

# 不同辣椒栽培种的杂交亲和性比较及胚胎拯救体系建立

施二荣<sup>1</sup>, 胡能兵<sup>1</sup>, 隋益虎<sup>1</sup>, 袁友志<sup>1</sup>, 来喜月<sup>1</sup>, 王 勃<sup>2</sup>

(1. 安徽科技学院农学院 安徽凤阳 233100; 2. 安徽金泰种业有限公司 合肥 230031)

**摘要:** 为克服辣椒种间杂交受精胚后期发育障碍, 提高杂种胚成活率, 缩短育种周期, 利用 3 个辣椒栽培种 (*Capsicum annuum* L., *Capsicum chinense* L., *Capsicum frutescens* L.) 进行正、反交试验, 比较人工授粉后坐果率和种子数; 在胚胎拯救技术的基础上, 统计胚萌发率、适宜的胚拯救时期、幼苗生根数、生根率、根长等指标。结果表明, 不同栽培种正、反交组合坐果率为 0~32.50%, *C. annuum* 做母本时单果种子数最多, 平均为 20.84 粒; 胚拯救期间不同杂交组合胚平均萌发率为 11.43%~25.00%, 最优胚拯救体系为萌发培养基 MF<sub>0</sub> (MS+30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖+6 g·L<sup>-1</sup>琼脂, pH=6.0), 胚拯救时间为授粉后 32~34 d, 生根培养基为 SG<sub>3</sub> (MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA+30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖+6 g·L<sup>-1</sup>琼脂, pH=6.0)。

**关键词:** 辣椒; 种间杂交; 杂交不亲和; 胚胎拯救

中图分类号: S641.3

文献标识码: A

文章编号: 1673-2871(2023)11-57-07

## Comparison of cross compatibility different between *Capsicum* species and establishment of embryo rescue system

SHI Errong<sup>1</sup>, HU Nengbing<sup>1</sup>, SUI Yihu<sup>1</sup>, YUAN Youzhi<sup>1</sup>, LAI Xiyue<sup>1</sup>, WANG Bo<sup>2</sup>

(1. College of Agriculture, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, Anhui, China; 2. Anhui Hefei Jintai Seed Industry Co., Ltd., Hefei 230031, Anhui, China)

**Abstract:** In order to overcome the late developmental obstacles, and increase the survival rate of interspecific hybrid embryos of *Capsicum* species, further shorten the breeding period, The author cultivated three *Capsicum* species (*C. annuum* L., *C. chinense* L., *C. frutescens* L.) to reciprocally interspecific hybridize to compare the fruit setting percentage and seed number after artificial pollination. Using embryo rescue technique we determined and analyzed the indexes of the embryo germination percentage, suitable embryo rescue days after pollination, seedling rooting number, rooting percentage and root length. The results showed that the fruit setting percentage ranged from 0 to 32.50% in reciprocal interspecific hybridizations, and the highest number of seeds per fruit was 20.84 when *C. annuum* as the female parent. The average embryo germination percentage ranged from 11.43% to 25.00% in different hybrid combinations during the embryo rescue period. The optimized system was that MF<sub>0</sub> (MS+30 g·L<sup>-1</sup> sucrose+6 g·L<sup>-1</sup> agar, pH=6.0) was selected as embryo germinating medium 32-34 d after pollination as suitable time and SG<sub>3</sub> (MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA+30 g·L<sup>-1</sup> sucrose+6 g·L<sup>-1</sup> agar, pH=6.0) as rooting medium.

**Key words:** *Capsicum*; Interspecific hybridization; Incompatible crossing; Embryo rescue

辣椒 (*Capsicum*) 为茄科辣椒属一年生草本植物<sup>[1]</sup>。目前, 全球共有 5 个辣椒栽培种 (*Capsicum annuum* L., *Capsicum chinense* L., *Capsicum frutescens* L., *Capsicum pubescens* L., *Capsicum baccatum* L.) 和 20 多个野生种<sup>[2]</sup>, 其中我国种植面积最大的是 *C. annuum*, 该栽培种具有产量高、适应性强等特点,

但抗性差异较大; *C. frutescens* 和 *C. chinense* 兼具辣度高、抗性强等特点, 但其栽培条件受区域限制较大且产量很低。有研究表明, 各辣椒栽培种种间杂交均存在不同程度的生殖障碍<sup>[3-4]</sup>。

种间杂交是拓宽辣椒栽培种遗传基础和创制种质资源的有效方式<sup>[5-6]</sup>。为了能有效创制新的辣

收稿日期: 2023-06-19; 修回日期: 2023-08-13

基金项目: 安徽省辣椒良种攻关项目资助; 滁州市科技计划重点研发项目(2020ZN001); 安徽科技学院产学研合作项目(880499); 安徽科技学院乡村振兴项目(811156)

作者简介: 施二荣, 女, 在读硕士研究生, 主要从事辣椒栽培与育种研究。E-mail: 1261041477@qq.com

通信作者: 胡能兵, 男, 教授, 主要从事辣椒生物技术研究。E-mail: hunengbing@126.com

隋益虎, 男, 教授, 主要从事园艺作物遗传育种。E-mail: suiyh@ahstu.edu.cn

椒种质资源,聚合更多的有益性状,前人结合胚胎拯救技术导入外源基因,拓宽主要栽培种的遗传背景。Sui等<sup>[7]</sup>通过 *C. annuum* 7033×*C. chinense* 7020 获得 F<sub>1</sub> 杂种,并自交获得大量分离后代;Yoon等<sup>[8]</sup>将炭疽病抗性从 *C. baccatum* 渗入到 *C. annuum*,在 *C. annuum* 回交后代中筛选出了大量高抗炭疽病的改良植株。

近年来高辣、高抗已成为辣椒育种的重要方向之一<sup>[9]</sup>。辣度较高、抗逆性较强的 *C. chinense*、*C. frutescens* 由于产量低而在我国栽培面积始终较小。为了把高辣度、强抗逆和高产量相结合,笔者

利用3个栽培种辣椒进行远缘杂交,通过对杂交坐果率、胚萌发率、拯救时期以及 F<sub>1</sub> 幼胚生根效果等指标的观测,旨在建立一套系统的胚胎拯救技术体系,提高远缘杂交的成功率。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料包含3个辣椒栽培种(图1),即8份 *C. annuum* L.、8份 *C. chinense* L. 和1份 *C. frutescens* L. 共17份试验材料(表1),均来自于安徽科技学院辣椒种质资源库,于2022年3月种植于安徽



注:从上到下依次为 *C. annuum*、*C. chinense*、*C. frutescens*。

图1 3个辣椒栽培种的典型图片

Fig. 1 Typical pictures of three *Capsicum* species

表1 用于远缘杂交的辣椒亲本信息

Table 1 *Capsicum* parental information for distant hybridization

材料编号	材料名称	种属类型	材料来源	材料编号	材料名称	种属类型	材料来源
Ca1	J1-1	<i>C. annuum</i>	中国安徽	Cc1	YNC19-1	<i>C. chinense</i>	中国云南
Ca2	J19-2	<i>C. annuum</i>	中国安徽	Cc2	YNC25	<i>C. chinense</i>	中国云南
Ca3	J19-5	<i>C. annuum</i>	中国安徽	Cc3	YNC28	<i>C. chinense</i>	中国云南
Ca4	J19-6	<i>C. annuum</i>	中国安徽	Cc4	YNC29	<i>C. chinense</i>	中国云南
Ca5	J163	<i>C. annuum</i>	中国安徽	Cc5	YNC34-1	<i>C. chinense</i>	中国云南
Ca6	J166	<i>C. annuum</i>	中国安徽	Cc6	YNC40	<i>C. chinense</i>	中国云南
Ca7	3566-1	<i>C. annuum</i>	中国安徽	Cc7	YNC42	<i>C. chinense</i>	中国云南
Ca8	YNA01	<i>C. annuum</i>	中国安徽	Cc8	FJC01-1	<i>C. chinense</i>	中国云南
Cf1	YNF14	<i>C. frutescens</i>	中国云南				

科技学院种植科技园3号温室,四周覆盖30目防虫网,栽培期间进行正常的生产管理。

## 1.2 方法

1.2.1 种间杂交 不同辣椒材料进入盛花期后选配了18对正反交组合(表2)。杂交授粉时选择适龄花蕾徒手去雄,授粉在晴天07:00至10:30、15:30至18:00进行,授粉后挂牌标记,第2天重复授粉1次,授粉后14d统计坐果率。

表2 3个栽培种辣椒种间杂交的正反交组合

Table 2 Reciprocal interspecific hybridization combinations of *Capsicum* species

杂交组合	母本 (♀)	父本 (♂)	杂交组合	母本 (♀)	父本 (♂)
Ca1×Cc3	J1-1	YNC28	Cc3×Ca1	YNC28	J1-1
Ca6×Cc2	J166	YNC25	Cc2×Ca6	YNC25	J166
Ca8×Cc6	YNA01	YNC40	Cc6×Ca8	YNC40	YNA01
Cc7×Cf1	YNC42	YNF14	Cf1×Cc7	YNF14	YNC42
Ca4×Cc5	J19-6	YNC34-1	Cc5×Ca4	YNC34-1	J19-6
Ca2×Cc1	J19-2	YNC19-1	Cc1×Ca2	YNC19-1	J19-2
Ca3×Cc8	J19-5	FJC01-1	Cc8×Ca3	FJC01-1	J19-5
Ca7×Cc4	3566-1	YNC29	Cc4×Ca7	YNC29	3566-1
Ca5×Cc2	J163	YNC25	Cc2×Ca5	YNC25	J163

1.2.2 消毒及拯救(萌发)培养基筛选 授粉后第34d,选取Ca4×Cc5未成熟的F<sub>1</sub>幼胚在无菌组培室的洁净操作台上进行消毒处理,流水冲洗表面灰尘后用75%的酒精进行果实表面消毒1min,剖开果实内腔胎座及幼胚消毒30s,再用0.1%的氯化汞浸泡3min,无菌水清洗3~5次。将剥离的幼胚分别接种到MF<sub>0</sub>(MS+30g·L<sup>-1</sup>蔗糖+6g·L<sup>-1</sup>琼脂,pH6.0)、MF<sub>1</sub>、MF<sub>2</sub>、MF<sub>3</sub>、MF<sub>4</sub>、MF<sub>5</sub>、MF<sub>6</sub>培养基上(表3),从而筛出最优萌发培养基。每个处理6次重复,每瓶接种5个幼胚,置于(25±1)°C条件下培养,光照度为2500lx,光周期为12h/12h(光照/黑暗),接种30d后统计胚萌发率。

1.2.3 不同胚拯救时期筛选 试验设置了5个处理时期,即在授粉后30、32、34、36、38d时剪下幼果,放入筛选出的最佳培养基中进行胚胎拯救。具体操作为:在对应时间分别从每个杂交组合植株上取2个青果,取出内部全部F<sub>1</sub>幼胚,消毒及培养条件同1.2.2,每个处理均接种3瓶,每瓶2~9个幼胚(视果实内幼胚多少而定)。培养30d后统计胚萌发率。

1.2.4 生根培养基筛选 试验共设10个处理组合,以不加激素的SG<sub>0</sub>(MS+30g·L<sup>-1</sup>蔗糖+6g·L<sup>-1</sup>琼脂,pH6.0)为对照,用萘乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IBA)、吲哚乙酸(IAA)3种生长类激素各3个浓度水平进行搭配(表3)。将拯救成功的高2~4cm的Ca4×

表3 胚胎萌发及幼苗生根培养基

Table 3 The medium of embryonic germination and seedling rooting

编号	培养基组分
MF <sub>0</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂
MF <sub>1</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.1mg·L <sup>-1</sup> IAA
MF <sub>2</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.2mg·L <sup>-1</sup> IAA
MF <sub>3</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.5mg·L <sup>-1</sup> IAA
MF <sub>4</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.1mg·L <sup>-1</sup> 6-BA
MF <sub>5</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.2mg·L <sup>-1</sup> 6-BA
MF <sub>6</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.5mg·L <sup>-1</sup> 6-BA
SG <sub>0</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂
SG <sub>1</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.1mg·L <sup>-1</sup> NAA
SG <sub>2</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.2mg·L <sup>-1</sup> NAA
SG <sub>3</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.5mg·L <sup>-1</sup> NAA
SG <sub>4</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.1mg·L <sup>-1</sup> IBA
SG <sub>5</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.2mg·L <sup>-1</sup> IBA
SG <sub>6</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.5mg·L <sup>-1</sup> IBA
SG <sub>7</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.1mg·L <sup>-1</sup> IAA
SG <sub>8</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.2mg·L <sup>-1</sup> IAA
SG <sub>9</sub>	MS+30g·L <sup>-1</sup> 蔗糖+6g·L <sup>-1</sup> 琼脂+0.5mg·L <sup>-1</sup> IAA

Cc5幼苗转接至SG培养基中,培养条件同1.2.2。每个处理设置4次重复,每次重复接种3株幼苗,接种30d后统计生根茎段数、生根率、每茎段生根数及平均根长。

## 1.3 指标测定

1.3.1 坐果指标测定 授粉后记录各组合授粉总花数,于第14天调查坐果情况,计算坐果率。

$$\text{坐果率}/\% = \text{坐果数}/\text{授粉花朵数} \times 100. \quad (1)$$

1.3.2 胚萌发指标测定 将幼胚接入培养基后,于第30天观察幼胚的萌发情况,统计萌发幼胚数,幼胚萌发以长出子叶为标准。

$$\text{胚萌发率}/\% = \text{发育胚数}/\text{接种胚数} \times 100; \quad (2)$$

胚平均萌发率/ $\%$  = 发育胚总数/接种总胚胎数 $\times$ 100。

$$\quad (3)$$

1.3.3 根系各指标测定 将茎段接入不同的SG培养基后,于第30天对各处理的生根数、生根率、平均每茎段生根数、平均根长进行统计分析。

$$\text{生根率}/\% = \text{生根茎段数}/\text{总茎段数} \times 100; \quad (4)$$

平均每茎段生根数/个 = 所有植株的根数总和/植株数;

$$\quad (5)$$

$$\text{平均根长}/\text{cm} = \text{所有根长总和}/\text{根的总数量}. \quad (6)$$

## 1.4 数据统计与分析

采用Microsoft Excel 2016进行数据处理和图表制作,采用DPS7.05进行完全随机单因素试验方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同种间杂交组合的坐果率与种子数统计

由表4可知,18个正反交组合,共授粉花数1451朵,平均坐果率总体较低,仅为7.58%,平均每果种子数为14.82粒。但不同栽培种做母本时,坐果数(坐果率)存在差异。*C. annuum*做母本时共授粉899朵花,坐果数为72个,平均坐果率为8.01%,共获得种子1336粒,平均每果种子数18.56粒;*C. chinense*为母本时共授粉520朵花,坐果数为28个,平均坐果率为5.38%,共获得种子223粒,平均每果种子数7.96粒;*C. frutescens*做母本时,共授粉32朵花,坐果数为10个,坐果率31.25%,获得种子数为71粒,平均每果种子数7.10粒。3个栽培种分别做母本时,*C. frutescens*的坐果率最高,但其产生的种子数最少;*C. annuum*做母本时坐果率次之,其产生种子数最多;*C. chinense*做母本时,坐果率最低,所产生的种子数介于*C. frutescens*和*C. annuum*之间。

同时,不同的杂交组合,正反交坐果率也不同。杂交组合Ca1×Cc3、Ca2×Cc1正交时均能产生杂交果实,坐果率分别为18.18%、14.29%,反交时无

表4 正反交授粉及坐果统计

Table 4 Pollination and fruit-setting of reciprocal interspecific

杂交组合	授粉花数/朵	坐果数/个	坐果率/%	种子总数/粒
Ca1×Cc3	66	12	18.18	196
Ca2×Cc1	63	9	14.29	141
Ca3×Cc8	192	6	3.13	91
Ca4×Cc5	216	25	11.57	521
Ca5×Cc2	92	9	9.78	173
Ca6×Cc2	115	11	9.57	214
Ca7×Cc4	114	0	0.00	0
Ca8×Cc6	41	0	0.00	0
Cc1×Ca2	31	0	0.00	0
Cc2×Ca5	36	1	2.78	0
Cc2×Ca6	60	1	1.67	6
Cc3×Ca1	40	0	0.00	0
Cc8×Ca3	151	4	2.65	35
Cc4×Ca7	52	6	11.54	43
Cc5×Ca4	60	3	5.00	10
Cc6×Ca8	40	13	32.50	129
Cc7×Cf1	50	0	0.00	0
Cf1×Cc7	32	10	31.25	71
总计	1451	110	7.58	1630

果实产生;Ca8×Cc6、Cc7×Cf1、Ca7×Cc4正交时均无果实,反交则有果实,坐果率分别为32.50%、31.25%、11.54%。Ca6×Cc2、Ca4×Cc5、Ca3×Cc8、Ca5×Cc2正反交时均有少数杂交果实产生,正交坐果率为3.13%~11.57%,反交坐果率为1.67%~5.00%。

### 2.2 胚胎拯救的萌发培养基筛选

将Ca4×Cc5授粉后34d的幼胚分别接种于7种培养基上,结果如表5所示,幼胚在MF<sub>0</sub>、MF<sub>1</sub>、MF<sub>2</sub>及MF<sub>4</sub>上萌发率相同,MF<sub>5</sub>次之,MF<sub>6</sub>的胚发育率较低,MF<sub>3</sub>胚萌发率为0,推测可能是激素浓度过高,抑制了胚的萌发。因此,从试验成本方面考虑,选择MF<sub>0</sub>作为最适合幼胚萌发的培养基,即不需要添加激素,胚胎拯救在MF<sub>0</sub>培养基上萌发情况见图2。

表5 培养基对辣椒幼胚胚胎拯救的影响

Table 5 Effect of culture medium on embryo rescue of *Capsicum*

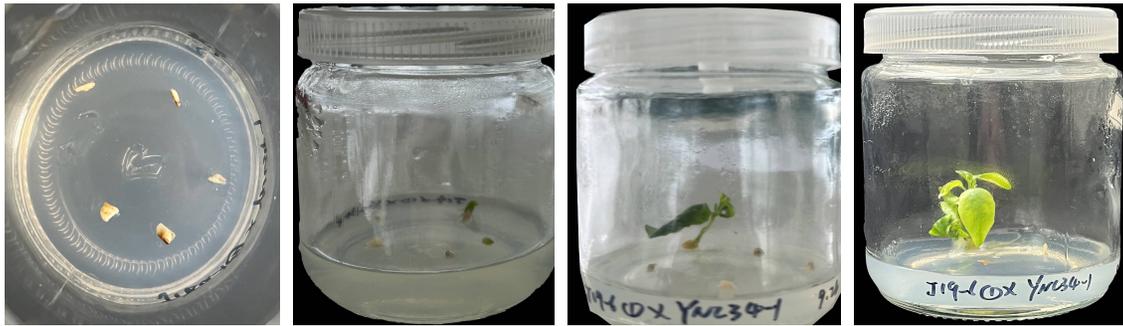
编号	胚胎数/个	萌发胚/个	胚萌发率/%
MF <sub>0</sub>	30	8	26.67
MF <sub>1</sub>	30	8	26.67
MF <sub>2</sub>	30	8	26.67
MF <sub>3</sub>	30	0	0.00
MF <sub>4</sub>	30	8	26.67
MF <sub>5</sub>	30	7	23.33

### 2.3 辣椒不同胚龄对胚胎拯救的影响

由于该部分试验对果实数量有要求,故选择了果实数量大于等于10(每个拯救时期需要2个青果)的5个杂交组合进行试验。由表6可知,除Ca6×Cc2组合外,其他4个组合胚的萌发率在胚胎拯救期间随时间的延长均呈先上升后下降的趋势,34d的幼胚萌发率最高,为45.45%,38d有3个杂交组合的幼胚萌发率为0,其原因可能为取材时间过晚,胚已死亡。在Ca1×Cc3、Ca6×Cc2、Cc6×Ca8、Ca4×Cc5杂交组合中,34d胚龄的胚萌发率均最高,分别为31.58%、34.62%、45.45%、36.00%,仅在Cf1×Cc7杂交组合中,34d胚龄的幼胚萌发率比32d胚龄低20.83%。可见,*C. annuum*或*C. chinense*做母本时,34d胚龄的幼胚最适合于拯救;而当*C. frutescens*做母本时,32d胚龄的幼胚最适合拯救。杂交组合Cf1×Cc7整个幼胚拯救期间的胚平均萌发率最低,为11.43%,不同栽培种做母本时,其胚的萌发率有所不同。

### 2.4 生根培养基筛选

由表7可知,以SG<sub>0</sub>为基本培养基,添加3个不



注:从左到右分别为接种后 1、15、25 和 35 d 胚胎生长情况。

图 2 不同发育时期的辣椒胚胎拯救

Fig. 2 Embryo germination and plantlet growth in different development stages

表 6 不同胚龄对辣椒胚胎拯救的影响

Table 6 Effects of different embryo ages on embryo rescue of *Capsicum*

杂交组合	取材时间/d	胚胎数/个	萌发胚/个	胚萌发率/%	胚平均萌发率/%
Ca1×Cc3	30	27	1	3.70	17.89
	32	16	4	25.00	
	34	19	6	31.58	
	36	17	4	23.53	
	38	16	2	12.50	
Ca6×Cc2	30	17	3	17.65	21.74
	32	19	2	10.53	
	34	26	9	34.62	
	36	19	6	31.58	
	38	11	0	0.00	
Cc6×Ca8	30	10	1	10.00	25.00
	32	13	4	30.77	
	34	11	5	45.45	
	36	9	3	33.33	
	38	9	0	0.00	
Cf1×Cc7	30	6	1	16.67	11.43
	32	6	2	33.33	
	34	8	1	12.50	
	36	9	0	0.00	
	38	6	0	0.00	
Ca4×Cc5	30	16	2	12.50	22.58
	32	22	4	18.18	
	34	25	9	36.00	
	36	14	3	21.43	
	38	16	3	18.75	

同种类 3 种不同浓度的生长类激素的培养基,其生根效果均存在差异。生根茎段数、生根率、平均每茎段生根数和平均根长均以 SG<sub>3</sub> 表现最优,平均每茎段生根数和平均根长显著高于其他处理。由图 3 可知,添加相同浓度不同种类的激素诱导的根形态也存在差异。添加 0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA 的 SG<sub>3</sub> 表现为根

多且粗壮,添加 0.5 mg·L<sup>-1</sup>IBA 的 SG<sub>0</sub> 根较细且生根率低,添加 0.5 mg·L<sup>-1</sup> IAA 的 SG<sub>0</sub> 表现为根少且长短不均,以 MS 为培养基时,SG<sub>0</sub> 表现为根少且细长。综上所述,添加 0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA 的 SG<sub>3</sub> 培养基为辣椒组培苗生根最理想的培养基。

表 7 不同浓度激素对辣椒组培苗生根影响

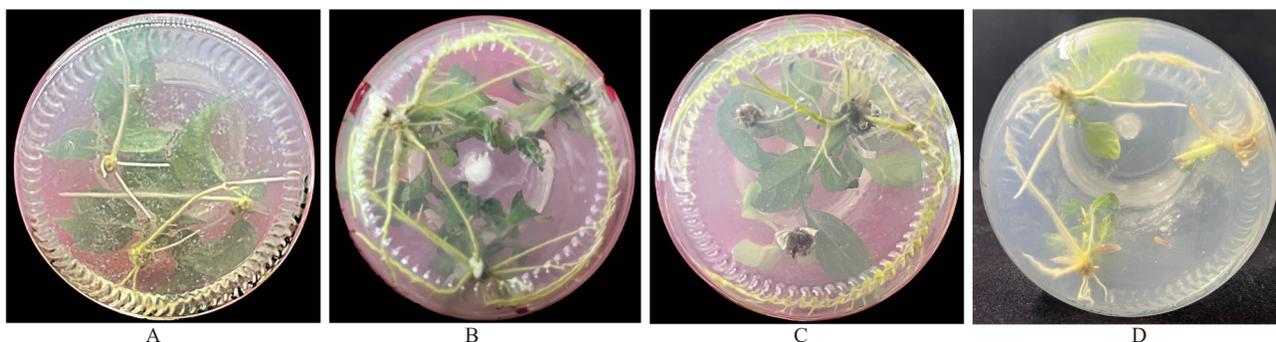
Table 7 Effects of different concentrations of hormones on rooting of *Capsicum* tissue culture seedlings

编号	接种总茎段数/个	生根茎段数/个	生根率/%	平均每茎段生根数/个	平均根长/cm
SG <sub>0</sub>	12	6	50.00	3.00±0.75 c	2.20±0.08 d
SG <sub>1</sub>	12	9	75.00	5.58±0.91 b	2.09±0.09 d
SG <sub>2</sub>	12	9	75.00	6.08±0.97 b	2.97±0.09 b
SG <sub>3</sub>	12	10	83.33	8.66±0.94 a	3.27±0.08 a
SG <sub>4</sub>	12	8	66.67	3.41±0.68 c	2.12±0.09 d
SG <sub>5</sub>	12	6	50.00	2.66±0.36 c	2.15±0.10 d
SG <sub>6</sub>	12	3	25.00	1.41±0.47 c	2.05±0.10 d
SG <sub>7</sub>	12	9	75.00	3.41±0.20 c	2.07±0.07 d
SG <sub>8</sub>	12	6	50.00	2.66±0.49 c	2.54±0.06 c
SG <sub>9</sub>	12	5	41.67	2.41±0.31 c	2.86±0.05 b

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

### 3 讨论与结论

胚败育是辣椒种间杂交的一个共同特征<sup>[10]</sup>。在多数远缘杂交中,通常会收获到瘪的或退化的种子,这一现象被认为是受精后发育障碍导致的<sup>[11]</sup>。Martins 等<sup>[4]</sup>从 *C. annuum* × *C. baccatum* 组合中得到了 9 粒种子,但有 7 粒没有发育成完整植株;Yoon 等<sup>[12]</sup>观察到 *C. annuum* × *C. baccatum* 杂交后胚败育发生在授粉后 15 d,另一个现象是种子在成熟前便开始干燥失去活力。笔者试验中的 18 对杂交组合,部分授粉后不能坐果,故无法对其进行胚胎拯救。另一部分授粉后可坐果,但因不同栽培种间亲缘关系较远,且存在杂交障碍,为防止果实内部幼



注:A. SG<sub>0</sub>;B. SG<sub>3</sub>;C. SG<sub>6</sub>;D. SG<sub>9</sub>。

图3 部分辣椒幼苗生根情况

Fig. 3 Rooting condition of some capsicum seedlings

胚在发育后期死亡而无法获得杂种植株,故选择在特定时间对其进行胚胎拯救。此外,笔者还观察到多数辣椒材料杂交后只有微小的种皮,部分种子中途褐化失去活力或没有种子,但果实仍能正常生长。Pickersgill<sup>[13]</sup>认为,受精后胚败育的合子障碍问题可以通过植物组织培养,特别是胚胎拯救技术来解决。

基因型不同,种间杂交、胚胎拯救技术难易程度不同。程志芳等<sup>[14]</sup>采用常规授粉技术对5个辣椒栽培品种进行了种间正反交,仅从一小部分的辣椒杂交组合中获得了杂种植株。笔者的研究中总体种间杂交平均坐果率低,但不同栽培种做母本时仍有相对较大的差异。*C. annuum*为母本时,坐果率为0~18.18%,平均每果种子数为0~20.84粒;*C. chinense*为母本时,坐果率为0~32.50%,平均每果种子数0~9.92粒;*C. frutescens*为母本时,坐果率为31.25%,平均每果种子数7.10粒。试验中正反交结实率差异较大,可见坐果率、果实内种子数与父母本的基因型有关。此外,笔者的试验在温度较高的温室内进行,推测高温可能会影响父本的花粉活力。

胚萌发是胚拯救的关键环节。培养基成分对幼胚萌发和存活有直接影响。据报道6-BA、NAA、GA<sub>3</sub>、ZT、IAA对不同作物的幼胚萌发具有促进作用<sup>[15-18]</sup>,在辣椒胚胎拯救中常用的激素有IAA、GA<sub>3</sub><sup>[13,19]</sup>。但笔者研究发现不添加任何激素的MF<sub>0</sub>与添加IAA、6-BA的处理无显著差异,推测该阶段导致幼胚败育的关键是营养亏缺,而不是激素水平的高低。

适宜的胚龄是胚胎拯救成功与否的最重要的影响因子之一。一般情况下,在杂种胚败育之前将胚取出进行离体培养可避免胚的早衰,而胚发育的

越完全,拯救的成功率越高<sup>[20]</sup>。笔者的试验以30~38 d胚龄的幼胚进行离体培养,其中*C. annuum*×*C. chinense*、*C. chinense*×*C. annuum*的杂交组合中34 d胚龄的胚萌发率最高,*C. frutescens*×*C. chinense*的杂交组合中32 d的胚萌发率最高,而38 d的胚萌发率普遍较低,主要表现为幼胚褐化,其主要原因推测为不同栽培种种间的杂交果实熟性有差异,导致酚类物质积累不同,故胚胎拯救效果不佳。因此,针对不同的辣椒栽培种,仍需要探究适合幼胚培养的最佳胚龄。

综上所述,试验中不同辣椒栽培种正反交组合坐果率整体较低但仍有差异。最佳胚萌发培养基选择低成本的MF<sub>0</sub>(MS+30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖+6 g·L<sup>-1</sup>琼脂,pH 6.0),胚平均萌发率可达到20%。胚拯救适宜的取材时期应在授粉后32~34 d,此时胚拯救成功率最高。生根培养基应选择SG<sub>3</sub>(MS+30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖+6 g·L<sup>-1</sup>琼脂+0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA,pH 6.0)。该体系适合本试验中3个栽培种种间杂交幼胚的培养,研究结果为加快辣椒新品种选育进程奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] 董汝晶, 谯顺彬. 辣椒产业的研究现状及发展趋势[J]. 中国调味品, 2009, 34(10): 32-36.
- [2] KRAFT K H, BROWN C H, NABHAN G P, et al. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(17): 6165-6170.
- [3] 隋益虎, 陈劲枫. 辣椒属种间远缘杂交育种研究进展[J]. 热带作物学报, 2009, 30(4): 557-563.
- [4] MARTINS K C, PEREIRA T N S, SOUZA S A M, et al. Crossability and evaluation of incompatibility barriers in crosses between *Capsicum* species[J]. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 2015, 15(3): 139-145.
- [5] 钟洋敏, 柴松琳, 程远, 等. 辣椒 *Capsicum annuum*×*Capsicum*

- chacoense* 种间杂种的创制及鉴定[J]. 中国瓜菜, 2021, 34(1): 24-28.
- [6] 张凯, 刁卫平, 郭广君, 等. 辣椒 *C. baccatum* × *C. frutescens* 种间杂种的获得与鉴定[J]. 江西农业学报, 2019, 31(8): 1-5.
- [7] SUI Y H, HU N B. Acquisition, identification and analysis of an interspecific *Capsicum* hybrid (*C. annuum* × *C. chinense*) [J]. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2015, 90(1): 31-38.
- [8] YOON J B, DO J W, KIM S H, et al. Inheritance of anthracnose (*Colletotrichum acutatum*) resistance in *Capsicum* using interspecific hybridization[J]. Korean Journal of Horticultural Science and Technology, 2009, 27(1): 140-144.
- [9] 王立浩, 张宝玺, 张正海, 等. “十三五”我国辣椒育种研究进展、产业现状及展望[J]. 中国蔬菜, 2021(2): 21-29.
- [10] PICKERSGILL B. 8-Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L.[M]//TSUCHIYAT, GUPTA P K. Developments in plant genetics and breeding. Elsevier, 1991, 2: 139-160.
- [11] JANSKY S H. Overcoming hybridization barriers in potato[J]. Plant Breeding, 2010, 125(1): 1-12.
- [12] YOON J B, YANG D C, DO J W, et al. Overcoming two post-fertilization genetic barriers in interspecific hybridization between *Capsicum annuum* and *C. baccatum* for introgression of anthracnose resistance[J]. Breeding science, 2006, 56(1): 31-38.
- [13] PICKERSGILL B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. [J]. Euphytica, 1997, 96: 129-133.
- [14] 程志芳, 钱春桃, 陈学军, 等. 辣椒属种间杂交及杂种鉴定研究[J]. 园艺学报, 2007, 34(4): 883-888.
- [15] 周大凤, 潘会堂, 张启翔. 胚龄、激素对岩生报春×翠南报春杂交胚萌发的影响[C]//中国园艺学会观赏园艺专业委员会. 北京: 中国林业出版社, 2013: 65-68.
- [16] 王芸, 刘玉平, 彭静, 等. 不同因素对离体培养条件下莲幼胚萌发的影响[J]. 现代园艺, 2021, 44(5): 9-10.
- [17] 赵鹤, 王孝宣, 杜永臣, 等. 秘鲁番茄与栽培番茄回交一代的获得及其染色体片段分析[J]. 中国蔬菜, 2013(14): 53-58.
- [18] 罗嘉翼. 番茄胚培养再生技术的建立及其在远缘杂交中应用研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [19] WALTER R, CARVALHO V S, GENEROSO A L, et al. Cultivation of immature *Capsicum* spp. embryos for incompatible-crossing embryo rescue[J]. Acta Scientiarum Agronomy, 2018, 40(1): e39474.
- [20] 邢大洲. 百合胚拯救育种技术及引进百合新品种筛选研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2009.