

## 2种紫珠属植物种间杂交初步研究

许林 陈法志 谢焰锋 戢小梅 童俊 陈卫东 杨守坤

武汉市林业果树科学研究所/湖北省园林植物工程技术中心, 武汉 430075

**摘要** 为改良紫珠属植物的园林性状,以白棠子(*Callicarpa dichotoma*)和紫珠(*C. bodinieri*)为亲本,对结实特性、杂种子代性状进行了研究。结果表明,白棠子和紫珠不存在孤雌生殖现象,自交不结实,天然杂交结实率分别为93.08%和98.08%。人工杂交座果率最高可达95.24%,但果实在发育过程中易受到外界环境的影响导致结实率降至26.21%~37.07%。部分子代的叶片形态介于父母本之间,初步证实了杂种的真实性。白棠子×紫珠组合的杂种子代在株高、冠幅及一级分枝数的变异系数分别达到118.96%、125.06%和130.62%,远高于反交组合子代。因此采用白棠子为母本、紫珠为父本更易获得具有特殊性状的子代,为良种的选育奠定基础。

**关键词** 白棠子;紫珠;杂交育种;子代性状

**中图分类号** S 722.3<sup>+</sup>4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2013)04-0023-05

马鞭草科紫珠属植物共有150余种,中国约有46种,其中大多数种类叶片和根中富含黄酮类、缩合鞣质、多糖类等次生代谢物质,具有止血、散瘀、消炎等功效,是我国传统的中药材。此外,本属植物秋冬季果实紫色似串串珍珠,是优良的秋冬季观果园林植物,极具观赏价值和开发前景。武汉市林业果树科学研究所从武汉市野生植物中开发出紫珠属植物白棠子(*Callicarpa dichotoma*)作为新型园林绿化树种,该种具有果实紫色具光泽、观果期长、适应性好的特点,通过了湖北省林木良种认定(湖北省林木良种审定委员会,2007)。但白棠子小枝细密柔软、杂乱无章,因此株型较为散乱影响美观,修剪耗费大。为了使之具有更加良好的园林性状,我们尝试在白棠子与株型较好、直立性强,但果实小的同属植物紫珠(*C. bodinieri*)之间开展杂交育种,期待通过种质创新改良不良的园林性状,培育观赏型新品种,从而促进本属植物的园林应用。

目前,国内外关于紫珠属植物的研究主要集中于分类学研究<sup>[1-3]</sup>和从药材应用角度开展的研究,包括药用成分分析<sup>[4-6]</sup>和繁育生产研究<sup>[7-9]</sup>等方面。而从观赏角度出发开展的研究较少。目前尚无紫珠属植物育种方面的报道。

收稿日期:2012-08-28

基金项目:国家星火计划项目(2010GA7610002)、武汉市晨光计划项目(201050231033)和武汉市科技攻关项目(200920322144)

许林,博士,高级工程师,研究方向:园林植物育种与林业生态。E-mail: xulin. xulin@yahoo. com. cn

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验于2009年在武汉市林业果树科学研究所野生植物资源圃进行。试验材料为生长健壮的紫珠属植物白棠子和紫珠3年生植株。

白棠子为2007年武汉市林业果树科学研究所从野生植物中选育的良种,株高1~2 m,分枝多,叶片长椭圆形至披针形,长约6~10 cm,花序长3~4 cm,果实紫色、观果期长、耐热抗旱性好,但其株型较为散乱,影响美观,修剪耗费大。

紫珠为2007年11月从湖南会同引种栽培。株高2.0~2.5 m、株型直立,叶片大、深绿,萌枝力强,花序果序大,可达8~10 cm,但果实比白棠子小。为了综合两者之间的优良特性,以白棠子和紫珠为亲本进行正反交育种。

### 1.2 结实特性

分别随机选取白棠子和紫珠各5株,对其天然杂交结实、自交结实以及孤雌生殖情况进行调查。

1)天然杂交结实率。每株分别选取5个花序,数清小花数量并吊牌标记,每周观察座果情况。待果实变为紫色后计数每花序结实数量,计

算天然杂交结实率,天然杂交结实率=每花序结实数量/每花序小花总数 $\times 100$ ,以了解天然杂交结实情况。

2) 自交结实。每株分别选取 5 个开放前 1~2 d 的花序,清数小花数量,并套袋记录。每周观察座果情况,待果实成熟时,摘除套袋,清数每花序果实数

量,以了解自交结实情况。

3) 孤雌生殖。每株分别选取 5 个开放前 1 d 的花序,每花序疏除多余小花,仅保留 25 朵小花进行去雄操作,去雄后不经授粉立即套袋记录。每周观察座果情况。待果实成熟时,摘除套袋,清数每花序果实数量,以了解孤雌生殖现象的有无。



A: 白棠子 *C. dichotoma*; B: 紫珠 *C. bodinieri*; C: 叶片与花序, 左为紫珠, 右为白棠子 Leaf and inflorescence, the left is *C. bodinieri*, the right is *C. dichotoma*.

图 1 亲本形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of parent plants

### 1.3 花粉收集、花朵去雄及杂交

于 2010 年 7 月盛花期开展白棠子和紫珠种间正反交试验(表 1)。按以下程序进行操作。

1) 花粉收集。选取开放前 1 d 的花序,硫酸纸套袋,以防花粉混杂。于次日授粉前打开纸袋,用毛笔抖落已散开的花粉于培养皿中收集。

2) 花朵去雄。杂交当天选取开放前 1 d 的小花,用解剖针小心拨开花瓣,去除花药,此时花瓣处于开张状态,柱头外露。为了保证杂交座果率,每个花序保留约 25 朵小花进行去雄,其余疏掉。

3) 杂交操作。将收集的新鲜花粉用毛笔直接涂于当天去雄的母本花朵上,每个花序涂 2 遍。操作时动作要轻,以免落蕾。处理后套袋,并吊牌,记录父本来源、授粉日期以及授粉花朵数量。此后,连续 2 d 均进行相同的授粉操作,直至柱头枯萎。授粉 2 周后子房膨大,去除纸袋,并统计座果数,以子房明显膨大成直径约 1 mm 的圆球状记为座果,计算座果率。以果实呈现深紫色记为果实成熟,统计结实数,计算结实率,并采收果实。

### 1.4 杂种子代的性状调查与初步分析

共获得杂种子代 129 株,其中白棠子 $\times$ 紫珠组合子代 84 株,紫珠 $\times$ 白棠子组合子代 45 株。于 2012 年 6 月对 2 年生播种成苗的杂种子代进行苗高、冠幅、一级分枝角度、一级分枝数、二级分枝数、开花等性状进行调查、分析,其中一级分枝角度指一级分枝与垂直于地面之间的夹角。

### 1.5 叶形性状比较

以叶形典型介于父母本性状之间的紫珠 $\times$ 白棠子 32 号子代植株为例,说明杂交的成功性。采集亲本和子代植株当年生小枝自上往下第四节叶片,进行叶片长度、叶片宽度测量,亲本和子代各测量 10 片叶片,取平均值作为该植株的叶片长度、宽度。并根据叶形指数确定叶形。其中,叶形指数 $> 3.0$ 为披针形、 $2.5 \sim 3.0$ 为长椭圆形、 $2.0 \sim 2.5$ 为椭圆形、 $< 2.0$ 为卵圆形。其中叶形指数=叶片长度/叶片宽度。

### 1.6 数据分析

方差分析(ANOVA)、多重比较(Duncan's)采用 SAS 8.1 统计软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 结实特性调查

从表 1 中可以看出,自然状态下,白棠子和紫珠的天然杂交结实率分别为 93.08% 和 98.08%;而对未开放花序进行套袋无果实形成,表明白棠子和紫珠自交均不结实;白棠子和紫珠去雄花朵套袋则没有果实形成,说明两者均不存在孤雌生殖的现象。

### 2.2 杂交授粉及座果情况

分别于 7 月上旬和下旬进行杂交授粉工作(表 2)。其中白棠子 $\times$ 紫珠组合共授粉 410 朵,果实发育初期座果 201 个,座果率为 49.02%;至果实成熟期,座果数量有所减少,为 152 个,座果率降为

37.07%。紫珠×白棠子组合共授粉 328 朵,果实发育初期座果 201 个,座果率为 61.28%;至果实成熟期,座果数量有所减少,仅为 86 个,座果率为 26.21%。单次杂交授粉座果率最高为 7 月 8 日紫

珠×白棠子杂交组合,座果率高达 95.24%;而 7 月 3 日和 7 月 23 日的杂交均未座果。分析原因,可能是操作过程中对花朵造成不同程度的伤害,从而导致座果率之间出现极明显的差异。

表 1 白棠子和紫珠的结实特性

Table 1 Fruiting characteristics of *C. dichotoma* and *C. bodinieri*

种类 Species	天然杂交结实率/% Fruit setting ratio in natural crossing	自交结实性 Fruit setting ratio of inbred	孤雌生殖现象 Parthenogenesis
白棠子 <i>C. dichotoma</i>	93.08±1.72	自交不结实 Self-sterility	不存在 Not existed
紫珠 <i>C. bodinieri</i>	98.08±0.63	自交不结实 Self-sterility	不存在 Not existed

表 2 白棠子和紫珠种间正反交试验结果

Table 2 The results of reciprocal cross between *C. dichotoma* and *C. bodinieri*

杂交组合 Combinations	授粉日期(月一日) Pollinator date (Month-day)	授粉花朵数 No. of pollinated flowers	果实发育期座果 Developing fruit setting		成熟期座果 Final fruit setting	
			座果数量 Number	座果率/% Ratio	座果数量 Number	座果率/% Ratio
	07-07	153	83	54.25	57	37.25
	07-22	90	50	55.56	43	47.78
	07-23	41	18	43.90	11	26.83
总计 Total		410	201	49.02	152	37.07
	07-03	41	0	0.00	—	—
紫珠×白棠子 <i>C. bodinieri</i> × <i>C. dichotoma</i>	07-08	168	160	95.24	73	44.24
	07-20	20	2	10.00	—	—
	07-21	66	39	59.09	13	19.70
	07-23	33	0	0.00	—	—
总计 Total		328	201	61.28	86	26.21

2.3 不同杂交组合的主要性状对比

以白棠子×紫珠记为正交组合,以紫珠×白棠子记为反交组合。通过对 2 年生杂种子代主要性状进行分析,发现获得的正交杂种子代除了冠幅大于反交杂种子代外,其他性状包括株高、一级分枝数、分枝角度、二级分枝数均低于反交杂种子代。而从各性状的变异系数来看,正交子代的株高、冠幅的变异系数分别达到 118.96%、125.06%,远远高于反交组合子代(表 3)。这说明正交组合子代中在这 2 个主要性状中变异幅度大,有利于获得尽可能多的

生长势良好的子代,具有良好的选择基础。

对于株型的几个性状包括一级分枝数、二级分枝数和分枝角度,其中正交子代中一级分枝数的变异系数达到 130.62%,具有较大的变异幅度,而分枝角度和二级分枝数,其变异系数分别仅为 18.26%和 22.98%,变异幅度较小。而反交子代中这 3 个性状的变异系数均不高于 40%。综上所述,利用正交组合培育杂交子代,有利于获得生长势强的优良单株;但从改善株型上来分析,利用杂交育种来改善株型具有一定的可行性。

表 3 杂种子代的主要性状调查(2 年生播种苗)

Table 3 Main characters from hybrid between *C. dichotoma* and *C. bodinieri* (Seedlings of 2 years old)

组合 Parents	株高 Height		冠幅 Crown		一级分枝数 Primary branches		二级分枝数 Shoots		分枝角度 Branch angle	
	平均值/cm Mean	CV/ %	平均值/cm Mean	CV/ %	平均值 Mean	CV/ %	平均值 Mean	CV/ %	平均值/(°) Mean	CV/ %
紫珠×白棠子 <i>C. bodinieri</i> × <i>C. dichotoma</i>	127.20	20.39	84.67	28.68	2.82	34.86	3.57	28.43	54.18	16.34

## 2.4 杂种子代的叶片形态

从图 2 中可以看出,亲本白棠子和紫珠的叶片形态差异较大。白棠子叶片较小,叶长、叶宽分别为 7.23、2.54 cm,根据叶形指数和实际形态判断,为长椭圆形至披针形,渐尖;紫珠叶片大,叶长、叶宽分别为 13.36、6.26 cm,是白棠子叶片的 1.5~2.0 倍,呈椭圆形。紫珠×白棠子 32 号子代的叶片形态

介于父母本之间,叶片大小介于父母本之间,叶片形状、叶基形状与母本紫珠的相似度较高,均为椭圆形,叶基均为楔形;同时叶柄长度和叶尖形态与父本白棠子具有一定的相似性(表 4,图 2)。子代叶片同时具有父母本特征,因此从形态上证实了杂交方法的可靠性。全部子代的叶片遗传特性有待于进一步研究。

表 4 子代与亲本的叶片形态特征

Table 4 Morphological characteristics of leaf between progeny and parent plants

叶片来源 Leaf origin	叶片长度/cm Leaf length	叶片宽度/cm Leaf width	叶形指数 Leaf index	叶片形状 Leaf morphology
白棠子 <i>C. dichotoma</i>	7.23 ± 0.42 b	2.54 ± 0.24 b	2.91 ± 0.12 a	长椭圆形,叶基狭楔形,渐尖
紫珠 <i>C. bodinieri</i>	13.36 ± 0.48 a	6.26 ± 0.26 a	2.14 ± 0.05 b	椭圆形,叶基楔形,突尖
子代 Progenies	8.80 ± 0.54 b	3.79 ± 0.16 b	2.31 ± 0.05 b	椭圆形,叶基楔形,渐尖



从左向右依次为白棠子、紫珠×白棠子 32 号子代、紫珠的当年生小枝从上往下数第 4 节叶片 Left is *C. dichotoma*, middle is progeny, right is *C. bodinieri*.

图 2 子代和父母本的叶片形态差异比较

Fig.2 Differences of leaf morphological between progenies and parent plants

## 3 讨论

本研究建立了白棠子和紫珠的种间杂交技术,单次杂交座果率最高可达 95.24%,但至果实成熟期,实际座果率白棠子×紫珠组合为 37.07%,紫珠×白棠子组合为 26.21%。说明理论上 2 种亲本之间不存在杂交不亲和、花粉不萌发等问题。但由于花朵细小,加大了去雄、授粉等工作难度,人工操作的熟练性对杂交座果率具有一定的影响。此外,从座果到果实成熟持续半年之久,人工操作或多或少地对花序有所损伤,因此在果实发育过程中更易受到自然环境的伤害,从而导致座果率的下降。

本研究对杂交子代的性状进行了初步调查和分析,结果表明,部分子代的叶片形态明显介于父母本之间,证实了杂交的可靠性。此外,白棠子×紫珠组合的杂种子代在生长量性状一株高和冠幅上获得了丰富的变异,其株高、冠幅的变异系数分别达到

118.96%、125.06%,具有筛选高生长量子代的潜力。从药材生产角度考虑,对药材产量的提高具有现实意义。

株型是指植株的形态特征及其在空间和时间上的分布方式。其中分枝的发育是最重要的株型性状之一。分枝性状主要包括其数目及与主茎的夹角等,目前主要围绕水稻、玉米、油菜等农作物开展<sup>[10-12]</sup>,目的是通过株型改良实现高产目的。分枝的发生受多基因控制,其调控方式较为复杂。因此,通过杂交育种途径选育株型好的子代可能会产生多种非预期的性状。本研究中,正反交杂种子代中,仅正交子代一级分枝数的变异系数达到了 130.62%,具有较大的变异范围外,其余性状如分枝角度、二级分枝数的变异幅度均不大,不高于 40%。由于杂种子代生长年限尚短,很多性状尚未有稳定表现,因此,给予代的筛选和性状的观测分析带来了一定的困扰。今后将对获得的子代开展进一步的性状观测,为筛选目的单株提供基础。

此外,在杂种子代的鉴定上,可利用分子标记技术进行。近年来,一些控制农作物株型性状的基因被克隆<sup>[13-14]</sup>,为通过分子手段设计和改造作物株型提供了可能。因此,亦可尝试通过分子育种方法对白棠子进行株型改良,实现精准育种。

## 参 考 文 献

- [1] 张宏达. 中国紫珠属植物之研究 [J]. 植物分类学报, 1951, 1(3): 269-312.
- [2] HYUN K. Morphological variation of the *Callicarpa japonica* complex in eastern Asia [J]. Journal of Plant Biology, 1998, 41(4): 283-292.

- [3] PENG X M, JIANG N, YU W B. Validation of the name *Callicarpa bodinieri* var. *iteophylla* (Lamiaceae) [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2011, 49(5): 508.
- [4] 潘萍, 孙启时. 大叶紫珠的化学成分[J]. *沈阳药科大学学报*, 2006, 23(9): 565-567.
- [5] 林朝展, 祝晨蓁, 张翠仙, 等. 杜虹花叶挥发油化学成分及抗氧化活性研究[J]. *热带亚热带植物学报*, 2009, 17(4): 401-405.
- [6] DAN Y, QIAN Z Z, LIU Y Z, et al. New collection of crude drugs in Chinese Pharmacopoeia 2010 I. *Callicarpa* Linn. and related items[J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2010, 2(4): 272-288.
- [7] 姚宏, 刘南祥, 吴华芬, 等. 大叶紫珠的组织培养与快速繁殖[J]. *植物生理学通讯*, 2008, 44(1): 135.
- [8] 吴华芬, 刘南祥, 姚宏, 等. 杜虹花的组织培养与快速繁殖[J]. *植物生理学通讯*, 2008, 44(4): 738.
- [9] 林小凡, 朱培林, 罗坤水, 等. 广东紫珠栽培技术对药材产量的影响[J]. *江西农业大学学报*, 2011, 33(1): 90-95.
- [10] 李雪梅, 何宗顺, 余四斌, 等. 水稻穗形态建成基因 *PMM1* 的遗传分析与初步定位[J]. *华中农业大学学报*, 2012, 31(1): 10-15.
- [11] 宋小霞, 王汉宁, 方永丰, 等. 12个玉米自交系 ASI 及株型性状配合力分析[J]. *甘肃农业大学学报*, 2012, 47(2): 45-50, 47.
- [12] 吴红美, 徐跃进, 万正杰. 甘蓝型油菜与甘蓝种间杂种的鉴定及特性研究[J]. *华中农业大学学报*, 2011, 30(3): 290-294.
- [13] 张伟强, 吴连成, 库丽霞, 等. 玉米株型相关基因 *ZmDwarf2* 的克隆及表达分析[J]. *玉米科学*, 2011, 19(5): 25-31.
- [14] 肖景华, 吴昌银, 韩斌, 等. 中国水稻功能基因组研究进展[J]. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2009, 39(10): 909-924.

## Cross-breeding between two species of *Callicarpa*

XU Lin CHEN Fa-zhi XIE Yan-feng JI Xiao-mei  
TONG Jun CHEN Wei-dong YANG Shou-kun

*Scientific and Research Institute of Forestry and Fruit Trees Sciences of Wuhan City/  
Landscape Plants Engineering Technology Research Center of Hubei Province, Wuhan 430075, China*

**Abstract** To improve landscape characteristics in genus *Callicarpa* plants, the pollination, fruit development and progeny characteristics were investigated using *C. dichotoma* and *C. bodinieri* as parents. Results showed that no parthenogenesis existed and no fruits obtained from the inbreeding of two tested species. The fruit setting ratio of *C. dichotoma* and *C. bodinieri* in natural crossing was up to 93.08% and 98.08%, respectively. In artificial crossing, the fruit setting ratio of 95.24% could be obtained but it decreased to 26.21%-37.07% during fruit development for external injury. The availability of successful crossing was confirmed from the leaves morphology of offspring varying between the parents. The coefficient variation in plant height, crown, and quantity of primary branches of offspring plants of *C. dichotoma* × *C. bodinieri* was up to 118.96%, 125.06% and 130.62%, respectively, much higher than that of the counter-junctions combination. Excellent offsprings could be obtained easily using *C. dichotoma* as female parent and *C. bodinieri* as male parent.

**Key words** *Callicarpa dichotoma*; *C. bodinieri*; cross-breeding; progeny characters

(责任编辑: 张志钰)