

中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXX—202X

结球甘蓝品种真实性鉴定 SNP 分子标记法

Variety genuineness identification of Cabbage (*Brassica oleracea* L.) with SNP  
markers

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(征求意见稿)

(本稿完成日期 2023 年 10 月)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

# 目 次

目 次 .....	I
前 言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 缩略语 .....	1
5 原理 .....	2
6 检测方案 .....	2
7 仪器设备、试剂和溶液配制 .....	3
8 引物相关信息 .....	4
9 检测程序 .....	4
10 鉴定意见 .....	5
附 录 A （资料性附录） 溶液配制 .....	6
附 录 B （资料性附录） 引物及参照品种等位信息.....	7

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第一部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件的某些内容有可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由农业农村部种业管理司提出。

本文件由全国农作物种子标准化技术委员会(SAC/TC37)归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

# 结球甘蓝品种真实性鉴定 SNP 分子标记法

## 1 范围

本文件规定了利用单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism SNP) 标记法进行结球甘蓝 (*Brassica oleracea* L.) 品种真实性检测的术语和定义, 缩略语, 原理, 检测方案, 仪器设备、试剂和溶液配制, 检测程序, 数据记录、判定规则、鉴定意见和结果报告。  
本文件适用于结球甘蓝 SNP 指纹数据采集、数据库构建、品种真实性验证和品种真实性身份鉴定和 DUS 测试中近似品种筛选。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中, 注日期的引用文件, 仅该日期对应的版本适用于本文件; 不注日期的引用文件, 其最新版本 (包括所有的修改单) 适用于本文件。

- GB/T 3543.1 农作物种子检验规程 总则
- GB/T 3543.2 农作物种子检验规程 扦样
- GB/T 3543.5 农作物种子检验规程 真实性和品种纯度鉴定
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**品种真实性验证** variety genuineness verification  
通过与其对应品种名称的标准样品比较, 检测证实送验样品与其标注的名称是否相符。

### 3.2

**单核苷酸多态性** Single nucleotide polymorphisms (SNP)  
指在基因组水平上单个核苷酸变异所引起的 DNA 序列多态性。

### 3.3

**品种真实性身份鉴定** variety genuineness identification  
经 SNP 分子标记检测并通过已知品种 SNP 指纹数据比对平台筛查, 确定供检样品的真实品种名称。

### 3.4

**标准样品** standard sample  
国家指定机构保存的具有法定身份的代表品种特征特性的实物样品或 DNA 样品。

## 4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

- bp: 碱基对 (base pair)
- CI: 氯仿:异戊醇 (Chloroform: 3-Methyl-1-butanol) (V<sub>1</sub>:V<sub>2</sub>: 24:1)
- CTAB: 十六烷基三甲基溴化铵 (cetyltrimethylammonium bromide)
- DNA: 脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid)
- dNTPs: 脱氧核糖核苷三磷酸 (deoxy-ribonucleoside triphosphate)
- EDTA: 乙二胺四乙酸 (ethylenediamine tetraacetic acid)
- PCI: 苯酚:氯仿:异戊醇 (Phenol: Chloroform: 3-Methyl-1-butanol) (V<sub>1</sub>:V<sub>2</sub>:V<sub>3</sub> 25:24:1)
- PCR: 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction)

SNP: single nucleotide polymorphisms 单核苷酸多态性  
KASP: competitive allele specific PCR 竞争性等位基因 PCR  
TBE: 三羟甲基氨基甲烷-硼酸盐-乙二胺四乙酸二钠 (Tris-Borate-EDTA)  
Tris: 三羟甲基氨基甲烷 (tris (hydroxymethyl) aminomethane)  
Taq 酶: 耐热 DNA 聚合酶 (Taq-DNA polymerase)

## 5 原理

结球甘蓝不同品种的基因组存在着能够世代稳定遗传的 SNP 差异。这种差异可以通过从抽取有代表性的试样中提取 DNA, 用 SNP 位点特异性引物或探针进行扩增或杂交进行分型, 从而通过单核苷酸碱基不同而区分不同品种。

## 6 检测方案

### 6.1 原则

依据SNP检测原理, 采用特定数目的SNP标记, 通过与标准样品比较或与SNP指纹数据比对平台比对的方式, 对品种真实性进行验证或身份鉴定。真实性验证依据规定数目引物的SNP位点差异数目判定, 品种真实性身份鉴定依据SNP位点的遗传相似度进行筛查、鉴定。真实性鉴定允许采用其它能够区分的特异性功能分子标记进行检测。

对于真实性鉴定, 引物、检测平台、样品状况不同, 其检测结果的准确度、精确度可能有所不同。应依据“适于检测目的”的原则, 统筹考虑检测规模和检测能力, 选定适宜的引物、检测平台、样品状况, 制定相应的检测方案。

在严格控制条件下, 合成选择的引物, 按照确定的检测平台对供检样品按DNA提取、PCR扩增、电泳、数据分析的程序进行检测。

按规定要求填报检测结果, 检测报告应注明检测方案所选择的影响检测结果的关键信息。

DNA提取、PCR扩增和电泳的技术条件要求, 在适于检测目的和不影响检测质量的前提下, 按照检测平台的要求允许对本文件的规定做适宜的调整。

### 6.2 位点

本文件遴选了38个SNP位点组合(附录B)用于品种真实性验证和真实性身份鉴定。40个SNP位点编号为BoSNP01-BoSNP38, 位点的染色体位置、等位基因和引物信息见附录B。

### 6.3 检测平台

SNP 标记的基因分型是检测平台中的关键环节, 本文件推荐采用基于 KASP 技术的荧光原位扫描平台。

对于供检样品数量较多的, 可将组织研磨仪、DNA 自动提取、自动移液工作站等, 以提高检测的综合效率。

### 6.4 样品

送验样品可为种子、幼苗、叶片等组织或器官, 需要扦样的样品数量应符合 GB/T 3543.2 的规定。

送验样品如为种子, 重量应不低于2 g或数量不少于500粒; 如为幼苗、叶片、果实等组织或器官, 样品应至少来自30个随机个体的混合样或至少10个随机个体的单样。

### 6.5 检测条件

真实性鉴定应在有利于检测正确实施的控制条件下进行, 包括但不限于下列条件:

- 种子检验人员具备熟悉所使用检测技术的知识和技能;
- 所有仪器与使用的技术相适应, 并已经过定期维护、验证和校准;
- 使用适当等级的试剂和灭菌处理的耗材;
- 使用校准检测结果评定的适宜参照样品。

## 7 仪器设备、试剂和溶液配制

### 7.1 仪器设备

#### 7.1.1 DNA 提取仪器设备

- 7.1.1.1 高速冷冻离心机：转速 $\geq 12000$  rpm/min。
- 7.1.1.2 微量移液工作站或微量移液器。
- 7.1.1.3 水浴锅或干式恒温金属浴：20 °C~ 65 °C。
- 7.1.1.4 紫外分光光度计：波长定点扫描230 nm、260 nm和280 nm。
- 7.1.1.5 组织研磨仪。
- 7.1.1.6 分析天平：感量为0.01 g。
- 7.1.1.7 pH 计。
- 7.1.1.8 涡旋混合器。
- 7.1.1.9 高压灭菌锅。

#### 7.1.2 PCR 扩增

- 7.1.2.1 PCR扩增仪。
- 7.1.2.2 移液器等。

#### 7.1.3 荧光原位扫描检测平台

- 7.1.3.1 PCR扩增仪或水浴PCR扩增装置。
- 7.1.3.2 荧光扫描系统（检测FAM、HEX和ROX荧光）。
- 7.1.3.3 微量移液工作站或微量移液器。
- 7.1.3.4 烘箱（室温~100 °C）。

#### 7.1.4 其他器具

- 7.1.4.1 微量移液器。
- 7.1.4.2 电子天平（万分之一）。
- 7.1.4.3 高压灭菌锅。
- 7.1.4.4 加热磁力搅拌器。
- 7.1.4.5 冰箱。
- 7.1.4.6 染色盒。
- 7.1.4.7 制冰机。
- 7.1.4.8 超纯水仪等。

### 7.2 试剂

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合GB/T6682规定的一级水。溶液配制见附录A。

#### 7.2.1 DNA 提取

- 7.2.1.1 液氮 (N<sub>2</sub>)。
- 7.2.1.2 十六烷基三甲基溴化铵 (cetyl triethylammonium bromide, CTAB) (C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>NBr, CAS号: 57-09-0)。
- 7.2.1.3 三氯甲烷 (CHCl<sub>3</sub>, CAS 号: 67-66-3)。
- 7.2.1.4 异戊醇 (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O, CAS 号: 123-51-3)。
- 7.2.1.5 异丙醇 (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O, CAS号: 67-63-0)。
- 7.2.1.6 氯化钠 (NaCl, CAS号: 7647-14-5)。
- 7.2.1.7 乙二胺四乙酸二钠(ethylenediamine-tetraacetic acid, EDTA)(C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, CAS号: 139-33-3)。
- 7.2.1.8 三羟甲基氨基甲烷 (trishydroxymethylaminomethane, Tris) (NH<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>, CAS号: 77-86-1)。
- 7.2.1.8 β-巯基乙醇 (β-mercaptoethanol) (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS, CAS号:60-24-2)。
- 7.2.1.9 无水乙醇 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, CAS号: 64-17-5)。
- 7.2.1.10 盐酸 (HCl, CAS号: 7647-01-0)。

7.2.1.11 氢氧化钠 (NaOH, CAS号: 1310-73-2)。

## 7.2.2 SNP基因分型试剂

7.2.2.1 2×PCR MIX。

7.2.2.2 引物工作液。

## 8 引物相关信息

引物相关信息见附录 B。

## 9 检测程序

### 9.1 DNA 提取

#### 9.1.1 总则

DNA 提取方法应保证提取的 DNA 数量与质量符合 PCR 扩增的要求, DNA 无降解, 溶液的紫外光吸光度  $OD_{260}/OD_{280}$  宜介于 1.8~2.0,  $OD_{260}/OD_{230}$  宜介于 1.5~2.0。DNA 提取可选 8.2.2 或 8.2.3 所列的任何一种方法, 其它达到 PCR 扩增质量要求的 DNA 提取方法均适用。

#### 9.1.2 CTAB 法

选取试验样品(胚根、胚轴、幼嫩叶片等组织或器官) 300 mg~400 mg, 加入液氮迅速研磨成粉末后, 转入 2.0 mL 的离心管中。在离心管中加入 65°C 预热的 CTAB 提取液 800  $\mu$ L, 充分混匀, 65°C 水浴 30 min, 期间多次轻缓颠倒混匀。待样品冷却至室温后, 每管加入等体积的三氯甲烷/异戊醇(24:1) 混合液, 充分混合后静置 10 min, 12 000 rpm/min 离心 10 min。吸取上清液转移至新的离心管中, 加入等体积的氯仿, 充分混合后静置 10 min, 12 000 rpm/min 离心 10 min。离心后再次吸取上清液移至新的离心管中, 加入 0.7 倍体积预冷的异丙醇, 轻轻颠倒混匀, -20°C 冰箱放置 30min, 后 4°C、12 000 rpm/min 离心 5 min。弃上清, 75%乙醇溶液洗涤 2 遍, 自然干燥或在超净工作台上吹干。将干燥的 DNA 加入 100  $\mu$ L 超纯水充分溶解, 检测浓度并稀释至 50 ng/ $\mu$ L~100 ng/ $\mu$ L, 置于 4°C 备用或-20°C 保存。

注: 1. 种子需发芽后取胚根或新鲜叶片进行 DNA 提取。

2. 以上为推荐的 DNA 提取方法, DNA 质量能够满足 PCR 扩增要求的其他 DNA 提取方法均适用。

### 9.2 SNP 基因分型

#### 9.2.1 PCR 扩增

PCR 反应可以在不同规格的 PCR 板上进行, 反应体系的总体积和各组分配比按照表 1 进行配制, KASP 引物为依据附录 B 提供的引物序列合成的引物, 每板应设空白对照。

表 1 PCR 扩增反应体系

组分	1536 微孔板 ( $\mu$ L/孔)	384 微孔板 ( $\mu$ L/孔)	96 微孔板 ( $\mu$ L/孔)
DNA 工作液 (20ng/ $\mu$ L)	1.5 (烘干)	3 (烘干)	1.5
2×KASP Master Mix	2	3	5
ddH <sub>2</sub> O	0.486	/	3.36
KASP 引物 Mix	1.5	2	0.14

反应程序中各反应参数可根据 PCR 扩增仪型号、酶、引物等不同而做适当的调整。通常采用下列反应程序:

a) 94°C 10 min;

b) 94°C 20 s, 61°C 60 s, 以 0.6°C/循环的速度降落, 10 次循环;

c) 94°C 20 s, 55°C 60 s, 26 次循环;

若初始反应结束检测不到荧光信号, 可增加 d 步骤:

d) 94 °C 20 s, 57 °C 60 s, 10 次~20 次循环。

## 9.2.2 荧光原位扫描

利用荧光原位扫描系统对 PCR 扩增产物进行基因分型,空白对照没有扩增信号或者扩增信号较弱,且参照样品等位变异与附录 B 的等位变异一致时,采集基因分型数据。

## 9.3 数据记录

数据记录方式为具体碱基组成的基因型,如某个位点为 A/G 变异,则有 A/A、A/G、G/G 三种基因型,缺失数据记录为-/-。

## 9.4 数据分析

成对分析两个品种的位点差异情况,统计比较位点数目和差异位点数目。

位点差异分为下列四种情形:

- 位点存在差异的,记录为有差异;
- 位点完全相同的,记录为无差异;
- 位点数据缺失的,记录为缺失;
- 位点显示无法判定的,记录为无法判定。

## 10 鉴定意见

10.1 检验结果用试验样品和标准样品比较的位点差异数表示。根据检验结果进行鉴定意见判断,一般分为三类:排除属于同一品种、不确定是否为同一品种和不排除属于同一品种。对于有异议的样品,可以参照 GB/T 3543.5 的规定进行田间小区种植鉴定。

### 10.2 位点鉴定意见可参考以下原则:

利用附录B中的位点,对送检样品和对照样品进行检测,比较样品间的位点差异:

- a) 样品间差异位点数 $\geq 3$ ,排除两者为同一品种,判定为“不同”;
- b) 样品间差异位点数介于1-2,不确定两者为同一品种,判定为“近似”;
- c) 样品间差异位点数=0,不排除两者属于同一品种,判定为“极近似或相同”。

结果表述如下:利用SNP分子标记法,采用\_\_\_\_\_检测平台,送检样品XXX与对照样品YYY比较位点数为\_\_\_\_\_,差异位点数为\_\_\_\_\_,判定为\_\_\_\_\_。

### 10.3 属于下列情形之一的,应在检验报告中注明:

- 送验样品低于 6.4 规定数量;
- 与试验样品比较的标准样品的来源;
- 试验品种异质性严重的位点(引物编号)清单;
- 检测采用其他功能 SNP 位点的名称及物理位置。



附录 A  
(资料性附录)  
溶液配制

A.1 DNA 提取

A.1.1 1mol/L Tris-HCl (pH8.0)

称取121.1 g Tris 溶于800 mL 水中，加入HCl调节pH至8.0，加水定容至1000 mL，高温高压灭菌后，室温保存。

A.1.2 0.5mol/L EDTA 溶液 (pH8.0)

称取186.1 g EDTA- $\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶于800 mL水中，加入固体NaOH调节pH至8.0，加水定容至1000 mL，高温高压灭菌后，室温保存。

A.1.3 5 mol/L NaCl 溶液

称取146 g 固体 NaCl 溶于适量水中，充分搅拌溶解后，加水定容至500 mL。

A.1.4 CTAB 提取液

称取2 g CTAB和8.1816 g 氯化钠溶于适量水中，加入1 mol/L Tris-HCl 10 mL、0.5 mol/L EDTA溶液 4 mL，定容至100 mL，4°C贮存。DNA提取前，按照每100 mL CTAB溶液加入2 mL  $\beta$ -巯基乙醇在65°C水浴锅中预热。

A.2 KASP 引物工作液

将附录 B 所示每个位点的三管引物干粉分别用水溶解至 20  $\mu\text{M}$ ，2 条上游引物和 1 条下游通用引物按照 10: 10: 25 的比例混合。

附录 B  
(资料性附录)

结球甘蓝 38 个 SNP 位点、引物及参照样品种等位变异信息

表 B.1 列出了 38 个对 SNP 位点的相关信息、FAM 和 HEX 标记序列分别对应的等位变异、参照样品种携带的等位变异及位点对应的引物序列信息。京丰一号和中甘 21 在 38 个 SNP 位点的等位变异信息，作为校对每批基因分型数据分型质量的参照样品种。

表 B.1 38 个 SNP 位点、引物及参照样品种等位变异信息

引物编号	染色体	物理位置	等位变异	AlleleX FAM	AlleleY HEX	中甘 21	晚丰	京丰一号	引物序列 (5' -3')
BoSNP01	1	296793	C/T	C	T	TC	TC	TT	FAM: CACAGTCAGGATGCTTGAGACG; HEX: TCACAGTCAGGATGCTTGAGAC; common: CCGGCGTTAAATGATAAGAAGCTTGAAG
BoSNP02	1	5120860	C/T	C	T	CC	CC	TC	FAM: CTGCAAGAGAGACAAGGCCAG; HEX: CCTGCAAGAGAGACAAGGCCAA; common: TCTCTATGACTCACTCCAACCAG
BoSNP03	1	13520965	T/G	T	G	GT	GT	GT	FAM: GGAGCAGTCTCTAAAGAGGATG; HEX: GAGCAGTCTCTAAAGAGGATGC; common: TCTTGTACCGTGAAGCTACAACCTG
BoSNP04	1	43396298	T/A	T	A	AT	AT	AA	FAM: TGAAGTACCGGTTTAATATTCTGTAT; HEX: TGAAGTACCGGTTTAATATTCTGTAA; common: CATTAAATGATCACTAGAGTGTGTTAACAAC
BoSNP05	2	7910471	C/G	C	G	GC	GC	CC	FAM: CTCTTCTGCTTCAAAAAGCCTCAG; HEX: CTCTTCTGCTTCAAAAAGCCTCAC; common: GACTTCTTCTCTGCTTCCCGC
BoSNP06	2	26806809	A/G	A	G	GA	GA	GA	FAM: GTCTATATGTTCTAGATTCTTTGGA; HEX: TCTCTATGTTCTAGATTCTTTGGG; common: CCATTTTGCTATCGCTCTATTTTCTATG
BoSNP07	2	52540879	G/T	G	T	TG	TG	TG	FAM: ACCACGAGAGTATCCACATTAGG; HEX: GACCACGAGAGTATCCACATTAGT; common: TTTGATGGATCTTAACAAGAGATTCATTGAC
BoSNP08	3	868203	A/G	A	G	GA	GA	GA	FAM: TCTCTAAACAACCTGCACGCACA; HEX: CTCTAAACAACCTGCACGCACG; common: TGCATCTCTCTGTGACTCTTTTC
BoSNP09	3	16441888	T/A	T	A	AT	AT	TT	FAM: ATGATCTTCTGTGTGTCTCCATA; HEX: ATGATCTTCTGTGTGTCTCCATT; common: CACAATAGTTAAAGAGTACAAGTGCAGC
BoSNP10	3	23728210	A/G	A	G	GG	AA	GA	FAM: TTTGGCCAAAGTAAGGAGCCAT; HEX: TGGGCCAAAGTAAGGAGCCAC; common: AGGCTCGAACACTTGTCCAGG
BoSNP11	3	57113851	C/T	C	T	TC	TC	TT	FAM: CGCAGAGAAAAGGGTTCTCTAG; HEX: CCGCAGAGAAAAGGGTTCTCTAA; common: CTTTAGGGCAATTCTGTTACTTCAACAAC
BoSNP12	4	1615022	T/C	T	C	CC	TT	CT	FAM: AATACTATAGGGCGAAATGTATGGG; HEX: ACTATAGGGCGAAATGTATGGGC; common: ACTTAACCACGTGACAACGATGTC
BoSNP13	4	5401213	A/T	A	T	TA	TA	TA	FAM: CTTTTATTGGCTGGAATCGAGGAA; HEX: CTTTTATTGGCTGGAATCGAGGAT; common: GACAGTGGAGGGAACGGAATCG
BoSNP14	4	6186625	C/T	C	T	TC	CC	TC	FAM: CAAATCCACGCATTAATCCACCAC; HEX: CAAATCCACGCATTAATCCACCAC; common: TCAACTAAACAAGGGCACGTTAAGAAG
BoSNP15	4	14442457	G/A	G	A	AG	AA	AA	FAM: GTGAAATTAACAACTCGAAAGGTTCC; HEX: TGTGAAATTAACAACTCGAAAGGTTCT; common: TTCTGTTAGAGACTGATTGATTGATGTTAC
BoSNP16	4	42323192	C/T	C	T	TC	CC	CC	FAM: TTTTCTTTTCTAAACCGCTGGTGC; HEX: CTTTTTCTTTTCTAAACCGCTGGTCA; common: CAATATGAGTAGGATTTAGAAATGCTAGATG
BoSNP17	5	697233	G/T	G	T	GG	GG	TG	FAM: CTTTCACTATGTGGACTGCAACTC; HEX: TCTTCACTATGTGGACTGCAACTA; common: GATGCTAGCCTCATTCTAGTAGGAAG
BoSNP18	5	8458985	G/A	G	A	AG	AA	AA	FAM: TAAATCCTCAGGTAATCTACAACCTTAC; HEX: CTAATCTCAGGTAATCTACAACCTTAT;

									common: AGTATTATGGACAAGACGAAACGAAG
BoSNP19	5	37783790	T/C	T	C	TT	TT	TT	FAM: ATTGATCTCAAGTTGCTGGAATTGGA; HEX: GATCTCAAGTTGCTGGAATTGGG; common: TGATGTTTTGAGTTTTACTAATGTGGTATAAATG
BoSNP20	6	8309925	G/T	G	T	TG	GG	GG	FAM: AAAATTTCTCTCTTACAATCCTTCC; HEX: TAAAATTTCTCTCTTACAATCCTTCA; common: GCTTAACACTTTGTAATTCATTTAACAAATGTTTG
BoSNP21	6	10488166	C/T	C	T	CC	TT	TT	FAM: TGCAGAGAACAGTCCAACCTGTC; HEX: GTGCAGAGAACAGTCCAACCTGTT; common: CAACCGCAATTCGAAGTCTATCTTCC
BoSNP22	6	23938994	G/C	G	C	CG	GG	GG	FAM: GTGAACATAGAGACTGAAGTGTTC; HEX: GTGAACATAGAGACTGAAGTGTTCG; common: GTGAGAAATAATGATTGAAACTAGAAACTACTTG
BoSNP23	6	26140487	A/C	A	C	AA	CA	AA	FAM: TCTTAGTTCTCAGGTTTACTCCTTA; HEX: CTTAGTTCTCAGGTTTACTCCTTC; common: CATCTACAAAACCTCTCTGCCAAATAG
BoSNP24	6	39738795	A/G	A	G	GA	AA	AA	FAM: TCGACCAACCAGTACCAAACT; HEX: CGACCAACCAGTACCAAACTCC; common: GTCTCAATAATAGTTTCGATTGGACCTC
BoSNP25	7	10928595	C/G	C	G	CC	GC	GG	FAM: AGAGTGAGAAGCCTATGTTTCCG; HEX: AGAGTGAGAAGCCTATGTTTCCC; common: GAGAACCTAGTCAAACGCACCTAAC
BoSNP26	7	29393856	A/G	A	G	GA	GA	AA	FAM: GTTCACAACCGTTAAACAACAGT; HEX: TCACAACCGTTTAAACAACAGC; common: AAGAAAACGAAGCAGCGTGGAAAG
BoSNP27	7	45997066	T/C	T	C	TT	CT	CC	FAM: GCCTCTTCTCTTTCTCTGAA; HEX: CCTCTTCTCTTTCTCTGAG; common: GAGGAGAACTAAAAGTGACACACGG
BoSNP28	7	47035181	T/C	T	C	TT	CT	CT	FAM: GAACAGCACTTGTAATTCACAGT; HEX: ACAGCACTTGTAATTCACAGC; common: CTACATCTCTGAGTTGGCTCTCAG
BoSNP29	8	540414	A/G	A	G	GA	AA	GA	FAM: ACTTATAACCATCCAACAGTAACGGGA; HEX: CTTATAACCATCCAACAGTAACGGG; common: AAGTTGGGTTCAAACACTTCGACTTTC
BoSNP30	8	19862942	A/T	A	T	AA	TA	TA	FAM: ATGTTCAGCTCTTTGGGATCTGTA; HEX: ATGTTCAGCTCTTTGGGATCTGTT; common: CAAGAGAGTCAGTGGAAAGGATTC
BoSNP31	8	34212228	C/T	C	T	TC	TT	TT	FAM: CATAAGTGTCCATACTGAGCTCA; HEX: ACATAAGTGTCCATACTGAGCTCA; common: TCTGCTGAACGTGAATATGATACACAAC
BoSNP32	8	34264863	G/A	G	A	AA	AA	AA	FAM: ACATGAACCTTTTTGTGTTGACGTC; HEX: AACATGAACCTTTTTGTGTTGACGTT; common: AAACCTAAGAAAGTGCCTGCAGTG
BoSNP33	8	41500954	A/C	A	C	AA	CA	CC	FAM: GCCGATGACTGATATCATACTAGTT; HEX: GCCGATGACTGATATCATACTAGTG; common: CCTTCTCTCTTTCTGGCTCTTTG
BoSNP34	9	5112937	T/C	T	C	TT	CC	CC	FAM: CGAGGAAAGTAATCAAGATGGAGGT; HEX: GAGGAAAGTAATCAAGATGGAGGC; common: CTTCTATTCCCTGGCTCCACC
BoSNP35	9	16930549	T/A	T	A	AA	AT	AT	FAM: GTTTTTGTGTTGTTCTGTTGTC; HEX: GTTTTTGTGTTGTTCTGTTGTTCT; common: CAGATACAATAGAGCCCCACATTTG
BoSNP36	9	23410822	G/A	G	A	GG	GG	AG	FAM: GCTCCTCTTCCATTACTG; HEX: TTGCTCCTCTTCCATTACTA; common: CAAGGCATGCACATCTTGATGATCC
BoSNP37	9	44709196	A/C	A	C	AA	AA	AA	FAM: GCAAGTTCTGTGGAGCATATGAAGA; HEX: CAAGTTCTGTGGAGCATATGAAGC; common: TTCTCATTTTGGCCACTTGTCTCTTTC
BoSNP38	9	52155885	G/A	G	A	AA	AG	AA	FAM: AGCTGATTGTGTGAAAGATAAGGTG; HEX: GAGCTGATTGTGTGAAAGATAAGGTA; common: CTGAATCATTTGGATGTTCCAGCAG