



公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：010301Z204

行政院農業委員會農糧署九十四年度科技計畫研究報告

資訊庫編號：941662

計畫名稱：**釐定與甘藷塊根品質及產量性狀基因連鎖的簡單序列重複(ISSR)分子標記 II (第2年/全程3年)**

(英文名稱) **Identification of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) maker associated with the QTL (quantitative trait loci) of quality and yield in sweet potato II**

計畫編號：94農科-1.3.1-糧-Z2(4)

全程計畫期間：93年1月1日至95年12月31日

本年計畫期間：94年1月1日至94年12月31日

計畫主持人：林冠宏

執行機關：私立中國文化大學

合作機關：農委會農試所嘉義分所

釐定與甘藷塊根品質及產量數量性狀基因連鎖的簡單序列

重複(ISSR)分子標記 II

林冠宏¹、羅筱鳳¹、黃士穎²、賴永昌³

1 文化大學 園藝系

2 文化大學 生科所

3 農業試驗所嘉義分所

摘要

甘藷(*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)，為世界重要經濟作物之一。台灣位於熱帶和亞熱帶交界，適合甘藷栽培，由於傳統的品質與產量育種耗時，且受環境因子與生長條件的影響頗鉅，這些性狀多為數量性狀基因座(quantitative trait loci, QTL)，只根據外表型作選拔很難釐清。通常培育出一個優良的品系需花費八至十二年，而利用分子遺傳輔助標誌選拔(Marker-assisted selection, MAS)法，理論上可提高育種值(breeding value)及縮短育種年限。

以台農 27 號及 Nancy Hall 為親本，在嘉義農業試驗分所進行正反交(reciprocal cross)，所產生雜交 F1 子代為試驗材料，記錄其塊根皮色、肉色、形狀、個數、塊根產量、及地上部鮮重等六種品質及產量農藝性狀，分別計算各性狀內之平均值、標準差及性狀間的相關係數。並利用 RAPD 及 ISSR 分子標誌進行親本及 F1 族群基因型之多型性分析，再利用 Mapmaker/EXP 3.0 b 找出正反交之連鎖群，利用 Mapmaker/QTL 1.1 b 找出與 6 種數量性狀基因座(QTL)連鎖之 ISSR marker 及該基因在染色體之位置，最後以 Windows QTL Cartographer 進行 composite interval mapping (CIM)分析。

試驗結果顯示正交外表型性狀之間呈顯著正相關有 5 組，反交外表型性狀之間呈顯著正相關有 3 組。而 ISSR-QTL 分析結果得到正反交各兩個連鎖群。在分析正交子代時發現 7 個 QTL，分別為地上部產量 3 個、塊根皮色 2 個、塊根肉色 2 個；而分析反交子代時，共發現有 8 個 QTL，分別為地上部 1 個、塊根產量 2 個、塊根數 1 個、塊根皮色 2 個、塊根肉色 2 個。這些與甘藷產量及品質數量性狀基因連鎖的 ISSR 分子標誌，日後可以作為甘藷育種的篩選指標(selection index)。

關鍵詞：甘藷、ISSR、數量性狀基因座、輔助標誌選拔。

Identification of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Marker Associated with the QTL (quantitative trait loci) of Quality and Yield in Sweet Potato

Kuan-Hung Lin¹, Hsiao-Feng Lo¹, Shih-Ying Hwang² and Yung-Chang Lai³

1 Department of Horticulture Science, Chinese Culture University, Taipei, Taiwan

2 Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Taipei, Taiwan

3 Agronomy Division, Chaiyi Agricultural Research Institute, Chaiyi, Taiwan

ABSTRACT

Sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) is one of the most important economical crop in the world. It has been adapted and grown everywhere in Taiwan where is located in the tropical and subtropical area. Traditional plant breeding for quality and yield is time-consuming and largely influenced by environment. Therefore, it's not easy to identify the quantitatively inherited traits using phenotypic selection alone. Marker-assisted selection, in theory, can reduce the environmental vulnerability of agriculture, reduce breeding cycle, increase breeding value, and expedite existing breeding protocol.

The materials used in the study were sweet potato "Tainung 27" and "Nancy Hall", which have been reciprocally crossed at Chaiyi Agricultural Experiment Center, and 317 F1 seedlings in each cross were harvested. Five young leaves were picked for DNA isolation. Six quality- and production-related traits were recorded: fresh weight of tops (leaves and stems) as well as shape, weight, number, skin color and flesh color of storage roots. The correlations between traits were analyzed. ISSR-PCR analyses were used to identify any primer associated with the quality and yield traits in sweet potato. The linkage group of 'Tainug 27' × 'Nancy Hall', QTL position linked to the traits, and composite interval mapping of QTL were analyzed using Mapmaker and Cartographer softwares.

There were five and three significantly and positively correlations between traits

of TN27 x NH and NH x TN27, respectively. The results of reciprocal crosses indicate that maternal effect exists in some of the mentioned traits. In TN27 x NH, seven QTL were mapped to 2 linkage groups, which linked to fresh weight of tops, root color and skin color traits. In NH x TN27, eight QTL associated with fresh weight of tops, root weight, root number, root color and skin color were spreaded in 2 linkage groups. The informative ISSR markers linked to the QTL of quality and yield in sweet potato will be served as selection index to any existed sweet potato quality or yield breeding program.

Key words : Sweet potato, Inter-simple Sequence Repeat (ISSR), Quantitative trait loci (QTL), Marker-assisted selection (MAS)

前言

甘藷的起源一般認為是野生種 2 倍體(B1B1)的 *I. leucantha* ($2X=2n=30$)與另一野生種 4 倍體(B2B2B3B3)的 *I. littoralis* ($4X=2n=60$)雜交產生的 3 倍體雜種甘藷 ($3X=2n=45$, B1B2B3), 再經秋水仙素(colchicine)染色體加倍, 而形成現今的 6 倍體栽培種甘藷 *I. batatas* ($6X=2n=90$)(嚴等人 1972)。甘藷屬(*Ipomoea*)中約有 500 餘個品種, 基本染色體數目為 15, 染色體來源有 AB 兩組, 染色體數為 $2n=30$ (二元體)、60(四元體)及 90(六元體)。Nishiyama 等人(1963)初步證實 *I. leucantha* Jacquin ($2n=30$)、*I. littoralis* Blume ($2n=60$)及 *I. trifida* (H.B.K) G. Don ($2n=90$)是甘藷原生的、次生的和最接近的祖先, 而認為甘藷可能為同源多元體 (autopolyploid)。然 Jones 等人(1965)則認為甘藷可能是異源多元體 (allopolyploid), 在三個染色體組中有兩組相似。

利用外表型選拔雖然可以改進甘藷的產量及品質等性狀, 但由於外表型容易受到環境效應影響其表現, 加上甘藷為異結合之六倍體基因型, 所以光靠外表型篩選性狀, 其育種效率繁複、時間冗長, 因此我們期能以 MAS 分子育種的方式來進行甘藷產量及品質性狀的研究。DNA 分子標誌具有快速且直接辨識植物基因組差異之優點而廣泛的被運用在植物育種上, 許多 DNA 分子標誌開始廣泛被應用來定位並分析數量性狀基因座(Quantitative Trait Loci, QTL)的位置與效應, 將控制同一性狀的各個數量基因視為獨立, 可將原本複雜的情況簡化, 再利用軟體分析找出 QTL 最可能存在的位置, 期藉此改善傳統育種方法受到環境因素而存有之不確定性, 改進育種選拔的效率。

ISSR 普遍存在植物基因組中, 為一具高度變異的標誌引子, 能產生大量的多型性片段, 而表現出個體及品種間的變異。因為 ISSR 能提供的訊息多, 可產生多型性條帶數高, 方便使用, 花費少, 不需特殊儀器及先行了解序列, 所以發展快速; 缺點為顯性分子標誌方式。ISSR 所使用的引子可分為兩種: 一為 3'端

或 5'端有 1~3 個核苷酸的引子 (anchor primer); 另一種為簡單重複序列的引子 (nonanchor primer)。本實驗所使用的 ISSR primer 為 3'端有加上 anchor 的 primer, 添加 anchor 的目的是在增加其擴增的專一性, 每增加 n 個核苷酸, 它的準確度就比沒有添加 anchor 的 primer 增加 4^n 倍。假設 anchor 的核苷酸為 1 個, 就可以提高標誌專一性 4 倍(與沒有 anchor primer 比較)。Zietkiewicz 等人於 1994 年發展出將 SSR 直接做為 PCR 反應時的核酸引子, 以此擴增得到的 PCR 產物為 SSR 之間的序列區域, 稱為 ISSR(Inetr-SSR)標誌。由於 SSR 型式的引子長度約 20 個核苷酸, 不需要事先得知模板之 DNA 序列, 也不需使用放射性標定, 所得標誌的再現性佳, 也有較高比例之多型性, 是一種簡便且有效率之技術, 目前此技術已經成功運用在水稻(Blair *et al.* 1995)、馬鈴薯(Prevost and Wilkinson)、玉米(Kantety *et al.* 1995)、小麥(Nagaoka and Ohihara 1997)、大豆(Meng *et al.* 1999)等作物之品種鑑別及分析作物多樣性。另外, Huang 及 Sun (2000)利用 ISSR 分子標誌來區分甘藷栽培種及野生種; 而 Hu 等人(2003)亦利用 ISSR 分子標誌來研究不同來源甘藷品種間之遺傳距離。Becker 等人(1999)也利用 ISSR 來偵測出裸麥之種原多型性標誌, 並進一步建構出裸麥之基因連鎖圖譜。總之, ISSR-PCR 之作用原理是以 SSR 為基礎, 於重複序列引子之 5'或是 3'端隨機加入 1 到 4 個核苷酸所組成的 anchor, 以增殖出 SSR 間之變異區。這些與品質及產量等數量性狀基因連鎖的有用之分子標誌(informative marker), 可配合(incooperative)現有的傳統雜交、回交、輪迴、多交等育種方式及育種目標, 增加育種效率及縮短育種年限。

由於有關甘藷遺傳分離及連鎖的資料非常有限, 因此希望能先建立一個簡單甘藷的遺傳圖譜, 之後再建立出一個較為 saturated linkage map 的圖譜。本實驗之研究目的是利用 ISSR 的技術來:

1. 分析甘藷品質及產量數量性狀基因, 並依基因座相對遺傳距離而繪製甘藷遺傳圖譜。
2. 找出與甘藷品質及產量等 QTL 連鎖的 ISSR, 做為日後甘藷育種的篩選指標(selection index), 以縮短育種年限。
3. 對整個複雜(complex)的甘藷染色體基因組(genome)有一系統性及完整性的了解。

材料與方法

1. 植物材料

甘藷樣本採自嘉義農業試驗分所。親本為台農 27 號及 Nancy Hall。本實驗方法是取 TN 27 與 Nancy Hall 親本樣品各一, 以親本互交方式(reciprocal cross)得到正交(TN 27 x Nancy Hall)雜交之 F1 子代 157 個、反交(Nancy Hall x TN 27)

雜交之 F1 子代 158 個，共計 317 個樣品作調查。

2. 親本及 F1 外表性狀之調查(phenotype)

總共調查了 317 個 F1 植株之塊根皮色、肉色、形狀、個數、塊根產量、及地上部鮮重之性狀。

(1)單株鮮莖葉收量：採收時秤量每一 F1 的鮮莖葉(地上部)重量。

(2)單株塊根個數及平均重量：採收時計算每一 F1 單株之塊根個數，秤量塊根總重，再除以塊根數目，而求得其平均重量。

(3)塊根表皮顏色：根據 R. Kidgway 氏 Color Standards and Nomenclature 之圖色，按其色之組成比率、及色之濃淡比率來定其所屬顏色，分白、黃、褐、棕、紅紫、淡紅紫等 12 級。

(4)塊根肉色：亦根據上述 Kidgway 之圖色，定其塊根橫切面之色澤，分白、紫(紫暈或斑點)、黃及橙黃色等 12 級。

(5)塊根形狀：一般可分成紡錘型、長型、圓形等常見的形狀 3 級。

用 Sigmaplot 8.0 畫出 F1 各個不同性狀頻度分布(frequency distribution)的柱狀圖。

3. 性狀之間相關係數(correlation coefficient)之分析

以 SAS 8.2 軟體，利用 Proc corr 及 Proc reg 分析正反交 F1 族群之 6 個農藝性狀(地上部產量、地下部產量、塊根數、皮色、肉色、塊根形狀)之 Pearson 相關係數(r)，以了解各性狀之間是否具有顯著相關性，以作為日後育種選拔之參考。

4. Inter Simple sequence repeats (ISSR)

上網從加拿大的 University of Columbia 之 Nucleic Acid - Protein Service Unit 取得甘藷 ISSR 引子之序列 100 個，並試出最適黏合溫度，以 gradient search 對親代先作 PCR，進行親本多型性的篩選，根據電泳跑出來的 ISSR-PCR 條帶數及是否具有多型性而篩選出適合的溫度，之後再進行 178 個 F1 子代的 ISSR-PCR。

5. Marker 連鎖群之分析

結合正反交共 178 個 F1 子代外表性狀(phenotype)資料與 ISSR-PCR 之分析結果(genotype)，以 Mapmaker/EXP 3.0 b (Lander *et al.* 1987)建立一個由 ISSR marker 構築成之基因連鎖圖譜，LOD 值設為 3。

6. 定位 QTL 之分析

再以 Mapmaker/QTL 1.1 b，找出與甘藷 6 個數量性狀連鎖之 ISSR marker 以及該數量性狀基因在染色體之位置，其中 LOD 值使用 2.5，此套軟體是以 IM 作為其計算的方法。之後，再將相同的資料以 Windows QTL Cartographer 進行更為精確的 CIM 分析，並劃出 QTL mapping 之圖譜。

結果

1、F1 植株之性狀調查(phenotyping)

在地上部產量部分，TN 27 x Nancy Hall 雜交 F1 子代的分佈以 40-340 g 最多，平均值±標準差為 220 ± 232.25 g，分佈範圍 0-1300 g；另在 Nancy Hall x TN 27 雜交 F1 子代的地上部產量分佈以 40-400 g 最多，平均值±標準差為 188.53 ± 164.46 g，分佈範圍 0-900 g。在甘藷塊根產量部分，TN 27 x Nancy Hall 雜交 F1 子代的分佈以 200-700 g 最多，平均值±標準差為 548.04 ± 331.64 g，分佈範圍 0-2200 g；另在 Nancy Hall x TN 27 雜交 F1 子代甘藷塊根產量的分佈以 160-600 g 最多，平均值±標準差為 555.2 ± 349.39 g，分佈範圍 0-1800 g。在甘藷塊根數部分，TN 27 x Nancy Hall 雜交 F1 子代的分佈以 4-8 個最多，平均值±標準差為 5.84 ± 3.05 ，分佈範圍 0-16 個；另在 Nancy Hall x TN 27 雜交 F1 子代甘藷塊根數的分佈以 3-8 個最多，平均值±標準差為 5.64 ± 2.43 ，分佈範圍 0-12 個。在甘藷塊根皮色部分，TN 27 x Nancy Hall 雜交 F1 子代的顏色分佈類別以淡黃色最多、其次為白色，平均值±標準差為 2 ± 2.78 ；另在 Nancy Hall x TN 27 雜交 F1 子代的顏色分佈類別以淡黃最多、其次為紅色及橙黃色，平均值±標準差為 2.37 ± 2.63 。在甘藷塊根肉色部分，TN 27 x Nancy Hall 雜交 F1 子代的顏色分佈類別以淡黃色、黃色及橙黃色最多，平均值±標準差為 2.80 ± 2.71 。在 Nancy Hall x TN 27 雜交 F1 子代塊根肉色的顏色分佈類別也是以淡黃色、黃色及橙黃色最多，平均值±標準差為 2.58 ± 2.34 。在甘藷塊根形狀部分，TN 27 x Nancy Hall 雜交 F1 子代的分佈以長形最多，分佈範圍從長形、圓形、紡錘形都有，平均值±標準差為 1.82 ± 0.80 。在 Nancy Hall x TN 27 雜交 F1 子代的分佈也是以長形最多，分佈範圍從長形、圓形、紡錘形都有，平均值±標準差為 1.72 ± 0.84 。

2、F1 子代表性狀之相關係數分析

TN27 x NH 雜交 F1 子代，外表型性狀之間呈顯著正相關有 5 個(表一)，分別是地上部產量對塊根產量 $r=0.673$ 、地上部產量對塊根數目 $r=0.216$ 、地上部產量對塊根形狀 $r=0.307$ 、塊根產量對塊根數目 $r=0.561$ 和塊根產量對塊根形狀 $r=0.348$ 。而 NH x TN27 雜交 F1 子代，外表型性狀之間呈顯著正相關有 3 個(表二)，分別是地上部產量對塊根產量 $r=0.649$ 、地上部產量對塊根數目 $r=0.36$ 和塊根產量對塊根數目 $r=0.421$ 。從表一及表二可看出，在正交子代中(塊根產量 x 塊根數目) r 值($=0.561$)比反交子代($=0.421$)高，顯示如果要挑選塊根產量變異較多以及塊根數量多者，應從正交子代中選擇。在正交子代中(塊根形狀 x 地上部產量) r 值($=0.307$)也是比反交子代($=0.18$)高，顯示如果要挑選塊根形狀變異大及地上部產量大者，應該從正交子代中選擇。而在塊根數目 x 地上部產量兩個性狀來看，想要有較多的塊根數以及較好的地上部產量，可以從反交中來選擇，因為反交($=0.36$)的 r 值較正交($=0.216$)大。另外，在塊根產量較多以及較大的塊根形狀的變異，會建議從正交子代中選擇，因為正交的 r 值($=0.348$)比反交($=0.148$)大，

而且正交是呈現顯著相關，所以正交會比反交獲得較多的塊根產量以及較大的塊根形狀變異。

3、ISSR 標誌的分析

根據 100 個 ISSR primer 針對親代之間進行 PCR，找出適合的黏合溫度再進行 PCR 下去擴增，希望在親代出現多型性。發現在 807、813、822、823、824、857、876 號等 7 個 marker 可區分出親代之間的多型性。並將這些 ISSR marker 用於 F1 正反交子代中。而其 ISSR-PCR 之間出現的清晰可數之條帶以 1 紀錄 (scoring)、未出現的條帶以 0 紀錄，並以 Chi-square 適合性檢定 (goodness-of-fit) 來分析正反交之 F1 genotype 所出現的 1/0 條帶 (附表 3)，是否符合 ($\alpha = 0.05$) 孟德爾遺傳分離率假設值 3:1，而推演出最適之 ISSR marker 以進行 QTL 分析。ISSR 807 在 TN27 x NH 之子代共擴增出 7 個條帶，其中有 4 條 (57.14%) 具有多型性；而在 NH x TN27 之子代則共有擴增出 8 個條帶，其中有 3 條 (37.50%) 為多型性。而在這 7 個 ISSR marker (807~876)，其中有 6 個 marker (807~857) 為 2 個鹼基的簡單重複序列，1 個 marker (876) 則是 4 個鹼基之簡單重複序列。而這 7 個核酸引子之 anchored primer 的鹼基數不管是 1 (ISSR 807~857) 或 0 (ISSR 876)，以及 primer 之鹼基種類，對本次試驗之 DNA 片段擴增結果並無發現有任何特定關係。

4、利用 CIM 做 QTL 的分析

以 Cartographer 軟體之 CIM 的方法來分析 TN27x NH 之 F1 子代可以得到 7 個與數量性狀基因連鎖的 QTL，分別位於兩個正交連鎖群內 (圖 1)，LOD 最小為 6.33、最高為 35.58 (表 3)。與地上部產量性狀連鎖的 QTL 位於 TNCH1、TNCH2 連鎖群上，LOD 值分別為 6.33、12.17、7.42，它靠近 tn8073、tn8243、tn8575 等標誌，而此地上部產量之外表型表現可以被此 3 個 marker 所解釋之百分率分別為 58.02%、61.36%、58.58%；與皮色連鎖的 QTL 有兩個，皆位於 TNCH1 上，LOD 值 32.1、35.58，其最靠近的標誌分別為 tn8572、tn8072，此兩個 marker 可解釋皮色性狀之百分率分別為 83.68%、87.56%；而與塊根肉色性狀基因連鎖的 QTL 有兩個，位在 TNCH1、TNCH2 上，LOD 值 17.18、16.41，最靠近的標誌為 tn8243、tn8576，塊根外表型可用此兩個 marker 來解釋之百分比分別為 79.71%、81.18%。(表 3)

以同樣方法分析 NH x TN27 F1 子代可以得到 8 個與其數量性狀基因連鎖的 QTL，分別位於兩個反交連鎖群 NTCH1 和 NTCH2 內 (圖 2)，LOD 最小為 2.69、最高為 23.5 (表 4)。與地上部重量性狀連鎖的 QTL 位於 NTCH2 連鎖群上，LOD 值為 4.99，它靠近 nt8077 這個標誌，而其外表型表現可被解釋之百分比分別為 44.51%；與塊根產量性狀連鎖的 QTL 位於 NTCH1、NTCH2 連鎖群上，LOD 值分別為 3.43、3.17，它靠近 nt8224、nt8077 這兩個標誌，而此外表型表現可用此兩個 marker 來解釋之百分比應分別為 65.13%、49.59%；與塊根數目性狀

連鎖的 QTL 位於 NTCH2 連鎖群上，LOD 值為 2.69，它靠近 nt8578 這個標誌，而此外表型表現可用此 marker 來解釋百分比為 49.8%；與塊根皮色性狀連鎖的 QTL 位於 NTCH1 和 NTCH2 連鎖群上，LOD 值為 10.52、23.5，它靠近 nt8134、nt8077 這兩個標誌，而此外表型表現可被此兩個 marker 之解釋百分比分別為 71.95%、87.36%；與塊根肉色性狀連鎖的 QTL 位於 NTCH1 連鎖群上，LOD 值為 7.26、5.5，它靠近 nt8133、nt8134 這兩個標誌，此 2 個 marker 可以解釋肉色性狀之百分率分別為 47.93%、46.02%(表 4)。

討論

1、性狀相關係數的分析

由表 1 可知，在育種的選拔上，如果只考慮到 TN27xNH 的選取，有五個是呈現顯著正相關的，例如塊根產量對地上部產量($r=0.673^{***}$)，亦即在同時選拔地上部產量時，塊根產量也會相對的提高，所以在相關係數表所顯示為顯著正相關。在塊根皮色與塊根數目之相關性，因為是呈現非相關($r=0.036^{NS}$)，所以挑選好的皮色對塊根數目並不會造成影響。而在 NHxTN27 之 F1 子代(表 2)，因為塊根數與塊根產量呈現顯著正相關($r=0.421^{***}$)，所以當挑選較高的塊根數目時，理論上是可提高塊根的產量。但塊根形狀跟地上部產量，挑選其中之一對另一個並沒有影響，因為其間的 r 值為不相關($r=0.18^{NS}$)。而從塊根形狀與塊根肉色作相關分析，挑選出好的塊根形狀時，不會影響到塊根肉色，因為其 r 直是呈現不相關($r=-0.201^{NS}$)。根據以上表一及表二的結果來看，正反交在塊根肉色對塊根數、塊根皮色對塊根形狀、塊根肉色對塊根形狀，都是呈現負相關的，所以在育種的時候應該要避免挑選到此兩種性狀。本實驗之正反交 F1 子代各項性

2、連鎖群與 QTL 分析

以 CIM 分析 TN27 x NH 之 F1 子代時(圖 1)，找到 7 個 QTL，分別為地上部產量 3 個、塊根皮色 2 個、以及塊根肉色 2 個。而在分析 NH x TN27 之 F1 子代時(圖 2)，則找到了 8 個 QTL，分別為地上部 1 個、塊根產量 2 個、塊根數 1 個、塊根皮色 2 個、以及塊根肉色 2 個。因此，CIM 分析正反交子代之 5 個性狀找到了 15 個 QTL(圖 1 及圖 2)。以上利用正反交子代所找到的 15 個 QTL 中，當育種家在使用這些 marker 時，必須考慮其育種目標為何才能決定是要使用一個、兩個或是多個 multiple marker 一起使用。同時更要考慮不同性狀之相關係數，才能一次使用多個 marker，否則會因為性狀之間呈現負相關或不顯著相關而造成不同 marker 同時使用之抵觸現象。總之，唯有正確使用 MAS 才能提高育種效率 (efficiency) 及速率 (speed)，而達到期望之育種目標。根據目前所使用 100 個 ISSR primer 對正反交共 178 個 F1 子代進行篩選。在 TN27 x NH 之 F1 子代有兩個連鎖群 TNCH1、TNCH2，在這兩個連鎖群上共找到了 7 個 QTL。而在 NH x TN27 之 F1 子代上有兩個連鎖群 NTCH1、NTCH2，在這兩個連鎖群上則共找到了 8

個 QTL。正反交合計共有 15 個連鎖群，目前只找到 2 個 linkage group，可原因為 marker 數太少，故有許多 unmapped marker。因此若要獲得更多連鎖群，應該增加有效的 marker 數目 (ie, AFLP markers)，除了可以得到更多的連鎖族群外，也可以提高 QTL 的準確度。

引用文獻

- 嚴谷格、西口郁夫、三石照三 (于景讓譯). 1972. 甘藷屬的染色體組分析與甘藷的合成. 科學農業 20 (7-8) : 391-413.
- Becker, J. and M. Heun. (1995). Mapping of digested and undigested random amplified microsatellite polymorphisms in barley. *Genome* 38:991-998
- Blair, M. W., O. Panaud, and S. R. McCouch. (1999). Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 98:780-792.
- Huang, J.C., and Sun, M. (2000). Genetic diversity and relationships of sweetpotato and its wild relatives in *Ipomoea* series *Batatas* (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA. *Theoretical and Applied Genetics* 100:1050-1060.
- Hu, J., M. Nakatani, A. G. Lalusin, and T. Kuranouchi. (2003). Genetic Analysis of Sweet potato and Wild Relatives using Inter-simple Sequence Repeats (ISSRs). *Breeding Science* 53:297-304.
- Jones, A. (1965). A proposed breeding procedure for sweet potato. *Crop Science* 5: 191-192.
- Kantety, R. V., X. P. Zeng, J. L. Bennetzen, and B. E. Zehr. (1995). Assesment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence (ISSR) amplification. *Mol. Breed.* 1:365-373.
- Kriegner, A. Cervantes, J.C. Burg, K. Mwanga, R.O. and Zhang, D.P. (2003). A genetic linkage map of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] based on AFLP markers. *Molecular Breeding* 11:169-185.
- Lander, E.S., and Botstein, D. (1989). Mapping mendelian factors underlying

quantitative trait using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185-199.

Lander, E.S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly, M.J., and Lincoln, S.H. (1987). Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1:174-181.

Meng, X. Q., W. Chen, X. M. and W. C. (2001). Application of AFLP and ISSR techniques in detecting genetic diversity in the soybean brown stem rot pathogen *Phialophora gregata*. *Mycol. Res.* 105:936-940.

Nagaoka, T. and Y. Ogihara. (1997). Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 94:597-602.

Nishiyama, I., Niyazaki, T., and Sakamoto, S. (1975). Evolutionary autopolyploidy in sweet potato and its progenitors. *Euphytica* 24:197-208.

Zietkiewicz, E., Rafalski, A., and Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20:176-183.

表 1. TN27xNH 之 F1 子代表型性狀之相關係數

性狀	塊根產量	塊根數目	塊根皮色	塊根肉色	塊根形狀
地上部產量	0.673***	0.216*	0.062 ^{NS}	0.029 ^{NS}	0.307**
塊根產量		0.561***	-0.054 ^{NS}	-0.071 ^{NS}	0.348**
塊根數目			0.036 ^{NS}	-0.03 ^{NS}	0.113 ^{NS}
塊根皮色				0.042 ^{NS}	-0.146 ^{NS}
塊根肉色					-0.136 ^{NS}

*, **, *** significant at $p < 0.05, 0.01, 0.001$. NS : nonsignificant

表 2. NHxTN27 之 F1 子代表型性狀之相關係數

性狀	塊根產量	塊根數目	塊根皮色	塊根肉色	塊根形狀
地上部產量	0.649***	0.36**	0.107 ^{NS}	-0.052 ^{NS}	0.18 ^{NS}
塊根產量		0.421**	0.199 ^{NS}	0.089 ^{NS}	0.148 ^{NS}
塊根數			0.008 ^{NS}	-0.057 ^{NS}	-0.154 ^{NS}
塊根皮色				0.112 ^{NS}	-0.013 ^{NS}
塊根肉色					-0.201 ^{NS}

, * significant at $p < 0.01, 0.001$. NS : nonsignificant

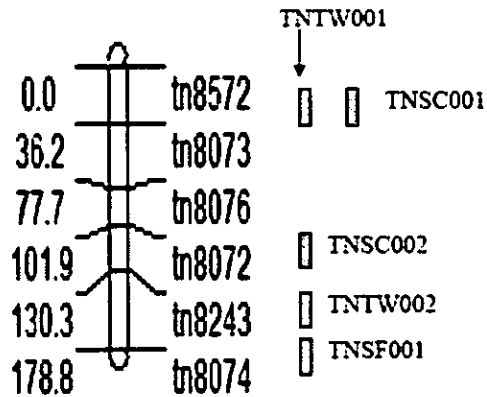
表 3. 以 Cartographer V2.0 之 CIM 分析 TN27 x NH 之 F1 子代六種農藝性狀之 QTL 結果

Trait	Name of QTL	Linkage group	LOD	QTL		closest marker	Additive effect(a)	dominant effect(d)	d/a	QTL effect (R ² %)
				position (cM)						
地上部產量	TNTW001	TNCH1	6.33	36.21		tn8073	417.42	-413.36	0.99	58.02%
	TNTW002	TNCH1	12.17	140.31		tn8243	-431.99	-403.47	0.93	61.36%
	TNTW003	TNCH2	7.42	27.71		tn8575	411.11	-415.78	1.01	58.58%
塊根皮色	TNSC001	TNCH1	32.1	28.01		tn8572	-4.56	-4.76	1.04	83.68%
	TNSC002	TNCH1	35.58	109.91		tn8072	2.61	-6.79	-2.61	87.53%
塊根肉色	TNSF001	TNCH1	17.18	168.31		tn8243	-4.18	-6.71	1.6	79.71%
	TNSF002	TNCH2	16.41	14.01		tn8576	-4.1	-6.8	1.65	81.18%

表 4. 以 Cartographer V2.0 之 CIM 分析 NH x TN27 之 F1 子代六種農藝性狀之 QTL 結果

Trait	Name of QTL	Linkage group	LOD	QTL position (cM)	closest marker	Additive effect(a)	dominant effect(d)	d/a	QTL effect (R ² %)
地上部產量	NTTW001	NTCH2	4.99	26.01	nt8077	-301.6	-249.6	0.82	44.51%
塊根產量	NTSW001	NTCH1	3.43	22.01	nt8224	-224.3	-706.4	3.14	65.13%
	NTSW002	NTCH2	3.17	20.01	nt8077	-502.6	-272	0.54	49.59%
塊根數	NTRN001	NTCH2	2.69	31.51	nt8578	3.69	-0.61	-0.01	49.80%
塊根皮色	NTSC001	NTCH1	10.52	116.81	nt8134	3.06	-3.16	-1.03	71.95%
	NTSC002	NTCH2	23.5	18.01	nt8077	2.69	-6.86	2.55	87.36%
塊根肉色	NTSF001	NTCH1	7.26	35.21	nt8133	-4.14	-4.22	1.01	47.93%
	NTSF002	NTCH1	5.5	124.81	nt8134	-4.5	-3.82	0.84	46.02%

TNCH1



TNCH2

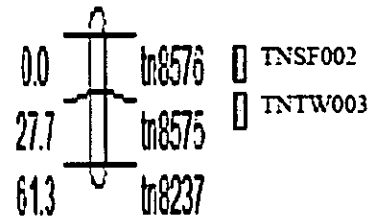
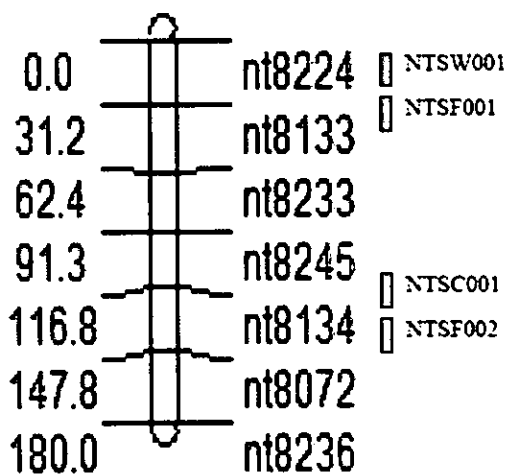


圖 1. TN27 x NH 之 F1 子代連鎖群及 QTL。(□ 表示每個性狀的 QTL 位置, TW: 地上部重, SC: 塊根皮色, SF: 塊根肉色)

NTCH1



NTCH2

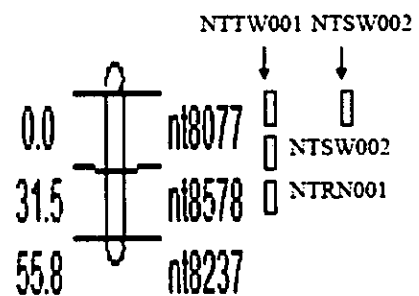


圖 2. NH x TN27 連鎖群及 QTL。(□ 表示個性狀的 QTL 位置, TW: 地上部重, SW: 塊根產量, RN: 塊根數, SC: 塊根皮色, SF: 塊根肉色)