

水稻种质资源全基因组 DNA 指纹鉴定方法研究

马小定¹, 崔迪¹, 韩冰¹, 焦成智^{1,2}, 韩龙植¹

(¹中国农业科学院作物科学研究所 / 农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081;

²天津极智基因科技有限公司, 天津 301700)

摘要: 开展水稻种质资源 DNA 指纹鉴定可以赋予每份种质统一的身份信息, 对于查清我国资源家底、评估资源遗传基础、提高资源利用效率和保护种业知识产权等具有重要意义。本研究利用已完成全基因组 DNA 重测序的 5374 份水稻种质资源为材料, 通过参考样本资源的选择、高质量 SNP 位点分析以及最优 SNP 数量和 SNP 组合的挑选, 建立了 2 套水稻种质资源全基因组 DNA 指纹标准。通过主成分分析和系统进化树分析, 指纹标准 1 和 2 选择的 SNP 可以代表 94, 197 个高质量群体共有 SNP 进行群体遗传多样性检测; 群体遗传相似度分析验证了指纹标准 1 和 2 对于开展水稻种质资源遗传相似性鉴定的有效性。本研究有望为水稻种质资源保护与利用以及种业知识产权保护等提供技术支撑, 并为其他作物制定全基因组 DNA 指纹鉴定标准提供参考。

关键词: SNP 标记; 指纹图谱; 遗传相似度; 实质性派生品种

Identification and Evaluation Method for Genome-wide DNA Fingerprinting of Rice Germplasm

MA Xiao-ding¹, CUI Di¹, HAN Bing¹, JIAO Cheng-zhi^{1,2}, HAN Long-zhi¹

(¹Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Key Facility for Crop Gene Resources and

Genetic Improvement, Beijing 100081; ²Smartgenomics Technology Institute, Tianjin 301700)

Abstract: DNA fingerprinting analysis that enables assigning uniform identity information for each rice germplasm is of great significance for identifying the genetic basis of rice germplasm resources, improving their utilization efficiency and protecting the intellectual property rights of the seed industry in China. In this study, using 5374 rice accessions that have been genotyped by the whole-genome resequencing, two sets of genome-wide DNA fingerprinting standards were established through the selection of reference sample resources, analysis of high-quality SNP loci, and selection of the optimal number of SNPs and SNP combinations. Through principal component analysis and phylogenetic tree analysis, SNPs in the collection of fingerprinting standards 1 and 2 could represent 94, 197 high-quality population common SNPs applicable for the population genetic diversity. In addition, population genetic similarity analysis verified the effectiveness of fingerprinting standards 1 and 2 to uncover the genetic similarity identification of rice germplasm resources. This study is expected to provide technical support for the conservation and utilization of rice germplasm resources and the protection of intellectual property rights in the seed industry, and to provide reference for the development of DNA fingerprinting standards for other crops.

Key words: SNP marker; fingerprinting; genetic similarity; essentially derived variety

收稿日期: 2022-12-21 修回日期: 2022-12-26 网络出版日期: 2023-02-06

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20221221001>

第一作者研究方向为水稻种质资源, E-mail: maxiaoding@caas.cn

通信作者: 韩龙植, 研究方向为水稻种质资源, E-mail: hanlongzhi@caas.cn

焦成智, 研究方向为作物进化与功能基因组学, E-mail: jiaocz1990@163.com

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD1200500); 中国农业科学院科技创新工程项目; 国家农作物种质资源保护项目(2018NWB036-01, 2018NWB036-12-2); 国家农作物种质资源平台项目(NICGR2018-001)

Foundation projects: National Key Research and Development Program of China (2021YFD1200500); The CAAS Science and Technology Innovation Program; Protective Program of Crop Germplasm of China (2018NWB036-01, 2018NWB036-12-2); The National Infrastructure for Crop Germplasm Resources (NICGR2018-001)

“DNA 指纹”概念最早由英国科学家 Alec Jeffreys 于 1985 年提出^[1],用于表示人类基因组 DNA 经酶切和探针杂交后形成的 DNA 条带。在人类基因组中存在的多态性极高的区域,该区域 DNA 经酶切形成的 DNA 条带可区分不同的个体,像人的指纹一样,因此称为 DNA 指纹。多个 DNA 指纹组合在一起,形成了某个个体的指纹图谱。

近年来,随着 DNA 指纹鉴定技术的快速发展与种质资源的有效保护和高效利用的迫切需求,水稻等重要农作物种质资源的 DNA 指纹鉴定工作越来越受到重视。目前在我国国家作物种质库保存的水稻种质资源达 9 万余份,包括野生稻、地方品种、选育品种、品系和遗传材料以及国外引进资源等,对这些水稻种质资源构建 DNA 指纹图谱是当务之急^[2-3]。首先,通过构建 DNA 指纹图谱,可以克服依赖形态特征鉴定种质资源的局限性,且为优异基因发掘和种质资源的有效利用提供 DNA 指纹信息,将显著提高种质资源的利用效率;其次,可以为水稻品种知识产权保护提供 DNA 指纹鉴定技术支撑。新《种子法》大幅提升了针对种业创新的相关知识产权保护,尤其是涉及国家粮食安全及老百姓饭碗的种业知识产权保护。DNA 指纹鉴定赋予品种统一的身份信息,可以明晰知识产权归属、保护产权人权益和打击假冒伪劣套牌侵权行为。此外,通过 DNA 指纹鉴定,可以鉴别和剔除种质库保存的重复资源,节省宝贵的库存空间,减少鉴定评价的工作量,提高种质资源的保存质量与利用效率。

水稻是我国最重要的粮食作物之一,对保障国家粮食安全具有举足轻重的地位^[4],因此水稻 DNA 指纹鉴定一直备受关注。水稻品种 DNA 指纹鉴定方法的研究起始于 2007 年,主要是利用 24 个 SSR 分子标记扩增产物的电泳图谱对不同水稻品种进行鉴别。到目前为止,水稻 DNA 指纹鉴定的分子标记类型经历了 SSR、SNP 和 MNP 等,检测位点的数量由 24 个增加到几千个,基因分型方法包括银染、荧光扫描和 SNP 芯片扫描等^[5-8]。已建立的水稻 DNA 指纹鉴定方法主要是针对水稻选育品种,而针对野生稻、地方品种、国外引进资源和遗传材料等类型的种质资源鉴定方法还鲜有报道。另外,现有 DNA 鉴定平台间的指纹数据相对独立,不同种质资源相同检测平台的鉴定数据统一性也不完全一致,这些问题将为后续水稻种质资源的相似度比较、特别是实质性派生品种的鉴别增加了难度。

本研究利用来自全国不同省份和不同国家的

5374 份水稻种质资源为基本分析群体,包括选育品种(系)、地方品种、国外引进资源以及杂草稻和野生稻等种质资源,结合深度(15×)全基因组重测序数据,全面分析 SNP 在染色体上的均匀分布、样本多样性和两两样本间遗传相似度等指标,通过迭代计算明确了构建全基因组 DNA 指纹所包括的最优 SNP 数量和 SNP 组合,提出了水稻种质资源全基因组 DNA 指纹鉴定方法(图 1),期望为水稻种质资源的保护与利用、种业知识产权的保护等提供技术支撑。

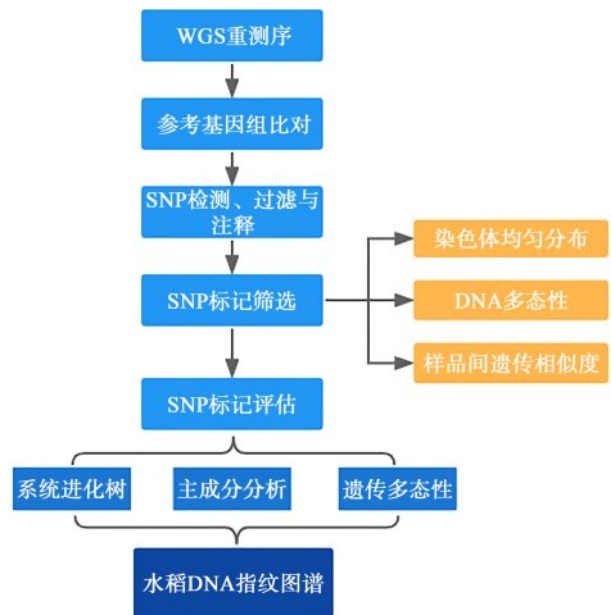


图 1 指纹图谱构建流程

Fig.1 Fingerprint construction workflow

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料共 5374 份,包括选育品种(系)3749 份、地方品种 1203 份、国外引进资源 297 份以及杂草稻 104 份和野生稻 21 份。

1.2 研究方法

1.2.1 基因组重测序 (1) DNA 提取与质检:使用 DNasecure Plant Kit (TIANGEN) 进行 DNA 提取,使用 NanoDrop 2000 分光光度计 (Thermo Fischer Scientific)、琼脂糖凝胶电泳和 Qubit 荧光计 (Invitrogen) 3 种方法对提取的 DNA 进行定量和质检。(2) 文库构建:检验合格的 DNA 样品通过 Covaris 破碎仪随机打断成长度为 350 bp 的片段。采用 TruSeq Library Construction Kit 进行建库,严格使用说明书推荐的试剂和耗材。DNA 片段经末端修复、加 ployA 尾、加测序接头、纯化、PCR 扩增等

步骤完成整个文库制备。(3)文库库检:文库构建完成后,先使用 Qubit2.0 进行初步定量,稀释文库至 1 ng/ μ L,随后使用 Agilent 2100 对文库的插入片段大小进行检测。插入片段大小符合预期后,使用 qPCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量(文库有效浓度 > 2 nmol/L),以保证文库质量。(4)上机测序:库检合格后,把不同文库按照有效浓度及目标下机数据量的需求混合后,利用 Illumina NovaSeq6000 测序平台进行 PE150 模式测序。

1.2.2 参考基因组比对和变异检测 (1)数据质控:利用 Fastp^[9] 的默认参数进行质控,过滤不合格 Reads,得到的 Clean reads 用于后续分析。Reads 过滤标准如下:(1)修整带接头序列的 Reads;(2)当单端测序 Read 中含有 N 的碱基数大于 5,去除此对 Paired-end reads;(3)当单端测序 Read 中含有的低质量(Q \leq 15)碱基数超过该条 Read 长度比例的 40%时,需要去除此对 Paired-end reads。(2)比对参考基因组:基于 Clean reads,使用 BWA 软件^[10](参数“bwa mem -k 32 -M -R”)进行参考基因组比对分析,使用 Samtools^[11] 对比对结果进行排序和去重,参考基因组选择水稻日本晴基因组 MSU v.7.0 版。(3)SNP 检测与过滤:使用 GATK 软件^[12] 进行 SNP 变异检测。

1.2.3 SNP 位点筛选 为获得高质量的 SNP 标记,按照如下标准进行过滤:(1)SNP 的 Reads 支持数不低于 8;(2)位点对比的质量值(MQ, RMS mapping quality)不低于 40;(3)基因型的质量值(GQ, genotype quality)不低于 5;(4)每个位点的样品缺失率为 0;(5)每个位点的最小等位基因频率 MAF > 0.2;(6)每个位点的杂合度 < 0.05;(7)独立标记位点的连锁强度(r^2) < 0.8。

1.2.4 主成分与系统进化树分析 使用 GCTA 软件^[13] 进行主成分降维聚类,取遗传解释率最高的前 3 个主成分对 5374 份水稻种质材料进行聚类。使用 TreeBest (v1.9.2)^[14] 软件对 5374 份水稻种质材料进行系统进化树分析,并进行 1000 次迭代检验。

1.2.5 遗传相似度计算 $GS_{ij} = n_{ij}/N_{ij} \times 100\%$, 式中 GS_{ij} 表示样品 i 与指定资源 j 的遗传相似度; n_{ij} 表示样品 i 与指定资源 j 中均检测出、而且基因型相同的 SNP 位点数目; N_{ij} 表示样品 i 与指定资源 j 中均检测出的 SNP 位点数目。

2 结果与分析

2.1 群体共有 SNP 位点分析

前期,本实验室(中国农业科学院作物科学研

究所水稻种质资源研究组)利用重测序技术对 5374 份水稻种质资源进行了基因型精准鉴定^[15-16],测序平均深度约 15.2 \times ,与参考基因组比对后,共获得了覆盖全基因组的 28,683,046 个初始 SNP;然后,根据测序深度、比对质量值、基因型质量值、位点缺失率、最小等位基因频率、杂合率等参数过滤后获得 94,197 个高质量的群体共有 SNP;最后,根据 LD 连锁强度(r^2)过滤掉连锁紧密的 SNP,最终获得 6,819 个高质量的独立 SNP。

2.2 SNP 位点筛选

根据 5374 份种质资源的地理来源与种质类型,从中选取了 3960 份资源用于 SNP 位点筛选的参考群体。以 6,819 个高质量的独立 SNP 为基础,根据标记在染色体上的均匀分布度、标记在群体中的多样性表现和两两样本间遗传相似度($\leq 92\%$ ^[8])等指标,通过迭代计算确定构建全基因组 DNA 指纹所包括的最优 SNP 数量和 SNP 组合。为了使鉴定结果更可靠,构建了 2 套 DNA 指纹标准。

2.2.1 指纹标准 1 为了提高种质资源指纹鉴定效率,首先构建了指纹标准 1,每条染色体包括 20 个 SNP,共 240 个位点;较少的位点数是为了提高后续指纹数据库比对运算的速度。为了明确最有效的 SNP,以染色体分布均匀性为基础,每次抽取 240 个 SNP,随机抽取 20 次,计算两两样本间的遗传相似度,以遗传相似度 $\leq 92\%$ 为标准统计可区分的样本数。其中,第 11 次抽样的 SNP 组合可区分的样本数最多,为 2907 个样本(图 2),占总样本数的 73.4%,并且染色体分布也比较均匀(图 3)。因此,将第 11 次抽样得到的 240 个 SNP 标记定为指纹标准 1 的 DNA 多态性位点,详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20221221001>,附表 1。

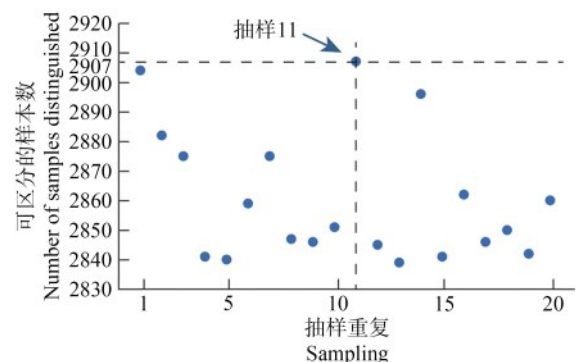


图 2 20 次随机抽样的 SNP 组合可区分的样本数量
Fig.2 Number of samples distinguishable by 20 randomly sampled SNPs

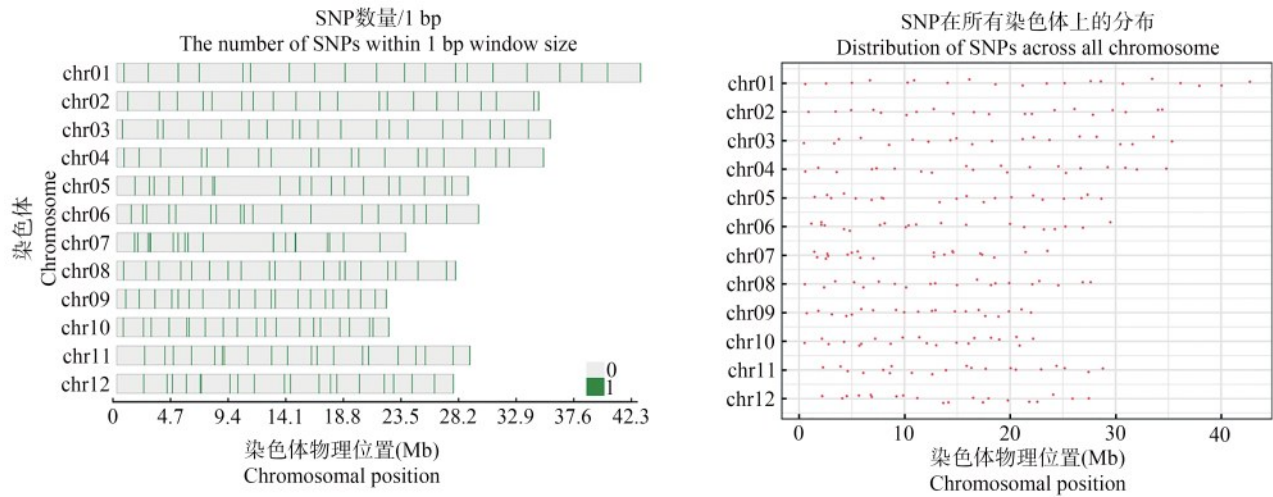


图3 指纹标准1 SNP标记在染色体上的分布

Fig.3 Distribution of SNP markers on chromosomes in fingerprint standard1

2.2.2 指纹标准 2 在指纹标准 1 的基础上构建了指纹标准 2, 目的是以最少的 SNP 标记区分最多种质资源。以指纹标准 1 的 240 个 SNP 为基础, 每轮增加 12 个 SNP (每条染色体 1 个 SNP), 考虑 SNP 的染色体分布均匀性, 随机抽取 20 次, 每次抽样都进行 2000 次迭代计算, 然后基于增加后的 SNP 计算两两样本间的遗传相似度, 以遗传相似度 $\leq 92\%$ 为标

准统计可区分的样本数量。在标记增加到第 313 轮 (924 个 SNP) 的第 11 次抽样时可区分的样本数最多, 为 3730 个样本 (图 4), 占总样本数的 94.2%, 并且染色体分布也比较均匀 (图 5)。将迭代到 313 轮、第 11 次抽样得到的 924 个 SNP 标记定为指纹标准 2 的 DNA 多态性位点, 详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20221221001>, 附表 2。

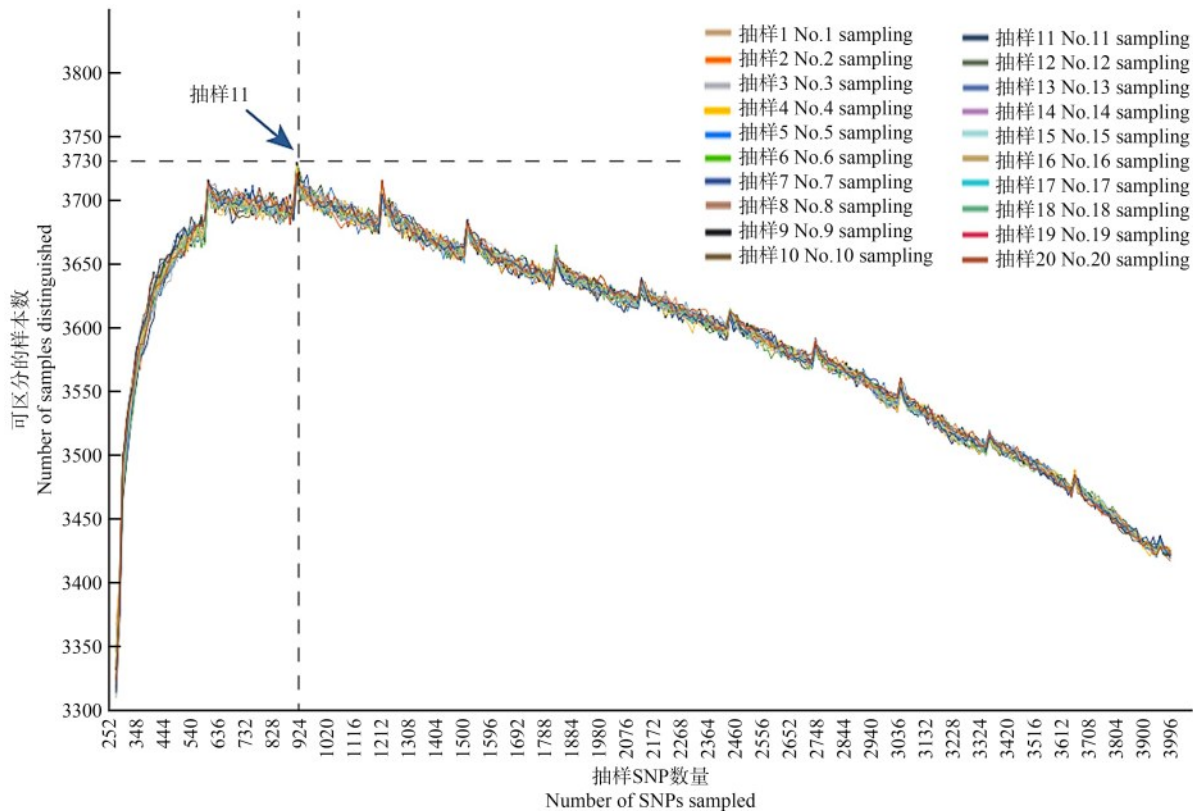


图4 随机抽样和迭代计算的 SNP 组合可区分的样本数量

Fig.4 Number of samples distinguishable by the randomly sampled and iterative calculated SNPs

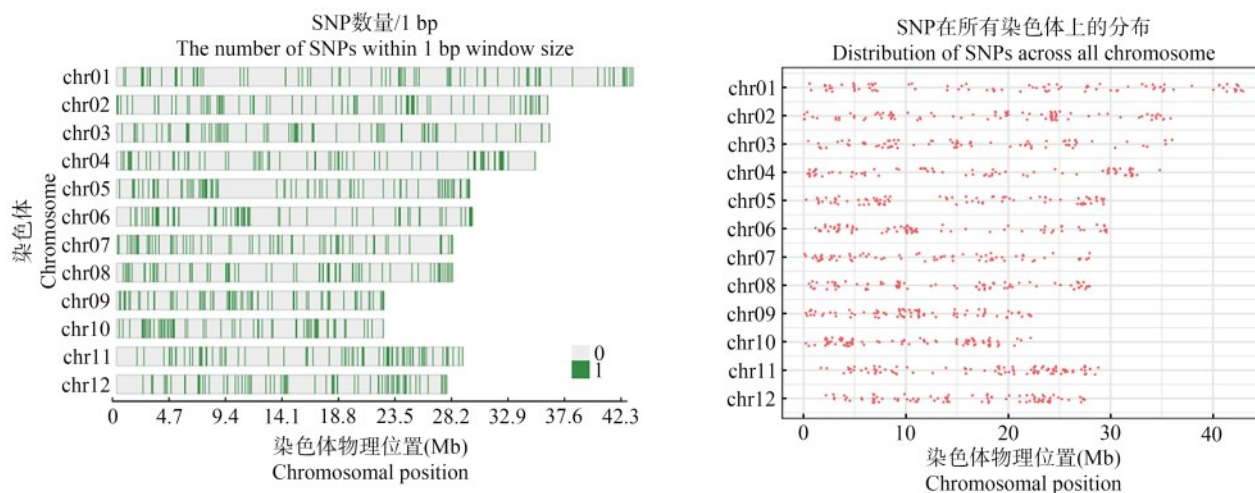


图5 指纹标准2 SNP标记在染色体上的分布

Fig.5 Distribution of SNP markers on chromosomes in fingerprint standard 2

2.3 SNP位点评估

为了评估建立的指纹标准1和2能否有效检测群体的遗传多样性,针对5374份水稻种质资源,分别利用94,197个高质量的群体共有SNP、指纹标准1的240个SNP和指纹标准2的924个SNP进行系统进化关系和主成分聚类分析。

根据系统进化树分析,基于94,197个高质量群体共有SNP将5374份水稻种质资源划分为粳、籼稻

两个主要类群,每个类群内部又划分为选育品种、地方品种、杂草稻和野生稻等(图6A),种质类型相同的资源基本聚合在一起。利用指纹标准1的240个SNP标记和指纹标准2的924个SNP标记进行系统进化关系分析,同样将资源划分为粳、籼稻两个主要类群,每个类群又区分为选育品种、地方品种、杂草稻和野生稻等,其聚类效果与94,197个SNP的结果一致(图6B、C)。

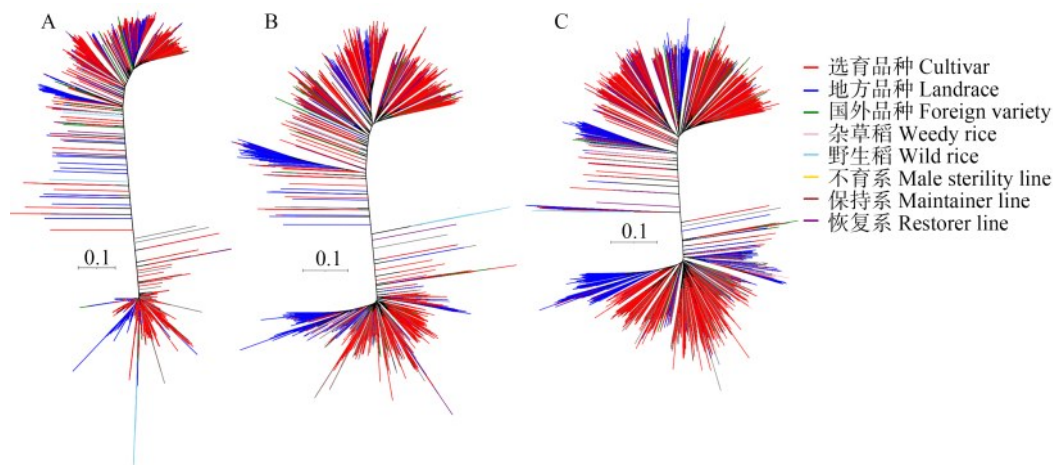


图6 基于94,197个SNP(A)、指纹标准1的240个SNP(B)和指纹标准2的924个SNP(C)分析5374份水稻种质资源的系统进化关系

Fig.6 Phylogenetic relationship of 5374 rice accessions built from 1,000 randomly selected 94,197 SNPs(A), 240 SNPs(B) and 924 SNPs(C)

根据主成分分析,基于94,197个高质量的群体共有SNP将5374份水稻种质资源划分为粳、籼稻两个主要类群,每个类群内部又分为若干小类群(图7A),种质类型相同的资源基本聚合在一起;基于指纹标准1和指纹标准2的SNP标记进行主成分聚类

分析,其聚类效果可达到与94,197个SNP类似的PCA结果,均可区分出主要类群和每个类群内部的多资源类型(图7B、C)。因此,本研究建立的指纹标准1和2所选取的SNP可以有效代表94,197个高质量的群体共有SNP进行群体遗传多样性检测。

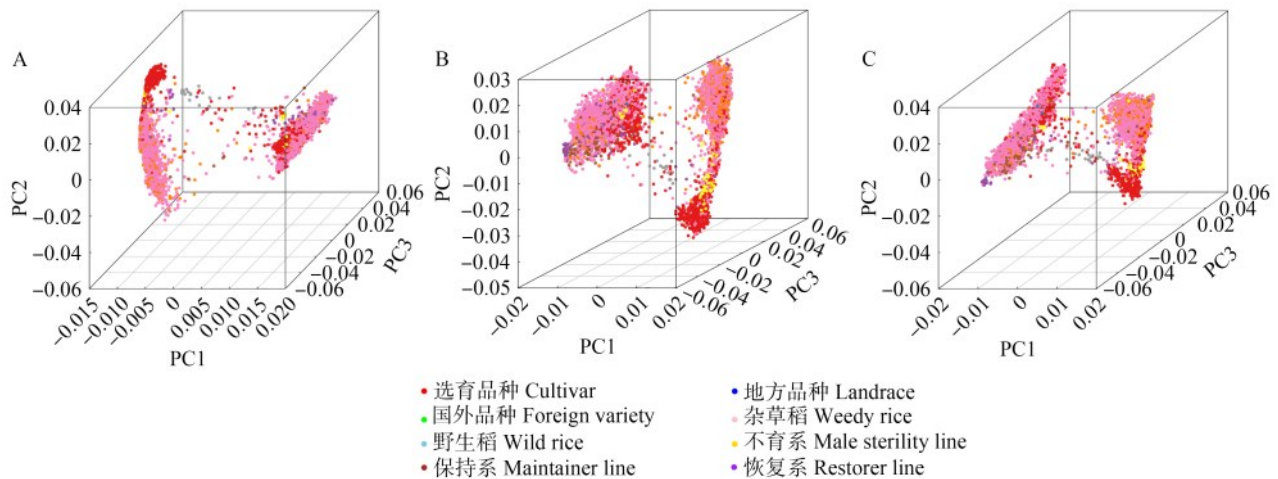


图7 基于94,197个SNP (A)、指纹标准1的240个SNP (B)和指纹标准2的924个SNP (C)分析5374份水稻种质资源的主成分聚类图

Fig.7 PCA plots of 5374 rice accessions built by 94,197 SNPs (A), 240 SNPs (B) and 924 SNPs (C)

2.4 群体遗传相似度分析

为了验证建立的指纹标准的检测效果,针对筛选的3960份参考群体,分别利用指纹标准1和2的SNP计算了两两样本间的遗传相似度。基于指纹标准1的SNP位点,3960份水稻资源的两两遗传相

似度在11.67%~99.58%之间,均值为55.34%,中位数为51.67%。小于92%的样本对有7832535对,占总样本对的99.920%;大于92%且小于97%的样本对有6190对,占总样本对的0.079%;大于97%的有95对,占总样本对的0.001%(图8A)。

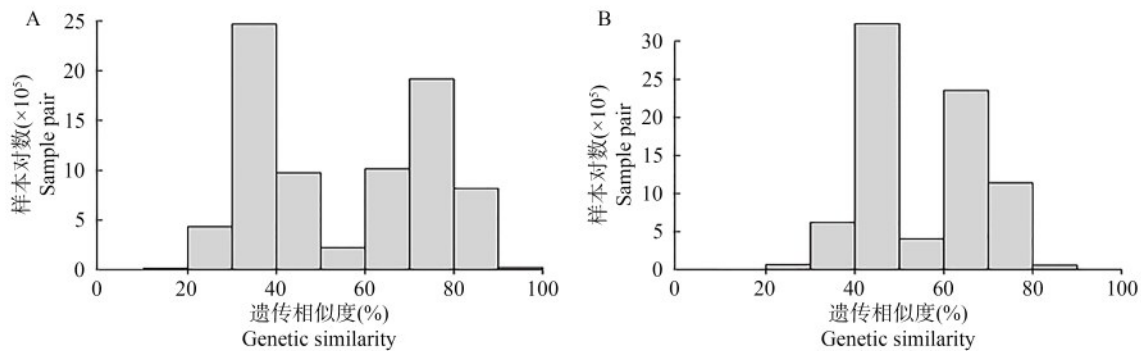


图8 基于指纹标准1的240个SNP (A)和指纹标准2的924个SNP (B)分析3960份水稻种质资源两两间遗传相似度

Fig.8 Pairwise genetic similarity 3960 rice accessions calculated by 240 SNPs (A) and 924 SNPs (B)

基于指纹标准2的SNP位点,5374份水稻资源的两两遗传相似度在18.29%~96.75%之间,均值为54.90%,中位数为50.43%。小于92%的样本对有7838504对,占总样本对的99.996%;大于92%且小于97%的样本对有316对,占总样本对的0.004%;没有大于97%的样本对(图8B)。从结果可以看出,两套指纹标准相似度分布有差异;在相似度阈值为92%时,指纹标准2鉴定的样本对数更多。因此,通过两套标准进行综合分析,鉴定结果可以相互验证,说明建立两套指纹标准是非常必要的。

3 讨论

本研究利用水稻种质资源DNA第二代重测序

数据,以群体共有的6819个独立SNP为基础,根据SNP在染色体上的均匀分布、多样性表现和两两样品遗传相似度等3个方面分析,构建了两套DNA指纹标准。第1套DNA指纹标准包括240个SNP,第2套DNA指纹标准包括924个SNP。在最优SNP数量和SNP组合筛选时,根据92%的相似度阈值,指纹标准2可鉴别的资源份数多于指纹标准1的,可鉴别样本总数的94.2%,但是仍然没有达到100%。可能的原因是,虽然从地理来源和种质类型上,在一定程度上规避了参考样本的同质性,但是不能避免有些资源通过不同区域相互引种而产生的高遗传相似性。利用指纹标准1、2选择的SNP位点,对5374份种质资源进行系统进化树和主成

分析,结果显示指纹标准1和指纹标准2的SNP的聚类效果与利用94,197个高质量的群体共有SNP标记聚类结果一致,说明本研究SNP位点选择的有效性。

本研究构建的两套DNA指纹标准具有广泛的应用前景。开展水稻种质资源DNA指纹鉴定,不仅能赋予每份种质资源独一无二的身份信息,而且还可以将拟入库资源与库存资源进行比对,提高种质资源收集保护效率。目前,利用两套DNA指纹标准,已经构建了超过10,000份水稻种质资源的指纹图谱数据库,并开发了查询和相似度比对系统(即将上线)。通过标准的DNA指纹鉴定,不仅可以方便、快速、准确的查询和比对两两样本或者样本与数据库种质的遗传相似度,还特别适合《新种子法》的实质性派生品种的界定。

与现有方法比较^[17],本研究构建的DNA指纹鉴定方法具有三方面优势:(1)本指纹标准适用的范围更广。在构建参考样本群体时,本研究增加了地方品种、国外品种、野生稻和杂草稻等特殊资源类型,确保选择的SNP位点多样性可以覆盖这些类型的水稻资源。利用本研究的标准,可以很明确的将不同类型资源进行进化树分析和群体结构分析,充分说明了本标准的广适用性。而目前其他鉴定方法,仅针对水稻育成品种^[6-9],对其他类型的水稻种质鉴定效果未知。(2)鉴定结果更可靠。为了鉴定结果的准确性,本研究构建了两套指纹标准,当鉴定两两样本是否为同一材料时,如果指纹标准1鉴定的相似度 $\leq 92\%$,可以确定两两样本不是同一材料;当指纹标准1鉴定的相似度 $> 92\%$ 时,可以利用指纹标准2再分析,如果相似度 $\leq 92\%$,可以确定两两样本不是同一材料,如果相似度 $> 92\%$ 时,可以确定一个样本是另一个样本的实质性派生品种或者两两疑似为同一品种。(3)可以低成本、高通量的开展鉴定。水稻基因组很小,第二代测序成本越来越低,本方法是一次性投入,即可进行全面分析。后续将构建从测序下机到DNA指纹自动输出的一站式分析系统,使每位研究人员都可以快速判断自己研究材料的独特性和新颖性。

参考文献

- [1] Jeffreys A J, Wilson V, Thein S L. Hypervariable minisatellite regions in human DNA. *Nature*, 1985, 314(6006):67-73
- [2] 刘旭,李立会,黎裕.方泐.作物种质资源研究回顾与发展趋势. *农学学报*, 2018(1):1-6
- [3] Liu X, Li L H, Li Y, Fang W. Crop germplasm resources advances and trends. *Journal of Agriculture*, 2018(1):1-6
- [3] 韩龙植.水稻种质资源基础性工作研究进展. *植物遗传资源学报*, 2013, DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.2013.01.023
- [4] Han L Z. Research progress of basic work on rice germplasm resources. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.2013.01.023
- [4] Surridge C. Rice cultivation: Feast or famine? *Nature*, 2004, 428(6981):360-361
- [5] 庄杰云,施勇烽,吕波,陈能,杨坤,应杰政,曾瑞珍. NY/T 1433-2007, 水稻品种鉴定 DNA 指纹方法. 北京:中国农业出版社,2007
- [5] Zhuang J Y, Shi Y F, Lv B, Chen N, Yang K, Ying J Z, Zeng R Z. NY/T 1433-2007, Identification of rice (*Oryza sativa* L.) varieties using microsatellite markers. Beijing: China Agriculture Press, 2007
- [6] 徐群,魏兴华,庄杰云,吕波,袁筱萍,刘平,张新明,余汉勇,堵苑苑. NY/T 1433-2014, 水稻品种鉴定技术规程 SSR 标记法. 北京:中国农业出版社,2014
- [6] Xu Q, Wei X H, Zhuang J Y, Lv B, Yuan X P, Liu P, Zhang X M, Yu H Y, Du Y Y. NY/T 1433-2014, Protocol for identification of rice varieties-SSR marker method. Beijing: China Agriculture Press, 2014
- [7] 魏兴华,刘丰泽,韩斌,徐群,冯旗,赵妍,支巨振,周泽宇,杨窑龙,冯跃,任雪贞,王珊,章孟臣. NY/T 2745-2021, 水稻品种真实性鉴定 SNP 标记法. 北京:中国农业出版社,2021
- [7] Wei X H, Liu F Z, Han B, Xu Q, Feng Q, Zhao Y, Zhi J Z, Zhou Z Y, Yang Y L, Feng Y, Ren X Z, Wang S, Zhang M C. NY/T 2745-2021, Rice (*Oryza sativa* L.) varieties genuineness identification-SNP based method. Beijing: China Agriculture Press, 2021
- [8] 彭海,方治伟,李论,马爱进,周俊飞,温常龙,李甜甜,唐浩,陈红,崔野韩,张嘉楠,贾英民,徐娜,宋书峰,胡美霞,符习勤,赵治海,梁勇,徐振江,高利芬,陈利红,韩瑞玺,张蝶,张静,余进文. GB/T 38551-2020, 植物品种鉴定 MNP 标记法. 北京:中国标准出版社,2020
- [8] Peng H, Fang Z W, Li L, Ma A J, Zhou J F, Wen C L, Li T T, Tang H, Chen H, Cui Y H, Zhang J N, Jia Y M, Xu N, Song S F, Hu M X, Fu X Q, Zhao Z H, Liang Y, Xu Z J, Gao L F, Chen L H, Han R X, Zhang D, Zhang J, Yu J W. GB/T 38551-2020, Identification of plant varieties-MNP marker method. Beijing: China Standards Press, 2020
- [9] Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 2018, 34(17):i884-i890
- [10] Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R, 1000 genome project data processing subgroup. The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 2009, 25(16):2078-2079
- [11] Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 2009, 25:1754-1760
- [12] van der Auwera G A, Carneiro M O, Hartl C, Poplin R,

- Angel G D, Levy-Moonshine A, Jordan T, Shakir K, Roazen D, Thibault J, Banks E, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, DePristo M A. From FastQ data to high confidence variant calls: The genome analysis toolkit best practices pipeline. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2013, 43(1110):11.10.1-11.10.33. DOI: 10.1002/0471250953.bi1110s43
- [13] Yang J, Lee S H, Goddard M E, Visscher P M. GCTA: A tool for genome-wide complex trait analysis. *The American Journal of Human Genetics*, 2011, 88:76-82
- [14] Vilella A J, Severin J, Ureta-Vidal A, Heng L, Durbin R, Birney E. Ensembl compara gene trees: Complete, duplication-aware phylogenetic trees in vertebrates. *Genome Research*, 2009, 19:327-335
- [15] Han B, Cui D, Ma X D, Cao G L, Zhang H, Koh H J, Han L Z. Evidence for evolution and selection of drought-resistant genes based on high-throughput resequencing in weedy rice, *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(7): 1949-1962
- [16] Cui D, Zhou H, Ma X D, Lin Z C, Sun L H, Han B, Li M M, Sun J C, Liu J, Jin G X, Wang X J, Cao G L, Deng X W, He H, Han L Z. Genomic insights on the contribution of introgressions from Xian/Indica to the genetic improvement of geng/japonica rice cultivars. *Plant Communications*, 2022, 3(3):100325
- [17] 马静,安永平,王兴盛,孙建昌.宁夏水稻品种微卫星标记数据库的建立. *植物遗传资源学报*, 2016, 17(2):226-232
- Ma J, An Y P, Wang X S, Sun J C. Establishment of Ningxia rice microsatellite marker database. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17(2):226-232

附表 1 指纹标准 1 SNP 位点及参考基因组基因型信息

Supplementary Table 1 The SNPs position and genotypes of Fingerprint 1 in the reference genome

染色体	位置	对照	变异	染色体	位置	对照	变异	染色体	位置	对照	变异	染色体	位置	对照	变异
Chromosome	Position	Reference	Alternation	Chromosome	Position	Reference	Alternation	Chromosome	Position	Reference	Alternation	Chromosome	Position	Reference	Alternation
Chr01	1912177	G	T	Chr02	784763	T	G	Chr03	1021221	T	C	Chr04	1073900	T	A
Chr01	2745354	C	T	Chr02	2116389	C	T	Chr03	1842034	A	G	Chr04	1827386	A	G
Chr01	4823139	T	C	Chr02	5259525	C	T	Chr03	4416979	C	A	Chr04	4702459	G	A
Chr01	6522302	A	G	Chr02	7037726	A	G	Chr03	5893425	C	T	Chr04	5917803	T	C
Chr01	9420461	G	A	Chr02	8491849	C	T	Chr03	8651213	T	C	Chr04	8646787	C	T
Chr01	11112365	G	A	Chr02	10172138	C	T	Chr03	9982503	G	A	Chr04	9316747	A	G
Chr01	13334069	G	A	Chr02	11134366	C	T	Chr03	11160567	A	G	Chr04	12009961	A	G
Chr01	16699702	C	T	Chr02	14039973	T	C	Chr03	13921125	C	T	Chr04	13320833	G	T
Chr01	17325033	T	A	Chr02	15056022	T	A	Chr03	14926781	T	C	Chr04	14230803	C	T
Chr01	20436176	T	C	Chr02	17267121	G	A	Chr03	16670653	T	A	Chr04	16554252	T	A
Chr01	23314692	C	T	Chr02	18746073	C	T	Chr03	18750448	T	C	Chr04	19490157	G	A
Chr01	23923524	C	A	Chr02	19871453	C	T	Chr03	20516507	A	G	Chr04	21277072	G	A
Chr01	26921534	C	T	Chr02	23227165	A	T	Chr03	22388599	T	C	Chr04	21467016	T	G
Chr01	30090453	C	T	Chr02	24248297	G	T	Chr03	23808986	C	T	Chr04	23786637	G	A
Chr01	31729965	G	A	Chr02	25986551	T	C	Chr03	26724709	T	C	Chr04	24874052	T	C
Chr01	32657709	C	G	Chr02	28710053	T	C	Chr03	27877621	A	G	Chr04	27199978	A	T
Chr01	35767019	T	C	Chr02	29822056	G	A	Chr03	30374261	C	T	Chr04	28851894	T	G
Chr01	37141924	T	C	Chr02	32036175	G	A	Chr03	31118200	T	C	Chr04	31005695	T	G
Chr01	40945619	C	A	Chr02	32359700	T	C	Chr03	34533524	T	C	Chr04	32472019	C	T
Chr01	42174461	C	T	Chr02	34618189	T	G	Chr03	34694245	C	T	Chr04	34809308	T	C
Chr05	1431971	C	T	Chr06	845189	T	G	Chr07	117506	C	A	Chr08	1087393	A	T
Chr05	2319155	A	G	Chr06	879988	T	A	Chr07	1829127	G	A	Chr08	2139065	G	T
Chr05	3628768	G	A	Chr06	1768017	C	T	Chr07	2772465	C	A	Chr08	3265252	T	C

Chr05	4727311	C	T	Chr06	3537639	A	G	Chr07	3240048	A	C	Chr08	5189109	A	G
Chr05	7375352	C	T	Chr06	4816072	C	A	Chr07	3641331	A	G	Chr08	6108364	A	C
Chr05	8462238	C	T	Chr06	6747298	G	A	Chr07	5819188	C	A	Chr08	8384682	A	G
Chr05	13325546	C	T	Chr06	7917957	T	A	Chr07	6378583	A	G	Chr08	8630027	C	T
Chr05	13592237	G	A	Chr06	9916018	T	C	Chr07	7731709	T	C	Chr08	10365379	C	T
Chr05	16286457	G	A	Chr06	10373511	T	C	Chr07	8840022	G	A	Chr08	11511273	G	A
Chr05	16741065	C	T	Chr06	11016433	A	T	Chr07	9370290	C	T	Chr08	12840214	C	T
Chr05	16952151	A	T	Chr06	13769273	C	T	Chr07	11616882	T	C	Chr08	14970055	A	G
Chr05	18492029	G	T	Chr06	17830976	T	C	Chr07	13329773	C	T	Chr08	16874738	G	A
Chr05	20505082	A	G	Chr06	21339504	G	T	Chr07	16790223	A	G	Chr08	18144005	C	T
Chr05	21150504	A	G	Chr06	22151874	T	G	Chr07	21541341	A	T	Chr08	19670338	G	A
Chr05	22297464	T	C	Chr06	23601223	C	T	Chr07	22515425	C	T	Chr08	20827515	T	C
Chr05	23590817	A	G	Chr06	25636961	T	G	Chr07	25217773	G	A	Chr08	22600207	A	G
Chr05	25264955	A	G	Chr06	26584049	A	T	Chr07	26472171	G	C	Chr08	22871893	C	T
Chr05	26868653	C	T	Chr06	27067977	T	C	Chr07	26929873	T	G	Chr08	24738259	T	G
Chr05	27638783	T	C	Chr06	28828504	T	G	Chr07	27585181	T	C	Chr08	26750916	C	T
Chr05	28644849	G	T	Chr06	30516804	T	A	Chr07	28305346	C	T	Chr08	28061184	T	A
Chr09	893906	G	C	Chr10	528215	C	T	Chr11	1699342	G	C	Chr12	2010037	A	G
Chr09	2092195	A	G	Chr10	1184624	T	C	Chr11	3859651	G	T	Chr12	3840861	T	C
Chr09	2694782	A	G	Chr10	2793753	C	G	Chr11	4819755	G	A	Chr12	4164718	T	C
Chr09	4473378	C	T	Chr10	3988936	T	C	Chr11	6095773	G	A	Chr12	6822144	C	T
Chr09	4706443	G	A	Chr10	5164478	A	G	Chr11	8515434	C	T	Chr12	6920272	A	G
Chr09	5930415	A	G	Chr10	6366296	G	A	Chr11	9033732	G	A	Chr12	7179018	G	A
Chr09	7789513	T	C	Chr10	7421981	G	A	Chr11	10991330	G	T	Chr12	8917824	T	C
Chr09	8974254	A	G	Chr10	9002920	T	C	Chr11	11756072	C	T	Chr12	10452171	G	C
Chr09	9826375	A	G	Chr10	9620786	C	T	Chr11	13994610	C	T	Chr12	11211824	C	T
Chr09	10902228	G	A	Chr10	11121596	C	T	Chr11	15743082	G	A	Chr12	12428988	G	A
Chr09	12389903	A	G	Chr10	11607196	C	T	Chr11	16655952	G	A	Chr12	14847671	G	A
Chr09	13558329	T	C	Chr10	12904842	T	C	Chr11	17323647	C	G	Chr12	16500932	G	A

Chr09	14719831	A	G	Chr10	14782032	C	T	Chr11	18804086	G	A	Chr12	16991134	A	G
Chr09	15241422	T	C	Chr10	15404170	A	G	Chr11	19309329	C	T	Chr12	19090704	G	A
Chr09	16152482	C	T	Chr10	17269848	T	C	Chr11	21270266	G	T	Chr12	19493561	G	A
Chr09	17575603	A	G	Chr10	18154374	C	T	Chr11	22928597	T	C	Chr12	21822149	G	A
Chr09	19383605	A	C	Chr10	19004345	T	C	Chr11	24438072	T	G	Chr12	22543338	G	A
Chr09	20351810	C	G	Chr10	19981004	C	T	Chr11	24811654	T	C	Chr12	23913714	C	A
Chr09	21347763	A	G	Chr10	21968692	T	C	Chr11	27154576	A	G	Chr12	25868350	A	G
Chr09	22318271	C	T	Chr10	22292752	T	G	Chr11	28818157	C	T	Chr12	26799599	A	G

附表 2 指纹标准 2 SNP 位点及参考基因组基因型信息

Supplementary Table 2 The SNPs position and genotypes of Fingerprint 2 in the reference genome

染色体	位置	对照	变异	染色体	位置	对照	变异	染色体	位置	对照	变异	染色体	位置	对照	变异
Chromosome	Position	Reference	Alternation	Chromosome	Position	Reference	Alternation	Chromosome	Position	Reference	Alternation	Chromosome	Position	Reference	Alternation
Chr01	749254	T	C	Chr02	55317	G	A	Chr03	1021221	T	C	Chr04	595207	A	T
Chr01	1912177	G	T	Chr02	74845	C	T	Chr03	1456961	A	G	Chr04	597011	T	C
Chr01	2075969	C	T	Chr02	117798	A	G	Chr03	1708746	C	T	Chr04	712092	C	T
Chr01	2108065	T	A	Chr02	671183	T	G	Chr03	1842034	A	G	Chr04	964796	G	C
Chr01	2114499	C	T	Chr02	784763	T	G	Chr03	4321231	C	T	Chr04	1072630	A	G
Chr01	2149988	G	A	Chr02	1328316	T	A	Chr03	4416979	C	A	Chr04	1073900	T	A
Chr01	2220473	C	G	Chr02	2116389	C	T	Chr03	4448763	A	G	Chr04	1094474	C	G
Chr01	2223289	G	A	Chr02	3176076	T	C	Chr03	4468857	G	A	Chr04	1149764	G	A
Chr01	2567541	G	A	Chr02	3487281	C	T	Chr03	5813936	A	G	Chr04	1206472	T	G
Chr01	2570855	A	G	Chr02	4598975	G	A	Chr03	5893425	C	T	Chr04	1207346	C	G
Chr01	2745354	C	T	Chr02	4953706	C	G	Chr03	5902816	T	C	Chr04	1214625	C	T
Chr01	2773360	T	C	Chr02	5259525	C	T	Chr03	5978281	G	A	Chr04	1231092	C	T
Chr01	2805975	G	C	Chr02	5894505	G	A	Chr03	6111357	T	C	Chr04	1827386	A	G
Chr01	3747982	A	G	Chr02	7037726	A	G	Chr03	7104613	T	C	Chr04	2484571	G	A
Chr01	4823139	T	C	Chr02	7489961	C	T	Chr03	7344409	T	C	Chr04	2816617	A	G
Chr01	4906381	G	A	Chr02	7613373	C	T	Chr03	7714249	A	G	Chr04	4673304	A	C
Chr01	4958939	C	A	Chr02	8376324	T	G	Chr03	7910826	T	C	Chr04	4689359	A	G
Chr01	4959056	G	A	Chr02	8491849	C	T	Chr03	8265877	T	C	Chr04	4702459	G	A
Chr01	4970314	A	C	Chr02	8538997	A	G	Chr03	8651213	T	C	Chr04	4776612	T	C
Chr01	5425071	A	G	Chr02	8541263	C	T	Chr03	8838549	G	C	Chr04	4791702	G	A
Chr01	6382384	G	A	Chr02	8548596	T	C	Chr03	9016213	A	G	Chr04	5163421	T	C
Chr01	6468263	C	T	Chr02	8701752	T	C	Chr03	9188576	T	C	Chr04	5917803	T	C
Chr01	6522302	A	G	Chr02	8783418	C	T	Chr03	9982503	G	A	Chr04	5917979	T	C
Chr01	6681024	G	A	Chr02	10172138	C	T	Chr03	10778262	C	T	Chr04	6002035	C	T

Chr01	6766662	C	T	Chr02	11134366	C	T	Chr03	11160567	A	G	Chr04	6008932	C	T
Chr01	7005206	C	A	Chr02	11435696	C	T	Chr03	11952195	A	T	Chr04	6912303	G	A
Chr01	7211380	G	A	Chr02	12484173	T	C	Chr03	12263361	C	G	Chr04	7483819	T	C
Chr01	9420461	G	A	Chr02	14039973	T	C	Chr03	12474555	A	C	Chr04	8646787	C	T
Chr01	10591171	C	T	Chr02	14888887	G	A	Chr03	13807887	G	A	Chr04	9316747	A	G
Chr01	10935666	C	A	Chr02	15056022	T	A	Chr03	13921125	C	T	Chr04	11933847	C	T
Chr01	11112365	G	A	Chr02	15416906	A	T	Chr03	14156041	A	G	Chr04	12009961	A	G
Chr01	13334069	G	A	Chr02	17267121	G	A	Chr03	14435033	C	T	Chr04	12121472	C	T
Chr01	14042979	A	G	Chr02	17577452	G	T	Chr03	14562130	G	C	Chr04	12712636	T	C
Chr01	15448102	C	T	Chr02	18072268	G	A	Chr03	14741684	T	C	Chr04	13320833	G	T
Chr01	15905182	T	C	Chr02	18745929	G	A	Chr03	14841147	G	A	Chr04	13584129	A	G
Chr01	16699702	C	T	Chr02	18746073	C	T	Chr03	14891809	G	A	Chr04	14069531	C	T
Chr01	17325033	T	A	Chr02	19241046	G	A	Chr03	14926781	T	C	Chr04	14230803	C	T
Chr01	20436176	T	C	Chr02	19801386	G	A	Chr03	14991240	T	C	Chr04	16554252	T	A
Chr01	22061324	A	G	Chr02	19831806	G	T	Chr03	15007593	G	T	Chr04	17139384	C	T
Chr01	23314692	C	T	Chr02	19836199	C	T	Chr03	15103167	A	G	Chr04	17838614	G	A
Chr01	23474079	C	A	Chr02	19871453	C	T	Chr03	15408984	G	A	Chr04	17839752	A	C
Chr01	23525125	C	T	Chr02	19984801	T	C	Chr03	16329685	A	G	Chr04	18166436	A	G
Chr01	23752488	C	T	Chr02	20018407	T	C	Chr03	16331417	T	C	Chr04	18417546	T	G
Chr01	23923524	C	A	Chr02	21851412	T	C	Chr03	16670653	T	A	Chr04	18506480	G	A
Chr01	23964730	C	A	Chr02	23227165	A	T	Chr03	18750448	T	C	Chr04	18782350	C	T
Chr01	23978963	C	A	Chr02	23246555	G	A	Chr03	20200880	T	C	Chr04	19145290	T	C
Chr01	24769820	G	C	Chr02	23673897	G	A	Chr03	20516507	A	G	Chr04	19490157	G	A
Chr01	24944025	C	T	Chr02	24151571	C	T	Chr03	21744375	C	T	Chr04	20072796	C	T
Chr01	26921534	C	T	Chr02	24196007	A	G	Chr03	22068128	C	A	Chr04	21277072	G	A
Chr01	27509237	A	C	Chr02	24226125	A	G	Chr03	22239663	C	T	Chr04	21467016	T	G
Chr01	27703854	T	G	Chr02	24227970	G	T	Chr03	22388599	T	C	Chr04	22507586	G	A
Chr01	27814025	T	A	Chr02	24239569	T	A	Chr03	23678632	A	G	Chr04	23786637	G	A
Chr01	28962702	A	G	Chr02	24248297	G	T	Chr03	23808986	C	T	Chr04	24874052	T	C

Chr01	30007055	C	T	Chr02	24248402	A	G	Chr03	25418013	C	A	Chr04	27199978	A	T
Chr01	30090453	C	T	Chr02	24248419	C	T	Chr03	25933880	A	G	Chr04	28851894	T	G
Chr01	30599307	T	A	Chr02	24267411	G	A	Chr03	25939832	T	C	Chr04	29711894	G	C
Chr01	31710749	G	C	Chr02	24280550	C	G	Chr03	25974172	A	G	Chr04	29729798	G	C
Chr01	31729965	G	A	Chr02	24282576	T	C	Chr03	26324432	A	G	Chr04	29808395	T	C
Chr01	32657709	C	G	Chr02	24574677	C	A	Chr03	26545303	G	A	Chr04	29823544	A	G
Chr01	34129595	T	G	Chr02	24633647	A	G	Chr03	26549952	T	A	Chr04	29850086	C	T
Chr01	34217970	A	G	Chr02	24687767	A	T	Chr03	26703567	G	T	Chr04	30303665	G	A
Chr01	34317707	G	A	Chr02	24707454	A	T	Chr03	26724709	T	C	Chr04	30469754	A	G
Chr01	34841202	C	T	Chr02	24754573	G	A	Chr03	27877621	A	G	Chr04	30485171	C	A
Chr01	34895708	T	G	Chr02	25043891	T	C	Chr03	29308203	C	T	Chr04	30582761	A	C
Chr01	35119257	G	T	Chr02	25868555	C	T	Chr03	29338165	G	A	Chr04	31005695	T	G
Chr01	35222876	C	A	Chr02	25986551	T	C	Chr03	30374261	C	T	Chr04	31495531	A	G
Chr01	35253972	T	C	Chr02	28710053	T	C	Chr03	30452432	T	A	Chr04	31840206	T	C
Chr01	35767019	T	C	Chr02	29822056	G	A	Chr03	31118200	T	C	Chr04	31930471	G	A
Chr01	37141924	T	C	Chr02	32036175	G	A	Chr03	31602987	C	T	Chr04	31931716	G	A
Chr01	40614695	T	G	Chr02	32359700	T	C	Chr03	32854212	G	A	Chr04	31984309	C	T
Chr01	40945619	C	A	Chr02	33587033	C	T	Chr03	33211402	T	C	Chr04	31991817	A	G
Chr01	41351134	A	G	Chr02	34470194	G	T	Chr03	33576704	T	C	Chr04	32085542	G	C
Chr01	41376754	T	G	Chr02	34618189	T	G	Chr03	34533524	T	C	Chr04	32134712	A	G
Chr01	42120208	G	C	Chr02	34624914	G	A	Chr03	34694245	C	T	Chr04	32156055	C	G
Chr01	42174461	C	T	Chr02	34890123	G	A	Chr03	35381127	T	A	Chr04	32472019	C	T
Chr01	42285749	G	T	Chr02	35133404	T	C	Chr03	36011186	C	T	Chr04	32594992	A	G
Chr01	42470511	A	G	Chr02	35203427	G	A	Chr03	36075748	C	G	Chr04	34809308	T	C
Chr05	255860	G	C	Chr06	122487	T	C	Chr07	69201	G	T	Chr08	586840	C	T
Chr05	1318442	T	C	Chr06	845189	T	G	Chr07	117506	C	A	Chr08	736873	C	T
Chr05	1431971	C	T	Chr06	879988	T	A	Chr07	206441	C	T	Chr08	856496	C	T
Chr05	1840966	G	A	Chr06	1550969	C	T	Chr07	915433	G	A	Chr08	964916	G	A
Chr05	2194877	T	A	Chr06	1682874	C	T	Chr07	1271470	T	C	Chr08	1087393	A	T

Chr05	2319155	A	G	Chr06	1768017	C	T	Chr07	1453242	A	G	Chr08	1088620	G	A
Chr05	3082141	G	A	Chr06	2120671	A	C	Chr07	1453255	G	A	Chr08	1290072	G	C
Chr05	3083327	G	T	Chr06	2123411	T	C	Chr07	1453704	C	T	Chr08	1618111	T	A
Chr05	3126876	C	T	Chr06	2650086	C	T	Chr07	1713910	A	T	Chr08	2139065	G	T
Chr05	3154787	C	T	Chr06	2996446	A	G	Chr07	1719624	T	C	Chr08	2289267	T	C
Chr05	3366614	A	C	Chr06	3275343	T	C	Chr07	1780141	T	C	Chr08	2809619	C	T
Chr05	3468828	G	A	Chr06	3285942	A	T	Chr07	1829127	G	A	Chr08	2879196	G	A
Chr05	3628768	G	A	Chr06	3314962	G	A	Chr07	1835202	T	A	Chr08	3056607	A	G
Chr05	4727311	C	T	Chr06	3326265	T	G	Chr07	2772465	C	A	Chr08	3056673	G	A
Chr05	5473179	T	G	Chr06	3385161	C	T	Chr07	2977077	C	T	Chr08	3086656	G	A
Chr05	5984080	A	G	Chr06	3416764	T	C	Chr07	3239933	C	T	Chr08	3086683	G	A
Chr05	6066444	A	G	Chr06	3461580	T	C	Chr07	3240048	A	C	Chr08	3147869	G	C
Chr05	6237293	A	T	Chr06	3505550	C	G	Chr07	3377085	T	C	Chr08	3265252	T	C
Chr05	6383003	G	C	Chr06	3537639	A	G	Chr07	3409474	A	G	Chr08	4096148	C	T
Chr05	6805162	A	G	Chr06	4265699	C	T	Chr07	3530454	T	C	Chr08	5189109	A	G
Chr05	7024281	C	G	Chr06	4720830	C	T	Chr07	3641331	A	G	Chr08	5286017	G	C
Chr05	7169486	C	T	Chr06	4723031	G	A	Chr07	4502331	T	C	Chr08	6085458	A	G
Chr05	7232114	G	A	Chr06	4816072	C	A	Chr07	4565689	G	A	Chr08	6108364	A	C
Chr05	7343520	C	T	Chr06	4816336	A	G	Chr07	4754953	T	C	Chr08	6266853	A	C
Chr05	7375352	C	T	Chr06	5159535	T	C	Chr07	5819188	C	A	Chr08	6267086	A	G
Chr05	7379831	T	C	Chr06	5189550	G	A	Chr07	6133394	G	A	Chr08	6278720	T	C
Chr05	7437457	G	T	Chr06	6747298	G	A	Chr07	6378583	A	G	Chr08	7575240	C	T
Chr05	7479652	C	T	Chr06	7917957	T	A	Chr07	7620250	A	G	Chr08	7798195	A	T
Chr05	7506072	T	C	Chr06	8229331	T	C	Chr07	7731709	T	C	Chr08	8384682	A	G
Chr05	7945489	T	C	Chr06	8296512	A	G	Chr07	7867383	T	A	Chr08	8630027	C	T
Chr05	7989363	A	G	Chr06	8886744	C	T	Chr07	8840022	G	A	Chr08	8774731	C	T
Chr05	8262974	A	G	Chr06	9530049	T	C	Chr07	9370290	C	T	Chr08	9115323	T	G
Chr05	8393945	T	C	Chr06	9857454	C	T	Chr07	9534872	C	G	Chr08	9190523	A	G
Chr05	8462238	C	T	Chr06	9916018	T	C	Chr07	9535346	T	C	Chr08	9190530	C	T

Chr05	13325546	C	T	Chr06	10014317	A	G	Chr07	9545419	G	A	Chr08	9298021	C	T
Chr05	13592237	G	A	Chr06	10102422	T	A	Chr07	11059464	A	G	Chr08	9298709	G	A
Chr05	13939177	G	A	Chr06	10111172	T	C	Chr07	11292958	A	G	Chr08	9301002	G	A
Chr05	14017175	C	T	Chr06	10132851	A	C	Chr07	11616882	T	C	Chr08	9375178	G	A
Chr05	14528685	C	T	Chr06	10137670	C	T	Chr07	13329773	C	T	Chr08	9393243	A	C
Chr05	15941915	C	T	Chr06	10148252	T	G	Chr07	13395332	G	T	Chr08	9844402	C	T
Chr05	16286457	G	A	Chr06	10373511	T	C	Chr07	13507805	C	T	Chr08	10110544	C	T
Chr05	16741065	C	T	Chr06	10558404	T	C	Chr07	14514978	A	G	Chr08	10365379	C	T
Chr05	16915958	A	T	Chr06	10587979	T	C	Chr07	14545413	A	G	Chr08	10493563	T	C
Chr05	16952151	A	T	Chr06	10649551	C	A	Chr07	15576538	A	G	Chr08	11511273	G	A
Chr05	17501497	A	G	Chr06	10673836	G	A	Chr07	15857191	A	G	Chr08	12840214	C	T
Chr05	18445208	A	G	Chr06	10910181	T	G	Chr07	16790223	A	G	Chr08	14733796	G	A
Chr05	18492029	G	T	Chr06	10929329	A	G	Chr07	16922943	G	A	Chr08	14970055	A	G
Chr05	19412509	G	A	Chr06	11001330	T	C	Chr07	17831128	A	G	Chr08	16874738	G	A
Chr05	19524523	C	T	Chr06	11016433	A	T	Chr07	17846653	A	G	Chr08	16919446	C	T
Chr05	19528312	T	C	Chr06	13587432	G	C	Chr07	18263524	C	T	Chr08	17155911	A	G
Chr05	19766971	C	G	Chr06	13769273	C	T	Chr07	18306678	G	A	Chr08	17197699	T	C
Chr05	20455900	G	C	Chr06	14402922	C	A	Chr07	18399096	G	A	Chr08	17537748	T	C
Chr05	20505082	A	G	Chr06	17830976	T	C	Chr07	18834065	C	T	Chr08	17627412	A	G
Chr05	20525148	G	C	Chr06	18215839	C	T	Chr07	19402466	A	G	Chr08	17683911	A	T
Chr05	21150504	A	G	Chr06	19333286	T	A	Chr07	19630367	C	T	Chr08	17696600	T	G
Chr05	22297464	T	C	Chr06	19623935	A	C	Chr07	20230125	G	A	Chr08	18144005	C	T
Chr05	22447149	G	A	Chr06	21339504	G	T	Chr07	20775965	G	A	Chr08	18258988	C	T
Chr05	23425908	A	T	Chr06	22151874	T	G	Chr07	21170233	T	A	Chr08	18534861	T	A
Chr05	23590817	A	G	Chr06	23497825	A	G	Chr07	21380250	G	A	Chr08	18614856	A	G
Chr05	23591678	C	T	Chr06	23528227	A	T	Chr07	21436301	T	C	Chr08	19630158	T	C
Chr05	23620834	T	C	Chr06	23600890	A	G	Chr07	21436304	T	C	Chr08	19670338	G	A
Chr05	25264955	A	G	Chr06	23601223	C	T	Chr07	21541341	A	T	Chr08	19674099	A	T
Chr05	26766154	T	C	Chr06	24247418	C	T	Chr07	22404062	C	T	Chr08	20406135	T	A

Chr05	26868653	C	T	Chr06	24410089	T	G	Chr07	22515425	C	T	Chr08	20827515	T	C
Chr05	27072117	A	G	Chr06	25194210	A	G	Chr07	22586984	C	T	Chr08	22600207	A	G
Chr05	27094176	C	T	Chr06	25229939	G	C	Chr07	24379647	T	C	Chr08	22871893	C	T
Chr05	27293459	C	T	Chr06	25243289	C	T	Chr07	25217773	G	A	Chr08	24738259	T	G
Chr05	27531216	G	T	Chr06	25636961	T	G	Chr07	26472171	G	C	Chr08	25096807	A	G
Chr05	27638783	T	C	Chr06	26584049	A	T	Chr07	26929873	T	G	Chr08	25591698	G	A
Chr05	27851035	T	C	Chr06	27067977	T	C	Chr07	26949721	T	A	Chr08	26128343	G	A
Chr05	27990735	G	A	Chr06	28667791	G	A	Chr07	27021782	G	A	Chr08	26340056	G	C
Chr05	28079899	A	G	Chr06	28828504	T	G	Chr07	27035957	T	C	Chr08	26750916	C	T
Chr05	28644849	G	T	Chr06	29346184	G	A	Chr07	27585181	T	C	Chr08	26839742	T	C
Chr05	29122696	A	G	Chr06	29371394	G	A	Chr07	27632107	C	T	Chr08	27549119	C	T
Chr05	29240591	G	A	Chr06	29430560	C	G	Chr07	27848844	G	A	Chr08	27800520	G	A
Chr05	29305827	G	T	Chr06	29599916	A	T	Chr07	27949208	G	C	Chr08	28061184	T	A
Chr05	29361925	G	A	Chr06	30516804	T	A	Chr07	28305346	C	T	Chr08	28267259	T	C
Chr09	243836	G	A	Chr10	221968	T	C	Chr11	1699342	G	C	Chr12	2010037	A	G
Chr09	345700	T	C	Chr10	528215	C	T	Chr11	3859651	G	T	Chr12	3002868	T	G
Chr09	625508	G	A	Chr10	1091024	T	C	Chr11	4590535	G	A	Chr12	3004738	G	A
Chr09	698839	T	C	Chr10	1184624	T	C	Chr11	4819755	G	A	Chr12	3840861	T	C
Chr09	734166	C	T	Chr10	2126084	G	A	Chr11	5649154	A	G	Chr12	4164718	T	C
Chr09	893906	G	C	Chr10	2129587	A	G	Chr11	6095773	G	A	Chr12	4208247	G	A
Chr09	1150553	C	T	Chr10	2283168	T	C	Chr11	6321614	G	T	Chr12	5719997	T	C
Chr09	1662046	C	T	Chr10	2303863	A	G	Chr11	6916141	C	T	Chr12	6776681	C	T
Chr09	1834539	T	C	Chr10	2335940	T	C	Chr11	6918527	G	A	Chr12	6819391	G	A
Chr09	1949296	C	T	Chr10	2430116	A	T	Chr11	7440181	A	G	Chr12	6822144	C	T
Chr09	2092195	A	G	Chr10	2573646	T	C	Chr11	7484515	T	C	Chr12	6823193	C	G
Chr09	2621086	T	C	Chr10	2713999	G	A	Chr11	7502907	A	G	Chr12	6919939	A	C
Chr09	2694782	A	G	Chr10	2793753	C	G	Chr11	8515434	C	T	Chr12	6920272	A	G
Chr09	3160310	T	C	Chr10	2802040	C	T	Chr11	9033732	G	A	Chr12	7170654	C	T
Chr09	4473378	C	T	Chr10	2809058	C	T	Chr11	9098246	T	C	Chr12	7179018	G	A

Chr09	4486066	G	A	Chr10	3114236	A	T	Chr11	9102741	A	G	Chr12	7353643	G	A
Chr09	4596350	C	T	Chr10	3516703	C	T	Chr11	10125884	G	A	Chr12	7702984	A	G
Chr09	4706443	G	A	Chr10	3668947	C	T	Chr11	10991330	G	T	Chr12	8916732	A	T
Chr09	4734138	G	A	Chr10	3671612	C	T	Chr11	11756072	C	T	Chr12	8917824	T	C
Chr09	5930415	A	G	Chr10	3704040	G	A	Chr11	13994610	C	T	Chr12	9201665	T	C
Chr09	6226654	C	T	Chr10	3947103	A	G	Chr11	15743082	G	A	Chr12	9877277	A	G
Chr09	6588457	C	A	Chr10	3988936	T	C	Chr11	15753862	C	T	Chr12	10119958	C	T
Chr09	6916818	A	T	Chr10	4045492	G	A	Chr11	15857605	C	T	Chr12	10443134	T	C
Chr09	7165892	A	G	Chr10	4237910	C	T	Chr11	16655952	G	A	Chr12	10452171	G	C
Chr09	7301020	T	C	Chr10	4240850	A	G	Chr11	17323647	C	G	Chr12	10726307	G	A
Chr09	7341947	G	A	Chr10	4276178	T	A	Chr11	17694093	T	C	Chr12	10952829	T	C
Chr09	7789513	T	C	Chr10	4473301	A	G	Chr11	17732702	C	A	Chr12	11092874	G	C
Chr09	7842773	T	C	Chr10	4476837	T	C	Chr11	18745669	A	C	Chr12	11210357	T	C
Chr09	8048528	A	G	Chr10	4637049	C	G	Chr11	18804086	G	A	Chr12	11211824	C	T
Chr09	8974254	A	G	Chr10	4667821	G	A	Chr11	18979512	G	A	Chr12	12428988	G	A
Chr09	9336568	T	C	Chr10	4763574	A	T	Chr11	19098435	A	G	Chr12	12699900	C	T
Chr09	9347485	G	A	Chr10	4781604	T	C	Chr11	19309329	C	T	Chr12	12794148	G	T
Chr09	9435685	A	G	Chr10	4782604	T	C	Chr11	19594799	G	A	Chr12	13881722	T	C
Chr09	9620519	A	G	Chr10	4796224	T	C	Chr11	20436952	T	G	Chr12	14009258	G	A
Chr09	9657863	T	C	Chr10	5164478	A	G	Chr11	20478589	C	G	Chr12	14061222	C	T
Chr09	9786871	T	C	Chr10	6366296	G	A	Chr11	20543531	C	A	Chr12	14066463	G	A
Chr09	9826375	A	G	Chr10	7421981	G	A	Chr11	20572835	C	T	Chr12	14069519	T	C
Chr09	10494144	T	C	Chr10	7426628	A	G	Chr11	21270266	G	T	Chr12	14234209	A	G
Chr09	10495641	A	G	Chr10	9002920	T	C	Chr11	21844858	C	T	Chr12	14847671	G	A
Chr09	10902228	G	A	Chr10	9620786	C	T	Chr11	22240018	C	T	Chr12	16500932	G	A
Chr09	11075914	T	G	Chr10	9621205	G	A	Chr11	22473062	A	G	Chr12	16991134	A	G
Chr09	11241553	C	T	Chr10	9827124	T	C	Chr11	22511041	T	C	Chr12	17936740	C	T
Chr09	11241593	C	T	Chr10	10305417	G	A	Chr11	22566151	A	G	Chr12	17937786	G	A
Chr09	11241694	C	T	Chr10	11121596	C	T	Chr11	22602043	G	A	Chr12	17956901	A	C

Chr09	11247325	T	C	Chr10	11607196	C	T	Chr11	22665541	C	T	Chr12	18068020	A	G
Chr09	11259253	G	A	Chr10	11751783	A	G	Chr11	22887413	C	A	Chr12	18095988	G	T
Chr09	11289927	G	A	Chr10	11781261	G	A	Chr11	22928597	T	C	Chr12	18367589	T	C
Chr09	11298318	G	A	Chr10	11825081	T	C	Chr11	23291980	G	A	Chr12	19090704	G	A
Chr09	11755783	A	G	Chr10	12109536	A	T	Chr11	23419678	A	G	Chr12	19493561	G	A
Chr09	11772674	G	A	Chr10	12904842	T	C	Chr11	23787390	C	G	Chr12	20044576	A	G
Chr09	12389903	A	G	Chr10	13003806	C	T	Chr11	23870205	A	G	Chr12	20838240	C	T
Chr09	12601032	G	A	Chr10	14782032	C	T	Chr11	23945915	C	A	Chr12	21124883	G	A
Chr09	12635402	T	A	Chr10	14964020	C	A	Chr11	24180667	G	C	Chr12	21779487	G	T
Chr09	13558329	T	C	Chr10	15404170	A	G	Chr11	24403837	C	T	Chr12	21822149	G	A
Chr09	14695811	T	C	Chr10	15824876	G	A	Chr11	24404778	C	T	Chr12	22098823	T	C
Chr09	14717025	G	A	Chr10	15899633	G	T	Chr11	24417952	A	T	Chr12	22543338	G	A
Chr09	14719831	A	G	Chr10	16474098	C	T	Chr11	24438072	T	G	Chr12	22561988	G	T
Chr09	14993586	G	A	Chr10	16616239	A	G	Chr11	24641242	G	A	Chr12	22600801	T	C
Chr09	14994827	T	G	Chr10	16635003	T	C	Chr11	24659639	G	A	Chr12	22885664	A	T
Chr09	15241422	T	C	Chr10	16680637	C	T	Chr11	24811654	T	C	Chr12	23060191	C	A
Chr09	16152482	C	T	Chr10	16785255	A	G	Chr11	25394961	C	G	Chr12	23314183	T	C
Chr09	17140512	T	C	Chr10	17269848	T	C	Chr11	25403348	G	A	Chr12	23387745	A	G
Chr09	17315824	T	G	Chr10	17539392	T	C	Chr11	25587784	T	C	Chr12	23390057	A	G
Chr09	17575603	A	G	Chr10	17603484	G	A	Chr11	25608653	G	A	Chr12	23398111	A	G
Chr09	17715527	A	C	Chr10	18078465	G	T	Chr11	27151892	T	C	Chr12	23528255	C	T
Chr09	17739362	T	C	Chr10	18154374	C	T	Chr11	27154576	A	G	Chr12	23850185	G	C
Chr09	19383605	A	C	Chr10	18188890	C	T	Chr11	27487346	C	G	Chr12	23913714	C	A
Chr09	19848999	G	A	Chr10	18189012	C	T	Chr11	27492282	C	T	Chr12	24029904	A	G
Chr09	20019916	A	G	Chr10	18217697	G	A	Chr11	27492337	G	A	Chr12	24040740	T	C
Chr09	20351810	C	G	Chr10	19004345	T	C	Chr11	27492483	A	G	Chr12	24087888	T	C
Chr09	20996700	C	T	Chr10	19981004	C	T	Chr11	27496854	T	G	Chr12	24421531	A	G
Chr09	21036781	T	C	Chr10	20902831	A	G	Chr11	27497262	C	T	Chr12	25753031	T	G
Chr09	21347763	A	G	Chr10	21156555	A	G	Chr11	27604217	A	G	Chr12	25868350	A	G

Chr09	22094893	G	A	Chr10	21256365	T	G	Chr11	27998370	A	G	Chr12	26799599	A	G
Chr09	22216906	G	T	Chr10	21968692	T	C	Chr11	27998759	C	T	Chr12	27037880	G	A
Chr09	22318271	C	T	Chr10	21968795	G	A	Chr11	28483934	C	A	Chr12	27113408	A	G
Chr09	22815615	T	C	Chr10	22292752	T	G	Chr11	28818157	C	T	Chr12	27322797	G	A
