

# 苜蓿属和胡卢巴属植物的形态特征及数量分类研究

邓超宏<sup>a</sup>, 崔大方<sup>b,①</sup>, 羊海军<sup>c</sup>, 李飞飞<sup>a</sup>, 方颖<sup>c</sup>

(华南农业大学 a. 生命科学学院; b. 林学院; c. 公共基础课实验教学中心, 广东 广州 510642)

**摘要:** 为研究苜蓿属 (*Medicago* L.) 与胡卢巴属 (*Trigonella* L.) 间的亲缘关系, 寻找两属间的分属依据, 解决中间过渡类群的分类归属问题, 对苜蓿属与胡卢巴属种类的种皮结构和花粉形态特征进行了观察和测量, 并以苜蓿属和胡卢巴属植物的 40 个形态性状为依据, 应用数量分类方法对供试的 16 个种类进行了聚类分析 (UPGMA) 和主成分分析 (PCA)。此外, 还根据具有重要分类学意义的形态性状, 编写了供试的苜蓿属和胡卢巴属 16 个种类的分类检索表。观察结果表明, 供试的两属植物 (11 种) 的种皮结构基本相同, 均由栅栏组织细胞、厚壁细胞和薄壁细胞组成, 但胡卢巴属种皮的帽状结构和栅栏组织的厚度均小于苜蓿属。供试的两属植物 (9 种) 花粉形态特征相似, 均为椭圆形或近球形, 赤道面观为椭圆形, 极面观为三裂圆形; 极轴和赤道轴长分别为 22.67 ~ 34.67  $\mu\text{m}$  和 17.34 ~ 31.60  $\mu\text{m}$ ; 花粉表面纹饰较简单, 呈小穴状。种皮结构和花粉特征显示两属的亲缘关系较近, 仅种皮结构中的帽状结构差异具有一定的属间分类学意义。聚类分析结果表明, 在欧氏距离 10.85 处, 供试的苜蓿属 (11 种) 和胡卢巴属 (5 种) 的 16 个种类被划分为 2 组, A 组均由胡卢巴属种类组成, B 组均由苜蓿属种类组成; 在欧氏距离 9.32 处, B 组可被进一步划分为 3 个亚组, 所包含的种类分别为苜蓿属的阔荚亚属 (Subgen. *Platycarpus* D. F. Cui)、镰荚亚属 (Subgen. *Medicago* Tutin) 和天蓝苜蓿亚属 (Subgen. *Lupulina* Gressh.) 的种类。主成分分析结果表明, 前 3 个主成分的累积贡献率较低, 仅 57.50%; 在前 3 个主成分中, 果实和小叶的长宽比、花萼长和被毛状况、茎和小叶的被毛状况、小叶尖形状、花序长等相关性状的绝对权重值均在 0.6 以上, 具有重要的分类学意义; 基于前 2 个主成分所做的二维散点图中供试的 16 个种类组成 4 个表征类群, 与聚类分析结果一致。

**关键词:** 苜蓿属; 胡卢巴属; 形态特征; 聚类分析; 主成分分析; 检索表

中图分类号: Q944.5; Q949.751.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2010)04-0001-11

**Studies on morphological characters and numerical classification of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species** DENG Chao-hong<sup>a</sup>, CUI Da-fang<sup>b,①</sup>, YANG Hai-jun<sup>c</sup>, LI Fei-fei<sup>a</sup>, FANG Ying<sup>c</sup> (a. College of Life Science; b. College of Forestry; c. Center of Experimental Teaching for Common Basic Courses, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2010, 19(4): 1-11

**Abstract:** In order to research the relationship between two genera of *Medicago* L. and *Trigonella* L., to find evidences for generic division and to solve the classification problem of transition taxa, testa structure characters and pollen morphological characters of two genera were observed and measured, and based on 40 morphological characters, cluster analysis (UPGMA) and principal component analysis (PCA) of sixteen species of two genera were conducted. Furthermore, the key to the sixteen species was compiled according to some morphological characters with important taxonomic significance. The observation results show that testa structure of two genera (11 species) is almost same, which is composed with palisade tissue, sclerenchymatous and parenchyma cells. But the thickness of cap-structure and palisade tissue of testa of *Trigonella* species is thinner than that of *Medicago* species. The pollen morphological characters of two genera (9 species) are similar and as follows: ellipsoidal or nearly spherical with elliptical in equatorial view and 3-lobed circular in polar view, the length of polar axis and equatorial axis is 22.67-34.67  $\mu\text{m}$  and 17.34-31.60  $\mu\text{m}$  respectively and the ornamentation of pollen surface is relatively

收稿日期: 2010-03-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30670145)

作者简介: 邓超宏 (1983—), 男, 广东三水人, 硕士研究生, 主要从事草资源与利用方面的研究。

①通信作者 E-mail: cuidf@scau.edu.cn

simple with little cave-shaped. The testa structure and pollen morphological characters indicate the close relationship between the two genera, but the difference of the cap-structure in testa between two genera has a certain taxonomic significance. The cluster analysis results show that sixteen species of *Medicago* (11 species) and *Trigonella* (5 species) are divided into two groups at Euclidean distance of 10.85, Group A consists of *Trigonella* species and Group B does of *Medicago* species. And Group B can be further divided into three sub-groups at Euclidean distance of 9.32, which consists of three subgenus species belonging to Subgen. *Platycarpus* D. F. Cui, Subgen. *Medicago* Tutin and Subgen. *Lupulina* Gressh., respectively. The principal component analysis results show that the accumulated contribution rate of the first three principal components is lower with only 57.50%. In the first three principal components, absolute weight values of length-width ratio of fruit and leaflet, length and hairy feature of calyx, the hairy feature of stem and leaflet, leaflet apex shape and inflorescence length are all more than 0.6, showing that these characters have important taxonomic significance. In two-dimensional scatter diagram based on the first two principal components, sixteen species of the two genera are composed of four phenetic taxa, which are consistent with the cluster analysis result.

**Key words:** *Medicago* L.; *Trigonella* L.; morphological character; cluster analysis; principal component analysis; key

苜蓿属 (*Medicago* L.) 及其近缘属植物胡卢巴属 (*Trigonella* L.) 等都隶属于豆科 (Leguminosae) 车轴草族 (Tribe. Trifolieae), 在中国西部地区有较广泛的分布<sup>[1-3]</sup>。这两个属的植物含有丰富营养, 是优良的饲用植物资源, 在全世界范围内的农牧业生产体系中占有重要地位。

苜蓿属的一些种类与胡卢巴属植物在形态、生长习性 & 染色体数目等方面相似, 形成大量的中间类群。许多研究表明, 苜蓿属和胡卢巴属之间的亲缘关系极为相近, 属间存在明显的过渡类群, 使两属间的界限十分模糊<sup>[4-9]</sup>。这些中间的过渡类群常被称为“类苜蓿植物 (medicagoid)”或“类胡卢巴植物 (trigonelloid)”, 主要分布在亚洲中部的帕米尔、克什米尔、兴都库什和我国西部山地及其周围的高原地带 (青海、新疆、西藏、云南等省区); 它们的荚果呈扁长圆形、新月形或阔镰形, 弯曲程度不一, 既与典型的苜蓿属果实不同, 又与典型的胡卢巴属果实相异; 这些中间类群曾一度被分离出来, 独立为扁蓿豆属 (*Melilotoides* Heister ex Fabr.) 或黑莱豆属 (*Turukhania* Vass.)<sup>[4-5]</sup>, 而有学者把这些过渡类群归入胡卢巴属<sup>[6-8]</sup>或苜蓿属<sup>[9]</sup>。《中国苜蓿》一书记载中国苜蓿属植物有 12 种 3 变种 6 变型<sup>[3]</sup>, 《中国植物志》记载中国苜蓿属植物有 13 种 1 变种<sup>[10]</sup>, 造成这种差异的原因主要是中间类群的归属不同; 国内也有一些文献专著将这些中间类群分别归入扁蓿豆属或黑莱豆属<sup>[11-12]</sup>。鉴于苜蓿属和胡卢巴属植物在分类上的混淆现状, 韦直和崔大方等分别对国产的苜蓿属和胡卢

巴属植物的分类问题进行了研究<sup>[13-15]</sup>, 但未对两属进行综合研究和比较。

在前人的研究基础上, 作者广泛收集现有文献中涉及的苜蓿属和胡卢巴属种类, 运用比较形态学、比较解剖学和数量分类方法, 研究苜蓿属与胡卢巴属间的亲缘关系, 以寻找两属间的分界依据及分属原则, 解决中间过渡类群的分类归属问题, 为国产苜蓿属与胡卢巴属的分类、资源评价和合理利用提供形态及解剖学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供种皮结构特征观察 (11 种) 和花粉形态观察 (9 种) 的苜蓿属和胡卢巴属种类采自中国的新疆、四川、宁夏、甘肃等省区以及澳大利亚的塔姆沃思、墨尔本、堪培拉和维多利亚等地, 共 53 份样品, 产地及凭证标本信息见表 1; 凭证标本保藏于华南农业大学植物标本馆 (CANT)。查阅并测量保藏于中国科学院植物研究所植物标本馆 (PE)、中国科学院新疆生态与地理研究所植物标本馆 (XJBI)、新疆农业大学植物标本馆 (XJA)、新疆畜牧科学院草原研究所植物标本室 (XAG)、新疆师范大学生物系植物标本室 (XJNU)、石河子大学植物标本室 (SHI)、西北农林科技大学植物标本馆 (WUK) 及华南农业大学植物标本馆 (CANT) 的苜蓿属与胡卢巴属种类的标本, 共计 16 种 217 份标本, 测量数据用于聚类分析。

表1 用于种皮结构和花粉形态特征观察的苜蓿属和胡卢巴属种类的凭证标本基本信息

Table 1 Basic information of voucher specimens of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species used for observing testa structure and pollen morphological characters

种类 Species	采集人 Collector	采集号 No. of collection	采集地 Location
网脉胡卢巴 <i>T. cancellata</i> Desf.	崔大方 Cui D F	H-003	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	H-133	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	H-134	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	H-135	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
直果胡卢巴 <i>T. orthoceras</i> Kar. et Kir.	崔大方 Cui D F	H-137	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	H-138	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	H-002	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	H-001	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
紫花苜蓿 <i>M. sativa</i> L.	崔大方 Cui D F	OZ08-507	澳大利亚塔姆沃思 Tamworth, Australia
	崔大方 Cui D F	OZ08-501	澳大利亚塔姆沃思 Tamworth, Australia
	崔大方 Cui D F	OZ08-307	澳大利亚墨尔本 Melbourne, Australia
	崔大方 Cui D F	OZ08-310	澳大利亚墨尔本 Melbourne, Australia
	崔大方 Cui D F	OZ08-314	澳大利亚墨尔本 Melbourne, Australia
南苜蓿 <i>M. polymorpha</i> L.	崔大方 Cui D F	OZ08-100	澳大利亚堪培拉 Canberra, Australia
	崔大方 Cui D F	OZ08-109	澳大利亚堪培拉 Canberra, Australia
	崔大方 Cui D F	OZ08-206	澳大利亚维多利亚 Ocean Grove, Australia
	崔大方 Cui D F	OZ08-205	澳大利亚维多利亚 Ocean Grove, Australia
	崔大方 Cui D F	OZ08-200	澳大利亚维多利亚 Ocean Grove, Australia
阔荚苜蓿 <i>M. platycarpus</i> (L.) Trautv.	羊海军 Yang H J	K-006	中国新疆布尔津 Burqin of Xinjiang, China
	羊海军 Yang H J	K-011	中国新疆布尔津 Burqin of Xinjiang, China
	羊海军 Yang H J	K-017	中国新疆布尔津 Burqin of Xinjiang, China
	羊海军 Yang H J	K-019	中国新疆布尔津 Burqin of Xinjiang, China
	羊海军 Yang H J	K-027	中国新疆布尔津 Burqin of Xinjiang, China
天蓝苜蓿 <i>M. lupulina</i> L.	崔大方 Cui D F	H-105	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	H-201	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	01-078	中国新疆新源 Xinyuan of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	04-001	中国新疆新源 Xinyuan of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	04-002	中国新疆新源 Xinyuan of Xinjiang, China
黄花苜蓿 <i>M. falcata</i> L.	羊海军,等 Yang H J, et al	B-010	中国新疆布尔津 Burqin of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	04-054	中国新疆新源 Xinyuan of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	010-026	中国新疆额敏 Emin of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	02-001	中国新疆巩留 Gongliu of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	H-122	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
多变苜蓿 <i>M. varia</i> Martyn	羊海军,等 Yang H J, et al	B-016	中国新疆布尔津 Burqin of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	Q-004	中国新疆巩留 Gongliu of Xinjiang, China
	崔大方 Cui D F	07001	中国新疆乌鲁木齐 Urumqi of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	J-043	中国新疆布尔津 Burqin of Xinjiang, China
	羊海军,等 Yang H J, et al	01-043	中国新疆新源 Xinyuan of Xinjiang, China
毛荚苜蓿 <i>M. edgeworthii</i> Sirj. ex Hand. -Mazz.	崔大方 Cui D F	1034	中国四川雅江 Yajiang of Sichuan, China
	崔大方 Cui D F	1025	中国四川新都桥 Xinduqiao of Sichuan, China
	崔大方 Cui D F	1056	中国四川雅江 Yajiang of Sichuan, China
	崔大方 Cui D F	1015	中国四川炉霍 Luhuo of Sichuan, China
	崔大方 Cui D F	1021	中国四川甘孜 Ganzi of Sichuan, China
花苜蓿 <i>M. ruthenica</i> (L.) Trautv.	孙红 Sun H	6437	中国宁夏中卫 Zhongwei of Ningxia, China
	孙红 Sun H	8142	中国宁夏中卫 Zhongwei of Ningxia, China
	孙红 Sun H	7399	中国宁夏中卫 Zhongwei of Ningxia, China
	孙红 Sun H	5133	中国宁夏中卫 Zhongwei of Ningxia, China

续表 1 Table 1 (Continued)

种类 Species	采集人 Collector	采集号 No. of collection	采集地 Location
	孙红 Sun H	72017	中国宁夏中卫 Zhongwei of Ningxia, China
青海苜蓿 <i>M. archiducis-nicolai</i> Sirj.	孙红 Sun H	7022	中国四川阿坝 Aba of Sichuan, China
	孙红 Sun H	7227	中国四川德格 Dege of Sichuan, China
	孙红 Sun H	06529	中国四川德格 Dege of Sichuan, China
	孙红 Sun H	2538	中国四川色达 Seda of Sichuan, China
	孙红 Sun H	3546	中国甘肃定西 Dingxi of Gansu, China

## 1.2 方法

1.2.1 种皮结构特征观察方法 将成熟种子煮沸后剥离种皮;选取种皮中部,切成 1 mm×1 mm 的小块,用 FAA 溶液固定;经体积分数 50% 至 100% 的系列乙醇梯度脱水后,用二甲苯进行透明处理,并用石蜡包裹;采用常规方法制片,切片厚度 8~10 μm,番红-固绿对染,中性树脂封片。用 Zeiss Axioskop 40 型光学显微镜(德国卡尔·蔡司公司生产)以及 Motic Images Advanced 3.2 图像处理软件进行种皮横切面结构的显微观察、拍照和测量。

1.2.2 花粉形态特征的观察方法 从标本上取下花粉,采用醋酸酐方法制片,在 Motic BA200 型光学显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司生产)下进行观察和测量,每个种类观测 20 粒以上的花粉,测量极轴和赤道轴的长度,结果取平均值。将花粉粒均匀撒在双面胶上,经喷金镀膜后,在 Philips XL30 ESEM 型环境扫描电镜(荷兰 Philips-FEI 公司生产)下观察和拍照。

1.2.3 聚类分析和主成分分析方法 根据《中国植物志》<sup>[10]</sup> 中对苜蓿属特征描述所用的 40 个性状(包括宏观外部形态、果皮和种皮组织结构以及花粉微形态等)对形态性状进行测定。这些性状及编码分别为:茎形状(圆形 0、四棱形 1);茎被毛情况(无毛 0、稀毛 1、疏毛 2、密毛 3);托叶长;托叶形状(披针形 0、戟形 1、三角形 2、卵形 3);托叶基部形状(圆形 0、耳形 1、戟形 2、锯齿形 3);托叶边缘形状(全缘 0、锯齿 1);托叶被毛情况(无毛 0、稀毛 1、疏毛 2、密毛 3);托叶脉纹(不清晰 0、清晰 1);叶柄长;叶轴长;小叶被毛情况(无毛 0、稀毛 1、疏毛 2、密毛 3);小叶形状(倒披针形 0、长椭圆形 1、阔椭圆形 2、倒卵形 3);小叶尖形状(微凹 0、截平 1、钝形 2);小叶边缘情况(全缘 0、顶部锯齿 1、1/3 以上锯齿 2、1/2 以上锯齿 3、全锯齿 4);小叶基部形状(楔形 0、阔楔形 1);小叶长;小叶宽;小叶长宽比;小叶上表皮被毛情况(无毛 0、稀毛 1、疏毛 2、密毛 3);小叶下表皮被毛情况(无毛 0、稀毛

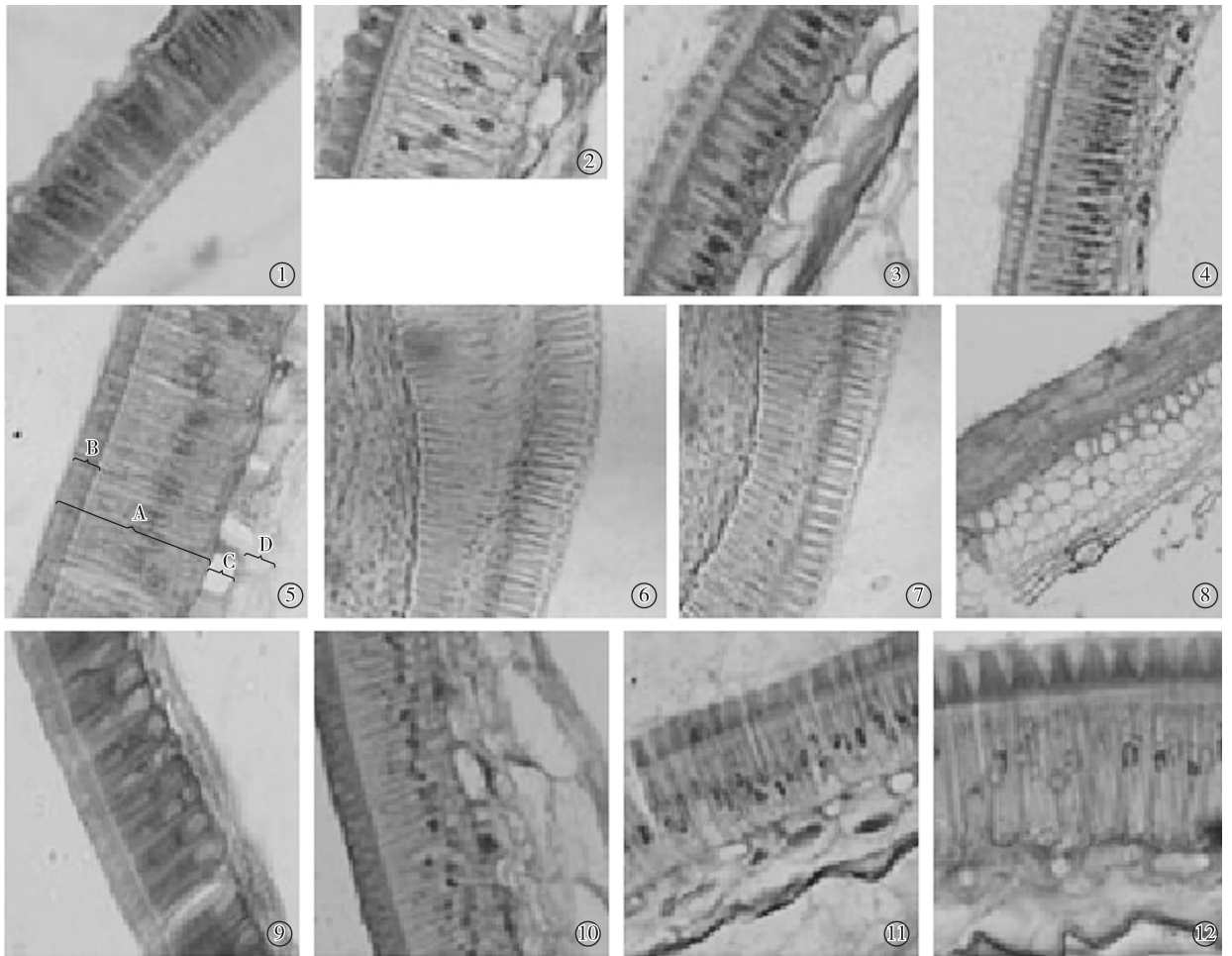
1、疏毛 2、密毛 3);花梗长;花梗被毛情况(无毛 0、稀毛 1、疏毛 2、密毛 3);花长;苞片长;花萼长;花萼被毛情况(无毛 0、稀毛 1、疏毛 2、密毛 3);萼齿长;萼齿形状(线形 0、披针形 1、锥形 2);花序梗长;花序长;果实形状(肾形 0、长圆形 1、镰状 2、螺旋状 3、螺旋状带刺 4);果实长;果实宽;果实长宽比;果皮被毛情况(无毛 0、稀毛 1、疏毛 2、密毛 3);花粉极轴长;花粉赤道轴长;花粉极轴与赤道轴长度比;种皮帽状结构厚度和种皮柱状结构厚度。从 217 份标本上获取茎、叶、花、果实和种子等器官的 40 个表征形态性状(包括 21 个数量性状和 19 个质量性状)的数据,每个类群分别测量 15 份标本,少数类群因馆藏量太少则以实测标本数量为准。

性状编码策略参照徐克学<sup>[16]</sup>的方法进行。对各性状进行编码,并以苜蓿属与胡卢巴属的 16 个种为运算单位,建立线性数据矩阵,然后利用 NTSYSpc version 2.1e 软件包进行聚类分析(UPGMA)和主成分分析(PCA),分别构建树形图和二维散点图,其中聚类分析以欧氏距离为计算依据,主成分分析以相关系数为计算依据。

## 2 结果和分析

### 2.1 种皮结构特征分析

苜蓿属(9 种)与胡卢巴属(2 种)植物种皮的结构见图 1。由图 1 可以看出,参试的苜蓿属与胡卢巴属种类的种皮结构基本相同,均由 3 层细胞构成:第 1 层为栅栏组织细胞,第 2 层为厚壁细胞,第 3 层为薄壁细胞。栅栏组织细胞除内切向壁不加厚外,其他方向的细胞壁均加厚,且径向壁自内向外逐渐加厚;细胞基部腔隙大,细胞核位于其中;径向壁上有不均匀加厚,自外切向壁向外突出加厚形成帽状突起。厚壁细胞均为 1 层,呈方形,在细胞中有 1 个较大的液泡腔,细胞的切向壁不加厚,但径向壁加厚。薄壁细胞



A: 栅栏组织 Palisade tissue; B: 帽状结构 Cap-structure; C: 厚壁细胞 Sclerenchymatous cell; D: 薄壁细胞 Parenchyma cell.

1. 直果胡卢巴 *Trigonella orthoceras* Kar. et Kir.; 2. 网脉胡卢巴 *T. cancellata* Desf.; 3. 阔荚苜蓿 *Medicago platycarpus* (L.) Trautv.; 4. 青海苜蓿 *M. archiducis-nicolai* Sirj.; 5. 黄花苜蓿 *M. falcata* L.; 6-7. 花苜蓿 *M. ruthenica* (L.) Trautv.; 8. 多变苜蓿 *M. varia* Martyn; 9. 紫花苜蓿 *M. sativa* L.; 10. 毛荚苜蓿 *M. edgeworthii* Sirj. ex Hand.-Mazz.; 11. 天蓝苜蓿 *M. lupulina* L.; 12. 南苜蓿 *M. polymorpha* L.

图1 苜蓿属和胡卢巴属种类种皮的横切面结构

Fig.1 Transverse section structure of testa of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species

位于种皮最内层,细胞层数各异,同一种植物也会因所取样品位于种皮的不同部位而出现薄壁细胞层数不同的现象。

供试的苜蓿属和胡卢巴属各种类的种皮和种脐形态结构也基本相同,表现为属内性状的一致性。然而,虽然供试的11个种类的种皮都是由栅栏组织细胞、厚壁细胞和薄壁细胞组成,但是不同种类种皮结构的解剖学特征存在一定的差异,具体表现在帽状结构及栅栏组织的厚度、厚壁细胞内有无沉淀物以及薄壁细胞层数等方面,各指标的实际测量结果见表2。

由表2可见,在苜蓿属和胡卢巴属的属间和属内

种皮结构都有一定的差异。胡卢巴属2个种类种皮的帽状结构厚度(4.63和5.68  $\mu\text{m}$ )明显小于苜蓿属(7.08~8.08  $\mu\text{m}$ ),栅栏组织厚度(20.02和24.65  $\mu\text{m}$ )也明显小于苜蓿属种类(24.70~35.38  $\mu\text{m}$ )。属内种间种皮解剖学特征差异表现在:1)直果胡卢巴(*T. orthoceras* Kar. et Kir.)和网脉胡卢巴(*T. cancellata* Desf.)种皮帽状结构厚度与栅栏组织厚度的比值和薄壁细胞层数相同(分别为0.23和1),但直果胡卢巴种皮的厚壁细胞内无沉淀物,而网脉胡卢巴种皮的厚壁细胞内有沉淀物;2)苜蓿属9个种的种皮帽状结构厚度与栅栏组织厚度比值为0.22~0.31,除

表 2 苜蓿属和胡卢巴属种类种皮解剖特征的比较

Table 2 Comparison of anatomical characteristics of testa of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species

种类 Species	厚度/ $\mu\text{m}$ Thickness		TC/TS <sup>1)</sup>	厚壁细胞内有无沉淀物 With or without precipitate in sclerenchymatous cell	薄壁细胞层数 Layer number of parenchyma cell
	帽状结构 Cap-structure	栅栏组织 Palisade tissue			
直果胡卢巴 <i>T. orthoceras</i>	5.68	24.65	0.23	无 No	1
网脉胡卢巴 <i>T. cancellata</i>	4.63	20.02	0.23	有 Yes	1
阔荚苜蓿 <i>M. platycarpus</i>	7.61	35.38	0.22	有 Yes	1
青海苜蓿 <i>M. archiducis-nicolai</i>	7.47	31.24	0.24	无 No	2
黄花苜蓿 <i>M. falcata</i>	7.08	29.94	0.24	无 No	2
花苜蓿 <i>M. ruthenica</i>	7.55	30.86	0.25	无 No	1
多变苜蓿 <i>M. varia</i>	7.91	30.63	0.26	无 No	1
紫花苜蓿 <i>M. sativa</i>	7.86	30.00	0.26	无 No	1
毛荚苜蓿 <i>M. edgeworthii</i>	7.44	25.93	0.29	无 No	2
天蓝苜蓿 <i>M. lupulina</i>	7.94	26.32	0.30	无 No	1
南苜蓿 <i>M. polymorpha</i>	8.08	24.70	0.31	无 No	2

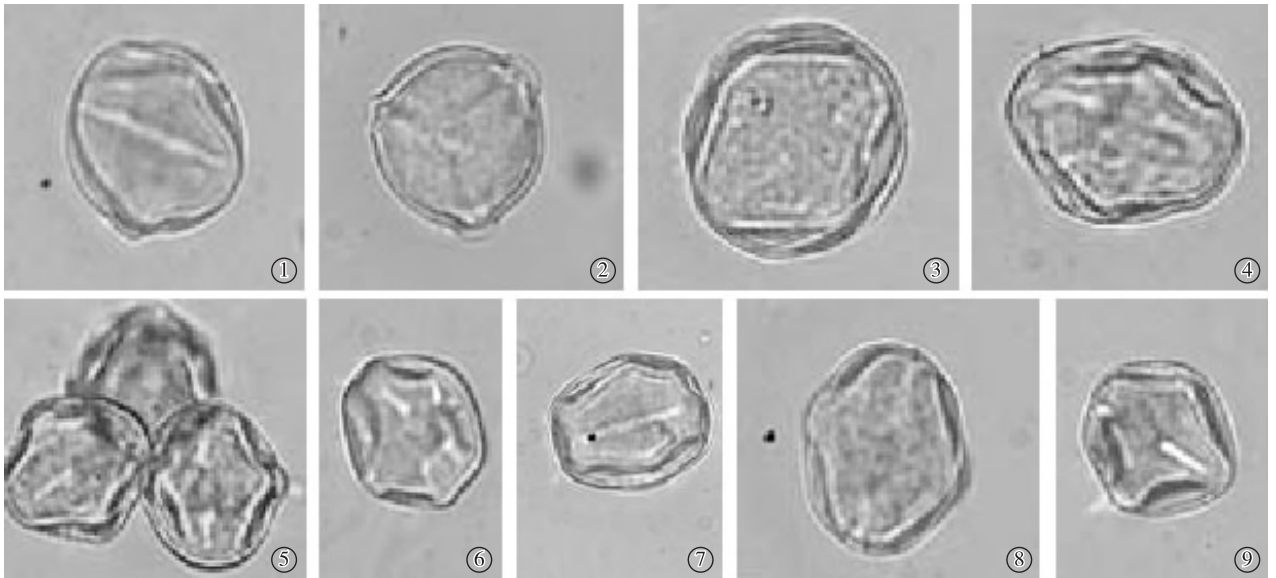
<sup>1)</sup> TC/TS: 帽状结构厚度与栅栏组织厚度的比值 Ratio of cap-structure thickness to palisade tissue thickness.

阔荚苜蓿 [*M. platycarpus* (L.) Trautv.] 外其余种类种皮的厚壁细胞内均没有沉淀物, 薄壁细胞层数为 1 或 2 层。

## 2.2 花粉的形态特征分析

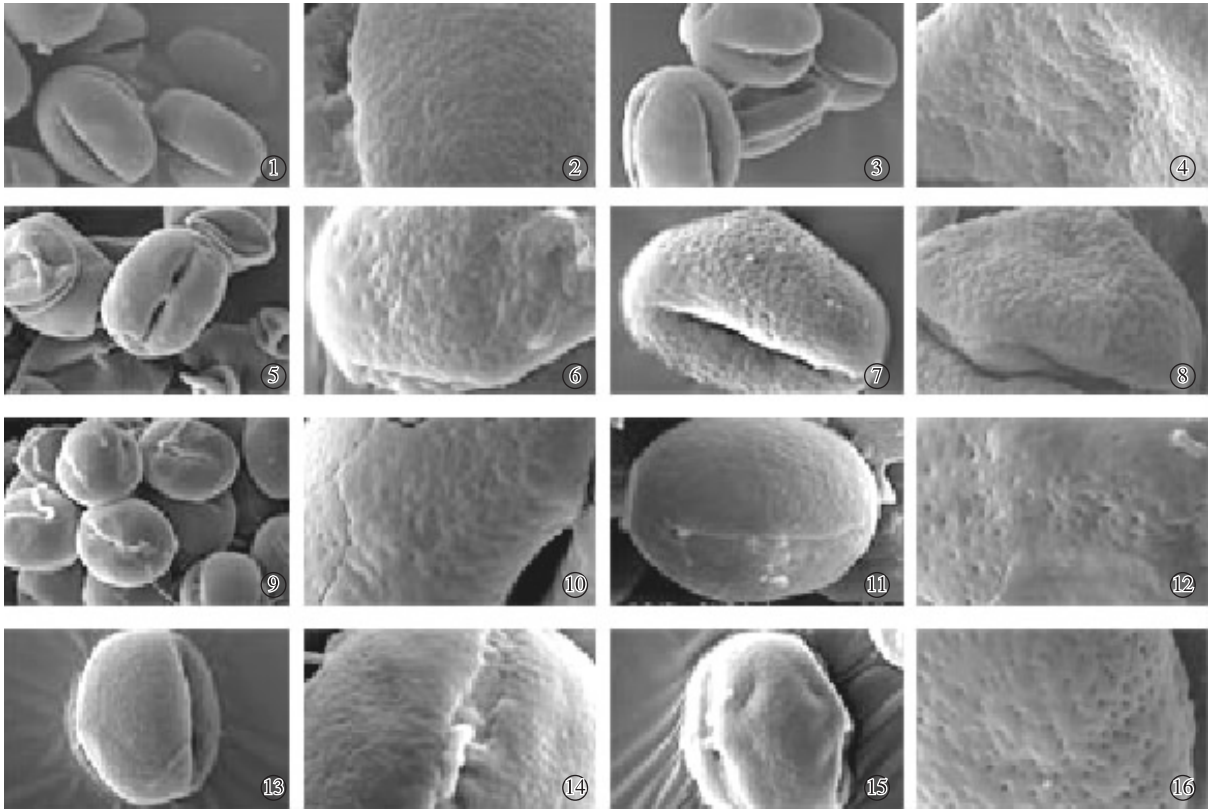
在光学显微镜下苜蓿属 (7 种) 与胡卢巴属 (2 种) 种类的花粉形态特征见图 2, 扫描电镜下花粉的形态特征及表面纹饰见图 3, 花粉形态的测量数据见

表 3。苜蓿属与胡卢巴属植物的花粉粒均为椭圆形或近球形, 赤道面观为椭圆形, 极面观为三裂圆形; 花粉粒的大小差别不大: 极轴平均长 22.67 ~ 34.67  $\mu\text{m}$ , 赤道轴平均长 17.34 ~ 31.60  $\mu\text{m}$ ; 花粉粒均具三孔沟, 孔处有或无外突; 花粉粒表面纹饰较简单, 光学显微镜下多呈平滑或近平滑, 扫描电镜下表面多呈小穴状。



1. 紫花苜蓿 *Medicago sativa* L.; 2. 黄花苜蓿 *M. falcata* L.; 3. 阔荚苜蓿 *M. platycarpus* (L.) Trautv.; 4. 天蓝苜蓿 *M. lupulina* L.; 5. 毛荚苜蓿 *M. edgeworthii* Sirj. ex Hand. -Mazz.; 6. 南苜蓿 *M. polymorpha* L.; 7. 多变苜蓿 *M. varia* Martyn; 8. 网脉胡卢巴 *Trigonella cancellata* Desf.; 9. 直果胡卢巴 *T. orthoceras* Kar. et Kir.

图 2 光学显微镜下苜蓿属和胡卢巴属种类的花粉粒形态  
Fig. 2 Pollen morphology of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species under light microscope



1-2. 紫花苜蓿 *Medicago sativa* L.; 3-4. 黄花苜蓿 *M. falcata* L.; 5-6. 多变苜蓿 *M. varia* Martyn; 7-8. 天蓝苜蓿 *M. lupulina* L.; 9-10. 阔荚苜蓿 *M. platycarpus* (L.) Trautv.; 11-12. 毛荚苜蓿 *M. edgeworthii* Strj. ex Hand.-Mazz.; 13-14. 南苜蓿 *M. polymorpha* L.; 15-16. 网脉胡卢巴 *Trigonella cancellata* Desf.

图3 扫描电镜下苜蓿属与胡卢巴属种类的花粉粒形态

Fig. 3 Pollen morphology of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species under scanning electron microscope

表3 苜蓿属和胡卢巴属种类花粉性状的测定结果 ( $\bar{X} \pm SD$ )

Table 3 Determination results of pollen character of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species ( $\bar{X} \pm SD$ )

种类 Species	极轴长度/ $\mu\text{m}$ Polar axis length	赤道轴长度/ $\mu\text{m}$ Equatorial axis length	表面纹饰 Surface ornamentation
阔荚苜蓿 <i>M. platycarpus</i>	31.34 $\pm$ 4.02	20.60 $\pm$ 3.33	光滑 Smooth
南苜蓿 <i>M. polymorpha</i>	24.67 $\pm$ 1.85	18.34 $\pm$ 2.35	小穴状 Little cave-shaped
黄花苜蓿 <i>M. falcata</i>	34.67 $\pm$ 4.07	31.60 $\pm$ 7.39	近光滑 Subsmooth
毛荚苜蓿 <i>M. edgeworthii</i>	26.74 $\pm$ 4.07	18.14 $\pm$ 3.44	小穴状 Little cave-shaped
天蓝苜蓿 <i>M. lupulina</i>	31.27 $\pm$ 5.35	21.07 $\pm$ 4.11	小穴状 Little cave-shaped
多变苜蓿 <i>M. varia</i>	29.74 $\pm$ 6.69	21.27 $\pm$ 5.34	小穴状 Little cave-shaped
紫花苜蓿 <i>M. sativa</i>	28.54 $\pm$ 5.35	21.80 $\pm$ 7.39	小穴状 Little cave-shaped
网脉胡卢巴 <i>T. cancellata</i>	22.67 $\pm$ 0.88	17.34 $\pm$ 1.34	小穴状 Little cave-shaped
直果胡卢巴 <i>T. orthoceras</i>	22.83 $\pm$ 2.17	18.50 $\pm$ 3.06	小穴状 Little cave-shaped

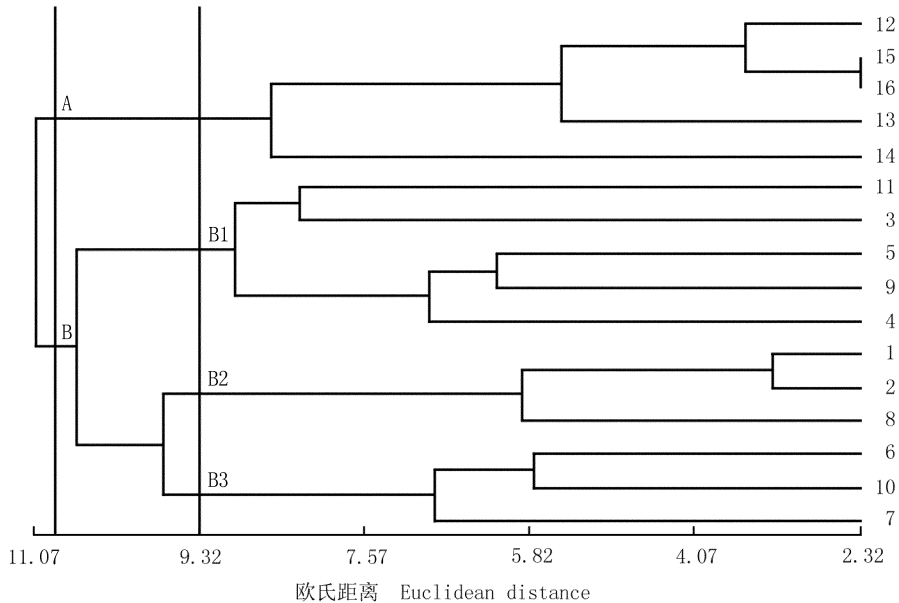
### 2.3 基于形态性状的聚类分析结果

以苜蓿属与胡卢巴属的16个种为运算单位、基于40个形态性状(包括宏观外部形态、果皮和种皮组织结构以及花粉微形态等),利用UPGMA法进行聚类分析,结果见图4。在欧氏距离10.85处,16个种类被划分为2组:A组和B组,具有属界特征。其中,

A组包含了直果胡卢巴、单花胡卢巴(*T. monantha* C. A. Meyer)、胡卢巴(*T. foenum-graecum* L.)、网脉胡卢巴和弯果胡卢巴(*T. arcuata* C. A. Meyer)5个种,均为传统分类中的胡卢巴属种类,最明显的特征为荚果呈线形或细长的圆锥状;B组包含了紫花苜蓿(*M. sativa* L.)、多变苜蓿(*M. varia* Martyn)、花苜蓿(*M.*

*ruthenica* (L.) Trautv. ]、毛茛苜蓿 (*M. edgeworthii* Sirj. ex Hand. -Mazz.)、阔茛苜蓿、南苜蓿 (*M. polymorpha* L.)、小苜蓿 [*M. minima* (L.) Grufb. ]、黄花苜蓿 (*M. falcata* L.)、青海苜蓿 (*M. archiducis-nicolai* Sirj.)、天蓝苜蓿 (*M. lupulina* L.) 和克什米尔苜蓿 [*M. cachemiriana* (L.) D. F. Cui]，全部为苜蓿属或类苜蓿属种类。由此可见，形态上介于苜蓿属和胡卢巴属之间的类苜蓿属种类更适合归属于苜蓿属。

在欧氏距离 9.32 处，B 组种类可进一步划分成 3 个亚组。其中，B1 亚组有 5 种，种类最多，包含花苜蓿、毛茛苜蓿、阔茛苜蓿、青海苜蓿和克什米尔苜蓿，共同特征为荚果呈扁平、长圆形，与传统的阔茛组相一致；B2 亚组包含紫花苜蓿、多变苜蓿和黄花苜蓿，特征为多年生、荚果由镰状弯曲到 1~4 圈螺旋卷曲；B3 亚组包含天蓝苜蓿、小苜蓿和南苜蓿，特征为 1~2 年生、植株被毛、荚果形状为肾形或盘状具棘刺。



1. 紫花苜蓿 *Medicago sativa* L.; 2. 多变苜蓿 *M. varia* Martyn; 3. 花苜蓿 *M. ruthenica* (L.) Trautv.; 4. 毛茛苜蓿 *M. edgeworthii* Sirj. ex Hand. -Mazz.; 5. 阔茛苜蓿 *M. platycarpus* (L.) Trautv.; 6. 南苜蓿 *M. polymorpha* L.; 7. 小苜蓿 *M. minima* (L.) Grufb.; 8. 黄花苜蓿 *M. falcata* L.; 9. 青海苜蓿 *M. archiducis-nicolai* Sirj.; 10. 天蓝苜蓿 *M. lupulina* L.; 11. 克什米尔苜蓿 *M. cachemiriana* (L.) D. F. Cui; 12. 直果胡卢巴 *Trigonella orthoceras* Kar. et Kir.; 13. 单花胡卢巴 *T. monantha* C. A. Meyer; 14. 胡卢巴 *T. foenum-graecum* L.; 15. 网脉胡卢巴 *T. cancellata* Desf.; 16. 弯果胡卢巴 *T. arcuata* C. A. Meyer.

图 4 基于形态性状的苜蓿属与胡卢巴属植物的聚类分析 (UPGMA) 结果

Fig. 4 Result of cluster analysis (UPGMA) of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species based on morphological characters

## 2.4 基于形态性状的主成分分析结果

贡献率是表示主成分在整个数据分析中所承担的主成分意义所占的比例。取前  $m$  个主成分来代替原来全部性状所提供的信息时，累积贡献率的大小可体现出这种取代的可靠性，累积贡献率越大，可靠性越大；反之，可靠性越小。一般情况下，累积贡献率在 70% 以上，事物的基本面貌可以得到反映<sup>[16]</sup>。基于 40 个形态性状的苜蓿属和胡卢巴属种类的主成分分析结果见表 4。由表 4 可见，前 3 个主成分的累积贡献率仅为 57.50%，直至第 5 个主成分的累积贡献率才达到 70% 以上，说明各主成分的增值比较缓慢。

表 4 苜蓿属与胡卢巴属形态性状的主成分分析结果

Table 4 Result of principal component analysis of morphological characters of *Medicago* L. and *Trigonella* L.

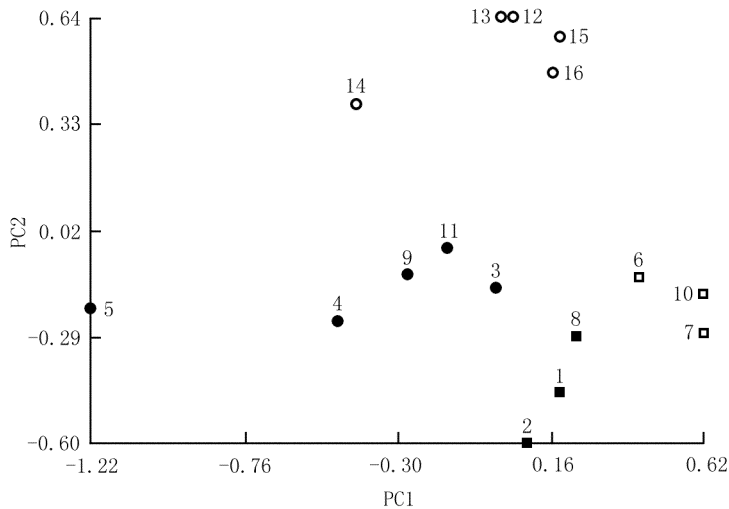
主成分 Principal component	特征值 Eigen-value	贡献率/% Contribution rate	累积贡献率/% Accumulated contribution rate
1	10.359 9	22.52	22.52
2	8.713 5	18.94	41.47
3	7.379 1	16.04	57.50
4	4.353 8	9.46	66.97
5	3.819 7	8.31	75.27
...	...	...	...
...	...	...	...
...	...	...	...



根据对各性状绝对权重值的分析可见,在第1主成分特征向量中,小叶下表皮被毛情况(0.859 7)、小叶宽(-0.799 2)、茎被毛情况(0.786 1)、花萼被毛情况(0.783 8)、托叶被毛情况(0.728 0)和小叶上表皮被毛情况(0.702 6)等性状的绝对权重值都在0.7以上,说明这些性状的信息负荷量最大,对分类最为重要,是区分苜蓿属与胡卢巴属植物的主要性状。在第2主成分特征向量中,果实长宽比(0.915 2)、种皮帽状结构厚度(-0.880 1)、花萼长(0.778 9)等性状的绝对权重值也在0.7以上,说明这些性状信息负荷量也很大,对分类较重要。在第3主成分特征向量中,萼齿长(-0.823 7)、小叶长宽比(-0.780 6)、苞片长(-0.765 5)、小叶形状(0.737 9)、花序长(-0.645 7)

和花粉极轴与赤道轴长度的比值(0.660 3)等性状的绝对权重值在0.6以上,说明这些性状对苜蓿属与胡卢巴属植物的分类也有较大的作用。

基于前2个主成分构建的苜蓿属和胡卢巴属16个种类的OTU散点图见图5。在散点图上可以很明显地看出供试的苜蓿属与胡卢巴属16个种类有4个不同的表征类群,即:胡卢巴组、天蓝苜蓿组、阔荚苜蓿组和紫花苜蓿组,并且这些类群与聚类分析划分出的分类群是一致的。说明在前2个主成分中,根据绝对权重值较高的这些性状可以进行苜蓿属与胡卢巴属植物的分类和分组。例如,通过茎、叶及花的被毛状况可以区分出1年生苜蓿类群;根据果实长宽比这一性状可以区分胡卢巴类群和阔荚类群。



○ 胡卢巴组 *Trigonella* group; □ 天蓝苜蓿组 *Medicago lupulina* group; ● 阔荚苜蓿组 *M. platycarpus* group; ■ 紫花苜蓿组 *M. sativa* group.

1. 紫花苜蓿 *Medicago sativa* L.; 2. 多变苜蓿 *M. varia* Martyn; 3. 花苜蓿 *M. ruthenica* (L.) Trautv.; 4. 毛荚苜蓿 *M. edgeworthii* Sirj. ex Hand. - Mazz.; 5. 阔荚苜蓿 *M. platycarpus* (L.) Trautv.; 6. 南苜蓿 *M. polymorpha* L.; 7. 小苜蓿 *M. minima* (L.) Grufb.; 8. 黄花苜蓿 *M. falcata* L.; 9. 青海苜蓿 *M. archiducis-nicolai* Sirj.; 10. 天蓝苜蓿 *M. lupulina* L.; 11. 克什米尔苜蓿 *M. cachemiriana* (L.) D. F. Cui; 12. 直果胡卢巴 *Trigonella orthoceras* Kar. et Kir.; 13. 单花胡卢巴 *T. monantha* C. A. Meyer; 14. 胡卢巴 *T. foenum-graecum* L.; 15. 网脉胡卢巴 *T. cancellata* Desf.; 16. 弯果胡卢巴 *T. arcuata* C. A. Meyer.

图5 基于第1和第2主成分(PC1和PC2)构建的苜蓿属与胡卢巴属植物的二维散点图  
Fig. 5 Two-dimensional scatter diagram of *Medicago* L. and *Trigonella* L. species based on the first and the second principal components(PC1 and PC2)

### 3 讨论和结论

#### 3.1 苜蓿属和胡卢巴属植物形态特征的分类学意义

苜蓿属和胡卢巴属植物在果皮和种皮结构特征上具有一致性,这一现象在一定程度上反映了这2个

属的种类间具有较近的亲缘关系,也说明单独使用果皮或种皮性状进行分类的意义不大,但是种皮帽状结构具有一定的分类价值,并成为第2主成分的性状之一。因而,若要全面分析苜蓿属和胡卢巴属植物各器官性状之间的联系,果皮和种皮性状在分类中的意义是不能被忽视的。

苜蓿属和胡卢巴属植物花粉的形态特征比较相似,外壁纹饰均较简单。马剑敏在光学显微镜和扫描电镜下观察了苜蓿属 11 个种类的花粉形态,认为苜蓿属属内花粉特征有较高的一致性,花粉性状分化程度小,各个种之间具有较近的亲缘关系<sup>[1]</sup>;在本研究中,胡卢巴属的网脉胡卢巴和直果胡卢巴的花粉形态与供试的苜蓿属植物的花粉形态相近,区别在于花粉体积略小。由此推断,苜蓿属和胡卢巴属植物花粉性状的分类价值不大。

从 40 个形态性状的主成分分析结果看,前 3 个主成分的累积贡献率仅有 57.50%,直至第 5 个主成分的累积贡献率才达到 70% 以上,表明各性状的贡献率较分散,累积贡献率增长不明显,说明国产苜蓿属和胡卢巴属种类在演化过程中性状变异具有多样性,但前 2 个主成分中具有较高绝对权重值的一些性状可用于苜蓿属和胡卢巴属的类群划分。

### 3.2 苜蓿属和胡卢巴属植物的亲缘关系分析

苜蓿属和胡卢巴属植物具有极其相似的特征,二者之间的分类界限不明显,它们有可能是由共同的祖先进化而来的,并在进化过程中演化成 4 个分支:一支趋向于胡卢巴属,另外三支趋向于苜蓿属的 3 个亚属。基于 40 个形态性状、采用聚类分析方法可将供试的苜蓿属和胡卢巴属 16 个种类划分为 4 组,可分别指向胡卢巴属以及苜蓿属的阔荚亚属 (Subgen. *Platycarpus* D. F. Cui)、镰荚亚属 (Subgen. *Medicago* Tutin) 和天蓝苜蓿亚属 (Subgen. *Lupulina* Gressh.)。其中,紫花苜蓿、多变苜蓿以及黄花苜蓿在欧氏距离 5.88 处聚在一起,说明它们之间的表征相似性较高;而紫花苜蓿和黄花苜蓿可以在自然条件下杂交,产生

的后代为多变苜蓿,聚类分析结果也证明了它们之间具有很近的亲缘关系,应将它们归为镰荚亚属。阔荚类植物具有相似的荚果类型,其归属一直是苜蓿属与胡卢巴属植物分类的争议焦点,聚类分析结果表明,阔荚类群与苜蓿属其他种的亲缘关系较其与胡卢巴属植物的亲缘关系近,应归于苜蓿属。克什米尔苜蓿原归为胡卢巴属植物 (*T. cachemiriana* L.),后经作者的详细研究和分析后重新归入苜蓿属中,该种具有以下特征:小叶为倒卵形,近等大,长(5)7~12 mm,宽(4)6~8 mm,先端钝圆至截平;荚果长圆形,长(10)12~15 mm,宽 4 mm,扁平。这些特征都跟苜蓿属的阔荚类群的相应性状极为相似,在聚类分析图中,克什米尔苜蓿也被归在阔荚类群中,因此应将该种划归到苜蓿属的阔荚亚属中。胡卢巴属是苜蓿属的近缘属,在聚类图上可以看到胡卢巴属类群与苜蓿属的 3 个类群的关系都比较远。Small<sup>[7]</sup>曾提出要将胡卢巴归属到角形果组并合并到苜蓿属中,而本研究中供试的网脉胡卢巴、单花胡卢巴、直果胡卢巴和弯果胡卢巴都属于角形果组,聚类分析结果也显示它们之间有较近的亲缘关系,而非角形果组的胡卢巴有明显区分,所以这两组植物能否归并到苜蓿属中还需进一步的深入研究。

### 3.3 国产苜蓿属和胡卢巴属植物的检索表

主成分分析结果显示,果实的长宽比、小叶的长宽比、花萼长、花萼被毛状况、茎和小叶被毛状况、小叶尖形状、花序长等性状对苜蓿属与胡卢巴属植物的分类具有重要意义。根据上述性状,编写出苜蓿属和胡卢巴属植物的检索表。

#### 供试苜蓿属和胡卢巴属 16 个种类的检索表

1. 一年生;荚果长条状圆柱形或圆锥形、非扁平(胡卢巴属 *Trigonella* L.)
  2. 荚果长条状圆柱形,长 1.5~5(7)cm,宽不到 2 mm
    3. 总花梗发达,长度常在 15 mm 以上 ..... 网脉胡卢巴 *T. cancellata* Desf.
    3. 总花梗不发达,长度常不到 10 mm
      4. 荚果长 4 cm 以上 ..... 单花胡卢巴 *T. monantha* C. A. Meyer
      4. 荚果长 3 cm 以下
        5. 荚果挺直,长 2~3 cm ..... 直果胡卢巴 *T. orthoceras* Kar. et Kir.
        5. 荚果弯曲成弧形,长 1.5~2 cm ..... 弯果胡卢巴 *T. arcuata* C. A. Meyer
  2. 荚果长条状圆锥形,长 7~12 cm,宽 2.5 mm 以上 ..... 胡卢巴 *T. foenum-graecum* L.
1. 一年生或多年生;荚果非长条状圆柱形(苜蓿属 *Medicago* L.)

6. 荚果扁平、长圆形; 多年生(阔荚亚属 Subgen. *Platycarpus* D. F. Cui)
  7. 荚果长圆形至半月形, 宽4 mm 以上
    8. 荚果和植株均密被毛 ..... 毛荚苜蓿 *M. edgeworthii* Sirj. ex Hand.-Hazz.
    8. 荚果几无毛; 植株被微毛或无毛
      9. 荚果宽7~9 mm; 小叶较大; 茎无毛 ..... 阔荚苜蓿 *M. platycarpus* (L.) Trautv.
      9. 荚果宽6 mm 以下; 小叶较小; 茎或多或少被柔毛
        10. 花序松散, 具花4~5朵; 小叶倒卵形至圆形, 托叶戟形 ..... 青海苜蓿 *M. archiducis-nicolai* Sirj.
        10. 花序紧列, 具花6~9朵; 小叶倒披针形、楔形至线形, 托叶披针形 ..... 花苜蓿 *M. ruthenica* (L.) Trautv.
  7. 荚果长圆形, 直, 宽约4 mm, 顶端具喙 ..... 克什米尔苜蓿 *M. cachemiriana* (L.) D. F. Cui
6. 荚果镰状弯曲至螺旋状盘曲、旋转呈球形或肾形弯曲; 一、二年生或多年生
  11. 多年生(镰荚亚属 Subgen. *Medicago* Tutin)
    12. 荚果镰状弯曲达半圈左右; 花冠纯黄色 ..... 黄花苜蓿 *M. falcata* L.
    12. 荚果螺旋状盘曲; 花冠紫色或其他杂色
      13. 荚果镰状或螺旋状盘曲1.0~2.5圈, 中央有孔; 花冠紫色或其他杂色 ..... 多变苜蓿 *M. varia* Martyn
      13. 荚果螺旋状盘曲2~4圈, 中央无孔或近无孔; 花冠纯紫色 ..... 紫花苜蓿 *M. sativa* L.
  11. 一、二年生(天蓝苜蓿亚属 Subgen. *Lupulina* Gressh.)
    14. 荚果旋转呈球形, 果皮具刺
      15. 叶片无毛或近无毛; 荚果直径5~10 mm ..... 南苜蓿 *M. polymorpha* L.
      15. 叶片明显被毛; 荚果直径小于4.5 mm ..... 小苜蓿 *M. minima* (L.) Grubb.
    14. 荚果肾形弯曲, 果皮无刺 ..... 天蓝苜蓿 *M. lupulina* L.

#### 参考文献:

- [1] 马剑敏. 西北地区苜蓿属(*Medicago* L.)的种类和分布[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 1991(3): 61-65.
- [2] 崔大方, 田允温, 闵继淳, 等. 新疆苜蓿属植物的分类研究[M]//于兆英. 西北地区现代植物分类学研究: 第一卷. 北京: 科学技术文献出版社, 1992: 43-57.
- [3] 耿华珠. 中国苜蓿[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 10-24.
- [4] Grossheim A A. Flora of the USSR; Vol. 11 [M]. Moscow-Leningrad: USSR, 1945: 129-176.
- [5] Goloskokov V P. Flora of Kazakhstan; Vol. 5 [M]. Alma-Ata: Izd-vo Akademii nauk Kazakhskoi SSR, 1961: 30-50.
- [6] Lesins K A, Lesins I. Genus *Medicago* (Leguminosae), a Taxogenetic Study[M]. Hague: Dr W Junk Publishers, 1979.
- [7] Small E, Crompton C W, Brookes B S. The taxonomic value of floral characters in tribe Trigonelleae (Leguminosae), with special reference to *Medicago*[J]. Canadian Journal of Botany, 1981, 59(9): 1578-1598.
- [8] Small E, Jomphe M. A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae)[J]. Canadian Journal of Botany, 1989, 67(11): 3260-3294.
- [9] Bena G. Molecular phylogeny supports the morphologically based taxonomic transfer of the "medicagoid" *Trigonella* species to the genus *Medicago* L. [J]. Plant Systematics and Evolution, 2001, 229(3/4): 217-236.
- [10] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第四十二卷第二分册[M]. 北京: 科学出版社, 1994: 304-328.
- [11] 内蒙古植物志编辑委员会. 内蒙古植物志: 第二卷[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1978.
- [12] 新疆八一农学院. 新疆植物检索表: 第三册[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1983.
- [13] 韦直. 胡卢巴属与苜蓿属分类界限[C]//中国植物学会. 中国植物学会65周年年会学术报告及论文摘要汇编. 北京: 中国林业出版社, 1998: 137.
- [14] 崔大方, 丘安经. 中国苜蓿属的起源、演化与地理分布[C]//中国植物学会. 中国植物学会65周年年会学术报告及论文摘要汇编. 北京: 中国林业出版社, 1998: 58-59.
- [15] 崔大方, 羊海军, 赵业彬, 等. 紫花苜蓿复合体(*Medicago sativa* complex)叶片形态特征及数量分类研究[J]. 植物资源与环境学报, 2010, 19(3): 1-9.
- [16] 徐克学. 数量分类学[M]. 北京: 科学出版社, 1994.