CS 65.020.01

B 05

|  |
| --- |
|  |

NY

中 华 人 民 共 和 国 农 业 行 业 标 准

NY/T XXXX—202X

|  |
| --- |
|  |

番茄品种鉴定 SNP分子标记法

Identification of tomato （*Solanum Lycopersicum* L*.*）varieties－SNP marker method

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX实施

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX发布

|  |
| --- |
|  |

中华人民共和国农业农村部 **发布**

目 次

[前 言 II](#_Toc2815)

[1 范围 1](#_Toc4438)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc28507)

[3 术语和定义 1](#_Toc16158)

[4 缩略语 1](#_Toc7057)

[5 原理 1](#_Toc18285)

[6 仪器设备 1](#_Toc21227)

[7 试剂及溶液配制 2](#_Toc19245)

[8 引物相关信息 2](#_Toc31330)

[9 操作程序 2](#_Toc11331)

[10 结果统计 3](#_Toc468)

[11 结果判定 4](#_Toc628)

[附 录 A](#_Toc29640)[（资料性）](#_Toc8354)[溶液配制 5](#_Toc18502)

[附 录 B](#_Toc29873)[（资料性）](#_Toc15258)[36 个 SNP 位点及 KASP 分型引物信息 6](#_Toc8148)

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020 《标准化工作导则 第1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应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。

本文件由由全国植物新品种测试标准化技术委员会（SAC/TC 277）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

番茄品种鉴定 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）标记进行番茄（*Solanum Lycopersicum* L.）品种鉴定的操作程序、数据记录和统计及结果判定。

本文件适用于番茄品种SNP指纹数据采集、数据库构建和品种鉴定。

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 3543.2 农作物种子检验规程 扦样

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 2594 植物品种鉴定 DNA分子标记法 总则

3 术语和定义

NY/T 2594规定的术语和定义适用于本文件。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CTAB：cetyltrimethyl ammonium bromide，十六烷基三甲基溴化铵。

DNA：deoxyribonucleic acid，脱氧核糖核酸。

KASP：kompetitive allele specific PCR，竞争性等位基因特异性PCR。

PCR：polymerase chain reaction，聚合酶链式反应。

SNP：single nucleotide polymorphism，单核苷酸多态性。

5 原理

不同番茄品种的基因组中存在着能够世代稳定遗传的SNP差异，这种差异可通过PCR扩增和荧光原位扫描的方法进行检测，进而区分不同的番茄品种。

6 仪器设备

6.1 高速冷冻离心机：转速≥12 000 rpm。

6.2 微量移液工作站或微量移液器。

6.3 水浴锅或干式恒温金属浴：20 ℃~100 ℃。

6.4 紫外分光光度计：波长定点扫描230 nm、260 nm和280 nm。

6.5 组织研磨仪。

6.6 分析天平：感量为0.01 g。

6.7 pH计。

6.8 涡旋混合器。

6.9 高压灭菌锅。

6.10 PCR扩增仪或水浴PCR扩增装置。

6.11 荧光原位扫描系统：3色及以上荧光。

7 试剂及溶液配制

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/T 6682规定的一级水。溶液配制见附录A。

7.1 DNA 提取

7.1.1 CTAB[C16H33(CH3)3NBr，CAS号：57-09-0]。

7.1.2 三氯甲烷（CHCl3，CAS号：67-66-3）。

7.1.3 异戊醇（C5H12O，CAS号：123-51-3）。

7.1.4 异丙醇（C3H8O，CAS号：67-63-0）。

7.1.5 乙二胺四乙酸二钠（C10H14N2Na2O8，CAS号：139-33-3）。

7.1.6 三羟甲基氨基甲烷[NH2C(CH2OH)3，CAS号：77-86-1]。

7.1.7 氢氧化钠（NaOH，CAS号：1310-73-2）。

7.1.8 氯化钠（NaCl，CAS号：7647-14-5）。

7.1.9 无水乙醇（CH3CH2OH，CAS 号：64-17-5）。

7.1.10 盐酸（HCl，CAS号：7647-01-0）。

7.1.11 β-巯基乙醇（C2H6OS，CAS号：60-24-2） 。

7.2 SNP 基因分型

7.2.1 2×PCR MIX。

7.2.2 引物工作液。

8 引物相关信息

引物相关信息见附录B。

9 操作程序

9.1 样品准备

送检样品可为种子、幼苗、叶片等组织或器官。样品需扦样时，应符合GB/T 3543.2的规定。每份样品取不少于30个个体的叶片或其他等效物，混合分析，必要时进行个体检测。

9.2 DNA 提取

取幼苗或叶片200 mg～300 mg，置于2.0 mL离心管，加液氮充分研磨，或取种子充分磨碎后移入2.0 mL离心管。每管加入700 μL经65 ℃预热的CTAB提取液，充分混合，65 ℃水浴60 min，期间轻微颠倒混匀。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 离心15 min。吸取上清液转移至新的离心管中，加入等体积预冷的异丙醇，轻轻颠倒混匀，-20 ℃放置30 min 后在4 ℃、12 000 rpm离心10 min。弃上清液，加入70%乙醇，洗涤2遍，自然条件下干燥，加入200 µL超纯水或TE缓冲液充分溶解，检测DNA浓度和质量备用。

注：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。

9.3 SNP基因分型

9.3.1 PCR扩增

PCR反应可以在不同规格的PCR板或膜上进行，反应体系的总体积和各组分体积按照表1进行配制，设置1个空白对照和2个参照样品。

表 1 基于微孔板或微量反应孔膜平台的 PCR 反应体系

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 微孔板类型 | 96 微孔板（μL） | 384 微孔板（μL） | 微量反应孔膜（μL） |
| DNA 模板（50 ng/μL） | 1.5 | 1 | 0.8 |
| 2×PCR MIX | 5 | 2.5 | 0.78 |
| 引物工作液 | 0.140 | 0.07 | 0.02 |
| 双蒸水 | 3.36 | 1.43 | - |
| 总反应体积 | 10 | 5 | 1.6 |

PCR 反应程序如下：

a） 95 ℃ 10 min；

b） 95 ℃ 15 s，57 ℃ 60 s，45次循环；

c）若初始反应结束检测不到荧光信号，可继续 95 ℃ 15 s，57 ℃ 60 s，10次～20次循环。

9.3.2 荧光原位扫描

利用荧光原位扫描系统（6.11）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。

9.4 数据记录

数据记录方式用SNP位点碱基符号表示基因型，如AA、TT、CC或GG，缺失数据记录为“--”。数据质量需符合对应检测平台的质控要求。

10 结果统计

将送检品种与对照品种的所有数据逐个比较，按照位点存在差异、无差异、数据缺失、无法判定等情形记录，统计差异位点数。

11 结果判定

11.1 判定规则

当品种间差异位点数≥2时，排除两者为同一品种；当品种间差异位点数为1时，不确定两者为同一品种；当差异位点数为0时，不排除两者为同一品种。

11.2 结果表述

送检品种 与对照品种 （或数据库中 品种）采用 检测平台，检测位点数为 ，差异位点数为 ，判定为 。

附 录 A

（资料性）

溶液配制

**A.1 DNA**提取

**A.1.1 0.5 mol/L EDTA**溶液

称取186.1 g乙二胺四乙酸二钠溶于800 mL水中，加NaOH调pH至8.0，加水定容至1000 mL，121℃高压灭菌20 min。

**A.1.2 1 mol/L Tris-HC**溶液

称取60.55 g 三羟甲基氨基甲烷溶于400 mL水中，加HC1调pH至8.0，加水定容至500 mL，121℃高压灭菌20 min。

**A.1.3 5 mol/L NaCl** 溶液

称取146.1 g 氯化钠，加水定容至500 mL，121℃高压灭菌20 min。

**A.1.4 CTAB** 提取液

分别称取20 g十六烷基三甲基溴化铵、81.7 g氯化钠和20 g聚乙烯吡咯烷酮溶于约700 mL水中，加入100 mL Tris-HCl溶液（1 mol/L，pH 8.0）溶液和40 mL EDTA溶液（0.5 mol/L，pH 8.0），加水定容至1 L，121℃高压灭菌20 min。

**A.1.5 TE**缓冲液

分别量取5 mL Tris-HCl溶液（1 mol/L，pH 8.0）和1 mL EDTA溶液（0.5 mol/L，pH 8.0），定容至500 mL，121℃高压灭菌20 min。

**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100 μM，2条上游引物和1条下游通用引物分别取12 μL、12 μL、30 μL混合，再补46 μL水；最终2条上游引物、1条下游通用引物终浓度分别为12 μmol/L、12 μmol/L、30 μmol/L。

附 录 B

（资料性）

36个SNP位点及KASP分型引物信息

表B.1列出了36个SNP位点及KASP分型引物信息以及在参照样品对应的等位变异信息。

表 B.1 36个SNP位点及KASP分型引物信息

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 位点编号 | 引物名称 | 等位变异1 | 等位变异2 | 千禧 | SV7845TH | 引物序列（5'-3'） | 侧翼序列 |
| SSNP0001 | SNP30 | G | A | GG | GA | FAM：ACCTCTGAGTGACACTTCCAATT  HEX：ACCTCTGAGTGACACTTCCAATC  Common：ACACTGATAACCCAGAGCCTTC | GTGGAATAGCCAGAAGATACACTGATAACCCAGAGCCTTCAGTGCTGTTT[A/G]ATTGGAAGTGTCACTCAGAGGTCACAAACTGCTTGTGTTGTCGGATCCAA |
| SSNP0002 | SNP73 | G | A | GG | GG | FAM：GGGATTTCAGAGAGATCAAAACTTAT  HEX：GGGATTTCAGAGAGATCAAAACTTAC  Common：GAACTTTATGCCTTCTTCTGTGC | TTCTCTTTTAAGAAGCTTCCATGGAACTTTATGCCTTCTTCTGTGCATCT[A/G]TAAGTTTTGATCTCTCTGAAATCCCTGATTACAGATCTCACATACGTATC |
| SSNP0003 | SNP92 | T | C | CC | TT | FAM：CACAGCTTTCGTCATCTCCG  HEX：TCACAGCTTTCGTCATCTCCA  Common：AGAACTATATCTAAAGAGGAAATGTTGC | CAAGTACATAGAACTATATCTAAAGAGGAAATGTTGCACCTTTTTGAATT[T/C]GGAGATGACGAAAGCTGTGATATACCTCTGGAATTGAAGCAAGTTAGAGA |
| SSNP0004 | SNP113 | T | C | TT | TC | FAM：TTGAAAGGTGATTGAGGAACG  HEX：TTTGAAAGGTGATTGAGGAACA  Common：CATTTTACTCTTCTATTCGCCTGA | CTCCAAACACCCATTTTACTCTTCTATTCGCCTGAATCACCACCAGCAGC[T/C]GTTCCTCAATCACCTTTCAAAACCCATCGGAGAAACAACCAACTCACAAC |

表 B.1 36个SNP位点及KASP分型引物信息（续）

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 位点编号 | 引物名称 | 等位变异1 | 等位变异2 | 千禧 | SV7845TH | 引物序列（5'-3'） | 侧翼序列 |
| SSNP0005 | SNP148 | A | G | AG | AG | FAM：AGATCAAGGTCTCTCAAGGAAGC  HEX：CAGATCAAGGTCTCTCAAGGAAGT  Common：CTTGACCCACCAAAAGGAGG | TGGTTAGGGAAAGAGGTACTTGACCCACCAAAAGGAGGGACTCCTTGACT[A/G]CTTCCTTGAGAGACCTTGATCTGAAGCTCAGGAAGAATCATTTGCTTCTG |
| SSNP0006 | SNP153 | T | C | TC | TT | FAM：ATCGTCTGGATTAAGGCTAAGG  HEX：AATCGTCTGGATTAAGGCTAAGA  Common：GGGCTATCAAGTGTTATCAGAGAG | GCTCGAGTAGCTGTCGACTCTCAGAGGGCTATCAAGTGTTATCAGAGAGC[T/C]CTTAGCCTTAATCCAGACGATTCAATTGCTGGGGAAGCAGTTTGTGATAT |
| SSNP0007 | SNP222 | A | G | GG | AG | FAM：CATAGGAGGGGACACCATAGC  HEX：CCATAGGAGGGGACACCATAGT  Common：TCTCTCGGTCGGTAAAACCAT | ACAGAACCAAAATTAACCGTTCTCTCGGTCGGTAAAACCATACCTGTCAT[A/G]CTATGGTGTCCCCTCCTATGGGGGGATGATAAAGGGTGGACATTACTTTG |
| SSNP0008 | SNP277 | T | G | TT | TG | FAM：ATGCCGAATATACTTCCTATTACG  HEX：ACATGCCGAATATACTTCCTATTACT  Common：GGTCCATGTCATCATTTTATCCTA | CTAGTCTAGATCCGTTTCTACATGTGTACTAAATTACATGCCGAATATACTTCCTATTAC[T/G]TGTAGGATAAAATGATGACATGGACCATGACAAAGCTCATCTTTATGTCAAAAACATTTG |
| SSNP0009 | SNP338 | G | A | GG | GG | FAM：CCACCAAGGACTATAAGCAAAAGT  HEX：CACCAAGGACTATAAGCAAAAGC  Common：TGGCGAGGAATCAGTGCA | ACCATTACAAACACAATTGCTGGCGAGGAATCAGTGCACAAACTGGCTTC[A/G]CTTTTGCTTATAGTCCTTGGTGGTAGTTATATCATCTTGTTTCTTTGCGG |

表 B.1 36个SNP位点及KASP分型引物信息（续）

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 位点编号 | 引物名称 | 等位变异1 | 等位变异2 | 千禧 | SV7845TH | 引物序列（5'-3'） | 侧翼序列 |
| SSNP0010 | SNP348 | C | G | CG | CG | FAM：CGGTCGAGTTCGGAGACATAC  HEX：CGGTCGAGTTCGGAGACATAG  Common：AGGTTTCTCTTTCTCCGTCCC | GGTGAAGGTTTCTCTTTCTCCGTCCCTTCCCGCGCTGCCGCTAACCAACT[C/G]TATGTCTCCGAACTCGACCGCATTGTTCTCAAAGACAAATCATCGGCTCG |
| SSNP0011 | SNP366 | A | G | AA | AA | FAM：TGAGTAAAACATCGACTTTTGCG  HEX：TGAGTAAAACATCGACTTTTGCA  Common：GCAGCAATGCTAAAGGAAATC | GTAGTTGTTGTTGTTGTTGGAGAGCCTTTGAGTAAAACATCGACTTTTGC[A/G]TATTCTTCTCTTTCATGTTTGATTTCCTTTAGCATTGCTGCAACATCTTT |
| SSNP0012 | SNP382 | T | C | CC | CC | FAM：TCGCAATTTAGCACTTGGTAAG  HEX：TCGCAATTTAGCACTTGGTAAA  Common：CTTGGGTATGCACCTTTTCG | AAAAACCCATACCCATCTGAATTACTCAACTTGGGTATGCACCTTTTCGG[T/C]TTACCAAGTGCTAAATTGCGATATGAGTAAGGAGTACTACCAAAACCGGG |
| SSNP0013 | SNP386 | A | G | GG | GG | FAM：GTGGAGAAATCTTTTGCACCC  HEX：TGTGGAGAAATCTTTTGCACCT  Common：TACTTCCCCCTCCCACGTT | TCTGGTGGCTTCCCATTACTTCCCCCTCCCACGTTATCAGGAAAACTCTT[A/G]GGTGCAAAAGATTTCTCCACAACCACTTCTTCTTCATTCTCTTGTAACAA |
| SSNP0014 | SNP425 | A | G | AA | AG | FAM：TGTAGGGATTACTCTCTGTATGGAAC  HEX：TGTAGGGATTACTCTCTGTATGGAAT  Common：CCCTGGGAAGTCTTTCAATGT | TGATCAACCTTTCACCCCTGGGAAGTCTTTCAATGTGTTGCAGACATTTG[A/G]TTCCATACAGAGAGTAATCCCTACAAATGCTGATAGAAGTAATCTTGGGC |

表 B.1 36个SNP位点及KASP分型引物信息（续）

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 位点编号 | 引物名称 | 等位变异1 | 等位变异2 | 千禧 | SV7845TH | 引物序列（5'-3'） | 侧翼序列 |
| SSNP0015 | SNP519 | A | G | AA | AA | FAM：TTTTCCCTCATAAAGTTTCAATCTC  HEX：TTTTCCCTCATAAAGTTTCAATCTT  Common：TGAATTAAGCTCAGAGTCAAAGAAA | CTATCTTGAATTAAGCTCAGAGTCAAAGAAAAATTCTATTGATTCACTTG[A/G]AGATTGAAACTTTATGAGGGAAAAATACAGAGATCCAAAAATAGCAAGGT |
| SSNP0016 | SNP527 | T | C | CC | CC | FAM：AACGTCAATGGCGTCCCG  HEX：AACGTCAATGGCGTCCCA  Common：TTCTTACTTCTTCAATAAACCTCAGGA | AACGATAATCTTCTTACTTCTTCAATAAACCTCAGGAATTCTTTGGAGAA[T/C]GGGACGCCATTGACGTTGATTCCGATGATGATAGCCATGGCTCCTTGAAT |
| SSNP0017 | SNP545 | T | C | TC | TC | FAM：GAGGCAGAGGAGTGGAAACGC  HEX：GAGGCAGAGGAGTGGAAACGT  Common：GAGCATTCTTTGCTTCCTTGGCA | GCCAAAGAGCAAGCTGAATCTGCTCAAGAGGAGGCAGAGGAGTGGAAACG[T/C]AAGTACGGCATTGCTGCCAAGGAAGCAAAGAATGCTCTTGAGAAGGCAGC |
| SSNP0018 | SNP554 | T | G | TG | TT | FAM：CCTTCAAGATTTTCATTCCTCTG  HEX：TCCTTCAAGATTTTCATTCCTCTT  Common：TCATTATGTAAAGAATCCTCAGCAC | AGTCTCTTCGTTTGCCTCAGCACTTGATCCTTCAAGATTTTCATTCCTCT[T/G]TTCCACAAGGGATTGTGCTGAGGATTCTTTACATAATGAAGGCATATAAG |
| SSNP0019 | SNP556 | A | C | CC | CC | FAM：ACATATTCACAGTCCAATTTGTCTTG  HEX：ACATATTCACAGTCCAATTTGTCTTT  Common：AAATAAGCTTTGCCATTGTAAGAGA | ACTCCAAGGGACCAAATAAGCTTTGCCATTGTAAGAGATAAGATCATGTC[A/C]AAGACAAATTGGACTGTGAATATGTTCTTAGACTGCGAACGGCGTAACTT |

表 B.1 36个SNP位点及KASP分型引物信息（续）

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 位点编号 | 引物名称 | 等位变异1 | 等位变异2 | 千禧 | SV7845TH | 引物序列（5'-3'） | 侧翼序列 |
| SSNP0020 | SNP574 | T | C | CC | TC | FAM：TTCTTGAATCACTAAATGCACCC  HEX：AATTCTTGAATCACTAAATGCACCT  Common：AGTTACAGATTCTCCTACTTTCTTATTCA | AGATTTTGAAGTTCACCCAACTCTTCAATTCTTGAATCACTAAATGCACC[T/C]ACGACAAATCTTGTTGAATAAGAAAGTAGGAGAATCTGTAACTTGCTTTT |
| SSNP0021 | SNP581 | T | C | CC | TT | FAM：GATTGTGGATTAAGGAATTTTGGTGC  HEX：GATTGTGGATTAAGGAATTTTGGTGT  Common：CCAATTATTCCCATCCATTTCAACT | ATCGAAGCCAGAAATTGTGATTATTGATTGTGGATTAAGGAATTTTGGTG[T/C]GGAGTTGAAATGGATGGGAATAATTGGAGGGCCGCTCAGGCTCAGGCTCC |
| SSNP0022 | SNP612 | T | C | TT | CC | FAM：GTTACTGAGTTGCATTATGAAGATATTG  HEX：TGTTACTGAGTTGCATTATGAAGATATTA  Common：AACAACAGGGTTGCTAACATTTT | TGGGCAATAAACTTGATCAATAACAACAGGGTTGCTAACATTTTGGACAA[T/C]AATATCTTCATAATGCAACTCAGTAACAACACCTTGATGTGAAGCTGGCC |
| SSNP0023 | SNP654 | T | C | TT | TC | FAM：AGCCGCAGAGGTAGTAGTTCC  HEX：CAGCCGCAGAGGTAGTAGTTCT  Common：GTTGCCGCTTCTCATCTCC | TCTATTCCGGTAAGAGAGATCCGATGGATCAGCCGCAGAGGTAGTAGTTC[T/C]GTCGGAGACTGTGTCAGCGAGGAGTCGAGGGAGATGAGAAGCGGCAACGG |
| SSNP0024 | SNP660 | A | G | AA | AA | FAM：TTTCCTCATTCTCGATCTCCG  HEX：GTTTCCTCATTCTCGATCTCCA  Common：ATGGACGAAAGAAAGAGAAAAAGA | TTGGGACATGAGATCATCCAAATGCTTTTGTTTCCTCATTCTCGATCTCC[A/G]AGCTGATTCACGATTCGATATCATTCTTTTTCTCTTTCTTTCGTCCATCA |

表 B.1 36个SNP位点及KASP分型引物信息（续）

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 位点编号 | 引物名称 | 等位变异1 | 等位变异2 | 千禧 | SV7845TH | 引物序列（5'-3'） | 侧翼序列 |
| SSNP0025 | SNP676 | A | G | GG | GG | FAM：TATCAGGCCTTGGTCTAGATGG  HEX：TTATCAGGCCTTGGTCTAGATGA  Common：TAACTCGCCAATTGCAACACT | TAACCTTGCGGAATTTGGTGAAATTTCCTTATCAGGCCTTGGTCTAGATG[A/G]AATATTTAAGGCCGGCAGTGTTGCAATTGGCGAGTTATTATAGGGCTTGT |
| SSNP0026 | SNP690 | A | T | AA | AT | FAM：GCAGCGACCTGACTTCAAAAAT  HEX：GCAGCGACCTGACTTCAAAAAA  Common：GTTATCCCCAGATCTAGCTATATAGT | GAAACATTTTTAAAGTGAGGTCATATAATGCAGCGACCTGACTTCAAAAA[A/T]GTTGTTGATTCTAAATCTGTATTACTATATAGCTAGATCTGGGGATAACA |
| SSNP0027 | SNP697 | A | G | AA | AG | FAM：TTCAACACGAACCTAGTAATAGTCATC  HEX：TTCAACACGAACCTAGTAATAGTCATT  Common：CAGCAGATGCTCATCGGACT | GAAGAAAGCAGAGCGATGGATCACGCAGCAGATGCTCATCGGACTGATTT[A/G]ATGACTATTACTAGGTTCGTGTTGAATGAACAGAGTAAATACCCTGAATC |
| SSNP0028 | SNP712 | T | C | TT | TC | FAM：TGATGGTTCAAGTTCCAATCAC  HEX：TTGATGGTTCAAGTTCCAATCAT  Common：AATAATTTGTTGGTCTTTCATGATG | TATTCTCTAAGTAAGTTAGAAGTAGACACCGGACTCTTTGATGGTTCAAGTTCCAATCA[T/C]GGGGTTGCTAGCAGTGTTCATCATGAAAGACCAACAAATTATTTGGACC |
| SSNP0029 | SNP860 | A | C | AA | AC | FAM：AATGCTAGGCCAATATAAATCAAAC  HEX：AATGCTAGGCCAATATAAATCAAAA  Common：CATATGGTAACTTGCAGGGAGC | CAATGCCGTTGTAGAACTGTTGCTGAAATGCTAGGCCAATATAAATCAAA[A/C]GACCGGACTGCTCCCTGCAAGTTACCATATGCTGATGAATCCTTATAGAA |

表 B.1 36个SNP位点及KASP分型引物信息（续）

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 位点编号 | 引物名称 | 等位变异1 | 等位变异2 | 千禧 | SV7845TH | 引物序列（5'-3'） | 侧翼序列 | |
| SSNP0030 | SNP895 | A | C | CC | AC | FAM：TTCTTTAACAAGGTAAACTATGAGGA  HEX：TCTTTAACAAGGTAAACTATGAGGC  Common：TCCATTTGTTTCAGTTCCCTAA | AACGAGGATTTCAAGAAAGCATTCTTCTTTAACAAGGTAAACTATGAGG[A/C]GAAGCGCAAGTTAGGGAACTGAAACAAATGGATAGCATACGCGCATATTT | |
| SSNP0031 | SNP907 | A | G | AA | GG | FAM：CGTGAGGTGAAGGAACCTCTG  HEX：TCGTGAGGTGAAGGAACCTCTA  Common：TCAGCTTGAGTGGTGATGGC | TTCGGGTGTATCCTCTAGCTAAGACGGATCGTGAGGTGAAGGAACCTCT[A/G]TTCCAAATGTCCCAAGCCATCACCACTCAAGCTGAAAACATTACGGCACA | |
| SSNP0032 | SNP932 | A | C | AA | AA | FAM：CCACAACTCAATACAAATCTAGCG  HEX：GCCACAACTCAATACAAATCTAGCT  Common：CAAATTTTGTTAGTGTAGATTTATCGAG | GAAAGAAGGTAAATACTTCAAATTTTGTTAGTGTAGATTTATCGAGGGA[A/C]GCTAGATTTGTATTGAGTTGTGGCATTAAATTTTAGAAGAACACATGATC | |
| SSNP0033 | SNP947 | G | A | GG | GG | FAM：CAGCTAACCAACCCCTATGTCA  HEX：AGCTAACCAACCCCTATGTCG  Common：AGTTTTAACGGTATTCTTATTGTGTGA | ATTTCCTCAGAATGACTTCATGTTGTTCCAGCTAACCAACCCCTATGTC[G/A]ATCATTCACACAATAAGAATACCGTTAAAACTTTAAAGTTCAAGGATAGC | |
| SSNP0034 | SNP959 | C | G | CC | CG | FAM：GGATCCATTCATTCATCACATTATAG  HEX：GGATCCATTCATTCATCACATTATAC  Common：CTTAAGATGTTCACAAAGACTAAATGG | CACAAACTTATAGATATCATATAAGGATCCATTCATTCATCACATTATA[C/G]TAATAACCCATTTAGTCTTTGTGAACATCTTAAGATAACACGCAATTCAA |

表 B.1 36个SNP位点及KASP分型引物信息（续）

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 位点编号 | 引物名称 | 等位变异1 | 等位变异2 | 千禧 | SV7845TH | 引物序列（5'-3'） | 侧翼序列 |
| SSNP0035 | SNP979 | A | T | AA | AA | FAM：ATTTCTAACTCGTGCTTGCTCATT  HEX：ATTTCTAACTCGTGCTTGCTCATA  Common：TCTAAAAATGACCCAACTCACAATC | CGATAGAGTTCATCTTTATGCAATTTATTTCTAACTCGTGCTTGCTCAT[A/T]ACCGATTGTGAGTTGGGTCATTTTTAGAGTGCTTTCATGGGCATTTGTTT |
| SSNP0036 | SNP1022 | A | G | AG | GG | FAM：TTCCACAAAACCACCATCAAC  HEX：TTCCACAAAACCACCATCAAT  Common：CTACAAGACTATTAATCATGTTTTCCTC | TTATAATCAGTGTACCCTACAAGACTATTAATCATGTTTTCCTCTTTTT[A/G]TTGATGGTGGTTTTGTGGAATAACTTAGTATTGACATTCCTTGGCTAAGA |