



调控水稻种子快速萌发的相关基因筛选与分析

周明明^{1,2}, 荆浩¹, 胡陆洲^{1,2}, 陈旺^{1,2}, 徐杰^{1,2}, 付海辉^{1,2}, 贺晓鹏^{1,2}, 杨俊^{1,2}, 边建民^{1,2}, 贺浩华^{1,2}, 周大虎^{1,2*}

1. 江西农业大学, 作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室, 南昌 330045

2. 江西省作物生物育种与高效生产重点实验室, 南昌 330045

* 联系人, E-mail: zhoudahu2008@163.com

收稿日期: 2025-08-21; 接受日期: 2025-10-23; 网络版发表日期: 2025-11-04

江西省水稻良种联合攻关项目(批准号: 2022JXNZWZY01)和江西省自然科学基金-面上项目(批准号: 20242BAB25368)资助

摘要 种子萌发是决定水稻产量与品质的关键阶段。本研究以萌发差异显著的野香A和昌恢657及其F₂群体为材料, 对其F₂代种子发芽表型进行统计并构建极端差异池, 开展全基因组重测序和BSA-Seq分析, 初步确定调控种子萌发的相关基因位点位于Chr 5或Chr 9相应的区间内。对两亲本的RNA-Seq数据分析表明, 两亲本的芽和根中共存在781个差异表达基因。GO和KEGG富集通路分析进一步表明, 这些差异基因主要集中在种子萌发等相关生物学通路中, 结合BSA-Seq和RNA-Seq数据分析结果, 本研究发现了一个影响种子萌发的关键基因: *OsCYP51G3*。序列分析发现, 该基因序列在两亲本中存在显著差异, 该基因与种子萌发相关家族成员*OsCYP51H3*具有相似的CDS结构域。本研究成果不仅为理解水稻种子休眠与萌发的分子机制奠定了坚实基础, 也为品种改良和新品种培育提供了宝贵的参考。

关键词 水稻, 种子萌发, RNA-Seq, 植物激素, 抗氧化物酶, BSA-Seq

我国水稻种植面积达2894.9万公顷, 产量稳定在2亿吨, 这一巨大产量有力地保障了我国的粮食安全^[1]。然而, 近年极端天气频发, 特别是以“倒春寒”为首的低温天气严重影响了水稻种子早期正常生长发育。在我国多个地区, 每年的3~5月期间有大量已播种且尚未出苗的水稻种子遭受冻害, 严重威胁了我国的农业经济及粮食安全^[2,3]。另外, 随着水稻轻简化栽培模式的发展, 种植方式从先前的插秧、抛秧已逐渐转化为直播、机插秧, 特别是早稻主要以直播为主^[4]。因此, 对水稻种子萌发初期的研究需及时开展, 挖掘调控水

稻快速萌发的相关基因, 来提高直播后种子的萌发速度, 进而减小播种初期低温对水稻种子萌发的影响。在生产实践中发现一些品种表现出显著的快速萌发特性。尽管这一现象被广泛记录, 但对其分子调控和生理生化机制的研究鲜有报道。深入研究这一现象的调控机制, 不仅可以有效规避“倒春寒”这一极端气候对水稻种子的冻害, 还能使直播稻幼苗快速生长, 进而使其在对抗杂草方面具有竞争优势, 有利地保障农业经济发展和国家粮食安全。

水稻种子萌发可分为3个关键阶段: 种子的吸水和

引用格式: 周明明, 荆浩, 胡陆洲, 等. 调控水稻种子快速萌发的相关基因筛选与分析. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 2339–2356

Zhou M M, Jing H, Hu L Z, et al. Screening and analysis of genes regulating rapid seed germination in rice (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2025, 55: 2339–2356, doi: 10.1360/SSV-2025-0286

膨胀、种皮的突破及芽和根的快速生长^[5]。种子吸水膨胀后, 会使其内部细胞的水分含量达到饱和, 打破休眠状态并使种子内部的呼吸作用和新陈代谢活动显著增强。这一过程, 可为种子后续生长发育提供必要的能量, 同时种子内部酶活性会逐渐提升, 其作用是加速内部储存的脂肪和蛋白质转化为糖类等可溶性物质^[6]。这些营养物质被输送到胚中后, 为细胞的分裂和伸长提供了充足的养分。随着时间的变化, 胚根率先突出种皮, 标志着种子开始发芽, 其中胚根与胚芽中的细胞分裂和伸长是加快种子生长的主要方式^[7]。当胚根长度与种子长度一致且胚芽长度达到种子长度一半时, 意味着种子的萌发过程结束。这些阶段的顺利进行是确保种子在田间成功发育成茁壮幼苗的关键。因此, 种子的萌发过程是农业生产过程和育种工作中的关键部分。

种子的萌发是涉及多种信号转导和环境因素综合影响的复杂过程。研究人员通过基因组学和转录组学的分析方法, 确定了多个调控水稻种子萌发的关键转录因子(transcription factor, TF)及相关基因。例如, *OsNAC3*^[8]过表达可显著提升种子的发芽率, 其机制是*OsNAC3*参与了脱落酸(abscisic acid, ABA)分解代谢基因*OsABA8ox1*的启动子结合, 同时其与细胞伸长基因*OsEXP4*^[9]的结合能促使种子的萌发; *OsLOL1*^[10]与*OsZIP58*^[11]互作后激活*OsKO2*表达, 诱导赤霉素(gibberellin, GA)的合成且激活淀粉酶表达, 从而促使种子萌发。此外, 微小RNA(microRNA)也在种子休眠与萌发过程中通过调控靶基因的表达, 参与细胞分裂和生长的调控^[12]。此外, *AP2/ERF*转录因子*OsRVA1*正向调控种子萌发, 该转录因子通过植物激素信号转导及苯丙烷类生物合成途径调节种子活力^[13]。*CYP51*^[14]亚家族是细胞色素P450超家族中较为保守的亚类, 主要通过油菜素甾醇(brassinosteroids, BRs)和油菜素内酯(brassinolide, BL)的生物合成和信号调控影响种子萌发。研究发现, *OsCYP51G1*编码一种用于生物合成的钝叶醇14 α -去甲基化酶, 并影响种子发育。研究人员对该家族*OsCYP51H7*和*OsCYP51H9*成员的表达模式进行分析, 结果表明, 这两个亚家族成员都参与了甾醇类物质、BRs和BL的合成。BRs这类甾醇类激素与其家族的核心成员BL在过氧化代谢和苯丙烷类生物合成等生物学过程中的作用, 为种子在低温环境下的萌发提供了必要的能量物质, 并通过基因表达分析和甾

醇类激素的应用等实验, 证实了在低温条件下, BRs能有效提高种子的发芽率^[15,16]; 后续研究发现, 抑制种子萌发过程中的BRs信号转导会延迟种子的萌发和抑制胚的生长^[17-19]。已报道中的研究均表明, BRs是调控水稻种子萌发的关键植物激素, 特别在低温条件下对早稻种子的萌发具有重要作用。

本研究以野香A和昌恢657两个不同籼稻品种为材料, 构建的F₂群体为研究对象, 进行发芽试验。利用混合分离分析测序(BSA-Seq)初步锁定目的区间, 并结合转录组测序(RNA-Seq)以及GO与KEGG通路富集分析挖掘调控种子萌发相关的基因, 对发现的种子萌发基因进行表达分析、基因家族分析, 以探究种子萌发相关基因的调控机制, 为改良水稻种子萌发特性和适应性提供理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

亲本实验材料的获取: 萌发性状呈显著差异的双亲材料野香A和昌恢657, 种植在江西农业大学农业高新科技园。

野香A/昌恢657 F₂群体的获取: 野香A/昌恢657 F₁代种子通过2022年5月中旬播种, 6月中旬移栽, 种植规格为19.0 cm×20.0 cm, 单本种植。待抽穗开花后进行人工杂交后获得F₁代种子。于2022年12月初在江西农业大学海南水稻南繁育种基地播种, 2023年1月中旬移栽, 4月底获得F₂代种子。

1.2 发芽试验与数据收集

从种子吸水24 h后开始收集发芽数据。分别取野香A、昌恢657及其杂交F₁和F₂群体种子各450粒, 每150粒为一组, 共设3组重复。挑选形状饱满, 无虫眼病斑的种子, 均匀分散在圆形玻璃器皿中, 且铺垫两层定性滤纸。根据实验要求放置于30℃培养箱中, 严格控制加水量, 使每盘种子保持一致的生长环境, 每12 h记录相关发芽数据。

1.3 DNA与RNA的提取以及转录组测序

以具有极端性状的F₂代分离群体为材料。选取F₂性状呈显著差异的30个单株, 构建极端差异池, 提取DNA并检测DNA样本是否合格, 再送至武汉华大基因

公司完成测序. 取120 h相同萌发环境下野香A和昌恢657幼苗的芽和根. 设3组生物学重复, 分别编号提取RNA, 检测其样本合格性后, 送至北京诺禾致源生物公司进行测序及分析. 所用试剂盒为TaKaRa公司(日本)的试剂盒.

1.4 基因表达水平和差异表达基因富集分析

通过对测序结果的分析, 筛选得到与萌发相关的差异表达基因(DEGs), 利用GO数据库和KEGG数据库进行GO与KEGG富集通路分析, 定位关键基因. 利用STRING数据库与已提出的目标基因进行比对构建网络, 进行转录因子差异分析. 小RNA可通过与mRNA结合来抑制其翻译或促进其降解, 从而在转录后水平上调节基因表达, 使用rMATS(4.1.0)^[20]软件分析AS事件. 同时利用TBtools^[21]软件的“Venn and Upset Plot”工具绘制DEGs的维恩图和DE-AS的GO比较分析图. 分别输入DEGs和DE-AS数据, 输出结果包括DEGs和DE-AS的维恩图.

1.5 qRT-PCR数据验证和分析

为了验证RNA-Seq数据的准确性, 本实验使用TaKaRa公司的试剂盒, 以*Ubiquitin5*作为内参基因, 使用实时荧光定量PCR仪(7500 Real-Time PCR, ABI, 美国)进行分析. 利用GraphPad Prism软件(Windows 10.6.1)绘制所选目的基因的qRT-PCR数据图, 并通过比较两者的表达趋势, 验证目的基因的表达水平与FPKM值变化水平是否一致.

2 研究结果

2.1 亲本及F₂群体的种子萌发差异分析

本研究在2022年10月至2024年10月期间, 分别收集了野香A/昌恢657 F₁, F₂及其亲本材料, 同时收集了荷丰B、万象B、泰丰B、长田B和野香B共5份优质保持系材料.

按照上述发芽试验要求, 每12 h进行一次观察记录, 可发现萌发48~96 h的F₂表型具有显著的表型差异(图1A). 随后选取野香A和昌恢657进行发芽试验, 实验方法与上文1.2节相同, 结果如图1B所示, 萌发48~96 h的各发芽统计数据中, 可发现两个水稻品种的露白率、发芽率及发芽指数均呈现显著差异(图

1C~E). 在亲本间的萌发表型同样存在显著差异. 这些萌发数据初步表明, 在野香A和昌恢657中可能存在调控水稻种子萌发的相关基因.

2.2 基于重测序的BSA-Seq筛选区间

本研究收集野香A/昌恢657的F₂代及其亲本种子萌发96 h时的芽长、根长进行关联分析, 同时收集96 h野香A、昌恢657的数据与F₂代在该时间段的表型差异进行分析. 采用CTAB法成功提取了30株萌发迅速和30株萌发迟缓的极端差异F₂单株的DNA样本, 并送往华大基因公司进行全基因组重测序. 基于BSA-Seq的clean reads数据筛选差异区间, 最终在5号和9号染色体上分别定位到了目的区间(图2). 该图基于BSA-Seq测序数据, 结合华大自主研发的过滤软件SOAP-nuke^[22]以及Samtools^[23,24]软件统计SNP和Indel相关信息并进行差异位点的标识, 该标识的具体意义是明确锁定差异区间在染色体上的位置.

2.3 转录组学的筛选与结果

2.3.1 表达基因数据统计

为了分析野香A和昌恢657在生长发育过程中共表达的基因, 本研究统计了野香A和昌恢657芽和根的基因数目, 共鉴定出30137个基因存在表达(图3). 野香A和昌恢657在根部分别有27241个和27091个基因表达, 在芽部分别有27180个和26434个基因表达. 在这些共表达的基因中, 有23824个基因在两个水稻品种的芽和根部均有富集. 这些在两个亲本的芽和根部富集的基因, 为筛选DEGs提供了关键的数据支持.

2.3.2 聚类分析和PCA分析结果

通过基因表达聚类分析可发现, 在相同样本的不同重复组之间展现出良好的重复性(图4A). 通过进一步PCA分析可发现, 发芽120 h的野香A和昌恢657样本在芽和根之间存在显著差异(图4B). 这表明野香A和昌恢657的样本间存在明显差异性, 且有助于我们能更好地理解基因表达数据结构及变异来源, 从而能快速准确地指导后续分析.

2.3.3 GO和KEGG富集分析

对野香A和昌恢657芽部的基因进行GO富集分析(图5A和B), 结果表明, 野香A芽部富集的基因大多具

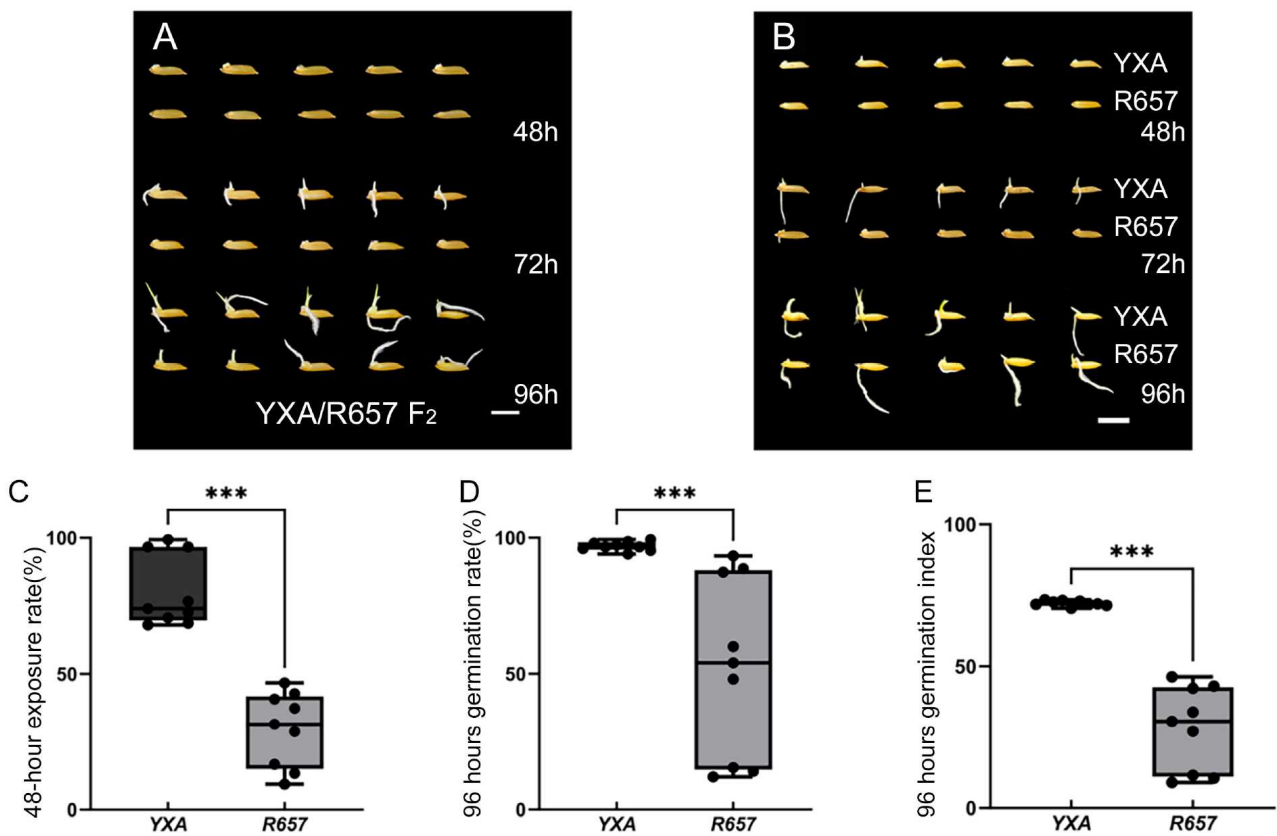


图 1 F₂及亲本发芽试验的表型差异. 野香A/昌恢657 F₂和亲本野香A、昌恢657的发芽试验. A: F₂发芽表现; B: 亲本发芽表现; C~E分别为露白率、发芽率及发芽指数. YXA为野香A, R657为昌恢657. 注: 图A和B, 比例尺=1 cm; 图C和D, *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$

Figure 1 Phenotypic differences in F₂ and progenitor germination experiments. Germination experiments of Yexiang A/Changhui 657 F₂ and its parents Yexiang A and Changhui 657. A: The germination performance of F₂; B: parent germination performance; C~E: the percentage of exposure, the percentage of germination and the germination index, respectively. YXA is Yexiang A, and R657 is Changhui 657. Note: for A and B, bar=1 cm; for C and D, *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$

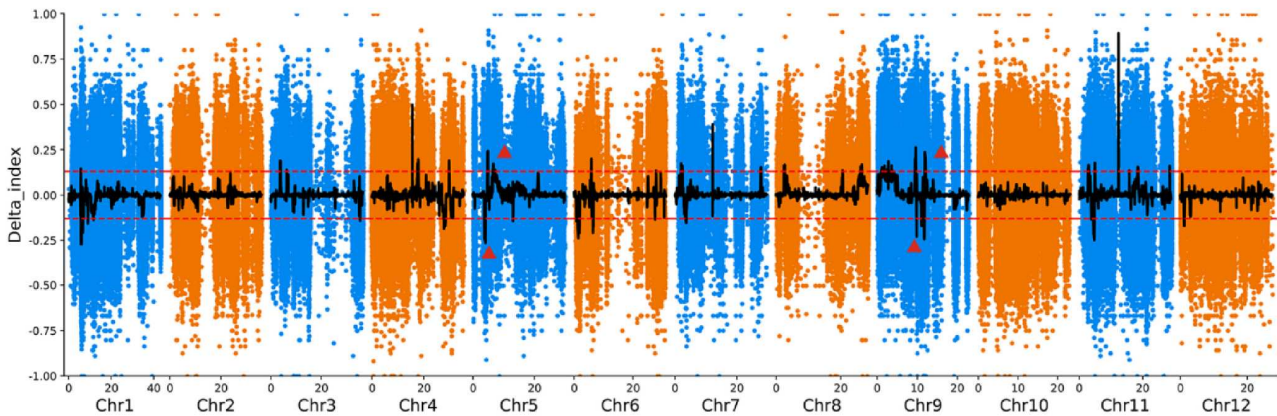


图 2 基于重测序的BSA差异分析Delta index图. x轴为区间位置; y轴为表达差异值. 注: 图中红色三角形表示通过BSA-Seq数据分析, 差异位点在染色体上的位置

Figure 2 Delta index of BSA difference analysis based on resequencing. x-axis shows the interval position; y-axis represents the difference values. Note: red triangles indicate the chromosomal location of differentially regulated sites as determined by BSA-Seq data analysis

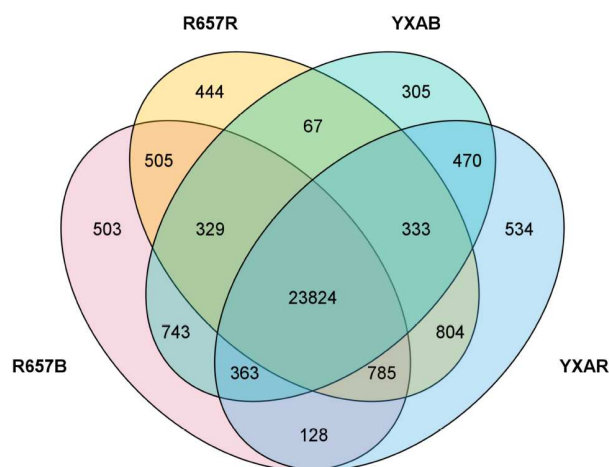


图 3 基因富集维恩图. YXAB为野香A芽部基因, YXAR为野香A根部基因; R657B为昌恢657芽部基因, R657R为昌恢657根部基因. 下列图中表述均与此一致
Figure 3 Venn diagram of gene enrichment. YXAB was the bud part gene and YXAR was the root gene. R657B is the bud gene of Changhui 657, and R657R is the root gene of Changhui 657. The following diagram is consistent with this

有半胱氨酸型去泛素酶活性、半胱氨酸型肽酶活性、多糖结合等生物学过程; 而昌恢657芽中基因多富集于多糖结合、半乳糖转移酶活性、氧化还原酶活性用作

配对供体(涉及分子氧的掺入与还原)等生物学过程. 从GO富集分析中可发现, 野香A芽中基因显著富集于泛素化酶活性和蛋白酶活性生物学过程, 而昌恢657芽中基因主要富集于多糖结合和氧化还原酶活性等生物学过程. 结果表明, 在不同品种的相同部位存在着富集不同生物学过程的基因, 这些基因的生物学功能差异, 可能是造成芽部表型差异的根本原因.

为了更好地理解在两个品种中芽部基因的生物学通路差异, 本研究对芽部基因进行了KEGG通路富集分析(图5C和D), 结果发现, 野香A芽中基因在KEGG通路中主要富集在生物合成通路中, 该生物合成通路中包括色氨酸生物合成、多类的糖核苷酸合成和GDP-L-聚焦生物合成等. 此外, 还富集在茉莉酸信号、次生代谢、碳水化合物代谢、氨基酸生物合成代谢、激素信号通路中. 而昌恢657芽中基因的KEGG分析主要富集的生物学通路包括甾醇生物合成、苯丙氨酸生物合成、赖氨酸生物合成等. 此外, 在该品种芽部基因富集的通路中出现了重金属的反应和砷的吸收及解毒的生物学通路.

进一步对野香A和昌恢657的根部基因进行GO富集分析(图6A和B), 结果表明, 野香A根部基因主要富

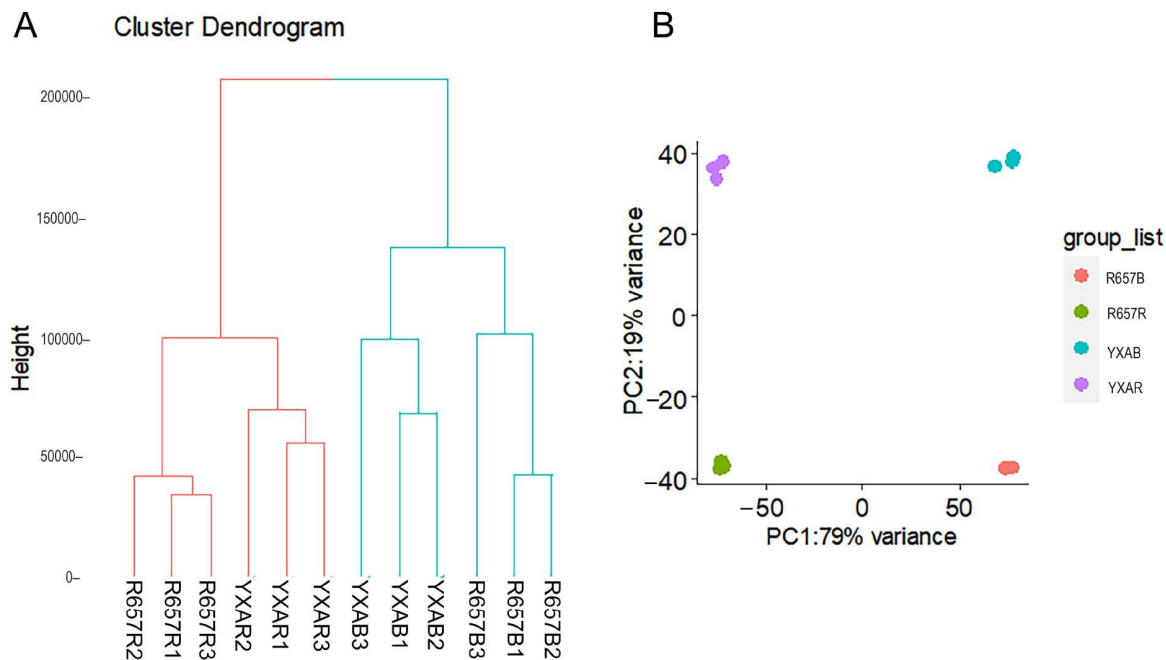


图 4 聚类分析(A)和PCA结果(B)
Figure 4 Cluster analysis (A) and PCA results (B)

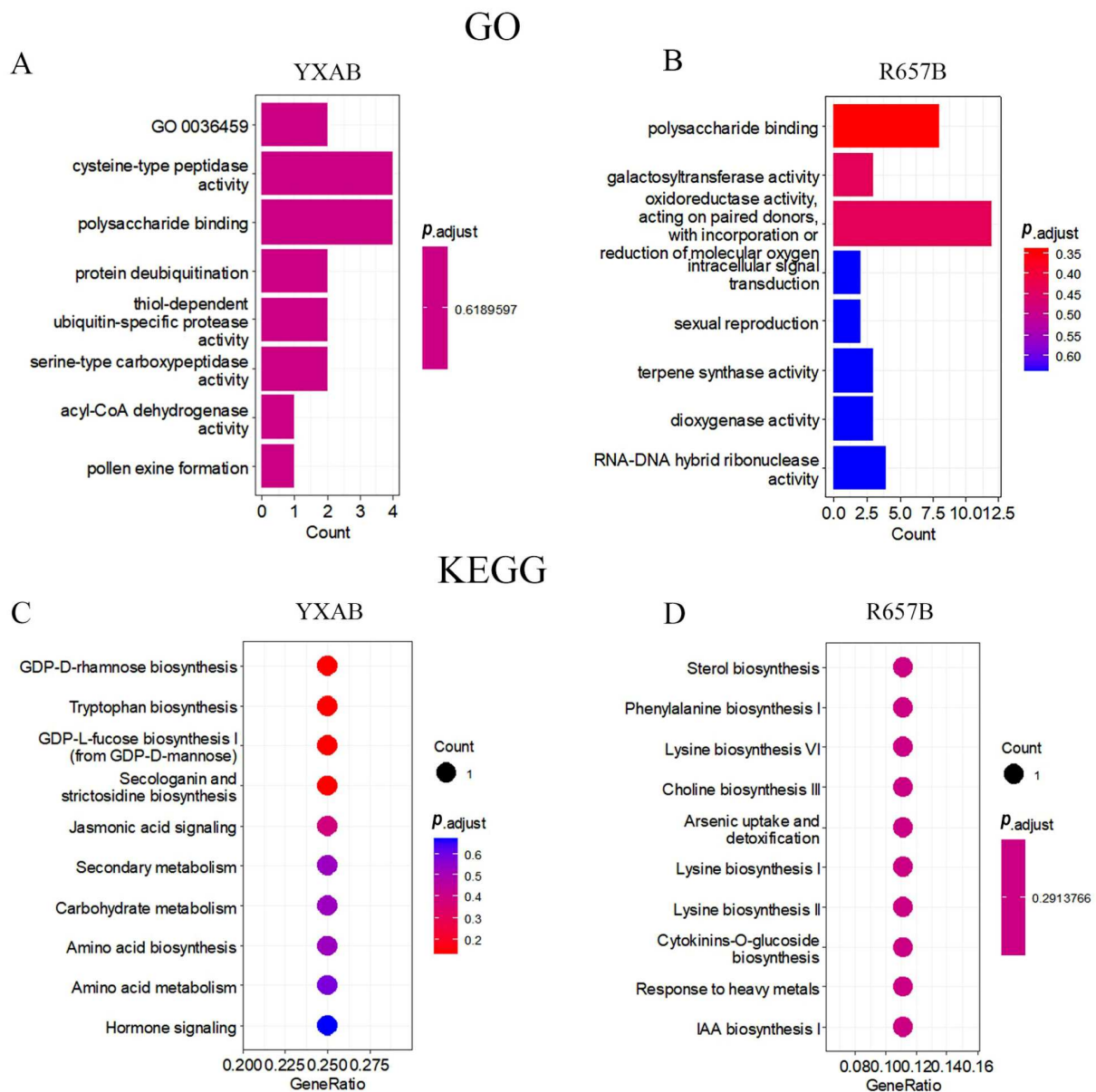


图 5 芽部基因的GO(A和B)和KEGG(C和D)富集通路分析
Figure 5 GO (A and B) and KEGG (C and D) enrichment pathway analysis of shoot part genes

集在内肽酶活性的负调控、半胱氨酸型内多肽酶抑制剂活性、营养储备活性等生物合成过程。相比之下, 昌恢657根部基因则主要富集在核糖核酸N-糖基化酶活性、翻译的负调控、蛋白质二聚化活性等生物学过程。基于这些根部基因的GO富集结果, 随后进行了KEGG通路富集分析, 结果表明, 野香A根中基因主要富集于植物TCA循环、前体代谢物的生成和能量代谢通路; 而昌恢657根中基因则主要富集于胺和多胺生物

合成、辅因子生物合成、次生代谢等生物学通路。

上述分析结果可发现, 野香A根中基因富集于半胱氨酸型内多肽酶抑制剂活性和内肽酶活性的负调控通路。肽酶活性的负调控通常涉及种子萌发过程中蛋白质的降解或加工, 其肽酶的抑制作用同样影响着细胞生长发育等多种生物调控过程; 内肽酶的多样性与多功能性也使其在生物胁迫响应中影响着种子萌发^[25,26]。这可能对野香A根的生长发育产生一定影响。

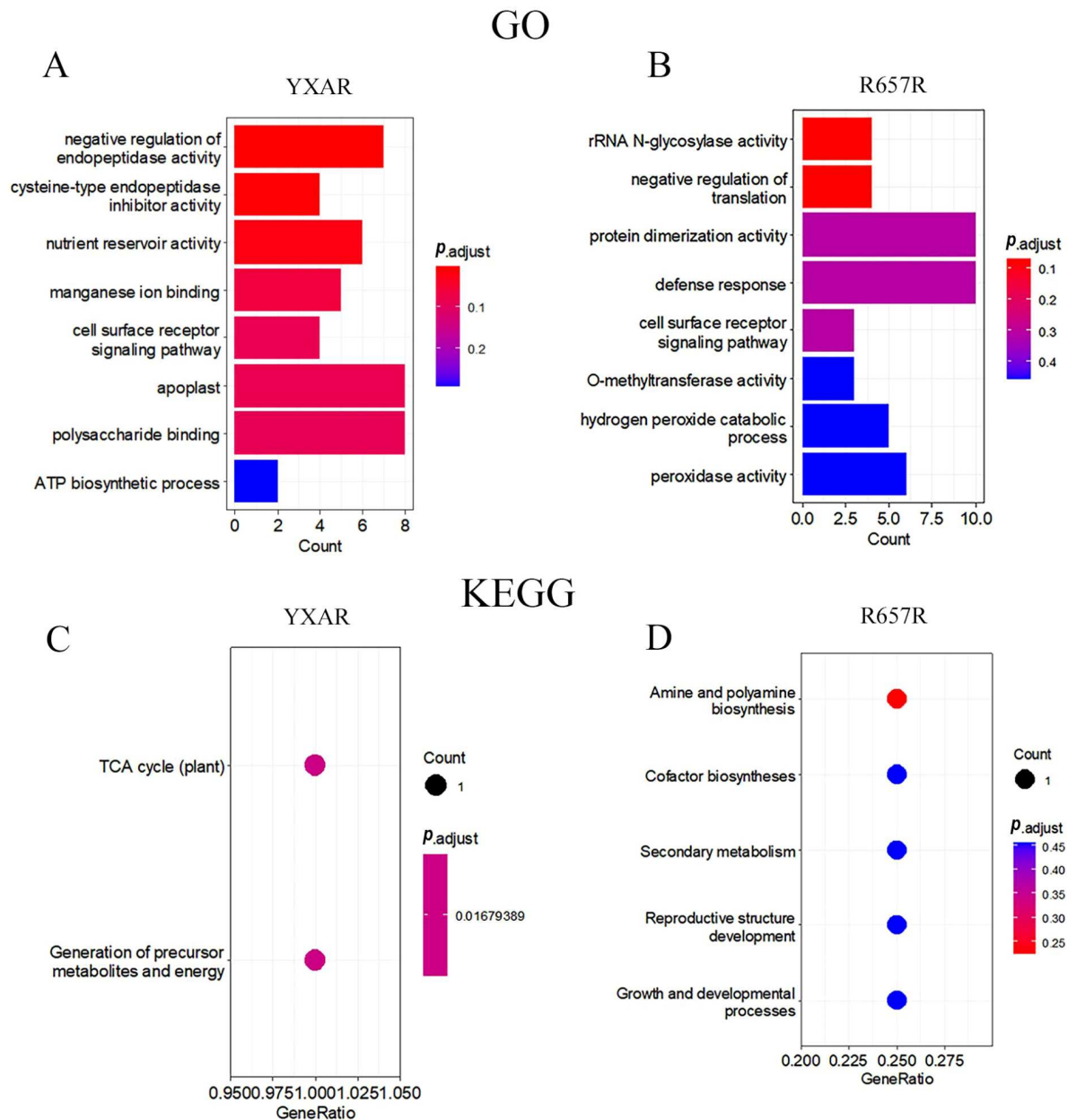


图 6 根部基因的GO(A和B)和KEGG(C和D)富集通路分析
Figure 6 GO (A and B) and KEGG (C and D) enrichment pathway analysis of root genes

而昌恢657根中基因在核糖核酸N-糖基化酶活性、翻译的负调控以及蛋白质二聚化活性生物学过程中表现出高度富集, 与野香A根中基因富集的差异可能是导致其表型差异的原因。其中, N-糖基化酶在蛋白质翻译后修饰过程中发挥关键作用, 其活性的高低或状态直接调控蛋白质功能的正常表达^[27], 而蛋白质二聚化活性则在调节细胞内部信号转导、基因转录和细胞周

期方面发挥作用。此外, 昌恢657根中基因也在过氧化氢的分解代谢和过氧化物酶活性的生物过程中显示出富集。

TCA循环与植物的光合作用有着密切的关联, 并且植物体可通过外界环境条件的变化调节循环中的酶和代谢产物水平^[28]。根部基因的KEGG通路富集分析表明(图6C和D), 野香A根的生长发育更多是通过富集

在TCA循环通路上的基因表达的变化,从而直接或间接影响表型;而昌恢657根中基因则是通过多通路的富集和复杂的基因表达模式共同影响其根部的生长发育。

综上,在不同品种的相同组织部位所表现的基因组差异,可能是导致两个水稻品种在信号转导、生物合成和代谢、酶活性变化等生物学过程中存在差异的原因,进而影响了不同品种间的根部生长发育。

2.3.4 DEGs的GO和KEGG分析

为了探究调控水稻种子萌发的相关基因,将获得的野香A和昌恢657的芽、根部DEGs数量进行统计分析。发现在芽部共有1362个DEGs,包括525个上调表达和837个下调表达的DEGs。在根部发现共有1225个DEGs,包括700个上调表达和525个下调表达的DEGs。此外,利用1362个和1225个DEGs数据构建维恩图,发现在不同组织部位中共存在781个的DEGs(图7C),随后进一步对DEGs进行GO和KEGG通路富集分析。

DEGs的GO富集结果表明(图7A),在芽部与防御反应相关的生物过程中,有8个上调的DEGs和23个下调的DEGs。在氧化还原酶活性途径中,富集了6个上调的DEGs和25个下调的DEGs。而在单氧酶活动途径中,观察到3个上调的DEGs和19个下调的DEGs。至于根部基因,防御反应途径中上调的DEGs有14个,下调的有13个。在氧化还原酶活性途径中,上调的DEGs有18个,而下调的则有9个。单氧酶活动途径中,上调的DEGs有15个,下调的DEGs则有7个。结果发现,两个品种芽和根部的DEGs主要富集于防御反应、单氧酶活动等其他生物学过程中。两个品种相同通路的DEGs数量上存在差异,可能是导致萌发表型差异的主要原因之一。此外,在芽和根部的DEGs中,富集了与过氧化氢分解代谢过程、过氧化物酶活性以及氧化应激等相关的多种ROS生物学过程,这表明ROS可能在种子萌发过程中发挥了一定的作用。

DEGs的KEGG通路富集分析揭示了芽和根部DEGs主要集中在激素信号通路上。现已有大量研究证实,植物激素对种子萌发的影响尤为关键^[29-31]。进一步观察(图7B)显示,芽部基因显著富集于JA, ABA和IAA等植物激素信号通路,同时还涉及细胞分裂素生物合成和生长素运输信号通路。相比之下,根部DEGs在这些通路中的富集程度显著降低。这表明两个品种

在芽的生长发育过程中可能与这些植物激素相关,相关基因的表达量差异可能是导致表型产生显著差异的主要原因。将DEGs数据可视化(图7C)可发现,芽和根部存在2587个DEGs。在热力图中分析了这些DEGs的表达模式,了解到它们在不同品种相同组织部位样本的表达趋势变化。此外,本研究还统计了一些与种子休眠与萌发相关的DEGs,发现了*OsIAA20*^[32], *OsTPP7*^[33]和*OsGA2ox*^[34]等基因可能影响水稻萌发,为后续验证基因功能和实验设计提供了数据支持。

2.3.5 TF差异分析

转录因子能通过结合DNA特定序列,从而调控基因的转录过程,在调控水稻种子萌发方面具有重要意义。TF差异分析结果(图8)显示,从两个亲本的芽和根中共鉴定出79个TFs,包括20类转录因子家族。DEGs数量最多的转录因子家族是MYB,有17个,其中存在NAC(8个),bHLH(7个)和ERF(6个)。

通过分析比较不同品种中的芽和根部之间的TF差异,发现在芽中TF的数量比根中富集数量多出9个。AP2, C2H2, EIL和TCP这些家族仅在芽部表达。数据分析显示,AP2家族基因在芽部表现为上调,而C2H2, EIL和TCP家族的基因表达均呈现下调趋势。B3家族的基因表达仅在根部呈现出上调的特异性;另外,TFs的调节趋势在芽和根部表现也存在显著差异,芽部TFs多数表现下调,而根部则多数表现为上调。MYB, NAC和bHLH家族基因的高富集表达,表明了它们可能在调控水稻种子萌发方面具有重要作用。

2.3.6 可变剪切分析

可变剪切分析是理解基因多样性的关键分析步骤。AS分析结果(图9A)显示,两个亲本的芽和根在Cassette和A5SS, A3SS类型中都表现出显著差异,表明了这些剪切类型可能是调控两个品种芽和根部生长发育的重要剪切类型,但在AltEnd, AltStart, MXE和IR这些类别中,它们之间的差异并不显著。在芽部的显著性事件数量比较中,AltEnd和AltStart略多于根部,但在IR类别中却少于根部。

随后我们进一步对AS事件进行了GO和KEGG通路富集分析,以便更全面地理解AS事件在不同生物学过程和信号通路中的作用。分析AS事件的富集(图9B和C),能了解到某些特定的可变剪切事件与生物学过

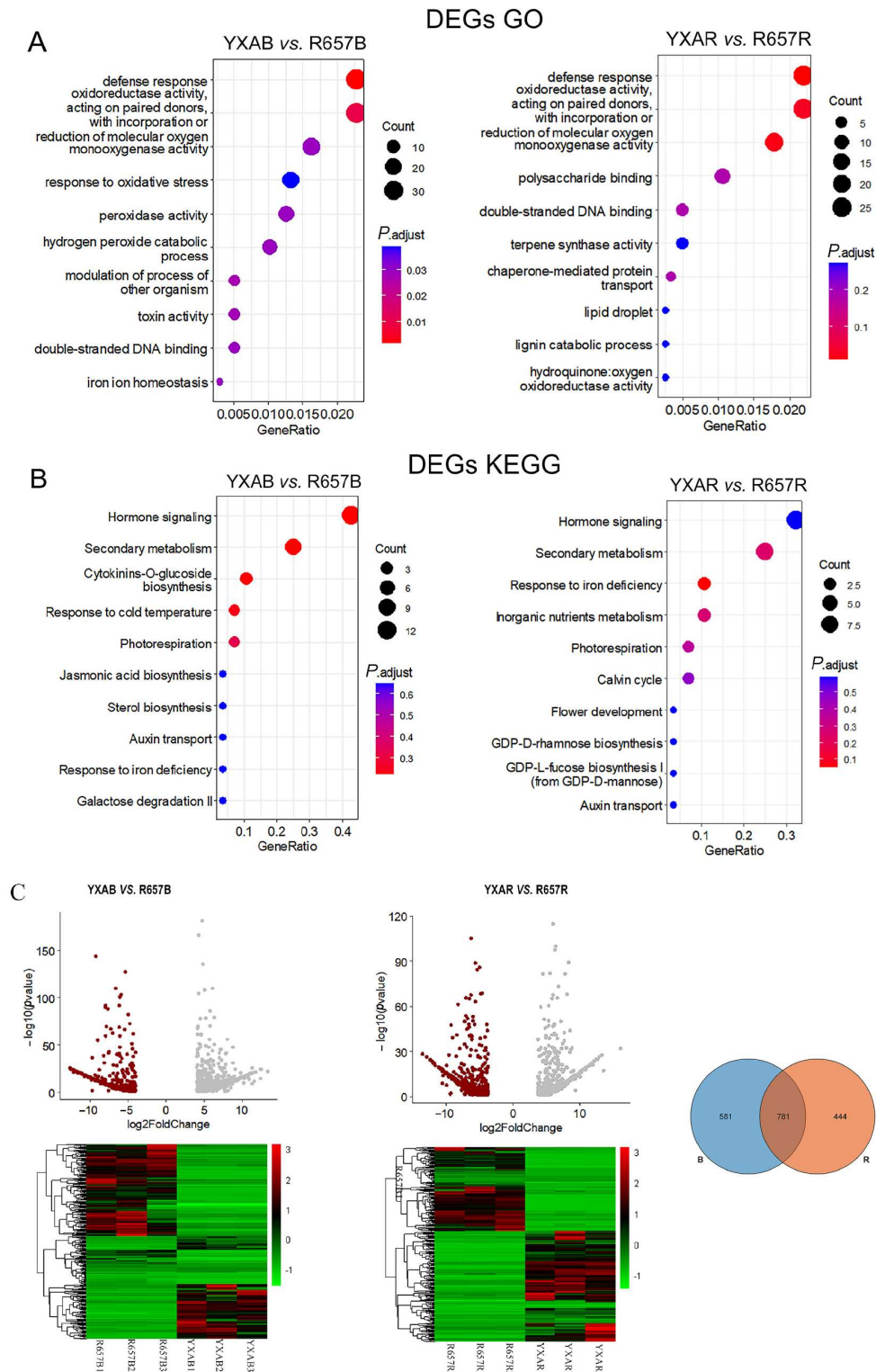


图 7 差异基因数据的GO和KEGG分析. A和B: 芽、根部DEGs的GO和KEGG通路富集分析; C: 芽、根部DEGs可视化火山图、热力图以及维恩图

Figure 7 GO and KEGG analysis of differentially expressed genes. A and B: GO and KEGG pathway enrichment analysis of DEGs in shoots and roots; C: visualization of DEGs in shoots and roots using volcano plots, heatmaps, and venn diagrams

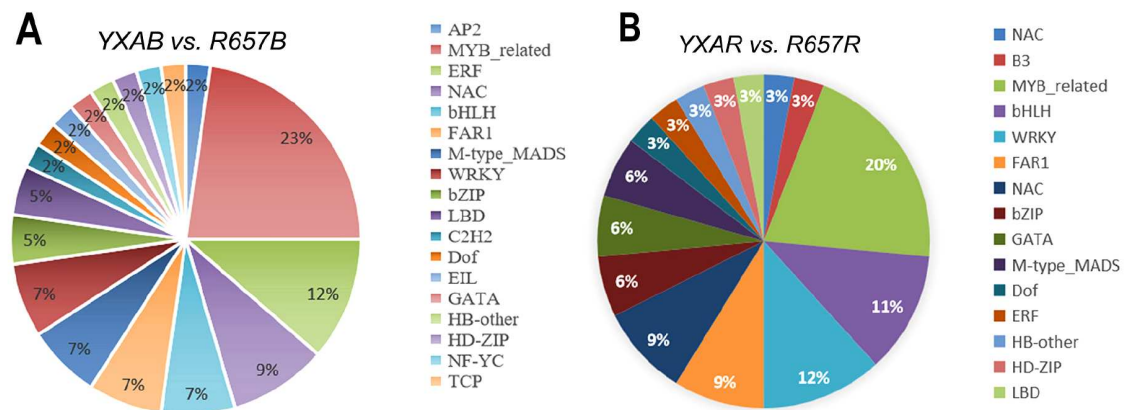


图 8 不同品种相同部位的转录因子差异. A: 野香A与昌恢657的芽部转录因子差异; B: 野香A与昌恢657的芽部转录因子差异

Figure 8 Differential expression of transcription factors at the same site in different varieties. A: Differential expression of transcription factors in shoots between YXA and R657; B: differential expression of transcription factors in roots between YXA and R657

程及信号通路的复杂性, 由此可以推测在野香A和昌恢657表型上的差异, 可能是由基因的多种可变剪切方式所导致的.

2.3.7 结合BSA-Seq和RNA-Seq分析及筛选

本研究依据BSA-Seq候选目的区间, 并结合RNA-Seq数据中DEGs的GO和KEGG分析结果筛选与水稻萌发相关的候选基因. 因本实验材料为籼稻, 需要先利用水稻基因数据库或Ensemble Plant网站将BGI籼稻号转化为同源粳稻LOC号. 具体筛选结果如表1所示.

2.4 RT-qPCR与转录组表达量的验证

通过对上述与萌发相关的基因进行筛选, 挑选出4个相关基因进行RT-qPCR实验, 以验证转录组数据的可靠性. 结果表明, 这些基因的表达量水平与FPKM值趋势保持一致(图10).

2.5 基因家族成员的鉴定及基础理化性质分析

我们通过Pfam ID: PF00067.26的预测筛选, 成功鉴定出11个CYP51亚家族基因, 家族成员如表2所示. 基于已筛选并匹配籼稻数据库的分析候选基因和富集通路结果, 对CYP51亚家族成员和相关基因进行基础理化性质分析, 结果如表3所示. 结果表明, CYP51亚家族的氨基酸数量普遍较多, 介于432~514之间; 比较OsCYP51G3和OsCYP51H3的理化性质, 可以发现这两个基因的等电点分别为8.79和8.82, 与家族中的其他基

表 1 基因筛选表

Table 1 Target gene screening table

籼稻基因组ID	粳稻基因组ID	被注释的基因名称
BGIOSGA018697	Os05g0179950	
BGIOSGA018683	Os05g0182000	
BGIOSGA018604	Os05g0208550	OsGA2ox
BGIOSGA019289	Os05g0181300	
BGIOSGA018595	Os05g0211100	OsCYP51G3
BGIOSGA017689	Os05g0258600	YUCCA2
BGIOSGA030524	Os09g0328066	
BGIOSGA029973	Os09g0328900	
BGIOSGA030525	Os09g0328951	
BGIOSGA030533	Os09g0332100	
BGIOSGA029934	Os09g0347900	
BGIOSGA030577	Os09g0353400	
BGIOSGA028427	Os09g0248900	
BGIOSGA029757	Os09g0417800	WRKY62
BGIOSGA030513	Os09g0324000	OsOLE4
BGIOSGA030126	Os09g0264400	

因相比, 处于中等水平. 然而, OsCYP51G3和OsCYP51H3在不稳定系数上均高于其他基因, 表明它们都属于不稳定蛋白, 特别是OsCYP51G3基因的基础理化性质指标的差异对基因的结构和功能表达均存在一定影响, 具有高碱性指数基因编码的蛋白质通常参与信号转导过程; 而那些具有高不稳定性指数基因编码的蛋白质可能是调节蛋白质, 调节蛋白质的多样性在调控种子萌发的各个因素方面有着重要影响.

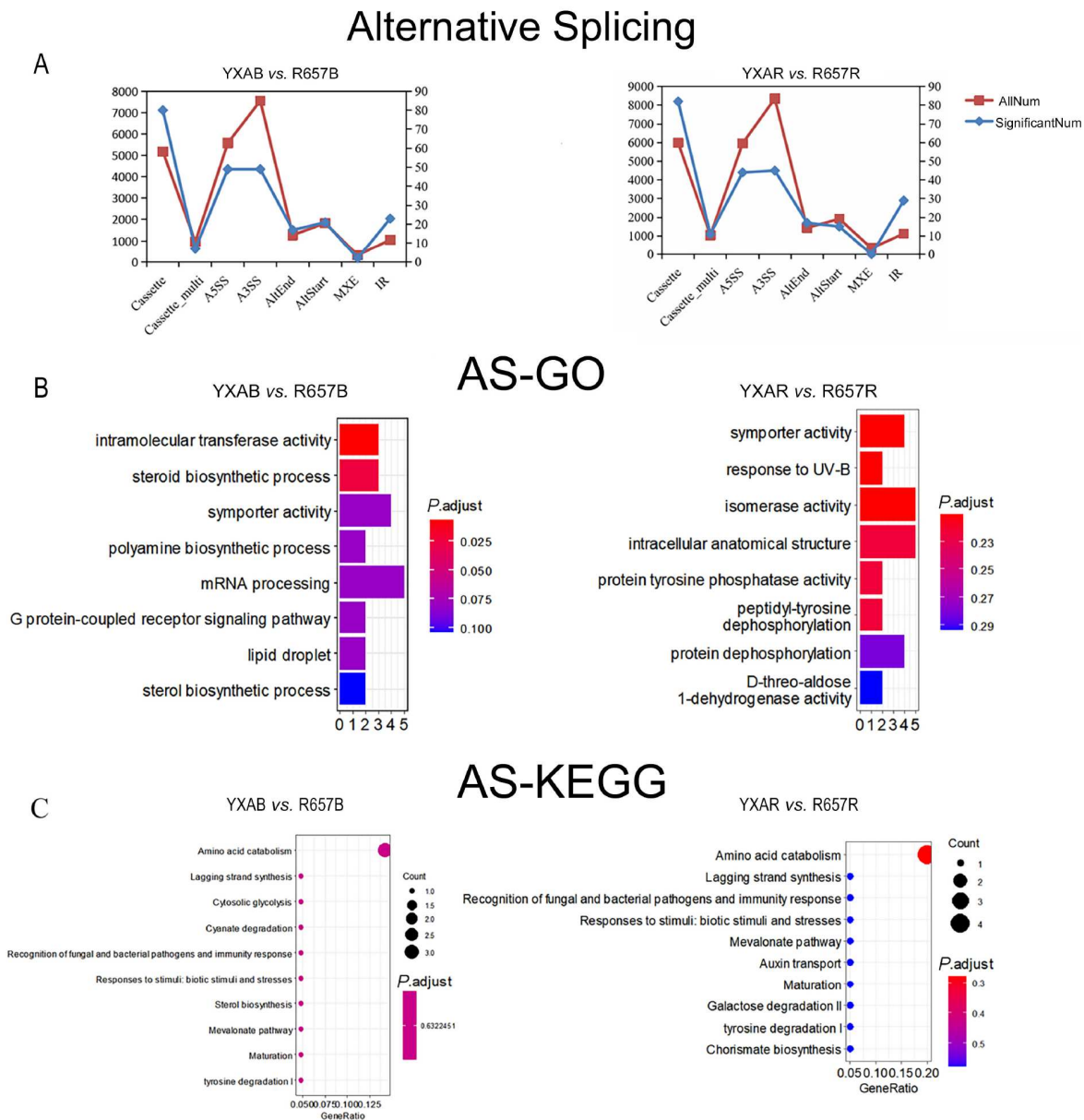


图 9 不同品种相同部位的可变剪切分析. Cassette为外显子跳跃; Cassette multi为多外显子跳跃; A5SS和A3SS分别为可变5'和3'位点; AltEnd和AltStart分别为可变外显子结束与开始; MXE为多个外显子在同一成熟mRNA中不能同时出现; IR为内含子保留 A: 野香A和昌恢657芽和根部的可变剪切分析; B: 可变剪切的GO分析; C: 可变剪切的KEGG分析

Figure 9 Alternative splicing (AS) analysis of the same parts in different varieties. Cassette represents exon hopping; Cassette multi jumps for multiple exons; A5SS and A3SS are variable 5' and 3' sites, respectively. AltEnd and AltStart are the end and start sites of transcripts, respectively. MXE refers to a phenomenon where multiple exons cannot coexist in the same mature mRNA. IR is reserved for introns. A: Alternative splicing analysis of shoots and roots in YXA and R657; B: GO analysis of alternative splicing; C: KEGG analysis of alternative splicing

2.6 基因结构图

为了探究CYP51亚家族的基因结构, 对其中8个基因进行了保守结构域分析(图11A), 结果表明, 亚家族成员基因在进化过程中未表现出显著差异, 但可发现

*OsCYP51G3*和*OsCYP51H3*的结构域具有一定相似性. 随后进一步利用水稻参考基因组的注释信息对CYP51亚家族和其他4个相关基因进行了保守基序分析(图11B), 结果表明, CYP51亚家族基因在保守基序的数

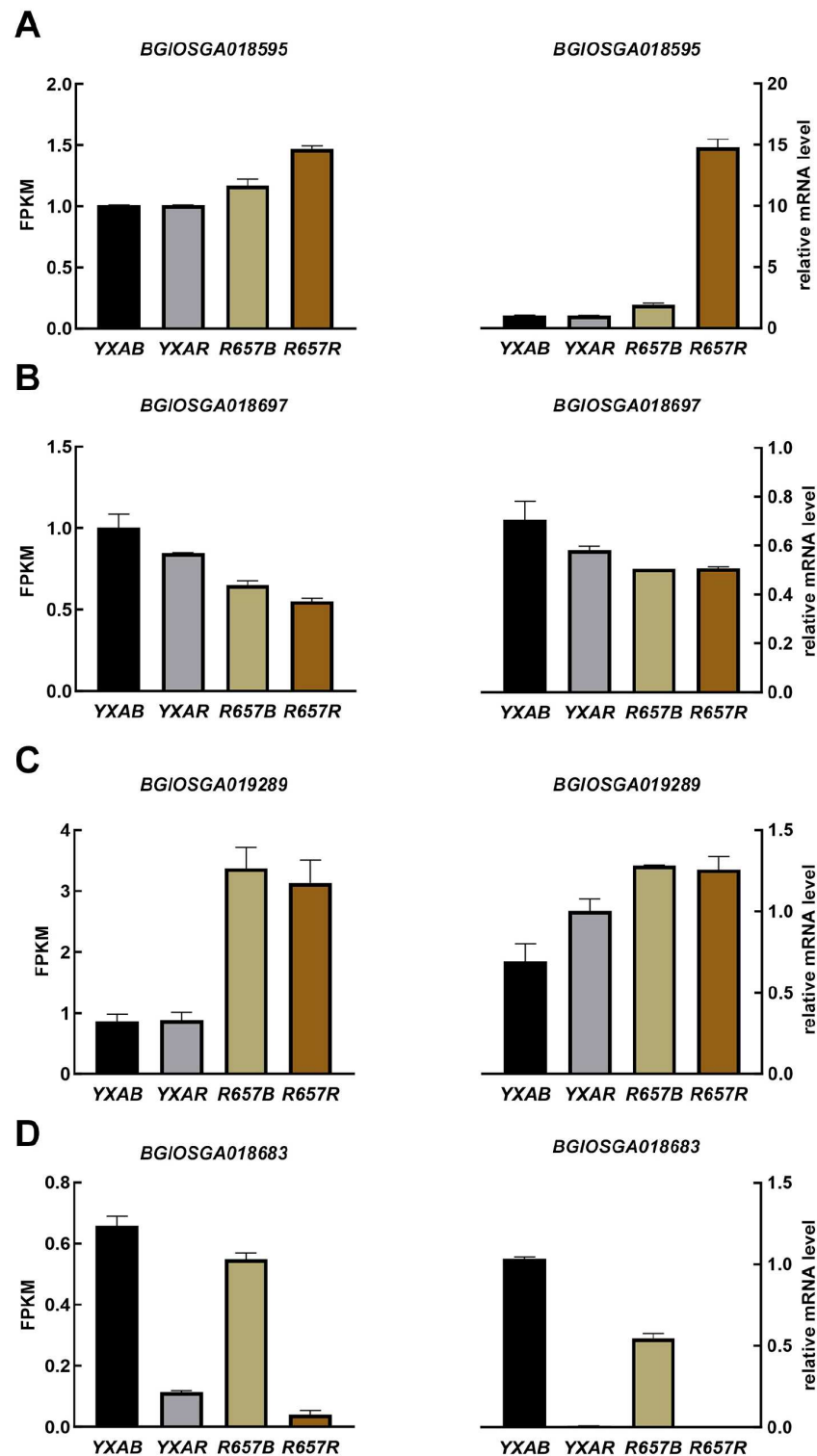


图 10 萌发相关基因的差异表达RT-qPCR验证。左边为FPKM相对表达水平，右边为荧光定量相对表达水平。A: *BGIOGA018595*; B: *BGIOGA018697*; C: *BGIOGA019289*; D: *BGIOGA018683*

Figure 10 RT-qPCR validation of differential expression of germination-related genes. relative expression levels of FPKM on the left and relative expression levels of fluorescence quantification on the right. A: *BGIOGA018595*; B: *BGIOGA018697*; C: *BGIOGA019289*; D: *BGIOGA018683*

表 2 CPY5I亚家族基因成员鉴定

Table 2 Identification of CPY5I subfamily gene members

CYP家族基因名称	RAPDB数据库内的基因ID号	MSU/TIGR数据库基因ID号	基因在染色体上对应物理位置	BGI编号
<i>OsCYP51G1</i>	<i>Os11G0525200</i>	<i>LOC_Os11g32240</i>	19048313~19052882	<i>BGIOSGA035360</i>
<i>OsCYP51G3</i>	<i>Os05G0211100</i>	<i>LOC_Os05g12040</i>	6882663~68848762	<i>BGIOSGA018595</i>
<i>OsCYP51G4P</i>	<i>Os07G0567200</i>	<i>LOC_Os07g37980</i>	22788931~22791186	—
<i>OsCYP51H1</i>	<i>Os07G0465400</i>	<i>LOC_Os07g28160</i>	16438501~16442141	—
<i>OsCYP51H3</i>	<i>Os07G0464700</i>	<i>LOC_Os07g28110</i>	16396185~16397699	<i>BGIOSGA025656</i>
<i>OsCYP51H4</i>	<i>Os02G0323600</i>	<i>LOC_Os02g21810</i>	12970222~12972230	<i>BGIOSGA008086</i>
<i>OsCYP51H5</i>	<i>Os02G0113200</i>	<i>LOC_Os02g02230</i>	712586~715746	—
<i>OsCYP51H6</i>	<i>Os05G0415800</i>	<i>LOC_Os05g34325</i>	20325336~20328408	<i>BGIOSGA019874</i>
<i>OsCYP51H7P</i>	<i>Os05G0415900</i>	<i>LOC_Os05g34330</i>	20335505~20351280	<i>BGIOSGA019875</i>
<i>OsCYP51H8</i>	<i>Os05G0416400</i>	<i>LOC_Os05g34380</i>	20379467~20381121	<i>BGIOSGA019876</i>
<i>OsCYP51H9</i>	<i>Os07G0567100</i>	<i>LOC_Os07g37970</i>	22785167~22787365	—

表 3 差异基因的基础理化性质

Table 3 Basic physicochemical properties of differential genes

基因名称	MSU/TIGR数据库 基因ID号	粳稻基因组 ID号	氨基酸数量	分子量(D)	理论等电点	不稳定性指数	脂肪指数	平均亲水值
<i>BGIOSGA008086</i>	<i>LOC_Os02g21810</i>	<i>OsCYP51H4</i>	432	48030.78	9.46	50.83	96.57	−0.096
<i>BGIOSGA019874</i>	<i>LOC_Os05g34325</i>	<i>OsCYP51H6</i>	514	57605.56	8.76	42.92	87.63	−0.131
<i>BGIOSGA019875</i>	<i>LOC_Os05g34330</i>	<i>OsCYP51H7</i>	463	52184.041	9.09	49.94	90.13	−0.199
<i>BGIOSGA019876</i>	<i>LOC_Os05g34380</i>	<i>OsCYP51H8</i>	475	54468.01	8.88	42.78	89.03	−0.238
<i>BGIOSGA018595</i>	<i>LOC_Os05g12040</i>	<i>OsCYP51G3</i>	456	50633.99	8.79	50.62	82.35	−0.224
<i>BGIOSGA025656</i>	<i>LOC_Os07g28110</i>	<i>OsCYP51H3</i>	500	55064.03	8.82	45.08	83.88	−0.188
<i>BGIOSGA025962</i>	<i>LOC_Os07g37970</i>	<i>OsCYP51H9</i>	501	55623.25	9.28	45.21	88.78	−0.06
<i>BGIOSGA035360</i>	<i>LOC_Os11g32240</i>	<i>OsCYP51G1</i>	490	55490.03	8.44	41.86	87.41	−0.193
<i>BGIOSGA017689</i>	<i>LOC_Os05g45240</i>	<i>YUCCA2</i>	305	34257.8	7.04	37.34	95.21	0.051
<i>BGIOSGA029757</i>	<i>LOC_Os09g25070</i>	<i>WRKY62</i>	318	33515.43	6.00	55.36	74.72	−0.325
<i>BGIOSGA030126</i>	<i>LOC_Os09g08990</i>	—	392	43873.97	8.37	48.40	100.74	−0.034
<i>BGIOSGA030513</i>	<i>LOC_Os09g15520</i>	<i>OsOLE4</i>	158	15562.71	6.27	26.92	97.28	0.358

量、类型以及位置顺序上具有较高的相似性，可观察到*OsCYP51H4*基因结构保守位点缺失Motif 10，而*OsCYP51H3*则缺失Motif 3。对CYP5I亚家族基因的编码序列(CDS)结构进行了预测性分析(图11C)，结果表明：*OsCYP51H4*、*OsCYP51H3*和*OsCYP51G3*在CDS结构上具有相似性，但它们之间仍存在着区域位点的微小差异。这些差异可能会影响*OsCYP51H3*和*OsCYP51G3*的表达调控以及蛋白质的功能。

2.7 OsCYP51G3 CDS序列差异分析

结合以上CYP5I亚家族基因成员的结构域分析，进一步验证*OsCYP51G3*基因在野香A和昌恢657两个

亲本中的CDS结构差异。对该基因CDS序列进行扩增测序(图12A)，3次测序结果(图12B)表明：在1286~1294 bp区间野香A均存在片段插入现象。CDS区域的片段插入现象，可能是导致*OsCYP51G3*在野香A和昌恢657中基因表达功能出现差异的主要原因。

3 讨论与分析

水稻种子萌发是一个多因素调控的复杂过程，这些因素包含种子内部的基因表达调控、各植物激素的平衡与酶活性的调节以及外界环境因素。种子的快速萌发能够帮助其更好地适应环境变化，当其作为早稻

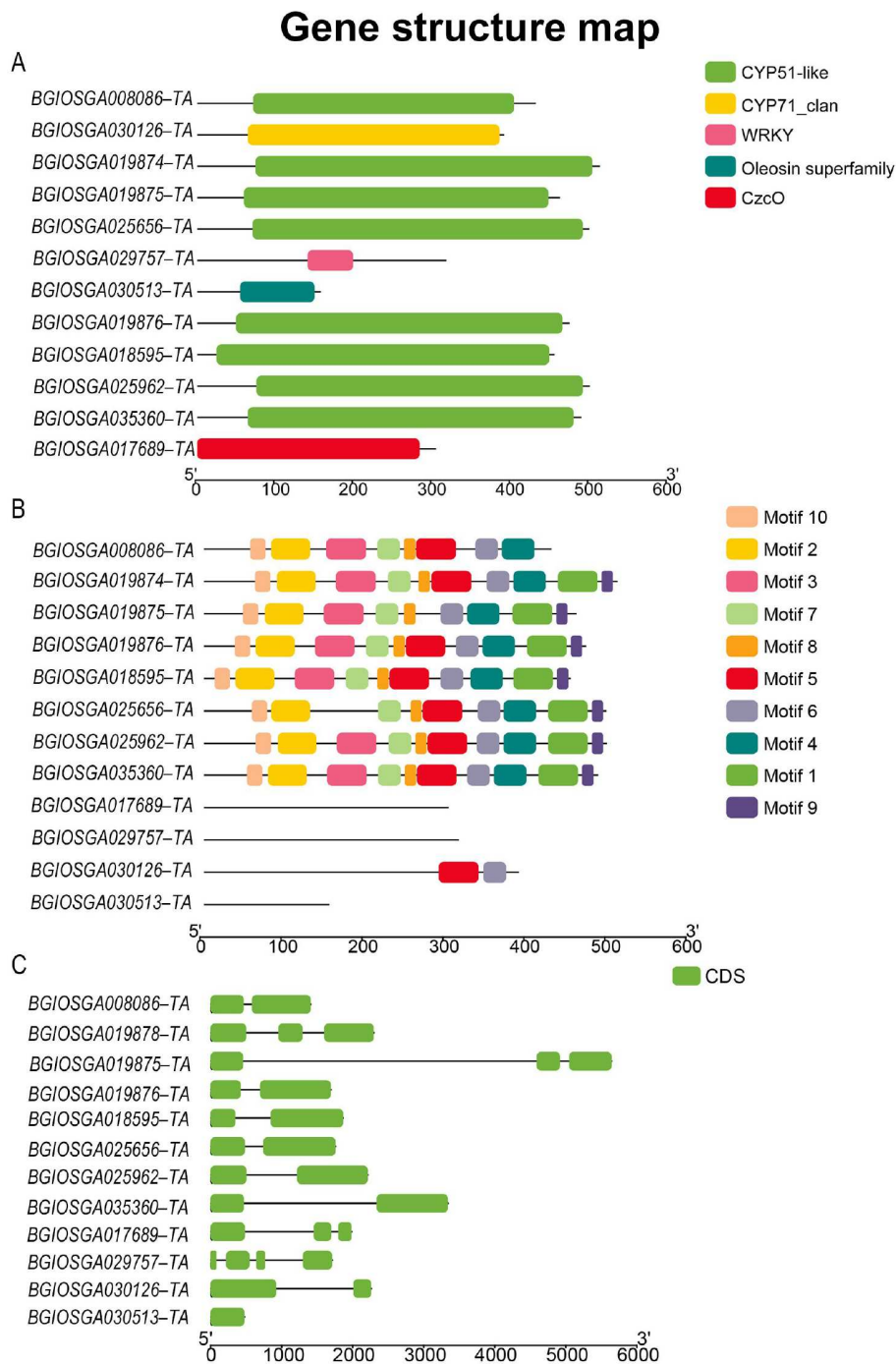


图 11 基因结构图. A: 保守结构域; B: 基因家族的motif信息图; C: 基因CDS结构
Figure 11 Gene structure. A: Conserved domain; B: motif information map of gene families; C: gene CDS structure

品种播种时还能配合农业机械化, 进而提高农业生产效率. 尽管先前对于水稻早生快发基因已有一定的研究积累, 但影响水稻种子萌发的内部多因素调控机制仍需进一步深入探索.

魏婷^[35]对水稻种子吸水萌发0, 12和48 h的胚分别进行RNA-Seq, 初步表明, 种子萌发0~12 h是转录活动显著增加的阶段, 这一时期发生显著变化的基因是12~48 h的1.24倍. 另一研究利用0~48 h的种子进行动

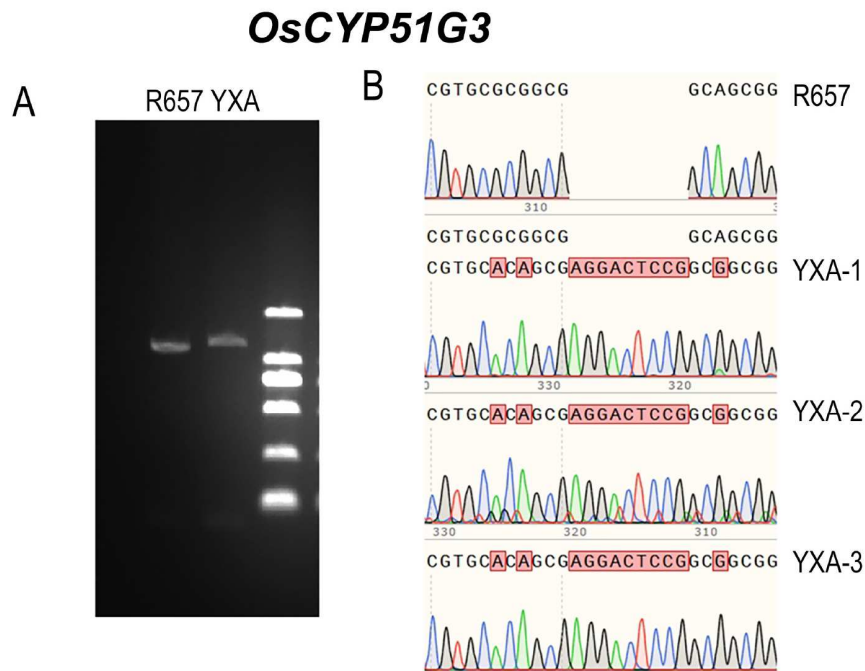


图 12 *OsCYP51G3* 在野香A和昌恢657中的CDS序列分析. A: *OsCYP51G3* CDS扩增电泳图; B: *OsCYP51G3* 在野香A和昌恢657中的序列差异图

Figure 12 CDS sequence analysis of *OsCYP51G3* in YXA and R657. A: *OsCYP51G3* CDS amplification electrophoresis pattern; B: sequence divergence map of *OsCYP51G3* in YXA and R657

态RNA-Seq, 发现0~24 h的DEGs数量远多于24~48 h^[36]. 二者的研究都表明, 种子萌发前期的DEGs显著高于后期, 说明种子萌发的差异主要集中在萌发前期, 这与本研究中两亲本中观察到种子露白极端表型差异, 以及后期萌发表型差异逐渐缩小的结果相吻合.

本研究利用RNA-Seq和BSA-Seq技术相结合筛选到*OsTPP7*, *OsUGT75A*和*OsGA2ox*等与种子萌发相关的基因. *OsTPP7*可能通过加快海藻糖-6-磷酸(TP6)的代谢来响应低糖环境, 促进胚的生长. *OsUGT75A*通过促进*OsJAZ*和*OsABI*蛋白间的相互作用, 加速了种子胚的生长发育, 且其基因表达量的变化与上述报道的表型趋势相一致. *OsGA2ox*家族的不同成员调控水稻种子萌发过程中的GA水平, 这可能是由单个基因控制, 也可能是多个基因的协同作用. 此外, *OsGA2ox10*这一种通过灭活赤霉素来调控种子萌发的氧化酶基因, 其在昌恢657中的表达量显著高于野香A. 野香A芽中基因主要富集于蛋白去泛素化生物学过程, 在蛋白降解途径及信号转导中起关键作用, 多种类的糖核苷酸合成过程是常见的生理过程及信号转导的重要环节^[37]. 昌恢657芽中基因的GO富集分析表明存在特殊

的氧化还原酶活性途径, 作用在特定的底物上, 与不同底物的反应过程会导致产生不同的生物合成及信号转导. 本研究分析比较KEGG通路情况, 昌恢657芽中基因的KEGG富集通路中包含了对重金属反应的通路以及砷的吸收和解毒通路, 这表明昌恢657品种在逆境中可能会展现出更强的适应性和抗逆性. 而野香A芽中基因的KEGG富集通路主要涉及蛋白泛素化和生物合成, 这表明野香A在生长发育和产量等方面具有优势. 在水稻抗逆境育种中, 多糖结合的复杂分子间相互作用模式尤为关键. 本研究中也发现, 在野香A和昌恢657的芽部富集了多糖结合、信号转导以及激素信号这些生物学过程.

在前人研究报道中, 与种子萌发相关的主要亚家族基因*CYP51*中包括*OsCYP51G3*, *OsCYP51G1*和*OsCYP51H3*, 本研究锁定的目的基因*OsCYP51G3*就属于CYP家族, 与前人研究结果一致. 研究还发现*OsCYP51G3*可能编码一个钝叶醇14 α -脱甲基酶, 并参与植物甾醇合成和BL生物合成过程^[38], 其亚家族成员基因*OsCYP51H3*和*OsCYP51G1*也都与甾醇合成、BRs和BL生物合成密切相关^[39]. 与BRs相关的大量研

究表明, 功能多样的BRs(甾醇类激素)与其家族的核心成员BL均在过氧化物代谢和苯丙烷类生物合成等生物学过程中发挥作用, 为种子在低温环境下的萌发提供了必要的能量物质, 并通过基因表达分析和甾醇类激素的应用等实验, 进一步证实了在低温条件下, BRs能够有效提高种子的发芽率^[15]。已报道的研究均表明, BRs是调控水稻种子萌发的关键植物激素, 特别在低温条件下对早稻种子的萌发具有重要作用^[16]。对*OsCYP51G3*基因亚家族成员进行分析, 结果表明亚家族成员的进化都处于相对稳定的状态。进一步对野香A和昌恢657两个品种的*OsCYP51G3*基因CDS序列进行分析, 发现在1286~1294 bp区间野香A存在明显的片段插入现象, 这可能是导致两个品种萌发表型差异的主要原因。对*OsCYP51*亚家族中另一个成员*OsCYP51H3*基因的研究发现, *oscyp51h3*突变体在前期萌发速率较慢, 但到第8天后, 其发芽率与野生型未呈

现显著差异^[39]。这与本研究中观察到的发芽差异主要发生在萌发前期, 但在萌发后期发芽率无显著差异的情况相似。*OsCYP51*亚家族成员与水稻种子萌发相关的研究报道以及本研究的结论表明, *OsCYP51G3*基因序列在不同品种中存在插入现象会对种子的萌发产生影响, 这为后续对该基因的功能研究提供了新的视角和方向。

本研究通过系统的观察和实验, 初步解析了野香A籼稻品种在萌发和生长特性上具有显著优势的原因, 以及其在作为早稻播种时的资源竞争优势和农业生产中的应用价值, 为优化水稻种植策略、提升农业生产效率和保障粮食安全提供了一定的理论基础。本文没有进一步证实*OsCYP51G3*基因的序列插入对种子萌发更深度确切的影响, 受限于材料选择、实验设计、功能验证等方面, 研究结论仍需通过多环境、多组学、多功能实验加以验证和深化。

参考文献

- Xu C C, Ji L, Chen Z D, et al. Analysis of the rice industry situation in China in 2023 and outlook for 2024 (in Chinese). *China Rice*, 2024, 30: 1–4 [徐春春, 纪龙, 陈中督, 等. 2023年我国水稻产业形势分析及2024年展望. *中国稻米*, 2024, 30: 1–4]
- Liu L S, Bian J Y, Sun X R, et al. Research progress on low temperature cold damage of rice (in Chinese). *Jiangsu Agric Sci*, 2022, 50: 9–15 [刘琳帅, 卞景阳, 孙兴荣, 等. 水稻低温冷害的研究进展. *江苏农业科学*, 2022, 50: 9–15]
- Xu Q S, Huang J, Sun A J, et al. Research progress on the mechanism and regulatory pathways of low temperature's impact on rice development (in Chinese). *Chin Rice Sci*, 2022, 36: 118–130 [徐青山, 黄晶, 孙爱军, 等. 低温影响水稻发育机理及调控途径研究进展. *中国水稻科学*, 2022, 36: 118–130]
- Zhang X L, Tao W, Gao G Q, et al. Effects of direct seeding cultivation method on growth stage, lodging resistance and yield benefit of double-cropping early rice (in Chinese). *Chin Agric Sci*, 2023, 56: 249–263 [张晓丽, 陶伟, 高国庆, 等. 直播栽培对双季早稻生育期、抗倒伏能力及产量效益的影响. *中国农业科学*, 2023, 56: 249–263]
- Song S Q, Tang C F, Chen H Y, et al. Research progress in regulation of seed germination (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2024, 54: 1226–1253 [宋松泉, 唐翠芳, 程红焱, 等. 种子萌发调控的研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2024, 54: 1226–1253]
- Yang S, Jia Y L, Shen J S, et al. Effects of high-temperature hastening germination on rice seed germination and seedling quality (in Chinese). *Barley Cereal Sci*, 2021, 38: 23–27 [杨松, 贾一磊, 沈进松, 等. 高温催芽技术对水稻种子发芽及秧苗素质的影响. *大麦与谷类科学*, 2021, 38: 23–27]
- Tang S M, Tong X H, Ying J Z, et al. Advance and prospect in regulation mechanisms of seed dormancy and germination of rice in China in recent years (in Chinese). *China Rice*, 2024, 30: 1–6 [唐思敏, 童晓红, 应杰政, 等. 近年我国水稻种子休眠与萌发调控机制研究进展. *中国稻米*, 2024, 30: 1–6]
- Huang C, Zhao J, Huang Q, et al. OsNAC3 regulates seed germination involving abscisic acid pathway and cell elongation in rice. *New Phytol*, 2024, 241: 650–664
- Uji Y, Suzuki G, Fujii Y, et al. Jasmonic acid (JA)-mediating MYB transcription factor1, JMTF1, coordinates the balance between JA and auxin signalling in the rice defence response. *Physiol Plantarum*, 2024, 176: e14257
- Wu J, Zhu C, Pang J, et al. OsLOL1, a C2C2-type zinc finger protein, interacts with OsbZIP58 to promote seed germination through the modulation of gibberellin biosynthesis in *Oryza sativa*. *Plant J*, 2014, 80: 1118–1130

- 11 Wang J C, Xu H, Zhu Y, et al. *OsbZIP58*, a basic leucine zipper transcription factor, regulates starch biosynthesis in rice endosperm. *J Exp Bot*, 2013, 64: 3453–3466
- 12 Dong Q, Hu B, Zhang C. microRNAs and their roles in plant development. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 824240
- 13 Gao Y, Zhao X, Liu X, et al. OsRAV1 regulates seed vigor and salt tolerance during germination in rice. *Rice*, 2024, 17: 56
- 14 Jiao Z, Xu W, Zeng X, et al. Obtusifoliosin 14 α -demethylase OsCYP51G1 is involved in phytosterol synthesis and affects pollen and seed development. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 529: 91–96
- 15 Zhang H, Hui G, Gao G, et al. Physiological and proteomic analysis of various priming on rice seed under chilling stress. *Plants*, 2024, 13: 2430
- 16 Zhang H, Zhang X, Gao G, et al. Effects of various seed priming on morphological, physiological, and biochemical traits of rice under chilling stress. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1146285
- 17 Kim S H, Shim K C, Lee H S, et al. Brassinosteroid biosynthesis gene *OsD2* is associated with low-temperature germinability in rice. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 985559
- 18 Xiong M, Chu L, Li Q, et al. Brassinosteroid and gibberellin coordinate rice seed germination and embryo growth by regulating glutelin mobilization. *Crop J*, 2021, 9: 1039–1048
- 19 Xiong M, Yu J, Wang J, et al. Brassinosteroids regulate rice seed germination through the BZR1-*Ramy3D* transcriptional module. *Plant Physiol*, 2022, 189: 402–418
- 20 Shen S, Park J W, Lu Z, et al. rMATS: robust and flexible detection of differential alternative splicing from replicate RNA-Seq data. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: E5593–E5601
- 21 Chen C, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. *Mol Plant*, 2020, 13: 1194–1202
- 22 Chen Y, Chen Y, Shi C, et al. SOAPnuke: a MapReduce acceleration-supported software for integrated quality control and preprocessing of high-throughput sequencing data. *Gigascience*, 2018, 7: 1–6
- 23 Ramirez-Gonzalez R H, Bonnal R, Caccamo M, et al. Bio-samtools: Ruby bindings for SAMtools, a library for accessing BAM files containing high-throughput sequence alignments. *Source Code Biol Med*, 2012, 7: 6
- 24 Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 2009, 25: 2078–2079
- 25 Guo M Y. Function analysis of cysteine protease OsCysP7 in cold tolerance of rice (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2023 [郭梦逸. 水稻半胱氨酸蛋白酶OsCysP7在耐冷中的功能分析. 硕士学位论文. 昆明: 云南农业大学, 2023]
- 26 Liu W H, Wu L J, Xu F, Regulatory mechanisms of small peptides in plant meristem development and its research advances in crop improvement (in Chinese). *Biotechnol Bull*, 2024, 40: 1–18 [刘文浩, 吴刘记, 徐芳. 小肽调控植物分生组织发育的机制及其在作物改良中的研究进展. 生物技术通报, 2024, 40: 1–18]
- 27 Landini A, Trbojević-Akmačić I, Navarro P, et al. Genetic regulation of post-translational modification of two distinct proteins. *Nat Commun*, 2022, 13: 1586
- 28 Huang C, He M Y, Sun M L, et al. Silicon-mediated regulation on polysaccharides synthesis of *Codonopsis pilosula* under drought stress based on EMP and TCA cycle pathways (in Chinese). *Plant Res*, 2025, 45: 98–110 [黄储, 何明月, 孙美乐, 等. 基于EMP和TCA循环途径研究硅对干旱胁迫下党参多糖合成的调控. 植物研究, 2025, 45: 98–110]
- 29 Liu L, Wu X L, Zhuge Q. Research progress of abiotic stress responsive signal pathway in plant (in Chinese). *Mol Plant Breed*, 2018, 16: 614–625 [刘铃, 武小龙, 诸葛强. 植物应答非生物胁迫信号传导研究进展. 分子植物育种, 2018, 16: 614–625]
- 30 Liu Y, Xiao W H, Cai W L, et al. Advances in studies on the roles of plant hormones in grain filling, grain weight and quality of rice (in Chinese). *China Rice*, 2023, 29: 9–14 [刘洋, 肖文惠, 蔡文璐, 等. 植物激素对水稻籽粒灌浆、粒质量与品质的调控作用研究进展. 中国稻米, 2023, 29: 9–14]
- 31 Yao S S, Wang J J, Wang J J, et al. Molecular mechanisms of rice grain size regulation related to plant hormone signaling pathways (in Chinese). *Biotechnol Bull*, 2023, 39: 80–90 [姚莎莎, 王晶晶, 王俊杰, 等. 植物激素信号通路调控水稻粒型的分子机制. 生物技术通报, 2023, 39: 80–90]
- 32 Zhang A, Yang X, Lu J, et al. OsIAA20, an Aux/IAA protein, mediates abiotic stress tolerance in rice through an ABA pathway. *Plant Sci*, 2021, 308: 110903
- 33 Aung K M, Oo W H, Maung T Z, et al. Genomic landscape of the *OsTPP7* gene in its haplotype diversity and association with anaerobic

- germination tolerance in rice. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1225445
- 34 Xing M, Chen S, Zhang X, et al. Rice *OsGA2ox9* regulates seed GA metabolism and dormancy. *Plant Biotechnol J*, 2023, 21: 2411–2413
- 35 Wei T. RNA-Seq combined with gene network analysis reveals the complex regulatory processes of rice seed germination (in Chinese). Dissertation for Doctoral Degree. Beijing: Beijing Genomics Institute, Chinese Academy of Sciences, 2015 [魏婷. RNA-Seq结合基因网络分析揭示水稻种子萌发的复杂调控过程. 博士学位论文. 北京: 中国科学院北京基因组研究所, 2015]
- 36 Cui H, Gao Q L, Luo L X, et al. Transcriptome analysis of hormone signal transduction and glutathione metabolic pathway in rice seeds at germination stage (in Chinese). *Chin J Rice Sci*, 2021, 35: 554–564 [崔欢, 高巧丽, 罗立新, 等. 水稻萌发期激素信号转导和谷胱甘肽代谢转录分析. 中国水稻科学, 2021, 35: 554–564]
- 37 Li G S, Zhang Y L, Ma K, et al. Advances in protein modifications for fertility regulation and reproductive development in plants (in Chinese). *J South China Agric Univ*, 2022, 43: 36–47 [李构思, 张雅玲, 马坤, 等. 蛋白修饰调控植物育性与生殖发育的研究进展. 华南农业大学学报, 2022, 43: 36–47]
- 38 Xia K, Ou X, Tang H, et al. Rice microRNA osa-miR1848 targets the obtusifolius 14 α -demethylase gene *OsCYP51G3* and mediates the biosynthesis of phytosterols and brassinosteroids during development and in response to stress. *New Phytol*, 2015, 208: 790–802
- 39 Jiao Z, Yin L, Zhang Q, et al. The putative obtusifolius 14 α -demethylase *OsCYP51H3* affects multiple aspects of rice growth and development. *Physiol Plant*, 2022, 174: e13764

Screening and analysis of genes regulating rapid seed germination in rice

ZHOU MingMing^{1,2}, JING Hao¹, HU LuZhou^{1,2}, CHEN Wang^{1,2}, XU Jie^{1,2}, FU HaiHua^{1,2},
HE XiaoPeng^{1,2}, YANG Jun^{1,2}, BIAN JianMin^{1,2}, HE HaoHua^{1,2} & ZHOU DaHu^{1,2*}

¹ Ministry of Education Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetics Breeding, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

² Key Laboratory of Crop Biological Breeding and Efficient Production, Jiangxi Province, Nanchang 330045, China

* Corresponding author, E-mail: zhoudahu2008@163.com

Seed germination is a critical developmental stage that directly influences rice yield and grain quality. In this study, we utilized F₂ population derived from the wild-type A line and Changhui 657 cultivar, which exhibit significant differences in germination ability, to statistically analyze seed germination phenotypes and construct an extreme variation pool. Genome-wide resequencing and bulked segregant analysis sequencing (BSA-Seq) analysis were conducted, preliminarily identifying gene loci regulating seed germination within corresponding intervals on Chr 5 and Chr 9. Comparative transcriptome analysis (RNA-Seq) of both parental lines revealed 781 differentially expressed genes (DEGs) common to both shoot and root tissue. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses indicated that these DEGs were primarily involved in biological pathways related to seed germination. The results of BSA-Seq and RNA-Seq identified *OsCYP51G3* as a key gene influencing seed germination. Sequence analysis comparison between the two parental lines revealed significant genetic variation in this gene. *OsCYP51H3* shares a similar CDS domain structure with *OsCYP51G3*, a known member of the seed germination-related family. Overall, this study provides new insights into the molecular mechanisms underlying rice seed dormancy and germination, offering a valuable genetic foundation for breeding programs aimed at improving rice varieties and developing new cultivars with enhanced germination performance.

rice, seed germination, RNA-Seq, plant hormones, antioxidant enzymes, BSA-Seq

doi: [10.1360/SSV-2025-0286](https://doi.org/10.1360/SSV-2025-0286)