

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2020.10032

郝连连, 李嘉宝, 朱凯琳, 祁奇, 陈昕. 花楸属 3 种植物的基因组大小与叶气孔特征分析[J]. 植物科学学报, 2020, 38(1): 32-38

Xi LL, Li JB, Zhu KL, Qi Q, Chen X. Variation in genome size and stomatal traits among three *Sorbus* species[J]. *Plant Science Journal*, 2020, 38(1): 32-38

花楸属 3 种植物的基因组大小与叶气孔特征分析

郝连连^{1,2}, 李嘉宝^{1,2}, 朱凯琳^{1,2}, 祁奇^{1,2}, 陈昕^{1,2*}

(1. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京 210037; 2. 南京林业大学生物与环境学院, 南京 210037)

摘要: 以糙把沟花楸 (*Sorbus cibagouensis* H. Peng & Z. J. Yin)、大理花楸 (*S. hypoglauca* (Cardot) Hand.-Mazz.) 和川滇花楸 (*S. vilmorinii* C. K. Schneid.) 为材料, 采用流式细胞术对其基因组大小及倍性进行检测分析, 同时应用光学显微镜和扫描电子显微镜对其气孔特征进行观察。结果显示, 3 种花楸属植物的基因组大小和倍性、气孔特征均存在一定差异。糙把沟花楸、大理花楸和川滇花楸的基因组大小分别为: (1.480 ± 0.039) pg、(1.513 ± 0.041) pg、(2.675 ± 0.065) pg, 在此基础上推断糙把沟花楸和大理花楸为二倍体、川滇花楸为四倍体植物。显微镜观测发现: 3 种花楸属植物的气孔器均分布于叶的下表皮, 气孔不下陷, 保卫细胞无“T”型加厚结构, 气孔类型为无规则形; 糙把沟花楸和川滇花楸的气孔器外拱盖光滑, 而大理花楸气孔器外拱盖具有短棒状蜡质纹饰; 3 种植物的气孔器大小存在极显著差异。研究结果表明花楸属植物的基因组大小与倍性呈显著正相关, 可用于推断植物的倍性; 而气孔器大小和密度与倍性的相关性不大, 但气孔特性在种间变化显著, 可为种的鉴定提供科学的理论依据。

关键词: 基因组大小; 倍性; 气孔特征; 花楸属

中图分类号: Q943

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2020)01-0032-07

Variation in genome size and stomatal traits among three *Sorbus* species

Xi Lian-Lian^{1,2}, Li Jia-Bao^{1,2}, Zhu Kai-Lin^{1,2}, Qi Qi^{1,2}, Chen Xin^{1,2*}

(1. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: In this paper, ploidy in *Sorbus cibagouensis* H. Peng & Z. J. Yin, *S. hypoglauca* (Cardot) Hand.-Mazz., and *S. vilmorinii* C. K. Schneid was assessed by means of relative genome size using flow cytometry. At the same time, stomatal characteristics were observed by light microscopy and scanning electron microscopy. Based on flow cytometry profiles, the genome sizes of *S. cibagouensis*, *S. hypoglauca*, and *S. vilmorinii* were (1.480 ± 0.039) pg, (1.513 ± 0.041) pg, and (2.675 ± 0.065) pg respectively. The cytotypes of *S. cibagouensis* (2x), *S. hypoglauca* (2x), and *S. vilmorinii* (4x) were also revealed. The stomata of the three *Sorbus* species did not sink and the guard cells had no ‘T’ type thickening structure. Furthermore, the stomata were distributed in the lower epidermis of the leaves and were anomocytic type. The outer stomatal rim ornamentation of *S. cibagouensis* and *S. vilmorinii* was smooth, whereas that of *S. hypoglauca* was short rod waxy. These results showed that there

收稿日期: 2019-06-23, 退修日期: 2019-09-19。

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。

This work was supported by a grant from the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD).

作者简介: 郝连连(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物学(E-mail: 1271764475@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: chenxinzhou@hotmail.com)。

were significant differences in stomatal size among the three *Sorbus* species. Furthermore, genome size was positively associated with the ploidy of *Sorbus*, which could therefore be used for ploidy identification. Although the correlation between stomatal traits and ploidy was not significant, the stomatal characteristics changed significantly among species, which could provide a theoretical basis for species identification.

Key words: Genome size; Ploidy; Stomatal traits; *Sorbus*

花楸属 (*Sorbus*) 属于蔷薇科苹果亚科 (Rosaceae, Maloideae), 该属植物春季白花满树, 秋季果实累累, 部分种类果实还可制作果酱、果糕及酿酒, 其果实、枝叶、树皮等可入药, 木材可制作家具, 具有多种经济用途^[1, 2]。由于该属植物存在大量杂交起源的无融合生殖多倍体^[3-5], 且分类学者对多倍体物种的分类地位处理观点不一, 导致对该属植物数量认知分歧巨大。如 Lu 和 Sponberg^[6]认为世界花楸属植物约有 100 种; Phipps 等^[7]认为约有 250 种; Sennikov 和 Kurtto^[8]认为欧洲花楸属植物有 201 种, 其中无融合生殖多倍体多达 186 种。由此可见, 无融合生殖多倍体植物的分类地位处理是造成种类数量认知差异的主要原因。因此, 倍性推断在花楸属植物的分类中显得尤为重要。

通过根尖压片染色体计数来确定植物倍性的方法虽然直观可信, 但材料获得较为困难, 且工作量大。采用流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 测定基因组大小 (2C 值) 是目前用于鉴定植物倍性水平的主要方法, 在大规模样本的细胞型推断方面具有明显优势^[9]。虽然被子植物的基因组大小相差约 2400 倍^[10], 但同种植物的 2C 值具有随染色体倍性增加而成倍增加的趋势^[11], 且同属植物的 2C 值亦有随倍性增大而增加的趋势^[12], 因而可用于植物染色体倍性的判断。基于基因组大小的倍性推断在欧洲花楸属植物的分类研究中较为常见^[13-15],

我国作为花楸属的资源分布中心, 该属植物的基因组大小及其与染色体倍性相关性方面的研究目前还未见报道。

气孔器是植物进行气体交换的主要场所, 其特征不仅可反映植物对环境的适应性, 在大多数亲缘关系较近的谱系中, 气孔器大小还与植物倍性呈正相关, 而气孔密度与倍性呈负相关^[16, 17]。气孔器还在一定程度上受基因组大小的影响^[18], 因而可作为倍性推断的依据之一, 同时气孔器特征也为植物的分类和系统学研究提供了重要的证据^[19, 20]。

本研究以中国特有种糍粑沟花楸 (*Sorbus cibagouensis* H. Peng & Z. J. Yin)、大理花楸 (*S. hypoglauca* (Cardot) Hand.-Mazz.) 和川滇花楸 (*S. vilmorinii* C. K. Schneid.) 为对象, 利用流式细胞仪、光学显微镜 (LM) 和扫描电子显微镜 (SEM) 对这 3 种植物的基因组大小及气孔特征进行分析, 探讨基因组大小与倍性之间的相关性, 探索快速推断国产花楸属植物染色体倍性的方法, 以期在花楸属植物的分类鉴定提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采集糍粑沟花楸、大理花楸和川滇花楸天然种群成年单株的健康成熟叶片, 置于硅胶中干燥保存, 同时每个单株采集 3 份标本保存于南京林业大学植物标本馆 (NF) (表 1)。

表 1 3 种花楸属植物的采集信息
Table 1 Collection information on three species of *Sorbus*

种名 Species	采集地 Location	地理坐标 Geographical coordinates	海拔 (m) Altitude	采集人及凭证标本 Collector and Voucher	采集时间 (年-月) Collection time (Year-Month)
糍粑沟花楸 <i>S. cibagouensis</i>	西藏林芝市波密县	29°49'16.49"N, 95°42'40.63"E	3272	X. Chen & Z. R. Xiong & X. C. Zhang 0964	2017-09
大理花楸 <i>S. hypoglauca</i>	云南大理漾江镇	25°47'36.24"N, 100°00'11.88"E	3428	X. Chen & X. C. Zhang & Q. Qi 1237	2018-09
川滇花楸 <i>S. vilmorinii</i>	西藏林芝市巴宜区 色季拉山	29°48'55.60"N, 94°44'32.16"E	3135	X. Chen & Z. R. Xiong & X. C. Zhang 1035	2017-09

1.2 实验方法

1.2.1 基因组大小和倍性鉴定

本研究参考 Doležel 等^[9]的方法测定,以水稻品种‘日本晴’(*Oryza sativa* ssp. *japonica* ‘Nipponbare’, 2C = 0.91 pg)为内标^[21]。取硅胶干燥后的叶片 1 g, 在 0.5 mL 预冷的 WPB 裂解液^[22]中用锋利的刀片切碎, 用 40 μm 滤网过滤, 收集滤液。经过 1000 r/min 离心 15 min 后, 弃上清, 获得细胞悬浮液。在细胞悬浮液中加入 500 μL 预冷的 PI 染液进行染色, 然后置于 4°C 冰箱避光处理 10 min。采用 BD Influx 流式细胞仪对染色的样品细胞核悬浮液进行测定, 并用 488 nm 蓝光激发, 收集 5 000~10 000 个颗粒。每个样本重复测定 3 次。测得的图像用 BD FACS™ 1.0.0.650 软件进行数据处理。CV 值小于 5% 认为是可靠数据。荧光信号的强度代表其核内物质的浓度, 荧光强度与细胞核的 DNA 含量成正比。样品基因组大小的计算公式为:

$$\text{待测样本基因组大小} = \text{参照样本基因组大小} \times \frac{\text{待测样本 G0 或 G1 峰荧光均值}}{\text{参照样本 G0 或 G1 峰荧光均值}}$$

依据植物 C 值数据库 (<https://cvalues.science.kew.org/>) 中花楸属不同倍性的基因组大小变异区间, 对 3 种花楸属植物进行倍性推断。

1.2.2 气孔性状观察

每种花楸属植物随机选取腊叶标本中部成熟的小叶 3 片, 采用 30% 冰醋酸离析法处理叶片。小叶用刀片避开中脉及较大侧脉切取约 5 mm × 5 mm 的两小块, 放入带有蒸馏水的 10 mL 烧杯中煮沸约 40 min 至软化, 取出叶片放入冰醋酸与

30% 过氧化氢的等比混合液中, 置于 60°C 水浴温箱中 14 h。待叶片完全变为白色、表皮开始分离时, 将离析后的材料取出并移入盛有蒸馏水的容器中。用镊子撕下上下表皮, 置于 1% 番红酒精 (50%) 溶液中染色 25 min, 随后放入蒸馏水中漂洗约 1 h, 最后用中性树胶进行封片, 放于室内自然晾干。在 40 倍物镜的光学显微镜 (LM) 下观察拍照, 随机选取 10 个视野下的气孔器密度 (SD) 及气孔器指数 (SI) 进行观察, $SD = N/A$, $SI = [N/(N + C_n)] \times 100$ 。其中, N 为单位视野测量的叶片气孔器数量, A 为单位视野测量的面积, C_n 为单位视野的叶片上下表皮的细胞数量。10 个视野中全部气孔的气孔器长度 (保卫细胞的长度) 和气孔面积采用 ImageJ 1.4.8 软件处理。

扫描电镜叶片观察: 先用毛笔轻轻擦拭叶片, 去除灰尘, 每种叶切取 4 mm × 4 mm 的两块, 再分别将切好的叶片上、下表皮置于 FEI-Quanta 200 扫描电子显微镜下观察、记录和拍照。气孔器描述术语参考王宇飞和陶君容^[23]的方法。

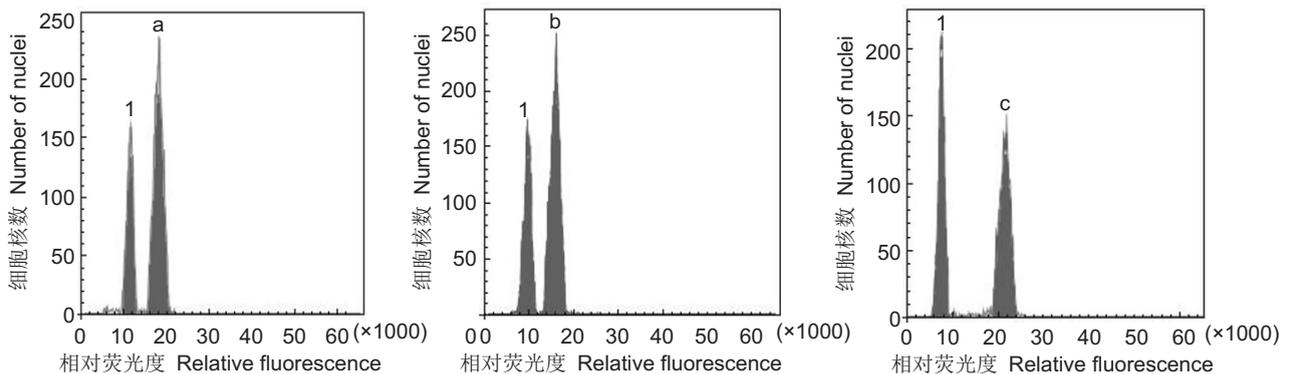
1.3 数据分析

采用 Excel 2013 和 SPSS 13.0 软件对数据进行 ANOVA 方差分析。

2 结果与分析

2.1 基因组大小和倍性推断

研究结果显示 (图 1), 糍粑沟花楸、大理花楸和川滇花楸的基因组测定峰与内标水稻品种‘日本晴’的峰均无重叠, 说明内标选择适宜。3 种植物基因组大小均值分别为 (1.480 ± 0.039) pg、(1.513 ± 0.041) pg 和 (2.675 ± 0.065) pg (表 2),



1: ‘日本晴’ (‘Nipponbare’); a: 糍粑沟花楸 (*S. cibagouensis*); b: 大理花楸 (*S. hypoglauca*); c: 川滇花楸 (*S. vilmorinii*)。

图 1 水稻和花楸属 3 种植物的流式直方图

Fig. 1 Representative flow cytometry histograms of genome size assessment for three species of *Sorbus*

标准差均较小, 数据可靠。基于 C 值数据库中花楸属不同倍性植物 2C 值的变异区间可以推断, 糍粑沟花楸和大理花楸的倍性为二倍体, 川滇花楸为四倍体(表 2)。

表 2 3 种花楸属植物的倍性和基因组大小

Table 2 Genome size and ploidy estimated for three species of *Sorbus*

种名 Species	倍性 Ploidy	2C (pg)	Mean ± SD
糍粑沟花楸 <i>S. cibagouensis</i>	2x	1.448	1.480 ± 0.039
		1.468	
		1.523	
大理花楸 <i>S. hypoglauca</i>	2x	1.491	1.513 ± 0.041
		1.487	
		1.561	
川滇花楸 <i>S. vilmorinii</i>	4x	2.600	2.675 ± 0.065
		2.719	
		2.707	

2.2 气孔器特征

2.2.1 气孔器形态

显微镜观察结果显示: 3 种花楸属植物的气孔均只分布在叶的下表皮; 气孔器均为椭圆形, 由两个肾形保卫细胞和气孔组成, 保卫细胞两极无“T”型加厚结构; 气孔不下陷、无副卫细胞, 气孔器类型均为无规则型(图 2: a~c)。3 种花楸属植物的蜡质纹饰明显不同, 糍粑沟花楸和川滇花楸的气

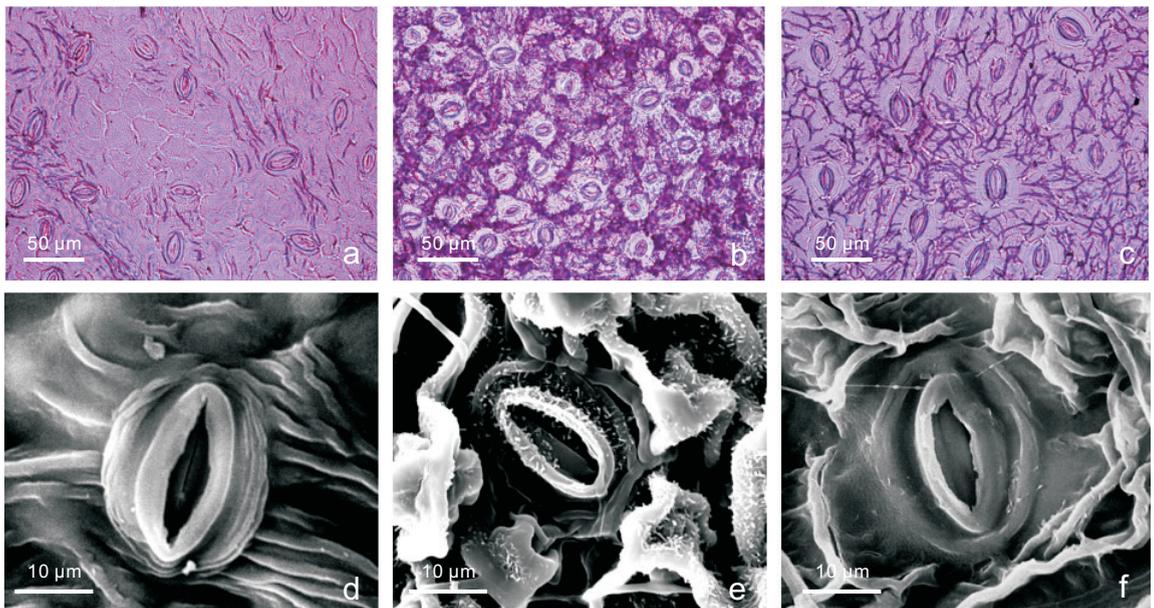
孔器外拱盖光滑(图 2: d、f), 而大理花楸气孔器外拱盖具有短棒状的蜡质纹饰(图 2: e)。由此可见, 气孔纹饰在花楸属植物种类鉴定上具有一定价值。

2.2.2 气孔器大小

研究发现, 3 种花楸属植物的气孔器长度存在极显著差异($P < 0.01$)。川滇花楸的平均气孔器长度为(32.80 ± 3.48) μm , 糍粑沟花楸和大理花楸的平均气孔器长度分别为(30.01 ± 3.44) μm 和(26.87 ± 3.62) μm 。3 种花楸的气孔器面积亦存在显著差异, 川滇花楸、糍粑沟花楸、大理花楸的气孔器面积分别为: (724.99 ± 125.25) μm^2 、(525.30 ± 102.47) μm^2 和(449.34 ± 112.15) μm^2 (表 3)。因此, 气孔器长度和气孔器面积在种间差异显著, 但与倍性的相关性不大。

2.2.3 气孔密度和气孔指数

气孔密度差异分析结果表明(表 3), 二倍体的糍粑沟花楸和四倍体的川滇花楸气孔密度差异不显著($P > 0.05$), 而二倍体的大理花楸与其他两种植物的差异极显著($P < 0.01$), 说明 3 种花楸属植物的气孔密度与倍性不成比例。大理花楸、川滇花楸、糍粑沟花楸的气孔密度分别为: (335.18 ± 38.60) 个/ mm^2 、(180.96 ± 24.75) 个/ mm^2 和(176.82 ± 18.19) 个/ mm^2 。大理花楸和川滇花楸



a、d: 糍粑沟花楸(*S. cibagouensis*); b、e: 大理花楸(*S. hypoglauca*); c、f: 川滇花楸(*S. vilmorinii*)。

图 2 光学显微镜和电子显微镜下 3 种花楸属植物的气孔器特征

Fig. 2 Stomatal traits of three species of *Sorbus* under LM and SEM

表3 3种不同倍性花楸植物的气孔特征
Table 3 Stomatal characteristics of three different ploidy *Sorbus* species

种名 Species	倍性 Ploidy	气孔数 Total no. pores	气孔器长(μm) Stomata length	气孔器面积(μm ²) Stomata size	视野数 No. visual fields	气孔密度(个/mm ²) Stomata density	气孔指数(%) Stomata index
糍粑沟花楸 <i>S. cibagouensis</i>	2x	128	30.01 ± 3.44B	525.30 ± 102.47B	10	176.82 ± 18.19B	7.63 ± 0.34B
大理花楸 <i>S. hypoglauca</i>	2x	238	26.87 ± 3.62C	449.34 ± 112.15C	10	335.18 ± 38.60A	9.04 ± 0.38A
川滇花楸 <i>S. vilmorinii</i>	4x	131	32.80 ± 3.48A	724.99 ± 125.25A	10	180.96 ± 24.75B	9.31 ± 0.47A

注: 同列不同大写字母表示处理间差异达极显著水平($P < 0.01$)。

Note: Different capital letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.01$).

的气孔指数差异不显著, 而糍粑沟花楸与其他两种植物的差异极显著。糍粑沟花楸、大理花楸和川滇花楸的气孔指数分别为: $7.63\% \pm 0.34\%$ 、 $9.04\% \pm 0.38\%$ 和 $9.31\% \pm 0.47\%$ (表3)。因此, 3种花楸属植物的气孔密度和指数可作为物种鉴定的依据。

3 讨论

多倍化是花楸属物种形成和持续演化的重要驱动力^[4, 24]。该属植物染色体倍性复杂多样, 目前报道有4种细胞型: 2x、3x、4x和5x^[25, 26]。在花楸属中大多物种仅有一种细胞型, 但有些种类有两种, 如 *S. anglica* Hedl.、*S. chamaemespilus* (L.) Crantz 和 *S. subcuneata* Wilmott 分别有3x、4x两种细胞型, *S. latifolia* (Lam.) Pers. 具有2x和4x两种细胞型。同属植物不同倍性水平上的基因组大小具有一定的变异区间, 且各区间之间常不发生重叠, 并且随着倍性的增大, 基因组的大小也在增加^[27, 28]。Pellicer等^[13]的研究表明, 花楸属植物二倍体和四倍体的基因组大小变异区间分别为1.434~1.631 pg和2.882~3.226 pg。本研究中, 二倍体的糍粑沟花楸、大理花楸和四倍体的川滇花楸两种倍性基因组大小值的变化同此区间契合, 再次表明花楸属植物的基因组大小在不同倍性之间分化良好, 与同一亚科的山楂属(*Crataegus*)种间存在重叠的情况不同^[29], 因而流式细胞术可作为我国花楸属倍性推断的有效途径。

气孔特征具有一定的遗传稳定性, 在一定程度上能反映类群间的亲缘关系, 在植物种间或属间分类具有重要的研究价值。本研究中, 气孔器外拱盖纹饰、气孔器大小、气孔密度及气孔指数均可作为花楸属种间的分类依据。气孔性状作为多倍体鉴定

的指标之一, 操作简单、易行, 目前已在苹果(*Malus pumila* Mill.)^[16]、月季(*Rosa chinensis* Jacq.)^[30]、*Polylepis*^[17]等蔷薇科植物中得到了证实和应用。但也有少数学者认为气孔特征不适合作为预测倍性的有效证据^[31]。本研究发现, 糍粑沟花楸、大理花楸和川滇花楸的气孔器长度和面积之间差异性达极显著水平; 而在气孔密度中, 糍粑沟花楸和川滇花楸差异不显著, 大理花楸与其他植物具有极显著差异, 表明在花楸属植物中, 气孔性状不能对倍性进行推断, 这与Čaňová等^[32]对欧洲花楸植物的研究结果一致, 这种情况也在蔷薇属(*Rosa*)^[31]和枇杷属(*Eriobotrya*)^[33]植物中出现。需要特别指出的是, 气孔性状和植物自身所处的小生境密切相关, 在许多物种中, 太阳辐射、环境湿度、CO₂浓度等环境因子也会影响气孔大小和密度^[34, 35]。故在花楸属植物中, 气孔性状和倍性之间的相关性还有待更多的实验进行验证。

花楸属植物的倍性鉴定, 对物种界定和种间亲缘关系研究具有十分重要的意义。本研究发现, 花楸属植物的基因组大小与倍性呈显著正相关, 可用于推断该属植物的倍性; 气孔特性与倍性的相关性不大, 但在种间变化显著, 可为同属内物种的鉴定提供重要依据。

参考文献:

- [1] 俞德凌, 陆玲娣. 中国植物志: 第36卷: 花楸属 *Sorbus* L. [M]. 北京: 科学出版社, 1974.
- [2] 魏杰, 石佳, 侯潇, 鞠政楠. 欧洲花楸的化学成分及药理作用研究进展[J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2014, 41(4): 362-368.
Wei J, Shi J, Hou X, Ju ZN. Research progress of chemical components and pharmacological activities in *Sorbus aucuparia* [J]. *Journal of Liaoning University (Natural Sciences Edition)*, 2014, 41(4): 362-368.

- [3] Aldasoro JJ, Aedo C, Navarro C, Garmendia FM. The genus *Sorbus* (Maloideae, Rosaceae) in Europe and in North Africa: Morphological analysis and systematics[J]. *Syst Bot*, 1998, 23(2): 189–212.
- [4] Robertson A, Rich TCG, Allen AM, Houston L, Roberts C, *et al.* Hybridization and polyploidy as drivers of continuing evolution and speciation in *Sorbus*[J]. *Mol Ecol*, 2010, 19(8): 1675–1690.
- [5] Hamston TJ, de Vere N, King RA, Pellicer J, Fay MF, *et al.* Apomixis and hybridization drives reticulate evolution and phyletic differentiation in *Sorbus* L.: implications for conservation[J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1796.
- [6] Lu LT, Spongberg SA. *Sorbus* Linnaeus[M]//Wu ZY, Raven PH, Hong DY, eds. Flora of China: Vol 9. Beijing: Science Press, 2003.
- [7] Phipps JB, Robertson KR, Smith PG, Rohrer JR. A checklist of the subfamily Maloideae (Rosaceae)[J]. *Can J Bot*, 1990, 68(10): 2209–2269.
- [8] Sennikov AN, Kurtto A. A phylogenetic checklist of *Sorbus* s. l. (Rosaceae) in Europe [M/OL]// Memoranda Soc. Fauna Flora Fennica: Vol. 93. Helsinki, 2017: 1–78[2019-06-13]. <https://journal.fi/msff/issue/view/4564>.
- [9] Doležel J, Greilhuber J, Suda J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry[J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(9): 2233–2244.
- [10] Leitch AR, Leitch IJ. Ecological and genetic factors linked to contrasting genome dynamics in seed plants[J]. *New Phytol*, 2012, 194(3): 629–646.
- [11] Roberts AV, Gladis T, Brumme H. DNA amounts of roses (*Rosa* L.) and their use in attributing ploidy levels[J]. *Plant Cell Rep*, 2009, 28(1): 61–71.
- [12] Rothleitner JJ, Friddle MW, Contreras RN. Ploidy levels, relative genome sizes, and base pair composition in *Cotoneaster*[J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 2016, 141(5): 457–466.
- [13] Pellicer J, Clermont S, Houston L, Rich TCG, Fay MF. Cytotype diversity in the *Sorbus* complex (Rosaceae) in Britain: sorting out the puzzle[J]. *Ann Bot*, 2012, 110(6): 1185–1193.
- [14] Hajrudinović A, Frajman B, Schönswetter P, Silajdžić E, Siljak-Yakovlev S, *et al.* Towards a better understanding of polyploid *Sorbus* (Rosaceae) from Bosnia and Herzegovina (Balkan Peninsula), including description of a novel, tetraploid apomictic species[J]. *Bot J Linn Soc*, 2015, 178(4): 670–685.
- [15] Uhrinová V, Zozomová-Lihová J, Bernátová D, Paule J, Paule L, *et al.* Origin and genetic differentiation of pink-flowered *Sorbus* hybrids in the western Carpathians[J]. *Ann Bot*, 2017, 120(2): 271–284.
- [16] Podwyszyńska M, Kruczyńska D, Machlańska A, Dyki B, Sowik I. Nuclear DNA content and ploidy level of apple cultivars including polish ones in relation to some morphological traits[J]. *Acta Biol Cracov Ser Bot*, 2016, 58(1): 81–93.
- [17] Caiza JC, Vargas D, Olmedo C, Arboleda M, Boada L, *et al.* Measurement of stomata and pollen as an indirect indicator of polyploidy in the genus *Polylepis* (Rosaceae) in Ecuador[J]. *Ecología Austral*, 2018, 28: 175–187.
- [18] Hodgson JG, Sharafi M, Jalili A, Díaz S, Montserrat-Martí G, *et al.* Stomatal vs. genome size in angiosperms: the somatic tail wagging the genomic dog? [J]. *Ann Bot*, 2010, 105(4): 573–584.
- [19] Kong MJ, Pyohong SP. Leaf micromorphology of the *Persicaria* sect. *Cephalophilon* (Polygonaceae) and its systematic re-evaluation[J]. *Phytaxa*, 2019, 391(3): 167–184.
- [20] 秦燕, 王跃华, 孙卫邦, 陈高. 百部科植物叶表皮特征及其分类学意义[J]. *植物科学学报*, 2018, 36(4): 487–500.
- Qin Y, Wang YH, Sun WB, Chen G. Characters of the leaf epidermis of Stemonaceae and their taxonomical significance[J]. *Plant Science Journal*, 2018, 36(4): 487–500.
- [21] Uozo S, Ikehashi H, Ohmido N, Ohtsubo H, Ohtsubo E, *et al.* Repetitive sequences: cause for variation in genome size and chromosome morphology in the genus *Oryza*[J]. *Plant Mol Biol*, 1997, 35(6): 791–799.
- [22] Loureiro J, Rodriguez E, Dolezel J, Santos C. Two new nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry: a test with 37 species[J]. *Ann Bot*, 2007, 100(4): 875–888.
- [23] 王宇飞, 陶君容. 植物角质层分析术语新体系[J]. *植物学通报*, 1991, 8(4): 6–13.
- Wang YF, Tao JR. An introduction to a new system of terminology for plant cuticular analysis[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1991, 8(4): 6–13.
- [24] Ludwig S, Robertson A, Rich TCG, Djordjević M, Cerović R, *et al.* Breeding systems, hybridization and continuing evolution in Avon Gorge *Sorbus*[J]. *Ann Bot*, 2013, 111(4): 563–575.
- [25] Nelson-Jones EB, Briggs D, Smith AG. The origin of intermediate species of the genus *Sorbus* [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 105(6–7): 953–963.
- [26] Bailey JP, Kay QON, McAllister H, Rich TCG. Chromosome numbers in *Sorbus* L. (Rosaceae) in the British Isles [J]. *Watsonia*, 2008, 27(1): 69–72.
- [27] Höfer M, Meister A. Genome size variation in *Malus* species [J/OL]. *Journal of Botany*, 2010 (2010-05-01) [2019-06-13]. DOI:10.1155/2010/480873.
- [28] Frajman B, Resětnick I, Weiss-Schneeweiss H, Ehrendorfer F, Schönswetter P. Cytotype diversity and genome size

- variation in *Knautia* (Caprifoliaceae, Dipsacoideae) [J]. *BMC Evol Biol*, 2015, 15(1): 140.
- [29] Talent N, Dickinson TA. Polyploidy in *Crataegus* and *Mespilus* (Rosaceae, Maloideae): evolutionary inferences from flow cytometry of nuclear DNA amounts [J]. *Can J Bot*, 2005, 83(83): 1268–1304.
- [30] 巢阳, 周燕. 通过测量叶片气孔鉴定月季染色体倍性的研究 [J]. 北京农学报, 2015, 30(3): 79–85.
Chao Y, Zhou Y. Study on the identification of rose ploidy level through measuring leaf stomata [J]. *Journal of Beijing University of Agriculture*, 2015, 30(3): 79–85.
- [31] Zlesak DC. Pollen diameter and guard cell length as predictors of ploidy in diverse rose cultivars, species, and breeding lines [J]. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*, 2009, 3(1): 53–70.
- [32] Čaňová I, Ďurkovič J, Hladká D, Lukáčik I. Changes in stomatal characteristics and photochemical efficiency during leaf development in six species of *Sorbus* [J]. *Photosynthetica*, 2012, 50(4): 635–640.
- [33] 张凌媛, 郭启高, 李晓林, 曾洪, 谭健民, 梁国鲁. 枇杷气孔保卫细胞叶绿体数目与倍性相关性研究 [J]. 果树学报, 2005, 22(3): 229–233.
Zhang LY, Guo QG, Li XI, Zeng H, Tan JM, Liang GL. Study on the relationship between the number of chloroplast in stomata guard cell and the ploidy of loquat cultivars [J]. *Journal of Fruit Science*. 2005, 22(3): 229–233.
- [34] Jordan GJ, Carpenter RJ, Koutoulis A, Price A, Brodribb TJ. Environmental adaptation in stomatal size independent of the effects of genome size [J]. *New Phytol*, 2015, 205(2): 608–617.
- [35] 单提波, 赵明辉, 武静莲, 徐正进. 不同气孔密度水稻的光合特征及 Rubisco 酶活性研究 [J]. 核农学报, 2015, 29(6): 1142–1148.
Shan TB, Zhao MH, Wu JL, Xu ZJ. Study on photosynthetic characteristics and Rubisco activity of rice leaves with different stomatal densities [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2015, 29(6): 1142–1148.

(责任编辑: 周媛)