

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.02.001

引用格式:刘睿超,于林清,任慧敏,等.苜蓿花期调控研究进展及育种展望[J].草地学报,2026,34(2):377-391

LIU Rui-chao, YU Lin-qing, REN Hui-min, et al. Research Advances and Breeding Prospects on Alfalfa Flowering Time Regulation[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(2): 377-391

苜蓿花期调控研究进展及育种展望

刘睿超, 于林清*, 任慧敏, 武啸峰, 崔乐乐

(牧草与特色作物生物学教育部重点实验室, 内蒙古大学生命科学学院, 内蒙古呼和浩特 010000)

摘要:苜蓿(*Medicago sativa* L.)是全球重要的豆科牧草,因其生物量高,营养价值高,适应性强,适口性好而被广泛种植和利用。开花时间是苜蓿生育期的关键阶段,直接影响牧草产量及品质。但是,由于环境因素和遗传特性不同,苜蓿花期常表现出较大的差异性,影响其生产栽培和收获效率。近年来,学术界在分子生物学研究方向取得了一定的研究进展,揭示了光周期、温度、激素等因素对开花基因表达的调控机制。目前我国在苜蓿花期研究方面仍存在基础研究薄弱、育种技术落后、品种花期不规范等问题。本文综述了苜蓿花期调控的研究进展,探讨了影响苜蓿花期的生态因子及基因调控机制,并提出了未来育种和栽培管理的优化策略,以期苜蓿高产优质育种和可持续利用提供理论支持和实践指导。

关键词:苜蓿;开花时间;生育期;开花基因;育种

中图分类号:S551+.7

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)02-0377-15

Research Advances and Breeding Prospects on Alfalfa Flowering Time Regulation

LIU Rui-chao, YU Lin-qing*, REN Hui-min, WU Xiao-feng, CUI Le-le

(Key Laboratory of Forage and Special Crop Biology, Ministry of Education, College of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot, Inner Mongolia 010000, China)

Abstract: Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is a globally important leguminous forage crop, widely cultivated and utilized due to its high biomass yield, nutritional value, strong adaptability, and excellent palatability. Flowering time is a critical stage in alfalfa growth cycle, directly affecting forage yield and quality. However, variations in environmental factors and genetic characteristics often lead to significant differences in flowering time, which in turn affecting its production, cultivation, management, and harvesting efficiency. In recent years, significant progresses have been made in the field of molecular biology, revealing the regulatory mechanisms of flowering gene expression was influenced by photoperiod, temperature and hormones. However, in China, the research on alfalfa flowering time regulation remains insufficient, with challenges including weak basic research, outdated breeding techniques, and inconsistent flowering periods among cultivars. This review summarizes the recent advances in the regulation of alfalfa flowering time, explores the ecological factors and genetic mechanisms influencing flowering, and proposes future optimization strategies for breeding and cultivation management. The aim is to provide theoretical support and practical guidance for high-yield, high-quality alfalfa breeding and sustainable utilization.

Key words: Alfalfa; Flowering time; Growth cycle; Flowering genes; Breeding

苜蓿(*Medicago sativa* L.)作为全球广泛种植的重要豆科牧草,因其高产、优质和固氮能力而备受关注。在适宜的温度、光周期等环境条件下,开

花是有性繁殖成功以及种子产量的先决条件,也是植物育种家所关注的农艺性状^[1]。开花期是苜蓿生育期中的关键阶段,不仅直接影响种子的产量、品

收稿日期:2025-03-13;修回日期:2025-05-23

基金项目:内蒙古自治区科技计划项目“河套地区苜蓿抗旱耐盐碱品种筛选及其配套优质丰产栽培技术研究与示范”(2023YFHH0083);内蒙古自治区“揭榜挂帅”项目“优质苜蓿新品种选育及产业化示范”(2022JBGS0020);“科技创新 2030—重大项目子课题”(2022ZD040110302)资助

作者简介:刘睿超(1997-),女,汉族,内蒙古巴彦淖尔人,硕士研究生,主要从事牧草育种研究,E-mail:liuruichaonnd@163.com;*通信作者 Author for correspondence, E-mail: linqing_yu126@.com

质及植株的再生能力,还影响其适应性和生态分布,因此,控制开花时间有助于优化植物生物量和对不同环境条件的适应性^[2]。苜蓿的生育期涵盖种子萌发^[3]、幼苗生长^[4]、营养积累^[5]、生殖发育及休眠再生等阶段^[6],其中从营养阶段到生殖阶段的转变是非常重要的阶段^[7],花期提前会导致养分更多分配给花器发育,从而减少叶片和茎的生长,降低生物量;反之,花期过晚可能延长营养生长期,影响全季的总收获量^[8]。另外不同的环境胁迫(如干旱、盐分和温度)会影响苜蓿的生理特性^[9],部分研究揭示了不同阶段的生理响应机制^[10],如光合作用变化、渗透调节物质积累以及根际微生物的作用^[11-16]。总体来看,这些研究为优化苜蓿栽培管理、提高其抗逆性和饲用品质提供了重要的理论和实践依据,有助于优化栽培管理和育种策略。但是选育工作不到位导致苜蓿花期不整齐,影响其产量和品质。目前对于开花调控分子机理的关注主要集中在拟南芥、水稻、小麦等模式植物中,对多年生牧草的开花研究很少,主要集中在栽培管理和环境因素对苜蓿生长的影响上,但最新研究发现利用CRISPR/Cas9技术编辑苜蓿的开花位点导致牧草开花时间延迟,可以提高其生物产量和品质^[17]。相比之下,国外研究更注重通过分子生物学手段解析苜蓿开花时间的调控机制,如光周期、温度和激素等因素对开花基因表达的影响^[18-22]。花期不一致会导致品种的成熟度参差不齐,直接影响机械化收获的效率和种子的商业化生产并降低苜蓿产量和品质。因此,中国在苜蓿花期研究方面需要加强基础研究,借鉴国外先进经验,以期通过育种和栽培技术的改进,实现苜蓿花期的同步和产量的提升。因此,花期一致性是苜蓿育种和栽培中的关键性问题,所以生产上选择苜蓿初花期,即开花10%左右作为刈割时间。但是开花时间的调控涉及复杂的遗传网络和环境响应机制,包括光周期、温度、激素信号(如赤霉素和脱落酸)以及关键基因的协同作用。近年来,随着分子生物学和基因组学技术的快速发展,国内外学者在苜蓿开花调控机制方面取得了显著进展,揭示了多个与开花相关的基因和调控途径^[23-28]。然而,如何将研究成果应用于育种实践,培育出花期一致且适应不同生态环境的苜蓿品种,仍是当前研究的重点和难点。本文综述了苜蓿生育期与花期的研究概况,以及开花期基因调控的

研究进展,探讨了其在育种中的应用潜力,以期苜蓿遗传改良和高产优质栽培提供理论依据和策略支持。

1 国内苜蓿品种的生育期与花期划分概况

1.1 国内苜蓿品种的生育期研究概况

中国是全球重要的苜蓿种植国之一,苜蓿作为优质牧草,在畜牧业中具有重要的经济价值。由于我国幅员辽阔、气候多样,不同区域的生态环境对苜蓿的开花时间和生育期产生了显著影响。近年来,随着畜牧业的发展,苜蓿的需求量不断增加,如何通过育种手段优化苜蓿的花期,已成为当前研究的热点问题。苜蓿的生育期划分对于其栽培管理和利用具有重要意义。根据国内外研究,苜蓿的生育期通常依据其生长发育的形态特征^[29-30]进行划分(表1)。现有研究和生产实践,根据生育期的长短,将这些品种划分为早熟(返青后55~65 d开花、120~125 d种子成熟)、中熟(返青后65~75 d开花、125~130 d种子成熟)、中晚熟(返青后75~85 d开花、130~135 d种子成熟)、晚熟(返青后85 d以上开花、135 d以上种子成熟)。在中国的研究中,不同生育期和刈割管理对苜蓿的产量和品质有重要影响^[31],合理的生育期划分对于提高苜蓿的营养价值和生产效益至关重要。不同生育期和刈割次数对紫花苜蓿的营养品质和发酵品质有显著影响。例如,新疆石河子地区的研究中^[32],选择现蕾期、初花期和盛花期三个生育期,以及三个刈割茬次,对紫花苜蓿进行青贮处理,结果显示刈割茬次与生育期的交互作用对干物质、中性洗涤纤维、粗蛋白、乳酸和乙酸含量产生极显著影响。此外,据研究^[33],在陕西杨凌地区,对‘关中苜蓿’‘阿尔冈金’‘金皇后’三个品种在不同生育期的产量和营养品质进行了系统比较。结果表明,‘金皇后’品种在现蕾期的粗蛋白、粗灰分和相对饲用价值最高,中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量最低,表明现蕾期是最佳的刈割时期。综上所述,苜蓿生育期的划分可以平衡苜蓿的生殖生长与营养生长,最大化生物量积累,显著提高产量,优化品质,便于统一收割和管理,降低生产成本,适应机械化作业的要求,为苜蓿花期育种提供新的思路。

表 1 苜蓿生育期的表型特征
Table 1 Phenotypic characteristics of alfalfa growth stages

生育期通常指从播种到收获或冬季休眠的时间,全生育期可以分为以下几个阶段: The growth period typically refers to the time from sowing to harvest or winter dormancy. The entire growth period can be divided into the following stages:				
幼苗阶段 Seedling stage	从种子萌发到长出 1~2 对真叶;子叶是第一个可见生理结构;产生的第一个真叶是单叶 From seed germination to the appearance of 1—2 pairs of true leaves. The cotyledons are the first visible physiological structures. The first true leaf produced is a simple leaf			
营养生长阶段 Vegetative growth stage	第 0 阶段 早期营养 Stage 0: Early vegetative	茎长度小于 15cm;没有可见的芽、花或籽荚;存在微小的腋芽 Stem length is less than 15 cm; no visible buds, flowers, or pods; small axillary buds are present		
	第 1 阶段 中期营养 Stage 1: Mid vegetative	茎长度范围为 15~30cm;没有可见的芽、花或籽荚;腋下分枝的形成集中在茎的中部 Stem length ranges from 15 to 30 cm; no visible buds, flowers, or pods; axillary branching is concentrated in the middle of the stem		
	第 2 阶段 营养后期 Stage 2: Late vegetative	茎长大于 30cm;在茎生长的顶端有不可见的芽、花或种荚;叶腋处可见伸长的枝条 Stem length is greater than 30 cm; there are invisible buds, flowers, or pods at the top of the stem; elongated branches are visible in the leaf axils		
生殖生长阶段 Reproductive growth stage	花芽发育 Flower bud development	第 3 阶段 早期芽 Stage 3: Early bud	一到两个节点有可见的芽;看不到花和荚;茎尖中间隔紧密的节点使花蕾生长成为簇状 One or two nodes have visible buds; no flowers or pods can be seen; the tightly spaced nodes at the stem tip allow the flower buds to grow in clusters	
		第 4 阶段 晚芽 Stage 4: Late bud	有三个以上的节点,可见芽;看不到花和荚 Three or more nodes have visible buds; no flowers or pods can be seen	
	花期 Flowering period	第 5 阶段 开花早期 Stage 5: Early flowering stage	有一个的节点,一朵开放的花。看不到任何籽荚;开花在茎的顶点开始,而芽在初始开花点的上方和下方发育 One node has an open flower; no pods can be seen; flowering begins at the tip of the stem, the buds develop above and below the initial flowering point	
		第 6 阶段 开花晚期 Stage 6: Late flowering stage	有两个以上的开放花朵节点;没有籽荚可见 There are more open two flower nodes, and no visible seed pods	
		结荚期阶段 Pod formation stage	胚珠受精后,开始发育成种子并拉伸子房,子房成为围绕种子的豆荚 After fertilization of the ovules, they begin to develop into seeds and elongate the ovary, which becomes the pod surrounding the seeds	
		种子成熟阶段 Seed maturation stage	花瓣枯萎脱落,露出绿色的豆荚,成熟后变成棕色 The petals wither and fall off, revealing the green pods, which turn brown once fully mature	

1.2 苜蓿花期划分的依据及现状

苜蓿的花期可大致分为现蕾期、初花期、盛花期三个时期,因为不同苜蓿品种的开花时间不尽相同,所以同一时间播种的不同苜蓿品种、同一品种的苜蓿植株之间花期的时间差异较大。具体表现有开花时间不一致,即使在同一时间播种的苜蓿,个体间的开花期也存在差异,部分植株提前开花,部分则延迟,进而导致成熟期不一,影响整体的统一采收。所以花期的不整齐直接影响到苜蓿植株的生长和收获时间。目前国内部分苜蓿种质资源的生育期已有初步记录(表 2,数据来源于中国作物种质资源信息网),但尚未建立系统的花期数据库,关于不同品种开花时间及其持续天数的研究仍较为空白。鉴于花期对苜蓿产量和品质的显著影响,精准调控开花时间已成为当前牧草作物育种的重要目标。研究发现,在饲料作物生产中,高干物质、可消化性和其他营养特性都受到开花的强烈影响,开始开花意味着生物量产量和营养质量呈负相关,因为开花后植物从营养生长转为生殖生长,营养成

分向种子和果实转移,从而导致牧草品质下降^[34-38]。所以关注苜蓿的花期培育出高产优质的品种至关重要,苜蓿花期的划分可以考虑基于开花时间和生育期长短两个指标。具体划分依据包括:(1)开花时间:从春季返青到初次开花的时间长短;(2)生育期长短:根据品种的营养生长和生殖生长周期长短,将品种分为早熟、中熟、中晚熟和晚熟类型。这样,在有利的生长季较长的情况下,晚熟品种对于以收获茎叶为目的的饲料生产是有优势的,因为延长的生长时间可以促进更多的营养生长进而增加饲料产量;而早熟品种对于填补由于冬季休眠而存在的季节性饲料缺口可能很有价值。研究发现,在苜蓿的营养生长后期,苜蓿的生物量质量仍然很高,但一旦它开花,由于组织木质化和叶片总蛋白含量降低,营养价值就会下降^[39-40]。研究苜蓿开花诱导的生理与分子机制对于制定延迟开花、保持饲草品质并兼顾产量的育种策略具有重要意义。因此,延迟开花有望提高苜蓿的生物量和品质已成为当前饲料作物育种的重要方向。

表 2 国内部分苜蓿种质资源的生育期与分布地区

Table 2 Growth period and distribution areas of some alfalfa germplasm resources in China

品种名称 Variety	生育期 Growth	适宜推广种植区 Suitable planting areas
龙牧 801 <i>Medicago sativa</i> × <i>M. ruthenica</i> 'Longmu 801'	110	东北地区 Northeast China
中科 1 号	83	华北、东北、西北及南方部分地区
<i>Medicago sativa</i> 'Zhongke No.1'		North China, Northeast, Northwest, and some southern areas
公农 5 号	110	东北地区(主要在吉林)
<i>Medicago sativa</i> 'Gongnong No.5'		Northeast China, mainly in Jilin
北林 201	120~130	内蒙古东北部及东北气候类似地区种植
<i>Medicago sativa</i> 'Beilin No.201'		Northeast Inner Mongolia and regions with similar climates to the Northeast
中草 3 号	104	北方干旱寒冷地区、内蒙古地区
<i>Medicago sativa</i> 'Zhongcao No.3'		Northern arid and cold regions, Inner Mongolia
北林 202 <i>Medicago sativa</i> 'Beilin No.202'	125~135	华北地区 North China
肇东 <i>Medicago sativa</i> 'Zhaodong'	112~113	东北、华北、西北、内蒙古地区 Northeast, North China, Northwest, Inner Mongolia
敖汉 <i>Medicago sativa</i> 'Aohan'	100~105	东北、华北、西北各省 Northeast, North China, Northwest provinces
中天 3 号 <i>Medicago sativa</i> 'Zhongtian No.3'	110~120	黄土高原、内蒙古中西部、陕西、山西、宁夏、新疆及北方相似气候区域种植
		Loess Plateau, central and western Inner Mongolia, Shaanxi, Shanxi, Ningxia, Xinjiang, and northern areas with similar climates
草原 3 号 <i>Medicago sativa</i> 'Caoyuan No.3'	120	北方干旱、半干旱地区 Northern arid and semi-arid regions
草原 1 号 <i>Medicago sativa</i> 'Caoyuan No.1'	126	内蒙古中西部大部分地区 Most areas of central and western Inner Mongolia
草原 2 号 <i>Medicago sativa</i> 'Caoyuan No.2'	126	内蒙古中西部大部分地区 Most areas of central and western Inner Mongolia
甘农 1 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gannong No.1'	115~125	甘肃黄土高原北部、西部和青藏高原边缘海拔 2700 m 以下
		Northern Gansu Loess Plateau, western and Qinghai-Tibet Plateau regions below 2700 m altitude
甘农 2 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gannong No.2'	100	甘肃黄土高原、河西荒漠沙质土壤地区和青藏高原北部边缘地区
		Gansu Loess Plateau, Hexi desert sandy soil areas, and northern edge of the Qinghai-Tibet Plateau
龙牧 806 <i>Medicago sativa</i> × <i>M. ruthenica</i> 'Longmu 806'	100~120	东北、华北、西北、内蒙古 Northeast, North China, Northwest, Inner Mongolia
中苜 1 号 <i>Medicago sativa</i> 'Zhongmu No.1'	100~110	黄淮海平原及渤海湾一带以 NaCl 为主的盐碱地
		Yellow-Huai-Hai Plain and coastal saline—alkali land around Bohai Bay
中苜 3 号 <i>Medicago sativa</i> 'Zhongmu No.3'	105~115	山东、河北、甘肃、内蒙古、东北等盐碱地和中低产田
		Shandong, Hebei, Gansu, Inner Mongolia, Northeast, etc., saline—alkali land and medium-low yield fields
中苜 10 号 <i>Medicago sativa</i> 'Zhongmu No.10'	110~120	华北、西北地区, 适应干旱和半干旱地区
		North China, Northwest, suitable for arid and semi—arid areas
中天 2 号 <i>Medicago sativa</i> 'Zhongtian No.2'	115~125	华北、西北地区, 适应干旱和半干旱地区
		North China, Northwest, suitable for arid and semi—arid areas
中兰 2 号 <i>Medicago sativa</i> 'Zhonglan No.2'	120~130	甘肃半干旱和半湿润地区的牧草旱作栽培区以及黄土高原类似地区
		Gansu semi-arid and semi-humid regions, grassland dry farming areas, and similar regions on the Loess Plateau
甘农 3 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gannong No.3'	110~120	甘肃河西灌溉农业区和黄土高原地区
		Gansu Hexi irrigation agricultural area and Loess Plateau areas
甘农 5 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gannong No.5'	115~125	甘肃东部及陇南种植, 淮河流域及以南地区
		Eastern Gansu and Longnan, Huai River Basin and southern regions
甘农 6 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gannong No.6'	114~125	西北内陆绿洲灌区和黄土高原区 Northwest inland oasis irrigation areas and Loess Plateau areas
甘农 7 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gannong No.7'	120~130	西北大部分地区 Most areas of Northwest China
甘农 8 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gannong No.8'	125~135	西北大部分地区 Most areas of Northwest China
新疆大叶苜蓿 <i>Medicago sativa</i> 'Xinjiang Large-leaf'	100~103	新疆大部分地区 Most areas of Xinjiang
和田苜蓿 <i>Medicago sativa</i> 'Hetian'	101	新疆部分地区 Some areas of Xinjiang
北疆苜蓿 <i>Medicago sativa</i> 'Beijiang'	100~102	新疆大部分地区 Most areas of Xinjiang
狼山苜蓿 <i>Medicago sativa</i> 'Langshan'	92	主要在内蒙古狼山地区 Mainly in Langshan area, Inner Mongolia
公农 1 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gongnong No.1'	92	东北地区/主要在吉林 Northeast China/mainly in Jilin
公农 2 号 <i>Medicago sativa</i> 'Gongnong No.2'	92	东北地区/主要在吉林 Northeast China /mainly in Jilin
大有山苜蓿 <i>Medicago sativa</i> 'Dayoushan'	92	青海大部分地区 Most areas of Qinghai
察北苜蓿 <i>Medicago sativa</i> 'Chabei'	92	主要在河北地区 Mainly in Hebei
天水 <i>Medicago sativa</i> 'Tianshui'	112	甘肃大部分地区 Most areas of Gansu
秘鲁 <i>Medicago sativa</i> 'Milu'	123	甘肃大部分地区 Most areas of Gansu
准格尔 <i>Medicago sativa</i> 'Neimeng Zhungeer'	132	内蒙古地区/主要在准格尔 Inner Mongolia /mainly in Zhunge'er

2 影响苜蓿花期的生态因子与基因

2.1 光周期途径

光周期,即日照长度,是影响苜蓿开花时间的关键环境因素;光周期是一种约24 h生物时钟节律,即植物根据光照时间的周期性变化来协调自身新陈代谢及各种生理过程,最终实现开花诱导、叶片运动和气孔开闭等生长发育变化。苜蓿的开花节律性主要受温度和光周期等环境因素的调控,对苜蓿的生长发育、开花时间、花器官形成以及种子产量均有重要影响。南苜蓿初花期的早晚及长短直接影响营养体刈割的次数和产量^[41]。苜蓿属于长日照植物,当日照时间超过某一临界值时,花芽分化被激活,进而促进开花。这一过程主要通过光敏素等光受体感知光周期变化,调节下游基因的表达,从而控制开花时间。延长光照时间可以显著加快苜蓿的生长发育进程,缩短生育期。此外,光周期还通过影响内源激素水平,如生长素(IAA)、赤霉素(GA)和脱落酸(ABA),间接调控苜蓿的开花过程。光周期的变化会引起植物体内光敏色素(如光敏色素A, *PHYA*)和隐花色素等感光受体的响应,这些受体通过信号传导途径调控下游基因的表达,从而影响开花时间。在分子水平上,光受体基因在紫花苜蓿的开花调控中起重要作用。研究表明,光敏色素A(*phytochrome A*)基因(*MtPHYA*)的突变会降低植物对远红光的敏感性,进而影响开花时间^[42]。在豆科植物中,光周期调控生物钟的相关基因已被鉴定,包括光敏色素、隐花色素、*LKP1/FKFI/LKP2*、*PIF3/PIF4/PIF5*、*SRR1*、*CO/COL1/COL2*^[43]、*TIC*、*XCT*和*FHY3*等^[44]。蓝光受体*CRY*(*Cryptochrome*)及其结合蛋白CIB1对于光周期诱导开花至关重要,*CRY2*以蓝光依赖的形式与转录因子CIB1^[45]结合,从而促进苜蓿开花素基因*FT*的转录及开花时间^[46]。

2.2 春化途径

春化作用是植物必须经历一段时间的持续低温才能由营养生长阶段转入生殖生长阶段的一种表观遗传现象,是植物适应温度的季节性波动进化出来的一种机制,以确保在适当的时期开花。光周期和春化与环境外源信号有关,通过光照、温度调控植物花期^[47]。苜蓿的生长发育对温度有严格的需求,温度的变化会直接影响春化阶段和花芽分

化。适宜的温度范围通常为15~25℃,低温可能延迟开花,而高温可能导致提前开花。国内研究发现,苜蓿的生长最适宜的日平均气温为15~21℃,有利于干物质积累,最适温度为白天15~25℃,夜间10~20℃^[48]。当气温高于35℃时,苜蓿生长受到抑制,根部贮存的营养向地上部分输送,能量消耗较大,植株生长处于弱势阶段,易感染病虫害。另外,在日温升高的条件下,夜温升高会导致花粉活力下降,花药开裂率降低,进而影响结实率,虽然此研究主要针对水稻,但类似的高温胁迫可能对苜蓿产生类似影响^[49]。此外,苜蓿在高温条件下会出现开花时间延迟、花器官发育异常等问题,这与高温胁迫下植物激素(如赤霉素、脱落酸)的平衡被破坏有关^[50]。然而有些苜蓿品种具有较强的耐寒性,但当气温低于5℃时,生长停止,进入越冬休眠期,因此,过低的温度会推迟苜蓿的返青和开花时间。春化作用是影响植物物候期和地理分布的重要因素,对于牧草及作物生产具有非常重要的作用。DNA甲基化是一个重要的表观遗传标记,参与植物生长发育、逆境响应等生物学过程。在模式植物拟南芥中,研究表明,持续的低温处理会抑制开花抑制因子*FLC*的表达,从而促进开花,这一过程涉及表观遗传调控,如DNA甲基化和组蛋白修饰等^[51]。然而,禾本科植物春化过程中DNA甲基化动态变化及其靶基因的调控机理仍知之甚少。研究对苜蓿在镉(Cd)胁迫下的表观遗传变化进行了综合分析,发现Cd胁迫会降低DNA甲基化水平,并提高RNA甲基化水平。这些变化与基因表达水平密切相关,表明表观遗传修饰在苜蓿对环境胁迫的响应中起重要作用^[52]。另一项研究指出,盐胁迫会改变苜蓿的DNA甲基化水平,影响基因表达,进而调节植物对胁迫的响应能力^[53]。Yang等^[54]首次揭示了冷季型优质禾本科牧草鸭茅春化过程中的DNA甲基化动态变化规律,以及DNA甲基化调控基因表达促进开花的表观遗传机制,构建了鸭茅的高质量参考基因组,并解析了其基因组结构和进化特征,发现转座子占比较高。通过对不同开花期品系的转录组分析,识别出与开花时间密切相关的基因模块,特别是*AGL61-like*基因,该基因可能通过调控碳水化合物代谢影响鸭茅的开花进程^[55]。春化早期鸭茅基因组DNA甲基化水平显著升高,尤其是在*CHH*位点,主要集中在启动子区域。这种高甲基化状态与春化相关基因(如*VIN3*、*SWN*、*VRN1*、

VRT2和AGL20)表达上调密切相关。此外,外源施用DNA甲基化促进剂或过表达DgPAPS4基因均能促进早期开花,进一步证实了DNA高甲基化在春化诱导开花中的关键作用。这些发现为理解温带禾本科植物春化调控的表观遗传机制提供了新的视角^[56]。

2.3 自主促进途径

在植物开花调控网络中,自主途径是一条关键的内分泌性信号通路,能够在不依赖外界环境信号(如光周期和温度)的情况下,促进植物从营养生长向生殖生长的转变。然而,目前关于苜蓿自主途径调控开花的研究相对有限。因此,借鉴模式植物拟南芥的研究成果,有助于深入理解苜蓿的开花调控机制。在拟南芥中,自主途径通过一系列基因的协同作用,抑制开花抑制因子FLC(*Flowering Locus C*)的表达,从而促进开花。这些基因主要包括, RNA结合蛋白:如FCA、FPA和FLK等,这些蛋白参与FLC前体mRNA的调节,属于转录后调控机制;表观遗传调控因子:如LD(*Lumini Dependens*)、FLD(*Flowering Locus D*)和FVE等,这些基因编码的蛋白参与FLC染色质的组蛋白去乙酰化修饰,影响其表达^[57]。这些基因通过不同方式降低FLC的表达水平,解除其对开花的抑制作用,从而促进植物开花。自主途径与其他开花调控途径,如光周期途径、春化途径和赤霉素途径,存在复杂的交互作用。例如,春化途径通过低温处理抑制FLC的表达,而自主途径则通过内源性机制持续抑制FLC,这种协同作用确保了植物在适宜的时间开花^[58]。最近研究发现,TATA结合蛋白相关因子(TAFs)是转录因子IID(TFIID)复合物的的重要组成部分,参与基本转录调控,负责识别基因的核心启动子,TAF15b通过转录抑制FLC基因来调控拟南芥的开花时间。尽管拟南芥的研究为理解苜蓿的开花调控提供了参考,但由于物种差异,苜蓿的开花调控机制可能存在独特之处。目前,关于苜蓿自主途径调控开花的研究报道较少。然而,已有研究表明,苜蓿的开花时间受多种因素影响,包括光周期、温度和激素水平等。因此,深入研究苜蓿自主途径的分子机制,对于改良苜蓿品种、提高其适应性和产量具有重要意义。

2.4 赤霉素信号通路

赤霉素途径主要依靠外源施加赤霉素替代春

化作用促使植株开花。赤霉素是一种植物激素,主要合成于植物幼嫩的芽、叶中,在种子萌发、茎秆伸长、叶片扩展、开花诱导、果实发育等生长发育过程中发挥关键作用^[59]。自主途径和赤霉素途径与植物本身相关,是根据自身生长、发育和内源性激素水平调节植物花期,主要通过抑制FLC来促进开花。赤霉素在拟南芥开花时间调控中的功能主要通过调节赤霉素信号途径的抑制因子DELLA蛋白的含量来实现,当赤霉素浓度提高后,DELLA蛋白通过泛素化途径被降解,受DELLA抑制或促进的相关基因表达发生变化,表现出赤霉素信号响应。在叶片和茎尖分生组织中,DELLA蛋白分别与不同转录调控因子发生直接蛋白互作,通过三种不同的互作模式,即抑制转录激活因子、促进转录抑制因子以及与转录因子相互竞争,来调控不同的下游开花基因,如FT、FLC、SOC1以及LFY^[60-61]。赤霉素通过上调SOC1、LFY基因的表达,进而加速了开花的进程^[62],赤霉素通过GAF1-TPR复合体抑制开花抑制因子,促进植物开花。除赤霉素外,生长素和油菜素内酯与赤霉素协同促进植物开花,这一协同作用主要通过这几种激素信号途径中的关键转录调控因子(例如IAAs、BZR1和DELLAs)的互作而实现。另一方面,茉莉酸、乙烯、细胞分裂素以及脱落酸,也通过其信号途径中的关键转录调控因子与赤霉素通路发生多层次交叉的相互作用,从而实现和赤霉素拮抗调节开花时间的动态平衡。此外,赤霉素体内合成和代谢以及DELLA蛋白的表达也表现出植物组织和发育时期的特异性,这些因素通过与其它开花调控遗传通路和植物激素的互作,进一步确保赤霉素通路快速应对环境和内源因素变化从而精确调控开花时间。总之,赤霉素通过激活开花整合因子基因的表达促进开花,但是明确的分子机制尚不清楚。

2.5 苜蓿开花途径关系及基因

开花是植物生命周期中的一个重要阶段,是众多基因控制的数量性状,受到环境条件和发育规律的影响,另外,开花时间是影响植物生产力和产量的重要因素。植物通过整合来自不同内部和外部的开花信号,以便在最佳条件下开花和结籽。在拟南芥等开花模式植物中,已经揭示了控制开花时间的基因网络。然而,对于其他重要植物群体(如豆科植物)的开花,我们了解较少。苜蓿的开花是一

个复杂的过程,由光周期、温度、春化、激素等多因素协同调控,这些信号通过整合影响 *FTa1*、*SOC1*、*LFY* 等关键基因的表达,最终决定苜蓿的开花时间和生殖生长进程(图1)。其中 *FTa1* 基因属于 *FT* (*Flowering Locus T*) 家族,是苜蓿开花调控网络中的关键基因,是核心的开花整合因子,它的下游基因进一步调控花的分化和发育,同时 *FTa1* 基因是遗传分析显示的第一个在紫花苜蓿花期控制中起重要作用的候选花期基因, *FTa1* 过表达强烈地促

进了转基因拟南芥的开花, *FTa1* 也被 LD(长日照)上调,但会在整个昼夜周期中表达,这表明紫花苜蓿和拟南芥可能从不同的方式测量和响应日长^[63]。最近的研究表明,在豆科植物蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)中,通过候选基因分析和春季早花突变体筛选,鉴定并预测了可能参与开花时间调控的基因^[64]。针对以上问题,通过查阅了国内外的相关文献后整理了目前关于调控苜蓿开花可能存在的信号途径及基因(表3)。

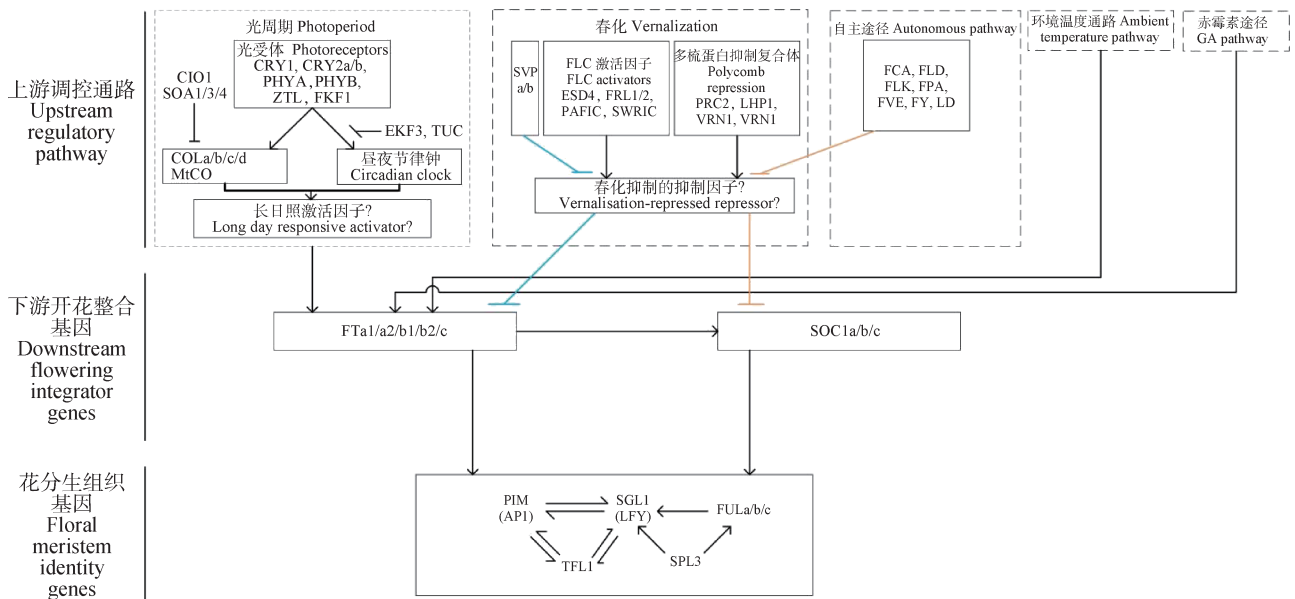


图1 苜蓿开花过程中的主要信号调控路径

Fig. 1 Major signaling pathways regulating flowering in alfalfa

比较系统发育分析显示,大多数与开花相关的基因存在于蒺藜苜蓿基因组中,并且存在显著差异,其关键基因,如 *FT* (*FLOWERING LOCUS T*), *CO* (*CONSTANS*), *SOC1* (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1*), *FUL* (*FRUITFUL*) 和 *TLF1* (*TERMINAL FLOWER 1*)^[95]。然而,蒺藜苜蓿(*M. truncatula*)基因组中不存在开花位点 *C* (*FLC*) 基因, *MtCO* 不参与光周期的开花反应^[96]。蒺藜苜蓿有五个 *FT* 样基因 (*MtFTa1*, *a2*, *b1*, *b2*, *c*), *MtFTa1* 是关键的花期调节因子,是长日照和春化作用中调控开花的关键基因, *MtFTa1* 是唯一在长日照和春化条件下上调表达的 *FT* 基因,而这两种条件都有助于紫花苜蓿的开花,转基因紫花苜蓿植物过表达 *MtFTa1* 基因后,开花速度非常快^[97]。通过识别 *FTa1* 突变体,证明了 *MtFTa1* 在调控开花中的关键作用, *FTa1* 突变体在所有检测条件下均显著延迟开花。 *FTa1* 突变体

不响应春化作用,但仍对长日照条件有响应,表明通过长时间低温诱导开花完全依赖于 *MtFTa1*,而光周期诱导开花则涉及其他基因,可能是 *MtFTb1*,该基因仅在长日照条件下在叶片中表达,因此可能参与光周期对开花的调控。 *MtFTc* 基因的作用尚不明确,因为 *FTa1* 突变体未表现出明显的开花时间或其他表型。三个 *SOC1* 同源物 (*MtSOC1a*, *b*, *c*) 位于 *MtFTa1* 的下游,其中 *MtSOC1a* 是主要的开花调节因子^[98-99];这些 *MtSOC1* 基因的三重突变体不开花,显示出它们重叠的功能^[100]。此外, *MADS* 转录因子,包括三个 *FUL* 同源物 (*MtFULa*, *b*, *c*),与开花有关。过表达 *MtFULa* 或 *MtFULb* 促进开花, *MtFULs* 在 *MtFTa1* 过表达的植物中上调,表明 *MtFUL* 是 *MtFTa1* 的靶标^[101]。 *MtFULc* 只有在长日照条件下开花,开花后于茎尖上调表达,并直接抑制 *MtTFL1* 的表达^[102-103]。有趣的是, *MtVRN2* 同源物 (*VERNALISATION2*) 通过抑制 *MtFTa1* 来调节

表 3 调控苜蓿开花的关键信号通路及基因

Table 3 Key Signaling Pathways and Genes Regulating Flowering in *Medicago*

调控途径 Regulatory pathway	关键基因 Key genes	功能描述 Functional description	参考文献 References
光周期 photoperiod	<i>CRY1, CRY2a/b,</i>	感应光信号并调节下游基因参与生物钟和光周期信号的整合	[65]
	<i>PHYA, PHYB, ZTL,</i>	Perceive light signals and regulate downstream genes involved in the integration of the circadian clock and photoperiod signaling	[66]
	<i>FKF1</i>		
	<i>ELF3, TIC</i>	负调控因子,抑制光受体感受信号调节下游基因	[67]
		Negative regulatory factors that inhibit light receptor-mediated signal perception and the regulation of downstream genes	
	<i>ELF4, LHY, PRR5a/b,</i>	生物钟相关因子,调节昼夜节律	[68-70]
	<i>PRR7a/b, TOC1a/b, GI</i>	Clock-related factors that regulate the circadian rhythm	[71-72]
	<i>COPI, SPA1/3/4</i>	负调控因子,可能抑制光信号通路	[73-74]
		Negative regulatory factors that may inhibit the light signaling pathway	
	<i>COLa/b/c/d, MtCO</i>	促进长日照响应激活因子的表达,可能参与 FTa1 的表达	[75-76]
		Promoting the expression of long day responsive activators may regulate the expression of FTa1	
春化 Vernalisation	<i>FCA, FLD, FLK, FPA,</i>	自主途径基因,可能抑制被春化抑制的转录抑制因子	[77-80]
	<i>FVE, FY, LD</i>	The autonomous pathway genes may inhibit the transcriptional repressors that are suppressed by vernalization	
	<i>ESD4, FRL1/2, PAF1</i>	FLC 激活因子,可能激活被春化抑制的转录抑制因子	[81-84]
	<i>C, SWR1C</i>	FLC activators may activate the transcriptional repressors that are suppressed by vernalization	
	<i>PRC2, LHP1, VEL1,</i>	多梳蛋白复合体介导的转录抑制,可能抑制被春化抑制的转录抑制因子	[85-87]
	<i>VRN1</i>	Polycomb complex-mediated transcriptional repression may inhibit the transcriptional repressors that are suppressed by vernalization	
环境温度途 Ambient temperature pathway	<i>SVPa/b</i>	可能参与环境温度的响应	[88-91]
赤霉素信号通路 GA pathway	<i>GAI,RGA,RGL1,RGL2,</i>	赤霉素信号途径可能调控 FTa1	[92-94]
	<i>RGL3</i>	The gibberellin signaling pathway may influence FTa1	

开花^[104-105]。值得注意的是,最近的研究表明,对苜蓿中 *MsFTa1* 的基因组编辑可以延迟开花,同时提高生物量产量和饲料质量,为培育优良苜蓿品种提供了一种可行的策略^[18]。国内中国农业科学院的研究团队首次发现了一个与紫花苜蓿开花调控相关的 CCCH 类型锌指蛋白基因 (*MsZFN*), *MsZFN* 在叶片中的表达量最高,在花中的表达量最低,过表达 *MsZFN* 会明显推迟转基因植物的开花时间,表明其在开花调控中起负调控作用,为深入理解其开花机制提供了新的线索^[106]。研究发现, *MsHMG-Y* 编码一种高迁移率族蛋白,过表达 *MsHMG-Y* 会导致苜蓿开花延迟。具体而言, *MsHMG-Y* 的过表达下调了促进开花的基因 (如 *MsPHYA*、*MsGI* 和 *MsFTa1*) 的表达水平,同时上调了抑制开花的基因 (如 *MsTEM1* 和 *MsSVP*) 的表达。此外, *MsHMG-Y* 的表达受光周期和外源激素 (如赤霉素、茉莉酸甲酯和水杨酸) 的诱导^[107]。 *MsCAL* 属于 *MADS-box* 转录因子家族,该基因在苜蓿的茎尖部位表达,特别是在生殖生长阶段的花器官发育中表达量最高,在苜蓿中,降低 *MsCAL* 的

表达可延迟开花,降低粗纤维和木质素含量,提高牧草的消化率和粗蛋白含量^[108]。 *MsCYP20-3B* 基因的功能研究显示,通过该基因的应用进一步明确了其在调控苜蓿开花时间中的分子机理,对培育苜蓿早熟品种具有重要的指导意义,有利于改良紫花苜蓿的品质^[109]。

目前,关于苜蓿花期调控相关的分子标记研究已取得一定进展 (表 4)。此外,氧化还原途径和植物激素信号通路主要参与了紫花苜蓿的花发育,其中氧化还原途径如谷胱甘肽/谷胱甘肽二硫化物在植物花的发育中尤为重要,谷胱甘肽主要在苜蓿发育后期发挥作用,主要参与花朵开放的早期阶段,进一步的基因功能鉴定表明 *GST* 同源基因在氧化还原途径中上调或下调^[110-111]。植物激素信号通路包括 ABA 相关基因 *SnRK2* 的下调, BR 相关基因 *BSK*、GA 相关基因 *GID1* 和 *DELLA* 以及 CK 相关基因 *CRE1* 的上调;同时筛选了调控紫花苜蓿从芽到成熟花发育的关键候选基因 *SnRK2*、*BSK*、*GID1*、*DELLA* 和 *CRE1*。另外, *MYB*、*AP2*、*bHLH*、*C2C2*、*MADS-box*、*NAC*、*bZIP*、*B3*、*AUX*/

IAA 等转录因子的差异表达也在这一过程中发挥了重要作用^[112-113]。研究结果为研究紫花苜蓿从芽到成熟花发育过程的分子机制奠定了理论基础。

结合以上分子生物学的研究,有望通过合理调控苜蓿的开花时间,实现苜蓿品种间花期一致性的品种栽培模式。

表 4 苜蓿花期调控相关的分子标记

Table 4 Molecular markers related to flowering time regulation in Alfalfa

研究类型 Type of study	分子标记/基因或区域 Molecular marker/ Gene or region	功能 Function	参考文献 Reference
候选基因功能验证 Candidate gene functional validation	<i>MtFTa1</i>	紫花苜蓿中关键开花基因,过表达促进开花,受光周期与春化调控 A key flowering gene in <i>Medicago sativa</i> , whose overexpression promotes flowering and is regulated by photoperiod and vernalization.	[62]
QTL 定位 QTL mapping	25 个 QTL 25 QTLs	四倍体苜蓿中发现与开花时间显著相关的 QTL,部分与近缘种保守 QTLs significantly associated with flowering time were identified in tetraploid alfalfa, some of which are conserved in related species.	[114]
高密度遗传图谱与 QTL 分析 High-density genetic map & QTL analysis	38 个 QTL 38 QTLs	利用 RAD-seq 技术构建遗传图谱,4 个 QTL 在多环境中稳定表达 A genetic map was constructed using RAD-seq technology, and four QTLs exhibited stable expression across multiple environments.	[115]
全基因组关联分析(GWAS) Genome-wide association analysis	63 个位点,95 个候选基因 63 loci, 95 candidate genes	与开花时间高度相关,涉及发育及花粉管调控基因 Highly correlated with flowering time, involving developmental and pollen tube regulatory genes	[116]
基因家族功能分析 Gene family function analysis	<i>MsCBF9</i> 等 <i>CBF/DREB1</i> 成员 <i>MsCBF9</i> and other <i>CBF/DREB1</i> members	表达分析与功能验证显示其参与低温及花期调控 Expression analysis and functional verification showed that it is involved in low temperature and flowering period regulation	[117]

3 苜蓿花期研究存在的问题及原因分析

3.1 品种特性与技术瓶颈

不同苜蓿品种的生育期存在差异。尽管播种当年各生育期差异不明显,但随后的生长季节中,品种间的返青期、现蕾期、初花期和盛花期可能出现不同步现象^[118-119]。部分苜蓿品种开花时间早且持续时间较短,可能仅持续数天,这种短暂的花期限制了授粉和结实的时间窗口,可能影响种子产量和质量;部分苜蓿品种开花时间晚且开花不整齐,导致收获难度加大^[120]。苜蓿的花期受环境因素影响显著,如温度、光照和水分条件的变化可能导致花期提前或延迟,影响牧草的生长周期。例如,在干旱条件下,苜蓿的产量和生长受到不利影响,进而影响花期,苜蓿的开花时间直接影响其蛋白质含量^[121]。苜蓿花期的调控机制复杂,涉及多种功能基因和调控网络。我国基因组测序、转录组分析和基因编辑技术在苜蓿研究中的应用已相对成熟,然而功能基因的挖掘和验证数量有限,调控网络解析尚处于初步阶段^[122]。同时,由于苜蓿基因组复杂,其多倍体特性加大了分子研究的难度。当前,我国苜蓿的育种工作多以传统杂交育种为主,而对分子标

记辅助育种、基因组选择等新兴技术的应用还较少。传统育种方法依赖于表型选择,周期长且效率低下,而国外已开始利用分子标记、QTL 定位和基因编辑技术实现精准育种^[48]。由于苜蓿的花期特性,适时刈割对于保证牧草的营养价值和再生能力至关重要。然而,现有品种的花期差异和育种技术的局限性增加了田间管理的复杂性,可能在一定程度上阻碍研究的深入推进。育种专家有望通过统一整理不同苜蓿品种的花期,提高开花整齐性,从而实现不同品种之间的搭配种植。

3.2 花期调控难度

苜蓿开花时间的调控是植物发育生物学中的一个复杂而富有挑战性的领域,主要难点包括以下几个方面:(1)重信号途径的交叉调控:苜蓿的开花时间受多种环境和内源信号的共同影响,主要包括光周期、春化作用、自主促进途径、赤霉素途径等调控通路。这些途径之间存在复杂的交互作用,理解其相互关系对于全面揭示开花调控机制至关重要^[123]。(2)环境因素的多样性和变化性:光照、温度、湿度等环境因素对植物开花起着关键作用。然而,这些因素在不同地域和季节存在显著差异,植物需要具备灵活的机制来感知和响应环境变化,以确保

在最适宜的条件下开花^[47]。(3)表观遗传调控的复杂性:表观遗传修饰,如DNA甲基化和组蛋白修饰,在开花时间调控中发挥重要作用^[124]。这些修饰可以在不改变DNA序列的情况下影响基因表达,增加了调控网络的复杂性。(4)激素信号的协调作用:植物激素(如赤霉素)在开花调控中扮演重要角色。不同激素之间的平衡和相互作用,以及它们与环境信号的整合,构成了一个复杂的调控网络。(5)品种间的差异性:不同苜蓿品种在开花时间的调控机制上存在差异。这种多样性增加了研究的复杂性,需要针对不同品种进行特异性的研究。

3.3 研究基础薄弱

我国现有苜蓿品种多为地方或改良品种,部分登记审定的品种都具有地方特色(例如敖汉、肇东、准格尔),还有大部分抗性品种(例如抗寒、抗旱、耐盐碱)。据统计,我国目前自主育成的紫花苜蓿品种仅占全国种植面积的30%左右,而国外引进品种占据了主要市场(其中2021年之前的数据来源于参考文献^[125],2022-2023年的数据来源于<http://www.nahs.org.cn>和<https://www.forestry.gov.cn>)。目前,我国只有一个是根据花期育成的品种‘中苜10号’。这种对引进品种的依赖,限制了我国在紫花苜蓿生育期研究中的自主创新能力。地方品种和野生种质资源是挖掘功能基因和育种创新的重要基础^[126]。然而,目前我国对部分苜蓿种质的收集、保护和利用力度不足,导致了研究进展面临挑战和困难^[127-129]。这不仅限制了不同花期特性的深入研究,也影响了在育种过程中对优异种质资源的创新利用。花期研究需要长期积累系统性的田间试验数据,然而,我国尚未建立大规模的苜蓿生育期相关数据网络平台。在不同生态区域的种植表现、花期长短与环境因子的相关性等基础数据的缺乏,使得难以开展全国范围内的生态适应性分析和预测模型构建。同时,历史数据记录的零散性和规范性不足也阻碍了研究的进一步推进。

4 我国苜蓿花期育种展望

随着育种技术的发展,国际一流技术水平已进入分子育种3.0到4.0时代,即分子育种到智能设计育种,而国内种业发展还处在相对落后的一个阶段。通过基因组选择、基因编辑等技术,可以精准

调控苜蓿的开花时间,提高其产量和品质。例如,利用CRISPR/Cas9技术编辑*MsFTa1*基因,可以显著延迟开花时间,提高生物量产量^[17]。然而我国的苜蓿产量和品质仍然较低,因此,解决这一问题显得尤为重要。鉴于当前在实际生产中提升苜蓿产量与品质的迫切需求,我们将研究重点聚焦于其开花时间,作为一个具有调控潜力的重要发育节点。可以根据苜蓿的开花时间将苜蓿品种进行划分和归类,然后再进行大面积的推广示范,一方面,我们可以减少收割机的应用成本;另一方面,还可以提高苜蓿的产量和品质。这将对于企业生产种子和收割苜蓿提高产量具有非常重要的实用价值。从国内外研究现状来看,大多数都是基于分子方面对于调控苜蓿花期基因进行研究和改良,同时揭示这些基因在各个代谢途径中的研究机理。但是在生产实践中,如何筛选出早、中、晚熟的苜蓿品种再进行推广,目前这方面缺少相关的研究工作,因为这项工作需要研究者扎根试验地进行整个花期的观测,需要很长的生长周期,再加上艰巨的任务量和工作环境。育种工作者需要深入研究苜蓿花期的遗传机制,结合现代分子育种技术,培育花期适中、对环境适应性强、产量高且品质优良的苜蓿新品种,以满足不同地区和生产条件的需求。结合分子育种技术,对调控开花时间的基因进行后续研究,如果我们能找到一个或几个基因在所有品种当中都存在普遍的规律性,比如增产,提高品质或者抗性,然后我们再进行下一步的验证,这样我们就可以对品种进行很好的改良。

5 结论

本研究有望为苜蓿育种及高产优质栽培提供理论依据和技术参考。通过基因组选择、基因编辑等分子育种技术,精准调控苜蓿的开花时间,不仅可以提高生物量产量,还能优化其营养品质。未来,若能找到调控开花时间的关键基因并验证其在不同品种中的共性规律,将有助于培育高产优质的新品种,从而推动苜蓿品种的优化升级。此外,通过基于开花时间和整齐度的品种分类和推广,能够降低收割成本,提高生产效率,为苜蓿产业现代化提供科学依据和技术支撑。这一研究不仅填补了生产实践中的空白,也将助力我国苜蓿产业向国际先进水平迈进,实现更高效、更智能的品种改良和产业升级。

参考文献

- [1] JUNG C, ANDREAS E. MÜLLER. Flowering time control and applications in plant breeding[J]. Trends in Plant Science, 2009,14(10):563-573
- [2] AUNG B; GRUBER M; AMYOT L et al. Ectopic expression of LjmiR156 delays flowering, enhances shoot branching, and improves forage quality in alfalfa. [J]. Plant Biotechnol Report 2015,9(6):379-393
- [3] SYKOVÁ E V A, JENDELOVÁ P. Magnetic resonance tracking of implanted adult and embryonic stem cells in injured brain and spinal cord[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2005,1049(1):146-160
- [4] CAI Y, WANG L, CHEN L, et al. Mutagenesis of *GmFT2a* and *GmFT5a* mediated by *CRISPR/Cas9* contributes for expanding the regional adaptability of soybean[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020,18(1):298-309
- [5] CHENG X, LI G, KROM N, et al. Genetic regulation of flowering time and inflorescence architecture by *MtFDa* and *MtFTa1* in *Medicago truncatula*[J]. Plant Physiology, 2021, 185(1):161-178
- [6] LORENZO C D, GARCÍA-GAGLIARDI P, ANTONIETTI M S, et al. Improvement of alfalfa forage quality and management through the down-regulation of *MsFTa1*[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020,18(4):944-954
- [7] PARK S J, JIANG K, TAL L, et al. Optimization of crop productivity in tomato using induced mutations in the florigen pathway[J]. Nature Genetics, 2014,46(12):1337-42
- [8] RAJENDRAN S, HEO J, KIM Y J, et al. Optimization of tomato productivity using flowering time variants [J]. Agronomy, 2021,11(2):285
- [9] ZHANG H, ZHU S, LIU T, et al. *DELAYED HEADING DATE 1* interacts with Os HAP 5C/D, delays flowering time and enhances yield in rice [J]. Plant Biotechnology Journal, 2019,17(2):531-539
- [10] PUTTERILL J, LAURIE R, MACKNIGHT R. It's time to flower: the genetic control of flowering time[J]. Bioessays, 2004,26(4):363-73
- [11] AVRAHAM T, BADANI H, GALILI S, et al. Enhanced levels of methionine and cysteine in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants over-expressing the *Arabidopsis* cystathionine gamma-synthase gene. [J]. Plant Biotechnology Journal, 2010,3(1):71-79
- [12] ZHOU Z, LI J, GAO Y, et al. Research on drought stress in *Medicago sativa* L. from 1998 to 2023: a bibliometric analysis [J]. Frontiers in Plant Science, 2024,15:1406256
- [13] SINGER S D, LEHMANN M, ZHANG Z, et al. Elucidation of physiological, transcriptomic and metabolomic salinity response mechanisms in *Medicago sativa*[J]. Plants, 2023,12(10):2059
- [14] ABBASI A R, SARVESTANI R, MOHAMMADI B, et al. Drought stress-induced changes at physiological and biochemical levels in some common vetch (*Vicia sativa* L.) genotypes [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2014, 16(3):505-516
- [15] YANG J, YI J, MA S, et al. Integrated physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses elucidate the regulation mechanisms of lignin synthesis under osmotic stress in alfalfa leaf (*Medicago sativa* L.) [J]. BMC Genomics, 2024, 25(1):174
- [16] 李飞飞, 刘杨, 徐飞. 种子萌发的奥秘:生理、生态与分子的综合解析[J]. 生命科学, 2024,36(12):1470-1477
LI F F, LIU Y, XU F. The mystery of seed germination: an integrated physiological, ecological and molecular analysis [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2024,36(12):1470-1477
- [17] WOLABU T W, MAHMOOD K, JEREZ I T, et al. Multiplex *CRISPR/Cas9*-mediated mutagenesis of alfalfa Flowering locus *Ta1* (*MsFTa1*) leads to delayed flowering time with improved forage biomass yield and quality[J]. Plant Biotechnology Journal, 2023,21(7):1383-1392
- [18] JOHANSSON M, STAIGER D. Time to flower: interplay between photoperiod and the circadian clock [J]. Journal of experimental botany, 2015,66(3):719-730
- [19] PROSSER C L. Physiological variation in animals[J]. Biological Reviews, 1995,30(3):229-261
- [20] BERNIER G, PÉRILLEUX C. A physiological overview of the genetics of flowering time control[J]. Plant Biotechnology Journal, 2005,3(1):3-16
- [21] PATRA S, CHATTERJEE D, DUTTA R, et al. Abiotic and biotic factors regulate the timing of floral induction: a review [J]. Physiologia Plantarum, 2024,176(1):e14199
- [22] LIU L, XUAN L, JIANG Y, et al. Regulation by *FLOWERING LOCUS T* and *TERMINAL FLOWER 1* in flowering time and plant architecture [J]. Small Structures, 2021,2(4):2000125
- [23] GALINDO-SOTOMONTE L, JOZEFKOWICZ C, GÓMEZ C, et al. *CRISPR/Cas9*-mediated knockout of a polyester synthase-like gene delays flowering time in alfalfa [J]. Plant Cell Reports, 2023,42(5):953-956
- [24] WANG Z, YANG R, DEVISETTY U K, et al. The divergence of flowering time modulated by *FT/TFL1* is independent to their interaction and binding activities[J]. Frontiers in Plant Science, 2017,8:697
- [25] LORENZO C D, GARCÍA-GAGLIARDI P, GOBBINI M L, et al. *MsTFL1A* delays flowering and regulates shoot architecture and root development in *Medicago sativa*[J]. Plant Reproduction, 2024,37(2):229-242
- [26] ZHANG P, LIU H, MYSORE K S, et al. *MtFDa* is essential for flowering control and inflorescence development in *Medicago truncatula* [J]. Journal of Plant Physiology, 2021, 260:153412
- [27] WANG W, WANG C, WANG Y, et al. The P-body component *DECAPPING5* and the floral repressor *SISTER OF FCA* regulate *FLOWERING LOCUS C* transcription in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2023,35(9):3303-3324
- [28] MA L, LIU X, LIU W, et al. Characterization of squamosa-promoter binding protein-box family genes reveals the critical role

- of *MsSPL20* in alfalfa flowering time regulation [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 12: 775690
- [29] 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
WU Z N, WEI Z W. Floral morphology and development of alfalfa [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2013, 21(1): 159-166
- [30] CHEN F, NIU K, MA H. Analysis on morphological characteristics and identification of candidate genes during the flowering development of alfalfa [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 1426838
- [31] 南铭, 李晶, 王昶, 等. 甘肃中部春播燕麦不同刈割期产量和品质比较研究[J]. *草地学报*, 2023, 31(6): 1878-1885
NAN M, LI J, WANG C, et al. Comparative study on yield and quality of spring sowing oat at different mowing stages in north-west arid region [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(6): 1878-1885
- [32] 李菲菲, 张凡凡, 王旭哲, 等. 刈割茬次和生育期对苜蓿青贮品质的影响[J]. *草业学报*, 2019, 28(12): 137-148
LI F F, ZHANG F F, WANG X Z, et al. Effects of cutting date and crop growth stage on alfalfa silage quality [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(12): 137-148
- [33] 张晓娜, 宋书红, 林艳艳, 等. 生育期和品种对紫花苜蓿产量及品质的影响[J]. *草地学报*, 2016, 24(3): 676-681
ZHANG X N, SONG S H, LIN Y Y, et al. Effects of growth stage and variety on yield and quality of alfalfa [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2016, 24(3): 676-681
- [34] BALL D M, COLLINS M, LACEFIELD G D, et al. Understanding forage quality [J]. *American Farm Bureau Federation Publication*, 2001, 1(1): 1-15
- [35] KALU B A, FICK G W. Quantifying morphological development of alfalfa for studies of herbage quality [J]. *Crop Science*, 1981, 21(2): 267-271
- [36] GAO R M, FEYISSA B A, CROFT M, et al. Gene editing by CRISPR/Cas9 in the obligatory outcrossing *Medicago sativa* [J]. *Planta*, 2018, 247(4): 1043-1050
- [37] LACEFIELD D G. Alfalfa quality: What is it What can we do about it and, Will it pay [C]//Proceedings, National Alfalfa Symposium, 2004: 13-15
- [38] TADEGE M, CHEN F, MURRAY J, et al. Control of vegetative to reproductive phase transition improves biomass yield and simultaneously reduces lignin content in *Medicago truncatula* [J]. *BioEnergy Research*, 2015, 8: 857-867
- [39] RUAN Y L, PATRICK J W, BOUZAYEN M, et al. Molecular regulation of seed and fruit set [J]. *Trends in Plant Science*, 2012, 17(11): 656-665
- [40] WANG Y, CHANTREAU M, SIBOUT R, et al. Plant cell wall lignification and monolignol metabolism [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 220
- [41] 陈祥, 魏臻武, 任海龙, 等. 光周期与种质特性对南苜蓿初花期的影响[J]. *中国草地学报*, 2016, 38(2): 34-40
CHEN X, WEI Z W, REN H L, et al. Effect of photoperiod and germplasm characters on early-flowering time of burr medic (*Medicago polymorpha* L.) [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2016, 38(2): 34-40
- [42] JAUDAL M, WEN J, MYSORE K S, et al. *Medicago PHYA* promotes flowering, primary stem elongation and expression of flowering time genes in long days [J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20: 1-16
- [43] 卢栋宇, 王雪, 蒋旭, 等. 紫花苜蓿花期调控基因 *MsCOL2* 的克隆及功能研究[J]. *草地学报*, 2023, 31(10): 2905-2915
LU D Y, WANG X, JIANG X, et al. Cloning and functional analysis of flowering regulation gene *MsCOL2* in alfalfa [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(10): 2905-2915
- [44] 李宗飞, 张洁, 魏芳, 等. 光周期调控豆科植物生物钟的相关基因的鉴定[J]. *分子植物育种*, 2017, 14(1): 1-11
LI Z F, ZHANG J, WEI F, et al. Identification of circadian clock-related genes regulated by photoperiod in legume plants. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15(1): 1-11
- [45] 张丽丽, 蒋旭, 崔婧, 栗亚静, 康俊梅. 紫花苜蓿开花调控基因 *MsCIB2* 的克隆及功能验证[J]. *草地学报*, 2025, 33(2): 335-350
ZHANG L L, JIANG X, CUI J, LI Y J, KANG J M. Cloning and functional validation of the alfalfa flowering regulation gene *MsCIB2* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2025, 33(2): 335-350
- [46] LIU Y, LI X, LI K, et al. Multiple bHLH proteins form heterodimers to mediate *CRY2-dependent* regulation of flowering-time in *Arabidopsis* [J]. *PLoS Genetics*, 2013, 9(10): e1003861
- [47] 王娜, 谢文刚. 牧草开花的分子机理研究进展[J]. *草业科学*, 2019, 36(3): 835-848
WANG N, XIE W G. Advances in the molecular mechanisms of flowering in forage grasses [J]. *Grassland Science*, 2019, 36(3): 835-848
- [51] YANG H X, CHANG F, YOU C J, et al. Whole-genome DNA methylation patterns and complex associations with gene structure and expression during flower development in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2015, 81(2): 268-281
- [48] 徐博, 王英哲, 徐安凯, 等. 基于生长度日的紫花苜蓿生育期预测模型[J]. *草业科学*, 2016, 33(1): 93-100
XU B, WANG Y Z, XU A K, et al. Study of simulation model of alfalfa plants development based on growing degree days [J]. *Pratacultural Science*, 2016, 33(1): 93-100
- [49] 张文倩, 王亚梁, 朱德峰, 等. 花期夜温升高对水稻颖花开放及籽粒结实的影响[J]. *中国农业气象*, 2019, 40(3): 180-185
ZHANG W Q, WANG Y L, ZHU D F, et al. Effect of increasing night temperature on floret opening and grain setting of rice [J]. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2019, 40(3): 180-185
- [50] PUTTERILL J, ZHANG L, YEOH C C, et al. *FT* genes and regulation of flowering in the legume *Medicago truncatula* [J]. *Functional Plant Biology*, 2013, 40(12): 1199-1207
- [56] YANG H, CHANG F, YOU C, et al. Whole-genome DNA methylation patterns and complex associations with gene structure and expression during flower development in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2015, 81(2): 268-281
- [52] CHEN L, LI X, LIU H, et al. Comprehensive analysis of epigenetic modifications in alfalfa under cadmium stress [J]. *Jour-*

- nal of Hazardous Materials, 2025, 482: 136545
- [53] LIU Y, WANG J, LIU B, et al. Dynamic regulation of DNA methylation and histone modifications in response to abiotic stresses in plants [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2022, 64(12): 2252-2274
- [54] YANG Z, YAN H, WANG J, et al. DNA hypermethylation promotes the flowering of orchardgrass during vernalization [J]. Plant Physiology, 2022, 190(2): 1490-1505
- [55] HUANG L, FENG G, YAN H, et al. Genome assembly provides insights into the genome evolution and flowering regulation of orchardgrass [J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 18(2): 373-388
- [61] CHENG J Z, ZHOU Y P, LV T X, et al. Research progress on the autonomous flowering time pathway in *Arabidopsis* [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2017, 23: 477-485
- [57] 黄桃鹏, 李媚娟, 王睿, 等. 赤霉素生物合成及信号转导途径研究进展 [J]. 植物生理学报, 2015, 51(8): 1241-1247
- HUANG T P, LI M J, WANG R, et al. Progress in study of gibberellins biosynthesis and signaling transduction pathway [J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51(8): 1241-1247
- [58] 刘陈玮, 徐仁超, 卞晓春, 等. 低温和赤霉素对蚕豆开花、内源激素、基因表达的调控 [J]. 江苏农业科学, 2024, 52(24): 105-112
- LIU C W, XU R C, BIAN X C, et al. Regulation of flowering, endogenous hormones, and gene expression in broad bean by low temperature and gibberellin [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2024, 52(24): 105-112
- [59] FUKAZAWA J, OHASHI Y, TAKAHASHI R, et al. DELLA degradation by gibberellin promotes flowering via *GAF1-TPR*-dependent repression of floral repressors in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2021, 33(7): 2258-2272
- [60] BAO S, HUA C, SHEN L, et al. New insights into gibberellin signaling in regulating flowering in *Arabidopsis* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2020, 62(1): 118-131
- [67] BLÁZQUEZ M A, GREEN R, NILSSON O, et al. Gibberellins promote flowering of *Arabidopsis* by activating the *LEAFY* promoter [J]. The Plant Cell, 1998, 10(5): 791-800
- [62] LAURIE R E, DIWADKAR P, JAUDAL M, et al. The *Medicago FLOWERING LOCUS T* homolog, *MtFta1*, is a key regulator of flowering time [J]. Plant Physiology, 2011, 156(4): 2207-2224
- [63] YEOH C C, BALCEROWICZ M, ZHANG L, et al. Fine mapping links the *Fta1* flowering time regulator to the dominant spring1 locus in *Medicago* [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53467
- [64] WELLER J L, MACKNIGHT R C. Functional genomics and flowering time in *Medicago truncatula*: an overview [J]. Functional Genomics in *Medicago truncatula*: Methods and Protocols, 2018: 261-271
- [65] SONG Y H, SMITH R W, TO B J, et al. *FKF1* conveys timing information for *CONSTANS* stabilization in photoperiodic flowering [J]. Science, 2012, 336(6084): 1045-1049
- [66] ZHAO H, XU D, TIAN T, et al. Molecular and functional dissection of *EARLY-FLOWERING 3 (ELF3)* and *ELF4* in *Arabidopsis* [J]. Plant Science, 2021, 303: 110786
- [67] LIN K, ZHAO H, GAN S, et al. *Arabidopsis* ELF4-like proteins EFL1 and EFL3 influence flowering time [J]. Gene, 2019, 700: 131-138
- [68] FARRÉ E M, HARMER S L, HARMON F G, et al. Overlapping and distinct roles of *PRR7* and *PRR9* in the *Arabidopsis* circadian clock [J]. Current Biology, 2005, 15(1): 47-54
- [69] YANG M, HAN X, YANG J, et al. The *Arabidopsis* circadian clock protein *PRR5* interacts with and stimulates *ABI5* to modulate abscisic acid signaling during seed germination [J]. The Plant Cell, 2021, 33(9): 3022-3041
- [70] MAEDA A E, MATSUO H, MURANAKA T, et al. Cold-induced degradation of core clock proteins implements temperature compensation in the *Arabidopsis* circadian clock [J]. Science Advances, 2024, 10(39): eadq0187
- [71] POKHILKO A, FERNÁNDEZ A P, EDWARDS K D, et al. The clock gene circuit in *Arabidopsis* includes a repressilator with additional feedback loops [J]. Molecular Systems Biology, 2012, 8(1): 574
- [72] PAIK I, CHEN F, NGOC PHAM V, et al. A *phyB-PIF1-SPA1* kinase regulatory complex promotes photomorphogenesis in *Arabidopsis* [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 4216
- [73] LAUBINGER S, HOECKER U. The *SPA1-like* proteins *SPA3* and *SPA4* repress photomorphogenesis in the light [J]. The Plant Journal, 2003, 35(3): 373-385
- [74] WONG A C S, HECHT V F G, PICARD K, et al. Isolation and functional analysis of *CONSTANS-LIKE* genes suggests that a central role for *CONSTANS* in flowering time control is not evolutionarily conserved in *Medicago truncatula* [J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 486
- [75] LUO W, LI Y, MA P, et al. Transcriptomic analysis of *Medicago truncatula* under long-day conditions [J]. Diversity, 2023, 15(9): 1020
- [76] SONMEZ C, BÄURLE I, MAGUSIN A, et al. RNA 3' processing functions of *Arabidopsis* *FCA* and *FPA* limit intergenic transcription [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(20): 8508-8513
- [77] AUSÍN I, ALONSO-BLANCO C, JARILLO J A, et al. Regulation of flowering time by *FVE*, a retinoblastoma-associated protein [J]. Nature genetics, 2004, 36(2): 162-166
- [78] LIM M H, KIM J, KIM Y S, et al. A new *Arabidopsis* gene, *FLK*, encodes an RNA binding protein with K homology motifs and regulates flowering time via *FLOWERING LOCUS C* [J]. The Plant Cell, 2004, 16(3): 731-740
- [79] MARTIGNAGO D, BERNARDINI B, POLITICELLI F, LIKE E, et al. The four *FAD*-dependent histone demethylases of *Arabidopsis* are differently involved in the control of flowering time [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 669
- [80] ASLAM M, FAKHER B, JAKADA B H, et al. *SWR1* chromatin remodeling complex: a key transcriptional regulator in plants [J]. Cells, 2019, 8(12): 1621
- [81] MICHAELS S D, BEZERRA I C, AMASINO R M. *FRIGIDA*-related genes are required for the winter-annual habit in *Arabidopsis* [J]. Proceedings of the National Academy

- of Sciences, 2004, 101(9): 3281-3285
- [82] OBERMEYER S, STÖCKL R, SCHNEKENBURGER T, et al. Distinct role of subunits of the *Arabidopsis* RNA polymerase II elongation factor *PAF1C* in transcriptional reprogramming[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 974625
- [83] GÓMEZ-ZAMBRANO Á, CREVILLÉN P, FRANCO-ZORRILLA J M, et al. *Arabidopsis* *SWC4* binds DNA and recruits the *SWR1* complex to modulate histone *H2A*. Z deposition at key regulatory genes [J]. *Molecular Plant*, 2018, 11 (6) : 815-832
- [84] YUAN L, SONG X, ZHANG L, et al. The transcriptional repressors *VAL1* and *VAL2* recruit *PRC2* for genome-wide Polycomb silencing in *Arabidopsis* [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(1): 98-113
- [85] MOLITOR A M, LATRASSE D, ZYTNIICKI M, et al. The *Arabidopsis* hnRNP-Q protein LIF2 and the *PRC1* subunit *LHP1* function in concert to regulate the transcription of stress-responsive genes[J]. *The Plant Cell*, 2016, 28(9): 2197-2211
- [86] BAILE F, GÓMEZ-ZAMBRANO Á, CALONJE M. Roles of Polycomb complexes in regulating gene expression and chromatin structure in plants[J]. *Plant Communications*, 2022, 3(1): 003
- [87] HARTMANN U, HÖHMANN S, NETTESHEIM K, et al. Molecular cloning of *SVP*: a negative regulator of the floral transition in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2000, 21(4): 351-360
- [88] LIU S, HOU D, VASUPALLI N, et al. Overexpression of *PvSVP1*, an *SVP*-like gene of bamboo, causes early flowering and abnormal floral organs in *Arabidopsis* and rice: *PvSVP1* regulates flowering time and floral organ development[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2023, 55(2): 237
- [89] LIU S, VASUPALLI N, HOU D, et al. Ectopic expression of a bamboo *SVP*-like gene alters flowering time and floral organs in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2022, 150(3): 721-732
- [90] LEE J H, YOO S J, PARK S H, et al. Role of *SVP* in the control of flowering time by ambient temperature in *Arabidopsis* [J]. *Genes & Development*, 2007, 21(4): 397-402
- [91] GALLEG0-GIRALDO C, HU J, URBEZ C, et al. Role of the gibberellin receptors *GID 1* during fruit-set in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2014, 79(6): 1020-1032
- [92] TYLER L, THOMAS S G, HU J, et al. *DELLA* proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis*[J]. *Plant physiology*, 2004, 135(2): 1008-1019
- [93] HOU X, HU W W, SHEN L, et al. Global identification of *DELLA* target genes during *Arabidopsis* flower development [J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(3): 1126-1142
- [94] YU H, ITO T, ZHAO Y, et al. Floral homeotic genes are targets of gibberellin signaling in flower development[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101 (20) : 7827-7832
- [95] HECHT V, FOUCHER F, FERRÁNDIZ C, et al. Conservation of *Arabidopsis* flowering genes in model legumes [J]. *Plant Physiology*, 2005, 137(4): 1420-1434
- [96] YE Q, ZHOU C, LIN H, et al. *Medicago2035*: Genomes, Functional Genomics and Molecular Breeding [J]. *Molecular Plant*, 2018, 69(20): 4867-4880
- [97] FUDGE J B, LEE R H, LAURIE R E, et al. *Medicago truncatula* *SOC1* genes are up-regulated by environmental cues that promote flowering[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 496
- [98] JAUDAL M, ZHANG L, CHE C, et al. A *SOC1*-like gene *MtSOC1* promotes flowering and primary stem elongation in *Medicago*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(20) : 4867-4880
- [99] POULET A, ZHAO M, PENG Y, et al. Gene-edited *MtSOC1* triple mutant *Medicago* plants do not flower [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 1357924
- [100] JAUDAL M, ZHANG L, CHE C, et al. Three *Medicago* *MtFUL* genes have distinct and overlapping expression patterns during vegetative and reproductive development and 35S: *MtFULb* accelerates flowering and causes a terminal flower phenotype in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Genetics*, 2015, 6: 50
- [101] ZHANG P, WANG R, WANG X, et al. *MtFULc* controls inflorescence development by directly repressing *MtTFL1* in *Medicago truncatula* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2021, 256: 153329
- [102] JAUDAL M, ZHANG L, CHE C, et al. *MtVRN2* is a Polycomb *VRN 2-like* gene which represses the transition to flowering in the model legume *Medicago truncatula* [J]. *The Plant Journal*, 2016, 86(2): 145-160
- [103] JAUDAL M, MAYO - SMITH M, POULET A, et al. *MtING2* encodes an *ING* domain *PHD* finger protein which affects *Medicago* growth, flowering, global patterns of *H3K4me3*, and gene expression[J]. *The Plant Journal*, 2022, 112(4): 1029-1050
- [104] 张云秀, 蒋旭, 尉春雪, 等. 紫花苜蓿高迁移率族蛋白基因 Ms HMG-Y 调控花期的功能分析[J]. *中国农业科学*, 2022, 55 (16): 3082-3092
- ZHANG Y X, JIANG X, YU C X, et al. The functional analysis of high mobility group ms HMG-Y involved in flowering regulation in *Medicago sativa* L [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(16): 3082-3092
- [105] ZECHMANN B, MÜLLER M. Subcellular compartmentation of glutathione in dicotyledonous plants[J]. *Protoplasma*, 2010, 246: 15-24
- [106] CHAO Y H, ZHANG T J, YANG Q C, et al. Expression of the alfalfa CCCH-type zinc finger protein gene MsZFN delays flowering time in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Science*, 2014, 215/216: 92-99
- [107] 康俊梅, 蒋旭, 张丽丽, 等. 一种紫花苜蓿 MsCAL 基因、及其应用: CN118620918A [P]. 2024-09-10
- KANG J M, JIANG X, ZHANG L L, et al. A novel MsCAL gene from alfalfa and its application: CN118620918A [P]. 2024-09-10
- [108] 马西青, 葛玲巧, 翁银银, 等. 紫花苜蓿基因 MsCYP20-3B 及应用: CN201911207060. X [P]. 2025-02-26
- MA X Q, GE L Q, WENG Y Y, et al. Alfalfa gene

- MsCYP20-3B and its application. CN201911207060. X [P]. 2025-02-26
- [109] ZECHMANN B, KOFFLER B E, RUSSELL S D. Glutathione synthesis is essential for pollen germination *in vitro* [J]. BMC Plant Biology, 2011, 11: 54
- [110] ZECHMANN B, LIOU L C, KOFFLER B E, et al. Subcellular distribution of glutathione and its dynamic changes under oxidative stress in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. FEMS yeast research, 2011, 11(8): 631-642
- ZECHMANN B, LIOU L C, KOFFLER B E, et al. Subcellular distribution of glutathione and its dynamic changes under oxidative stress in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. FEMS Yeast Research, 2011, 11(8): 631-642
- [111] TRAVERSO J A, PULIDO A, RODRÍGUEZ-GARCÍA M I, et al. Thiol-based redox regulation in sexual plant reproduction: new insights and perspectives [J]. Frontiers in Plant Science, 2013, 4: 465
- [112] SCHIPPERS J H, FOYER C H, VAN DONGEN J T. Redox regulation in shoot growth, SAM maintenance and flowering [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2016, 29: 121-128
- [113] TRAP-GENTIL M V, HÉBRARD C, LAFON-PLACETTE C, et al. Time course and amplitude of DNA methylation in the shoot apical meristem are critical points for bolting induction in sugar beet and bolting tolerance between genotypes [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(8): 2585-2597
- [114] ADHIKARI L, MAKAJU S O, MISSAOUI A M. QTL mapping of flowering time and biomass yield in tetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 359
- [121] JIANG X Q, YANG T H, ZHANG F, et al. RAD-seq-based high-density linkage maps construction and quantitative trait loci mapping of flowering time trait in alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 899681
- [116] HE F, ZHANG F, JIANG X Q, et al. A genome-wide association study coupled with a transcriptomic analysis reveals the genetic loci and candidate genes governing the flowering time in alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 913947
- [117] CUI J, LI Y, LIU H, et al. Genome-wide identification and expression analysis of *CBF/DREB1* gene family in *Medicago sativa* L. and functional verification of *MsCBF9* affecting flowering time [J]. BMC Plant Biology, 2025, 25(1): 87
- [118] 刘志鹏, 刘文献, 杨青川, 等. 我国牧草育种进展及存在问题 [J]. 中国科学基金, 2023, 37(4): 528-536
- LIU Z P, LIU W X, YANG Q C, et al. Progress and existing problems of forage breeding in China [J]. Bulletin of National Natural Science Foundation of China, 2023, 37(4): 528-536
- [119] 王旗旗, 解继红, 于林清, 等. 我国苜蓿育种研究进展及展望 [J]. 草学, 2023(4): 1-7
- WANG Q Q, XIE J H, YU L Q, et al. Research progress and prospect of alfalfa breeding in China [J]. Journal of Grassland and Forage Science, 2023(4): 1-7
- [120] 孙启忠, 玉柱, 徐春城. 我国草业新世纪10年取得的成就和未
- 来10年发展的重点 [J]. 草业科学, 2011, 28(12): 2215-2220
- SUN Q Z, YU Z, XU C C. The pratacultural achievements in last decade and pratacultural perspectives in next decade in China [J]. Pratacultural Science, 2011, 28(12): 2215-2220
- [127] 陶雅, 孙启忠, 徐丽君, 等. 我国苜蓿产业发展态势与面临的挑战 [J]. 草原与草业, 2022, 34(1): 1-10
- TAO Y, SUN Q Z, XU L J, et al. Trends and challenges of alfalfa industry in China [J]. Grassland and Prataculture, 2022, 34(1): 1-10
- [122] 谢华玲, 杨艳萍, 董瑜, 等. 苜蓿国际发展态势分析 [J]. 植物学报, 2021, 56(6): 740-750
- XIE H L, YANG Y P, DONG Y, et al. Analysis on international development trends of alfalfa [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2021, 56(6): 740-750
- [123] 王瑞港, 徐伟平. 我国苜蓿产业发展特征与趋势分析 [J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(12): 7-12
- WANG R G, XU W P. Development characteristics and trend of alfalfa industry in China [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2021, 23(12): 7-12
- [124] 王旗旗, 解继红, 于林清, 等. 我国苜蓿育种研究进展及展望 [J]. 草学, 2023(4): 1-7
- WANG Q Q, XIE J H, YU L Q, et al. Research progress and prospect of alfalfa breeding in China [J]. Journal of Grassland and Forage Science, 2023(4): 1-7
- [125] 陈彩锦, 包明芳, 王文虎, 等. 紫花苜蓿抗旱育种研究现状及展望 [J]. 草业学报, 2025, 34(3): 204-223
- CHEN C J, BAO M F, WANG W H, et al. Current situation and prospects for drought-resistance breeding in *Medicago sativa* [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(3): 204-223
- [126] 张浩, 王明利, 李旭君, 等. “十三五”时期我国苜蓿产业科技进步贡献变动及“十四五”展望 [J]. 中国农业资源与区划, 2023, 44(7): 194-205
- ZHANG H, WANG M L, LI X J, et al. The changes in the contribution of scientific and technological progress of China's alfalfa industry during the 13TH five year plan period and the prospect of the 14TH Five-Year Plan period [J]. Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning, 2023, 44(7): 194-205
- [127] 潘霞, 高永, 刘博, 等. 苜蓿产业发展现状及前景展望 [J]. 绿色科技, 2017, 19(13): 104-107
- PAN X, GAO Y, LIU B, et al. Current situation and prospect of alfalfa industry [J]. Journal of Green Science and Technology, 2017, 19(13): 104-107
- [128] 郭婷, 薛彪, 白娟, 等. 刍议中国牧草产业发展现状——以苜蓿、燕麦为例 [J]. 草业科学, 2019, 36(5): 1466-1473
- GUO T, XUE B, BAI J, et al. Discussion of the present situation of China's forage grass industry development: an example using alfalfa and oats [J]. Pratacultural Science, 2019, 36(5): 1466-1473
- [129] GAO C X. Genome engineering for crop improvement and future agriculture [J]. Cell, 2021, 184(6): 1621-1635