



## 文献综述

### A Review

# 分子生物学技术在甘薯(*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)遗传育种中的应用

李爱贤<sup>1</sup>, 王庆美<sup>1</sup>, 刘庆昌<sup>2</sup>

1 山东省农业科学院作物研究所, 济南, 250100

2 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京, 100094

✉ 通讯作者: [liaixian2000@sohu.com](mailto:liaixian2000@sohu.com) ✉ 作者

分子植物育种, 2011年, 第9卷, 第106篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0106

收稿日期: 2011年09月01日

接受日期: 2011年09月27日

发表日期: 2011年10月11日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

李爱贤等, 2011, 分子生物学技术在甘薯(*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)遗传育种中的应用, 分子植物育种(online) Vol.9 No.106 pp.1766-1775 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0106)

引用格式(英文):

Li et al., 2011, Application of Molecular Biology Technology in Genetic Breeding of Sweet Potato (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam.), Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.9 No.106 pp.1766-1775 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0106)

**摘要** 由于复杂的遗传背景、近缘野生种利用困难、遗传资源匮乏、病虫害严重以及育种手段单一等问题极大的制约了甘薯生产的发展, 只有靠分子生物学技术和常规杂交育种技术相结合, 才能有效地打破物种隔离和基因连锁, 聚合多种有益基因, 培育具有突破性的甘薯新品种。目前, 分子标记技术已用于甘薯遗传图谱的构建和基因定位、甘薯起源、进化和分类、遗传多样性分析、分子标记辅助选择及品种纯度鉴定等方面; 基因克隆技术应用于甘薯抗逆性、品质以及块根发育等相关性状的研究; 与其他作物相比, 转基因技术在甘薯上的应用研究起步较晚, 目前虽然取得了一些进展, 但仍存在着转化方法单一等问题。本文综述了分子生物学技术在甘薯遗传育种研究中的应用现状, 旨在为甘薯相关研究提供参考。

**关键词** 甘薯; 分子生物学技术; 分子标记; 克隆; 转基因

## Application of Molecular Biology Technology in Genetic Breeding of Sweet Potato (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam.)

Li Aixian<sup>1</sup>, Wang Qingmei<sup>1</sup>, Liu Qingchang<sup>2</sup>

1. Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan, 250100, P.R., China

2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing, 100193, P.R., China

✉ Corresponding author, [liaixian2000@sohu.com](mailto:liaixian2000@sohu.com); ✉ Authors

**Abstract** Because of the complex genetic background, difficulties in the use of wild relatives, shortage of genetic resources, serious pest damage and single breeding means, greatly restricted the production in sweet potato. Only by combined molecular biology technology and conventional hybrid breeding, can effectively break the isolation of species and gene linkage, and polymerization a variety of useful genes, to breed some new excellent varieties of sweet potato. At present, molecular marker technology has been used in the construction of linkage map and gene location, the origin, evolution and classification, genetic diversity, molecular marker assisted selection and varieties purity identification in sweet potato, etc. Gene cloning has been applied to the researches of resistant, quality and root tuber growth and so on related properties in sweet potato. Compares with other crops, transgenic technology was started relatively late in sweet potato, although has made some headway at present, but there are still exist such problems such as the means of genetic transformation is relatively simple. This review summarizes the application of molecular biology technology on genetics and breeding in sweet potato, in order to provide a reference for its relevant researches.

**Keywords** Sweet potato; Biotechnology; Molecular biology technology; Gene cloning; Transgenic technology

### 研究背景

甘薯(*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)是一种重要的粮食、饲料、蔬菜、工业原料和新型能源作物。随着全球人口数量不断增加, 耕地面积逐年减少, 生态环境日益恶化, 我国中长期粮食需求压力加剧, 粮食安全形势相当严峻, 众多研究者纷纷把解决问

题的出路投向甘薯生产。这是因为甘薯种植投入少, 产出多; 甘薯作物适应性强, 耐旱、耐瘠薄; 甘薯产品营养丰富, 具有特殊的保健作用。

建国以来, 我国甘薯育种取得了一定成就, 但是甘薯遗传育种中存在的一些缺陷, 决定了以常规杂交为主要手段的育种方法难以育成突破性的甘

薯新品种, 严重影响了品种改良工作的进程。首先, 甘薯属于同源六倍体作物( $2n=6x=90$ ), 遗传背景复杂, 具生活力的种子数量少, 遗传分析和改良非常困难; 其次, 甘薯组种内、种间存在广泛的杂交不亲和性, 严重限制了育种中的资源利用和亲本自由选配; 另外, 基因资源匮乏也是制约甘薯育种工作进展的重要原因, 尤其是抗病、虫害等方面缺乏有效的抗源, 我国目前育成的品种中, 90%以上具有美国品种南瑞茗和日本品种胜利百号的血缘; 此外, 育种实践表明, 甘薯产量和抗病性与淀粉含量、可溶性糖含量等一些重要的品质性状间存在着明显的负相关, 传统的育种方法难以突破其种质范围。

分子生物学技术能够对生物的遗传基因进行改造或重组, 去掉基因型中与有益基因紧密连锁的不利基因(遗传累赘), 并使其在细胞内表达, 创造出优异的新材料, 然后通过杂交育种, 聚合人们所需要的各种有利基因, 有可能在较短时期内育成有突破性的新品种。因此, 解决上述问题的唯一途径是引进和创新各类优异的种质资源, 采用分子生物学技术等多种育种手段, 打破甘薯常规育种中存在的物种隔离和基因连锁等障碍, 结合常规育种手段, 提高育种效率。分子生物学技术在甘薯上的应用研究虽然起步较晚, 但目前已取得了可喜的成绩。

## 1 分子标记技术在甘薯遗传育种研究中的应用

DNA 分子标记是指能反映生物个体或种群间基因组中某种差异特征的 DNA 片段, 这种片段的特性可通过将基因组 DNA 经限制性内切酶酶切、PCR 扩增、分子杂交等技术在电泳凝胶上检测出来。DNA 分子标记是遗传变异在 DNA 水平上的直接反映, 与传统的形态标记相比, 分子标记不受生物细胞类型及发育时期的影响, 而且数量丰富, 稳定性好, 操作简便。分子标记技术的应用, 使甘薯等的遗传育种研究工作进入一个新的阶段, 现已日益广泛地用于甘薯的起源与进化、遗传多样性分析、分子连锁图谱的构建和基因定位、分子标记辅助选择育种以及品种鉴定等方面的研究。

### 1.1 分子标记技术在甘薯的起源、进化与分类中的应用

关于甘薯的起源, 研究者们从不同角度出发得出不同结论, 为此曾有过激烈的争论。考古学及植物学等的研究表明, 甘薯起源于美洲(Gomara 和

Rumphias 手记)。RAPD 和 AFLP 分析表明, 南美洲具有丰富的三浅裂野牵牛(*I. trifida*)资源, 其甘薯的遗传多样性高于巴布亚新几内亚, 这一研究结果从分子水平证实了美洲是甘薯最初的多样性和起源中心(Zhang et al., 1998; 2000)。

甘薯及其近缘野生种统称为甘薯组(*Section batatas*), 约含有 400 个种, 根据同甘薯杂交的亲合性, Teramura (1979)将甘薯组分为 A、B 两个群, 栽培种甘薯(*I. batatas*)被划入 B 群。2 个群中 B 群可以与栽培种甘薯(*I. batatas*)杂交; A 群与栽培种甘薯(*I. batatas*)杂交不亲和。Rajapakse 等(2004)对不同甘薯组植物  $\beta$ -淀粉酶基因片段扩增, 根据其内含子和外显子核苷酸序列变异程度, 得出了与上述分类方法基本一致的结果, 从分子水平上验证了上述分类方法的准确性。Nashiyama 等(1975)通过 DNA 序列分析, 证明甘薯组 B 群的进化速度快于 A 群。

Huang 和 Sun (2000)利用 ISSR 技术对甘薯野生资源进行亲缘关系验证, 根据聚类图的分析, 证明三浅裂野牵牛(*I. trifida*)与栽培种甘薯(*I. batatas*)有很近的亲缘关系; 对 2 个物种的  $\beta$ -淀粉酶基因片段进行测序, 发现其外显子核苷酸序列相似性高达 98.8%; 另外通过种间杂交实验, 结合染色体组分析的结果, 推测二倍体的三浅裂野牵牛(*I. trifida*)可能是三浅裂野牵牛(*I. trifida*)的祖先之一。Hu 等(2004)利用 SSR 标记对甘薯及其近缘野生种进行亲缘关系分析, 也表明甘薯与三浅裂野牵牛(*I. trifida*)有很紧密的亲缘性, 与椴树野牵牛(*I. tiliacea*)的亲缘性次之。

### 1.2 利用分子标记技术进行甘薯遗传多样性分析

随着分子生物学的发展, 多种分子标记被应用于甘薯遗传多样性的研究。利用特异序列扩增多态性(sequence specific amplified polymorphism, SSAP)技术分析甘薯品种的遗传多样性, 表明 SSAP 的多态性高于 AFLP 和 RAPD (Berenyi et al., 2002)。

在我国, RAPD 首先被用于甘薯遗传多样性研究(阎文昭等, 1997), 随后, 相关研究迅速发展。贺学勤等(2005)利用 RAPD、ISSR 和 AFLP 技术对 48 份中国地方甘薯品种进行分析, 表明我国地方品种的遗传变异十分丰富, 支持中国是甘薯次生多样性中心的观点; 广东地区的地方品种遗传变异较高, 达极显著差异水平, 从分子水平揭示广东应是中国甘薯的最早引入地, 并向周边省及内陆地区扩散, 指出在进行甘薯育种时应重点考虑广东地方品种

的利用;他们对多态性带的数量和实验稳定性的研究,表明 AFLP 标记优于 RAPD 和 ISSR 标记。

最近, SRAP 技术也被用于分析甘薯品种的遗传多样性,有研究表明,亚洲甘薯品种和美洲甘薯品种没有明显的遗传分化,说明甘薯品种间没有明显的地理差异;近缘野生种与育成品种有较高的遗传相似性;中国育成品种之间的遗传相似性也很高(郝玉民等, 2007)。李强等(2009)用 ISSR 和 AFLP 分子标记对中国不同时期、不同甘薯种植区的 26 份主要育成品种进行遗传多样性和遗传趋势分析,得到了同样的结果,说明中国甘薯主要育成品种的遗传多样性程度低,遗传相似程度高,遗传基础狭窄;在未来甘薯遗传改良中,可以通过加强不同薯区育种亲本的交换,逐步改变目前中国育成品种遗传基础狭窄的局面。

### 1.3 甘薯分子连锁图谱的构建

遗传连锁图谱是用遗传距离来反映多态性的遗传标记在染色体上相对位置的基因组图。它是遗传研究学的重要内容,也是种质资源收集和保存的有效工具,还是定位和克隆目的基因的基础。到目前为止,许多作物的分子连锁图谱都已构建完成。

栽培种甘薯( $2x=6n=90$ )染色体数目多且不稳定,遗传背景高度复杂,自交不孕以及种内、种间存在广泛的杂交不亲和,导致长期以来甘薯分子遗传学的研究远远滞后于其它主要作物。“双假测交(Double pseudotest cross)”作图策略的提出,为甘薯等异交物种构建遗传图谱困难的问题找到了出路(Hemmat et al., 1994),其基本原理是:在高度杂合的基因组中, $F_1$ 代一些位点的基因型在一个亲本中杂合,而在另一亲本中是纯合的,把子代中 1:1 分离位点以回交群体模型,利用杂合位点的来源构建图谱,最终分别得到双亲各自的遗传图谱。“双假测交”的效率跟 2 个亲本杂交后代分离群体间的杂合度和遗传差异密切相关。

最早用于构建甘薯遗传图谱的分子标记是 RAPD 技术(Ukoskit and Thompson, 1997),优点是操作简便、费用少,缺陷是稳定性差、难以有效地分离测序,限制了其在甘薯上的应用。AFLP 是作为第二代分子标记技术,重复性好、可信度高,目前在甘薯等作物图谱构建中应用最为普遍。SRAP 是一种比较新型的分子标记技术(Li and Quiros, 2001),具有操作简便、结果稳定,以及在基因组中的分布均匀等特点,其在甘薯等作物的图谱构建中

应用越来越广泛。

Kriegner 等(2003)以甘薯品种“Tanzania”(抗病毒病)和“Bikiamaliya”(感病毒病)为亲本杂交  $F_1$  分离群体为材料,构建了第一张甘薯遗传连锁图谱;随后, Cervantes-Flores 等(2007)又以甘薯品种“Beauregard”和“Tanzania”为亲本建立构建作图群体,用同样的方法构建了 2 个亲本的遗传连锁图谱。但是,他们所构建的图谱都是以国外甘薯栽培种为亲本,不能完全符合我国甘薯育种目标的要求。

我国甘薯遗传连锁图谱构建工作起步较晚,吴洁等(2005)和蒲志刚等(2010)以国内育成甘薯品种绵粉 1 号与红旗 4 号的  $F_1$  分离群体为材料,唐茜等(2010)以甘薯品种 BB3-26 与潮薯 1 号的  $F_1$  分离群体为材料,分别对图谱构建工作进行了尝试。但是,上述研究所构建的是极为初级的图谱,构成作图群体的株系数量不足 50 个,得到的连锁群数目(不超过 20 个)相对于甘薯来说太少,并且每个连锁群中的多态性标记数只有 2~3 个。

揭琴(2008)以徐 781 (抗甘薯茎线虫病)和徐薯 18 (感甘薯茎线虫病)的  $F_1$  中 202 株系为基础作图群体,利用 AFLP 技术分别构建了我国第一张比较精细的甘薯遗传连锁图谱。最近,李爱贤等(2010a)以甘薯品种漂徐薯 8 号为母本,郑薯 20 为父本,杂交获得的  $F_1$  分离群体的 240 个株系为作图群体,根据“双假测交”策略,利用 JoinMap3.0 作图软件,以 SRAP 标记技术构建了另一套甘薯遗传连锁图谱;其中漂徐薯 8 号的连锁图谱包括 90 个连锁群,涉及 514 个 SRAP 标记,连锁图谱的总长度为 6 720.03 cM,标记间平均距离为 10.50 cM;郑薯 20 的连锁图谱包括 79 个连锁群,共定位了 355 个 SRAP 标记,连锁图谱的总长度为 4 768.62 cM,标记间平均距离为 12.42 cM。这些研究标志着甘薯分子生物学研究开始进入精细作图时代。

### 1.4 分子标记技术在甘薯基因定位中的应用

对甘薯有重要价值的性状进行数量性状位点(QTL)定位,目的是尽可能地发掘有利用价值的等位基因,将分子标记辅助选择(Marker-assisted Selection, MAS)用于育种实践,以培育优质高产的新品种。随着分子遗传学的发展和分子标记技术的完善,尤其是高密度遗传图谱的构建,不但能在多种植物中对相应的 QTL 进行精确定位,而且能利用图位克隆技术克隆控制数量性状的基因。最近已在番茄(*Lycopersicon esculentum*)中鉴定和克隆出控

制果实大小和形状的 QTL (Frary et al., 2000)。

利用高密度的甘薯分子连锁图谱, 结合现代分子育种技术, 进行追踪和标记有经济价值的主效基因, 并分析这些数量性状的遗传规律, 进而发现和克隆这些主效基因, 是今后甘薯育种研究的必然趋势。

目前, 国内外关于甘薯 QTL 定位的研究还很少, 首先报道的是以 SRAP 标记构建的绵粉 1 号(高淀粉)和红旗 4 号(低淀粉)连锁图谱为基础, 通过复合区间作图法, 在绵粉 1 号中检测到 1 个控制甘薯淀粉含量的 QTL, 为红旗 4 号的加性效应增加淀粉 6.37%, 解释表型变异的 20.1% (吴洁等, 2005)。随后, 蒲志刚等(2010)报道了以 AFLP 标记构建的遗传连锁图谱为基础, 在绵粉 1 号遗传图的第 2 连锁群上检测到 E1M7-2 可作为淀粉的临近 QTL。同样, 唐茜等(2010)用 BB3-26 和潮薯 1 号的 SRAP 遗传连锁图谱, 通过区间作图法, 检测到 1 个淀粉含量 QTL, BB3-26 的加性效应增加淀粉含量 2.12%, 解释表型变异的 21.3%。上述研究所用的是极为初级的连锁图谱, QTL 定位结果的准确性尚有待商榷。

最近, 李爱贤等(2010b)以漯徐薯 8 号和郑薯 20 的 SRAP 分子连锁图谱为基础, 采用复合区间作图法, 使用 QTLMapper2.0 软件进行甘薯淀粉含量的 QTL 分析, 共检测到 4 个 QTL: 其中漯徐薯 8 号连锁图谱上检测出 2 个正加性效应 QTL, 分别解释甘薯淀粉表型变异的 8.93% 和 14.03%, 1 个负加性效应 QTL, 能减少甘薯淀粉含量的 12.92%; 郑薯 20 图谱上检测出 1 个负加性效应 QTL, 能减少甘薯淀粉含量的 21.34%。

### 1.5 分子标记辅助选择

分子标记辅助选择是利用与目标性状 QTL 紧密连锁的遗传标记, 对其进行跟踪选择, 即通过分析与目标基因紧密连锁的分子标记, 来判断目的基因是否存在。育种实践表明, 分子标记辅助选择具有方便、快捷、准确等特点, 且较少受到季节、生长条件、发育时期和鉴定方法等诸多外界因素的限制, 可极大缩小育种的群体规模, 减少育种过程中选择的盲目性, 将优良的外源基因逐步渗透到栽培品种中, 拓宽品种的遗传基础。

分子标记技术可帮助育种家选择亲本, 提高育种效率, 目前分子标记辅助选择已开始用于甘薯育种。甘薯基因型高度杂合, 有性杂交  $F_1$  即发生广泛分离, 优良性状和杂种优势可通过无性繁殖固定下

来。但是, 在甘薯  $F_1$  代中株系多(每粒实生种子即产生 1 个株系), 每个株系株数少, 其表现型容易受环境的影响, 在甘薯育种选配亲本时, 以分子标记分析为主, 辅以农艺性状和品质性状分析较为科学。

线虫病是甘薯最重要的 3 种病害之一, 也是在甘薯上研究最多的病害, Ukoskit 和 Thompson (1997) 利用感病品种与抗病品种杂交, 并用 760 条 RAPD 引物对 2 个亲本和  $F_1$  分离群体进行分析, 筛选出一个抗根结线虫病的基因。随后, 郭金平和潘大仁 (2002) 以甜菜抗线虫病基因(Hs1pro-1)序列设计 PCR 引物, 找出 1 对特异性引物组合, 可用于甘薯抗线虫病品种的分子标记辅助选择。同样, 潘大仁等(2006)以 Hs1pro-1 基因序列设计引物, 以具有线虫病抗性的甘薯品种金山 25 的 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 得到一条与 Hs1pro-1 基因有同源性的特异性片断, 进一步证明 Hs1pro-1 基因能够分离出完整的甘薯线虫病抗性基因, 用于相关性状的分子标记辅助选择。RAPD 标记可以转化为 SCAR 标记, 研究者用 7 个高抗品系和 13 个高感品系进行初步验证应用, 其结果与田间鉴定结果基本一致, 为甘薯抗茎线虫病育种分子标记辅助选择技术体系的建立提供了思路(王欣等, 2009)。

甘薯其他病害相关研究也有一些报道, 袁照年等(2005)以金山 57×金山 630 的  $F_1$  为材料, 选择高抗和高感 I 型薯瘟病的极端类型植株, 分别提取 DNA, 建立抗、感基因池, 利用 RAPD 引物进行 PCR 扩增, 筛选到一条引物(S213-500)在抗、感池间显示出多态性, 并利用 S213-500 引物对 50 份抗病和高抗品种进行分析, 实验结果与田间鉴定吻合性较高, 表明 S213-500 可能与抗 I 薯瘟病基因紧密连锁, 在鉴定该病方面具有一定应用价值。

### 1.6 分子标记技术在甘薯品种鉴定中的应用

最初, 作物品种纯度的鉴定要根据田间表型性状进行, 后来发展为同工酶分析, 但二者皆一定的缺陷。随着分子生物学的发展, 目前分子标记已广泛地用于品种纯度鉴定, 它具有快速、准确、简便、成本低等特点, 并且不受季节限制, 在植物幼苗或种子阶段就可鉴定出品种纯度。

在甘薯资源收集过程中, 同一个品种往往由于名称不同, 导致多个副本被保存, 浪费了大量的人力、财力。甘薯是无性繁殖作物, 因环境条件的影响, 特别是在长期不良的栽培条件下, 会发生芽变和区分变异等两类无性变异, 为品种资源保存工作

带来困扰。Arthur 和 Labonte (1995)对美国 8 个州的甘薯品种“Jewel”的无性系进行 RAPD 分析, 发现有 5 个无性系的多态性在 7.1%~35.7%之间, 表明利用 RAPD 标记可以快速地检测出无性系变异。随后, Arthur 和 Labonte (1996)又以不同甘薯品种为材料, 用 RAPD 技术对无性繁殖过程中不同来源的芽变进行进一步分析, 表明用分生组织进行无性繁殖比用不定芽更能保持基因型的一致性。

RAPD 标记技术最早用于作物品种鉴定, Prakash 等(1996)对 30 个美国品种进行 RAPD 分析, 发现所有品种都具有唯一的指纹图谱, 可有效地进行品种鉴定。随着对甘薯基因组研究的深入, 以及分子生物学的发展, AFLP 等分子标记技术在甘薯中的应用越来越广泛, 鉴定体系也越来越完善, 使品种的鉴定工作趋向自动化。

### 1.7 分子标记技术在甘薯其他方面的应用

近年来, 随着分子标记技术的迅速发展, 其在甘薯中的应用范围越来越广。例如, 离体保存技术在甘薯种质资源保存中有着不可替代的优势, 用 SSR 标记检测国家甘薯试管苗库中离体保存 5 年和 8 年的 24 份种质资源及其对应的田间圃材料的遗传稳定性, 发现这些材料在两种保存方式下谱带一致, 说明两种保存方式的效果相同, 该研究为甘薯种质资源长期离体保存提供了理论依据(赵冬兰等, 2011)。

## 2 甘薯基因的分离与克隆

随着甘薯营养价值的再认识, 以及甘薯在转基因研究中作为生物反应器的重要作用, 近年来, 各国逐渐加大了甘薯分子生物学研究的力度。现已分离到多种特异基因, 它们主要与甘薯的品质、块根发育以及抗逆性有关。

### 2.1 甘薯品质相关基因的分离与克隆

目前, 已经从甘薯中分离了很多品质相关基因, 如影响甘薯块根品质的主要影响因子多酚氧化酶(PPO)、淀粉酶、ADPG 焦磷酸化酶、胡萝卜素、花青素等的基因。

PPO 是引起甘薯块根褐变的主要原因, 目前已经从甘薯中分离了多个 PPO 基因。使用兼并性引物, 彭世清和陈守才(2002)利用 cDNA 末端快速克隆(rapid-amplification of cDNA ends, RACE)技术, 从甘薯中克隆出全长 1 984 bp 的 PPO 基因, 该基因包含了完整的开放阅读框, 能够编码 588 个氨基酸。

$\beta$ -淀粉酶是甘薯块根中最主要的蛋白质, 对甘

薯营养品质和口感起决定性作用。张勇为和张义正(2004)利用 RT-PCR 技术从甘薯新大紫块根总 RNA 中克隆了  $\beta$ -淀粉酶 cDNA, 该 cDNA 不仅能在大肠杆菌表达, 而且能将具有活性的  $\beta$ -淀粉酶分泌到胞外; 并且, 他比较发现, 大肠杆菌表达的  $\beta$ -淀粉酶与甘薯块根的  $\beta$ -淀粉酶除迁移率不同外, 对淀粉酶活性抑制剂 EDTA 和  $\beta$ -巯基乙醇的敏感性均相同。

ADPG 焦磷酸化酶是淀粉生物合成的 4 种关键酶之一, Harn 等(2000)研究发现在甘薯中存在多拷贝的 ADPG 焦磷酸化酶基因, 进一步研究表明其 cDNA 受蔗糖的正调控表达。

$\beta$ -胡萝卜素是维生素 A 原, 对人体健康具有重要作用, 可降低多种癌症特别是肺癌的发病率。陈选阳等(2005)用 RACE 技术, 分离得到控制甘薯  $\beta$ -胡萝卜素合成的关键酶基因, 并通过斑点杂交表明, 甘薯  $\beta$ -胡萝卜素生物合成过程中, 各种酶在块根发育的前期具有较强的表达。王飞(2007)根据双子叶植物类胡萝卜素合成结构基因氨基酸保守区域设计简并引物, 扩增出甘薯编码类胡萝卜素合成关键酶基因的中间片断, 并成功地克隆了它的全长, 序列分析表明, 该基因与其他植物的序列高度同源。

花青素作为一种天然植物色素, 近年来倍受国外市场关注, 紫心甘薯中富含花青素。二氢黄酮醇-4-还原酶(DRF)是花青素生物合成途径的 4 个关键酶之一, 在基因库(GenBank)中, 有 3 个 DRF 基因是从甘薯中分离的。Tanaka 等(2004)首先从甘薯中分离出了 DRF-B 基因, 指出甘薯中至少存在 4 个 DRF-B 基因的等位基因, 并对该基因进行结构分析, 发现其外显子和侧翼区与葡萄的 DRF-B 基因具有高度的同源性。

### 2.2 甘薯块根发育相关基因的分离与克隆

甘薯收获的主要器官是块根, 块根的发育好坏直接影响甘薯的产量, 与甘薯块根发育相关基因的分离与克隆受到研究者的广泛关注。Lee 等(2000)从甘薯块根的 cDNA 文库中筛选了 2 个与块根发育相关的基因(iAGPLI), 序列长度分别为 1 661 bp 和 1 277 bp, 该基因只在块茎和块根中才能转录表达。随后, Kim 等(2002)从甘薯处于着色和块根形成期的根部也分离出 2 个基因(*ibMADS3* 和 *ibMADS4*), 与甘薯中其他的 MADS 家族基因序列相似性很高, 表达模式及功能相似; 这 2 个基因主要在甘薯根部表达, 尤其是在纤维根、着色根和膨大块根中大量表达; 进一步研究表明这 2 个基因在块根形成时进

行转录表达。此外, Tanaka 等(2005)利用 mRNA 差异显示技术, 在不同发育时期的甘薯块根中分离出 10 个与块根发育相关的基因(SPF), 通过半定量 RT-PCR 检测, 其中 6 个在块根形成过程中表达量增加, 3 个表达量减少, 进一步研究表明, SPF6 编码类受体蛋白激酶(RLK)的分子结构和拟南芥 RLK 家族中的 LRR II 型比较相似。

随着研究的深入, 甘薯块根 cDNA 文库建立起来, 直径为 0.3~1.0 cm, 用于鉴定与甘薯块根发育相关的基因, 数据分析表明 39 个表达序列标签(EST)与甘薯块根发育相关, 根据 Northern 印迹结果, 22 个基因是在甘薯生长发育早期的块根和纤维根中表达的(You et al., 2003)。

### 2.3 甘薯抗逆相关基因的分离与克隆

长期以来, 甘薯基因分离和克隆的工作重点是抗逆性相关基因的研究。Wang 等(2002)从甘薯中分离出了块根贮藏蛋白基因的启动子区, 并证明其在茉莉酸甲酯(MeJA)和感伤处理下强烈表达。

POD、APX 属于植物体中的抗氧化酶, 在环境胁迫下通过催化植物细胞中氧离子的歧化反应来消除氧化胁迫。现已从甘薯中分离出了多个 POD 基因, 通过 Northern 印迹表明, 它们在不同的非生物胁迫下有不同的表达模式(Jang et al., 2004)。随后, APX 基因也从甘薯中分离出来, 进一步研究表明该基因在 ABA、高盐、高温、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和病原菌侵染等各种环境胁迫下会增强表达(Park et al., 2004)。

利用抗病基因的保守序列设计简并引物进行同源扩增, 并进行植物抗病基因同源序列(RGA)的克隆研究在国内外已有大量报道(李春来和张怀渝, 2004), 近年来该技术已开始甘薯抗病基因的分离和克隆中得到应用。

甘薯羽状斑驳病毒(SPFMV)、甘薯 G 病毒(SPVG)、甘薯潜隐病毒(SPLV)是甘薯世界性的三大病毒病。其中 SPFMV 危害最严重, 可使甘薯严重退化及减产, 我国广大薯区每年由此造成难以估量的损失。Abad 等(1992)首次克隆测序了 SPFMV 的外壳蛋白(CP)基因, 为抗 SPFMV 基因的遗传转化奠定了基础。利用克隆的 SPFMV-CP 基因可建立快速、灵敏、特异性高的病毒检测手段, 对于甘薯的种薯生产、推广和脱毒具有重要的意义。孟清等(2005)根据国外已经克隆测序的 SPFMV 基因序列, 设计合成了一对特异性引物, 成功克隆了 SPFMV 中国分离株外壳蛋白基因。

古英洪等(2006)根据已报道的 SPVG 外壳蛋白基因序列设计引物, 采用 RT-PCR 技术, 从甘薯病叶总 RNA 中克隆到两个约 700 bp 的 cDNA 片段, 序列测定与分析结果表明, 该片段与已报道的 SPVG 基因具有较高的同源性, 表明该片段是 SPVG-CP 基因。

Colinet 等(1997)最早克隆了 SPLV-CP 基因。随后, 黄玉娜和张振臣(2007)根据已报道的 SPLV-CP 基因序列设计引物, 利用 RT-PCR 方法克隆了 SPLV 中国河南分离物(SPLV-HN)的 CP 基因及部分 3'端非编码区序列, 由 879 个核苷酸组成。

甘薯茎线虫病是甘薯生产上的主要病害, 对甘薯生产构成了严重威胁, 目前我国生产上推广面积最大的徐薯 18 和南薯 88 均表现感病。柳哲胜等(2006)根据已报道的植物线虫抗性基因的核苷酸结合位点保守氨基酸序列设计兼并引物, 从甘薯中分离出了与茎线虫病抗性相关的肌醇-1-磷酸合成酶基因。

和线虫病一样, 根腐病也是我国甘薯最主要的病害之一, 林巧玲和曾会才(2007)以高抗根腐病的徐薯 18 总 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 获得其 RGA, 对其氨基酸序列进行聚类分析和同源性比较分析表明, 这些 RGA 在结构上与已知的抗病基因具有较高的相似性, 它们很可能代表甘薯中不同类型的抗病基因; 所获得的 RGA 可作为分子标记筛选甘薯的抗病候选基因, 为甘薯的抗病基因克隆奠定了基础。

### 3 甘薯遗传转化

植物遗传转化是指利用重组 DNA 技术、植物细胞组织培养技术或种质系统转化技术, 将外源基因导入植物细胞或组织, 经植株再生获得转基因植株的技术。甘薯遗传转化研究工作开始较晚, 但已取得较大进展。

大量研究表明, 农杆菌介导的遗传转化, 插入的 DNA 片段明确、拷贝数低、遗传与表达稳定(王景雪等, 1999)。早在 20 多年前, Suseelan 等(1987)就论证了农杆菌可以侵染甘薯。此后, 农杆菌广泛用于甘薯遗传转化, 如将甘薯叶片和愈伤组织与根癌农杆菌共培养, 诱导得到转化愈伤组织(朱宝成等, 1992); 用叶盘法获得甘薯转基因植株(Newell et al., 1995)。

总而言之, 甘薯遗传转化研究初期, 所用的转化受体主要是叶片、叶柄, 另外还有子叶、茎、新鲜块根、愈伤组织和原生质体; 所使用的主要为根

癌农杆菌, 也有发根农杆菌; 导入的基因除了选择标记基因和报告基因外, 也包括一些具有潜在经济价值的目的基因, 如 SPFMV-CP、豇豆胰蛋白酶抑制剂、植物凝集素、玉米醇溶蛋白、 $\delta$ -内毒素 cry IIIA、SKT-4、淀粉粒附着性淀粉合成酶 I、烟草微粒体 $\omega$ -3 脂肪酸脱氢酶、水稻巯基蛋白酶抑制剂、淀粉分支酶 II 等的基因。

但是, 在长期以来甘薯的离体组织培养中, 外植体很难诱导产生出不定芽。在进行遗传转化时, 由于不定芽诱导的频率太低而影响了转基因植株的获得。与其他作物相比, 甘薯的转化研究尚缺乏一个高效、适应性广的遗传转化受体系统。直到甘薯胚性细胞悬浮培养系的建立, 使胚性愈伤组织和胚性悬浮细胞系作为甘薯遗传转化受体材料成为可能(Liu et al., 2001); 随后, 翟红等(2003)对农杆菌介导的甘薯胚性悬浮细胞的遗传转化进行了探讨, 并获得经 GUS 及 PCR 检测的转基因植株, 使甘薯遗传转化研究进入新的阶段。此外, 在提高甘薯转化效率方面也做了有益尝试, 王欣等(2006)将超声波辅助的农杆菌遗传转化方法用于甘薯, 并对转化体系进行了优化, 研究表明, 在遗传转化中, 超声波处理可以在外植体上产生许多易于农杆菌进入的微小伤口和通道, 从而提高转化率。

最近的甘薯转基因研究更注重实际应用, 主要包括抗病虫、抗除草剂和品质改良等基因的导入。如臧宁等(2007)用农杆菌介导法将 *bar* 基因导入甘薯主栽品种徐薯 18 的胚性悬浮细胞中, 获得了具有高度除草剂抗性的转基因植株。

目前, 甘薯遗传转化中有近 80% 是通过农杆菌介导的, 其他转化方法如电激法和基因枪法也有应用, 但很少, 此外, 目前甘薯遗传转化研究还局限于少数基因型。与其他作物相比, 甘薯上仍存在着转化方法单一的问题。另外, 与其他作物相比, 对外源基因在甘薯转基因植株中的遗传规律的研究也相对滞后。

在今后的甘薯遗传转化研究中, 应该在农杆菌介导法的基础上尝试更多的转化方法, 以适应不同基因型甘薯的需要, 尤其重视目前生产上推广的或有应用潜力的优良品种的遗传改良研究, 以便于把科学研究更有效地转化为生产力。今后应该重视外源基因在甘薯转基因植株中的遗传规律的研究, 在同一受体中高效地聚合多个有利基因, 创造出多种优异的育种材料, 结合常规杂交育种, 选育出有突

破性的甘薯新品种。尽管甘薯遗传转化离实际应用还有一段很长的路要走, 相信随着分子生物技术的发展, 我国一旦允许甘薯进入小面积试验和小范围隔离性释放, 甘薯遗传转化体系必将得到不断的完善, 转基因甘薯将会展现出广阔的发展前景。

## 作者贡献

本综述是由李爱贤结合本人的研究实践, 搜集、整理相关资料, 完成初稿的撰写; 王庆美对部分论文结构及资料进行了调整和修改; 由刘庆昌补充了部分资料, 并提出了修改意见; 最后由李爱贤根据其他2位作者的意见, 进行整理定稿。全体作者都阅读并同意最终的文本。

## 致谢

本研究由国家甘薯产业技术体系(CARS-11-B-06)、国家科技支撑计划(2009BADA7B03)、山东省“三〇”工程(鲁农良种2009-5)和国家863计划项目(2009AA102102)共同资助。

## 参考文献

- Abad J.A., Conkling M.A., and Moyer J.W., 1992, Comparison of the capsid protein cistron from serologically distinct strains of sweet potato feathery mottle virus (SPFMV), Arch. Virol., 126(1-4): 147-151
- Arthur Q.V., and Labonte D.R., 1995, Variation in randomly amplified DNA markers and storage root yield in 'Jewel' sweetpotato clones, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 120(5): 734-740
- Arthur Q.V., and Labonte D.R., 1996, Genetic variation among sweet potatoes propagated through nodal and adventitious sprouts, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 121(2): 170-174
- Berenyi M., Gichuki S.T., Schmidt J., and Burg K., 2002, Tyl-copia retrotransposon-based S-SAP (sequence specific amplified polymorphism) for genetic analysis of sweetpotato, Theor. Appl. Genet., 105(6-7): 862-869
- Cervantes-Flores J.C., Yencho G.C., Kriegner A., Pecota K.V., Faulk M.A., Mwangi R.O.M., and Sosinski B.R., 2008, Development of a genetic linkage map and identification of homologous linkage groups in sweet potato using multiple-dose AFLP markers, Mol. Breeding, 21(4): 511-532
- Chen X.Y., Lin S.Q., Yuan Z.N., Zhang Z.J., and Zheng J.G., 2005, Cloning and construction of plant expression vector of *zds* gene from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.), Fujian Nonglin Daxue Xuebao (Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)), 34(4): 473-477 (陈选阳, 林世强, 袁照年, 张招娟, 郑金贵, 2005, 甘薯*zds*基因的克隆与植物表达载体构建, 福建农林大学学报(自然科学版), 34(4): 473-477)
- Colinet D., kummert J., and Lepoivre P., 1997, Evidence for the assignment of two strains of SPLV to the genus Potyvirus based on coat protein and 3' non-coding region sequence

- data, *Virus Research*, 49(1): 91-100
- Frary A., Nesbitt T.C., Grandillo S., vande K.E., Cong B., Liu J., Meller J., Elber R., Alpert K., and Tanksley S., 2000, Cloning and transgenic expression of fw 2.2: a quantitative traits locus key to the evolution of tomato fruits, *Science*, 289: 85-87
- Gu Y.H., Tang H.R., and Zhang Y.Z., 2006, Cloning and sequence analysis of coat protein gene of sweet potato virus G, *Nongye Shengwu Jishu Kexue (Chinese Agricultural Science Bulletin)*, 22(9): 50-55 (古英洪, 汤浩茹, 张义正, 2006, 甘薯G病毒外壳蛋白基因克隆与序列分析, *农业生物技术科学*, 22(9): 50-55)
- Guo J.P., and Pan D.R., 2002, PCR detection of nematode resistance in sweet potato, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 28(2): 167-169 (郭金平, 潘大仁, 2002, 甘薯线虫病品种抗性的PCR检测, *作物学报*, 28(2): 167-169)
- Hao Y.M., Guo L., Han Y.C., Diao Y., Yang X.S., and Hu Z.L., 2007, Genetic diversity analysis of sweet potato based on SRAP markers, *Wuhan Zhiwuxue Yanjiu (Journal of Wuhan Botanical Research)*, 25(4): 406-409 (郝玉民, 郭兰, 韩延闯, 刁英, 杨新笋, 胡中立, 2007, 甘薯品种的SRAP遗传多样性分析, *武汉植物学研究*, 25(4): 406-409)
- Harn C.H., Bae J.M., Lee S.S., Min S.R., and Liu J.R., 2000, Presence of multiple cDNAs encoding an isoform of ADP-glucose pyrophosphorylase large subunit from sweet potato and characterization of expression levels, *Plant Cell Physiol.*, 41(11): 1235-1242
- He X.Q., Liu Q.C., Wang Y.P., and Zhai H., 2005, Analysis of genetic diversity of sweetpotato landraces in China, *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica)*, 38(2): 250-25 (贺学勤, 刘庆昌, 王玉萍, 翟红, 2005, 中国甘薯地方品种的遗传多样性分析, *中国农业科学*, 38(2): 250-257)
- Hemmat M., Weeden N.F., Manganaris A.G., and Lawson D.M., 1994, Molecular marker linkage map for apple, *J. Hered.*, 85(1): 4-11
- Hu J.J., Nakatani M., Lalusin A.G., and Fujimura T., 2004, New microsatellite markers developed from reported *Ipomoea trifida* sequences and their application to sweetpotato and its related wild species, *Sci. Hort.*, 102(4): 375-386
- Huang J.C., and Sun M., 2000, Genetic diversity and relationships of sweetpotato and its relatives in *Ipomoea* series *Batatas* (Comvolvaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA, *Theor. Appl. Genet.*, 100: 1050-1060
- Huang Y.N., and Zhang Z.C., 2007, Cloning, expression of coat protein gene of Sweet potato latent virus in *E. coli* and preparation of antiserum, *Acta Phytopathologica Sinica*, 37(3): 255-259 (黄玉娜, 张振臣, 2007, 甘薯潜隐病毒外壳蛋白基因的克隆, 表达及其抗血清的制备, *植物病理学报*, 37(3): 255-259)
- Jang I.C., Park S.Y., Kim K.Y., Kwon S.Y., Kim J.G., and Kwak S.S., 2004, Differential expression of 10 sweetpotato peroxidase genes in response to bacterial pathogen, *Pectobacterium chrysanthemi*, *Plant Physiol. Biochem.*, 42(5): 451-455
- Jie Q., 2008, Construction of a genetic linkage map and development of AFLP markers linked to stem nematode resistance gene in sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), Dissertation for Ph.D., China Agricultural University, Supervisor: Liu Q.C., pp.29-60 (揭琴, 2008, 甘薯分子连锁图谱的构建及抗茎线虫病基因AFLP标记的开发, 博士学位论文, 中国农业大学, 导师: 刘庆昌, pp.29-60)
- Kim S.H., Mizuno K., and Fujimura T., 2002, Isolation of MADS-box genes from sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) expressed specifically in vegetative tissues, *Plant Cell Physiol.*, 43(3): 314-322
- Kriegner A., Cervantes J.C., Burg K., Mwanga R.O.M., and Zhang D.P., 2003, A genetic linkage map of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) based on AFLP markers, *Molecular Breeding*, 11(3): 169-185
- Lee S.S., Bae J.M., Oh M.S., Liu J.R., and Harn C.H., 2000, Isolation and characterization of polymorphic cDNAs partially encoding ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase) large subunit from sweet potato, *Mol. Cells*, 10(1): 108-112
- Li A.X., Liu Q.C., Wang Q.M., Zhai H., Yan W.Z., Zhang H.Y., and Li M., 2010a, Mapping QTLs for starch content in sweetpotato, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 8(3): 516-520 (李爱贤, 刘庆昌, 王庆美, 翟红, 阎文昭, 张海燕, 李明, 2010a, 甘薯淀粉含量的QTL定位, *分子植物育种*, 8(3): 516-520)
- Li A.X., Liu Q.C., Wang Q.M., Zhang L.M., Zhai H., and Liu S.Z., 2010b, Construction of molecular linkage maps using SRAP markers in sweet potato, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 36(8): 1286-1295 (李爱贤, 刘庆昌, 王庆美, 张立明, 翟红, 刘树震, 2010b, 利用SRAP标记构建甘薯分子连锁图谱, *作物学报*, 36(8): 1286-1295)
- Li C.L., Zhang H.Y., 2004, Research advance of resistance gene analogs in plant, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 2(6): 853-860 (李春来, 张怀渝, 2004, 植物抗病基因同源序列(RGA)研究进展, *分子植物育种*, 2(6): 853-860)
- Li G., and Quiros C.F., 2001, Sequence related amp lified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a



- simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*, *Theor. Appl. Genet.*, 103(2): 455-461
- Li Q., Ma D.F., Li P., Li X.Y., Wang X., Cao Q.H., and Zhai H., 2009, Genetic diversity and genetic tendency of main Chinese sweetpotato cultivars, *Jiangsu Nongye Xuebao* (*Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*), 25(2): 253-259 (李强, 刘庆昌, 马代夫, 李鹏, 李秀英, 王欣, 曹清河, 翟红, 2009, 中国甘薯主要育成品种的遗传多样性及遗传趋势, *江苏农业学报*, 25(2):253-259)
- Lin Q.L., and Zeng H.C., 2007, Cloning and analysis of NBS-LRR type resistance gene analogs in sweet potato (*Ipomoea batatas*), *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 16(2): 65-69 (林巧玲, 曾会才, 2007, 甘薯中 NBS-LRR类抗病基因同源序列的克隆及序列分析, *西北农业学报*, 16(2): 65-69)
- Liu Q.C., Zhai H., Wang Y., and Zhang D.P., 2001, Efficient plant regeneration from embryogenic suspension cultures of sweetpotato, *In Vitro Cell. Dev. Biol., Plant*, 37(5): 564-567
- Liu Z.S., Liu Q.C., Zhai H., and Wang Y.P., 2006, Cloning and sequence analysis of *Myo* inositol-1-phosphate synthase gene in sweetpotato, *Nongye Shengwu Jishu Xuebao* (*Journal of Agricultural Biotechnology*), 14(2): 219-225 (柳哲胜, 刘庆昌, 翟红, 王玉萍, 2006, 甘薯肌醇-1-磷酸合成酶基因的克隆及序列分析, *农业生物技术学报*, 14(2): 219-225)
- Meng Q., Wen L.H., Wang F.W., Jin P., Meng X.P., and Li X., 2005, Cloning and sequence analysis of coat protein gene of sweet potato feathery mottle virus Chinese isolate (SPFMV-Ch), *Neimenggu Daxue Xuebao* (*Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Neimongol* (Natural Science Edition)), 36(1): 68-74 (孟清, 温利华, 王凤武, 金萍, 孟学平, 李霞, 2005, 甘薯羽状斑驳病毒中国分离株外壳蛋白基因的克隆和序列分析, *内蒙古大学学报(自然科学版)*, 36(1): 68-74)
- Nashiyama I., Miyazaki T., and Sakamoto S., 1975, Evolutionary autopolyploidy in the sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and its progenitors, *Euphytica*, 24(1): 197-208
- Newell C.A., Lowe J.M., Merryweather A., Rooke L.M., and Hamilton W.D.O., 1995, Transformation of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) with *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of plants expressing cowpea trypsin inhibitor and snowdrop lectin, *Plant Sci.*, 107(2): 215-227
- Pan D.R., Chen G.S., Zhou Y.F., Guo J.P., and Chen J.Q., 2006, The primary study on cloning and partial sequence analysis of a gene for nematode resistance in sweet potato, *Fujian Nonglin Daxue Xuebao* (*Journal of Fujian Agriculture and Forestry University* (Natural Science Edition)), 35(1): 57-59 (潘大仁, 陈观水, 周以飞, 郭金平, 陈建秋, 2006, 甘薯抗线虫病相关基因片段克隆及序列分析初步研究, *福建农林大学学报(自然科学版)*, 35(1): 57-59)
- Park S.Y., Ryu S.H., Jang I.C., Kwon S.Y., Kim J.G., and Kwak S.S., 2004, Molecular cloning of a cytosolic ascorbate peroxidase cDNA from cell cultures of sweet potato and its expression in response to stress, *Mol. Genet. Genomics*, 271(3): 339-346
- Peng S.Q., and Chen S.C., 2002, Cloning and sequence analysis of sweet potato polyphenol oxidase cDNA, *Nongye Shengwu Jishu Xuebao* (*Journal of Agricultural Biotechnology*), 10(3): 241-245 (彭世清, 陈守才, 2002, 甘薯多酚氧化酶cDNA的克隆及序列分析, *农业生物技术学报*, 10(3): 241-245)
- Prakash C.S., He G.H., and Jarret R.L., 1996, DNA marker-based study of genetic relatedness in united States sweetpotato cultivars, *J. Amer. Soc. Hout. Sci.*, 121: 1059-1062
- Pu Z.G., Wang D.Y., Tan W.F., Wu J., and Yan W.Z., 2010, AFLP maps and QTL analysis of starch content of sweet potato, *Xinan Nongye Xuebao* (*Southwest China Journal of Agricultural Sciences*), 23(4): 1047-1050 (蒲志刚, 王大一, 谭文芳, 吴洁, 阎文昭, 2010, 利用AFLP构建甘薯连锁图及淀粉含量QTL定位, *西南农业学报*, 23(4): 1047-1050)
- Rajapakse S., Nilmalgoda S.D., Molnar M., Ballard R.E., Austin D.F., and Bohac J.R., 2004, Phylogenetic relationships of the sweet potato in *Ipomoea* series *Batatas* (*Xon-volvulaceae*) based on nuclear  $\beta$ -amylase gene sequences, *Mol. Phylogenet. Evol.*, 30(3): 623-632
- Suseelan K.N., Bhagwat A., Mathews H., Bhatia C.R., 1987, *Agrobacterium tumefaciens*-induced tumour formation on some tropical dicot and monocot plants, *Current Science*, 56(17): 888-889
- Tanaka M., Nakatani M., Nakazawa Y., and Takahata Y., 2004, Structural characterization of the dihydroflavonol 4-reductase B (DFR-B) gene in the sweet potato, *DNA Seq.*, 15(4): 277-282
- Tanaka M., Takahata Y., and Nakatani M., 2005, Analysis of genes developmentally regulated during storage root formation of sweet potato, *J. Plant Physiol.*, 162(1): 91-102
- Tang Q., He F.F., Wang J.C., and Wang R.N., 2010, Construction of a linkage map using SRAP markers and QTL mapping for starch content in sweetpotato, *Xinan Daxue Xuebao* (*Journal of Southwest University* (Natural Science Edition)), 32(6): 40-45 (唐茜, 何凤发, 王季春, 王瑞娜, 2010, 甘薯SRAP遗传图谱构建及淀粉含量QTL初步定位, *西南大学学报(自然科学版)*, 32(6): 40-45)
- Teramura T., 1979, Phylogenetic study of *Ipomoea* species in

- the section *Batatas*, Mem. Coll. Agric. Kyoto Univ., 114: 29-48
- Ukoskit K., and Thompson P.G., 1997, Autopolyploidy versus allopolyploidy and low-density randomly amplified polymorphic DNA linkage maps of sweetpotato, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 122: 822-828
- Wang F., 2007, Clone of full-length cDNA of phytoene desaturase (Gene *pds*) gene in sweet potato (*Ipomoea Batatas* L.), Anhui Ligong Daxue Xuebao (Journal of Anhui University of Science and Technology (Natural Science)), 27(1): 55-58 (王飞, 2007, 甘薯类胡萝卜素合成酶基因*pds*全长cDNA的克隆, 安徽理工大学学报(自然科学版), 27(1): 55-58)
- Wang J.X., Sun Y., 1999, Progress of plants genetic transformation by agrobacterium, Shengwu Jishu Tongbao (Biotechnology Information), (1): 7-13 (王景雪, 孙毅, 1999, 农杆菌介导的植物基因转化研究进展, 生物技术通报, (1): 7-13)
- Wang S.J., Lan Y.C., Chen S.F., Chen Y.M., and Yeh K.W., 2002, Wound-response regulation of the sweet potato sporamin gene promoter region, Plant Mol. Biol., 48(3): 223-231
- Wang X., Ma D.F., Li Q., Li X.Y., Xie Y.P., and Li H.M., 2009, Initial application of SCAR markers linked to a gene for stem nematode disease resistance in assisted selection in sweetpotato breeding, Jiangsu Nongye Xuebao (Jiangsu Journal of Agricultural Sciences), 25(1): 49-53 (王欣, 马代夫, 李强, 李秀英, 谢逸萍, 李洪民, 2009, 甘薯抗茎线虫病基因SCAR标记辅助育种初探, 江苏农业学报, 25(1): 49-53)
- Wang X., Zhou Z., Li Q., Gu X.H., and Ma D.F., 2006, Optimization of genetic transformation using SAAT in sweetpotato, Jiangsu Nongye Xuebao (Jiangsu Journal of Agricultural Sciences), 22(1): 14-18 (王欣, 周忠, 李强, 顾向华, 马代夫, 2006, 甘薯SAAT法遗传转化条件的优化, 江苏农业学报, 22(1): 14-18)
- Wu J., Tan W.F., He J.R., Pu Z.G., Wang D.Y., Zhang Z.S., Zhan F.F., and Yan W.Z., 2005, Construct on of SRAP linkage map and QTL mapping for starch content in sweet potato, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 3(6): 841-845 (吴洁, 谭文芳, 何俊蓉, 蒲志刚, 王大一, 张正圣, 詹付凤, 阎文昭, 2005, 甘薯SRAP连锁图构建淀粉含量QTL检测, 分子植物育种, 3(6): 841-845)
- Yan W.Z., Wang D.Y., Li J.T., Yang G.W., and Pei Y., 1997, RAPD map of 22 varieties in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), Journal of Agricultural Biotechnology, 5(1): 40-46 (阎文昭, 王大一, 李晋涛, 杨光伟, 裴炎, 1997, 22个甘薯品种(系)遗传背景的RAPD图谱分析, 农业生物技术学报, 5(1): 40-46)
- You M.K., Hur C.G., Ahn Y.S., Suh M.C., Jeong B.C., Shin J.S., and Bae J.M., 2003, Identification of genes possibly related to storage root induction in sweet potato, FEBS Lett., 536(1-3): 101-105
- Yuan Z.N., Chen X.Y., Zhang Z.J., and Li M.S., 2005, Screening of the molecular markers linked to type I *Bacterial wilt* resistant gene of sweet potato, Jiangxi Nongye Daxuebao (Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis), 27(6): 861-863 (袁照年, 陈选阳, 张招娟, 李明松, 2005, 甘薯抗I型薯瘟病的RAPD标记筛选, 江西农业大学报, 27(6): 861-863)
- Zang N., Zhai H., Wang Y.P., Yu B., He S.Z., and Liu Q.C., 2007, Development of transgenic sweetpotato expressing *bar* gene for herbicide resistance, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 5(4): 475-479 (臧宁, 翟红, 王玉萍, 于波, 何绍贞, 刘庆昌, 2007, 表达*bar*基因的抗除草剂转基因甘薯的获得, 分子植物育种, 5(4): 475-479)
- Zhai H., and Liu Q.C., 2003, Studies on the genetic transformation of embryogenic suspension cultures in sweetpotato, Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica), 36(5): 487-491 (翟红, 刘庆昌, 2003, 甘薯胚性悬浮细胞遗传转化的研究, 中国农业科学, 36(5): 487-491)
- Zhang D.P., Cervantes J., and Huaman Z., 2000, Assessment genetic diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars from tropical America using AFLP, Genet Resour Crop Evol., 47(6): 659-665
- Zhang D.P., Ghislain M., Huaman Z., Golmirzaie A., and Hijmans R., 1998, RAPD variation in sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars from South America and Papua New Guinea, Genet. Resour. Crop Ev., 45(3): 271-277
- Zhang Y.W., and Zhang Y.Z., 2004, Cloning and expression in *E. coli* of cDNA encoding sweet potato  $\beta$ -amylase, High Technology Letters, 9: 29-33 (张勇为, 张义正, 2004, 甘薯 $\beta$ -淀粉酶cDNA克隆及其在大肠杆菌中的表达, 高技术通讯, 9: 29-33)
- Zhao D.L., Zheng L.T., Tang J., Zhou Z.L., and Cao Q.H., 2011, Genetic stability and diversity of sweetpotato germplasm with SSR, Zhiwu Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources), 12(3): 389-395 (赵冬兰, 郑立涛, 唐君, 周志林, 曹清河, 2011, 甘薯种质资源遗传稳定性及遗传多样性SSR分析, 植物遗传资源学报, 12(3): 389-395)
- Zhu B.C., Wang J.G., and Li Q.Y., 1992, In vitro transformation of leaves and calli from sweet potato by Ti-plasmid, Hebei Daxue Xuebao (Journal of Hebei University (Natural Science Edition)), 12(1): 55-58 (朱宝成, 王俊刚, 李庆余, 1992, Ti质粒对甘薯叶片和愈伤组织的转化, 河北大学学报(自然科学版), 12(1): 55-58)