

Recolección y caracterización morfológica y molecular de la colección nacional de camote (*Ipomoea batata* (L.))

Paredes D.¹, Montero A.²

¹ Departamento de Ciencias de la Vida, Carrera de Ing. en Biotecnología, Universidad de las Fuerzas Armadas, Quito, Ecuador.

² Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias – Estación Santa Catalina.

Resumen

El camote es un producto altamente competitivo frente a otros cultivos, por su alta calidad nutricional y su importancia en la alimentación humana y animal. Sin embargo a pesar de su gran potencial y su amplia adaptabilidad, en los últimos años se ha reportado una alta erosión genética del germoplasma de camote sobretodo en América latina y el Caribe. El Ecuador, ha sido catalogado como un centro secundario de diversidad genética del camote, sin embargo en el país no existen estudios de caracterización que sirvan para dilucidar las interrogantes sobre la variabilidad de este cultivo. Esta investigación usando marcadores morfológicos y moleculares (microsatélites) se estudió la diversidad de 368 accesiones de camote (*Ipomoea batata* L.) recolectadas en 18 provincias del Ecuador. Los resultados de la caracterización morfológica muestran la formación de siete grupos morfológicos y se estableció que las variables con mayor poder discriminante para la descripción del germoplasma ($p < .001$) son la coloración, la forma y los defectos de la raíz reservante, además de la forma del perfil y forma del lóbulo en las hojas. En la caracterización molecular usando ocho marcadores microsatélites se detectaron 89 alelos, con un promedio de 11.12 alelo/locus y un promedio de polimorfismo de $PIC = .848$, con el análisis molecular de varianza, la distancia de Nei (1979) y el análisis de coordenadas principales, se determinó la formación de 4 grupos genéticos. Los resultados del análisis morfológico como el molecular, no mostraron la formación de ningún grupo definido de acuerdo a una provincia, este tipo de acontecimientos ocurren principalmente por los sistemas de intercambio que mantienen los agricultores; además la alta diversidad encontrada está relacionada con el sistema reproductivo de los cultivares (polinización cruzada) y las mutaciones somáticas reportadas en la especie.

Palabras clave: microsatélites, polinización cruzada, marcadores morfológicos diversidad genética.

I. INTRODUCCIÓN

La batata o camote (*Ipomoea batatas* (L.)), pertenece a la familia de las *Convolvulaceae* y es originaria de América (Huamán, 1992). Se siembra principalmente en zonas tropicales y subtropicales, por su raíz reservante comestible la cual presentan gran contenido de azúcares, carotenos y vitaminas (Andrade *et al.*, 2009; Chamba, 2008). Actualmente se cultiva en más de 100 países y se ha ubicado en el quinto lugar en orden de importancia después del arroz, trigo, maíz y yuca (Cosme *et al.*, 2013; Linares *et al.*, 2009). El Centro Internacional de la Papa (CIP, 1988) y la Food and Agriculture Organization (FAO, 2011), han señalado que el camote es una planta rústica y versátil, tolerante a un amplio rango de condiciones edáficas y climáticas que muy pocos cultivos pueden tolerar, lo que la hace importante desde el punto de vista agrícola, industrial y alimenticio. También señalan la importancia que ha adquirido al ser utilizado como un alimento sano y destacan que el cultivo debe ser considerado dentro de los planes de seguridad alimentaria en muchos países.

El camote tiene generalmente una alta diversidad, que se distinguen fácilmente sobre la base de los caracteres morfológicos (Acheampong, 2012). Sin embargo las características morfológicas no son el mejor indicativo para la diferenciación entre cultivares a nivel genético, lo cual incide directamente en programas de conservación y mejoramiento. Por ello la caracterización molecular se utiliza para complementar la caracterización basada en descriptores morfológicos ya que brinda una información precisa y más detallada que la fenotípica (Karp *et al.*, 1997). En la actualidad existen varias técnicas moleculares que nos permiten conocer cómo se encuentran las proporciones de genes en las poblaciones naturales de manera directa. Los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismos en loci únicos o múltiples y son de tipo dominante y codominante (Cubero, 1999). Entre las técnicas

disponibles para estudiar diversidad genética vegetal se encuentran los RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, microsatélites (SSR: Simple Sequence Repeats) y los RAM (Random Amplified Microsatellites). Los microsatélites han tomado ventaja sobre los otros marcadores genéticos, debido a que: i) tienen el más alto grado de polimorfismo (PIC); ii) segregan de manera mendeliana y son codominantes y muchos alelos son encontrados entre individuos estrechamente relacionado (Pico *et al.*, 2011); iii) son muy abundantes, los microsatélites están uniformemente dispersos a través del genoma, aproximadamente cada 10 Kbp; iv) además son una técnica sensible, ya que solo se usan pequeñas cantidades de ADN y son selectivamente neutros (Muñoz, 2008).

El Ecuador, el camote como recurso genético y como cultivo es consumido por pocos agricultores tradicionales y su presencia en los mercados es escasa, es por esto que se considera necesario recolectar, conservar y caracterizar la diversidad genética de la batata, para identificar genotipos valiosos que puedan ser usados en programas de mejoramiento y sobre todo para promover el cultivo como una posible alternativa agrícola para fortalecer la soberanía alimentaria en el país.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de germoplasma

Se recolectaron 368 accesiones de camote en 18 provincias del Ecuador. La fase de colecta se realizó, mediante la toma de datos usando fichas pasaportes, cuyo formato se encuentra establecido por el Departamento Nacional de Recursos Fitogenético (DENAREF-INIAP), estas fichas incluyen información del

colector, ubicación geográfica, latitud y longitud, estado de la muestra, información ecológica y de suelo, usos de la planta, entre otras.

Caracterización morfológica

Experimento

Se realizó la siembra de cada uno de las accesiones en la Estación Experimental Tropical Pichilingue – INIAP. Ubicada en Quevedo a 73 msnm, con una temperatura media de 24.76°C. En cada cama de siembra se colocaron 10 guías de camote libres de insectos-plagas y enfermedades. Cada guía fue cortada con 8 nudos o yemas axilares en estado activo de crecimiento. El manejo agronómico del cultivo, consistido en la desinfección del terreno una semana antes de la siembra, el control de la maleza manualmente y el riego de los materiales una vez por mes hasta el momento de la cosecha. Además se realizó la poda de las accesiones a partir de los dos meses de siembra, con una frecuencia de 15 días.

Descripción morfológica

Una vez que la planta alcanzó la madurez (60 días), se registraron los datos morfológicos. Para esto se seleccionó 36 descriptores morfológicos tomados del libro de descriptores de la batata (Huamán, 1991) más 12 descriptores exclusivos para las características de floración. Los descriptores cuantitativos se registraron en base al valor promedio obtenido de 5 plantas al azar de cada entrada. Los caracteres cualitativos fueron evaluados usando una escala del 0 al 9.

Se evaluaron las siguientes características cualitativas: enroscamiento, cobertura del suelo, color predominante, color secundario y pubescencia de los tallos, forma del perfil, tipo de lóbulos, pigmentación de las nervaduras y color de la hoja madura e inmadura, pigmentación del peciolo, forma, defectos, color predominante de la piel, intensidad del color predominante, color secundario de la piel, color predominante de la carne, color secundario de la carne, distribución del color secundario de la carne, formación, variabilidad de la forma, producción de látex, oxidación y agrietamiento de la raíz reservante.

Las características cuantitativas analizadas fueron: longitud del entrenudo y diámetro del entrenudo de los tallos, número de lóbulos y tamaño de la hoja madura, longitud del peciolo, grosor de la corteza, unión de la raíz reservante al tallo, número de raíces reservantes por planta, tamaño y peso de la raíz reservante.

Las características de floración analizadas fueron: hábito de floración, color, forma del limbo, forma de los sépalos, ápice de los sépalos, pubescencia de los sépalos, color del estigma, color del estilo, posición del estigma, largo de la flor, ancho de la flor y número de venas por sépalos.

Análisis de datos

Los datos generados de la caracterización morfológica fueron examinados usando el programa SPSS Statistics 21 (Pardo *et al.*, 2002). Se realizó el análisis descriptivo de las variables cualitativas y cuantitativas. Análisis de correlación usando el

coeficiente de Pearson. Análisis multivariado usando la distancia Euclídea al cuadrado y el algoritmo de Ward, además de la distancia de Mahalanobis para relacionar datos cualitativos y cuantitativos. Se calculó el valor discriminante entre los caracteres cuantitativos usando la prueba de Duncan y el estadístico de Levene y para los caracteres cualitativos la prueba de chi-cuadrado, V de Cramer y el coeficiente de correlación. Posteriormente se aplicó el análisis de componentes principales y el análisis discriminante canónico.

Caracterización molecular

Recolección del material vegetal

La toma de las muestras se realizó a partir de hojas jóvenes, primordios foliares días antes de la cosecha de los materiales en campo. Las muestras fueron conservadas en 25 g. de sílice gel por 72 horas, para su posterior molienda y extracción.

Extracción de ADN genómico

Para la extracción de ADN se utilizó el protocolo reportado por Dellaporta *et al.* (1983) con modificaciones por Elías *et al.* (2004), para muestras secas. Después de la extracción se determinó la cantidad de ADN por espectrofotometría. Las muestras fueron diluidas a una concentración final de 5ng/ul. Las muestras diluidas y validadas se utilizaron para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con marcadores 8 marcadores microsátélites que fueron secuenciados por el centro Internacional de la papa (Huamán *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2004) (Tabla 1). Las reacciones PCR se realizaron usando el método M13-Tailing siguiendo el protocolo interno del laboratorio de biotecnología de la Estación experimental Santa Catalina-INIAP (Morillo *et al.*, 2002). Las condiciones de la PCR consistieron en un ciclo inicial 94°C por 2 minutos, un ciclo de desnaturalización 95°C por 4 minuto, 25 ciclos de desnaturalización cíclica a 95°C por 1 minuto, 2 minutos de anillamiento a la temperatura establecida para cada primer, 2 minutos de elongación cíclica a 72°C y un ciclo final de elongación a 72°C por 10 minutos, por último la estabilización a 4°C por 10 minutos (Morillo, 2002). Los tamaños de los alelos se visualizaron usando el secuenciador LI-COR 4300s, que utiliza electroforesis vertical en geles de acrilamida. Los tamaños de los alelos fueron evaluados usando el software SAGAGT, se calculó el tamaño restando 19 pb pertenecientes a la longitud del cebador M13. Estos datos se utilizaron para los posteriores análisis.

Análisis de datos

Los datos obtenidos se analizaron en el programa STRUCTURE versión 2.3.4. (Pritchard *et al.*, 2000) obteniendo un set de frecuencias alélica, que se utilizó para el cálculo de del contenido de información de polimorfismo (PIC) y heterocigosis usando el software Polymorphic Information Calculator (Nagy *et al.*, 2012). El análisis de conglomerados se realizó usando el método UPGMA del programa TREECON versión 1.3 (Van de Peer *et al.*, 1994) para esto los fragmento amplificado por los microsátélites, fue tratados como un carácter unitario y se anotó los códigos como una matriz binaria (1/0, presencia/ausencia). Usando la matriz binaria se determinó el análisis molecular de varianza (AMOVA), el

análisis de coordenadas principales y el cálculo de las distancias genéticas de Nei usando el software GenALEX ver 6.0 (Peakall *et al.*, 2006). Para la identificación de duplicados se usó el

software Excel Microsatellite toolkit (Park, 2001), introduciendo la matriz genotípica obtenida del programa SAGA.

Tabla 1. Primer SSR usados para el genotipaje de 368 accesiones de camote

Primers	Repeat	Primer F	Primer R	Tamaño
IbE 14	(GA) ₉ G	GAAGTCAGGTTGCTAACGTG	AAATTCCTGCCTGGCTTCT	85-57-110
IbE 27	(GAC) ₅ GA	CTGCAATCTGATTCTCTAGCTTCT	AGTCCTGGCGTCTTCGTAGTT	100-57-130
IbN 18	(CT) ₁₁	GCCCTTCCTTATAGGACAACAAATG	TGACACCACCGTACGTACAGCTT	157- 57-178
IbN 34	(CT) ₈	CGCACTCAACTCTCTACTAATCC	ATCGTTGACAGCGACAAGCTCG	276-53-308
IBSSR 10	(AG) ₈ A ₂ (AG) ₇	ATTCTCTCTCTATGCGTTGCCG	CACACCAAAAAGTCCCAAATCTTG	177
IbE 5	(TA) ₅ TC	GCTCTTGACTTCACTCATTCTCTTC	ATCGTTGTGGTCGTTGTCTC	210-60-220
IbN 37	(TA) ₇ T	GATGATGGAGCTATAAATCTCG	GTCACTGTCTCCAGTTTTC	161-184
IbY 46	(ATC) ₅ AT	TAGTAACACCATTACTTATTAACCTTG	TGTAATCTCATGGATTGCTCGTAG	126-144

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Recolección de germoplasma

Durante la recolección se observó que el cultivo es plantado principalmente para el uso familiar (autoconsumo). No se observaron sectores donde exista tecnología, ni altas inversiones, hecho que refleja que el volumen de siembra en el país haya decrecido en los últimos años (MAGAP, 2009). El cultivo de camote, se encuentra disperso en el todo el país (figura 1), debido principalmente a su amplia adaptación agronómica (Figuroa, 2010; Montes *et al.*, 2010). Las accesiones recolectadas se encontraron adaptadas desde los 1 msnm hasta los 2947 msnm en diferentes tipos de suelos, Pinto (2012) menciona que el cultivo del camote esta favorecido en el Ecuador porque el país presenta características geográficas y climáticas adecuadas para su desarrollo.

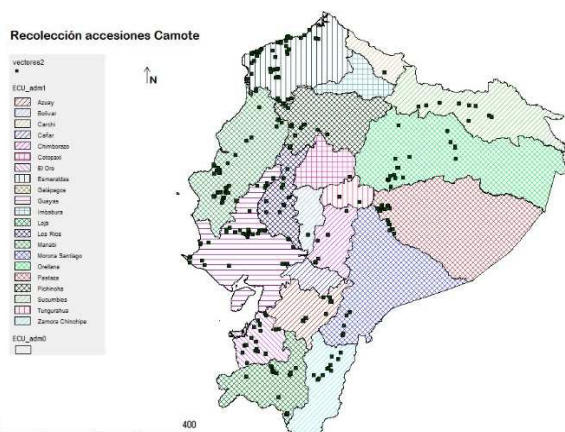


Figura 1. Puntos de colecta de las accesiones de camote en Ecuador.

Caracterización Morfológica

El dendograma generado a partir de la distancia Euclídea y el algoritmo de Ward mostró gráficamente la variabilidad

existente dentro de las accesiones, dando lugar a la formación de siete grupos que comparten caracteres morfológicos similares. El dendograma no mostró formación de ningún grupo definido de acuerdo a una provincia, lo que indica que las variedades se encuentran homogéneamente distribuidas dentro del país. Hecho que podría explicarse por el intercambio de materiales por parte de sucesivas generaciones de agricultores (Veasey *et al.*, 2007). En Ecuador a través de estudios arqueológicos se ha evidenciado un intercambio permanente de productos agrícolas, especialmente entre zonas geográficas diversas (Ayala, 2008).

Los descriptores cualitativos que presentaron el mayor poder discriminante para la formación de los grupos morfológicos, usando la prueba de chi-cuadrado ($p < .001$); fueron el color secundario, color predominante, distribución del color secundario en la carne y defectos en la superficie de la raíz reservante; la forma del perfil, forma del lóbulo central y tipo de lóbulo en las hojas (tabla 2). Estas variables también fueron responsables de la variabilidad genética en los resultados obtenidos por Olivera *et al.* (2000) y Calvalcante *et al.* (2009). Por otro lado Veasey *et al.* (2007) describen como variables útiles para la descripción del germoplasma la coloración de la pulpa, la forma y los defectos de la raíz reservante, al igual que en la colección ecuatoriana.

En el análisis de componentes principales, el primer componente se asoció positivamente con rasgos tales como el número, tamaño y peso de la raíz reservante, el segundo componente se asoció a características de la hoja: tamaño de la hoja madura y longitud del peciolo (figura 2.). Estos resultados son similares a los reportados por Maquia *et al.* (2013) donde en el primer componente está asociado con las características de la raíz reservante como el peso. Igualmente Koussao *et al.* (2013) identificó que los dos primeros componentes principales describían el 41% de la variación y los mismos se asociaron con rasgos de las hojas y características de la raíz reservante.

Tabla 2. Descriptores con mayor poder discriminante en la formación de grupos morfológicos en 368 accesiones de camote.

Variable	Chi-cuadrado	Sig.	V Cramer	Coefficiente contingencia
Forma del perfil general de la hoja	425.01	0	0.52	0.73
Tipo de lóbulo de la hoja	440.25	0	0.55	0.74
Forma del lóbulo central	446.12	0	0.45	0.74
Defectos de la superficie raíz reservante	300.88	0	0.40	0.67
Color predominante de la carne de la raíz	423.86	0	0.44	0.73
Color secundario de la carne de la raíz	542.07	0	0.49	0.77
Distribución color secundario de la carne de la raíz	489.31	0	0.47	0.76

Caracterización Molecular

Se detectaron 89 alelos en 368 accesiones de camote utilizando 8 microsatélites, con un valor de riqueza alélica de 11.12 alelos por locus. Estudios similares: Basantes (2012) reportó 7.5 alelos/locus analizando solamente 59 accesiones de camote ecuatoriano. Zhang *et al.* (2000) analizó 19 accesiones de camote ecuatoriano y encontró 41 alelos con 6 microsatélites. En general, la mayor variación encontrada en este estudio se debe posiblemente al número de materiales analizados y a que estos son originarios de diferentes regiones (18 provincias), esto demuestra la importante diversidad genética de camote en Ecuador. El valor promedio de polimorfismo encontrado fue de PIC=0.813, los valores de PIC en general fueron mayores a 0.50, lo que nos demuestra que los marcadores ocupados son informativos. De los locus ocupados IBSSR10 e IbN14 son los más polimórficos, esto se debe principalmente a que estos primers están constituidos por mayor cantidad de repeticiones de (GA). Hu *et al.* (2003) mostró realizando un screening en librerías genómicas de camote que los dinucleótidos (GA) son los más abundantes y altamente polimórficos para esta especie. La alta diversidad genética del camote que se observó en este estudio está relacionada con diferentes factores. Veasey *et al.* (2008) menciona que uno de las causas principales que conducen al alto grado de variación entre accesiones, puede estar relacionado con el sistema de reproducción del camote (polinización cruzada), otro de los factores es el intercambio de variedades locales entre los agricultores, por ejemplo en el análisis de duplicados se observó que las accesiones ECU 19023 (Chimborazo) y ECU 19069 (Azuay) a pesar de ser de provincias distintas presentan el 100% de similitud genética. En el dendograma UPGMA con los datos moleculares, usando la distancia genética de Nei, se observó la formación de cuatro grupos genéticos. El análisis mostró, al igual que el estudio morfológico, que los materiales no se agrupan por regiones

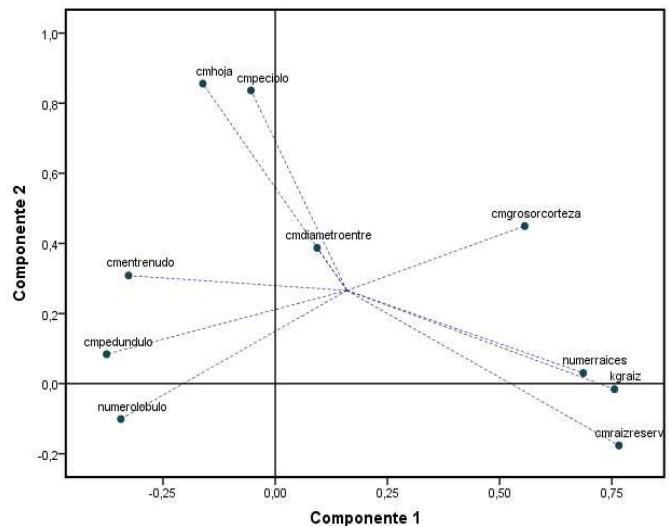


Figura 2. Análisis de componentes principales de 368 accesiones de camote.

geográficas, es decir que materiales de regiones distantes pueden ser genéticamente muy próximos o incluso duplicados. Los resultados obtenidos al determinar la distancia genética de Nei muestran valores muy cercanos. Demarchi (2009) menciona que la diversidad genética de una especie tiene un gran impacto en las distancias genéticas, así la magnitud de los valores de distancia será exagerada para poblaciones con menor diversidad. La descomposición de la varianza a través del AMOVA indican que la contribución a la mayor diversidad genética se debió a las diferencias dentro de cada población (89%, $p=0.001$) las diferencias entre poblaciones también fue significativa ($p=0.001$) pero solo contribuyó al 11% de la variación total (tabla 3.). Otros estudios también muestran mayor variación dentro de las poblaciones, Zhang *et al.* (2000) utilizando AFLP al estudiar la diversidad genética de variedades de camote recogidas en América tropical reportó una alta variación (90%) dentro de las poblaciones y una variación significativa del 10% entre poblaciones. Uno de los factores que conduce a un alto porcentaje de diferenciación dentro de cada población, se debe a la incidencia de mutaciones aleatorias en camote (Folquer, 1978; Veasey *et al.*, 2008; Clarke, 2009). Las mutaciones más frecuentes que se presentan en el camote, son las que afectan al color de la cáscara y a la pulpa de las raíces reservantes (Clark *et al.*, 1991). Dentro de la colección de Ecuador por ejemplo se observó, que la accesión ECU 19181 presentaba una mutación somática en el color de la cáscara. Folquer (1978) resalta que este tipo de mutaciones han originado nuevas variedades de camote y es un factor importante en la variabilidad de la especie. En el análisis de duplicados se determinó que el 17.39% de accesiones son duplicados. Ritschel *et al.* (2002) menciona que una de las causas principales para la existencia de duplicados es la forma de multiplicación (propagación vegetativa) que usan los agricultores en muchos casos para el intercambio del cultivo.

Tabla 3. Análisis molecular de varianza de 368 accesiones de camote con 8 primer SSR.

Origen de la variación	g.l	suma de cuadrados	componentes de la varianza	%variación genética	Φ_{PT}
Entre poblaciones	3	301.343	1.119	11%**	
Dentro de cada población	364	3368.657	9.255	89%**	0.108*
Total	367	3670.000	10.373	100%	

*Estadísticamente significativo $p=0.001$; ** $p<=0,0$

IV. CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio revelan que el germoplasma de camote en Ecuador presentó una alta diversidad, basado en los enfoques de la evaluación molecular y morfológica. Los resultados obtenidos servirán para la gestión adecuada del germoplasma y para emprender trabajos de mejoramiento genético en el país. Se identificó cuáles son los descriptores morfológicos con mayor poder discriminante y se corrobora que los 8 marcadores SSR utilizados son altamente informativos para la diferenciación de los cultivares. Esta información es de utilidad para la constitución de colección núcleo.

V. AGRADECIMIENTO

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) y a la Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT).

VI. REFERENCIAS

- Andrade, R.D., Torres, R., Montes, E.J. Pérez, O.A., Acuña, C.A. & Narváez, G.J. (2009). Obtención de aguardiente a partir de batata (*Ipomoea batatas*). (Tesis de pregrado). Universidad de Sucre, Córdoba.
- Acheampong, V. (2012). Phenotypic and molecular characterization of released and elite sweetpotato varieties in Ghana compared with virus-tested putative ramets (tesis de maestría). Kwame Nkrumah University of science and technology-
- Ayala, E. (2008). Resumen de la historia del Ecuador. Universidad Andina Simón Bolívar. Recuperado de <http://www.comunidadandina.org/bda/docs/EC-CA-0001.pdf>
- Basantes, M. (2011). Caracterización Molecular de la Colección Nacional de Camote (*Ipomoea* spp.) del banco nacional del INIAP mediante marcadores microsatélites (tesis de pregrado). Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí.
- Chamba, L. (2008). Cultivo del camote para el mercado internacional. Recuperado de www.bioteconologiaproyecto09.wikispaces.com/file/.../cultivo-del-camote.doc
- Centro Internacional de la Papa (CIP). (1988). Mejoramiento de la batata (*Ipomoea batata* L) en Latinoamérica. Memorias del "Seminario sobre el mejoramiento de la batata en Latinoamérica". CIP, Lima, junio 9-12, 1987
- Clark, C. A., & Moyer, J. W. (1991). Compendio de Enfermedades de la Batata (47-53). Lima: Centro Internacional de la Papa.
- Clarke, A. C. (2009). Origins and dispersal of the sweet potato and bottle gourd in Oceania: Implications for Prehistoric Human Mobility. (Tesis doctoral). Massey University, Palmerston North, New Zealand,
- Dellaporta; S.; Wood, J.; Hicks, J. (1983). A plant DNA miniprep. Plant Molecular Biology Reporter, 2 (1),19-21.
- Demarchi, D. (2009). Microsatélites, distancias genéticas y estructura de poblaciones nativas sudamericanas. Revista Argentina de antropología biológica, 11 (1), 73-88.
- FAO. (2011). Estado de la diversidad de los cultivos principales y secundarios. Recursos Fitogenéticos para la alimentación y la agricultura en el Mundo. (Apéndice 4). Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/014/i1500s/i1500s10d.pdf>
- Figueroa, C. (2010). Caracterización agronómica de germoplasma de camote (*Ipomoea batata* L.) en Manabí (tesis de pregrado). Universidad técnica de Manabí. Manabí-Ecuador
- Folquer. (1978). La batata (camote) estudio de la planta y su producción comercial. IICA, Colombia.
- Hu, J., Nakatani, M., Mizuno, K. & Fujimura, T. (2004). Development and Characterization of microsatellite markers in sweetpotato. Breeding science, 54, 177-188.
- Huamán, Z. (1991). Descriptores de la batata. Perú: CIP/ AVRDC/ IBPGR.
- Huamani, K. (2009). New SSRs for sweetpotato. Centro Internacional de la papa. Recuperado de <https://research.cip.cgiar.org/confluence/display/~KHUAMANI/SSR+FOR+SWEET+POTAT>
- Karp A, Kresovich S, Bhat, K.V., Ayad, W.G. & Hodgkin, T. (1997). Molecular tools in plant genetic resources conservation: A guide to the technologies (Boletín técnico No. 2). Roma: International Plant genetic Resources Institute.
- Koussao, S., Gracen, V., Asante, I., Danquah, E., Quedraogo, J., Baptiste, T., Jerome, B & Vianney, T. (2013)- Diversity analysis of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) germplasm from Burkina Faso using morphological and simple sequence repeats markers. African Journal of Biotechnology. 13 (6), 729-742.
- Maquia, I., Muocha, I., Naico, A., Martins, N., Gouveia, M., Andrade, I., Goulao, L. & Ribiero, A. (2013). Molecular, morphological and agronomic characterization of the sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) germplasm collection from Mozambique: Genotype selection for drought prone regions. South African Journal of Botany, 88, 142-151.
- Morillo, E. (2002). Protocolos de Marcadores Moleculares. Estación Experimental Santa Catalina: INIAP.
- Nagy, S. Poczai, P., Cernák, I. Gorji, A., Hegedus, G. & Taller, J. (2012). PICcalc: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. Biochemical Genetics. 50 (9), 670-672.
- Oliveira, A., Sedimaya, M.; Sedimaya, T. & Cruz, C. (2000). Avaliação da divergência genética em batata-doce por procedimentos multivariados. Acta Scientiarum, 22, 895-900.
- Pardo, A. & Ruíz, M. (2002). IBM SPSS Statistics 21 versión para estudiantes.
- Peakall, R. & Smouse, P. (2005). GenAIEx 6: Genetic Analysis in Excel. The Australian National University, Australia.
- Ritschel, P. & Huáman, Z. (2002). Variabilidade morfológica da coleção de germoplasma de batata-doce da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisas de Hortaliças. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 37, (4), 485-492.
- Van de Peer, Y. & Wachter, Y. (1994). TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. Comput. Applic. Biosci. 10, 569-570.
- Veasey, E. Silva, J., Borges, A., Bressan, E. & Peroni, N.(2007). Phenology and morphological diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas*) landraces of the Vale do Ribeira. Sci Agric, 64, 416-427.
- Veasey, E., Borges, A., Silva, M., Queiroz, J., Andrade, E. & Peroni, N. (2008). Genetic diversity in Brazilian sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) landraces assessed with microsatellite markers. Sao Paulo: Sociedade Brasileira de Genética.
- Zhang, D., Rossel, G., Kriegner, A. & Hijmans, R. (2004). AFLP assessment of diversity in sweetpotato from Latin America and the Pacific region: Its implications on the dispersal of the group. Genetic resource and crop evolution. 51, 115-120.