



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113424766 A

(43) 申请公布日 2021.09.24

(21) 申请号 202110601003.0

(22) 申请日 2021.05.31

(71) 申请人 上海交通大学

地址 200240 上海市闵行区东川路800号

(72) 发明人 赵凌侠 赵伟华 黎宇航 彭勇政
李文贞

(74) 专利代理机构 上海汉声知识产权代理有限公司 31236

代理人 胡晶

(51) Int. Cl.

A01H 1/02 (2006.01)

A01H 1/00 (2006.01)

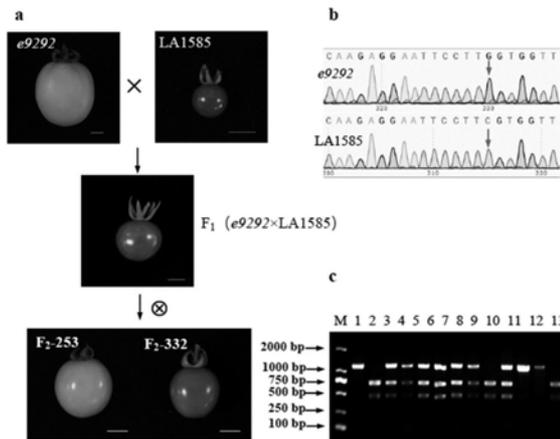
权利要求书1页 说明书14页
序列表5页 附图9页

(54) 发明名称

远缘杂交技术创制番茄新种质的方法及其在番茄改良中应用

(57) 摘要

本发明公开了一种远缘杂交技术创制番茄新种质的方法及其在番茄改良中应用;本发明用番茄野生种,通过远缘杂交技术创制番茄新种质;用遗传学、分子生物学、植物生理生化和数学方法对远缘杂交番茄不同世代或遗传背景(双亲和杂交后代)表型特征、进化、遗传力和遗传倾向进行分析和评估。同时,结合番茄中富含的一种重要功能组分胡萝卜素,通过分析所述功能组分合成及代谢途径关键基因表达,解析远缘杂交事件对所述功能组分生物合成调控分子机制。同时,创制了对环境逆境胁迫的应答不敏感的远缘杂交番茄新种质。本发明提供了一种创制番茄新种质及科学评估新方法,将为番茄遗传改良和新品种培育提供重要种质资源和理论基础。



1. 一种远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

S1、以番茄野生种为花粉父本,番茄栽培种为母本,有性杂交获得 F_1 代;所述番茄野生种为番茄栽培种的远缘直接祖先种;

S2、 F_1 代自交获得 F_2 代群体;每个 F_2 单株自交采种获得 F_3 代;每个 F_n 单株自交采种获得 F_{n+1} 代, $3 \leq n$ 。

2. 根据权利要求1所述的远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,所述番茄野生种为野生醋栗番茄LA1585 (*Solanum pimpinellifolium*);所述番茄栽培种为栽培番茄e9292 (*S. lycopersicum*)。

3. 根据权利要求1所述的远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,所述方法还包括通过对番茄亲本和不同杂交代表型分析、形态标记和分子标记分析确认杂交种属性的步骤。

4. 根据权利要求3所述的远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,根据果色、叶形和CAPS标记确认远缘杂交番茄的杂交属性。

5. 根据权利要求4所述的远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,所述CAPS标记是以番茄野生型LA1585和突变体yft3的基因组DNA为模板,用引物TG294F:5'-attggctgcaatgatggatt-3'和TG294R:5'-ctaagcaggacggccatcta-3'进行PCR扩增,测序后设计得到所述CAPS标记。

6. 根据权利要求1所述的远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,所述方法还包括结合表型性状数据,通过数学统计分析求算表型在不同世代的遗传力的步骤;通过对遗传力计算推定相关表型后代选择可信度和效率。

7. 根据权利要求6所述的远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,遗传力计算公式如下:

$$hB^2 = \frac{Vg}{Vg+Ve} \times 100\%,$$

$$Vg = \frac{MSg-MSe}{n_0},$$

$$n_0 = \frac{\text{总观测值}}{\text{材料种类}},$$

MSg,组间均方;MSe,组内均方; n_0 ,有效观测重复次数; Vg ,遗传方差; $Ve=MSe$,为环境方差。

8. 根据权利要求6所述的远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,所述表型性状包括 Vc 、总可溶性固形物、类胡萝卜素、果糖、葡萄糖、柠檬酸及果实硬度。

9. 根据权利要求1所述的远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,其特征在于,所述方法还包括对不同世代的表型进行性状显著性分析,以确认相关性状的遗传倾向;为重要农艺性状回交改良亲本选择提供依据的步骤;所述重要农艺性状包括:株高、单果重、果肉厚、心室数、果实纵径、果实横径、果形指数、 Vc 、总可溶性固形物、类胡萝卜素、果糖、葡萄糖、柠檬酸及果实硬度。

10. 一种根据权利要求1所述的方法或该方法得到的番茄新种质在番茄遗传改良和育种中的应用。

远缘杂交技术创制番茄新种质的方法及其在番茄改良中应用

技术领域

[0001] 本发明属于园艺学、遗传学和分子生物学领域；涉及一种远缘杂交技术创制番茄新种质的方法及其在番茄改良中应用；特别是用数学方法对新种质进行了科学界定和评估。具体通过番茄野生种与栽培番茄有性杂交创制新种质，丰富了番茄种质资源和遗传多样性，并利用数学和统计学方法对所创制的新种质进行科学分析和界定。目的在于改观当下番茄种质资源匮乏和育种材料缺乏的现状，进而实现番茄的遗传改良和新品种的培育。

背景技术

[0002] 番茄 (*Solanum lycopersicum*, $2n=24$) 是茄科 (*Solanaceae*) 茄属 (*Solanum*) 番茄族 (*Lycopersicon*) 果、蔬兼用作物。在蔬菜供给、国民经济发展、科学研究和人类健康方面均占有重要地位 (Ford et al., 2012; Lin et al., 2014; Tieman et al., 2017; Zhu et al., 2018)。FAO (The Food and Agriculture Organization) 最新统计, 2018 年全球番茄产量 1.81 亿吨, 产值 477.18 亿 US; 我国番茄产量 0.63 亿吨, 产值 292.33 亿 US (<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>)。番茄在果、蔬供给和全球经济发展中占有重要地位, 同时还是遗传、发育和分子生物学等学科开展研究的模式植物。番茄作为有呼吸跃变高峰的浆果类植物, 也是植物激素乙烯信号转导和调控果实成熟发育研究具特色的模式植物 (Tomato Genome Consortium, 2012; Gao et al., 2016)。番茄富含营养, 包括人体所必要矿质元素、Vc 和氨基酸, 人体所需番茄红素 85% 源自番茄; 是厨用、鲜食和加工重要原料。番茄红素的抗氧化特性具有预防许多重大疾病如心脑血管、癌症特别是前列腺癌的生物功能 (Cohen et al., 2002; Tan et al., 2017)。

[0003] 种质资源匮乏和育种资源欠缺是番茄遗传改良全球所面临的共性难题。起源于南美的番茄, 因受传播 (向欧洲) 和现代育种定向筛选“瓶颈”效应影响, 遗传多样性丧失。番茄育种先驱 Charles M. Rick 曾预言, 仅靠欧洲资源对番茄进行遗传改良是没有希望的, 也是导致近百年番茄遗传改良进展缓慢主要原因。我国番茄是途经菲律宾从南美经西班牙传入的, 不同于经加勒比海从欧洲传入北美 (美国和加拿大) 的番茄。遗传多样性不及驯化中心墨西哥和次起源中心欧美; 严重地限制了我国番茄遗传改良和育种进程。

[0004] 与栽培番茄资源匮乏相比, 番茄野生资源 (包括 16 个野生种) 具有丰富的遗传多样性, 是番茄遗传改良取之不竭的基因库 (<https://tgrc.ucdavis.edu/>; Tanksley & McCoch, 1997; Spooner et al., 2005; Peralta et al., 2008)。不过, 用野生资源对番茄进行遗传改良存在种间生殖障碍、后代“颠狂”分离和连锁累赘等缺陷 (Tanksley & Loaiza-Figueroa, 1985; Foolad, 1996), 使野生资源利用受限。

[0005] 本发明以醋栗番茄 LA1585 作花粉亲本, 与栽培番茄黄果突变体 e9292 (低类胡萝卜素含量) 杂交创制远缘杂交后代; 用遗传学、数学和统计学及分子生物学方法对包括双亲和不同杂交世代 (F1 和 F2) 表型性状、品质和抗逆性的遗传倾向和遗传效率进行系统、科学分析和评估, 可以批量地确定所创制的番茄新种质; 特别是借助精准分析仪器 HPLC 检测番茄主要功能性活性物质——类胡萝卜素含量, 并针对其生物合成途径相关基因在转录水平的

表达分析;以期揭示远缘杂交事件对番茄重要品质性状(类胡萝卜素合成)改良效果和分子机制进行解析。结合番茄田间调查和实验室研究结果,利用遗传学、数学、统计学、植物生理生化和分子生物学方法全面对远缘杂交新种质进行全面系统鉴定,这并不是本领域的人员容易想到和实施的。本发明不仅提供了用远缘途径创制番茄新种质或育种新材料新方法特别是科学的理论依据,也为用野生资源改良番茄评估提供重要参考。

发明内容

[0006] 针对现有技术缺陷,本发明提供了一种远缘杂交技术创制番茄新种质的方法及其在番茄改良中应用,是一种用远缘杂交技术创制番茄新种质基于遗传学和数学评估技术体系及其在番茄遗传改良实践中的应用。

[0007] 本发明公开了一种用番茄野生种——醋栗番茄(*Solanum pimpinellifolium*, LA1585)(作父本)与栽培番茄黄果番茄突变体(e9292)(母本)构建杂交群体,创建远缘杂交不同世代如 F_1 、 F_2 和 F_3 (不限于 F_3)。通过对番茄亲本(父、母本)和不同杂交世代表型分析、形态标记和分子标记分析确认杂交种属性。结合表型性状数据,通过数学统计分析求算表型在不同世代的遗传力,所述遗传力数据将提高所述性状定向选择效率及提供理论依据;并根据子代与亲代所述表型显著性分析确定所述性状的遗传倾向。特别是针对重要农艺性状本发明中列举类胡萝卜素(不限类胡萝卜素),用植物化学方法提取和分子生物学技术分析所述代谢途径关键基因表达,揭示了远缘杂交事件在番茄重要农艺性状改良中遗传学机制。该发明克服了以往发现仅针对单一或少学科技术的局限性,发明了一种基于多学科——遗传学、植物化学、分子生物学和数学知识,特别是数学方法应用,使本发明提升了番茄种质资源创制以性状描述为主的传统遗传学的准确性、科学性和可操作性;使批量创制番茄新种质(不仅限于番茄)评估得供科学依据,也可以加快番茄育种进程和效率。

[0008] 本发明的目的是通过以下实施方案来实现的:

[0009] 第一方面,本发明涉及一种远缘杂交技术创制番茄新种质的方法,所述方法包括如下步骤:

[0010] S1、以番茄野生种为花粉父本,番茄栽培种为母本,有性杂交获得 F_1 代;所述番茄野生种为番茄栽培种的远缘直接祖先种;

[0011] S2、 F_1 代自交获得 F_2 代群体;每个 F_2 单株自交采种获得 F_3 代;每个 F_n 单株自交采种获得 F_{n+1} 代, $3 \leq n$ 。

[0012] 本发明的方法实质是一种用远缘杂交技术创制番茄新种质,用数学方法进行科学评估;所述番茄新种质丰富番茄遗传资源及在番茄遗传改良和育种中应用。所述创制是基于对番茄野生种深入研究和解除基础上,特别是野生种所携带当下番茄改良亟需的优质基因;同时,结合分子生物学和数学方法对所述创制新种质加以评估确定。所述远缘杂交事件创造并丰富了番茄遗传资源,目的在于应用于番茄遗传改良和育种。

[0013] 进一步的,所述番茄野生种与番茄栽培种间不存在生殖隔离。

[0014] 进一步的,所述番茄野生种为醋栗番茄(*Solanum pimpinellifolium*)。

[0015] 进一步的,所述番茄野生种为野生醋栗番茄LA1585(*Solanum pimpinellifolium*);所述番茄栽培种为栽培番茄e9292(*S. lycopersicum*)。

[0016] 进一步的,所述方法还包括通过对番茄亲本和不同杂交世代表型分析、形态标记

和分子标记分析确认杂交种属性的步骤。通过表型调查和分子生物方法其杂交属性得以确认。

[0017] 作为本发明的一个实施方案,根据果色、叶形和CAPS标记确认远缘杂交番茄的杂交属性。进一步的,CAPS标记(e9292,SEQ ID NO:1;LA1585,SEQ ID NO:2)。

[0018] 进一步的,所述CAPS标记是以番茄野生型LA1585和突变体yft3的基因组DNA为模板,用引物TG294F:5'-attggctgcaatgatggatt-3'(SEQ ID NO:3)和TG294R:5'-ctaagcaggacggccatcta-3'(SEQ ID NO:4)进行PCR扩增,测序后设计得到所述CAPS标记。作为具体示例,测序后用适当内切酶如Xmn I(gaann↓nnttc)酶切而设计得到(LA1585酶切为356bp和545bp大小,序列分别为SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6)所述CAPS标记。

[0019] 进一步的,所述方法还包括结合表型性状数据,通过数学统计分析求算表型在不同世代的遗传力;通过对遗传力计算可以推定相关表型后代选择可信度和效率。

[0020] 进一步的,遗传力计算公式如下:

$$[0021] \quad hB^2 = \frac{Vg}{Vg + Ve} \times 100\%$$

$$[0022] \quad Vg = \frac{MSg - MSe}{n_0}$$

$$[0023] \quad n_0 = \frac{\text{总观测值}}{\text{材料种类}}$$

[0024] MSg,组间均方;MSe,组内均方;n₀,有效观测重复次数;Vg,遗传方差;Ve=MSe,为环境方差。

[0025] 进一步的,所述表型性状包括Vc、总可溶性固形物(TSS)、类胡萝卜素、果糖、葡萄糖、柠檬酸及果实硬度。

[0026] 进一步的,所述方法还包括对不同世代的表型进行性状显著性分析,以确认相关性状的遗传倾向;为重要农艺性状回交改良亲本选择提供依据的步骤;所述重要农艺性状包括:株高、单果重、果肉厚、心室数、果实纵径、果实横径、果形指数、Vc、总可溶性固形物(TSS)、类胡萝卜素、果糖、葡萄糖、柠檬酸及果实硬度。根据子代与亲代表型显著性分析确定杂交后代表型遗传倾向性。对不同世代特别是F1与双亲对应的表型进行性状显著性分析,确认相关性状的遗传倾向;为重要农艺性状回交改良亲本选择提供依据。

[0027] 本发明实现了远缘杂交所创制新种质用形态和分子标记加以确认;本发明实现了远缘杂交所创制新种质用形态和分子标记加以确认;根据杂交一代数一性状的数据或表型,用方差分析方法确定与亲本间的差异显著性,以确定某一性状的遗传倾向。这些分子生物学证据和数学方法,使用远缘杂交手段创制番茄新种质的评估提升了科学性和合理性。为番茄种质资源创制和遗传改良提供了理论依据,而非本领域人员可以轻易可以获得的知识。

[0028] 本发明的远缘杂交事件创制了拥有丰富遗传多样性番茄新种质,不仅获得了包括两亲本中间类型株系,也获得了超优/负向超亲优势的连续分布类型远缘杂交家系;可以为杂交种或育种亲本选择提供了可用资源。

[0029] 不同远缘杂交世代特别是分离世代存在超优亲优质的Vc、糖/酸、类胡萝卜素、可

溶性固形物番茄新种质。

[0030] 不同远缘杂交世代特别是分离世代发现了超优亲的对盐和甘露醇应答不敏感(抗/耐)新种质。

[0031] 番茄新种质具有丰富遗传多样性,特别适于用于番茄品质和抗逆等重要农艺性状改良和育种的遗传资源。

[0032] 第二方面,本发明还提供了一种前述的方法在番茄遗传改良和育种中的应用。

[0033] 进一步的,是番茄品质和抗逆等重要农艺性状的改良和育种。

[0034] 所述创制的批量番茄新种质,是基于用野生醋栗番茄与栽培番茄远缘杂交创制杂交群体/遗传资源库,针对当下番茄种质资源匮乏和育种需求经田间和实验鉴定而获得所需种质,并实现数学、分子生物学、遗传学有机结合用于种质资源创制;为远缘杂交后代优良品质形成提供分子生物学证据同时,并用数学方法科学地评估种质资源。

[0035] 所述创制番茄新种质不仅在品质(Vc、类胡萝卜素、可溶性固形物、糖/酸)和抗生物/非生物逆境方面优于栽培番茄,同时所创制新种质拥有丰富遗传多样性和重要农艺性状表现优良。

[0036] 第三方面,本发明提供了一种前述方法获得的番茄远缘杂交新种质在番茄遗传改良和育种中的应用。

[0037] 与现有技术相比,本发明具有如下优势:

[0038] 1.首次提供了野生番茄醋栗番茄与栽培番茄有性杂交创制了拥有丰富遗传多样性的远缘杂交群体/遗传资源库;综合分子生物学、遗传学、植物化学和数学技术和方法明确远缘杂交新种质属性、提供遗传选择策略和用数学方法的科学评估。

[0039] 2.基于所述发明成果,创制了批量的番茄新种质、确定重要农艺性状遗传特性、品质优良及抗逆番茄新种质,特别是提供了一种结合多学科知识和技术的种质资源科学评估体系。

[0040] 3.基于所述发明成果,所创制的批量番茄远缘杂交新种质可以应用于番茄遗传改良和育种新材料。

附图说明

[0041] 通过阅读参照以下附图对非限制性实施例所作的详细描述,本发明的其它特征、目的和优点将会变得更明显:

[0042] 图1为番茄远缘杂交世代构建及杂交属性确定;其中,a为e9292作母本与LA1585杂交的不同世代果色和果实大小(标尺:1cm),b为e9292与LA1585在第8号染色体TG294的单核苷酸突变,c为用CAPS标记确认番茄远缘杂交属性,其中泳道M:DL2000分子量标准;泳道1~13分别指:e9292,LA1585,F1(e9292×LA1585),F2-259,F2-280,F2-292,F2-318,F2-332,F2-253,F2-266,F2-299,F2-328和F2-330;

[0043] 图2为基于表型标记e9292和LA1585不同杂交世代13个番茄系统进化树热图;

[0044] 图3为番茄类胡萝卜素合成及上游MEP途径相关基因(DXS,DXR,HDR,IDI,PSY1,LCYE,CRTISO和CYCB)转录表达;

[0045] 图4为甘露醇处理对不同基因型番茄根长与下胚轴生长的影响;其中,a~c分别指不同遗传型番茄用50mmol/L~150mmol/L甘露醇处理小苗根长与对照(0mmol/L)差值;d~f

分别指不同遗传型番茄用50mmol/L~150mmol/L甘露醇处理小苗下胚轴与对照(0mmol/L)差值;

[0046] 图5为NaCl处理对不同基因型番茄根长与下胚轴生长的影响;其中,a~c分别指不同遗传型番茄用50mmol/L~150mmol/L NaCl处理小苗根长与对照(0mmol/L)差值;d~f分别指不同遗传型番茄用50mmol/L~150mmol/L NaCl处理小苗下胚轴与对照(0mmol/L)差值;

[0047] 图6为序号为1-15的不同遗传背景番茄表型情况;

[0048] 图7为序号为16-31的不同遗传背景番茄表型情况;

[0049] 图8为序号为32-44的不同遗传背景番茄表型情况;

[0050] 图9为不同遗传型番茄果实品质分析情况。

具体实施方式

[0051] 下面结合具体实施例对本发明进行详细说明。以下实施例将有助于本领域的技术人员进一步理解本发明,但不以任何形式限制本发明。应当指出的是,对本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变化和改进。这些都属于本发明的保护范围。

[0052] 本发明提供了一种创制番茄远缘杂交后代技术和方法,特别是科学评估方法。所述番茄远缘杂交是指番茄种间的有性杂交,本发明中所述的远缘杂交指以野生醋栗番茄(*Solanum pimpinellifolium*)作花粉亲本(父本)与栽培番茄e9292(*S. lycopersicum*)有性杂交获得F₁代,F₁代自交获得F₂代群体,每个F₂单株自交采种获得F₃代(F₂代家系)。

[0053] 本发明所述番茄野生种和栽培种并不限于本发明所述番茄野生种和栽培种,应视为(*Solanaceae*)茄属(*Solanum*)番茄族(*Lycopersicon*)番茄种的全部。

[0054] 本发明提供了一种确定番茄远缘杂交后代属性技术和方法,所述的确定番茄远缘杂交后代属性技术和方法是指基于番茄表型和分子标记的遗传多样性确定杂交后代与亲代(父、母本)差异及杂交后代的属性。

[0055] 本发明提供了一种番茄远缘杂交后代的表型遗传决定于遗传物质因素——广义遗传力方法,基于杂交后代及亲本表型测量数值,可以通过数学方法求得;据此可以估算表型在不同世代选择效率。

[0056] 本发明提供了一种评估番茄远缘杂交后代表型遗传倾向性方法,基于所述远缘杂交后代表型及亲本间测量值,用数学的统计学方法进行显著性分析,确定所述杂交后代(F₁)表型遗传倾向性(所偏向亲本)。

[0057] 本发明提供了一种针对番茄重要代谢产物,所述代谢产物影响番茄重要农艺性状形成,所述代谢产物可以通过植化方法萃取和相应仪器进行含量测定,并用分子生物学技术解析所述代谢途径因远缘杂交事件而影响代谢产物的分子调控机制。本发明所述的重要代谢产物是指番茄红素,其含量决定番茄的果色;所述类胡萝卜素含量可用超高效色谱法(Ultra-performance Convergence Chromatography,UPC²)分析测定,所述类胡萝卜素合成途径关键基因表达分析用RT-qPCR(Real Time-Quantitative PCR analysis)技术,所述表达结果用于解析远缘杂交对胡萝卜素合成影响。本发明所述的重要农艺性状不仅限于本发明远缘杂交事件对例举番茄红素累积影响,应视为对番茄营养生长、生殖生长、花和果实

发育及果实品质形成相关的次生代谢物生物合成。

[0058] 本发明提供了一种用远缘杂交技术创新制抗/耐盐(NaCl)和旱(甘露醇/Mannitol, C6H14O6)等生物/非生物逆境胁迫的番茄新种质,本发明不限于所例举抗/耐盐(NaCl)和旱(甘露醇/Mannitol)新种质,应理解为远缘杂交对番茄抗/耐生物(病、虫)/非生物(涝、风、冷和光)等。

[0059] 本发明提供了一种前述远缘杂交在番茄种质创新、遗传改良和新品种培育领域中应用。

[0060] 本发明所述番茄黄果突变体e9292(yellow fruited tomato 3,yft3,Solanum lycopersicum)和野生型红果醋栗番茄(Solanum pimpinellifolium,LA1585)分别由以色列希伯来大学Dani Zamir教授(<http://zamir.sgn.cornell.edu/mutateds>)和美国加州大学戴维斯分校(UC Davis)番茄遗传中心(<https://tgrc.ucdavis.edu/>)Chetelat R T教授惠赠。黄果番茄突变体yft3(e9292)是红果番茄cv.M82(S.lycopersicum)种子用甲基磺酸乙酯(Ethyl methyl sulfonate,EMS)化学诱导所得。李文贞博士经分析确认黄果番茄突变体yft3番茄红素含量比野生型M82低。随后黎宇航和赵伟华构建了野生醋栗番茄LA1585与e9292杂交突变群体,F₁代小型红果番茄,分离F₂代包括红果和黄果番茄,自交获得,取其中10个F₂单株自交获F₃代家系(5个红果家系和5个黄果家系,每个家系混合取样进行分析作为F₂代结果);对番茄远缘杂交群体(亲本、F₁和F₂家系)进行研究。

[0061] 种质资源匮乏的番茄(S.lycopersicum)作为当下全球重要的果、蔬兼用作物,其野生资源是番茄遗传改良取之不竭基因库,对创制番茄新种质和遗传改良具有巨大潜力。本发明所述野生醋栗番茄(LA1585)作父本与栽培番茄(e9292)杂交,构建了F₁和F₂群体;根据果色、叶形和CAPS(Cleaved Amplified Polymorphism Sequences)标记明确了远缘杂交番茄的杂交属性。分析F₁代44个表型发现,22个倾/偏向于LA1585;6个倾/偏向于e9292;16个表型属二亲本中间类型。基于38个有遗传多样性表型系统进化分析,将供试的13个番茄材料分成两组:其中,F₂-328、F₂-266和F₂-253和F₂-318与e-9292归为一组;而F₂-332、F₂-299、F₂-259、F₂-330、F₂-292、F₂-280、F₁与LA1585归为一组。

[0062] 品质分析发现,F₂-280、F₂-299和F₂-332的Vc含量呈现出超优亲LA1585优势;F₂-280和F₂-332番茄红素含量也表现出超优亲LA1585优势。F₂-280、F₂-292、F₂-299、F₂-328和F₂-332果糖/葡萄糖表现为超优亲e9292优势。F₂-259、F₂-328和F₂-332糖/酸也表现为超优亲e9292优势。Vc、总可溶性固形物(TSS)、类胡萝卜素、果糖、葡萄糖、柠檬酸及果实硬度的广义遗传力依次为99.92%、75.06%、94.87%、96.98%、94.36%、87.31%和93.93%,说明用远缘杂交途径改良番茄品质后代选择有很高的可信度。盐和旱胁迫实验显示,F₂-266和F₂-299表现出对盐和甘露醇胁迫的不敏感性。可见,本发明通过远缘杂交途径创制了批量的优质、抗逆番茄新种质,并对所述新种质进行了科学评,进而为包括番茄在内种子植物用远缘杂交手段创制新种质提供了方法论和理论参考;具有重大理论创新和应用前景。

[0063] 本发明提供了一种用番茄野生种——醋栗番茄,通过与栽培番茄进行有性杂交创制了批量的番茄新种质,所述新种质可用于番茄进行遗传番茄如品质和抗逆改良提供了技术和科学评估方法。

[0064] 具体见以下实施例:

[0065] 实施例1:植物材料来源及远缘杂交种创制

[0066] 番茄黄果突变体e9292 (*S. lycopersicum*, 系红果cv.M82经EMS诱变所得) 和醋栗番茄 (*S. pimpinellifolium*, LA1585) 分别由以色列希伯来大学Dani Zamir教授 (Hebrew University of Jerusalem, <http://zamir.sgn.cornell.edu/mutants>) 和美国加利福尼亚大学戴维斯分校番茄遗传资源中心 (Tomato Genetics Resource Center, University of California at Davis) Chetelat教授惠赠。以e9292作母本与LA1585杂交。在授粉前一天下午, 选发育良好e9292大花蕾去雄, 次日 (最好晴天) 上午 (约9.00时) 取LA1585当日花花粉授粉。果实完熟后剖取种子洗净于阴干处风干, 置阴凉处/或冰箱 (-20℃) 保存备用。 F_1 自交创制 F_2 群体, 基于分离世代 F_2 群体, 在田间选择有代表性黄果和红果家系各5个, 自交授粉获得 F_3 代种子。

[0067] 实施例2: 番茄催芽和生长条件

[0068] 13份番茄 [e9292、LA1585、 F_1 (e9292×LA1585) 和10个 F_2 (e9292×LA1585) 家系] 种子温汤 (45℃温水) 浸种1小时, 随后室温浸种5小时取出后在25℃恒温培养箱 (天呈实验仪器制造有限公司, 上海, 中国) 暗黑条件下催芽。种子露白 (胚根露出) 后, 播种于装有湿润育苗土 (品氏托普园艺有限公司, 上海, 中国) 的60孔 (5×12, 1粒/孔) 塑料穴盘中 (启航花木园艺场, 江苏宿迁, 中国)。小苗在日光温室 (管理按昼28℃/夜20℃) 生长至四片真叶展开, 定植于上海交通大学浦江绿谷实验基地 (闵行区浦江镇联跃路188号) 标准日光温室 (121°30' 10.89"E, 31°3' 5.20"N, 海拔5m)。株、行距为40cm×70cm, 田间管理与普通番茄一致。

[0069] 实施例3: 番茄远缘杂交属性确定

[0070] 在分析表型 (果色和叶形) 基础上, 基于番茄数据库TOMATO-EXPEN 2000 (<https://solgenomics.net/>) 图谱分子标记TG294 (第8号染色体) 序列, 用Fulton et al. (1995) 方法提取番茄基因组DNA作模板, 用引物TG294F: 5'-attggctgcaatgatggatt-3' (SEQ ID NO:3) 和TG294R: 5'-ctaagcaggacggccatcta-3' (SEQ ID NO:4) 进行PCR扩增, 测序后设计CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) 标记; Xmn I酶切和电泳分离分析, 确认e9292、LA1585及其不同远缘杂交世代杂种属性。

[0071] 1. 番茄基因组DNA提取

[0072] 1) 田间分别选取番茄野生型LA1585及突变体yft3植株的幼嫩叶片, 放入事先加入400μL CTAB提取缓冲液 (加2%体积β-巯基乙醇) 的1.5mL EP管中; 带回实验室后, 补加300μL CTAB提取缓冲液, 加入2粒干净的钢珠, 在组织研磨仪55Hz 90sec将样品磨碎, 之后将样品放入65℃的水浴锅中加热30min, 每隔5min颠倒混匀一次。

[0073] 2) 待EP管降低至室温在通风橱中加入等体积 (700μL) 氯仿: 异戊醇 (V:V=24:1), 颠倒混匀;

[0074] 3) 混匀样品在10000g离心机上离心10min, 并吸取400μL上层水相至干净1.5mL EP管中;

[0075] 4) 加入800μL -20℃预冷无水乙醇, 颠倒混匀, 12000g离心10min, 弃上清并用70%乙醇洗涤收集DNA 3次; 离心去痕量乙醇并置通风橱内晾干至无乙醇味;

[0076] 5) 加入50μL ddH₂O溶解DNA样品, 并添加入1U的RNA水解酶A 37℃水浴30min消解RNA;

[0077] 6) DNA样品分别取1μL用Nanodrop 2000测定A260/A230、A260/A280、浓度 (ng/μL) 和取2μL加入6×loading buffer, 琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量, 用于后续分析。

[0078] 2.CAPS标记分析

[0079] 基于番茄分子标记TG294序列,设计引物TG294F:5'-attggctgcaatgatggatt-3' (SEQ ID 3)和TG294R:5'-ctaagcaggacggccatcta-3' (SEQ ID NO:4),分别用上述所提取LA1585和yft3番茄基因组DNA为模板,在KOD FX酶催化下扩增,反应体系如下:

反应组分	用量 (μL)
DNA模板 (100ng/μl)	1.0
2×KOD FX buffer	25.0
dNTP mix (2mM)	10.0
forward primer (10μM)	1.0
reverse primer (10μM)	1.0
KOD FX (1.0unit/μL)	0.5
ddH ₂ O	补足至50.0μL

[0081] 将上述PCR反应物充分混均后,在T100™ PCR仪 (Bio-Rad生命医学产品有限公司,加利福尼亚州,美国)中进行扩增反应。反应参数为:95℃预变性5min;95℃变性30sec,55℃退火30sec,68℃延伸(1kb/min),35个循环;最后68℃延伸10min。PCR产物加6×loading buffer混匀在1%的琼脂糖凝胶上在1×TAE (Tris-acetate-EDTA)中电泳分离,在UVP凝胶成像系统 (UVP公司,加利福尼亚州,美国)下检测并回收靶条带,委托铂尚生物技术(上海)有限公司测序。根据测序结果设计CAPS标记。然后分别以醋栗番茄LA1585、yft3、F₁和10个F₂家系番茄共13个家系番茄基因组DNA为模板进行PCR扩增,PCR产物用Xmn I酶切和电泳分离,根据条带多态性确定不同世代远缘杂交番茄的杂种属性(图1)。

[0082] 实施例4:番茄表型性状及其遗传学分析

[0083] 参照Anonymous (1996)方法,观察和调查13份番茄材料(e9292、LA1585、F₁和10个F₂代家系)表型性状。其中包括19个质量性状(株型、株形;叶形、叶片着生、叶色、叶脉色、叶缺刻和茸毛着生;花柱类型、簇生花、花梗离层、花色、花序类型;果面茸毛、果顶形状、果肉色、果色、果形、果面棱沟)和25个数量性状(株高、茎粗;叶长、叶宽;第一花序节位、第二花序节位、单花序花数、花萼数、花瓣数、花药数、花萼长、花瓣长、花药长、花柱长;单果重、果肉厚、心室数、果实纵径、果实横径、果形指数、果柄长;种子长、种子宽、种子厚和种子千粒重)(图6、7、8)。基于所调查数据分析遗传特征(遗传力和变异系数)和系统进化分析。其中,用SPSS (Statistical Product and Service Solutions)软件包进行统计分析遗传特征(表1和表2)。用gplots (R 3.2.2 version) (<http://mirror.bjtu.edu.cn/cran/andHelpFilehttp://docs.ggplot2.org/current/index.html>)软件包的heatmap.2功能构建系统进化树的热图(heat-map)(图2)。

[0084] 广义遗传力(hB)由公式1-1给出

$$[0085] \quad hB^2 = \frac{Vg}{Vg + Ve} \times 100\% \quad (\text{公式 1-1})$$

$$[0086] \quad Vg = \frac{MSg - MSe}{n_0}$$

[0087]
$$n_0 = \frac{\text{总观测值}}{\text{材料种类}}$$

[0088] MSg, 组间均方; MSe, 组内均方; n_0 , 有效观测重复次数; Vg, 遗传方差; $V_e = MSe$, 为环境方差。

[0089] 变异系数由公式1-2给出:

[0090]
$$c_v = \frac{\sigma}{\mu} \quad (\text{公式 1-2})$$

[0091] c_v , 变异系数; σ , 标准差; μ , 平均值。

[0092] 表1不同遗传型番茄品质性状广义遗传力和变异系数

番茄品质	遗传方差	环境方差	平均数	标准差	广义遗传力	变异系数
Quality traits	gv	ev	mean	sd	hb	cv
[0093] 总可溶性固形物(TSS)	1.01	0.34	6.27	1.13	75.06%	18.10%
顶端硬度(Firmness)	11.31	0.52	7.72	3.34	95.56%	43.19%
赤道硬度(Firmness)	6.71	0.56	6.43	2.62	92.29%	40.72%
抗坏血酸(Vc)	109.20	0.09	38.46	10.18	99.92%	26.46%
α -胡萝卜素 (α -carotene)	54.39	4.52	13.28	7.49	92.33%	56.37%
β -胡萝卜素 (β -carotene)	59.81	6.21	14.20	7.93	90.59%	55.85%
番茄红素(lycopene)	5877.49	12.78	108.55	74.71	99.78%	68.82%
[0094] 叶黄素(lutein)	3.50	0.12	2.75	1.85	96.77%	67.39%
琥珀酸(succinic acid)	ld	ld	ld	ld	89.12%	36.81%
苹果酸(malic acid)	0.01	ld	0.27	0.08	88.59%	28.68%
柠檬酸(citric acid)	0.83	0.12	3.83	0.95	87.31%	24.91%
奎宁酸(quinic acid)	ld	nd	0.05	0.04	97.10%	73.49%
果糖(fructose)	34.55	1.08	18.44	5.81	96.98%	31.54%
葡萄糖(glucose)	8.26	0.49	12.78	2.88	94.36%	22.56%
蔗糖(sucrose)	ld	ld	ld	ld	94.21%	31.05%

[0095] 注:ld, 极低检出水平; gv, genetic variance; ev, environmental variance; sd, standard deviation; hb, broad-sense heritability; cv, coefficient of variation

[0096] 表2 F_1 (e9292 \times LA1585) 世代表型性状遗传倾向

[0097]

序号	表型	母本	父本	杂交一代	F ₁ 遗传倾向
Number	Phenotypic traits	<i>e9292</i>	LA1585	F ₁ generation	inheritance trend in F ₁
001	株型	半蔓性	蔓性	蔓性	W
002	生长型	有限生长	无限生长	无限生长	W
003	叶片形状	二回羽状复叶	羽状复叶	二回羽状复叶	C
004	叶片着生状态	下垂	水平	水平	W
005	叶色	绿	绿	绿	M
006	叶脉色	透明	透明	透明	M
007	叶裂刻	深	浅	中	M
008	茎叶茸毛	短稀	短稀	短稀	M
009	花柱类型	短于雄蕊	长于雄蕊	长于雄蕊	W
010	簇生花	无	无	无	M

[0098]

011	花梗离层	有	有	有	M
012	花色	黄	黄	黄	M
013	花序类型	单式花序	单式花序	单式花序	M
014	果面茸毛	无	中	中	W
015	果顶形状	凸尖	圆平	圆平	W
016	果肉色	黄	红	红	W
017	果色	黄	红	红	W
018	果形	高圆	圆	圆	W
019	果面棱沟	轻	无	无	W
020	株高 (cm)	67.43±3.29 ^b	185.58±6.52 ^a	188.10±8.23 ^a	W
021	茎粗 (mm)	10.69±0.53 ^c	13.45±0.19 ^a	12.01±0.46 ^b	M
022	叶长 (mm)	62.74±2.94 ^a	46.82±2.78 ^b	45.20±2.05 ^b	W
023	叶宽 (mm)	66.97±4.19 ^a	37.00±5.51 ^b	42.09±1.66 ^b	W
024	首花序节位	7.20±0.84 ^a	4.20±0.45 ^b	7.80±0.45 ^a	C
025	第二花序节位	9.00±0.71 ^b	7.60±0.55 ^c	10.80±0.45 ^a	C
026	单花序花数	9.80±0.84 ^b	11.80±0.84 ^a	9.00±0.00 ^b	C
027	花柱长 (mm)	5.76±0.44 ^c	12.32±0.51 ^a	8.47±0.47 ^b	M
028	花药数	5.20±0.45 ^a	5.00±0.00 ^a	5.00±0.00 ^a	W
029	花药长 (mm)	9.31±0.86 ^a	8.70±0.55 ^{ab}	8.04±0.14 ^b	W
030	花瓣数	5.20±0.45 ^a	5.00±0.00 ^a	5.00±0.00 ^a	W
031	花瓣长 (mm)	14.76±1.95 ^b	18.75±0.79 ^a	12.97±0.53 ^c	C
032	花萼数	5.20±0.45 ^a	5.00±0.00 ^a	5.00±0.00 ^a	W
033	花萼长 (mm)	10.72±2.56 ^a	6.34±0.15 ^b	6.71±0.15 ^b	W
034	单果重 (g)	42.25±6.42 ^a	1.23±0.07 ^c	6.53±0.70 ^b	M
035	果肉厚 (mm)	6.41±0.87 ^a	1.21±0.08 ^c	3.25±0.08 ^b	M
036	果实纵径 (mm)	45.98±2.75 ^a	12.34±0.57 ^c	22.5±1.19 ^b	M
037	果实横径 (mm)	42.10±3.33 ^a	13.57±0.29 ^c	22.94±1.08 ^b	M
038	果形指数	1.10±0.10 ^a	0.91±0.03 ^b	0.98±0.03 ^b	W
039	心室数	2.60±0.55 ^a	2.00±0.00 ^b	2.00±0.00 ^b	W
040	果柄长 (mm)	9.69±0.40 ^b	9.17±0.43 ^c	11.81±0.12 ^a	C

[0099]	041	种子长 (mm)	3.80±0.06 ^a	3.37±0.09 ^b	2.94±0.08 ^c	W
	042	种子宽 (mm)	2.86±0.03 ^a	2.09±0.04 ^c	2.17±0.08 ^b	M
	043	种子厚 (mm)	0.76±0.02 ^a	0.59±0.01 ^b	0.61±0.03 ^b	W
	044	种子千粒重 (g)	2.89±0.06 ^a	0.94±0.03 ^c	2.02±0.05 ^b	M

[0100] 注:表中数据为五个生物学重复的平均值,“±”后的数值为标准差;小写字母表示在P<0.05水平上进行Duncan's test测验。右侧中的大写字母指具有不同遗传背景的番茄,并且W指wild tomato LA1585,C是cultivated tomato e9292,M意思为LA1585和e9292中间类型。

[0101] 实施例5:番茄品质性状分析

[0102] Vc含量参照食品安全国家标准GB5009.86-2016的2,6-二氯靛酚滴定法(Jones&Hughes,1983)。总可溶性固形物(total soluble solid,TSS)用日产手持式折光仪(PAL-1,ATAGO)测量。用带5cm圆柱探头的TA-XT plus质构仪(Stable Micro System,England),采用2mm测距测定番茄果实顶端和赤道面硬度。类胡萝卜素含量测定参考Zhao et al.(2020)方法进行。用气相色谱-飞行时间质谱(gas chromatography-time of flight mass spectrometry,GC-TOFMS)测定番茄糖(葡萄糖、果糖和蔗糖)和酸(柠檬酸、苹果酸、奎宁酸和琥珀酸)含量(Osorio et al.,2011)。上述实验除TSS(5个生物学重复外),其余均为3个生物学重复。

[0103] 1类胡萝卜素含量测定

[0104] 1)类胡萝卜素提取

[0105] (1)采收yft3、LA1585、F1和F2(10个家系)绿熟期、破色期和红/黄熟期果实外果皮(赤道面),避光条件下在液氮中研磨成粉末状。

[0106] (2)称取约500mg粉末加入到15mL硅化离心管中,用增重法确定样品质量;加入1.5mL甲醇,加60%KOH(W/V)至终浓度变6%(W/V),充分混匀,将离心管置于60℃水浴锅中避光温浴30min。

[0107] (3)取出温度恢复到室温,向样品混合液中加1.5mL Tris缓冲液,充分混匀,4℃冰箱放置10min。

[0108] (4)然后冰浴,加4mL氯仿颠倒混匀,静置10min;在4℃离心机4000g离心10min。

[0109] (5)取下层有机相于一新15mL离心管中;水相中再加入4mL氯仿混匀萃取,重复步骤(4),将两次有机相混合并用氯仿补足至10mL。

[0110] (6)取1.5mL有机相加入至2mL离心管,在SPD2010型离心浓缩仪(Thermo Fisher科技有限公司,马萨诸塞州,美国)中干燥。

[0111] 2)类胡萝卜素测定

[0112] (1)干燥后的样品加入50μL甲基叔丁基醚(MTBE)溶解样品,待样品彻底溶解后,12000g离心10min。

[0113] (2)取上层液体于样品专用瓶,进样体积为1μL,利用高效液相色谱仪UPC²(Waters科技有限公司,马萨诸塞州,美国)测定类胡萝卜素,参照Li等(2015)设置参数,具体为:进样室温度保持在10℃,柱子选用ACQUITY UPC² HSS C18 SB(100mm×3.0mm,1.8μm),双相流

动相由 (A) CO₂ 和 (B) 甲醇:乙醇 (V:V) = 1:2 组成, 线性洗脱梯度为: 0.5min, 95%A+5%B; 2min, 70%A+30%B; 5min, 70%A+30%B; 5.5min, 95%A+5%B; 7min, 95%A+5%B。系统流量 1.5mL/min, 柱温 45°C, 背压 22.9MPa; 二极管阵列检测器 (photo-diode array detector, PDA detector) 探测波长在 210nm 到 500nm 之间, 补偿波长在 210nm 到 280nm 之间。

[0114] 3) 标准曲线制作

[0115] (1) 用甲基叔丁基醚 (methyl tert-butyl ether, MTBE) 溶解番茄红素、 β -胡萝卜素、 α -胡萝卜素、叶黄素标品, 标品制备成系列浓度梯度 (5 μ g/mL, 10 μ g/mL, 50 μ g/mL, 250 μ g/mL, 500 μ g/mL);

[0116] (2) 标品按照浓度从低到高顺序进样, 测定完成后, 建立浓度依存峰面积标准曲线, 用于求算样品不同类胡萝卜素浓度。

[0117] 总类胡萝卜素含量结果显示, F₁ (127.11 μ g/g FW) 属于居间类型, 不过倾向于野生亲本 LA1585 (200.48 μ g/g FW); F₂ 世代的 F₂-280 (235.45 μ g/g FW) 和 F₂-332 (267.63 μ g/gFW) 表现出超优亲优势 (图9)。

[0118] 实施例6: 类胡萝卜素合成途径关键基因表达

[0119] 用植物总RNA试剂盒 (天根生物科技有限公司, 北京, 中国) 提取7份 (e9292、LA1585、F₁代和4个F₂代家系 F₂-266, F₂-299, F₂-318和F₂-332) 番茄红/黄完熟期 (Red/Yellow ripening stage, RR/YR) 果皮 (3个生物学重复) 总RNA。用反转录试剂盒 (5 \times PrimeScript RT Master Mix) 合成cDNA第一链, 用RNA-free water稀释50倍作模板, 以ACTIN (GenBank accession: BT013524) 作内参基因。参照 Zhao et al. (2020) 方法用RT-qPCR分析 CRTISO (carotenoid isomerase)、CYCB (lycopene β -cyclase)、DXR (1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase)、DXS (1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase)、HDR (4-Hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase)、IDI1 (Isopentenyl diphosphate Δ -isomerase 1)、LCYE (lycopene ϵ -cyclase) 和 PSY1 (phytoene synthase 1) 转录表达。其中, 上述各基因表达定量分析对应的引物为: ACTIN-F: 5'-ttgctgaccgtatgagcaag-3' (SEQ ID NO:7) 和 ACTIN-R: 5'-ggacaatggatggaccagac-3' (SEQ ID NO:8); DXS-F: 5'-aagaggaaatgggatcggtgta-3' (SEQ ID NO:9) 和 DXS-R: 5'-agccactctctccccctcaa-3' (SEQ ID NO:10); DXR-F: 5'-cttaggcgcattatattaactgcat-3' (SEQ ID NO:11) 和 DXR-R: 5'-gtggcagaatcaacagtaattttt-3' (SEQ ID NO:12); HDR-F: 5'-cgggatgcctaaggctaaactcc-3' (SEQ ID NO:13) 和 HDR-R: 5'-ctggtcagattcttccg-3' (SEQ ID NO:14); IDI1-F: 5'-ccaatataaggggagaagcagaag-3' (SEQ ID NO:15) 和 IDI1R: 5'-ggaaacggcaacggagagag-3' (SEQ ID NO:16); PSY1-F: 5'-tggeccaaacgcatcatata-3' (SEQ ID NO:17) 和 PSY1-R: 5'-caccatcgagcatgtcaaatg-3' (SEQ ID NO:18); CRTISO-F: 5'-ttttggcggaatcaactacc-3' (SEQ ID NO:19) 和 CRTISO-R: 5'-gaaagcttcgctcccacag-3' (SEQ ID NO:20); LCYE-F: 5'-actggatttagtgtaatcggtgt-3' (SEQ ID NO:21) 和 LCYE-R: 5'-agttgtttgtgaaaggaagatcagg-3' (SEQ ID NO:22); CYCB-F: 5'-tgttattgaggaagagaaatgtgtgat-3' (SEQ ID NO:23) 和 CYCB-R: 5'-tcccaccaatagccataacattttt-3' (SEQ ID NO:24)。

[0120] 结果显示, MEP途径中, 远缘杂交事件 F₁ 番茄的 DXS 和 DXR 表达水平大幅度提升, 暗示远缘杂交事件促进了 F₁ 番茄中丙酮酸与 3-磷酸甘油醛缩合, 显著加速了 C5 的 2-C-甲基-

D-赤藓醇-4-磷酸(MEP)合成。特别是HDR和IDI1在F₂-332中mRNA累积水平显著高于二亲本e9292和LA1585、F₁代和其余的3个F₂代红果家系,促进了活性的DMAPP合成,大幅度提升了其番茄红素含量(251.30μg/g FW),约是野生亲本LA1585(174.39μg/g FW)的1.5倍。在类胡萝卜素合成途径,F₁番茄PSY1、CYCB和CYCB的mRNA累积水平显著高于亲本yft3和LA1585,黄果yft3番茄红素含量得以显著改良,F₁番茄红素含量(109.51μg/g FW)也表现出倾向LA1585遗传趋势。F₂-332果实CRTISO和CYCB表达水平显著高于二亲本e9292和LA1585、F₁和F₂代其它家系,F₂-332番茄红素含量在7个遗传型番茄中居首位(图3和图9)。

[0121] 实施例7:植物抗逆性分析

[0122] 用75%乙醇(1min)和20%次氯酸钠(10min)对6份番茄(yft3、LA1585、F₁、F₂-266、F₂-299和F₂-332)种子灭菌,无菌水冲洗(至少5次)去净痕量次氯酸钠。然后播种于上覆湿润3M无菌滤纸的MS₀固体培养基(4.44g/L MS,30%蔗糖和0.26%植物凝胶;pH=5.8)上催芽。选取种子发芽进度基本一致的种子分别播种不同甘露醇(0mmol/L、50mmol/L、100mmol/L、150mmol/L)和氯化钠(0mmol/L、50mmol/L、100mmol/L、150mmol/L)MS₀梯度培养基方形皿中(3个生物学重复)。在25℃(light/dark=16h/8h)条件下垂直培养,连续6天(每天时间点相同)用imageJ软件测量小苗根和下胚轴生长情况,并拍照记录。结果显示,F₂-266和F₂-299表现出对盐和甘露醇胁迫不敏感的抗/耐逆性的新种质(图4和图5)。

[0123] 以上对本发明的具体实施例进行了描述。需要理解的是,本发明并不局限于上述特定实施方式,本领域技术人员可以在权利要求的范围内做出各种变化或修改,这并不影响本发明的实质内容。在不冲突的情况下,本申请的实施例和实施例中的特征可以任意相互组合。

序列表

<110> 上海交通大学

<120> 远缘杂交技术创制番茄新种质的方法及其在番茄改良中应用

<130> KAG47576

<160> 24

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 901

<212> DNA

<213> 番茄 (*Solanum lycopersicum*)

<400> 1

```

attggctgca atgatggatt ccagtctttg aattcgggggt cgccgaatcc aaacgttctc 60
attggagcca tcgtgggtgg tctgatagat agagataact ttgaagatga caggaacaat 120
tatcagcaat cggagcctgc tacatacatt aatgctccac tagttggggc ctttgctttc 180
ttatccgcac caaattaaag tagtagtgga tggagtcaca taatttatta actaaagtaa 240
gtgtttagc agaagatgag gatcaagaaa tcagtatggt cccgtggtag ctcaacataa 300
ttgtaaaatg aaggttacac atttaggtcc ttctatgcat gtaagcaaga ggaattcctt 360
gggtggtttcc taggaatggt aagacccttg gtatgaattt ccagacttat tattcacata 420
ttccaaattg aatactcagc cagcaattac aatgaatttc ttgtagaatc ataaatcagt 480
aagtaactaa gaggcaacac tcgaaaaatg aaacatttat cttgggaaaa tgaatataat 540
ctgctctatt agaatcactt acgcatgctt taagttgcca actatcaaag ttgaatttgg 600
attattttct tgttcaattc aactcatagg acttgcttct gtacgacatg taactctatt 660
tttcttgagc acatgaacag aacttaaate ttatccttgt ttcaattagt ttaactgtta 720
aatcaacacc aaagttttca ataccactgg aagatgacca tgataaactc aatggataat 780
gattgatgat ttgagaatca cttgatagtt gttgtttaa c tategctttc atatttataa 840
gcactgatgg aagtctatta cacatagctt caaatgtaat gtagatggcc gtcctgctta 900
g 901

```

<210> 2

<211> 901

<212> DNA

<213> 醋栗番茄 (*Solanum pimpinellifolium*)

<400> 2

```

attggctgca atgatggatt ccagtctttg aattcgggggt cgccgaatcc aaacgttctc 60
attggagcca tcgtgggtgg tctgatagat agagataact ttgaagatga caggaacaat 120
tatcagcaat cggagcctgc tacatacatt aatgctccac tagttggggc ctttgctttc 180
ttatccgcac caaattaaag tagtagtgga tggagtcaca taatttatta actaaagtaa 240
gtgtttagc agaagatgag gatcaagaaa tcagtatggt cccgtggtag ctcaacataa 300
ttgtaaaatg aaggttacac atttaggtcc ttctatgcat gtaagcaaga ggaattcctt 360

```

cgtggtttcc taggaatggt aagacccttg gtatgaattt ccagacttat tattcacata 420
 ttccaaattg aatactcagc cagcaattac aatgaatttc ttgtagaatc ataatcagt 480
 aagtaactaa gaggcaacac tcgaaaaatg aaacatttat cttgggaaa tgaatataat 540
 ctgctctatt agaatcactt acgcatgctt taagttgcca actatcaaag ttgaatttgg 600
 attatthttct tgttcaattc aactcatagg acttgttctt gtacgacatg taactctatt 660
 tttcttgagc acatgaacag aacttaaate ttatccttgt ttcaattagt ttaactgtta 720
 aatcaacacc aaagttttca ataccactgg aagatgacca tgataaactc aatggataat 780
 gattgatgat ttgagaatca cttgatagtt gttgtttaaac tatcgctttc atatttataa 840
 gcaactgatgg aagtctatta cacatagctt caaatgtaat gtagatggcc gtctctgctta 900
 g 901

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<400> 3

attggctgca atgatggatt 20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<400> 4

ctaagcagga cggccatcta 20

<210> 5

<211> 356

<212> DNA

<213> 醋栗番茄 (*Solanum pimpinellifolium*)

<400> 5

attggctgca atgatggatt ccagtctttg aattcgggggt cgccgaatcc aaacgttctc 60
 attggagcca tcgtgggtgg tctgatagat agagataact ttgaagatga caggaacaat 120
 tatcagcaat cggagcctgc tacatacatt aatgctccac tagttggggc ctttgctttc 180
 ttatccgcac caaattaaag tagtagtgga tggagtcaca taatttatta actaaagtaa 240
 gtgtttagc agaagatgag gatcaagaaa tcagtatggt cccgtggtag ctcaacataa 300
 ttgtaaaatg aaggttacac atttaggtcc ttctatgcat gtaagcaaga ggaatt 356

<210> 6

<211> 545

<212> DNA

<213> 醋栗番茄 (*Solanum pimpinellifolium*)

<400> 6

ccttcgtggt ttcttaggaa tgtaagacc cttggtatga atttccagac ttattattca 60

catattccaa attgaatact cagccagcaa ttacaatgaa tttctttag aatcataaat 120
cagtaagtaa ctaagaggca aactcgaaa aatgaaacat ttatcttggg aaaatgaata 180
taatctgctc tattagaatc acttacgcat gctttaagtt gccaactatc aaagttgaat 240
ttggattatt ttcttggtca attcaactca taggacttgt tcctgtacga catgtaactc 300
tatttttctt gagcacatga acagaactta aatcttatcc ttgtttcaat tagtttaact 360
gttaaatacaa caccaaagtt ttcaatacca ctggaagatg accatgataa actcaatgga 420
taatgattga tgatttgaga atcacttgat agttgttgtt taactatcgc tttcatattt 480
ataagcactg atggaagtct attacacata gttcaaatg taatgtagat ggccgtcctg 540
cttag 545

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<400> 7

ttgctgaccg tatgagcaag 20

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<400> 8

ggacaatgga tggaccagac 20

<210> 9

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<400> 9

aagaggaaat gggatcgggtg ta 22

<210> 10

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<400> 10

agccactctc tccccctcaa 20

<210> 11

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<400> 11

cttaggcgca ttatattaac tgcat 25

<210> 12
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 12
gtggcagaat caacagtaat ctttt 25
<210> 13
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 13
egggatgcct aaggctaaac tcc 23
<210> 14
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 14
ctggtcagat tcttccg 17
<210> 15
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 15
ccaatataag gggagaagca gaag 24
<210> 16
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 16
ggaaacggca acggagagag 20
<210> 17
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 17
tggcccaaac gcatcatata 20
<210> 18
<211> 21
<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 18
caccatcgag catgtcaaat g 21
<210> 19
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 19
ttttggcgga atcaactacc 20
<210> 20
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 20
gaaagcttcg ctcccacag 19
<210> 21
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 21
actggattta gtggtaatcg gctgt 25
<210> 22
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 22
agttgtttgt gaaaggaaga tcagg 25
<210> 23
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 23
tgttattgag gaagagaaat gtgtgat 27
<210> 24
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<400> 24
tcccaccaat agccataaca tttt 24

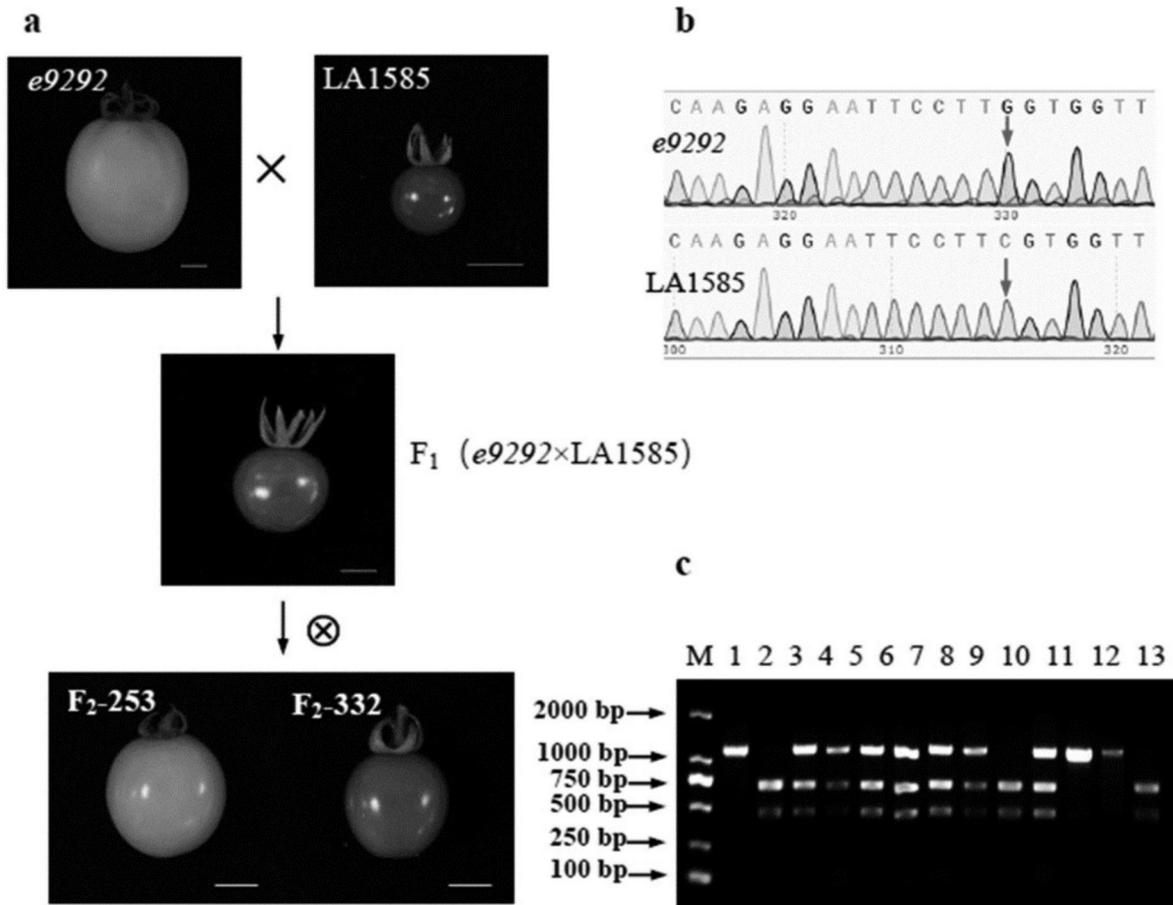


图1

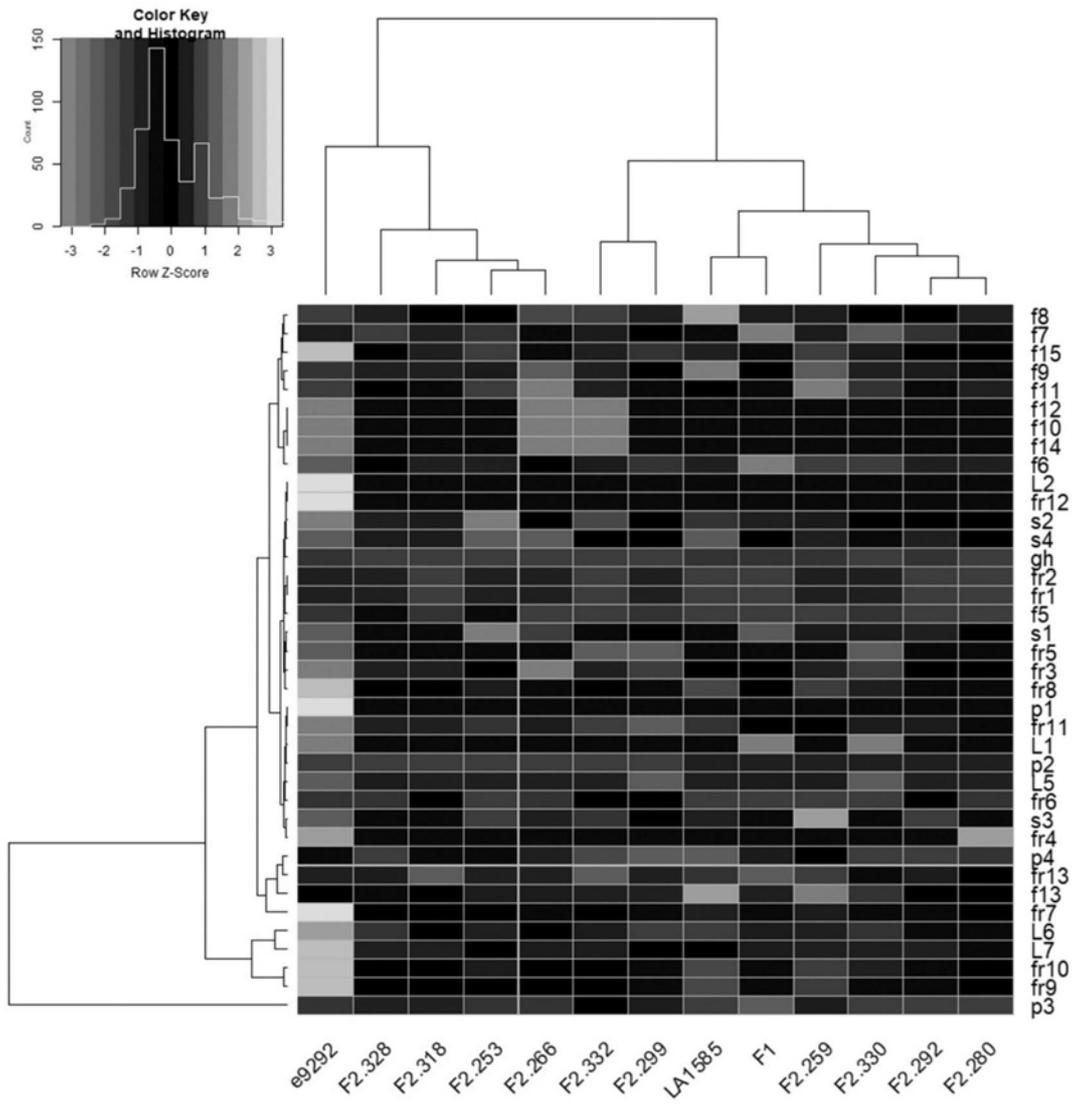


图2

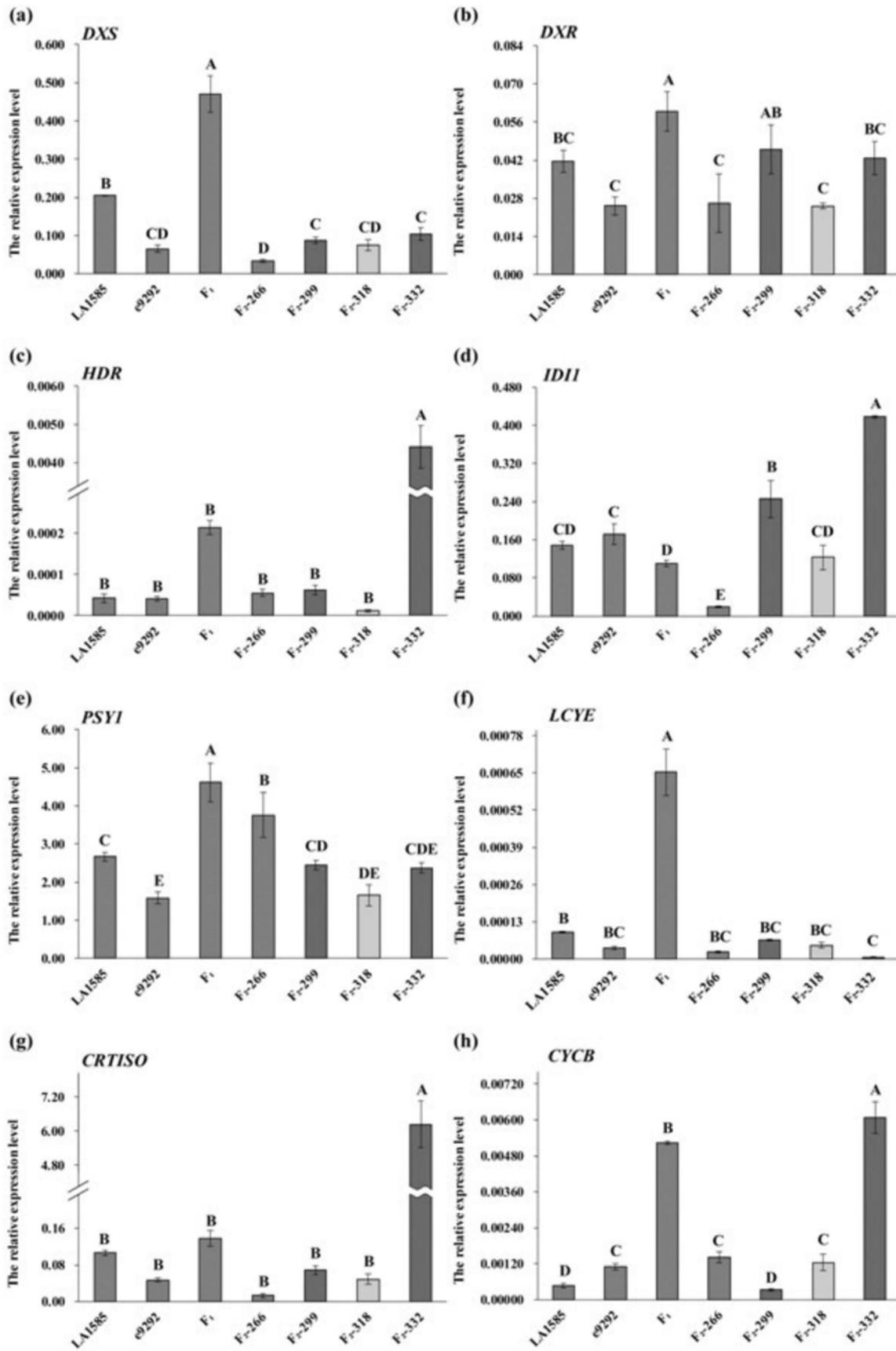


图3

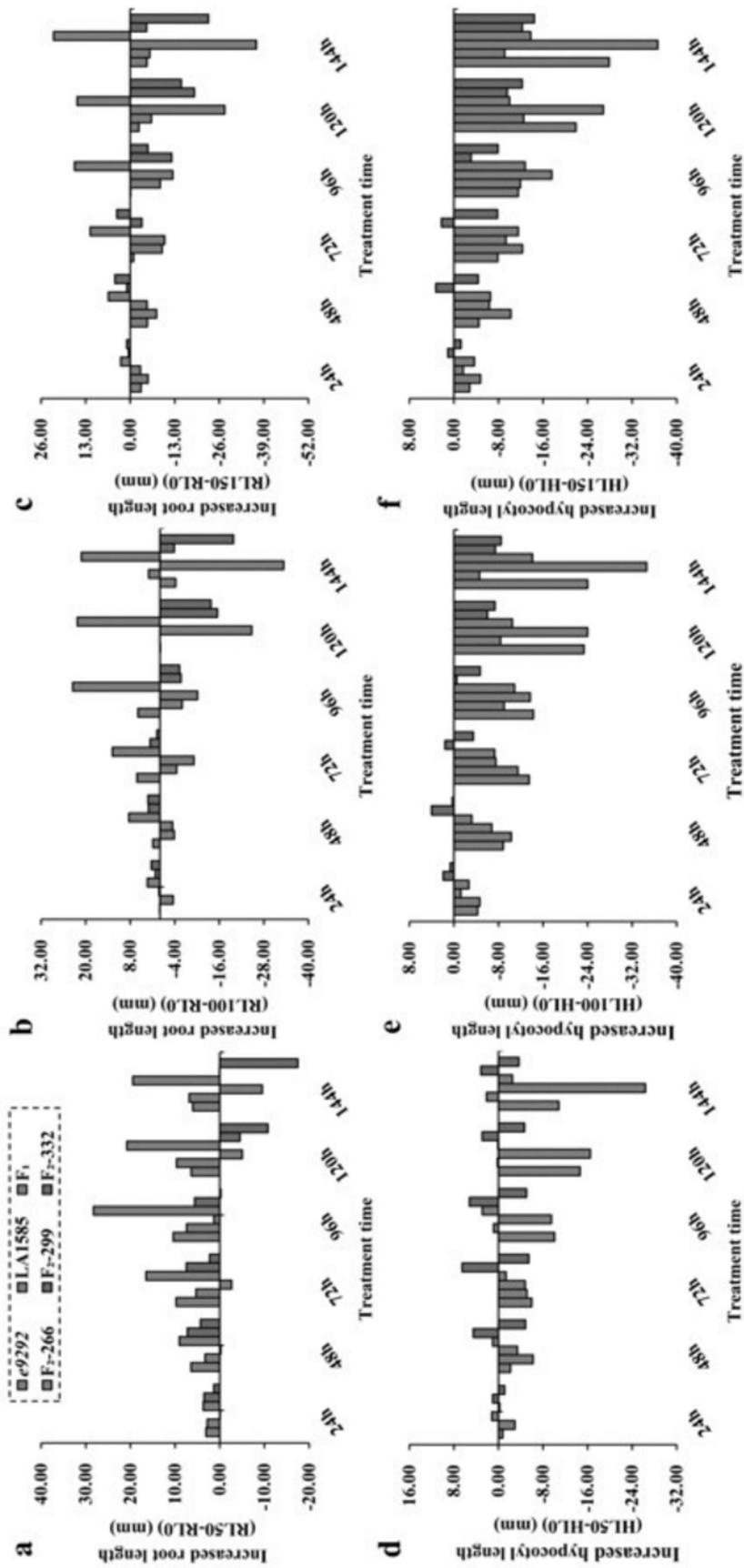


图4

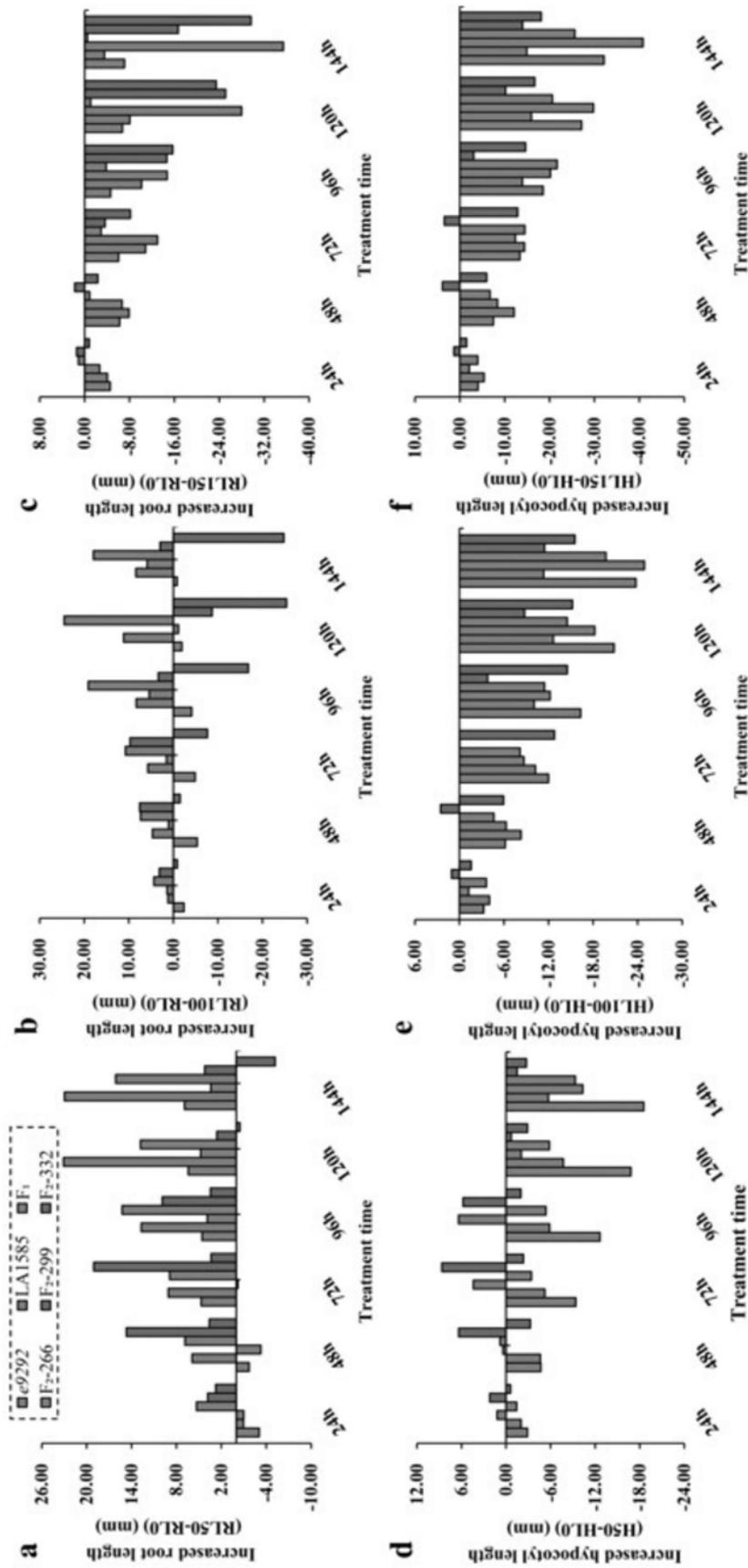


图5

序号	性状	母本	父本	杂交一代										
				F ₁	F ₁ -253	F ₁ -259	F ₁ -266	F ₁ -280	F ₁ -292	F ₁ -299	F ₁ -318	F ₁ -328	F ₁ -330	F ₁ -332
number	traits	e0292	LA1585	F ₁	F ₁ -253	F ₁ -259	F ₁ -266	F ₁ -280	F ₁ -292	F ₁ -299	F ₁ -318	F ₁ -328	F ₁ -330	F ₁ -332
001	株型	半蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性	蔓性
002	生长型	有限生长	无限生长	无限生长	有限生长	无限生长	有限生长	无限生长	无限生长	有限生长	有限生长	有限生长	无限生长	有限生长
003	叶片形状	二回羽状复叶	羽状复叶	二回羽状复叶	羽状复叶	二回羽状复叶	羽状复叶							
004	叶片着生状态	下垂	水平	水平	水平	水平	水平	水平	水平	水平	水平	水平	水平	水平
005	叶色	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿	绿
006	叶脉色	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明
007	叶裂刻	深	浅	中	浅	浅	浅	浅	浅	深	浅	中	深	浅
008	茎叶茸毛	短稀	短稀	短稀	长稀	短稀	长稀	长稀	短稀	长稀	长稀	长稀	长稀	长稀
009	花柱类型	短于雄蕊	长于雄蕊	长于雄蕊	长于雄蕊	长于雄蕊	长于雄蕊	长于雄蕊	长于雄蕊	短于雄蕊	短于雄蕊	短于雄蕊	短于雄蕊	长于雄蕊
010	簇生花	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无
011	花梗高层	有	有	有	有	有	有	有	有	有	有	有	有	有
012	花色	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄	黄
013	花序类型	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序	单式花序
014	果面茸毛	无	中	中	中	中	无	无	稀	稀	稀	无	中	稀
015	果顶形状	凸尖	圆平	圆平	圆平	微凸	凸尖	圆平	圆平	微凸	微凹	微凹	微凸	微凹

注：数据为五个生物学重复均值，*z后的数值为标准差。

图6

序号 number	性状 traits	母本 e0292	父本 LA1585	杂一代		杂二代(F ₂)											
				F ₁	F ₁	F ₂₋₂₅₃	F ₂₋₂₅₉	F ₂₋₂₆₆	F ₂₋₂₈₀	F ₂₋₂₉₂	F ₂₋₂₉₉	F ₂₋₃₁₈	F ₂₋₃₂₈	F ₂₋₃₃₀	F ₂₋₃₃₂		
016	果肉色	黄	红	红	红	黄	红	黄	红	黄	红	黄	红	黄	红	黄	红
017	果色	黄	红	红	红	黄	红	黄	红	黄	红	黄	红	黄	红	黄	红
018	果形	高圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	圆	高圆
019	果面棱沟	轻	无	无	无	无	无	无	轻	无	无	无	无	无	无	无	无
020	株高 (cm)	67.43±3.20	185.58±6.52	188.10±8.2	3	61.87±6.80	163.15±7.81	67.19±5.25	182.32±8.48	146.21±6.26	73.60±8.07	90.48±5.05	168.82±5.89	122.71±6.51			
021	茎粗 (mm)	10.60±0.53	13.45±0.19	12.01±0.46		10.87±0.43	11.63±0.48	10.21±0.35	9.22±0.41	12.81±0.25	13.21±0.34	12.55±0.35	12.52±0.44	8.91±0.38			
022	叶长 (mm)	62.74±2.94	46.82±2.78	45.20±2.05		33.34±3.65	32.47±2.22	41.48±2.60	34.24±2.75	36.90±3.57	48.38±2.89	28.88±2.17	27.32±2.76	46.67±2.92			
023	叶宽 (mm)	66.07±4.19	37.00±5.51	42.09±1.66		36.92±2.95	25.05±3.49	38.95±2.85	33.03±2.68	27.79±2.96	38.48±2.41	24.65±2.14	26.88±2.44	43.31±4.95			
024	首花序节位	7.20±0.84	4.20±0.45	7.80±0.45		4.00±0.71	6.80±0.84	5.20±0.84	4.00±1.00	3.60±0.89	3.40±0.55	5.20±0.84	6.80±1.10	6.20±1.10			
025	第二花序节位	9.00±0.71	7.60±0.55	10.80±0.45		6.20±0.84	8.80±1.30	7.60±0.55	7.60±1.14	6.40±0.55	8.00±1.00	9.20±1.30	9.80±1.30	9.00±1.22			
026	单花序花数	9.80±0.84	11.80±0.84	9.00±0.00		8.80±0.84	9.20±1.30	5.80±0.84	7.40±0.89	8.40±0.89	7.20±0.45	7.60±0.55	8.80±0.84	10.20±1.10			
027	花柱长 (mm)	5.76±0.44	12.32±0.51	8.47±0.47		9.62±0.09	11.21±0.44	10.91±0.51	8.07±0.31	9.02±0.61	8.56±0.35	7.03±0.21	7.23±1.40	6.76±0.99			
028	花药数	5.20±0.45	5.00±0.00	5.00±0.00		5.00±0.00	5.00±0.00	5.20±0.45	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.20±0.45			
029	花药长 (mm)	9.31±0.86	8.70±0.55	8.04±0.14		9.17±1.08	10.05±0.37	9.93±0.20	7.68±0.44	8.32±0.97	8.16±0.25	8.49±0.47	7.40±0.76	7.87±0.54			
030	花瓣数	5.20±0.45	5.00±0.00	5.00±0.00		5.00±0.00	5.00±0.00	5.20±0.45	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.20±0.45			
031	花瓣长 (mm)	14.76±1.05	18.75±0.79	12.97±0.53		15.85±0.86	18.11±1.34	15.84±1.93	14.45±0.84	14.54±1.28	13.25±0.49	13.92±1.07	12.12±1.67	13.22±1.07			

注: 数据为五个生物学重复均值, “±”后的数值为标准差。

图7

序号 number	性状 traits	母本	父本	杂交一代										杂交二代(F ₂)												
				F ₁	F ₁ -253	F ₁ -259	F ₁ -266	F ₁ -280	F ₁ -292	F ₁ -299	F ₁ -318	F ₁ -328	F ₁ -330	F ₁ -332	F ₂	F ₂ -253	F ₂ -259	F ₂ -266	F ₂ -280	F ₂ -292	F ₂ -299	F ₂ -318	F ₂ -328	F ₂ -330	F ₂ -332	
032	花萼数	5.20±0.45	5.00±0.00	5.00±0.00	5.20±0.45	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.20±0.45	
033	花萼长 (mm)	10.72±2.56	6.34±0.15	6.71±0.15	6.83±1.19	8.15±0.51	6.83±1.19	7.00±0.85	7.31±1.07	5.47±0.32	6.14±0.76	7.18±0.44	7.62±0.97	6.35±0.29												
034	单果重 (g)	42.25±6.42	1.23±0.07	6.53±0.70	10.64±1.58	14.39±2.17	7.92±1.97	8.31±0.27	7.10±0.88	5.39±0.07	9.74±1.18	8.33±1.00	4.90±0.96	8.43±0.97												
035	果肉厚 (mm)	6.41±0.87	1.21±0.08	3.25±0.08	3.72±0.22	4.55±0.22	3.01±0.38	2.80±0.30	2.86±0.24	2.90±0.14	3.15±0.05	3.57±0.24	2.54±0.50	3.43±0.52												
036	果实纵 径	45.98±2.75	12.24±0.57	22.5±1.19	24.69±0.60	30.35±1.57	24.62±2.77	23.93±0.54	23.20±1.21	22.29±1.03	24.90±0.69	24.20±1.01	20.98±1.86	25.13±1.18												
037	果实横 径	42.10±3.33	13.57±0.29	22.94±1.08	27.70±1.58	30.93±2.16	24.59±1.67	25.25±0.37	23.20±1.07	21.16±1.69	26.69±0.83	25.75±1.53	20.63±1.44	24.51±1.18												
038	果形指 数	1.10±0.10	0.91±0.03	0.98±0.03	0.89±0.04	0.88±0.03	1.00±0.06	0.95±0.02	1.00±0.04	1.06±0.05	0.83±0.02	0.94±0.08	1.02±0.03	1.03±0.01												
039	心室数	2.60±0.55	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00	2.00±0.00												
040	果柄长 (mm)	9.69±0.40	9.17±0.43	11.81±0.12	9.41±0.87	11.70±0.30	9.53±0.73	10.38±0.72	11.13±1.05	9.49±0.88	11.91±0.33	11.00±1.13	9.92±1.09	11.83±0.87												
041	种子长 (mm)	3.80±0.06	3.37±0.09	2.94±0.08	3.94±0.16	3.59±0.18	3.70±0.10	3.48±0.08	3.21±0.16	3.49±0.21	3.36±0.13	3.35±0.08	3.53±0.14	3.38±0.08												
042	种子宽 (mm)	2.86±0.03	2.09±0.04	2.17±0.08	2.91±0.08	2.59±0.12	2.44±0.11	2.41±0.03	2.46±0.06	2.48±0.08	2.55±0.04	2.25±0.09	2.48±0.12	1.97±0.14												
043	种子厚 (mm)	0.76±0.02	0.59±0.01	0.61±0.03	0.71±0.02	0.81±0.05	0.60±0.02	0.62±0.02	0.72±0.05	0.66±0.03	0.63±0.02	0.62±0.01	0.63±0.02	0.58±0.05												
044	种子干 粒重(g)	2.89±0.06	0.94±0.03	2.02±0.05	2.74±0.04	1.59±0.04	2.79±0.03	2.18±0.04	1.71±0.03	2.12±0.05	2.33±0.05	2.23±0.01	1.76±0.02	1.99±0.07												

注: 数据为五个生物学重复均值, “±”后的数值为标准差。

图8

遗传型	抗坏血酸 /mg/100g FW	总可溶性固形物/%	果顶硬度 /N	赤道面硬度 /N	番茄红素 /μg/g FW	α-胡萝卜素 /μg/g FW	β-胡萝卜素 /μg/g FW	叶黄素 /μg/g FW	总类胡萝卜素 /μg/g FW	果糖 /mg/g FW	葡萄糖 /mg/g FW	苹果酸 /mg/g FW	柠檬酸 /mg/g FW	奎宁酸 /mg/g FW	糖酸比
e92	14.21±0.23	4.44±0.2	1131±11	1071±10	27.84±0.27	12.59±1.4	5.29±0.61	6.21±0.61	51.93±2.96	18.10±0.9	12.12±0.2	0.26±0.01	2.80±0.2	0.05±0.01	970
92		4	5	4		7			3		4		6		
LA158	43.93±0.28	8.12±1.4	328±0.27	313±0.58	174.39±1.7	4.85±0.48	18.55±0.8	2.69±0.39	200.48±3.4	9.45±0.74	9.48±0.16	0.42±0.04	483±0.4	0.04±0.00	357
5		5			0		4		1				4		
F	33.05±0.26	6.86±0.1	1157±0.2	1102±0.2	109.51±2.7	6.76±0.72	8.84±0.45	2.00±0.28	127.11±4.2	8.98±0.37	10.43±0.7	0.31±0.02	501±0.2	0.04±0.00	382
		5	5	4	5				0	4	0		7		
F ₁ -2	40.32±0.33	6.04±0.3	1263±0.8	890±0.78	34.84±2.55	17.70±2.4	16.62±2.8	3.07±0.44	72.23±8.27	16.39±1.3	12.17±1.0	0.27±0.07	2.55±0.3	0.04±0.01	998
53		2	3			0	8		4		4		4		
F ₁ -250	33.11±0.37	4.52±0.0	8.59±0.76	554±0.61	160.54±1.1	20.98±3.5	7.03±1.72	0.47±0.02	189.02±6.5	19.73±0.5	9.96±0.44	0.28±0.02	2.58±0.1	0.02±0.00	1032
		8	8						0	3			1		
F ₁ -2	43.02±0.30	6.24±0.5	5.05±0.77	483±0.56	45.99±2.70	20.32±2.0	18.79±2.8	2.00±0.07	87.1±7.62	21.65±0.6	10.64±0.0	0.32±0.00	4.92±0.1	0.02±0.00	614
66		4				0	5		7		8		2		
F ₁ -2	53.28±0.39	6.64±0.4	4.92±0.54	484±0.71	203.55±6.2	1.37±0.08	27.00±5.8	3.53±0.39	235.45±12.	20.43±1.2	12.51±0.4	0.22±0.02	4.53±0.6	0.02±0.00	690
80		1			8		9		64	0			2		
F ₁ -2	33.45±0.14	6.64±0.3	5.39±0.66	414±0.74	170.63±4.9	5.37±0.60	15.21±0.8	2.57±0.22	193.78±6.6	26.48±0.8	16.76±1.4	0.27±0.03	4.13±0.0	0.05±0.01	971
92		7			3		6		1	4	5		4		
F ₁ -2	55.12±0.50	7.22±0.1	4.63±0.60	466±0.85	34.71±2.03	21.82±2.6	22.54±3.2	3.46±0.42	82.53±9.35	21.93±0.6	14.16±0.0	0.24±0.01	3.63±0.1	0.00±0.00	932
99		3				3	7			6	4		9		
F ₁ -318	32.46±0.	5.42	13.02	834±	114.01	16.79	4.21±	nd	135.01	17.78	12.77	0.34±0.	3.43	0.15±	
17		±0.13	±0.82	0.84	±3.90	±0.42	0.16		±4.48	±1.06	±0.27	0.2	±0.31	0.01	
F ₁ -32	37.62±0.	6.50	7.15±	747±	47.49±	20.76	5.51±	3.01±	76.77±	21.76	16.60	0.16±0.	2.83	0.06±	
8		±0.48	0.77	0.64	4.21	±3.81	1.65	0.57	10.24	±1.33	±1.19	0.1	±0.32	0.00	
F ₁ -33	35.40±0.	7.04	5.21±	391±	36.35±	17.99	24.76	6.08±	85.08±	10.14	10.17	0.13±0.	4.73	0.07±	
0		±1.05	0.28	0.82	0.85	±2.25	±2.79	0.10	5.99	±0.47	±0.42	0.2	±0.57	0.01	
F ₁ -33	44.85±0.	5.82	7.64±	609±	251.30	5.45±	10.19	0.69±	267.63	26.86	18.44	0.26±0.	3.77	0.08±	
2		±0.33	0.99	0.87	±6.23	0.25	±1.85	0.12	±8.45	±2.06	±0.76	0.3	±0.39	0.01	

注：蔗糖和琥珀酸因检出量太低或未检出在本表未列出；nd. 未检测出；FW.鲜重。

图9