

基于 EST-SSR 标记的甘薯种质资源 DNA 指纹图谱构建

罗忠霞, 房伯平, 李 茹, 王章英, 黄立飞, 陈景益, 张雄坚, 李育军, 陈新亮, 黄实辉

(广东省农业科学院作物研究所, 广州 510640)

摘要: 采用 EST-SSR 标记构建了国家种质广州甘薯圃中 52 份甘薯种质资源的 DNA 指纹图谱。利用 52 份供试资源, 从早期筛选出的 342 对候选多态性引物中筛选出 16 对核心引物, 16 对引物在 52 份资源中共扩增出 159 个等位点, 每对引物的等位点数为 5~19 个不等, 平均为 9.94 个, 多态性信息含量变化范围为 0.6235~0.9593, 平均为 0.7991。选择带型清晰、重复性好、易于统计且能将 52 份资源完全区分开的 2 对引物组合构建供试资源的 DNA 指纹图谱。NTSYS 软件聚类分析表明, EST-SSR 标记能正确反映出不同资源间的亲缘关系, 为构建甘薯大型 DNA 指纹图谱数据库奠定了基础。

关键词: 甘薯; 种质资源; EST-SSR; DNA 指纹图谱

Construction of DNA Fingerprint Database Based on EST-SSR Markers for Sweet Potato Germplasm

LUO Zhong-xia, FANG Bo-ping, LI Ru, WANG Zhang-ying, HUANG Li-fei, CHEN Jing-yi,

ZHANG Xiong-jian, LI Yu-jun, CHEN Xin-liang, HUANG Shi-hui

(Crop Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640)

Abstract: The aim of this study was to construct a DNA fingerprinting database of 52 sweet potato germplasm from National Germplasm Guangzhou Sweet potato Nursery Genebank using EST-SSR. Sixteen EST-SSR core primer pairs with high polymorphisms and good repeatability were successfully screened out from 342 candidates. The 16 core primer pairs amplified a total of 159 alleles among the 52 sweet potato germplasms. Alleles amplified by each pair of primers ranged from 5 to 19, with a mean of 9.94. The polymorphic information content values (*PIC*) ranged from 0.6235 to 0.9593, with a mean of 0.7991. Two primers were selected to construct the fingerprinting database. Clustering analysis by the software of NTSYS indicated that EST-SSR markers could effectively detect the genetic relationships among the various sweet potato germplasms.

Key words: sweet potato; germplasm; EST-SSR; DNA fingerprinting

在我国, 甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 从过去的“渡荒救灾”作物发展为现在的兼粮食、饲料、工业原料及新型能源等的多功能作物, 在促进经济发展和维护国家粮食安全中始终发挥着重要作用。据统计, 甘薯在我国仅次于水稻、小麦和玉米而成为第四大粮食作物, 种植面积约 367 万 hm^2 , 占世界甘薯种植总面积的 45.1% 左右, 年总产量 7804 万 t,

占世界甘薯总产量的 75.3%^[1]。

甘薯是一种无性繁殖作物, 营养体保存一直被认为是安全和有效的保持甘薯遗传稳定性的保存方法。国家种质广州甘薯圃 (NGGSNG, National Germplasm Guangzhou Sweet potato Nursery Genebank in China) 是我国目前唯一的室外营养体保存甘薯的资源圃, 保存着国内外近 1300 份甘薯资源。长期以来

收稿日期: 2013-10-03 修回日期: 2013-12-16 网络出版日期: 2014-06-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20140609.1424.018.html>

基金项目: 国家现代农业产业技术体系专项 (nycytx-16-B-5, nycytx-16-C-15); 甘薯种质资源收集、编目、更新与利用 (NB2012-2130135-15); 国家农作物种质资源平台 (2012-040)

第一作者研究方向为甘薯分子标记辅助育种。E-mail: xiazi625@163.com

通信作者: 房伯平, 研究方向为甘薯遗传育种。E-mail: bpfang01@163.com

甘薯资源一直是基于传统的形态学特征进行品种鉴定,该方法容易受到环境与主观因素的影响,鉴定周期长,可靠性低^[2],这不仅增加了鉴定的难度,而且容易错乱,导致资源保存中经常会出现同种异名或同名异种的现象;另外,在育种上由于常用杂交亲本的集中使用,甘薯品种间的遗传差异也越来越小^[3]。

以分子标记为基础的 DNA 指纹鉴定技术具有准确、简单快速、易于自动化的优点,通过构建 DNA 指纹图谱进行品种快速鉴定是品种鉴定技术的发展趋势。与其他分子标记相比,以微卫星序列为基础的 SSR 标记在 DNA 指纹鉴定上显示了独特的优越性,SSR 标记数量丰富、覆盖整个基因组、揭示的多态性高、以孟德尔方式遗传、且呈共显性。国际植物新品种权保护联盟(UPOV, International Union for the Protection of New Varieties of Plants)^[4]在分子测试指南中,将构建 DNA 指纹数据库的标记方法确定为 SSR 和 SNP,其中 SSR 标记因其技术比较成熟,成为当前各个作物建库的首选标记^[5],目前玉米^[6]、水稻^[7]、小麦^[8-10]、番茄^[11]、木薯^[12]、马铃薯^[13]等主要农作物部分品种的 SSR 指纹图谱已相继构建。在甘薯品种鉴定方面,C. S. Prakash 等^[14]利用 RAPD 标记构建了 30 个美国甘薯地方品种及新育成品种的指纹图谱,王红意等^[15]利用 RAPD 标记构建了 30 个中国甘薯主栽品种的 RAPD 指纹图谱,但利用 SSR 标记构建甘薯指纹图谱库的研究还尚未见报道。

本研究采用筛选出的 EST-SSR 核心引物,构建 52 份甘薯种质资源的指纹图谱,旨在为甘薯标准指纹数据库的构建奠定基础,并且为鉴定甘薯品种真伪提供理论依据。

本研究采用筛选出的 EST-SSR 核心引物,构建 52 份甘薯种质资源的指纹图谱,旨在为甘薯标准指纹数据库的构建奠定基础,并且为鉴定甘薯品种真伪提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

52 份供试资源均由国家种质广州甘薯圃提供(表 1),其中地方品种 21 份,引进品种 3 份,选育品种 28 份。国内资源主要来源于海南、广东、福建、浙江、安徽、江苏、湖北、河南 8 个甘薯主产省份,国外资源主要来源于日本和美国。

表 1 供试 52 份甘薯种质资源

Table 1 Fifty-two sweet potato germplasms used in this study

编号 Code	种质名称 Accession name	种质类型 ^[16] Biological status of accession	来源地 Origin	编号 Code	种质名称 Accession name	种质类型 ^[16] Biological status of accession	来源地 Origin
1	广薯 88-70	选育品种	广东广州	27	树仔苗	地方品种	广东阳江
2	岩薯 5 号	选育品种	福建龙岩	28	普薯 24	选育品种	广东普宁
3	揭薯 16	选育品种	广东揭阳	29	广薯 79	选育品种	广东广州
4	绿 06	地方品种	安徽合肥	30	高薯 17	选育品种	广东高州
5	广薯 87	选育品种	广东广州	31	小五齿	地方品种	福建厦门
6	不论春	地方品种	广东海康	32	南丰	引进品种	日本
7	普薯 10 号	选育品种	广东普宁	33	细藤仔	地方品种	广东大埔
8	乌骨企龙	地方品种	广东	34	日本薯	地方品种	海南
9	菊花种	地方品种	广东汕头	35	鸡而仔	地方品种	广东湛江
10	内原	引进品种	日本	36	商 52-7	选育品种	河南商丘
11	白皮新来妹	地方品种	广东湛江	37	徐 98-22-23	选育品种	江苏徐州
12	白皮接芋只	地方品种	广东揭阳	38	蕹菜种	地方品种	广东大埔
13	雪薯	地方品种	广东新兴	39	鄂薯 3 号	选育品种	湖北武汉
14	金瓜苗	地方品种	广东阳春	40	泉薯 830	选育品种	福建泉州
15	学老薯	地方品种	广东汕头	41	心香	选育品种	浙江杭州
16	胭脂薯	地方品种	广东德庆	42	广薯 95-145	选育品种	广东广州
17	蕹菜种	地方品种	广东湛江	43	广薯 69	选育品种	广东广州
18	姑娘薯	地方品种	广东湛江	44	广薯 98	选育品种	广东广州
19	广薯 2K-30	选育品种	广东广州	45	广紫薯 1 号	选育品种	广东广州
20	南凹苗	地方品种	广东东莞	46	广薯 182	选育品种	广东广州
21	假山柚	地方品种	海南临高	47	广薯菜 2 号	选育品种	广东广州
22	广薯 79-15	选育品种	广东广州	48	广薯 155	选育品种	广东广州
23	波嘎	引进品种	美国	49	广薯 42	选育品种	广东广州
24	广薯 97	选育品种	广东广州	50	广紫薯 2 号	选育品种	广东广州
25	州农 13	选育品种	海南海口	51	广菜薯 3 号	选育品种	广东广州
26	紫肉	地方品种	广东汕头	52	广薯 205	选育品种	广东广州

1.2 DNA 提取

采集供试材料的幼嫩叶片,采用改良的 CTAB 法提取基因组 DNA^[17],0.7% 琼脂糖凝胶电泳检测

其纯度,超微量分光光度计精确测定 DNA 样品浓度,稀释到 100 ng/ μ L,-20 °C 冰箱保存备用。

1.3 SSR-PCR 扩增

PCR 反应总体积为 10 μ L,其中含有 0.375 U *Taq* 聚合酶、SSR 引物 0.5 μ mol/L、dNTPs 100 μ mol/L、模板 DNA 20 ~ 40 ng、10 \times PCR Buffer 1.0 μ L。PCR 反应程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火 30 s(退火温度根据所用引物确定),72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 下延伸 7 min,4 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物用 6.0% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,用 0.12% AgNO_3 染色,NaOH + 甲醛组成的显影液显影。

1.4 引物筛选

以本课题组前期筛选出的 342 对甘薯 EST-SSR 多态性引物^[18]作为本研究的候选引物,继续筛选多态性信息量高、带型稳定、易于统计、多态性高的核心引物,用于构建指纹图谱。引物均由上海英潍捷基贸易有限公司合成。

1.5 数据处理

采用人工读带方式,EST-SSR 扩增产物在电泳凝胶上相同位置处,有带记为 1,无带记为 0,每条带相当于 1 个等位基因建立 0-1 矩阵。多态性信息量 $PIC = 1 - \sum f_i^2$,其中 f_i 为第 i 个位点的基因型频率。

表 2 16 对核心引物信息表

Table 2 Information of 16 core set EST-SSR primers

核心引物 Core primer	引物序列 Primer sequences	等位位点数 No. of alleles	基因型数 No. of genotypes	多态性信息量 PIC
GDAAS0911	CTTCGCACTCGCATCTCT GGTATGGTGAAGTTGTGTTTC	19	36	0.9593
GDAAS0819	GAGGATCAACTGCGTCTTCTG CGTGAACCCAGCCTAACAAG	11	17	0.9157
GDAAS0922	CGCCTTCGTTAATAACCACTC CCTGCTTAATCCGATCCTCTC	16	19	0.9112
GDAAS0782	GCACCACATTAATAATGATGCC TGTGAAGGTTCTGATGGAGTA	12	10	0.8646
GDAAS0926	GCTCATCTTGATCTCTTGAAG CGAAGGAGGTTTAGGTTTA	10	11	0.8558
GDAAS0385	AACTATTCTTGTCCAATCTGCG GCCATGTGTATTCCTGATTCC	11	10	0.8499
GDAAS0338	GCAGCGGATGGAATACTCA TCTACACGACTACCAACTACAA	10	14	0.8282
GDAAS0940	CCGATGATTATAGCACTTACG GGTTCACCTTCCACACTC	14	10	0.8122
GDAAS0848	CGCTTCCCTTCTGATTAGA GCAGTGCAGTGAGTTGAG	6	6	0.7766
GDAAS0858	GCACTGCCAGCAAACCAA TTCTCGTCCATGAAGAACAC	8	5	0.7737
GDAAS0354	GTATCTTCCAGTTCAGTTCACAT ATCCATCCACGCAATCA	5	6	0.7485
GDAAS0914	TTGATGGCAACGCAATCT CCTCTCGTCCACTTTGATG	9	4	0.7359
GDAAS0843	AACAGGAGCAGCACATT TGACCCAACCCAGAAAAGATT	8	6	0.7308
GDAAS0871	GCAGAGTGAGAATTAGAGTT GTCCCTTCTTTGCCAGTA	8	6	0.7278
GDAAS0360	TGTGTAGACTCACTCAATCATCTG GGTGTATCGTAATCTGGAAGG	5	5	0.6723
GDAAS0694	GTCTAAGATGGAGTGAGGAA GATCAAGGCTGAAGTTACG	7	4	0.6235

采用 NTSYS-pc V2.0 软件进行聚类分析,SimQual 程序求 Jaccard 相似系数,SHAN 程序中的 UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic means) 进行聚类分析,并通过 Treeplot 模块生成聚类图。

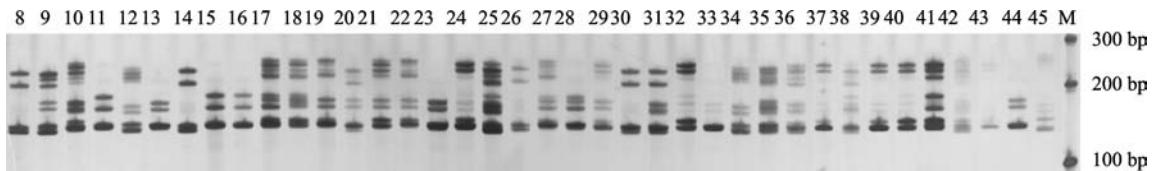
2 结果与分析

2.1 EST-SSR 标记多态性分析

本研究以 52 份甘薯种质资源对 342 对候选多态引物进行筛选,获得了 16 对核心引物(表 2)。16 对核心引物在 52 份资源中共扩增出 159 个等位位点,每个位点的等位基因数目不等,变幅为 5 ~ 19,平均为 9.94 个。平均多态性信息含量为 0.7991,变幅为 0.6235 ~ 0.9593。图 1 为引物 GDAAS0819 在部分供试资源中的扩增电泳图谱。

2.2 DNA 指纹图谱构建

对以上 16 对 EST-SSR 引物在 52 份资源中的扩增谱带进行指纹分析,并进行基因型统计。通过表 2 可以看出,任何一个引物都不能将所有供试材料完全区分开,引物 GDAAS0911 区分能力最强,在 52 份供试资源中共有 36 种基因型,即用该引物可以区



M: DNA marker; 1~38 泳道分别为表 1 中 8~45 号甘薯品种

M: DNA marker, Lane 1 to 38; No. 8 to 45 sweet potato germplasm in table 1

图 1 引物 GDAAS0819 在部分甘薯种质中的扩增结果

Fig. 1 DNA fragments amplified by EST-SSR primer GDAAS0819 in some sweet potato germplasm

分出 36 个品种,有 16 个品种无法区分开来。其他引物则可以将供试资源划分为 4~19 种基因型不等。所以只有通过引物组合鉴定的方式才可以将以上供试资源完全区分开。

本研究综合考虑引物的 PIC 值大小、基因型数量、扩增带型统计的难易及引物的重复性高低等因素,

将核心引物进行排序,首先用排在第一位的引物进行品种鉴别,如不能把所有供试品种区分开,依序再加一个引物进行组合鉴别,依此类推,直至把所有引物区分开。本研究最少采用 2 对引物即可将所有供试资源完全区分开,最后选用这 2 对引物构建了 52 份资源的指纹图谱。

表 3 供试甘薯 SSR 指纹图谱代码

Table 3 The sweet potatoes SSR fingerprinting codes

编号 code	SSR 指纹图谱 SSR fingerprinting GDAAS0911 GDAAS0819		编号 code	SSR 指纹图谱 SSR fingerprinting GDAAS0911 GDAAS0819		编号 code	SSR 指纹图谱 SSR fingerprinting GDAAS0911 GDAAS0819	
1	1011011000011110000	11111010111	19	0110101110010111111	01111001111	37	0011000111101110001	01111100110
2	0110100100110111111	01011000000	20	1111001110101111000	11011010100	38	0111001011101111110	11011111110
3	1111100000011010000	11000010100	21	0101100110000011100	01111001111	39	0011001100011110000	01111100110
4	1011011100011000011	11000010100	22	1110111110111011000	01111001111	40	0011001100011110000	01111100110
5	1011011100011111101	11011010100	23	010111000000011000	01011000000	41	1011011100011111101	01110100111
6	1011000110011110000	11000010100	24	1111011111111111111	01111100110	42	0000100011001000000	11101111110
7	0110001100001100000	11000010100	25	1011011000011110000	11011111110	43	0110100011001111100	01111100110
8	0011001100011110000	11000010100	26	0011100011101111000	11000010100	44	1011011100011111101	01011000000
9	0111000110010111000	11011011100	27	0011110000000111111	01111101111	45	0001001011001001100	10111000011
10	1010111110001110000	01111011111	28	0010100011001111000	01011100000	46	0110101110001111110	11101111110
11	0110001100001100000	01010100000	29	0011001100011110000	01111001111	47	0111001011101111110	01110100111
12	0011001100011110000	11011001110	30	011110001110111100	11000010100	48	001110001110111000	01111100110
13	0110101110001111110	01011000000	31	0111100011000111100	11011010100	49	011110011110111000	10111000011
14	0011001100011110000	11000010100	32	0011101011100011100	01111100110	50	0001001011001001100	11111010111
15	1101111000001111000	01010100000	33	001111011110011100	01011000000	51	0111000011010011000	01011000000
16	0101101000001110000	01010100000	34	011110011110111000	11011001110	52	0011100011101111000	01011100000
17	0001111110010011110	01111101111	35	0011110011111111100	11011101111			
18	1110111100011111000	01111101111	36	1011011000011110000	11101111110			

2.3 聚类分析

根据 16 对核心引物的 159 个位点,利用 NT-SYS-pc V2.0 软件构建了 52 份供试材料的聚类分析图。在遗传相似系数 0.79 处可以将所有供试材料分为 4 类(图 2),根据聚类结果,对部分育成品种进行了亲缘关系的系谱追溯,如:与广薯 88-70 有亲缘关系的育成品种共 9 个,包括广薯 88-70、广薯 95-145、广薯 1 号、广薯 42、广薯 69、广薯 155、广薯 87、广薯 79、广薯 205,这些品种遗传相似性高,聚在了第一大类中的 1-1-1 小类。结果表明,EST-SSR 聚类结果能较好反映供试材料的亲缘关系。

3 讨论

核心引物的筛选和确定是 DNA 指纹图谱构建

的重要步骤^[19],本课题组前期利用新的测序技术进行了甘薯转录组测序^[20],获得了大量的 ESTs (expressed sequence tags) 序列,并结合 Genbank 数据库中收录的甘薯 ESTs 序列^[21-22],进行了大规模的 EST-SSR 标记的开发及筛选利用^[18]。本研究在前期筛选出 342 对多态性引物的基础上继续筛选出了 16 对核心引物用于构建指纹图谱,最终筛选出多态性好、电泳版清晰度高、条带容易统计、稳定性好的 2 对,并利用其指纹组合构建了供试甘薯的 DNA 指纹。SSR 技术在甘薯品种鉴定及种质资源研究中的应用,将十分有助于甘薯遗传资源的进一步挖掘和利用,对知识产权的保护也将起到积极作用。

甘薯栽培种属于染色体基数为 15 的六倍体品种,染色体重组率高,后代分离程度大,在不同的性

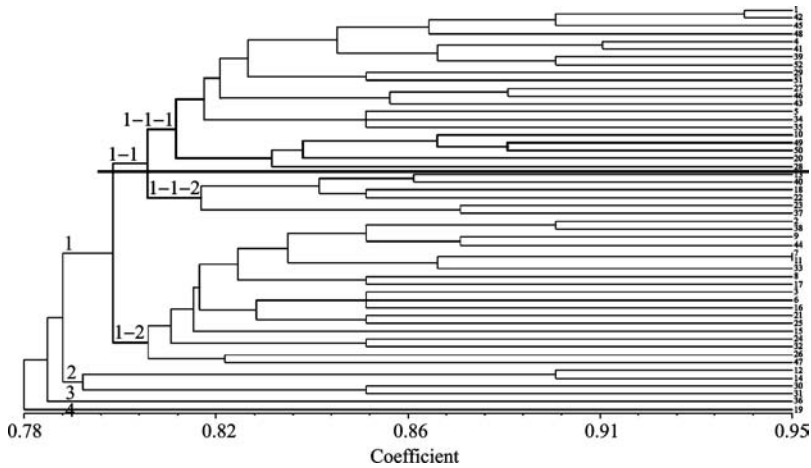


图2 52份甘薯种质资源的聚类分析图

Fig. 2 Cluster dendrogram of 52 sweet potato germplasm resources

状上可能会出现二体、四体或六体几种遗传方式^[23],遗传组成复杂,六体遗传意味着1个基因位点上有6个等位基因。SSR标记是共显性标记,以孟德尔方式遗传,能较好地揭示供试材料个体或群体内完整的遗传信息,而RAPD等显性标记,其谱带只能反映不同甘薯种质基因组上的部分差异,不能反映控制某一性状的全部基因情况。本研究在聚类分析中,将亲缘关系近的品种聚在了一起,说明SSR标记能较好地反映出不同甘薯品种间的遗传距离。

本课题以国家种质广州甘薯圃中的52份资源为研究对象,在分子水平上给每份资源一个能准确表明其身份的指纹信息,为构建大型甘薯资源指纹图谱数据库搭建了平台,一方面可以提高甘薯种质资源的鉴定效率及准确率,另一方面也可以对甘薯种质资源进行遗传多样性分析,使育种工作者更有针对性地开展研究。

参考文献

- [1] 农业部科技教育司,财政部教科司. 中国农业产业技术发展报告[M]. 北京:中国农业出版社,2010:54-57
- [2] 李强,马代夫,李洪民,等. 甘薯 DUS 测试标准制定及新品种保护[J]. 杂粮作物,2005,25(1):24-26
- [3] 周志林,唐君,张允刚,等. 甘薯种质创新技术及其创新材料[J]. 分子植物育种,2009,7(4):778-787
- [4] UPOV. Guidelines for DNA-profiling: Molecular marker selection and database construction[M]. Geneva:UPOV,2007:3-4
- [5] Zhang H Y, Wang H, Gong S G, et al. Identification and validation of a core set of microsatellite markers for genetic diversity analysis in watermelon, *Citrullus lanatus* Thunb. Matsum. & Nakai [J]. Euphytica, 2011, doi:10. 1007/s10681-011-0574-z
- [6] 王风格,赵久然,戴景瑞,等. 玉米品种 DNA 指纹数据库构建的标准化规范[J]. 分子植物育种,2007,5(1):128-132
- [7] 朱勇良,谢裕林,黄凌哲,等. 太湖稻区及国内部分香稻 SSR 指纹图谱构建及遗传多样性初析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(4):666-671
- [8] Róder M S, Wendehake K, Korzun V, et al. Construction and a-

- analysis of a microsatellite-based database of European wheat varieties [J]. Theor Appl Genet, 2002, 106:67-73
- [9] 李根英, Dreisigacker S, Warburton M L, 等. 小麦指纹图谱数据库的建立及 SSR 标记试剂盒的研发 [J]. 作物学报, 2006, 32(12):1771-1778
- [10] 王立新, 李云伏, 常利芳, 等. 建立小麦品种 DNA 指纹的方法研究 [J]. 作物学报, 2007, 33(10):1738-1740
- [11] Bredemeijer G M M, Cook R J, Ganal M W, et al. Construction and testing of microsatellite database containing more than 500 tomato varieties [J]. Theor Appl Genet, 2002, 105:1019-1026
- [12] 付瑜华, 李杰, 王海燕, 等. 木薯商业品种的指纹图谱构建 [J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(1):51-55
- [13] 段艳凤, 刘杰, 卞春松, 等. 中国 88 个马铃薯审定品种 SSR 指纹图谱构建与遗传多样性分析 [J]. 作物学报, 2009, 35(8):1451-1457
- [14] Prakash C S, He G H, Jarret R L. DNA marker-based study of genetic relatedness in United States sweetpotato cultivar [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1996, 121(6):1059-1062
- [15] 王红意, 翟红, 王玉萍, 等. 30 个中国甘薯主栽品种的 RAPD 指纹图谱构建及遗传变异分析 [J]. 分子植物育种, 2009, 7(5):879-884
- [16] 张允刚, 房伯平. 甘薯种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京:中国农业出版社, 2006:40
- [17] Stewart C N Jr, Via L E. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications [J]. Biotechniques, 1993, 14(5):748-750
- [18] Wang Z Y, Li J, Luo Z X, et al. Characterization and development of EST-derived SSR markers in cultivated sweetpotato (*Ipomoea batatas*) [J]. BMC Plant Biol, 2011, 11:139
- [19] 赵久然, 王风格, 郭景伦, 等. 中国玉米新品种 DNA 指纹库建立系列研究 II. 适于玉米自交系和杂交种指纹图谱绘制的 SSR 核心引物的确定 [J]. 玉米科学, 2003, 11(2):3-5, 8
- [20] Wang Z, Fang B, Chen J, et al. *De novo* assembly and characterization of root transcriptome using Illumina paired-end sequencing and development of cSSR markers in sweetpotato (*Ipomoea batatas*) [J]. BMC Genomics, 2010, 11:726
- [21] 黄立飞, 房伯平, 陈景益, 等. 甘薯 EST 资源的 SSR 信息分析 [J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(1):23-27
- [22] Wang Z, Fang B, Chen J, et al. Assembly functional annotation and classification for 22726 ESTs from Sweet Potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] [C]// 4th International sweetpotato symposium and China-Japan-Korea workshop. Beijing:China Agricultural University Press, 2010:56-63
- [23] Jones A. Theoretical segregation ratios of qualitatively inherited characters for hexaploid sweetpotato (*Ipomoea batatas*) [J]. USDA Tech Bull, 1967, 136:369-376