

清水紫花苜蓿育性变异材料花形态特征与生理特性研究

李自立, 师尚礼*, 阿芸, 李小龙, 张辉辉

(甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中一美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】对清水紫花苜蓿(*Medicago sativa* cv. Qingshui)育性变异材料进行花形态特征和生理特性研究, 为培育不育系及苜蓿杂交制种提供支撑。【方法】6个不同育性的株系 GN-A1、GN-A2、GN-A3、GN-A4、GN-A5 和 GN-A6 分别选取 1 个单株, 盛花期采集花粉粒进行育性鉴定, 并对花蕾和叶片的 SS、SP、Pro 含量、抗氧化酶(CAT、POD 和 SOD)活性及 MDA、叶绿素含量进行测定。【结果】GN-A1、GN-A2、GN-A3 和 GN-A6 初步鉴定为不育株, GN-A4、GN-A5 为部分可育株; 不育株单枝花蕾数、花柱长和花丝长显著低于可育株, 而翼瓣长、龙骨瓣长和花萼长显著高于可育株。不育株花蕾和叶片的 SS 含量显著高于部分可育株和可育株, 而不育株花蕾 SP、Pro 含量显著低于可育株; 不育株花蕾的 SOD 活性显著高于可育株、部分可育株, 而叶片 SOD 活性显著高于可育株; 不育株、部分可育株花蕾的 CAT 活性显著低于可育株。染色率与 CAT 活性、SP、Pro 含量呈显著正相关, 而与 SOD 活性、SS 含量呈显著负相关。【结论】CAT 活性、SP 含量、Pro 活性、SOD 活性、SS 含量与育性密切相关。不育株花器的 SP、Pro 含量和 CAT 活性出现不足, 而其生理代谢反应在叶片中反应不明显。

关键词:清水紫花苜蓿; 育性; 形态; 生理

中图分类号:S541⁺.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2023)04-0036-07

DOI:10.13817/j.cnki.cycp.2023.04.005



根茎型清水紫花苜蓿是我国审定登记的第一个根茎型苜蓿品种, 品种登记号为 412^[1], 生长在甘肃省清水县和定西半阴湿的山脚地带, 其根颈部较长, 易形成根茎混杂区, 根茎距地表相对较深, 没有主根, 全部为水平或斜生的根茎根; 茎一般为平卧或半平卧生长, 比直根型和根蘖型的茎纤细且矮小, 耐践踏, 是优质的放牧型牧草, 但由于其产量较低, 存在着巨大的改良空间^[2]。苜蓿在商业化生产中, 采用化学、人工去雄的方式进行杂交制种, 费时、费力, 而且很难培育出高产优质的理想品种。紫花苜蓿雄性不育系的发现

从根本上能够解决上述问题^[3-4], 雄性不育在高等植物中广泛存在, 利用其进行杂交制种工作, 不仅提高了杂交种产量, 又保证了子代杂种优势的表型^[5]。

苜蓿属于豆科蝶形花亚科, 花器官是植物生殖的重要功能器官, 由茎顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM)发育而来^[6]。花的发育过程需要经一系列形态、生理生化及细胞结构等方面的变化, 这些变化可能直接或间接地影响植物育性, 如生殖生长提前终止导致花药细胞或花粉粒发育发生改变, 从而导致其育性发生变化, 形成雄性不育^[7]。有关学者对雄性不育和可育的生理生化过程研究发现, 雄性不育系在能量代谢、物质代谢等方面与保持系有明显的差异^[8], 在雄性不育系中花药的可溶性蛋白、脯氨酸含量、过氧化物酶活性等生理生化指标与其保持系存在差异^[9-10]。有学者认为可溶性糖的缺乏与绒毡层的异常发育密切相关^[11-12]; 脯氨酸的代谢含量能体现其发育

收稿日期:2021-11-15; **修回日期:**2021-12-01

基金项目:甘肃省科技计划项目(19ZD2NA002-3)

作者简介:李自立(1995-), 男, 甘肃天水人, 硕士研究生。

E-mail:1793629610@qq.com

*通信作者。E-mail: shishl@gsau.edu.cn

程度^[12],在枸杞^[13]和葱^[14]等植物中雄性不育株脯氨酸的含量显著低于正常植株。

近年来,在清水苜蓿群体中发现了开花多,种子少的雄性不育或部分不育植株,使利用杂种优势技术改良清水苜蓿产量成为可能。然而,目前清水苜蓿的研究主要聚焦在细胞学水平和生理生化水平^[15-18],对其育性方面的研究鲜有报道。因此,本研究通过对清水紫花苜蓿育性变异材料进行染色鉴定、对花器形态特征和生理特性进行分析,探求其形态和生理差异,为形成清水苜蓿不育系及杂交制种提供物质基础和理论参考。

1 材料和方法

1.1 试验区概况

试验设在甘肃省兰州市安宁区甘肃农业大学牧草试验站,地处黄土高原西端(E 105°41', N 34°05'),海拔1 525 m,属温带半干旱大陆性气候,光照充足,气候干燥,昼夜温差大,年日照时数2 600 h,无霜期171 d,年均温度10.3℃,年均降水量300 mm,区内地势平坦,肥力均匀,为黄绵土;灌溉采用滴灌方式。

1.2 试验材料

供试材料为正常育性清水紫花苜蓿(*Medicago sativa* cv. Qingshui)(CK)和6个不同育性的清水紫花苜蓿株系(GN-A1、GN-A2、GN-A3、GN-A4、GN-A5和GN-A6),均由甘肃农业大学教育部草业生态系统重点实验室提供。

1.3 试验设计

2016年5月中旬,从甘肃农业大学会宁牧草试验基地清水紫花苜蓿群体中发现了植株花蕾数多而结籽率低的6株清水紫花苜蓿(分别标记为GN-A1、GN-A2、GN-A3、GN-A4、GN-A5和GN-A6),挖取其单株分株栽培繁殖,移栽于甘肃农业大学兰州牧草试验站形成株系进行观察,每个株系小区面积16.79 m²(长7.3 m、宽2.3 m)。经初期花粉显微育性鉴定,GN-A1、GN-A2、GN-A3和GN-A6为不育材料,GN-A4、GN-A5为部分可育材料。

本试验从6个株系中分别选取1个单株,以清水苜蓿正常育性株为CK,再进行育性染色鉴定试验,整个试验期间均不施肥。育性鉴定采用姜少俊^[4]对紫花苜蓿成熟期花粉I₂-KI染色鉴定的育性划分标准

(表1)。2020年8月10日分别采集盛花期未开裂花药的花蕾及其对应部位的新叶,于-4℃冰箱贮藏。重复3次,取其平均值,数据以平均值及标准偏误表示。

表1 育性划分标准

Table 1 Criteria for fertility division

育性分类	花粉粒染色率/%
可育	>80
部分可育	20~80
不育	<20

1.4 测定指标及方法

1.4.1 花粉活力测定 每一单株选取未开裂花药小花各5朵,取少数花粉粒于载玻片上混合,滴加1~2滴I₂-KI溶液,盖上玻片。然后置于低倍显微镜下观察,选取3个视野的花粉活力平均值作为花粉粒的活力值。凡被染成蓝黑色或蓝色的花粉活力强,不能被染色则表现为黄褐色或黄色,为活力低的花粉或不育花粉。活力测定方法参照王学奎^[19]的方法染色。

染色率=(染色成蓝黑色或蓝色的花粉粒数/视野内花粉粒总数)×100%

1.4.2 花器官形态测定 单枝花蕾数测定采用计数法,花柱长、花丝长、旗瓣长、旗瓣宽、翼瓣长、龙骨瓣长和花萼长用游标卡尺测定^[19]。

1.4.3 生理指标测定 叶绿素含量参照王学奎^[20]的方法测定;游离脯氨酸(Pro)含量、可溶性糖(SS)含量、可溶性蛋白(SP)含量和丙二醛(MDA)含量分别用酸性茚三酮比色法^[3]、蒽酮比色法^[21]、考马斯亮蓝G-250染色法^[20]和硫代巴比妥酸法测定^[22];超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性测定分别采用NBT法^[20]、愈创木酚法^[21]和紫外吸收法^[22]测定。

1.5 数据处理

采用SPSS 20.0软件对以及Excel 2010进行统计分析及数据处理,相关性图用R语言中的Corrplot包作图。

2 结果与分析

2.1 清水紫花苜蓿花粉粒育性鉴定

清水紫花苜蓿可育株CK的花粉粒被染成深色或黑色近乎100%,其中95%以上的花粉粒呈圆球形且饱满,说明其花粉活力极高(图1)。GN-A1、GN-A2、

GN-A6花粉基本未染色,出现黄色或淡黄褐色,呈椭圆形或畸形且花粉粒干瘪,据育性分类原则初步鉴定为不育株(表1)。GN-A3花粉粒染色率为4.91%,且呈椭圆或者畸形,属于不育株。GN-A4、GN-A5花粉粒被染成深色或蓝黑色花粉粒分别占36.84%、41.18%,个别出现不规则形状,为部分可育株。

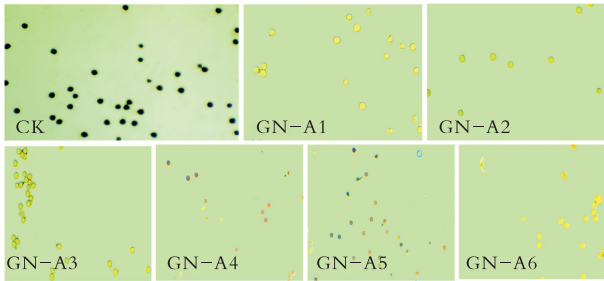


图1 不育花粉粒和可育花粉粒染色效果

Fig. 1 Staining effect of sterile and fertile pollen grains

注:黑色或蓝黑色:花粉活力强;黄褐色:花粉活力较低;黄色:花粉无活力

2.2 清水紫花苜蓿不育株和可育株花器形态特征

清水紫花苜蓿不育株单枝花蕾数、花丝长和花柱长显著低于可育株 ($P < 0.05$), 分别低 6.54%、34.13% 和 7.22%, 而翼瓣长、龙骨瓣长和花萼长显著高于可育株, 分别高 5.55%、5.29% 和 25.57%; 旗瓣

表1 清水紫花苜蓿的育性分类

Table 1 Fertility classification of test materials

育性分类	株系材料
可育材料	CK
部分可育材料	GN-A4、GN-A5
不育材料	GN-A1、GN-A2、GN-A3和GN-A6

长和旗瓣宽,两育性材料间差异不显著(表2)。

2.3 清水紫花苜蓿不育株和可育株花蕾及叶片渗透调节物质含量的变化

盛花期清水紫花苜蓿不育株花蕾SS含量(10.92 $\mu\text{g/g}$)显著高于可育株(8.22 $\mu\text{g/g}$)和部分可育株(8.33 $\mu\text{g/g}$),增幅分别为32.85%、31.09%(图2-A); SS含量在叶片中的变化规律与花蕾相似,分别较可育株、部分可育株高36.37%、14.90%。可育株花蕾SP含量(0.59 mg/g)显著高于部分可育株(0.48 mg/g)和不育株(0.47 mg/g) (图2-B), 分别高22.92%、25.53%, 而叶片SP含量三者间差异不显著。花蕾Pro含量,可育株比部分可育株和不育株分别高出42.48%、36.37%(图2-C); 叶片Pro含量,三者之间差异均为不显著。

表2 可育株和不育株的花器官形态特征

Table 2 Morphological characteristics of floral organs of fertile and sterile plants

育性	单枝花蕾数/个	花丝长/mm	花柱长/mm	旗瓣长/mm	旗瓣宽/mm	翼瓣长/mm	龙骨瓣长/mm	花萼长/mm
不育材料	16.6 ± 0.87	5.396 ± 0.08	5.456 ± 0.06	8.068 ± 0.830	4.154 ± 0.07	6.424 ± 0.09	5.932 ± 0.09	5.052 ± 0.04
可育材料	25.2 ± 2.13*	5.816 ± 0.10*	5.838 ± 0.11*	7.862 ± 0.253	4.346 ± 0.14	6.086 ± 0.08*	5.634 ± 0.08*	4.024 ± 0.07*

注:*表示在0.05水平上显著相关

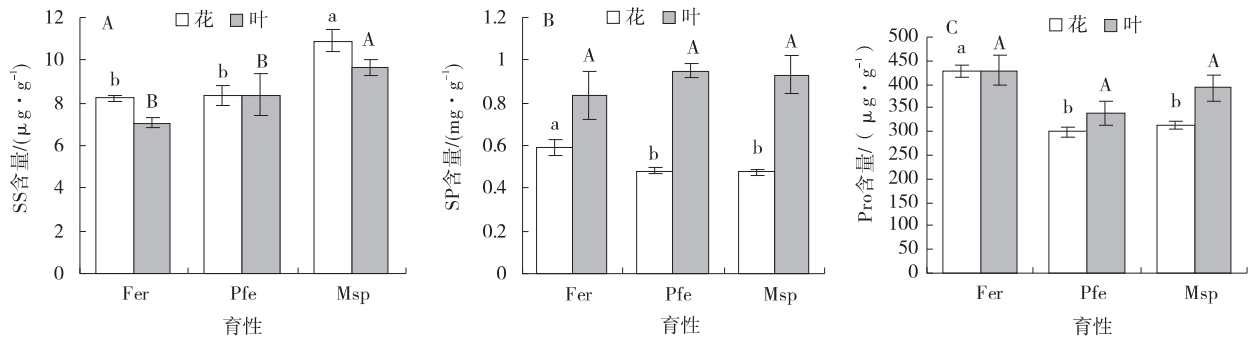


图2 盛花期清水紫花苜蓿花蕾及叶片渗透物质含量

Fig. 2 Osmotic substance content of alfalfa in buds and leaves during full flowering

注: Fer:可育株; Pfe:部分可育株; Msp:不育株; 不同大小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同

2.4 清水紫花苜蓿不育株和可育株花蕾及叶片抗氧化酶活性的差异

盛花期不育株花蕾[4.56 $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{g})$]和部分可育株[4.75 $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{g})$]的 CAT 活性均显著低于可育株[7.19 $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{g})$],其中,不育株较可育株低出 36.58%;叶片 CAT 活性,不育株[1.46 $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{g})$]、部分可育株[1.88 $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{g})$]与可育株[4.63 $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{g})$]相比,分别低 22.34%、68.47%,随着育性降低,CAT 活性也逐渐降低(图 3-A)。不同育性下花蕾、叶片中 POD 活性三者间差异均不显著(图 3-B)。不育株花蕾 SOD 活

性(138.12 U/g)显著高于可育株(21.43 U/g)和部分可育株(82.65 U/g),且分别高 544.52%、67.11%;不育株叶片的 SOD 活性(945.44 U/g)较可育株(584.64 U/g)高 61.71%,而与部分可育株差异不显著(图 3-C)。

2.5 清水紫花苜蓿不育株和可育株花蕾及叶片丙二醛含量和叶片叶绿素含量差异

花蕾 MDA 含量,不育株、部分可育株与可育株之间均未达到显著水平(图 5-A);对叶片而言,三者的 MDA 含量同样差异不显著。叶片的 Chl 含量在三者之间差异不显著(图 4-B)。

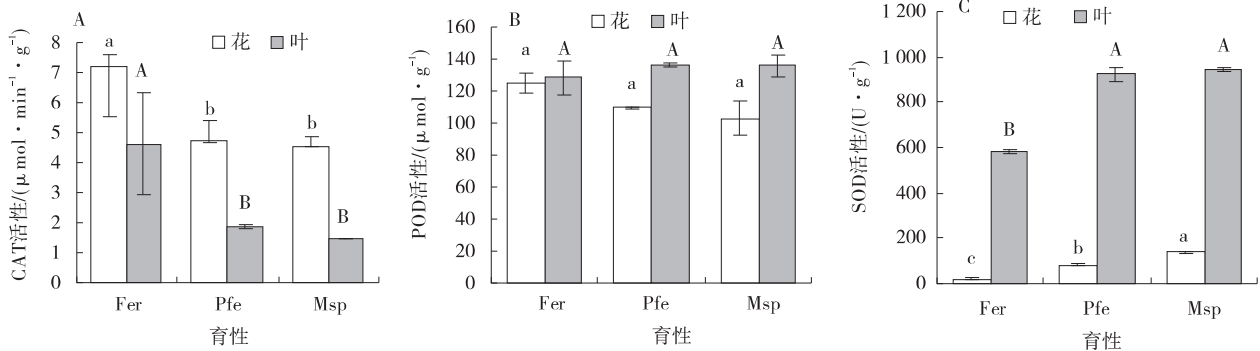


图 3 盛花期清水紫花苜蓿花蕾及叶片抗氧化酶活性

Fig. 3 Antioxidant enzyme activities in buds and leaves of alfalfa during full flowering

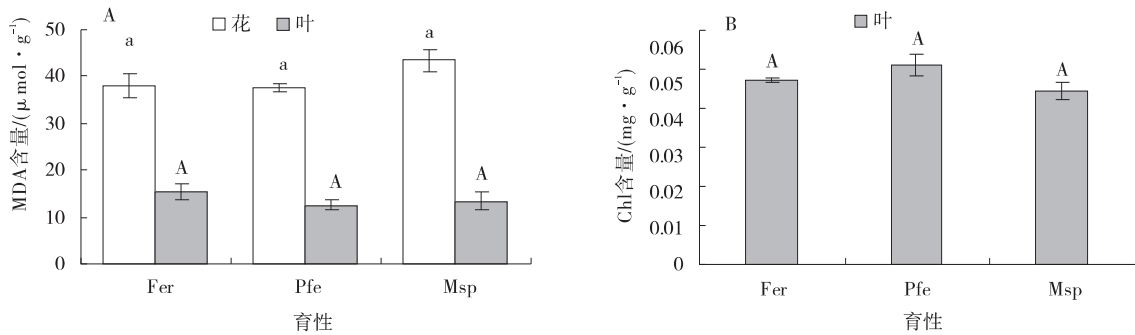


图 4 盛花期清水紫花苜蓿花蕾及叶片 MDA 含量及叶片叶绿素含量

Fig. 4 MDA content and chlorophyll content in buds and leaves of alfalfa at full flowering stage

2.6 相关性分析

清水紫花苜蓿花粉染色率与各生理指标之间存在一定相关性,可能是导致染色率(DR)降低的潜在原因。因此,对其中 8 个单项指标进行了相关性分析,其中 7 对呈现正相关($P < 0.05$),5 对为负相关(图 5)。DR 与 CAT、SOD 活性、SP、Pro 含量存在着显著相关且均呈现正相关关系,相关系数分别 0.74、0.72 和 0.92,其中 DR 与 Pro 含量之间的相关程度最高;DR 与 SOD 活性、SS 含量之间呈显著负相关,与 SOD 活性呈极显著负相关,相关系数 $R = -0.99$ 。CAT 活性

与 SOD 活性表现为显著负相关($P < 0.05$),其相关系数达到 -0.73 ,与 SP 含量和 Pro 活性均呈现显著正相关,且相关系数分别达到 0.82、0.83;SOD 活性与 SS、SP、Pro 含量均呈显著关系,且相关系数分别为 0.77、 -0.74 、 -0.88 。SP 含量与 Pro 含量表现出了较强的相关性,相关系数为 0.84。

3 讨论

3.1 花粉粒染色育性鉴定与花器形态分析

植物正常花粉能够积累较多淀粉, I_2 -KI 溶液可



图6 综合指标相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis of comprehensive indexes

注:图为不同指标之间的相关矩阵,n=8;蓝色圆代表正相关;红色圆代表负相关,通过颜色深浅显示相关程度,其中圆的大小表示相关性。DR代表染色率

将其染成蓝色或深色,而不育花粉往往积累较少或不含淀粉,可将其染成黄褐色,且不育株花粉粒多呈现畸形或不规则状^[4]。根据淀粉遇碘变蓝的特性,可从花粉粒内部染色的比率或颜色深浅来判定花粉粒中的淀粉含量,从而确定花粉育性^[23]。本研究中,通过I₂-KI法染色法初步鉴定GN-A1、GN-A2、GN-A3和GN-A6为不育株,GN-A4、GN-A5为部分可育株,染色结果与前人研究基本一致^[4,23];清水紫花苜蓿不育株单枝花蕾数、花柱长和花丝长显著低于可育株,而翼瓣长、龙骨瓣长和花萼长显著高于可育株,此研究结果与张体德^[25]等人对芝麻及徐义俊^[24]对油菜的不育株花器形态的研究别无二致。

3.2 清水紫花苜蓿不育株与可育株的生理指标研究分析

物质代谢是植物生命活动的基础,而物质代谢之间的差异会反映在各个生理指标上,物质代谢的异常与植物的雄性不育密切相关^[26-28]。碳水化合物作为花药发育的营养物质及物质合成的原料物质,同时也是一种物质信号,其含量的短缺会影响花粉的活力和花粉细胞结构的发育。依风艳^[28]通过对草原一号杂花苜蓿雄性不育株(MS-4)研究,发现可育株茎叶Pro含量与不育株差异不显著,可育株花蕾Pro含量均显著高于雄性不育株,与本研究结果一致,说明Pro含量不足可能会影响代谢物质结构的变化,引起花粉活力

下降从而导致育性改变;在各个时期的可育株叶片和花蕾中SS含量与不育株无明显差异,而在本研究中,盛花期不育株花蕾、叶片的SS含量显著高于可育株,可能是供试材料及取样时期不同所致,但与梁艳荣等^[29]有关胡萝卜的研究结论一致。

膜质稳定是细胞进行并维持正常生命活动的基本条件,MDA作为植物脂类过氧化的一个重要指标,过多的活性氧积累会破坏膜质稳定性,损伤生物膜结构,导致组织内相关的生理代谢紊乱^[30-31],而CAT和SOD能够清除代谢过程中多余的有氧自由基,使得活性氧处于一种平衡状态^[32-33]。刘莉等^[34]通过对水稻的研究表明,不育系水稻MDA含量在单核早期略高于保持系,叶片表型则无显著差异;而本研究中盛花期不育株MDA含量与可育株和部分可育株差异不显著,可能是盛花期花蕾存在着单核早期的花药细胞所致。高国训等^[35]研究表明芹菜不育系花蕾中的SOD活性较低,叶片中较高而POD活性相反,与本研究结果大相径庭,可能是供试材料不同所致。

3.3 染色率与各生理指标间的相关性关系

刘思嘉^[36]对不育系的花序直接喷施外源Pro,出现了少量被染色的花粉,发现花粉活力得到了改善;鲁美宏^[35]对白菜型冬油菜研究发现SP含量和CAT活性的降低会使其花药发育受阻从而导致不育,染色率则会降低;于分弟^[37]研究表明,SS含量和Pro含量与花粉发芽率的相关性均达到极显著水平。本研究中,盛花期清水苜蓿染色率与CAT、SOD活性、SS、SP、Pro含量显著相关性,其相关系数分别为0.74、-0.99、-0.73、0.76、0.92,与前人研究结果相近,说明POD活性,SP、Pro和SS与清水紫花苜蓿花粉活力密切相关。

4 结论

通过I₂-KI法染色,初步确定清水紫花苜蓿株系GN-A1、GN-A2、GN-A3、GN-A6为不育株,GN-A4、GN-A5为部分可育株。不育株花器官发育程度低于可育株,可以将花器官作为其育性鉴定的条件之一;在发育过程中,主要是由于花蕾内部生理代谢反应的异常变化导致育性发生改变。经染色率与生理指标相关性分析,CAT、SOD活性、SP、Pro、SS含量与育

性密切相关。

参考文献:

- [1] 南丽丽,师尚礼,郭全恩,等. 不同根型苜蓿根颈变化特征分析[J]. 中国生态农业学报,2012,20(7):914-920.
- [2] 师尚礼. 清水紫花苜蓿品种[P]. 2010-04-14.
- [3] 王莹,王英哲,徐安凯,等. 紫花苜蓿细胞质雄性不育系及其保持系花蕾的生理生化特性[J]. 中国草地学报,2018,40(1):24-28.
- [4] 姜少俊. 紫花苜蓿细胞质雄性不育系花药发育及转录调控研究[D]. 兰州:兰州大学,2017.
- [5] 吴永敷,特木尔布和,许占有,等. 苜蓿雄性不育系杂交制种利用的研究[J]. 中国草地,1998(5):10-13.
- [6] 武自念,魏臻武. 苜蓿花的形态特征及发育过程[J]. 草地学报,2013,21(1):159-166.
- [7] 梁赛,贾利,王艳,等. 辣椒细胞核雄性不育系主要农艺性状的对比及生理特性分析[J]. 中国蔬菜,2020,(10):55-61.
- [8] Tang D F, Wei F, Zhou R Y. Comparative analysis of chloroplast genomes of kenaf cytoplasmic male sterile line and its maintainer line [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 332-345.
- [9] 何思,马玉申,何也君,等. 雄性不育苕麻生理生化特性差异分析[J]. 作物研究,2021,35(1):39-42.
- [10] 梁赛,贾利,王艳,等. 辣椒细胞核雄性不育系主要农艺性状的对比及生理特性分析[J]. 中国蔬菜,2020,(10):55-61.
- [11] 罗茜,周雨馨,马瑞,等. 异源细胞质对小麦雄性不育系主要农艺性状、花粉粒核分裂及花药绒毡层降解的影响[J]. 核农学报,2020,34(8):1631-1644.
- [12] 李玉青,王清连,韦春艳,等. 棉花胞质雄性不育细胞形态学观察及生理生化特性的研究[J]. 西南农业学报,2020,33(1):58-63.
- [13] 郑蕊,岳思君,柳玲,等. 枸杞雄性不育性与游离脯氨酸含量的关系[J]. 安徽农业科学,2009,37(16):7506-7507.
- [14] 苗锦山,杨文才,刘彩霞,等. 葱胞质雄性不育花蕾生化物质含量和能量代谢酶活性的动态变化特征[J]. 西北植物学报,2010,30(6):1142-1148.
- [15] 张雪婷,师尚礼,张小甫. 陇东野生紫花苜蓿的核型分析[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(1):150-157.
- [16] 南丽丽,师尚礼,朱新强,等. 4份苜蓿材料根系形态特征的初步分析[J]. 草原与草坪,2011,31(3):27-31.
- [17] 南丽丽,师尚礼,朱新强,等. 田间越冬期不同根型苜蓿根系的生理生化特性[J]. 核农学报,2011,25(2):369-374.
- [18] 南丽丽,根茎型清水紫花苜蓿根茎性状发生的分子机制研究[P]. 2019-03-27.
- [19] 李智军,谭铭喜,曾晶,等. 黑皮冬瓜小孢子发育与花蕾形态建成的相关性研究[J]. 种子,2021,40(2):35-41.
- [20] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术(第2版)[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [21] Sun Y, Wang J L. Soil Conditioner on Maize Growth and Physiological and Biochemical Index in Saline Soil of Influence Research [J]. Botanical Research, 2019, 8(1): 65-71.
- [22] 陈秀萍,贺漫媚,王伟,等. 高温胁迫对2种兜兰叶片生理生化指标的影响[J]. 中国农学通报,2020,36(28):72-77.
- [23] 付强,陈伟,李江,等. 思茅松花粉活力测定方法研究[J]. 西部林业科学,2020,49(3):7-13.
- [24] 徐义俊. 雄性不育油菜的花器形态[J]. 作物学报,1979,5(3):35-41.
- [25] 张体德,张海洋,郑永战,等. 芝麻细胞核雄性不育系ms86-1的花器形态及小孢子发育的细胞学观察[J]. 中国农学通报,2010,26(23):64-68.
- [26] 宋军,张中华,潘光堂. 苕麻雄性不育材料的生理生化特性初探[J]. 热带亚热带植物学报,2007,15(5):428-432.
- [27] 赵丽丽,吴佳海,陈莹,等. 干旱对高羊茅生理特性的影响及抗旱性评价[J]. 中国草地学报,2015,37(4):15-20.
- [28] 伊凤艳,石凤翎,高翠萍,等. 苜蓿雄性不育株与可育株生理生化特性的比较[J]. 中国草地学报,2014,36(6):60-65.
- [29] 梁艳荣,胡小红,陈源闽,等. 胡萝卜雄性不育系生理生化特性研究[J]. 华北农学报,2006,21(3):19-22.
- [30] 乔晓琳,高庆荣,张爱民,等. 小麦K、V、T、CHA细胞质雄性不育类型的光合特性分析[J]. 作物学报,2006,32(9):1323-1328.
- [31] 朱红芳,侯瑞贤,李晓锋,等. 不结球白菜雄性不育新种质及其保持系的叶绿素荧光参数比较[J]. 上海交通大学学报,2013,31(1):77-81.
- [32] 黄海燕,王瑜,袁庆华,等. 不同抗性苜蓿株叶片感染假盘菌后酶活性的变化[J]. 中国草地学报,2015,37(3):55-59.
- [33] 胡守林,顾明德,王汉全,等. 不同紫花苜蓿品种营养价

- 值分析[J]. 水土保持研究, 2005, 12(4): 217-219.
- [34] 刘莉, 蒋苑, 马静, 等. 水稻细胞质雄性不育花药和叶片中的活性氧代谢研究[J]. 中国农学通报, 2016, 32(12): 6-12.
- [35] 鲁美宏. 白菜型冬油菜细胞质雄性不育材料LRCMS不育特性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
- [36] 刘思嘉. 脯氨酸代谢途径对乌菜细胞质雄性不育系花粉发育的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2018.
- [37] 于分弟, 梁聪耀, 邓廖芬, 等. 番茄温敏型核雄性不育系T-4生理生化指标间的相关及通径分析[J]. 北方园艺, 2012(12): 1-4.

Flower phenotypic and physiological characteristics of Qingshui alfalfa infertility variation material

LI Zi-li, SHI Shang-li*, A Yun, LI Xiao-long, ZHANG Hui-hui

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [Objective] Phenotypic and physiological characteristics of Qingshui alfalfa in fertility variation material (*Medicago sativa* cv. Qingshui) were studied. The objective of this study was to breed male sterile material and support alfalfa hybrid seed production. [Method] One single plant was selected from six strains of materials with different fertility (GN-A1, GN-A2, GN-A3, GN-A4, GN-A5 and GN-A6). Pollens were collected at the full flowering stage for I₂-KI fertility staining, and SS, SP, Pro, CAT, POD, SOD, MDA, chlorophyll content determination of buds and leaves were measured. [Result] GN-A1, GN-A2, GN-A3 and GN-A6 were identified as sterile by I₂-KI staining. GN-A4 and GN-A5 were partially fertile. The number of buds per branch, style length and filaments length of sterile plants were significantly lower than those of fertile plants, while the Alae petals length, keel petals length and calyx length were significantly higher than those of fertile plants. The SS content, flower bud and leaf of male sterile plants were significantly higher than those of partially fertile and fertile plants. The contents of SP, Pro and bud of male sterile plants were significantly lower than those of fertile plants. With the SOD activity, male sterile plants was higher than that of fertile and partially fertile plants, and SOD activity in leaves of male sterile plants was higher than that of fertile plants. The CAT activity of flower buds of sterile and partially fertile plants was significantly lower than that of fertile plants. The correlation analysis of pollen activity and flower bud physiological indexes showed that the dyeing rate was significantly positively correlated with CAT, SP and Pro, but negatively correlated with SOD and SS. [Conclusion] CAT, SP, Pro, SOD and SS were closely correlated with fertility. The SP content, Pro content and CAT activity of flower organs of sterile plants were insufficient, and the physiological metabolic reaction of sterile plants was not obvious in leaves.

Key words: Qingshui alfalfa; sterility; morphology; physiology