

三种近缘豆科牧草植物花粉形态特征观察与比较

朱琳^{1,2}, 李悦煊³, 李鸿雁¹, 郭茂伟¹, 刘万鹏¹, 刘倩¹, 李志勇¹, 米福贵²

(¹中国农业科学院草原研究所, 呼和浩特 010010; ²内蒙古农业大学草原与资源环境学院, 呼和浩特 010010; ³甘肃农业大学草业学院, 兰州 730070)

摘要: 为研究野生黄花型扁蓿豆分类归属问题, 提供扁蓿豆物种鉴定和分属依据。对野生黄花型扁蓿豆(*Medicago ruthenica* L.)、扁蓿豆和黄花苜蓿(*Medicago falcata* L.)的花粉形态特征进行了观察和测量, 比较三者之间的差异。结果表明, 两种扁蓿豆和黄花苜蓿的花粉均属 $N_3P_4C_5$ 型单粒花粉, 两种扁蓿豆花粉大小相近, 均小于黄花苜蓿。但三者花粉外壁纹饰存在较大差异。黄花型扁蓿豆和扁蓿豆花粉表面具蜡质, 黄花苜蓿花粉表面蜡质极少; 黄花型扁蓿豆花粉外壁纹饰以穴状纹饰为主、伴有少量脑状纹饰, 扁蓿豆花粉外壁纹饰整体为穴状纹饰, 黄花苜蓿花粉外壁纹饰则整体为脑状纹饰。研究结果显示: 黄花型扁蓿豆花粉外壁纹饰与扁蓿豆相近, 与黄花苜蓿差异较明显, 可作为扁蓿豆物种及不同种质的区分依据。

关键词: 扁蓿豆; 黄花型扁蓿豆; 变种; 显微形态; 花粉

Observation and Comparison of the Pollen Morphology in Three Relative Leguminosae Forage Species

ZHU Lin^{1,2}, LI Yuexuan³, LI Hongyan¹, GUO Maowei¹, LIU Wanpeng¹, LIU Qian¹, LI Zhiyong¹, MI Fugui²

(¹Institute of Grassland Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hohhot 010010;

²College of Grassland and Resources Environment, Inner Mongolia Agriculture University, Hohhot 010010;

³College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070)

Abstract: In order to distinguish different species of wild yellow type *Medicago ruthenica*, the pollen morphology of wild yellow type *M. ruthenica*, *M. ruthenica* and *M. falcata* were characterized and compared via microscopic observations. It showed that the pollens in wild yellow type *M. ruthenica*, *M. ruthenica* and *M. falcata* were all $N_3P_4C_5$ type single granules. The pollen size of the two species of *M. ruthenica* were similar, which were smaller than *M. falcata*. There are significant differences on the pollen exine pattern among these three forage species. There are waxes covered on the pollen surface of yellow-flowered *M. ruthenica* and *M. ruthenica*, while it lacks of wax on the pollen surface of *M. falcata*. The pollen exine of yellow type *M. ruthenica* is mainly foveolate with slightly cerebriform-like pattern. The pollen exine of *M. ruthenica* is generally foveolate patterned, while that of *M. falcata* is generally cerebriform-like patterned. These results showed that the pollen exine pattern of yellow type *M. ruthenica* was most similar to *M. ruthenica*, but significantly different with *M. falcata*. Thus, the pollen exine pattern could be used as a morphological index for taxonomy of the germplasm.

收稿日期: 2023-04-06 修回日期: 2023-05-06 网络出版日期: 2023-06-19

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230406002>

第一作者研究方向为牧草育种研究, E-mail: Zhuh11413@126.com

通信作者: 李志勇, 主要从事草资源与育种研究, E-mail: zhiyongli1216@126.com

基金项目: 农作物种质资源保护与利用项目(2023NWB037); 内蒙古自治区科技重大专项(2021ZD0031); 内蒙古自治区种业科技创新重大示范工程(2022JBGS0040)

Foundation projects: Crop Germplasm Resources Protection and Utilization Project (2023NWB037); Key Projects in Science and Technology of Inner Mongolia (2021ZD0031); Inner Mongolia Seed Industry Science and Technology Innovation Major Demonstration Project (2022JBGS0040)

belonging to different species of *M. ruthenica*.

Key words: *Medicago ruthenica*; wild yellow type *M. ruthenica*; variant; microscopic morphology; pollen

扁蓿豆(*Medicago ruthenica* (L.) Sojak), 是豆科(Leguminous) 苜蓿属(*Medicago*) 异花授粉多年生牧草^[1], 为欧亚大陆草原重要伴生种, 在我国主要分布于内蒙古、甘肃、东北等地, 少量分布于四川、山东等省区^[2]。其生态幅广、适应性好、抗逆性强, 被誉为低温、旱生作物中的先锋草种和北方优良乡土豆科牧草, 在草原生态修复治理中得到广泛应用^[2-3]。扁蓿豆茎叶柔软, 营养价值较高, 是豆科中少有不含皂素的饲草^[4]。由于扁蓿豆的生态、饲用及改良育种价值较高, 近年来引起我国学者们的广泛关注且十分重视扁蓿豆野生资源的收集。

扁蓿豆野生种质表型变异较大, 因地理环境及生态条件不同, 其叶片、花、果实等器官的形态特征在种内和种间均存在丰富变异^[5-8], 往往会致不同类群植株叶形、花色、荚果形态大小相异; 同时也会造成近缘种间部分性状高度相似。因而扁蓿豆这一物种曾被学者们先后归属于胡卢巴属(*Trigonella*)、苜蓿属(*Medicago*), 甚至单独归为扁蓿豆属(*Melilotoides*), 直至2010年重新归属于苜蓿属^[9]。而野生黄花型扁蓿豆, 其花冠形状、颜色等性状与近缘种黄花苜蓿(*Medicago falcate* L.) 近似, 据此一些学者将其归属于黄花苜蓿, 也有学者则认为其与徐长林^[10]在甘肃祁连山发现的天祝扁蓿豆(*Melilotoides ruthenica* Var. *tianzhuensis* C. L. Xu) 非常之相似, 黄花型扁蓿豆的分类归属问题迄今为止仍有较大争议。

植物的归属分类是植物生态学、地理学、种质资源收集保护及新种质创制等科学研究的基础。仅仅基于传统的形态学进行分类, 常常会产生严重的争议与分歧, 故迫切需要其他方法对扁蓿豆物种的分类依据进行补充。以花粉形态为分类依据的优点在于植物花粉形状独特、外壁结构复杂、纹饰细腻, 具有极强的保守性、稳定性和特征性^[11], 这对于鉴定区分植物的种和品种, 探讨植物的起源、演化和分类具有重要意义。目前, 关于扁蓿豆花粉形态的分析已有报道^[12], 但至今未见有关野生黄花型扁蓿豆花粉形态分析的报道。因此, 为了更好地开发利用扁蓿豆野生种质资源, 本试验对野生黄花型扁蓿豆、扁蓿豆和黄花苜蓿的花粉结构及外观形态进行观察和比较。以期对扁蓿豆的分类、鉴定及归类提供新的参考信息, 同时为探索古生物环境学,

夯实孢粉学研究基础, 为我国孢粉学数据库的构建与数据丰富提供数据来源。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为野生黄花型扁蓿豆、扁蓿豆和黄花苜蓿, 均采自中国农业科学院草原研究所国家牧草种质资源圃。

1.2 试验方法

试验地位于内蒙古呼和浩特市沙尔沁镇, 中国农业科学院草原研究所国家牧草种质资源圃(39°58′~40°41′N, 111°26′~112°18′E)。该地属中温带半干旱大陆性季风气候, 降水量390 mm左右, 年平均温度6.2℃, 无霜期130 d左右。土壤为淡栗钙土, pH值约为8.00^[13-15]。2022年8月上旬在植株生长进入盛花期时于田间采集花粉。随机选取各供试材料旗瓣微开、翼瓣和龙骨瓣未开的小花30朵, 置于电镜固定液(Servicebio, G1102)固定并带回实验室保存。室温自然干燥处理, 随后将样本紧贴于导电碳膜双面胶上, 放入离子溅射仪(日立HITACHI, 型号MC1000, 日本)进行喷金镀膜(30 s)。利用SU8100型扫描电子显微镜(HITACHI)下, 分别于50 μm、10 μm、5 μm下观察花粉的形状、大小、赤道面与极观面以及花粉外壁纹饰, 并对典型视野进行拍照。

1.3 数据分析

使用Image-pro plus 6.0显微图像分析系统软件, 测量花粉粒的极轴(P)和赤道轴(E)的长度、及萌发孔长和宽, 数据经Excel 2010软件统计并计算极赤比(P/E值)、极轴×赤道轴(P×E值)后, 采用SPSS2.0对所得试验数据进行统计分析。依据孢粉学概论等对花粉形态进行描述、对花粉大小和形状进行等级划分^[16], 具体分级标准见表1、表2。

表1 花粉大小分级表

Table1 Pollen size degree

| 等级 | 大小 | 花粉直径或长轴长度(μm) |
|--------|------|-------------------------------------|
| Degree | Size | Pollen diameter or long axis length |
| 1 | 极小孢子 | <10 |
| 2 | 小形孢子 | 10~25 |
| 3 | 中形孢子 | 25~50 |
| 4 | 大形孢子 | 50~100 |
| 5 | 极大孢子 | 100~200 |
| 6 | 巨型孢子 | >200 |

表 2 花粉形状分级表

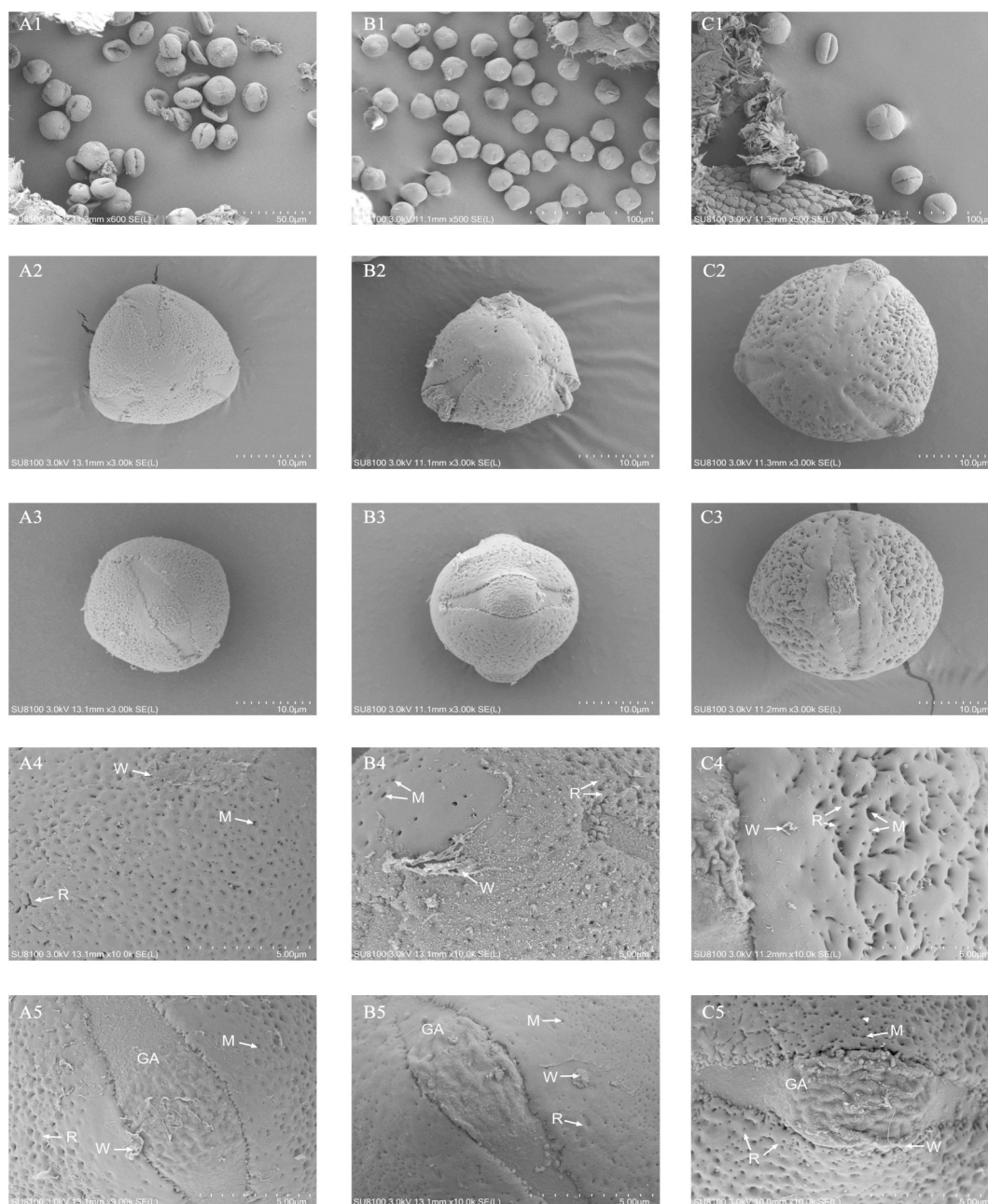
Table 2 Pollen shape degree

| 花粉形状 Pollen shape | 极轴与赤道轴比值(P/E) Ratio of polar axis with equatorial axis |
|---------------------------------|--|
| 超长球形 Ultra long spherical shape | >2 |
| 长球形 Prolate | 2~1.14 |
| 近球形 Nearly spherical | 1.14~0.88 |
| 扁球形 Oblate sphere | 0.88~0.816 |
| 超扁球形 Super oblate sphere | <0.50 |

2 结果与分析

2.1 花粉形态特征与花粉大小比较

从图 1 可以看到, 黄花型扁蓍豆花粉群整体形态饱满, 但存在少量空瘪的畸形花粉, 而扁蓍豆花粉群中饱满形态花粉占比极高。3 种试验材料花粉均以单粒花粉形式存在 (图 1A1、B1、C1), 呈辐射对称、等极性。三者极面观为三裂近圆形



A: 黄花型扁蓍豆; B: 扁蓍豆; C: 黄花苜蓿; 1: 花粉群体; 2: 极面观; 3: 赤道面; 4: 外壁纹饰; 5: 萌发孔; M: 网眼; R: 脊; W: 蜡质; GA: 萌发孔
A: Yellow flowered type *M. ruthenica*; B: *M. ruthenica*; C: *Medicago falcate*; 1: Pollen group; 2: Polar view; 3: Equatorial view; 4: Pollen exine ornamentation; 5: Germination aperture; M: Mesh; R: Ridge; W: Wax; GA: Germination aperture

图 1 3 种苜蓿属植物扫描电镜花粉形态

Fig. 1 SEM observation of three *Medicago* genus plants pollen morphology

(图1A2、B2、C2),赤道面观为椭圆形(图1A3、B3、C3)。萌发器官是花粉形态方面的重要特征,3种试验材料花粉粒均为3孔沟型,以等间距环状分布,根据艾德曼分类系统应属于N₃P₄C₅型花粉粒。孔沟沿极轴方向长达两极,两端细长而中间宽浅,呈楔形;萌发孔具外突,位于沟的中央位置,沟边缘明显增厚。

3种试验材料的花粉极轴长、赤道轴存在极显著差异($P\leq 0.001$)(表3)。极轴长从大到小排序为黄花苜蓿($27.978\pm 2.247\text{ }\mu\text{m}$)>黄花型扁蓿豆($23.763\pm 2.208\text{ }\mu\text{m}$)>扁蓿豆($22.218\pm 0.867\text{ }\mu\text{m}$)。赤道轴最长为黄花苜蓿($22.946\pm 4.072\text{ }\mu\text{m}$),黄花型扁蓿豆与扁蓿豆的差异较小。花粉大小通常由P×E值反映,经过测量和计算可知,黄花型扁蓿豆($P\times E=493.608\pm 18.065\text{ }\mu\text{m}^2$)与扁蓿豆($P\times E=457.966\pm 4.487\text{ }\mu\text{m}^2$)花

粉粒大小更为相近,二者均小于黄花苜蓿花粉粒($P\times E=645.079\pm 24.090\text{ }\mu\text{m}^2$);按照花粉大小划分等级,黄花苜蓿花粉粒为中等大小,黄花型扁蓿豆和扁蓿豆花粉则为小花粉。P/E值反映花粉的立体形状,按照花粉形状分级,黄花苜蓿($1.14\leq P/E=1.258\leq 2.00$)与黄花型扁蓿豆($1.14\leq P/E=1.171\leq 2.00$)的花粉粒属于长球形,扁蓿豆($0.88\leq P/E=1.080\leq 1.14$)花粉粒则属于近球形。萌发孔长从大到小依次排序为黄花苜蓿($19.267\pm 2.434\text{ }\mu\text{m}$)>黄花型扁蓿豆($16.328\pm 2.118\text{ }\mu\text{m}$)>扁蓿豆($15.188\pm 1.751\text{ }\mu\text{m}$),萌发孔宽从大到小依次排序为扁蓿豆($5.318\pm 0.876\text{ }\mu\text{m}$)>黄花苜蓿($4.069\pm 0.703\text{ }\mu\text{m}$)>黄花型扁蓿豆($3.766\pm 0.175\text{ }\mu\text{m}$),其中黄花苜蓿与黄花型扁蓿豆萌发孔宽度无显著差异($P>0.05$)。

表3 三种苜蓿属植物花粉大小差异比较

Table3 Comparison of pollen morphological characters indexes for three *Medicago* plants

| 性状 | 项目 | 黄花型扁蓿豆 | 扁蓿豆 | 黄花苜蓿 |
|---|------|--|---------------------|-------------------|
| Traits | Item | Yellow flowered type <i>M. ruthenica</i> | <i>M. ruthenica</i> | <i>M. falcate</i> |
| 花粉粒形状 Pollen shape | | 长球形 | 近球形 | 长球形 |
| 极面观 Polar view | | 三裂近圆形 | 三裂近圆形 | 三裂近圆形 |
| 赤道面观 Equatorial view | | 椭圆形 | 椭圆形 | 椭圆形 |
| 极轴长(μm)P | 最大值 | 28.5463 | 24.2928 | 32.6699 |
| | 最小值 | 20.5449 | 19.9879 | 24.0978 |
| | 平均值 | 23.763±2.208 b | 22.218±0.867 c | 27.978±2.247 a |
| | F值 | | 87.456 | |
| | P值 | | 0 | |
| 赤道轴长(μm)E | 最大值 | 27.1328 | 22.4927 | 28.7519 |
| | 最小值 | 13.9381 | 18.5274 | 14.1185 |
| | 平均值 | 20.651±3.051 b | 20.616±0.957 b | 22.946±4.072 a |
| | F值 | | 6.983 | |
| | P值 | | 0.001 | |
| P/E值 P/E value | | 1.171±0.183 a | 1.080±0.066 b | 1.258±0.253 a |
| P×E值(μm ²)P×E value | | 493.608±18.065 b | 457.966±4.487 b | 645.079±24.090 a |
| 萌发孔类型 Germination aperture type | | 三孔沟 | 三孔沟 | 三孔沟 |
| 萌发孔走向 Germination aperture trend | | 沿极轴方向伸向两极 | 沿极轴方向伸向两极 | 沿极轴方向伸向两极 |
| 萌发孔长(μm) Germination aperture length | 最大值 | 20.609 | 18.149 | 23.184 |
| | 最小值 | 11.775 | 11.833 | 14.296 |
| | 平均值 | 16.328±2.118 b | 15.188±1.751 c | 19.267±2.434 a |
| | F值 | | 34.503 | |
| | P值 | | 0 | |
| 萌发孔宽(μm) Germination aperture width | 最大值 | 5.640 | 6.854 | 5.851 |
| | 最小值 | 2.036 | 2.796 | 2.442 |
| | 平均值 | 3.766±0.175 b | 5.318±0.876 a | 4.069±0.703 b |
| | F值 | | 31.852 | |
| | P值 | | 0 | |

同行具有完全不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);P:Polar axis length;E:Equator axis length
Completely different lowercase letters on the same line indicate significant differences ($P<0.05$)

综上所述,3种试验材料相似性特征较多,如艾德曼分类系统的花粉类型、萌发孔数量、极面观及赤道面观等,这些特征可能是苜蓿属植物花粉的共性特征。虽3种试验材料花粉大小明显不同,但P/E值显示黄花型扁蓿豆花粉大小介于扁蓿豆与黄花苜蓿之间。

2.2 花粉外壁纹饰特征观察与比较

花粉的外壁纹饰具有遗传性,同一物种的不同品种之间存在巨大的形态差异,外壁纹饰是鉴定物种乃至品种的重要指标之一。扫描电镜下黄花型扁蓿豆花粉外壁表面较粗糙,分布蜡质;花粉外壁表面整体呈穴状纹饰;网眼较小、偏浅、数量较密集,呈圆形或不规则形,大小不均,且部分网眼分布紧密形似脑状纹饰;具不规则的脊状突起,结构清晰,粗细不等;萌发孔排列均匀,沟缘具少量穿孔、较整齐,孔具褶皱突起,褶皱较密、偏浅(图1A4、A5)。

扁蓿豆花粉外壁表面极粗糙,分布丰富蜡质,且均匀覆盖花粉表面;花粉外壁整体呈穴状纹饰,脊结构不明显,网眼较小、偏浅,网眼数量密集较均匀,呈圆形或近圆形,大小较均匀;萌发孔排列均匀,沟缘整齐,同样伴有少量穿孔,孔具褶皱突起,褶皱较稀疏、偏浅(图1B4、B5)。

黄花苜蓿花粉外壁较光滑,蜡质分布极少;花粉外壁表面整体呈脑状纹饰;脊状突起结构非常清晰,粗细不等,呈波浪形;网眼较深较大,呈不规则形;萌发孔排列均匀,沟缘伴有少量穿孔但呈不规则钝齿状,孔也具褶皱突起,褶皱较密、结构清晰明显(图1C4、C5)。

总之,黄花型扁蓿豆、扁蓿豆与黄花苜蓿花粉外壁纹饰差异较大,对于黄花型扁蓿豆的分类和扁蓿豆物种鉴定具有一定分类学意义。

3 讨论

植物分类方法众多,除传统的形态学分类法之外,还包括细胞分类学、植物化学分类法、DNA分子标记法和花粉形态分类法等。细胞分类学是从细胞染色体水平上探讨植物的分类归属,但是大多数目、科、属内的植物类群无染色体数目差异,这种情况下仅以细胞分类学为依据的分类意义不大^[17]。植物化学分类法主要是根据植物所含有的活性化学成分的种类和类别,为物种的亲缘关系鉴定提供了独特的化学特征,包括类黄酮化合物、生物碱、萜类等次生代谢物^[18]。但有相当一部分次生代谢产

物在不同科属植物中广泛存在,如东莨菪苷不仅存在于茄科植物洋金花(*Daturametel* L.)中,还存在于豆科植物皂荚(*Gleditsia sinensis*)和旋花科植物丁公藤(*Erycibeobtusifolia* Benth)等植物中^[19-21],仅以化学分类法为依据同样带来巨大争议。DNA分子标记虽然已经广泛应用于植物亲缘关系的鉴定,但其技术的局限性在于,它只能通过基因片段而非完整的基因组揭示物种之间的亲缘关系,而基于全基因组进行亲缘关系鉴定的分类成本较大^[22]。研究表明,显花植物的花粉形态结构具有较高的遗传稳定性、保守性与独特性,并且随着扫描电子显微镜技术的飞速发展,使得孢粉学研究更加高效,花粉形态分类法被广泛应用于各种植物的分类、起源与系统演化等研究,以及种内品种的鉴定工作^[12, 23-25]。

研究结果显示,3种苜蓿属植物花粉在花粉粒类型、萌发孔类型和花粉粒形态等高度相似,可能是苜蓿属的共性特征^[12, 26-28]。黄花型扁蓿豆花粉的大小介于扁蓿豆和黄花苜蓿之间,但两种扁蓿豆外壁纹饰均以穴状纹饰为主,与黄花苜蓿明显不同。再结合李志勇等^[29]利用SSR分子标记技术对扁蓿豆物种亲缘关系鉴定,Zhu等^[30]对两种扁蓿豆中类黄酮化学物质测定,以及宁红梅等^[31]对野生黄花型扁蓿豆细胞核型分析等分类依据的补充,认为与黄花苜蓿相比,黄花型扁蓿豆与扁蓿豆亲缘关系较近,将野生黄花型扁蓿豆归为扁蓿豆是可行的,花粉形态学能够较好的为野生黄花型扁蓿豆补充分类依据。

黄花型扁蓿豆花粉属于长球形,而扁蓿豆花粉则为近球形,黄花型扁蓿豆花粉极轴较扁蓿豆花粉极轴大;黄花型扁蓿豆花粉外壁纹饰除了穴状纹饰,还伴随少量脑状纹饰,以上花粉微观形态特征对种间、种内分类及分析物种演化具有重要意义。按照Walker^[32]孢粉学进化特征,认为花粉外形演化顺序为圆形到长球形、再到三角形的方向,花粉极轴、极赤比越大则物种越进化,外壁纹饰则由简单到复杂、由穴状、网状到脑状纹饰的方向演化。结合野生黄花型扁蓿豆细胞核型分析结果,可以初步判断种内演化关系为扁蓿豆较原始,黄花型扁蓿豆稍进化^[31]。

参考文献

- [1] Ernest S. Alfalfa and relatives: Evolution and classification of *Medicago*: The other species (indicates a species of uncertain status) 84. Ottawa: NRC Research Press, 2011: 565-570
- [2] Campbell T A, Bao G, Xia Z L. Completion of the agronomic

- evaluations of *Medicago ruthenica* L. Ledebour germplasm collected in Inner Mongolia. Genetic Resources and Crop Evolution, 1999, 46: 477-484
- [3] 石凤翎, 王明玖, 王建光. 豆科牧草栽培. 北京: 中国林业出版社, 2003: 182-183
Shi F L, Wang M J, Wang J G. Leguminous forage cultivation. Beijing: China Forestry Press, 2003: 182-183
- [4] 张雨桐, 石凤翎, 乌日娜, 刘胜男. 扁蓿豆育种研究进展. 中国草地学报. 2018, 40(5): 102-108
Zhang Y T, Shi F L, Wu R N, Liu S N. Progress in *Medicago ruthenica* breeding study. Chinese Journal of Grassland, 2018, 40(5): 102-108
- [5] 李鸿雁, 李志勇, 黄帆, 师文贵, 李俊, 刘磊, 解永凤. 内蒙古扁蓿豆种质资源花性状的变异分析. 植物遗传资源学报. 2015, 16(6): 1223-1228
Li H Y, Li Z Y, Huang F, Shi W G, Li J, Liu L, Xie Y F. Analysis of flower character variation of *Medicago ruthenica* in Inner Mongolia. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(6): 1223-1228
- [6] 李鸿雁, 李俊, 黄帆, 李志勇, 孙丽楠, 许莲华. 不同生态型扁蓿豆种子性状的遗传多样性和相关性分析. 种子, 2016, 35(8): 67-70
Li H Y, Li J, Huang F, Li Z Y, Sun L N, Xu L H. The genetic diversity and correlation analysis of seed traits of *Medicago ruthenica* with different ecotype. Seed, 2016, 35(8): 67-70
- [7] 李鸿雁, 李志勇, 师文贵, 蔡丽艳, 刘磊. 内蒙古扁蓿豆叶片解剖性状与抗旱性的研究. 草业学报, 2012, 21(3): 138-146
Li H Y, Li Z Y, Shi W G, Cai L Y, Liu L. A study on leaf anatomic traits and drought resistance of *Medicago ruthenica* in Inner Mongolia. Acta Prataculturae Sinica, 2012, 21(3): 138-146
- [8] 吴建禹. 扁蓿豆荚果生物学特性的研究. 北京: 中国农业科学院, 2021
Wu J Y. Pod biological characteristics study of *Medicago ruthenica* L.. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021
- [9] 李志勇. 扁蓿豆种质资源遗传多样性机理的研究. 北京: 中国农业科学院, 2011
Li Z Y. The mechanism studies on genetic diversity in *Medicago ruthenica* germplasm resources. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011
- [10] 徐长林. 甘肃扁蓿豆属(豆科)一新变种—天祝扁蓿豆. 广西植物, 2016, 36(9): 1023-1025
Xu C L. *Melilotoides ruthenica* var. *tianzhuensis* C. L. Xu, A new variety of *Melilotoides* (Leguminosae) from Gansu, China. Guihaia, 2016, 36(9): 1023-1025
- [11] 李秀根, 杨健. 花粉形态数量化分析在中国梨属植物起源、演化和分类中的应用. 果树学报, 2002, 19(3): 145-148
Li X G, Yang J. Application of numerical taxonomy of pollen morphologu on origination, evolution and classification of *Pyrus* L. in China. Journal of Fruit Science, 2002, 19(3): 145-148
- [12] 宛涛, 卫智军, 杨静, 赵晟, 燕玲, 张恩厚. 内蒙古草地现代植物花粉形态. 北京: 中国农业出版社, 1999: 54-55
Wan T, Wei Z J, Yang J, Zhao S, Yan L, Zhang E H. Pollen morphology of modern plants in Inner Mongolia grassland. Beijing: China Agricultural Press, 1999: 54-55
- [13] 李海贤, 石凤翎. 我国扁蓿豆种子生产研究现状及提高产量的途径. 草原与草坪, 2006(3): 14-16
Li H X, Shi F L. Current situation of yield improvement and seed production of *Melilotoides ruthenica* in China. Grassland and Turf, 2006(3): 14-16
- [14] 赵青山, 侯向阳, 段俊杰, 成如. 混播人工草地不同方式放牧苏尼特羊生产效益趋势. 中国草地学报, 2019, 41(3): 130-135
Zhao Q S, Hou X Y, Duan J J, Cheng R. Production benefit trend analysis of grazing regime Sunite wether on mixed artificial pasture. Chinese Journal of Grassland, 2019, 41(3): 130-135
- [15] 白乌云. 羊草根茎克隆生长特性种内分化及与原生地地理和气候因素的关联研究. 北京: 中国农业科学院, 2021
Bai W Y. Intraspecific differentiation of clonal growth characteristics of *Leymus chinese* rhizome and its relationship with geographical and climatic factors of original habitat. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021
- [16] 王开发, 王宪曾. 孢粉学概论. 北京: 北京大学出版社, 1989: 21-46
Wang K F, Wang X Z. Introduction to palynology. Beijing: Beijing University Press, 1989: 21-46
- [17] 崔大方. 植物分类学. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2010: 8-9
Cui D F. Taxonomy of plants. 3rd edition. Beijing: China Agricultural Press, 2010: 8-9
- [18] 周荣汉, 段金廛. 植物化学分类学. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 47-98
Zhou R H, Duan J A. Phytochemical taxonomy. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2005: 47-98
- [19] 臧二欢, 李沁瑜, 许谨帆, 张艺, 蒋林林, 李雪, 张明旭, 刘宇超, 吴庆江, 刘昭华, 李旻辉, 肖培根. 茄科含莨菪烷类生物碱类群药用植物亲缘学初探. 中国中药杂志, 2021, 46(17): 4344-4359
Zang E H, Li Q Y, Xu J F, Zhang Y, Jiang L L, Li X, Zhang M X, Liu Y C, Wu Q J, Liu Z H, Li M H, Xiao P G. A preliminary pharmacophylogenetic study of solanaceae medicinal plants containing tropane alkaloids. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(17): 4344-4359
- [20] 耿瑜欣, 李红姣, 郑建伟, 张芹, 于丽娜, 李佳秋, 李保会. 皂荚与野皂荚刺中次生代谢物的差异. 林业科学, 2022, 58(4): 82-94
Geng Y X, Li H J, Zheng J W, Zhang Q, Yu L N, Li J Q, Li B H. Difference of secondary metabolites in spines of *Gleditsia sinensis* and *Gleditsia microphylla*. Scientia Silvae Sinicae, 2022, 58(4): 82-94
- [21] 谭建宁, 高振霞. 丁公藤的研究进展. 广西科学院学报, 2008

- (1): 49-52
Tan J N, Gao Z X. Advances in studies on *Caulis Erycibes*. Journal of Guangxi Academy of Science, 2008(1): 49-52
- [22] Eujayl I, Sledge M K, Wang L, May G D, Chekhovskiy K, Zwonitzer J C, Mian M A R. *Medicago truncatula* EST-SSRs reveal cross-species genetic markers for *Medicago* spp. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108(3): 414-422
- [23] 赵孟良, 任延靖. 扫描电子显微镜在植物中的应用研究进展. 电子显微学报, 2021, 40(2): 197-202
Zhao M L, Ren Y J. Research progress of scanning electron microscope in plant. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2021, 40(2): 197-202
- [24] Lesins K, Lesins I. Pollen morphology and species relationship in *Medicago* L. Genome, 2011, 5(3): 270-280
- [25] Dong R, Lu Z J, Yang Z Y, Wang Y R, Chen C. Scanning electron microscopy observations of pollen morphology in common vetch (*Vicia sativa*) subspecies. The Journal of Agricultural Science, 2021, 158(8-9): 656-659
- [26] 邓超宏, 崔大方, 羊海军, 李飞飞, 方颖. 苜蓿属和胡卢巴属植物的形态特征及数量分类研究. 植物资源与环境学报, 2010, 19(4): 1-11
Deng C H, Cui D F, Yang H J, Li F F, Fang Y. Studies on morphological characters and numerical classification of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species. Journal of Plant Resources and Environment, 2010, 19(4): 1-11
- [27] 马剑敏. 西北地区苜蓿属(*Medicago* L.)的种类和分布. 河南师范大学学报: 自然科学版, 1991, 46(3): 61-65
Ma J M. Kinds and distribution of *Medicago* L. in northwest of China. Journal of Henan Normal University: Natural Science, 1991, 46(3): 61-65
- [28] 图拉嘎, 特木尔布和, 张志强. 苜蓿品种花粉形态特征的比较. 北方农业学报, 2022, 50(2): 94-102
Tulaga, Temuerbuhe, Zhang Z Q. Comparison of *Medicago* pollen morphological characteristics. Journal of Northern Agriculture, 2022, 50(2): 94-102
- [29] 李志勇, 师文贵, 李鸿雁, 李兴西, 刘磊. 内蒙古3种生态型扁蓿豆遗传多样性与亲缘关系的分析. 西北植物学报, 2009, 29(12): 2421-2428
Li Z Y, Shi W G, Li H Y, Li X Y, Liu L. Genetic diversity and relationship of three *Medicago ruthenica* ecotypes from Inner Mongolia. Acta Botanica Boreali Occidentalia Sinica, 2009, 29(12): 2421-2428
- [30] Zhu L, Li H Y, Wu Z N, Li Z Y, Guo M W, Ning B, Liu W P, Liu Q, Liu L, Wang Z Y, Li J, Mi F G. Targeted metabolomics provide chemotaxonomic insights of *Medicago ruthenica*, with coupled transcriptomics elucidating the mechanism underlying floral coloration. Plants-Basel, 2022, 15, 11(18): 2408
- [31] 宁红梅, 米福贵, 李鸿雁, 伏兵哲, 罗国占. 野生黄花型扁蓿豆染色体核型分析(简报). 草地学报, 2008(3): 316-318
Ning H M, Mi F G, Li H Y, Fu B Z, Luo G Z. Karyotype analysis of wild yellow type *Medicago ruthenica* L.. Acta Agrestia Sinica, 2008(3): 316-318
- [32] Walker J W. Evolution of exine structure in the pollen of primitive angiosperms. American Journal of Botany, 1974, 61(8): 891-902