后的胚芽鞘长度,以此作为水稻耐厌氧萌发的指标。同时,设置有氧对照组,即将次氯酸钠处理后的种子放入装有 1 mL 超纯水的离心管中并敞口,水稻种子处于有氧环境,同期测定胚芽鞘长度。分析处理组和对照组胚芽鞘长度,并计算相对胚芽鞘长度。

$$\text{相对胚芽鞘长度} = (\text{处理胚芽鞘长} - \text{对照胚芽鞘长}) / \text{对照胚芽鞘长}$$

1.3 全基因组关联分析 (GWAS)

利用 GEMMA 软件 (<https://www.xzlab.org/software.html>) 进行全基因组关联分析,采用混合线性模型进行分析并将群体结构和材料间的亲缘关系矩阵作为协变量,结合基因型与表型值,计算 SNP 的统计检验值 P ,以 $P < 0.001$ 为标准,筛选表型性状相关的遗传位点。为了进一步分析距离较近的显著 SNP,将距离 ≤ 200 kb 的显著 SNP 进行合并,并选取区间内最显著的 SNP 标记为 QTL。查询 QTL 上下游各 200 kb 以内的候选基因。

2 结果与分析

2.1 318 份水稻耐厌氧萌发表型鉴定

本研究共搜集了 318 份水稻种质资源,测定正常有氧和厌氧条件下种子培养 7 d 的胚芽鞘长度,并以此作为水稻耐厌氧萌发的指标。结果表明,厌氧条件下,胚芽鞘长度变幅为 0.110~4.627 cm,平均值为 1.028 cm,中位数为 0.947 cm;正常有氧条件下,胚芽鞘长度变幅为 0.840~1.967 cm,平均值为 1.395 cm,中位数为 1.385 cm(图 1);相对胚芽鞘长度变幅为 -0.923~3.069,平均值为 -0.238,中位数为 -0.342。分析结果表明 318 份水稻种质资源表型变异丰富,其中 9 份种质资源的相对胚芽鞘长度低于 -0.9,对厌氧条件极其敏感(详见 <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210425002>,附表 1)。多性状相关性分析表明,在 318 份水稻种质资源中,正常有氧和厌氧条件下的水稻胚芽鞘长度相关系数为 0.2 ($P > 0.05$)。说明在有氧和厌氧条件下,水稻控制胚芽鞘伸长的遗传机制可能不同。

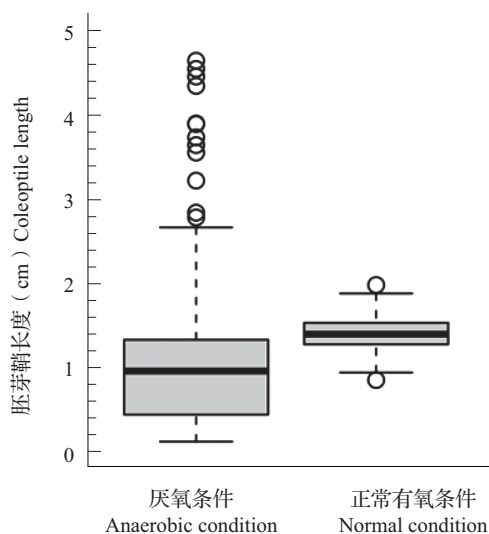
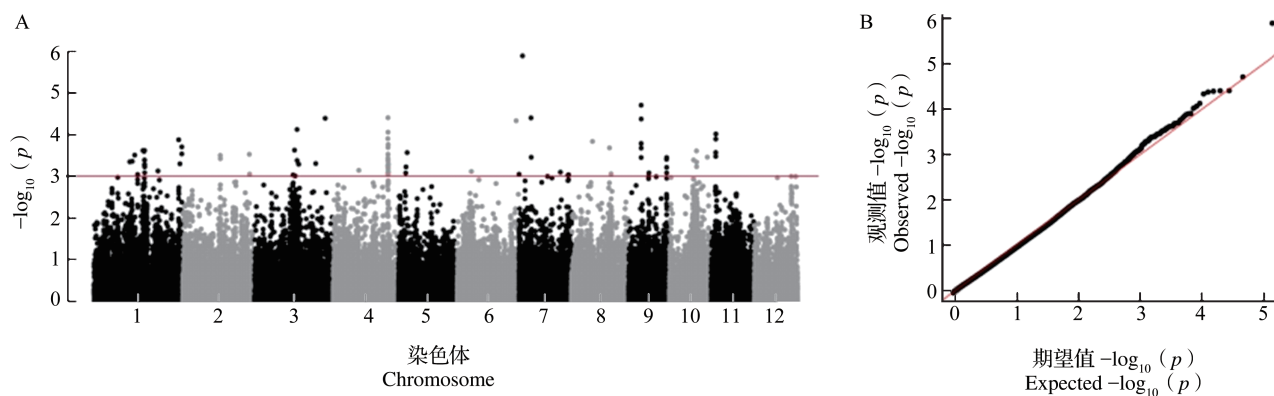


图 1 318 份水稻材料厌氧和与正常有氧条件下胚芽鞘长度

Fig.1 Coleoptile length of 318 rice materials under anaerobic and normal conditions

2.2 水稻耐厌氧全基因组关联分析

本实验室前期已经分析了 318 份水稻材料的基因型数据^[21]。SNP 过滤标准按照次要等位基因频率 >0.05 和缺失率 ≤ 0.2 , 共获得 123865 个多态性 SNP 标记, 均匀分布在 12 条染色体上。利用 GEMMA 软件, 进行全基因组关联分析, 共鉴定到 83 个与水稻耐厌氧萌发性状显著相关的 SNP 位点 (图 2A); 位于第 4 号染色体上的 SNP (rs4_29073881) P 值为 3.10×10^{-5} ($-\log_{10}(P)=4.51$), 与耐厌氧表型高度相关。全基因组关联分析结果 Q-Q 图表明, 大部分 SNP 的预测值与观测值接近, 少数 SNP 位点观测值明显高于预测值, 说明这些 SNP 位点与水稻耐厌氧表型相关 (图 2B)。



A: 曼哈顿图, 图中蓝色实线以上区域代表 $P < 0.001$ 水平上极显著, 横坐标刻度代表染色体中间位置;

B: Q-Q 图, 黑色散点代表 SNP 的 P 的观测值与期望值的关系, 红色线代表 SNP 的理论分布

A: Manhattan plots. The points above blue line show the significant level ($P < 0.001$). The x-axis represents total 12 rice chromosome and ticks on x-axis represent the middle physical position of chromosome, B: Quantile-Quantile plot. The black points represent the distribution of observed P and expected P . The red line represents the SNP distribution under theory condition

图 2 水稻耐厌氧萌发 GWAS 分析结果

Fig.2 The result of GWAS for anaerobic germination tolerance

进一步对距离 <200 kb 的相邻 SNP 进行合并, 共鉴定到 27 个耐厌氧 QTL, 分别位于水稻的 12 条染色体上 (表 1)。其中第 1、9 号染色体上分别存在 5 个 QTL, 第 3、10 号染色体分别存在 3 个 QTL, 其余染色体少于 3 个 QTL (表 1)。将本研究鉴定到的 QTL 与已经报道的水稻耐厌氧 QTL 进行比较, 发现 *qAG6-1*、*qAG8-1*、*qAG9-3* 分别于与 Baltazar 等^[6]、Angaji 等^[8]、Zhang 等^[9] 报

道的位点相近, 其余 24 个 QTL 还未曾报道, 说明这些 QTL 可能是控制水稻耐厌氧萌发的新位点 (表 1)。根据相对胚芽鞘长度表型数据以及基因型数据共筛选到 7 个携带多个有利等位基因的种质资源, 分别是 GHAIYA, 中鉴 100, BR-161-2B-58 (细长), 本地糯谷, 青六矮 1 号, 浙鉴 21 和 BG304 (表 2)。

表 1 控制水稻耐厌氧萌发的 QTL
Table 1 QTLs for anaerobic germination tolerance

数量性状位点 QTL	染色体 Chromosome	SNP 位置 (bp) Position of SNP	P 值 P-value	已报道的耐厌氧 QTL Known QTL related to anaerobic tolerance
qAG1-1	1	12676602	6.74×10^{-4}	—
qAG1-2	1	19072161	3.48×10^{-4}	—
qAG1-3	1	26068206	1.51×10^{-4}	—
qAG1-4	1	26913917	8.16×10^{-5}	—
qAG1-5	1	45709212	3.18×10^{-4}	—
qAG2-1	2	35486705	8.97×10^{-4}	—
qAG3-1	3	22622450	3.07×10^{-4}	—
qAG3-2	3	23355237	4.54×10^{-4}	—
qAG3-3	3	32553417	4.02×10^{-4}	—
qAG4-1	4	21704388	2.31×10^{-4}	—
qAG4-2	4	29073881	3.10×10^{-5}	—
qAG5-1	5	3990746	6.97×10^{-4}	—
qAG5-2	5	4616114	2.98×10^{-4}	—
qAG6-1	6	31366300	3.42×10^{-5}	[6]
qAG7-1	7	26080094	8.56×10^{-4}	—
qAG8-1	8	20229992	2.19×10^{-4}	[8]
qAG9-1	9	1655486	3.36×10^{-4}	—
qAG9-2	9	6691585	4.96×10^{-5}	—
qAG9-3	9	10628960	6.06×10^{-4}	[9]
qAG9-4	9	14668217	8.90×10^{-4}	—
qAG9-5	9	20219086	4.14×10^{-4}	—
qAG10-1	10	12815855	3.00×10^{-4}	—
qAG10-2	10	14372754	1.96×10^{-4}	—
qAG10-3	10	20117592	3.45×10^{-4}	—
qAG11-1	11	2521730	7.25×10^{-5}	—
qAG12-1	12	19596189	7.37×10^{-4}	—
qAG12-2	12	21949329	7.63×10^{-4}	—

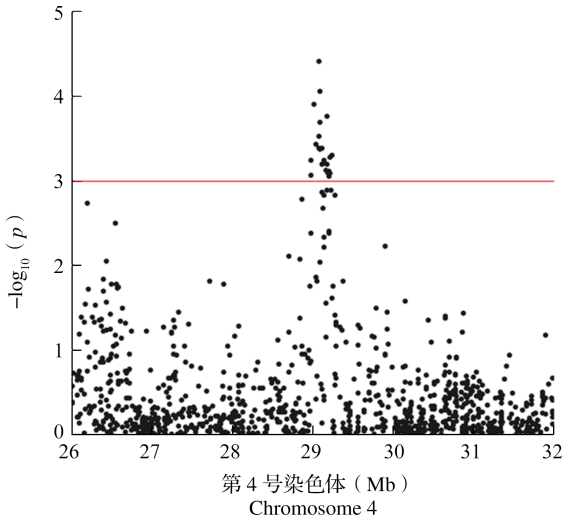
—代表该 QTL 在之前的研究中未报道
—represents the QTL has not been reported in previous study

表 2 厌氧条件下高相对胚芽鞘长度材料信息表
Table 2 List of rice lines with a higher relative coleoptile length under anaerobic condition

编号 ID	测序编号 Sequencing ID	名称 Name	相对胚芽鞘长度 The relative coleoptile length	优异等位基因个数 The number of favorable alleles
W25	ay	GHAIYA	3.068851	14
W381	on	中鉴 100	0.007576	14
W14	an	BR-161-2B-58(细长)	3.023188	13
W171	gn	本地糯谷	-0.07527	13
W268	kf	青六矮 1 号	0.144208	13
W380	om	浙鉴 21	-0.01948	13
W10	aj	BG304	1.303728	12

2.3 水稻耐厌氧候选基因分析

全基因组关联分析结果表明, *qAG4-2* 位点与水稻耐厌氧表型高度相关, 并且未曾报道过, 因此对 *qAG4-2* 做进一步分析(图 3)。结果表明, *qAG4-2* 区间内共鉴定到 20 个基因。主要包括激酶(*LOC_Os04g51030*, *LOC_Os04g51050*, *LOC_Os04g51009*, *LOC_Os04g51040*), 生长调控因子(*LOC_Os04g51190*), zinc_finger 转录因子(*LOC_Os04g51172*) 等(表 3)。Hsu 等^[23] 用 6 个耐厌氧萌发能力不同的水稻品种在正常条件下和厌氧条件下进行转录组测序, 共鉴定了 3597 个厌氧萌发响应基因, 与鉴定到的 20 个候选基因比较发现 1 个基因(*LOC_Os04g51040*) 在厌氧条件下相对于正常有氧条件上调表达, 2 个基因(*LOC_Os04g51090*, *LOC_Os04g51130*) 下调表达(表 3)。因此, 这 3 个基因很有可能是参与水稻种子耐厌氧萌发的关键基因。



图中红色实线以上区域代表 $P<0.001$ 水平上极显著
The points above red line show the significant level ($P<0.001$)

图 3 *qAG4-2* 的局部定位结果
Fig.3 The mapping result of *qAG4-2*

表 3 *qAG4-2* 区间内候选基因
Table 3 The candidate genes in the region of *qAG4-2*

基因编号 Gene ID	功能注释 Function annotation	厌氧响应 Anaerobic response
<i>LOC_Os04g51009</i>	细胞壁关联蛋白激酶	—
<i>LOC_Os04g51020</i>	无功能域	—
<i>LOC_Os04g51030</i>	细胞壁关联蛋白激酶	—
<i>LOC_Os04g51040</i>	细胞壁关联蛋白激酶	上调
<i>LOC_Os04g51050</i>	细胞壁关联蛋白激酶	—
<i>LOC_Os04g51060</i>	无功能域	—
<i>LOC_Os04g51070</i>	helix-loop-helix DNA 结合转录因子	—
<i>LOC_Os04g51080</i>	无功能域	—
<i>LOC_Os04g51090</i>	tRNA 内切酶	下调
<i>LOC_Os04g51100</i>	COBW 功能域蛋白	—
<i>LOC_Os04g51110</i>	WD_repeat 功能域蛋白	—
<i>LOC_Os04g51120</i>	ENTH 功能域蛋白	—
<i>LOC_Os04g51130</i>	无功能域	下调
<i>LOC_Os04g51140</i>	E2F 相关蛋白	—
<i>LOC_Os04g51150</i>	转座子相关蛋白	—
<i>LOC_Os04g51160</i>	转座子相关蛋白	—
<i>LOC_Os04g51166</i>	无功能域	—
<i>LOC_Os04g51172</i>	锌指结构转录因子	—
<i>LOC_Os04g51180</i>	G 蛋白生长调节因子	—
<i>LOC_Os04g51190</i>	生长调节因子	—

—代表缺氧条件下, 该基因表达无显著差异
—represents that gene expression was not differentiated under anaerobic condition

3 讨论

目前,主要有 2 种方法鉴定水稻种子的耐厌氧萌发特性。方法 1 是将水稻种子置于 10~20 cm 的水深处,统计 21 d 后幼苗存活率,这也是国际水稻研究所提倡的一种标准方法^[4],然而调查存活率的方法工作量巨大,耗时费力;方法 2 是测定水稻种子萌发一定时期后胚芽鞘的长度,2 种测定方法定位到的 QTL 大致相同^[7]。本研究根据胚芽鞘长度表型数据,利用全基因组关联分析共定位到 27 个 QTL,并且部分 QTL 与已报道的位点重合,进一步说明使用测定胚芽鞘长度的方法鉴定水稻耐厌氧萌发的可靠性。

水稻种子耐厌氧萌发性状,受多种因素影响,是一个典型的数量性状^[9]。前人利用连锁群体和关联群体做了大量相关研究,但是在不同群体中共定位到的 QTL 较少,因此,水稻耐厌氧萌发是一个受多基因调控的复杂性状。本研究采用一套成熟且来源广泛的关联群体,利用全基因组关联分析共挖掘了 27 个与水稻耐厌氧萌发相关的 QTL,其中 *qAG6-1* 等 3 个 QTL 与前人的研究结果能够共定位(表 1),其余 24 个 QTL 与已报道的 QTL 不同,证明了本研究的表型数据和分析结果的准确性以及水稻耐厌氧萌发性状遗传机制的复杂性。在 27 个 QTL 中, *qAG4-2* 最为显著 ($P=3.10 \times 10^{-5}$),因此, *qAG4-2* 位点可能为未来水稻耐厌氧分子设计育种提供重要的参考。

水稻种子萌发由复杂的生物学途径调控,涉及到信号转导和生理代谢等生物学途径。本研究在 *qAG4-2* 位点筛选到 20 个候选基因,结合已经发表的水稻厌氧萌发转录组数据,其中 1 个基因 (*LOC_Os04g51040*) 编码细胞壁相关激酶,在厌氧条件下上调表达。已有研究表明,细胞壁相关激酶参与细胞壁分裂与生长,调控水稻种子幼苗伸长^[24-25]。在厌氧条件下,种子胚芽鞘生长加速。因此, *LOC_Os04g51040* 基因很有可能参与水稻耐厌氧萌发,但具体的作用机制还有待进一步分析。

致谢: 感谢湖南省作物种质资源库和国家水稻种质资源中期库提供部分材料种子

参考文献

- [1] Farooq M, Siddique K H, Rehman H, Aziz T, Lee D, Wahid A. Rice direct seeding: experiences, challenges and opportunities. *Soil and Tillage Research*, 2011, 111 (2): 87-98
- [2] Hattori Y, Nagai K, Ashikari M. Rice growth adapting to

deepwater. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011, 14 (1): 100-105

- [3] Jiang L, Liu S, Hou M, Tang J, Chen L, Zhai H, Wan J. Analysis of QTLs for seed low temperature germinability and anoxia germinability in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crop Research*, 2006, 98 (1): 68-75
- [4] Angaji S A, Septiningsih E M, Mackill D J, Ismail A M. QTLs associated with tolerance of flooding during germination in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2010, 172 (2): 159-168
- [5] Septiningsih E M, Ignacio J C I, Sendon P M D, Sanchez D L, Ismail A M, Mackill D J. QTL mapping and confirmation for tolerance of anaerobic conditions during germination derived from the rice landrace Ma-zhan red. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126 (5): 1357-1366
- [6] Baltazar M D, Ignacio J C I, Thomson M J, Ismail A M, Septiningsih E M. QTL mapping for tolerance of anaerobic germination from IR64 and the aus landrace Nanhi using SNP genotyping. *Euphytica*, 2014, 197 (2): 251-260
- [7] Hsu S K, Tung C. Genetic mapping of anaerobic germination-associated QTLs controlling coleoptile elongation in rice. *Rice*, 2015, 8 (1): 38
- [8] Angaji S A. Mapping QTLs for submergence tolerance during germination in rice. *African Journal of Biotechnology*, 2008, 7 (15): 2551-2558
- [9] Zhang M, Qing L, Wei W, Xiaojun N, Caihong W, Yue F, Qun X, Shan W, Xiaoping Y, Hanyong Y. Association mapping reveals novel genetic loci contributing to flooding tolerance during germination in Indica rice. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 678
- [10] Kretschmar T, Pelayo M A F, Trijatmiko K R, Gabunada L F M, Alam R, Jimenez R, Mendioro M S, Slamet-Loedin I H, Sreenivasulu N, Bailey-Serres J. A trehalose-6-phosphate phosphatase enhances anaerobic germination tolerance in rice. *Nature Plants*, 2015, 1 (9): 15124
- [11] Ye N H, Wang F Z, Shi L, Chen M X, Cao Y Y, Zhu F Y, Wu Y Z, Xie L J, Liu T Y, Su Z Z. Natural variation in the promoter of rice calcineurin B-like protein10 (*OsCBL10*) affects flooding tolerance during seed germination among rice subspecies. *The Plant Journal*, 2018, 94 (4): 612-625
- [12] Gibbs J, Morrell S, Valdez A, Setter T L, Greenway H. Regulation of alcoholic fermentation in coleoptiles of two rice cultivars differing in tolerance to anoxia. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51 (345): 785-796
- [13] Kato-Noguchi H, Morokuma M. Ethanolic fermentation and anoxia tolerance in four rice cultivars. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164 (2): 168-173
- [14] Lasanthi-Kudahettige R, Magneschi L, Loreti E, Gonzali S, Licausi F, Novi G, Beretta O, Vitulli F, Perata A A A P. Transcript profiling of the anoxic rice coleoptile. *Plant Physiology*, 2007, 144 (1): 218-231
- [15] Magneschi L, Perata P. Rice germination and seedling growth in the absence of oxygen. *Annals of Botany*, 2008, 103 (2): 181-196
- [16] Fukao T. Genetic and biochemical analysis of anaerobically-induced enzymes during seed germination of *Echinochloa crus-galli* varieties tolerant and intolerant of anoxia. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54 (386): 1421-1429
- [17] Shingakiwells R, Huang S, Taylor N, Carroll A, Zhou W,

- Millar H. Differential molecular responses of rice and wheat coleoptiles to anoxia reveal novel metabolic adaptations in amino acid metabolism for tissue tolerance. *Plant Physiology*, 2011, 156 (10): 1706-1724
- [18] Narsai R, Edwards J M, Roberts T H, Whelan J, Joss G H, Atwell B J. Mechanisms of growth and patterns of gene expression in oxygen-deprived rice coleoptiles. *The Plant Journal*, 2015, 82 (1): 25-40
- [19] Huang X, Wei X, Sang T, Zhao Q, Feng Q, Zhao Y, Li C, Zhu C, Lu T, Zhang Z. Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. *Nature Genetics*, 2010, 42 (11): 961-967
- [20] Huang X, Zhao Y, Wei X, Li C, Wang A, Zhao Q, Li W, Guo Y, Deng L, Zhu C. Genome-wide association study of flowering time and grain yield traits in a worldwide collection of rice germplasm. *Nature Genetics*, 2012, 44 (1): 32-39
- [21] 潘孝武,黎用朝,刘文强,熊海波,董铮,盛新年,段永红,余亚莹,赵文锦,魏秀彩,李小湘. 水稻资源开花期耐热性的全基因组关联分析. *植物遗传资源学报*, 2021, 22 (2): 407-415
- Pan X W, Li Y C, Liu W Q, Xiong H B, Dong Z, Sheng X N, Duan Y H, Yu Y Y, Zhao W J, Wei X C, Li X X. Genome wide association study of heat tolerance at the anthesis stage in rice. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22 (2): 407-415
- [22] Pan X, Li Y, Liu W, Liu S, Li X. QTL mapping and candidate gene analysis of cadmium accumulation in polished rice by genome-wide association study. *Scientific Report*, 2020, 10 (1): 11791
- [23] Hsu S K, Tung C W. RNA-Seq analysis of diverse rice genotypes to identify the genes controlling coleoptile growth during submerged germination. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 762
- [24] Yang J, Guo Z H, Luo L X, Gao Q L, Xiao W M, Wang J F, Wang H, Chen Z Q, Guo T. Identification of QTL and candidate genes involved in early seedling growth in rice via high-density genetic mapping and RNA-seq. *The Crop Journal*, 2021, 9 (2): 360-371
- [25] Kohorn B D, Kohorn S L. The cell wall-associated kinases, WAKs, as pectin receptors. *Frontier in Plant Science*, 2012, 3: 88

附表 1 供试品种信息及相对胚芽鞘长度

Supplementary table 1 Basic information and the relative coleoptile length

编号	测序编号	名称	相对胚芽鞘长度
ID	Sequencing ID	name	The relative coleoptile length
W1	aa	06 引 32	0.533125
W5	ae	AG 7	-0.723502304
W6	af	ANFC-1	-0.616326531
W7	ag	AS996-1K	-0.83566058
W8	ah	B459b-pn-132-8-1	0.175015461
W9	ai	BANTIA	-0.578571429
W10	aj	BG304	1.30372807
W11	ak	BG34-8	-0.480769231
W12	al	BINDESHWARI	2.139705882
W13	am	BKN 6809-74-40	-0.834745763
W14	an	BR-161-2B-58(细长)	3.023188406
W16	ap	BS145	1.200954861
W18	ar	CNAR 2888-B-47	-0.011235955
W20	at	CNAX4364-4-4-1-1-1	-0.892265193
W21	au	CT 19298-(1)-1-12-1-4-2MP	-0.362582781
W22	av	CT 9685-14-M-1-2-3-2P-M-1	-0.824561404
W23	aw	CT 9737-5-21-2-4P-M	-0.867346939
W24	ax	U166	-0.630252101
W25	ay	GHAIYA	3.068850902
W27	ba	GZ 948-2-2-1	0.200234192
W31	be	IAC25	-0.442233633
W32	bf	IDSA 64	-0.029450549
W33	bg	IET3137	-0.144444444
W34	bh	IET8580	-0.889649924
W35	bi	IN 79-2-1-3-3-M	-0.694628403
W37	bk	IR 1529-680-3	-0.767474048
W38	bl	IR 1849747-23-3-2	-0.515151515
W39	bm	IR 19746-26-2-3	-0.054214484
W40	bn	IR 70249-30-CIR-B-SB-6-1	0.762962963
W41	bo	IR 72864-80-1-2-2	-0.672119229
W42	bp	IR 874B2-108-1	-0.588888889
W43	bq	IRAT 109	-0.230202578
W44	br	IRAT 156	-0.754010695
W47	bu	JAVAE	-0.062617173
W49	bw	KIYALEH	-0.519101124
W50	bx	KMP34	-0.847305389
W51	by	Kn-lh-361-1-8-6	-0.912713472
W53	ca	LIETO	-0.893977947
W54	cb	M6-9-28 UL	-0.801204819
W55	cc	MACK HING(粘/糯)	-0.650793651

W56	cd	MACK HING(粘?)	-0.865263158
W58	cf	MK9-87	-0.650089606
W59	cg	MRQ 50	-0.511111111
W60	ch	N 22 (ACC 117273)	-0.867803838
W62	cj	NEDA	-0.872493734
W63	ck	OM 5636	-0.839320963
W64	cl	OMCS95-5	1.280185759
W66	cn	ORYZICA SABANA 6	-0.202830189
W67	co	PARASSANA	-0.68902439
W68	cp	PARO DUMBJA (WHITE)(ACC 75200)	-0.546934866
W71	cs	PR 26873-PJ 21-2-1	-0.563636364
W74	cv	SIK 6-3-4-4-2	0.874197689
W75	cw	TAICHUNG65	-0.89973108
W76	cx	U1	0.361246349
W77	cy	U13	0.131845842
W78	ph	U14	1.464738382
W79	cz	U236	-0.340296866
W81	db	U298	-0.705357143
W85	df	U366	-0.243884359
W86	dg	U4	-0.02872777
W87	dh	U418	-0.29218107
W89	dj	U431	-0.161394972
W91	dl	U5	-0.48377193
W92	dm	U6	-0.19772404
W95	dp	UCHUTI	-0.109780439
W98	ds	WAB 450-11-1-P31-1-HB	-0.152804642
W99	dt	WAS 169-B-B-4-2-9	-0.149685535
W101	dv	WAS 63-22-1-1-3-3	-0.790575916
W102	dw	WAT317-WAS-B-55-4-3-5-1	0.16453202
W104	dy	ZAKHA (ACC 67859)	-0.182368194
W105	dz	蓝穗星本耐	-0.221676892
W106	ea	马达加斯加-2	-0.90430622
W108	ec	暹罗糯	-0.154471545
W109	ed	远野一号	0.782407407
W110	ee	棒棒糯??	-0.173913043
W111	ef	旱禾	0.076190476
W112	eg	水稻	-0.621125144
W113	eh	1a62	-0.922857143
W117	el	2016 三亚 1200	-0.678306878
W118	em	2016 三亚 615	-0.678571429
W120	eo	5BS102	-0.139175258
W122	eq	5BS26	-0.411658654
W123	er	5BS30	-0.761039886
W125	et	5BS43	-0.849689441

W128	ew	95 海 30	-0.66609589
W131	ez	BS110	0.047222222
W132	fa	BS114	-0.619047619
W134	fc	BS22	-0.155354449
W135	fd	BS82	-0.093474427
W136	fe	CHOKOTO (ACC32567)	-0.680451128
W137	ff	CYPRESS	0.412110727
W138	fg	IR 77542-345-1-1-1-2	-0.119526627
W141	fj	IRGA423	-0.563118322
W142	fk	IRGA425	-0.571428571
W145	fn	R09	-0.081703107
W146	fo	R1137	-0.56779661
W147	fp	R501-1	-0.835164835
W148	fq	R6326	-0.170921199
W149	fr	R811 (父本)	-0.288610039
W150	fs	R875-1	-0.635391347
W152	fu	矮脚麻	1.935877863
W153	fv	矮脚南特	0.3234375
W154	fw	矮密	1.012474012
W155	fx	矮子红谷	0.027472527
W158	ga	八百粒	-0.34375
W159	gb	八十粘	0.677865613
W160	gc	巴巴禾	-0.187123668
W161	gd	霸王鞭 1	0.454068241
W162	ge	白迟禾	-0.608264463
W163	gf	白谷	-0.171978022
W164	gg	白壳糯	-0.155801105
W165	gh	白米冬粘	-0.468899522
W167	gj	白糯	-0.429065744
W168	gk	百日早	-0.055622249
W171	gn	本地糯谷	-0.075268817
W172	go	长谷	-0.123376623
W174	gq	长谷早	-0.054545455
W175	gr	长丝占	-0.323308271
W176	gs	郴晚 3 号(籼)	-0.369230769
W177	gt	迟半粘糯	-0.856521739
W178	gu	冲各早	-0.207207207
W179	gv	创香 5 号	-0.879663394
W180	gw	从板糯	-0.141914191
W181	gx	丛桂 314	-0.371428571
W182	gy	大麻糯	-0.713836478
W183	gz	大糯	-0.262187088
W184	ha	大叶青粘	-0.4625
W186	hc	洞庭晚籼	-0.364444444

W187	hd	鄂中 4 号	-0.765141612
W188	he	鄂中 5 号	-0.845849802
W189	hf	番毛占	0.403773585
W190	hg	番子	0.694951665
W191	hh	肥田早	-0.092063492
W192	hi	丰矮占 1 号	-0.215686275
W193	hj	丰华占	-0.791962175
W194	hk	赣晚籼 20 号	-0.34430653
W197	hn	肛小	-0.257383966
W198	ho	高脚苏	-0.277756435
W200	hq	广场 13	-0.208333333
W202	hs	贵州糯	-0.05982906
W204	hu	桂朝 2 号	2.549618321
W205	hv	荷花粘	-0.378063479
W206	hw	黑节糯	-0.185185185
W207	hx	红谷	-0.404166667
W208	hy	红脚茶粘	-0.041907514
W209	hz	红节巴	-0.125779967
W210	ia	红壳麻糯	-0.214285714
W211	ib	红壳糯选	-0.062988027
W212	ic	红芒九月糯	-0.681227863
W213	id	红米冬粘	-0.014842301
W214	ie	红米选粘	-0.470588235
W215	if	红雀谷	0.006953224
W216	ig	红三粒寸	-0.50877193
W217	ih	红桃糯	-0.435789474
W218	ii	湖北早	-0.724489796
W219	ij	沪早 15 号	-0.805006588
W220	ik	华丝占	0.238659794
W221	il	黄华占	-0.764309764
W222	im	黄丝桂占	0.394686907
W223	in	黄新占	-0.201923077
W224	io	惠优占	-0.173489279
W225	ip	火老占	-0.806677019
W226	iq	冀粳 8 号	0.252136752
W228	is	佳禾早占	0.877693652
W229	it	剪刀齐	-0.131736527
W230	iu	江西早	-0.134248665
W231	iv	江永香稻	-0.299056891
W232	iw	解放籼	-0.121848739
W233	ix	金包银	0.756476684
W234	iy	金溪白	-0.587709497
W235	iz	粳 87-304	0.722222222
W236	ja	九迟糯	0.205479452

W238	jc	烂泥粘	-0.129411765
W239	jd	老竹种	-0.289473684
W240	je	冷水麻	-0.637770898
W241	jf	冷水糯	-0.340136054
W242	jg	冷西糯	-0.080882353
W243	jh	力源占 1 号	0.169784173
W244	ji	粒谷	-0.399747793
W245	jj	联育 3 号	-0.882352941
W246	jk	了禾糯	-0.797046573
W247	jl	岭禾选	-0.40952381
W248	jm	柳沙 1 号	0.324542125
W249	jn	柳条糯	-0.709150327
W250	jo	绿黄占	-0.272283272
W252	jq	麻壳糯	-0.813626532
W253	jr	麻糯谷	-0.103703704
W255	jt	满地红	-0.237288136
W256	ju	帽子粘	-0.256880734
W257	jv	美国稻	-0.483660131
W258	jw	密谷早	-0.400611621
W260	pi	茉莉新占	-0.869767442
W261	jy	墨米	-0.837037037
W262	jz	南特珍	-0.574712644
W263	ka	糯收早	-0.386752137
W265	kc	齐头禾	-0.566951567
W266	kd	齐早子	-0.576642336
W267	ke	秦稻 2 号	-0.807040417
W268	kf	青六矮 1 号?	0.144208038
W269	kg	青农矮	-0.18969555
W270	kh	三百粒	-0.481840194
W271	ki	砂粘	-0.823529412
W272	kj	神农恢 1 号	-0.879111111
W273	kk	胜利籼	-0.671554252
W275	km	圣水糯	-0.604210526
W276	kn	双桂科 41	-0.862341772
W277	ko	双抗 8 号	-0.811538462
W278	kp	双平头农垦 58	-0.230769231
W280	kr	特青(籼)	-0.53875969
W281	pj	桐禾糯	0.004296455
W283	kt	桐子早	-0.174603175
W284	ku	团谷糯	-0.378623188
W285	kv	团糯	-0.391051567
W286	kw	晚籼紫宝	-0.895156695
W287	kx	皖稻 27	-0.771729587
W289	kz	五百粒	-0.057692308

W290	la	西粘	2.074955908
W291	lb	细羊古粘	-0.294117647
W292	lc	香子	-0.555178268
W293	ld	湘晚籼 12 号	-0.525925926
W294	le	湘晚籼 13 号	-0.886965736
W295	lf	湘晚籼 17 号	-0.917176471
W296	lg	湘晚籼 1 号	0.5
W297	lh	湘晚籼 2 号	-0.129664769
W298	li	湘晚籼 3 号	-0.074509804
W299	lj	湘晚籼 6 号	-0.921641791
W300	lk	湘晚籼 8 号	-0.295867769
W301	ll	湘中籼 3 号	-0.855582524
W303	ln	小麻占	-0.825
W304	lo	须谷糯(籼白米假)	0.565680473
W305	lp	选粘	-0.868686869
W306	lq	选占	-0.842741935
W307	lr	鸭婆粘	-0.195031056
W308	ls	扬稻 2 号	-0.896650718
W309	lt	扬稻 4 号	-0.348427673
W310	lu	扬稻 6 号	-0.621073961
W311	lv	扬辐籼 2 号	-0.88373425
W312	lw	瑶占大禾	-0.706666667
W313	lx	一面粘	-0.446143617
W314	ly	益阳种	-0.565714286
W315	lz	余赤 231-8	-0.827416174
W316	ma	玉香占	-0.269503546
W317	mb	玉针香	-0.579831933
W318	mc	粤丰占	-0.902534113
W319	md	粤航 1 号	-0.915384615
W320	me	早百花粘	-0.524193548
W321	mf	早大糯	-0.173160173
W322	mg	早熟香黑	-0.829721362
W323	mh	珍珠矮 11 号	0.548387097
W324	mi	镇籼 232	-0.880588235
W325	mj	中香 1 号	-0.911616162
W326	mk	舟 903	-0.899874844
W327	ml	猪仔糯	-0.398496241
W328	mm	坐八百	-0.018500487
W329	mn	矮仔占	0.503865979
W330	mo	八十早	-0.922359089
W331	mp	白脚	-0.375160051
W332	mq	白壳早	-0.181116456
W333	mr	白壳粘	-0.511278195
W334	ms	白米模粘	-0.440880503

W335	mt	白早禾	-0.785714286
W337	mv	朝阳早 18	-0.816296296
W339	mx	赣早籼 24 号	-0.875813128
W340	my	赣早籼 30 号	-0.899688474
W341	mz	赣早籼 37 号	-0.412698413
W342	na	赣早籼 7 号	0.106177606
W343	nb	广陆矮 15-	-0.49
W344	nc	广陆矮 4 号	0.22020202
W345	nd	桂花粘	-0.465591398
W346	ne	桂冷糯	-0.054597701
W347	nf	禾子粘	-0.044534413
W348	ng	红 410	-0.169811321
W349	nh	猴脚早	0.019550342
W350	ni	胡须早	-0.272575251
W351	nj	嘉育 948	-0.156498674
W352	nk	雷火粘	-0.131221719
W353	nl	娄早籼 5 号	-0.760266371
W355	nn	麻谷子糯	-0.5625
W356	no	麻早禾	0.045977011
W357	np	马子占	0.172268908
W358	nq	南特号	-0.775263158
W359	nr	南雄早油占	-0.454918033
W360	ns	青叶打粘	-0.306526807
W361	nt	胜利王	-0.186454849
W362	nu	双科 1 号	-0.144886364
W363	nv	团谷早	0.3364817
W364	nw	皖稻 43	0.458461538
W365	nx	温选青	1.156976744
W366	ny	西洋粘	-0.448107448
W367	nz	细叶苏	-0.036231884
W368	oa	湘早籼 13 号	0.006487488
W369	ob	湘早籼 15 号	-0.419516264
W370	oc	湘早籼 21 号	-0.441176471
W371	od	湘早籼 23 号	-0.131725417
W372	oe	湘早籼 27 号	-0.678944475
W373	of	湘早籼 29 号	-0.744360902
W374	og	湘早籼 31 号	-0.668560606
W375	oh	原丰早	1.06984127
W377	oj	早麻谷	-0.339559387
W378	ok	早麻壳	-0.781884058
W379	ol	浙辐 802	-0.273260073
W380	om	浙鉴 21	-0.019480519
W381	on	中鉴 100	0.007575758
W382	oo	中选五号	-0.331536388

W383	op	中优早 19 号	-0.145114943
W384	oq	中早 22	0.448611111
W385	or	竹系 26	1.990775909
W386	os	竹叶早	-0.549364022
W387	ot	六十早	0.162640902
W389	ov	VNIIR 8572	-0.393089961
W391	ox	不落籼	1.407660739
W392	oy	草禾子	-0.165914787
W393	oz	大干早谷	-0.081967213
W394	pa	红脚早	-0.140235911
W395	pb	华矮 837	1.829473684
W397	pd	麻壳冬粘	-0.462962963
W398	pe	松禾	0.142857143
W399	pf	湘早籼 32 号	1.824747475