

Table S1. Summary of FREE1-related *sof* mutants.

	Mutant ID	SubFamily No.	DEX ^R	Hyg ^R	Western Blot	FM Dye staining	NGS	Special Phenotype
1	<i>sof452</i>	1-8	Y	Y	Y	Y	Y	
2	<i>sof453</i>	1-8	Y	Y	Y	Y	Y	
3	<i>sof524</i>	2-8	Y	Y	Y	Y	Y	
4	<i>sof467</i>	1-9	Y	Y	Y	Y	Y	
5	<i>sof447</i>	1-5	Y	Y	Y	Y	Y	
6	<i>sof445</i>	1-5	Y	Y	Y	Y	Y	
7	<i>sof448</i>	1-6	Y	Y	Y	Y	Y	
8	<i>sof10</i>	1-2	Y	Y	Y	Y	Y	
9	<i>sof100</i>	5-6	Y	Y	Y	Y	Y	
10	<i>sof220</i>	13-4	Y	Y	Y	Y		
11	<i>sof258</i>	18-12	Y	Y	Y	Y		
12	<i>sof641</i>	3-7	Y	Y	Y	Y		
13	<i>sof655</i>	3-10	Y	Y	Y	Y		
14	<i>sof694</i>	4-4	Y	Y	Y	Y		
15	<i>sof609</i>	3-3	Y	Y	Y	Y		
16	<i>sof259</i>	18-12	Y	Y	Y	Y		
17	<i>sof637</i>	3-7	Y	Y	Y	Y		
18	<i>sof707</i>	4-5	Y	Y	Y	Y		
19	<i>sof714</i>	4-5	Y	Y	Y	Y		
20	<i>sof715</i>	4-5	Y	Y	Y	Y		
21	<i>sof732</i>	7-4	Y	Y	Y	Y		
22	<i>sof748</i>	8-2	Y	Y	Y	Y		
23	<i>sof751</i>	8-2	Y	Y	Y	Y		
24	<i>sof753</i>	7-4	Y	Y	Y	Y		
25	<i>sof756</i>	8-2	Y	Y	Y	Y		
26	<i>sof759</i>	8-2	Y	Y	Y			
27	<i>sof763</i>	8-2	Y	Y	Y			
28	<i>sof808</i>	8-7	Y	Y	Y			
29	<i>sof816</i>	8-7	Y	Y	Y			
30	<i>sof817</i>	8-7	Y	Y	Y			
31	<i>sof858</i>	8-9	Y	Y	Y			Low germination
32	<i>sof969</i>	8-7	Y	Y	Y			
33	<i>sof975</i>	8-7	Y	Y	Y			
34	<i>sof987</i>	5,6,7-2	Y	Y	Y			
35	<i>sof990</i>	5,6,7-2	Y	Y	Y			
36	<i>sof996</i>	5,6,7-4	Y	Y	Y			
37	<i>sof997</i>	5,6,7-4	Y	Y	Y			Dwarf, reduced fertility
38	<i>sof1003</i>	5,6,7-3	Y	Y	Y			
39	<i>sof1004</i>	5,6,7-3	Y	Y	Y			
40	<i>sof1011</i>	5,6,7-3	Y	Y	Y			
41	<i>sof1020</i>	5,6-1	Y	Y	Y			
42	<i>sof1053</i>	5-10	Y	Y	Y			
43	<i>sof1054</i>	5-10	Y	Y	Y			
44	<i>sof1056</i>	5-10	Y	Y	Y			
45	<i>sof1103</i>	5,6,7-6	Y	Y	Y			
46	<i>sof1154</i>	5,6-5	Y	Y	Y			
47	<i>sof1160</i>	5,6,7-8	Y	Y	Y			
48	<i>sof1174</i>	5,6,7-9	Y	Y	Y			Reduced fertility
49	<i>sof1256</i>	5,6,7-16	Y	Y	Y			
50	<i>sof1266</i>	5,6,7-19	Y	Y	Y			

51	<i>sof1553</i>	10-0	Y	Y	Y			
52	<i>sof1580</i>	12-5	Y	Y	Y			
53	<i>sof1598</i>	7-6	Y	Y	Y			
54	<i>sof1603</i>	7-6	Y	Y	Y			
55	<i>sof1604</i>	7-6	Y	Y	Y			Smaller leaves
56	<i>sof1605</i>	7-6	Y	Y	Y			
57	<i>sof1606</i>	7-6	Y	Y	Y			Smaller leaves; >75%
58	<i>sof1638</i>	10-9	Y	Y	Y			Smaller leaves; >90%
59	<i>sof1646</i>	11-1	Y	Y	Y			75% growth; others no germination
60	<i>sof1687</i>	12-8	Y	Y	Y			Smaller leaves; 75%
61	<i>sof1707</i>	13-3	Y	Y	Y			
62	<i>sof1710</i>	13-3	Y	Y	Y			
63	<i>sof1745</i>	14-1	Y	Y	Y			
64	<i>sof1761</i>	11-4	Y	Y	Y			
65	<i>sof1770</i>	11-6	Y	Y	Y			
66	<i>sof1777</i>	11-8	Y	Y	Y			
67	<i>sof1780</i>	11-8	Y	Y	Y			Shorter petiole
68	<i>sof1809</i>	11-13	Y	Y	Y			
69	<i>sof1822</i>	15-3	Y	Y	Y			
70	<i>sof1876</i>	16-4	Y	Y	Y			
71	<i>sof1881</i>	16-4	Y	Y	Y			
72	<i>sof1913</i>	16-15	Y	Y	Y			
73	<i>sof1916</i>	16-16	Y	Y	Y			
74	<i>sof1931</i>	16-20	Y	Y	Y			
75	<i>sof1937</i>	18-1	Y	Y	Y			Small plant at M2
76	<i>sof1944</i>	18-3	Y	Y	Y			Smaller leaves
77	<i>sof1946</i>	18-3	Y	Y	Y			
78	<i>sof1953</i>	19-13	Y	Y	Y			
79	<i>sof1960</i>	18-4	Y	Y	Y			
80	<i>sof1963</i>	18-4	Y	Y	Y			
81	<i>sof1966</i>	18-4	Y	Y	Y			
82	<i>sof1977</i>	18-6	Y	Y	Y			
83	<i>sof1946</i>	18-3	Y	Y	Y			
84	<i>sof1953</i>	19-13	Y	Y	Y			

Table S2. Summary of RNAi-related *sof* mutants.

	Mutant ID	SubFamily No.	DEX ^R	Hyg ^R	Western Blot	RNA Blot	NGS	Special Phenotype
1	<i>sof18</i>	2-2	Y	Y	Y	✓	✓	
2	<i>sof30</i>	4-1	Y	Y	Y	✓	✓	
3	<i>sof47</i>	5-2	Y	Y	Y			
4	<i>sof51</i>	5-2	Y	Y	Y			
5	<i>sof56</i>	5-3	Y	Y	Y			
6	<i>sof133</i>	6-1	Y	Y	Y			
7	<i>sof143</i>	6-2	Y	Y	Y			
8	<i>sof231</i>	14-6	Y	Y	Y			
9	<i>sof225</i>	13-4	Y	Y	Y			
10	<i>sof244</i>	16-17	Y	Y	Y			
11	<i>sof250</i>	18-7	Y	Y	Y			
12	<i>sof255</i>	18-18	Y	Y	Y			
13	<i>sof263</i>	18-19	Y	Y	Y			
14	<i>sof305</i>	1-0	Y	Y	Y			
15	<i>sof409</i>	1-1	Y	Y	Y			
16	<i>sof412</i>	1-2	Y	Y	Y			
17	<i>sof422</i>	1-1	Y	Y	Y			
18	<i>sof423</i>	1-3	Y	Y	Y			
19	<i>sof427</i>	1-3	Y	Y	Y			
20	<i>sof436</i>	1-3	Y	Y	Y			
21	<i>sof446</i>	1-5	Y	Y	Y			
22	<i>sof449</i>	1-6	Y	Y	Y			
23	<i>sof456</i>	1-8	Y	Y	Y			
24	<i>sof459</i>	1-8	Y	Y	Y			
25	<i>sof520</i>	2-6	Y	Y	Y			
26	<i>sof521</i>	2-6	Y	Y	Y			
27	<i>sof525</i>	2-8	Y	Y	Y			
28	<i>sof526</i>	2-8	Y	Y	Y			
29	<i>sof527</i>	2-8	Y	Y	Y			
30	<i>sof529</i>	2-9	Y	Y	Y			
31	<i>sof530</i>	2-9	Y	Y	Y			
32	<i>sof532</i>	2-11	Y	Y	Y			
33	<i>sof538</i>	2-12	Y	Y	Y			
34	<i>sof611</i>	3-3	Y	Y	Y			
35	<i>sof612</i>	3-4	Y	Y	Y			
36	<i>sof615</i>	3-4	Y	Y	Y			
37	<i>sof617</i>	3-4	Y	Y	Y			
38	<i>sof618</i>	3-4	Y	Y	Y			
39	<i>sof623</i>	3-5	Y	Y	Y			
40	<i>sof626</i>	3-6	Y	Y	Y			
41	<i>sof629</i>	3-6	Y	Y	Y			
42	<i>sof631</i>	3-6	Y	Y	Y			
43	<i>sof635</i>	3-7	Y	Y	Y			
44	<i>sof640</i>	3-7	Y	Y	Y			
45	<i>sof650</i>	3-10	Y	Y	Y			
46	<i>sof683</i>	4-2	Y	Y	Y			
47	<i>sof704</i>	4-5	Y	Y	Y			Longer hypocotyl
48	<i>sof705</i>	4-5	Y	Y	Y			Longer hypocotyl
49	<i>sof709</i>	4-5	Y	Y	Y			Longer hypocotyl
50	<i>sof711</i>	4-5	Y	Y	Y			Longer hypocotyl

51	<i>sof713</i>	4-5	Y	Y	Y			Longer hypocotyl
52	<i>sof725</i>	7-3	Y	Y	Y			
53	<i>sof747</i>	8-2	Y	Y	Y			
54	<i>sof767</i>	8-3	Y	Y	Y			
55	<i>sof769</i>	8-3	Y	Y	Y			
56	<i>sof779</i>	8-4	Y	Y	Y			
57	<i>sof780</i>	8-4	Y	Y	Y			
58	<i>sof784</i>	8-5	Y	Y	Y			
59	<i>sof800</i>	8-6	Y	Y	Y			
60	<i>sof821</i>	8-7	Y	Y	Y			
61	<i>sof822</i>	8-7	Y	Y	Y			
62	<i>sof829</i>	8-8	Y	Y	Y			
63	<i>sof847</i>	8-9	Y	Y	Y			
64	<i>sof864</i>	9-1	Y	Y	Y			Longer hypocotyl, enlarged cotyledon
65	<i>sof866</i>	9-1	Y	Y	Y			Longer hypocotyl, enlarged cotyledon
66	<i>sof876</i>	9-1	Y	Y	Y			
67	<i>sof992</i>	5,6,7-4	Y	Y	Y			Weak rescue
68	<i>sof994</i>	5,6,7-4	Y	Y	Y			
69	<i>sof1016</i>	5,6-1	Y	Y	Y			
70	<i>sof1024</i>	5,6-1	Y	Y	Y			Delayed siliques opening
71	<i>sof1039</i>	9-9	Y	Y	Y			
72	<i>sof1040</i>	9-9	Y	Y	Y			
73	<i>sof1060</i>	5-10	Y	Y	Y			
74	<i>sof1106</i>	5,6,7-6	Y	Y	Y			
75	<i>sof1127</i>	5,6,7-13	Y	Y	Y			
76	<i>sof1152</i>	5,6-5	Y	Y	Y			
77	<i>sof1219</i>	5,6,7-18	Y	Y	Y			
78	<i>sof1221</i>	5,6,7-18	Y	Y	Y			
79	<i>sof1230</i>	5,6,7-22	Y	Y	Y			
80	<i>sof1232</i>	5,6,7-22	Y	Y	Y			
81	<i>sof1257</i>	5,6,7-16	Y	Y	Y			
82	<i>sof1259</i>	5,6,7-19	Y	Y	Y			
83	<i>sof1255</i>	5,6,7-16	Y	Y	Y			
84	<i>sof1260</i>	5,6,7-19	Y	Y	Y			
85	<i>sof1273</i>	5,6,7-21	Y	Y	Y			
86	<i>sof1274</i>	5,6,7-21	Y	Y	Y			
87	<i>sof1278</i>	5,6,7-21	Y	Y	Y			
88	<i>sof1279</i>	5,6,7-21	Y	Y	Y			
89	<i>sof1285</i>	5,6,7-24	Y	Y	Y			
90	<i>sof1286</i>	5,6,7-24	Y	Y	Y			
91	<i>sof1288</i>	5,6,7-24	Y	Y	Y			
92	<i>sof1416</i>	10-2	Y	Y	Y			
93	<i>sof1426</i>	10-6	Y	Y	Y			
94	<i>sof1501</i>	2-0	Y	Y	Y			
95	<i>sof1506</i>	2-0	Y	Y	Y			
96	<i>sof1545</i>	9-0	Y	Y	Y			Longer hypocotyl, shorter root
97	<i>sof1550</i>	10-0	Y	Y	Y			
98	<i>sof1551</i>	10-0	Y	Y	Y			
99	<i>sof1554</i>	10-0	Y	Y	Y			
100	<i>sof1607</i>	5,6,7-21	Y	Y	Y			Shorter petiole

101	<i>sof1608</i>	7-6	Y	Y	Y		
102	<i>sof1620</i>	7-6	Y	Y	Y		
103	<i>sof1623</i>	10-7	Y	Y	Y		
104	<i>sof1624</i>	10-7	Y	Y	Y		
105	<i>sof1625</i>	10-7	Y	Y	Y		
106	<i>sof1626</i>	10-7	Y	Y	Y		
107	<i>sof1628</i>	10-7	Y	Y	Y		
108	<i>sof1633</i>	10-8	Y	Y	Y		
109	<i>sof1656</i>	10-8	Y	Y	Y		
110	<i>sof1656</i>	11-3	Y	Y	Y		Large plant at M2
111	<i>sof1657</i>	11-3	Y	Y	Y		
112	<i>sof1661</i>	11-3	Y	Y	Y		
113	<i>sof1671</i>	11-3	Y	Y	Y		
114	<i>sof1680</i>	12-6	Y	Y	Y		
115	<i>sof1691</i>	12-7	Y	Y	Y		
116	<i>sof1680</i>	12-7	Y	Y	Y		
117	<i>sof1691</i>	13-1	Y	Y	Y		
118	<i>sof1704</i>	13-3	Y	Y	Y		Smaller cotyledon leaves
119	<i>sof1705</i>	13-3	Y	Y	Y		Smaller cotyledon leaves
120	<i>sof1706</i>	13-3	Y	Y	Y		
121	<i>sof1719</i>	13-7	Y	Y	Y		Smaller cotyledon leaves
122	<i>sof1720</i>	13-7	Y	Y	Y		Enlarged cotyledon leaves
123	<i>sof1725</i>	13-7	Y	Y	Y		Smaller cotyledon leaves
124	<i>sof1726</i>	13-7	Y	Y	Y		Some no germination
125	<i>sof1727</i>	13-7	Y	Y	Y		Extremely smaller cotyledon leaves
126	<i>sof1742</i>	13-11	Y	Y	Y		
127	<i>sof1749</i>	14-2	Y	Y	Y		Some no germination
128	<i>sof1760</i>	14-7	Y	Y	Y		
129	<i>sof1762</i>	11-4	Y	Y	Y		Large plant at M2, some no germination
130	<i>sof1778</i>	11-8	Y	Y	Y		
131	<i>sof1789</i>	11-10	Y	Y	Y		
132	<i>sof1794</i>	11-11	Y	Y	Y		
133	<i>sof1796</i>	11-12	Y	Y	Y		
134	<i>sof1799</i>	11-12	Y	Y	Y		
135	<i>sof1816</i>	15-2	Y	Y	Y		
136	<i>sof1820</i>	15-2	Y	Y	Y		Curved leaves at M2
137	<i>sof1825</i>	15-5	Y	Y	Y		
138	<i>sof1899</i>	16-10	Y	Y	Y		
139	<i>sof1903</i>	16-12	Y	Y	Y		
140	<i>sof1927</i>	16-19	Y	Y	Y		
141	<i>sof1936</i>	18-1	Y	Y	Y		
142	<i>sof1939</i>	18-1	Y	Y	Y		
143	<i>sof1967</i>	18-4	Y	Y	Y		Yellow seeds
144	<i>sof1968</i>	18-4	Y	Y	Y		Yellow seeds
145	<i>sof1979</i>	18-9	Y	Y	Y		

Table S3. Backcross genetic analysis of putative *sof* mutants for single recessive mutation.

Mutant line		Genotype	
<i>sof</i> mutant		mmRR	
Free1-RNAi		MMRR	

P *sof* mutant (mmRR) X Free1-RNAi (MMRR)

F1 MmRR

F1 selfbreeding F2

	MR	mR
MR	MMRR	MmRR
mR	MmRR	mmRR

MS+DEX
1/4 Survived
For single gene recessive mutation

	MR	mR
MR	MMRR	MmRR
mR	MmRR	mmRR

For both FREE1-related and RNAi-related *sof* mutants, backcross with FREE1-RNAi line was used to detect whether the mutation was a single recessive mutation. Single recessive mutation should show 1/4 survival ration on plates with MS+DEX.

Table S4. Genetic analysis of putative single recessive *sof* mutations for outcross mapping population.

Mutant line		Genotype	
Ler		MMrr	
<i>sof</i> mutant		mmRR	
Free1-RNAi		MMRR	

P *sof* mutant (mmRR) X Ler (MMrr)

F1 MmRr

F1 selfbreeding F2

	MR	Mr	mR	mr
MR	MMRR	MMRr	MmRR	MmRr
Mr	MMRr	MMrr	MmRr	Mmrr
mR	MmRR	MmRr	mmRR	mmRr
mr	MmRr	Mmrr	mmRr	mmrr

MS+DEX+Hyg 3/16 Survived
For single gene recessive mutation

	MR	Mr	mR	mr
MR	MMRR	MMRr	MmRR	MmRr
Mr	MMRr	MMrr	MmRr	Mmrr
mR	MmRR	MmRr	mmRR	mmRr
mr	MmRr	Mmrr	mmRr	mmrr

For both FREE1-related and RNAi-related *sof* mutants, outcross with Ler was used to establish the mapping population. Single recessive mutation should show 3/16 survival ration on plates with MS+DEX+Hyg.

Table S5. Genetic analysis of FREE1-related single recessive *sof* mutations cross with *free1-1* knock-out mutant.

Mutant line	Genotype	
<i>free1-1</i> (-/-, T-DNA)	MMrrff	HygR, DexR
<i>sof</i> mutant	mmRRFF	HygR, DexR
Free1-RNAi	MMRRFF	HygR, DexS

P	<i>sof</i> mutant (mmRRFF)	X	<i>free1-1</i> (+/-) (MMrrFf)
F1	MmRrFf^{HygR} (Selected by genotyping)		

F1 MmRrFf selfbreeding F2								
	MRF	MRf	MrF	Mrf	mRF	mRf	mrF	mrf
MRF	MMRRFF	MMRRFf	MMRrFF	MMRrFf	MmRRFF	MmRRFf	MmRrFF	MmRrFf
MRf	MMRRFf	MMRRff	MMRrFf	MMRrff	MmRRFf	MmRRff	MmRrFf	MmRrff
MrF	MMRrFF	MMRrFf	MMrrFF	MMrrFf	MmRrFF	MmRrFf	MmrrFF	MmrrFf
Mrf	MMRrFf	MMRrff	MMrrFf	MMrrff	MmRrFf	MmRrff	MmrrFf	Mmrrff
mRF	MmRRFF	MmRRFf	MmRrFF	MmRrFf	mmRRFF	mmRRFf	mmRrFF	mmRrFf
mRf	MmRRFf	MmRRff	MmRrFf	MmRrff	mmRRFf	mmRRff	mmRrFf	mmRrff
mrF	MmRrFF	MmRrFf	MmrrFF	MmrrFf	mmRrFF	mmRrFf	mmrrFF	mmrrFf
mrf	MmRrFf	MmRrff	MmrrFf	Mmrrff	mmRrFf	mmRrff	mmrrFf	mmrrff

MS+DEX+Hyg								
21/64 survived for FREE1-related <i>sof</i>								
OR 14/64 survived for RNAi-related <i>sof</i>								
	MRF	MRf	MrF	Mrf	mRF	mRf	mrF	mrf
MRF	MMRRFF	MMRRFf	MMRrFF	MMRrFf	MmRRFF	MmRRFf	MmRrFF	MmRrFf
MRf	MMRRFf	MMRRff	MMRrFf	MMRrff	MmRRFf	MmRRff	MmRrFf	MmRrff
MrF	MMRrFF	MMRrFf	MMrrFF	<u>^MMrrFf</u>	MmRrFF	MmRrFf	MmrrFF	<u>^MmrrFf</u>
Mrf	MMRrFf	MMRrff	<u>^MMrrFf</u>	MMrrff	MmRrFf	MmRrff	<u>^MmrrFf</u>	Mmrrff
mRF	MmRRFF	MmRRFf	MmRrFF	MmRrFf	#mmRRFF	#mmRRFf	#mmRrFF	#mmRrFf
mRf	MmRRFf	MmRRff	MmRrFf	MmRrff	#mmRRFf	mmRRff	#mmRrFf	mmRrff
mrF	MmRrFF	MmRrFf	MmrrFF	<u>^MmrrFf</u>	#mmRrFF	#mmRrFf	mmrrFF	<u>^mmrrFf</u>
mrf	MmRrFf	MmRrff	<u>^MmrrFf</u>	Mmrrff	#mmRrFf	mmRrff	<u>^mmrrFf</u>	mmrrff

For FREE1-related *sof* mutants, cross with *free1-1* T-DNA knockout line was used to verify that the *sof* mutation was able to suppress the lethal phenotype of *free1-1*. FREE1-related *sof* mutants crossed with *free1-1* heterozygous plants makes F1, and *free1* heterozygous F1 were selected by genotyping for F2. Real FREE1 suppressor should show 21/64 survival ration on plates with MS+DEX+Hyg, of which 4(Underlined and shading in green) harbor *sof* mutation in *free1-1* homozygous plant survived, ^represents the survived genotypes (8/64) showing same phenotype like *free1-1* heterozygous mutant on MS+DEX+Hyg, #represents the survived genotypes (9/64) showing same phenotype like corresponding *sof* mutant on MS+DEX+Hyg.