

紫花苜蓿育种历史、现状与展望

张帆^{1,2}, 杨青川¹✉

¹ 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193; ² 中国农业科学院农业基因组研究所, 广东深圳 518000

摘要: 紫花苜蓿 (*Medicago sativa* subsp. *sativa* L.) 作为全球最重要的豆科牧草, 因其高产、优质及良好的适应性, 在现代畜牧业和生态系统中扮演着不可替代的角色。然而, 我国的紫花苜蓿产业长期面临着“种业卡脖子”的困境, 其核心在于种质资源创新能力不足、优良自主品种供给率不高等问题。这一挑战的根源, 不仅在于我国苜蓿育种工作起步较晚, 技术体系相对薄弱, 更深层的原因在于紫花苜蓿本身复杂的遗传特性——其同源四倍体的高度杂合性与自交不亲和机制。系统梳理紫花苜蓿的育种历史, 剖析当前研究现状, 并展望未来生物技术育种方向, 对加速我国苜蓿遗传改良具有重要的借鉴意义。紫花苜蓿的驯化与传播历史悠久, 起源于外高加索地区, 经“丝绸之路”引入我国, 并在全球范围内扩散。其遗传多样性的极大丰富, 得益于历史上不同地理来源种质的引入与种间/亚种间杂交, 特别是与抗逆性优良的亚种黄花苜蓿 (*M. sativa* subsp. *falcata*) 的遗传渗入, 为培育适应不同生态区的品种奠定了坚实的遗传基础。以美国为代表的发达国家, 在苜蓿育种领域已建立起一套涵盖种质资源搜集、评价及新品种选育的完整体系, 其发展历程已逾百年。然而, 即便是育种强国, 在 1990 年后其苜蓿产量提升也进入了平台期, 显示出传统育种策略的潜力瓶颈。我国苜蓿育种工作虽取得了长足进步, 成功培育出如“中苜系列”“甘农系列”等一批适应性良好的品种, 但整体仍面临严峻挑战。首先, 品种数量相对匮乏 (截至 2024 年登记品种 128 个, 远少于美国的 1 738 个), 这在很大程度上限制了针对我国多样化生态环境筛选最优品种的能力。其次, 传统育种策略本身也限制了杂种优势的有效利用。以往, 育种家常将不同地理来源的品种进行群体混合与轮回选择, 这虽然在一定程度上聚合了优良基因, 但也导致不同育种群体间的遗传背景趋于相似, 从而削弱了通过杂交产生强优势后代的潜力。因此, 突破传统育种方法的局限, 引入高效的现代生物技术手段, 已成为当前苜蓿育种的必然选择。近年来, 以基因组学为核心的现代生物技术为破解紫花苜蓿育种难题带来了前所未有的机遇。我国在苜蓿基因组学基础研究领域已取得显著成就, 完成了种质资源遗传分析、基因组图谱绘制、关键分子标记鉴定、优质种质资源开发等工作。这些基因组资源为从分子层面解析产量、品质、抗逆性等复杂性状的遗传调控网络提供了可能。展望未来, 我国紫花苜蓿的育种工作应采取传统育种与现代生物技术相结合的策略, 从源头创新走向精准设计的育种 4.0 阶段。整合基因组学、分子标记辅助选择、基因编辑等现代生物技术, 开展精准、高效的分子设计育种, 是解决我国苜蓿种业“卡脖子”问题、实现跨越式发展的核心路径。

关键词: 紫花苜蓿; 分子设计育种; 基因组; 种质资源

The Breeding History, Current Status and Prospects of Alfalfa

ZHANG Fan^{1,2}, YANG QingChuan¹✉

¹Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193; ²Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen, 518000, Guangdong

Abstract: Alfalfa (*Medicago sativa* subsp. *sativa* L.), as the world's most important leguminous forage, plays an indispensable role in modern livestock farming and ecological systems due to its high yield, superior quality, and excellent adaptability. However, China's alfalfa industry has long faced a "bottleneck" in its seed industry, primarily characterized by the insufficient innovation capacity in germplasm resources and a low supply rate of elite proprietary varieties. The root of this challenge lies not only in the relatively late

收稿日期: 2025-02-27; 接受日期: 2025-08-03

基金项目: 国家自然科学基金 (31971758)、中国农业科学院科技创新工程 (ASTIP-IAS14)、中国博士后科学基金 (2023M733832)

联系方式: 张帆, E-mail: zhangfan06@caas.cn. 通信作者杨青川, E-mail: qchyang66@163.com

start and underdeveloped technical framework of alfalfa breeding in China, but also in the complex genetic characters obstacles inherent to alfalfa itself—namely, its autotetraploid nature with high heterozygosity and a self-incompatibility mechanism. Therefore, a systematic review of alfalfa's breeding history, current research status, and a forward-looking perspective on biotechnological breeding is of significant referential value for accelerating genetic improvement in China. The history of alfalfa domestication and spread was extensive. Originating from the Transcaucasus region, it was introduced to China via the "Silk Road" and subsequently spread worldwide. The vast enrichment of its genetic diversity benefited historically from the introduction of germplasm from different geographical origins and inter/intraspecific hybridization, particularly through genetic introgression from the stress-tolerant subspecies, *M. sativa* subsp. *falcata*. This laid a solid genetic foundation for breeding varieties adapted to diverse ecological niches. Developed countries, such as the United States, have established a comprehensive system for alfalfa breeding that covered germplasm collection, evaluation, and new variety development, with a history spanning over a century. Nevertheless, even in the United States, yield improvement plateaued after 1990, revealing the potential limitations of conventional breeding strategies. Although China has made considerable progress in alfalfa breeding, successfully developing adapted varieties, such as the "Zhongmu" and "Gannong" series, the overall effort still faced significant challenges. Firstly, the number of registered varieties is relatively less (128 as of 2024, far fewer than the 1 738 in the U.S.), which severely limits the ability to select optimal varieties for China's diverse ecological environments. Secondly, conventional breeding strategies themselves have constrained the effective utilization of heterosis. Historically, breeders often employed a strategy of population mixing and recurrent selection with varieties from different geographical origins. However, this approach aggregated favorable genes to some extent, and it also led to a homogenization of the genetic backgrounds among different breeding populations, thereby diminishing the potential for generating strong heterosis through subsequent hybridization. Consequently, breaking through the limitations of traditional methods by introducing efficient modern biotechnologies has become an inevitable choice for contemporary alfalfa breeding. In recent years, modern biotechnology centered on genomics has presented unprecedented opportunities to overcome the challenges in alfalfa breeding. China has achieved notable success in foundational genomics research, completing tasks ranging from genetic analysis of germplasm resources and genetic mapping to the key molecular markers and the development of elite germplasm. These genomic resources have made it possible to dissect the genetic regulatory networks of complex traits, such as yield, quality, and stress resistance at the molecular level. Looking ahead, alfalfa breeding in China should adopt a strategy that integrates conventional breeding with modern biotechnology, transitioning from source innovation to the "Breeding 4.0" era of precision design. The integration of modern biotechnologies—including genomics, marker-assisted selection, and gene editing—to conduct precise and efficient molecular design breeding is the core pathway to resolving the "bottleneck" in China's alfalfa seed industry and achieving fast development.

Key words: alfalfa; molecular design breeding; genomics; germplasm

1 国内外研究历史与育种现状

1.1 传播及育种历史

紫花苜蓿最初作为马的饲草,于9 000年前在起源中心附近(近东至东亚地区)开始被栽培^[1-3]。大约2 000年前(公元元年前后),张骞出使西域将紫花苜蓿引入中国,并在“丝绸之路”沿途地区进行种植^[1-4]。在西欧地区,最初由米底斯军队将苜蓿带到希腊,继而传播至意大利,大约2 000年前(罗马帝国时期)传遍整个欧洲,然而,至中世纪时期,苜蓿在欧洲的种植面积却逐渐萎缩。公元8世纪,西班牙的苜蓿由摩尔人从非洲北部重新引入。16世纪之后,苜蓿又开始在欧洲其他地区大范围传播和种植。大约在16世纪大航海时代,苜蓿经由西班牙殖民者进入南美洲;18世纪引入新西兰、澳大利亚和北美洲东部;19

世纪从加利福尼亚引入北美洲西部^[5-8]。

黄花苜蓿的遗传渐渗极大地促进了紫花苜蓿的全球化传播,尤其在提升其抗旱性、越冬性和耐牧性等方面表现突出^[9]。栽培紫花苜蓿最初来源于紫花苜蓿和黄花苜蓿的杂交种,然后经过上千年的改良产生目前的栽培品种^[10]。中国和美国对紫花苜蓿育种历史记录较为清晰,其中北美洲苜蓿种质资源主要来源于20世纪初的全球化引种。从1850—1947年,北美共引入9个来自全球不同地方的重要种质资源(本文结合国内外研究将黄花苜蓿、杂花苜蓿判定为紫花苜蓿复合体的亚种)^[10-11],分别为:黄花苜蓿(*Medicago sativa* subsp. *falcata*),拉达克(*Medicago sativa* subsp. *sativa* Ladak),佛兰德(*Medicago sativa* subsp. *sativa* Flemish),土耳其斯坦(*Medicago sativa* subsp. *sativa* Turkistan),印度(*Medicago sativa* subsp. *sativa* Indian),

非洲 (*Medicago sativa* subsp. *sativa* African), 智利 (*Medicago sativa* subsp. *sativa* Chilean), 秘鲁 (*Medicago sativa* subsp. *sativa* Peruvian) 和杂花苜蓿 (*Medicago sativa* subsp. *varia*)。其中黄花苜蓿、杂花苜蓿、紫花苜蓿品种拉达克和土耳其斯坦是培育紫花苜蓿秋眠性品种的主要种质材料, 因为这些品种主要来自欧亚大陆的北部地区。而源于南部地区的印度、非洲、智利和秘鲁等种质则主要用于培育非秋眠性品种^[9]。这些种质资源的引入, 不仅极大地扩展了紫花苜蓿的遗传多样性, 也为后续多样化育种创造了条件。1955 年是美国苜蓿育种的分水岭; 在 1955 年之前, 美国和加拿大登记的育成品种仅有 33 个, 到 1975 年为 160 个品种, 而到 1993 年, 已经有了 600 个品种。这主要是因为育种公司培育了大量新品种。截至 1993 年, 育种公司培育的品种已经超过 80%^[12]。

苜蓿自 2 000 多年前就在中国丝绸之路沿途栽培, 经过不断的驯化选择, 已形成一批适应于多种生态环境的地方品种^[13]。这些品种主要分布在陕西、甘肃、内蒙古和新疆等地区, 包括具有 2 000 多年栽培历史的关中苜蓿, 耐寒性强的肇东苜蓿, 适于干旱地区种植的陇中苜蓿、敖汉苜蓿等^[1,13]。新中国成立后紫花苜蓿育种经历了快速发展, 通过收集和驯化地方生态型, 引进国外种质资源等多种策略选择和培育新品种, 获得了一批具有本土优势的紫花苜蓿新品种^[13-14]。其中包括甘农系列品种, 草原系列品种, 耐盐高产的中苜 1 号、中苜 3 号等品种, 耐寒的公农 1 号品种等^[14]。此外, 我国拥有丰富的黄花苜蓿种质资源, 其广泛分布于新疆、内蒙古等地。这些种质不仅表现出优良的生物及非生物胁迫抗性, 其遗传信息也已成功渗入到紫花苜蓿的育种进程中, 例如甘农 1 号等杂花苜蓿品种的育成便是一个典型例证^[9, 11-12]。而适宜于高纬度和高海拔地区种植的草原系列杂花苜蓿品种也主要得益于黄花苜蓿的耐寒特性^[15]。

1.2 育种现状

1.2.1 紫花苜蓿育种策略 由于紫花苜蓿具有自交不亲和的特点, 极难通过常规自交产生纯合个体或建立自交系, 因此其产量提升主要依赖于轮回选择和杂种优势的利用。轮回表型选择能够将有益的等位基因富集于一个群体中, 通常, 育种群体首先进行产量和抗病性鉴定, 若抗性表现优良, 则转入田间进行后续的多年份、多地点表型评价, 最后选择最优的个体进行相互杂交产生新群体。在此过程中, 也会同步对品

质及其他目标性状进行筛选, 并导入优异种质以拓宽其遗传基础。杂交能够聚合两个或者多个亲本的优势表型, 因此表现出更好的品种特性即杂种优势, 这对于提升紫花苜蓿产量很有帮助^[16-17]。由于紫花苜蓿无法通过多代自交产生纯合的自交后代, 生产上的替代策略是通过群体杂交或者半同胞杂交来利用后代的杂种优势。利用亚种间的杂种优势是紫花苜蓿育种的常用策略, 通常将紫花苜蓿与黄花苜蓿进行杂交来实现。但是黄花苜蓿的遗传特性对于杂种后代的部分性状具有负面影响, 比如种子产量降低、秋眠性增强等。此外, 黄花苜蓿种质资源大部分为野生状态, 没有经过驯化改良, 因此能够进行杂种优势利用的黄花苜蓿资源较少。杂种优势的另一种重要来源, 是通过杂交秋眠习性存在显著差异的紫花苜蓿群体 (如强秋眠性与弱秋眠性) 而获得^[18]。目前杂种优势利用的主要问题是不同品种间的特殊配合力信息还很不完善, 无法直接从候选材料中筛选出具有高配合力的优良亲本。此外, 之所以难以有效利用杂种优势, 部分原因在于紫花苜蓿传统的育种策略: 即, 将不同地理来源的品种进行群体混合与选育。因此筛选到关键等位基因具有差异的个体比较困难。

1.2.2 美国苜蓿育种现状 以美国为代表的发达国家, 在苜蓿育种领域已建立起一套涵盖种质资源搜集、评价及新品种选育的完整体系, 其发展历程已逾百年。过去的育种目标主要关注提升产量、品质、耐寒性、抗病性和抗虫性等, 但由于多年生紫花苜蓿育种周期长, 产量评价困难, 遗传机制不清晰等问题, 产量提升比较缓慢^[19]。ANNICCHIARICO 等^[20]通过综合分析多项苜蓿品种比较试验的结果, 发现美国紫花苜蓿的年均遗传增益为 0.25%。在虫害严重的地点, 遗传增益每年大约为 0.5%; 而在没有虫害的地方, 遗传增益几乎为零。LAMB 等^[21]比较 1940—1995 年共 50 多年培育的紫花苜蓿品种, 结果发现在病虫害发生严重的地方, 产量提升明显; 而在良好栽培条件下, 产量提升并不明显。根据美国历年主要作物产量统计数据可知, 1990 年之后, 美国紫花苜蓿的产量提升已进入停滞期^[22], 远远落后于玉米、大豆和小麦等作物 (图 1)。

1.2.3 中国苜蓿育种现状 由于我国居民饮食结构长期以水稻和小麦等粮食作物为主, 牛羊肉和奶制品等食物是近年来逐步增加的饮食组分, 因此紫花苜蓿产业仅经历了较短的发展时期, 在育种、栽培、收获及加工等环节仍存在诸多薄弱之处^[23]。中国苜蓿育种

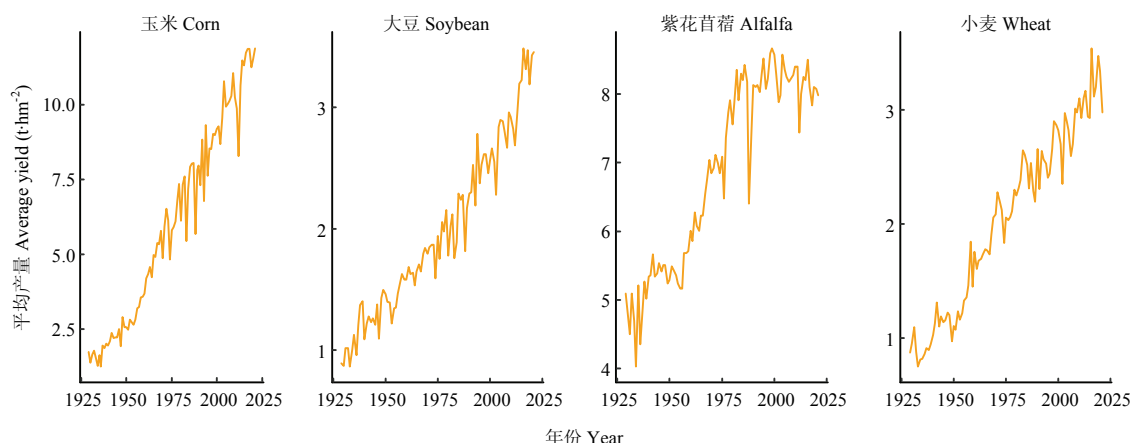


图 1 美国主要作物过去 100 年产量变化图

Fig. 1 The yield improvement of four major crops in America over the past 100 years

从 1950 年逐步开始,到 1980 年进入快速发展时期。截至 2024 年,全国草品种审定委员会已审定登记品种 128 个,其中 64 个育成品种,37 个引入品种,5 个野生栽培品种,22 个地方品种(来自历年数据积累)。这些品种的选育目标主要集中于提升产量、增强综合抗性(包括抗寒、抗病、耐盐及耐牧性)和改善物候期(如早熟性),这极大地丰富了我国的苜蓿种质资源库^[13-14]。目前我国苜蓿主要利用选择育种和杂交育种等方式培育新品种,相比于美国等发达国家的育种策略还有一定的差距^[24]。美国从 1990—2024 年登记的苜蓿品种有 1 738 个^[25]。我国苜蓿品种数量相对匮乏,这在很大程度上限制了针对特定生态环境筛选最优品种的能力,无法达到最大产量和最优品质,因此会制约苜蓿产业的发展。

1.2.4 紫花苜蓿生物育种现状 利用分子生物学手段开展育种工作是一种有效策略,已在多种作物中成功应用^[26]。尽管紫花苜蓿的相关研究已经有很多,但多数仍处于试验阶段^[24,27]。很多与重要性状(如抗旱性、耐盐性、黄萎病抗性等)相关的标记位点已经被鉴定到,也利用基因组选择模型(genomic selection, GS)对产量、品质等重要农艺性状进行了遗传分析^[28]。但是目前并没有直接报道的相关品种,可能这些分子育种手段已经整合进苜蓿育种流程中,只是并未正式发表^[29]。

目前美国应用生物技术手段培育的苜蓿品种主要是转基因苜蓿。然而,由于紫花苜蓿异花授粉的特点,转基因植株在野外难以控制传粉者的影响,目前只有部分品种(29.8%, 36/121, 2024 年品比试验数据)能

够被商业化应用。这些品种主要为抗除草剂(草甘膦除草剂)的 RoundupReady® alfalfa (RRA)系列品种。2024 年美国参与品种比较试验的 RRA 苜蓿品种有 33 个,这些品种休眠级从 3 到 9 级都有^[30]。另外一类是低木质素含量的 HarvXtra® alfalfa 系列品种,这些品种跟传统苜蓿品种相比,木质素含量能够降低 15%,中性洗涤纤维消化率(NDFD)和相对饲用品质(RFQ)能够提高 10%—15%^[31]。2024 年美国参加品种比较试验的 HarvXtra 品种共有 7 个,并且都是抗除草剂品种^[30]。由于管理限制,中国的转基因苜蓿研究并未产生商业品种,但是已经成功培育出一些耐盐性、抗旱性好的转基因品系^[14,24,27]。

2 苜蓿生物育种研究策略与趋势

2.1 中国苜蓿育种具有的优势

2.1.1 种质资源丰富 由于紫花苜蓿具有同源四倍体及自交不亲和等复杂的遗传特性,导致传统杂交育种方法的遗传改良效率低下,进程缓慢。借助分子生物学手段加速改良苜蓿产量、品质等性状,增加生物和非生物抗性等已成为必然方向^[24,32-33]。解析控制产量、品质等复杂性状的遗传调控网络,并鉴定与抗病虫、抗逆等性状相关的关键基因,是进一步改良紫花苜蓿的核心任务。种质资源是发掘重要基因和培育优良品种的基础性材料,野生苜蓿资源对于培育苜蓿新品种具有重要作用,比如经过长期驯化和改良的新疆大叶苜蓿^[14]。我国具有丰富的苜蓿属种质资源,通过野生资源收集和引种等策略,种质库已保存包括 55 个种的 3 979 份苜蓿属种质材

料。另外苜蓿起源中心为中亚和西亚地区, 而我国新疆靠近中亚, 具有丰富的野生苜蓿资源, 新疆苜蓿种质资源总量约占全国的 76.7%^[34]。加强新疆和内蒙古等地区种质资源收集和评价, 有助于筛选到适宜于我国气候条件下生存的种质材料, 挖掘优异性状相关的重要基因。

2.1.2 基因组学研究领先 基因组解析是开展遗传分析的基础, 能够为后续分子生物学研究提供参考依据。我国在苜蓿基因组组装与测序等基础研究领域取得了长足进步, 目前完成了苜蓿属植物紫花苜蓿^[35-37]、蓝花苜蓿^[38-39]、黄花苜蓿^[40]、金花菜^[41]、花苜蓿^[42-43]等物种的参考基因组组装。这些参考基因组的解析, 有助于深入理解苜蓿属植物的遗传特性, 并能够快速阐明其独特的基因组特征, 丰富紫花苜蓿遗传改良的基因库, 为紫花苜蓿的分子育种提供线索。随着测序技术和组装策略的发展, 甘蔗和马铃薯等同源多倍体植物已经组装出高质量的参考基因组^[44-46], 相关组装方法也可用于改进紫花苜蓿的参考基因组, 解析更加完整和准确的紫花苜蓿遗传信息。泛基因组研究同样是理解紫花苜蓿种内变异的有效方法, 目前二倍体马铃薯泛基因组研究鉴定到抗病基因扩张、薯块发育和结构变异的信息, 有助于深入开展马铃薯基因组的遗传解析, 从分子层面筛选重要育种材料^[47]。这些研究策略能够为紫花苜蓿泛基因组研究提供参考依据, 从而为分子设计育种提供理论指导^[48]。

2.1.3 群体遗传学快速发展 群体层面的遗传解析可挖掘重要性状相关的关键变异位点, 通过利用野生资源、地方品种和育成品种等材料, 基于重测序方法可以鉴定出不同品种间具有差异的 SNP, Indel 和结构变异 (structural variations, SV) 等变异信息, 进一步利用全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 和基因组选择等手段可以直接探索表型变异的遗传规律, 鉴定出主要性状关联的遗传位点和候选基因^[49]。我国科学家开展了多个紫花苜蓿杂交群体^[50-51]和自然群体^[36-37, 52]的遗传分析, 鉴定到一批影响产量、品质和抗逆性等性状的遗传位点和候选基因, 有助于后续的基因功能挖掘和分子设计育种工作。比如结合机器学习算法和基因组选择策略, 准确预测了紫花苜蓿秋眠性的变异规律^[53]。利用历史和未来气候数据解析紫花苜蓿气候韧性的遗传机制, 鉴定到 1 671 个紫花苜蓿环境适应性基因, 并提出应对未来气候变化的苜蓿遗传改良策略^[11]。除此之外,

转录组、蛋白组和代谢组等多组学测序技术能够更加深入解析不同性状的遗传特征, 比如结合转录组和代谢组数据能够提升玉米产量预测的准确性^[54]。随着我国紫花苜蓿研究人员的不断壮大, 利用多个群体从不同侧面和不同维度解析苜蓿重要性状的遗传规律, 能够深入理解紫花苜蓿的遗传特性, 精准指导分子设计育种。

2.2 苜蓿育种的主要生物学问题

2.2.1 同源多倍体的遗传机制 多倍化能够完整复制基因组的全部信息, 是植物产生遗传变异的重要手段, 同时为作物驯化提供了遗传资源, 很多作物 (小麦, 棉花, 甘蔗, 马铃薯, 紫花苜蓿等) 都是多倍体物种。由于多倍化涉及基因加倍和丢失、亚基因组间遗传信息交换、表观遗传调控等过程, 会发生分子层面、生理层面及表型层面的变化。因此, 多倍化常伴随着基因组不稳定性, 许多植物在经历多倍化事件后会发生二倍化过程^[55-57]。多倍化的一个显著问题是会导致配子分离的不稳定性, 为了降低这种影响, 多倍体植物会通过采取无性繁殖、形成多年生生长习性, 或者改变交配策略等方式提升繁育能力^[58]。蓝花苜蓿 (*Medicago sativa* subsp. *caerulea*) 是紫花苜蓿的二倍体祖先种, 同样为异花授粉的多年生植物, 但是蓝花苜蓿的分布区域相对更加狭窄。前期研究表明, 紫花苜蓿在土耳其全境都有分布, 而蓝花苜蓿仅分布于土耳其东北部的部分区域^[59], 另外栽培苜蓿基本上都是四倍体形式^[60]。因此, 多倍化赋予了紫花苜蓿更强的环境适应性和更大的生物量等优势性状。而自交不亲和、多年生的遗传特性可能是为了缓冲多倍化对生殖的负面影响。基因组学技术的发展能够从分子层面探讨紫花苜蓿四套同源染色体间的互作关系。近期紫花苜蓿基因组测序结果表明, 不同的基因具有 1—4 份拷贝数的差异^[35, 37], 这暗示多倍化之后基因发生丢失或者产生新功能, 解析这些基因的功能有助于理解紫花苜蓿的进化保守性, 多倍体环境适应性问题, 对于多倍体育种具有指导意义。

2.2.2 自交不亲和的遗传机制 由于四倍体包含更多遗传变异位点, 突变负载是二倍体植株的两倍。但是有害变异位点能够以杂合态存在于基因组中, 避免有害基因的纯合化, 从而保证紫花苜蓿的正常生存。自交会导致有害变异的显性化, 这很可能是紫花苜蓿自交不亲和的原因^[61]。高度杂合的基因组也侧面说明基因组中含有大量的有害变异位点^[35]。值得一提的是, 紫花苜蓿并非完全的自交不亲和, 自交后代仍

然保留 10%—20% 的自交能力^[61], 因此借助群体遗传学和演化基因组学手段检测并去除有害变异具有现实可行性。结合分子标记辅助育种 (marker associated selection, MAS) 策略和表型选择策略能够鉴定有害变异位点。有害等位基因会在自交过程中逐步从杂合状态变为纯合态, 导致植株生存能力变差。利用 MAS 方法可以将有害等位基因在杂合子阶段提前清除, 从而保证自交后代的生存能力。通过这种方式有可能获得紫花苜蓿的纯合自交系^[61]。目前在马铃薯研究中已经初步解决了自交不亲和的问题^[62-63], 可以利用基因编辑技术敲除自交不亲和基因^[62], 同时基于多个无性系材料可以鉴定有害变异并筛选自交不亲和基因^[63]。由于生产应用的紫花苜蓿和马铃薯都是同源四倍体, 马铃薯研究从基因编辑自交不亲和基因, 到利用分子育种手段培育马铃薯新品种的研究策略, 为苜蓿分子育种研究提供了参考方法。不过紫花苜蓿和马铃薯仍然具有一定的差异性, 比如二倍体马铃薯占全部马铃薯种质资源的 70%^[64], 而二倍体紫花苜蓿 (蓝花苜蓿) 仅占全部紫花苜蓿种质资源的一小部分。美国种质资源库包括二倍体紫花苜蓿 100 份, 四倍体紫花苜蓿 3 821 份, 二倍体紫花苜蓿占比 3% (USDA database)^[65]。欧洲种质资源库包括二倍体紫花苜蓿 70 份, 四倍体紫花苜蓿 7 734 份, 二倍体紫花苜蓿占比 0.9% (EURISCO database)^[66]。中国种质库包括二倍体紫花苜蓿 47 份, 四倍体紫花苜蓿 3 227 份, 二倍体紫花苜蓿占比 1.5%^[34]。因此直接从二倍体紫花苜蓿中筛选出产量等性状和四倍体紫花苜蓿相当的种质资源比较困难, 这将会限制二倍体苜蓿在生产中的应用。另外马铃薯自交不亲和基因 *S-RNase* 在前期研究中已经被成功鉴定, 而紫花苜蓿的自交不亲和基因目前仍未见报道。因此紫花苜蓿研究仍然需要考虑物种特异性和生产应用价值。虽然紫花苜蓿获得自交系的策略可能跟马铃薯具有一定的差异, 但是首先鉴定自交不亲和基因, 获得具有自交能力的个体, 然后鉴定有害突变和偏分离位点, 产生纯合的自交系, 该总体思路为革新紫花苜蓿的育种策略指明了方向。

2.3 借助模式植物辅助开发优异种质

蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula*) 和紫花苜蓿都是苜蓿属的植物, 二者亲缘关系相近, 约在 500 万年前发生物种分化^[35-36]。蒺藜苜蓿是一种自花授粉的二倍体模式植物, 具有很好的研究基础和丰富的突变体资源, 利用蒺藜苜蓿开展重要性状的遗传解析, 然后将

关键基因用于紫花苜蓿的遗传改良是改进育种的有效方法。YU 等^[67]利用紫花苜蓿进行黄萎病抗性的 GWAS 研究, 鉴定到 8 号染色体的 1 个 SNP 位点的候选区间具有抗病基因 *TIR-NBS-LRR* (toll interleukin1 receptor-nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein)。进一步利用蒺藜苜蓿研究 GWAS 候选区间的基因发现两个连锁的 *TIR-NBS-LRR* (*MsVR38* 和 *MsVR39*)。蒺藜苜蓿突变体研究发现这两个同源基因分别会导致黄萎病抗性的降低和增强。进一步分析发现这两个基因同时表达会产生异二聚体, 降低黄萎病抗性^[68]。YE 等^[69]通过同源比对的方式鉴定到蒺藜苜蓿中的雄性不育基因 *MtNPI*, 结合基因表达分析和基因编辑工具获得蒺藜苜蓿雄性不育系, 进而将雄性不育基因进行基因编辑获得紫花苜蓿的雄性不育系。该研究利用蒺藜苜蓿自花授粉的特点, 可通过表型鉴定筛选雄性不育个体, 进一步将成熟经验直接用于产生紫花苜蓿雄性不育系, 避开紫花苜蓿四倍体和自交不亲和导致的研究困难点。除此之外, 一些生产应用的重要基因也是首先在蒺藜苜蓿中被明确功能, 然后用于紫花苜蓿的遗传改良^[70]。比如, 利用 *PLP* 减少紫花苜蓿叶片脱落^[71], 利用 *SPL8* 增加紫花苜蓿产量^[72], 利用 *SGR* 保持紫花苜蓿叶片绿色^[73], 利用 *MsFTa1* 增加紫花苜蓿品质^[74]等。此外, 还有生物固氮、种子发育和非生物胁迫抗性等相关基因的大量研究^[75]。值得注意的是, 产量和品质等复杂性状往往由多个基因控制, 很难通过导入一个或者少数几个基因提升个体的整体性状, 因此需要明确不同基因间的复杂调控网络, 进而协同改良紫花苜蓿^[37, 76]。

2.4 苜蓿育种的研究方向

紫花苜蓿育种的目标是产量高、品质好、木质素含量低、抗逆性强、抗病虫害、耐除草剂、养分高效利用、适合机械化收获等。通过整合分子生物学理论与传统育种经验, 从分子机制解析和田间应用验证两个层面协同开展育种工作, 培育具有产量高、品质好、抗逆性和环境韧性强的“理想苜蓿”新品种, 将有利于加快我国苜蓿育种的发展, 从根本上解决优良品种自主供给率不高、核心种质资源创制能力不足等“卡脖子”问题。

相较于粮食作物的生物育种研究成果, 紫花苜蓿相关工作仍然具有很大的差距^[33]。通过梳理紫花苜蓿的驯化和育种历史, 借鉴主要粮食作物的分子育种经验, 能够为紫花苜蓿育种提供借鉴意义 (图 2)。

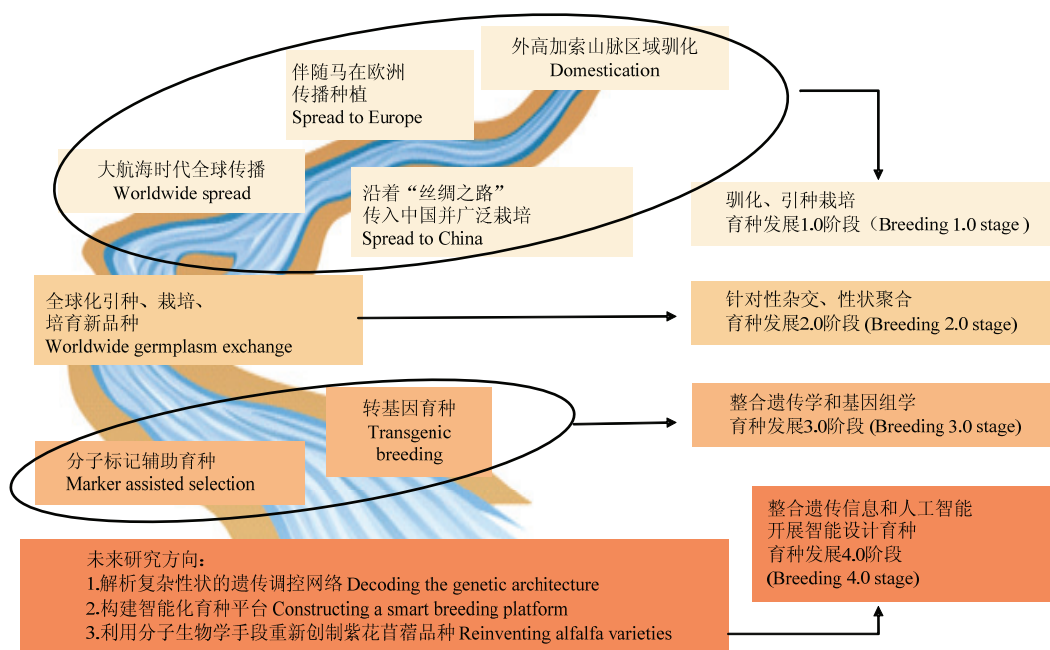


图 2 紫花苜蓿不同发展阶段的育种策略

Fig. 2 The alfalfa breeding strategy in different stages

分子生物学的优势是从源头解析表型变异的原因，更容易通过分子设计的方式聚合有利基因，产生优异品种。为实现上述目标，以下几个研究方向值得重点关注：

(1) 集中国内优势单位构建苜蓿多组学数据库，解析控制农艺性状变异的关键遗传位点，挖掘控制重要性状（产量、木质素、蛋白含量、抗病虫性等）的关键基因和调控网络。

(2) 建立表型自动化选育平台，结合机器学习等算法进行基因组选择育种。综合利用遗传调控网络开展苜蓿全基因组设计育种，构建智能化分子育种体系。

(3) 解析驯化过程中的遗传规律，结合群体遗传学和基因编辑等手段，创制二倍体纯系苜蓿材料，进而通过全基因组加倍获得纯合多倍体苜蓿。从头再驯化紫花苜蓿，创新苜蓿品种培育方式。

传统育种方法仍然需要着重关注，结合表型选育、杂交育种和分子标记辅助育种手段，综合利用国内外现有品种资源和野生材料，培育针对不同地域和气候环境的优质高产品种，包括抗旱、耐盐、耐寒和抗病虫等品种，有助于加快缓解我国苜蓿品种不足的问题。

参考文献 References

- [1] 杨青川, 孙彦. 中国苜蓿育种的历史、现状与发展趋势. 中国草地学报, 2011, 33(6): 95-101.
YANG Q C, SUN Y. The history, current situation and development of alfalfa breeding in China. Chinese Journal of Grassland, 2011, 33(6): 95-101. (in Chinese)
- [2] 杨青川. 苜蓿种植区划及品种指南. 北京: 中国农业大学出版社, 2012.
YANG Q C. Guide for Alfalfa Planting Zone and Cultivar. Beijing: China Agricultural University Press, 2012. (in Chinese)
- [3] SMALL E. Alfalfa and Relatives: Evolution and Classification of Medicago. Ottawa: NRC Research Press, 2011.
- [4] 孙启忠, 柳茜, 陶雅, 徐丽君. 张骞与汉代苜蓿引入考述. 草业学报, 2016, 25(10): 180-190.
SUN Q Z, LIU Q, TAO Y, XU L J. Textual research of the relationship between Zhang Qian and the introduction of alfalfa to China during the Han Dynasty. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(10): 180-190. (in Chinese)
- [5] PROSPERI J M, JENCZEWSKI E, MULLER M H, FOURTIER S, SAMPOUX J P, RONFORT J. Alfalfa domestication history, genetic diversity and genetic resources. Legume Perspectives, 2014, 4: 13-14.

- [6] SMÝKAL P, COYNE C J, AMBROSE M J, MAXTED N, SCHAEFER H, BLAIR M W, BERGER J, GREENE S L, NELSON M N, BESHARAT N, *et al.* Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2015, 34(1/2/3): 43-104.
- [7] BOE A, KEPHART K D, BERDAHL J D, PEEL M D, BRUMMER E C, XU L, WU Y J. Breeding alfalfa for semiarid regions in the northern Great Plains: History and additional genetic evaluations of novel germplasm. *Agronomy*, 2020, 10(11): 1686.
- [8] QUIROS C F, BAUCHAN G R. The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* Comp. *Alfalfa and Alfalfa Improvement*. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 2015: 93-124.
- [9] BARNES D K, BINGHAM E T, MURPHY R P, HUNT O J, BEARD D F, SKRDLA W H, TEUBER L R. Alfalfa germplasm in the United States: Genetic vulnerability, use, improvement, and maintenance. United States Department of Agricultural, 1977.
- [10] ŞAKIROĞLU M, İLHAN D. *Medicago sativa* species complex: Revisiting the century-old problem in the light of molecular tools. *Crop Science*, 2021, 61(2): 827-838.
- [11] ZHANG F, LONG R C, MA Z Y, XIAO H, XU X D, LIU Z J, WEI C X, WANG Y W, PENG Y L, YANG X W, *et al.* Evolutionary genomics of climatic adaptation and resilience to climate change in alfalfa. *Molecular Plant*, 2024, 17(6): 867-883.
- [12] MELTON B. The process of breeding new alfalfa cultivars. In *Proceedings of the 1993 23rd California Alfalfa Symposium*, Davis: University of California. 1993.
- [13] 师尚礼, 南丽丽, 郭全恩. 中国苜蓿育种取得的成就及展望. *植物遗传资源学报*, 2010, 11(1): 46-51.
SHI S L, NAN L L, GUO Q E. Achievements and prospect of alfalfa breeding in China. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2010, 11(1): 46-51. (in Chinese)
- [14] SHI S L, NAN L L, SMITH K F. The current status, problems, and prospects of alfalfa (*Medicago sativa* L.) breeding in China. *Agronomy*, 2017, 7(1): 1.
- [15] 吴永敷, 云锦凤, 马鹤林. “草原一号”与“草原二号”苜蓿新品种选育. *草与畜杂志*, 1987, 7(6): 37.
WU Y F, YUN J F, MA H L. Breeding of new alfalfa varieties “grassland No.1” and “grassland No.2”. *China Herbivore Science*, 1987, 7(6): 37. (in Chinese)
- [16] SRIWATANAPONGSE S, WILSIE C P. Intra- and intervariety crosses of *Medicago sativa* L. and *Medicago falcata* L.. *Crop Science*, 1968, 8(4): crops1968.0011183X000800040021x.
- [17] BUSBICE T H, RAWLINGS J O. Combining ability in crosses within and between diverse groups of alfalfa introductions. *Euphytica*, 1974, 23(1): 86-94.
- [18] BRUMMER E C. Capturing heterosis in forage crop cultivar development. *Crop Science*, 1999, 39(4): crops1999.0011183X003900040001x.
- [19] LI X H, BRUMMER E C. Applied genetics and genomics in alfalfa breeding. *Agronomy*, 2012, 2(1): 40-61.
- [20] ANNICCHIARICO P, BARRETT B, BRUMMER E C, JULIER B, MARSHALL A H. Achievements and challenges in improving temperate perennial forage legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2015, 34(1/2/3): 327-380.
- [21] LAMB J F S, SHEAFFER C C, RHODES L H, SULC R M, UNDERSANDER D J, BRUMMER E C. Five decades of alfalfa cultivar improvement: Impact on forage yield, persistence, and nutritive value. *Crop Science*, 2006, 46(2): 902-909.
- [22] USDA. Crop Production Historical Track Records. United States Department of Agriculture, National Agricultural Statistics Service, 2022:1-272.
- [23] 谢华玲, 杨艳萍, 董瑜, 王台. 苜蓿国际发展态势分析. *植物学报*, 2021, 56(6): 740-750.
XIE H L, YANG Y P, DONG Y, WANG T. Analysis on international development trends of alfalfa. *Chinese Bulletin of Botany*, 2021, 56(6): 740-750. (in Chinese)
- [24] 刘志鹏, 刘文献, 杨青川, 张博, 王增裕, 郭振飞, 付春祥, 林浩, 张志强, 黄琳凯, 等. 我国牧草育种进展及存在问题. *中国科学基金*, 2023, 37(4): 528-536.
LIU Z P, LIU W X, YANG Q C, ZHANG B, WANG Z Y, GUO Z F, FU C X, LIN H, ZHANG Z Q, HUANG L K, *et al.* Progress and existing problems of forage breeding in China. *Bulletin of National Natural Science Foundation of China*, 2023, 37(4): 528-536. (in Chinese)
- [25] AOSCA alfalfa VRB variety list index [<https://aosca.org/alfalfa-index/>].
- [26] 吴元龙, 惠风娇, 潘振远, 尤春源, 林海荣, 李志博, 金双侠, 聂新辉. 后基因组时代发展抗除草剂作物的机遇及挑战. *中国农业科学*, 2023, 56(17): 3285-3301. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2023.17.005.
WU Y L, HUI F J, PAN Z Y, YOU C Y, LIN H R, LI Z B, JIN S X, NIE X H. Opportunities and challenges for developing herbicide-resistance crops in the post-genomic era. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(17): 3285-3301. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2023.17.005. (in Chinese)
- [27] YE Q Y, ZHOU C E, LIN H, LUO D, JAIN D, CHAI M F, LU Z C,

- LIU Z P, ROY S, DONG J L, WANG Z Y, WANG T. *Medicago*2035: Genomes, functional genomics, and molecular breeding. *Molecular Plant*, 2025, 18(2): 219-244.
- [28] YU L-X, KOLE C. *The Alfalfa Genome*. Cham: Springer International Publishing, 2021.
- [29] Advancing Alfalfa Breeding and Production Research [<https://www.ars.usda.gov/research/annual-report-on-science-accomplishments/fy-2019/advancing-alfalfa-breeding-and-production-research/>]
- [30] Alfalfa variety ratings 2025 [https://www.alfalfa.org/pdf/2025_Alfalfa_Variety_Leaflet.pdf]
- [31] BARROS J, TEMPLE S, DIXON R A. Development and commercialization of reduced lignin alfalfa. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 56: 48-54.
- [32] 金京波, 王台, 程佑发, 王雷, 张景昱, 景海春, 种康. 我国牧草育种现状与展望. *中国科学院院刊*, 2021, 36(6): 660-665.
- JIN J B, WANG T, CHENG Y F, WANG L, ZHANG J Y, JING H C, CHONG K. Current situation and prospect of forage breeding in China. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2021, 36(6): 660-665. (in Chinese)
- [33] 刘志鹏, 周强, 刘文献, 张吉宇, 谢文刚, 方龙发, 王彦荣, 南志标. 中国牧草育种中的若干科学问题. *草业学报*, 2021, 30(12): 184-193.
- LIU Z P, ZHOU Q, LIU W X, ZHANG J Y, XIE W G, FANG L F, WANG Y R, NAN Z B. Some scientific issues of forage breeding in China. *Acta Prataculturae Sinica*, 2021, 30(12): 184-193. (in Chinese)
- [34] 陈志宏, 李新一, 王加亭, 赵金梅. 中国苜蓿种质资源保护及创新利用. *种子*, 2020, 39(5): 59-63.
- CHEN Z H, LI X Y, WANG J T, ZHAO J M. Conservation and innovative utilization of alfalfa germplasm resources in China. *Seed*, 2020, 39(5): 59-63. (in Chinese)
- [35] CHEN H T, ZENG Y, YANG Y Z, HUANG L L, TANG B L, ZHANG H, HAO F, LIU W, LI Y H, LIU Y B, *et al.* Allele-aware chromosome-level genome assembly and efficient transgene-free genome editing for the autotetraploid cultivated alfalfa. *Nature Communications*, 2020, 11: 2494.
- [36] SHEN C, DU H L, CHEN Z, LU H W, ZHU F G, CHEN H, MENG X Z, LIU Q W, LIU P, ZHENG L H, LI X X, DONG J L, LIANG C Z, WANG T. The chromosome-level genome sequence of the autotetraploid alfalfa and resequencing of core germplasms provide genomic resources for alfalfa research. *Molecular Plant*, 2020, 13(9): 1250-1261.
- [37] LONG R C, ZHANG F, ZHANG Z W, LI M N, CHEN L, WANG X, LIU W W, ZHANG T J, YU L X, HE F, *et al.* Genome assembly of alfalfa cultivar Zhongmu-4 and identification of SNPs associated with agronomic traits. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2022, 20(1): 14-28.
- [38] LI A, LIU A, DU X, CHEN J Y, YIN M, HU H Y, SHRESTHA N, WU S D, WANG H Q, DOU Q W, *et al.* A chromosome-scale genome assembly of a diploid alfalfa, the progenitor of autotetraploid alfalfa. *Horticulture Research*, 2020, 7: 194.
- [39] SHI K, DONG H B, DU H L, LI Y X, ZHOU L, LIANG C Z, ŞAKIROĞLU M, WANG Z. The chromosome-level assembly of the wild diploid alfalfa genome provides insights into the full landscape of genomic variations between cultivated and wild alfalfa. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 22(6): 1757-1772.
- [40] LI W Y, LI X Z, LI W, YANG H B, GUO D D, GUO T, MENG Y Y, HE Q, LIN H, DU H L, NIU L F. A haplotype-resolved genome assembly of tetraploid *Medicago sativa* ssp. *falcata*. *Science China Life Sciences*, 2025, 68(4): 1186-1189.
- [41] CUI J W, LU Z G, WANG T Y, CHEN G, MOSTAFA S, REN H L, LIU S A, FU C X, WANG L, ZHU Y F, *et al.* The genome of *Medicago polymorpha* provides insights into its edibility and nutritional value as a vegetable and forage legume. *Horticulture Research*, 2021, 810.1038: s41438-21-00483-5.
- [42] YIN M, ZHANG S Z, DU X, MATEO R G, GUO W, LI A, WANG Z Y, WU S, CHEN J Y, LIU J Q, REN G P. Genomic analysis of *Medicago ruthenica* provides insights into its tolerance to abiotic stress and demographic history. *Molecular Ecology Resources*, 2021, 21(5): 1641-1657.
- [43] WANG T Z, REN L F, LI C H, ZHANG D, ZHANG X X, ZHOU G, GAO D, CHEN R J, CHEN Y H, WANG Z L, *et al.* The genome of a wild *Medicago* species provides insights into the tolerant mechanisms of legume forage to environmental stress. *BMC Biology*, 2021, 19(1): 96.
- [44] HUANG X H, HUANG S W, HAN B, LI J Y. The integrated genomics of crop domestication and breeding. *Cell*, 2022, 185(15): 2828-2839.
- [45] ZHANG Q, QI Y Y, PAN H R, TANG H B, WANG G, HUA X T, WANG Y J, LIN L Y, LI Z, LI Y H, *et al.* Genomic insights into the recent chromosome reduction of autopolyploid sugarcane *Saccharum spontaneum*. *Nature Genetics*, 2022, 54(6): 885-896.

- [46] BAO Z G, LI C H, LI G C, WANG P, PENG Z, CHENG L, LI H B, ZHANG Z Y, LI Y Y, HUANG W, *et al.* Genome architecture and tetrasomic inheritance of autotetraploid potato. *Molecular Plant*, 2022, 15(7): 1211-1226.
- [47] TANG D, JIA Y X, ZHANG J Z, LI H B, CHENG L, WANG P, BAO Z G, LIU Z H, FENG S S, ZHU X J, *et al.* Genome evolution and diversity of wild and cultivated potatoes. *Nature*, 2022, 606(7914): 535-541.
- [48] HE F, CHEN S, ZHANG Y Y, CHAI K, ZHANG Q, KONG W L, QU S Y, CHEN L, ZHANG F, LI M N, *et al.* Pan-genomic analysis highlights genes associated with agronomic traits and enhances genomics-assisted breeding in alfalfa. *Nature Genetics*, 2025, 57(5): 1262-1273.
- [49] HUANG X H, HAN B. Natural variations and genome-wide association studies in crop plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 65: 531-551.
- [50] ZHANG F, KANG J M, LONG R C, YU L X, WANG Z, ZHAO Z X, ZHANG T J, YANG Q C. High-density linkage map construction and mapping QTL for yield and yield components in autotetraploid alfalfa using RAD-seq. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 165.
- [51] ZHANG F, KANG J M, LONG R C, YU L X, SUN Y, WANG Z, ZHAO Z X, ZHANG T J, YANG Q C. Construction of high-density genetic linkage map and mapping quantitative trait loci (QTL) for flowering time in autotetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.) using genotyping by sequencing. *The Plant Genome*, 2020, 13(3): e20045.
- [52] 陈彩锦, 马琳, 包明芳, 张国辉, 蒋庆雪, 杨天辉, 王川, 王晓春, 高婷, 王学敏, 刘文辉. 111 份紫花苜蓿种质资源萌发期抗旱性鉴定评价. *中国农业科学*, 2025, 58(10): 1896-1907. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2025.10.003.
- CHEN C J, MA L, BAO M F, ZHANG G H, JIANG Q X, YANG T H, WANG C, WANG X C, GAO T, WANG X M, LIU W H. Identification and evaluation of drought resistance for 111 germplasm resources of alfalfa during germination stage. *Scientia Agricultura Sinica*, 2025, 58(10): 1896-1907. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2025.10.003. (in Chinese)
- [53] ZHANG F, KANG J M, LONG R C, LI M N, SUN Y, HE F, JIANG X Q, YANG C F, YANG X J, KONG J, *et al.* Application of machine learning to explore the genomic prediction accuracy of fall dormancy in autotetraploid alfalfa. *Horticulture Research*, 2023, 10(1): uhac225.
- [54] YANG W Y, GUO T T, LUO J Y, ZHANG R Y, ZHAO J R, WARBURTON M L, XIAO Y J, YAN J B. Target-oriented prioritization: Targeted selection strategy by integrating organismal and molecular traits through predictive analytics in breeding. *Genome Biology*, 2022, 23(1): 80.
- [55] BADUEL P, BRAY S, VALLEJO-MARIN M, KOLÁŘ F, YANT L. The “polyploid hop”: Shifting challenges and opportunities over the evolutionary lifespan of genome duplications. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2018, 6: 117.
- [56] VAN DE PEER Y, MIZRACHI E, MARCHAL K. The evolutionary significance of polyploidy. *Nature Reviews Genetics*, 2017, 18(7): 411-424.
- [57] ADAMS K L, WENDEL J F. Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(2): 135-141.
- [58] OTTO S P. The evolutionary consequences of polyploidy. *Cell*, 2007, 131(3): 452-462.
- [59] SMALL E, BAUCHAN G R. Chromosome numbers of the *Medicago sativa* complex in Turkey. *Canadian Journal of Botany*, 1984, 62(4): 749-752.
- [60] VERONESI F, BRUMMER E C, HUYGHE C. Alfalfa. Fodder Crops and Amenity Grasses. New York, NY: Springer New York, 2010: 395-437.
- [61] PARAJULI A, YU L X, PEEL M, SEE D, WAGNER S, NORBERG S, ZHANG Z W. Self-incompatibility, inbreeding depression, and potential to develop inbred lines in alfalfa. *The Alfalfa Genome*. Cham: Springer International Publishing, 2021: 255-269.
- [62] YE M W, PENG Z, TANG D, YANG Z M, LI D W, XU Y M, ZHANG C Z, HUANG S W. Generation of self-compatible diploid potato by knockout of S-RNase. *Nature Plants*, 2018, 4(9): 651-654.
- [63] ZHANG C Z, WANG P, TANG D, YANG Z M, LU F, QI J J, TAWARI N R, SHANG Y, LI C H, HUANG S W. The genetic basis of inbreeding depression in potato. *Nature Genetics*, 2019, 51(3): 374-378.
- [64] SPOONER D M, GHISLAIN M, SIMON R, JANSKY S H, GAVRILENKO T. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *The Botanical Review*, 2014, 80(4): 283-383.
- [65] USDA National Plant Germplasm System database [<https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomydetail?id=104921>]
- [66] Europe Cooperative Programme for Plant Genetic Resources [https://eurisco.ipk-gatersleben.de/apex/eurisco_ws/t/eurisco/home]

- [67] YU L X, ZHENG P, ZHANG T J, RODRIGUEZ J, MAIN D. Genotyping-by-sequencing-based genome-wide association studies on *Verticillium* wilt resistance in autotetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Molecular Plant Pathology*, 2017, 18(2): 187-194.
- [68] LIN S, NIU Y, AUGUSTO MEDINA C, YU L X. Two linked resistance genes function divergently in defence against *Verticillium* Wilt in Alfalfa. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(4): 619-621.
- [69] YE Q Y, MENG X Z, CHEN H, WU J L, ZHENG L H, SHEN C, GUO D, ZHAO Y F, LIU J L, XUE Q X, DONG J L, WANG T. Construction of genic male sterility system by CRISPR/Cas9 editing from model legume to alfalfa. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(4): 613-615.
- [70] 曾祥翠, 杨永念, 李如月, 蒋学乾, 蒋旭, 徐嫣然, 刘忠宽, 龙瑞才, 康俊梅, 杨青川, 李明娜. 紫花苜蓿 MsCEP 基因家族的鉴定及其调控根系生长发育功能的分析. *中国农业科学*, 2024, 57(24): 4839-4853. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2024.24.002.
- ZENG X C, YANG Y N, LI R Y, JIANG X Q, JIANG X, XU Y R, LIU Z K, LONG R C, KANG J M, YANG Q C, LI M N. Identification of alfalfa(*Medicago sativa*) MsC EP genes and functional analysis of its regulation in root growth and development. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(24): 4839-4853. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2024.24.002. (in Chinese)
- [71] DU J, LU S Y, CHAI M F, ZHOU C E, SUN L, TANG Y H, NAKASHIMA J, KOLAPE J, WEN Z Z, BEHZADIRAD M, *et al.* Functional characterization of PETIOLULE-LIKE *PULVINUS* (PLP) gene in abscission zone development in *Medicago truncatula* and its application to genetic improvement of alfalfa. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(2): 351-364.
- [72] GOU J Q, DEBNATH S, SUN L, FLANAGAN A, TANG Y H, JIANG Q Z, WEN J Q, WANG Z Y. From model to crop: Functional characterization of SPL8 in *M. Truncatula* led to genetic improvement of biomass yield and abiotic stress tolerance in alfalfa. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(4): 951-962.
- [73] ZHOU C E, HAN L, PISLARIU C, NAKASHIMA J, FU C X, JIANG Q Z, QUAN L, BLANCAFLOR E B, TANG Y H, BOUTON J H, *et al.* From model to crop: functional analysis of a STAY-GREEN gene in the model legume *Medicago truncatula* and effective use of the gene for alfalfa improvement. *Plant Physiology*, 2011, 157(3): 1483-1496.
- [74] LORENZO C D, GARCÍA-GAGLIARDI P, ANTONIETTI M S, SÁNCHEZ-LAMAS M, MANCINI E, DEZAR C A, VAZQUEZ M, WATSON G, YANOVSKY M J, CERDÁN P D. Improvement of alfalfa forage quality and management through the down-regulation of MsFTa₁. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(4): 944-954.
- [75] KANG Y, LI M, SINHAROY S, VERDIER J. A snapshot of functional genetic studies in *Medicago truncatula*. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1175.
- [76] KHAIPHOBURCH M, COOPER M, CROSSA J, DE LEON N, HOLLAND J, LEWIS R, MCCOUCH S, MURRAY S C, RABBI I, RONALD P, *et al.* Genetic modification can improve crop yields: But stop overselling it. *Nature*, 2023, 621(7979): 470-473.

(责任编辑 林鉴非)