

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.00911

## 水热胁迫对紫花苜蓿叶表皮蜡质组分及生理指标的影响

郭彦军<sup>1</sup> 倪郁<sup>2</sup> 郭芸江<sup>1</sup> 韩龙<sup>1</sup> 唐华<sup>1</sup> 王永雄<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 西南大学动物科技学院, 重庆 400716; <sup>2</sup> 西南大学农学与生物科技学院, 重庆 400716

**摘要:** 选用 2 个抗旱性不同的紫花苜蓿品种, 敖汉(强抗旱)和三得利(弱抗旱), 在水热胁迫条件下, 调查其叶表皮蜡质含量及组分变化规律、蜡质含量与气体交换参数、脯氨酸及叶片相对含水量之间的关系。结果表明, 紫花苜蓿叶表皮存在致密的蜡质层, 蜡质晶体结构呈片状, 无特殊的晶格方向。叶表皮蜡质主要由烷(1.98%~3.38%)、醇(79.97%~84.98%)、酯类(0.08%~0.24%)及其他少量未知物质组成(7.77%~13.38%)。品种类型、环境条件共同影响叶表皮蜡质的沉积。敖汉叶表皮蜡质含量显著高于三得利。水分胁迫后烷类比例增加(81.22%~108.16%), 醇类比例下降(3.32%~12.54%), 强抗旱品种叶表皮蜡质含量和气体交换参数无显著变化(除胞间二氧化碳浓度显著下降外), 而弱抗旱品种蜡质含量和叶片光合速率、蒸腾速率、气孔导度及胞间二氧化碳浓度均显著下降。说明表皮蜡质限制水分散失, 蜡质组分中烷类物质可能主要具限制水分散失的功能。高温及水热互作胁迫处理下, 紫花苜蓿叶片光合速率和蒸腾速率下降, 水分利用效率提高, 叶片脯氨酸含量增加, 相对含水量下降, 敖汉蜡质含量下降, 三得利蜡质含量无显著变化。表明在严重胁迫条件下紫花苜蓿主要通过关闭气孔和渗透调节来限制水分散失。

**关键词:** 水分胁迫; 高温; 紫花苜蓿; 表皮蜡质; 抗旱性; 晶体结构

## Effect of Soil Water Deficit and High Temperature on Leaf Cuticular Waxes and Physiological Indices in Alfalfa (*Medicago sativa*) Leaf

GUO Yan-Jun<sup>1</sup>, NI Yu<sup>2</sup>, GUO Yun-Jiang<sup>1</sup>, HAN Long<sup>1</sup>, TANG Hua<sup>1</sup>, and YU Yong-Xiong<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculties of Animal Science and Technology; <sup>2</sup> Agronomy and Bio-Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China

**Abstract:** Cuticular wax, exposed at the outermost surface of plant organs, plays important roles in interactions of plant with environment and plays a critical role in plant drought tolerance by reducing cuticular water loss. In the experiment, two alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars with different drought resistances, Aohan (high resistance) and Sanditi (low resistance), were selected to analyse the dynamics of leaf cuticular wax content and components, and the relationships between waxes and gas exchange indices under water deficit and high temperature stresses. The results showed that the alfalfa leaf surface was covered by thick wax platelets without specific orientations, which were constituted of alkanes (1.98–3.38%), primary alcohols (79.97–84.98%), esters (0.08–0.24%), and small amount of unknown constituents (7.77–13.38%). The wax deposition on alfalfa leaf was controlled by both variety type and environments. The wax content of Aohan was significantly higher than that of Sanditi. Under drought treatment, the proportions of alkanes in total wax increased (81.22–108.16%), that of primary alcohol decreased (3.23–12.54%); cuticular wax, photosynthetic rate ( $P_n$ ), transpiration rate ( $T_r$ ), and stomatal conductance ( $G_s$ ) of Aohan changed insignificantly except for intercellular carbon dioxide ( $C_i$ ), while those of Sanditi decreased significantly, indicating that cuticular wax might take part in the process of water metabolism and the alkanes in total waxes might play important role in controlling water loss. Under the conditions of high temperature,  $P_n$ ,  $T_r$ ,  $G_s$ ,  $C_i$ , and leaf relative water content decreased significantly, water use efficiency ( $P_n/T_r$ ) and proline content increased significantly in both cultivars; the total cuticular wax content unchanged in Aohan but significantly decreased in Sanditi, indicating that stomatal closure and osmotic adjustment were the main paths taken by alfalfa under severe stressed conditions.

**Keywords:** Water deficit; High temperature; Alfalfa (*Medicago sativa*); Cuticular waxes; Drought resistance; Crystalloids

干旱胁迫下植物会产生一系列的适应性变化, 通过累积渗透调节物质如脯氨酸等维持细胞膨压, 如通过迅速关闭气孔、缩小叶面积等减小蒸腾失水; 减缓或减轻干旱逆境所带来的伤害<sup>[1]</sup>。诱导植物产

本研究由国家自然青年科学基金项目(30800802)和国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2007CB108901)资助。

第一作者联系方式: E-mail: qhgyj@126.com, Tel: 023-68251196

Received(收稿日期): 2010-09-27; Accepted(接受日期): 2011-01-06.

生蜡质层也是植物对干旱胁迫的普遍反应。研究结果表明, 在一些作物叶片中, 有蜡质表型的材料其抗旱节水性和产量都要高于无蜡质表型的材料<sup>[2-3]</sup>。

蜡质是覆盖在植物地上部分组织表皮的保护层, 是植物体与外界环境的直接接触面, 主要由可溶性超长链脂肪酸、烷烃、一级醇、二级醇、脂肪醛、酮类和酯类组成<sup>[4]</sup>。干旱胁迫下, 很多植物的表皮蜡质含量与组分都会增加<sup>[5-6]</sup>, 如灌浆后期小麦叶片蜡质的含量与光合速率、叶温、叶片水分利用效率和产量呈显著正相关<sup>[7]</sup>。张志飞等<sup>[8]</sup>发现在干热胁迫时, 高羊茅叶片表皮蜡质可通过对气孔导度的调节来减少气孔蒸腾, 提高水分利用效率, 最终提高其抗旱性。张正斌和山仑<sup>[9]</sup>研究表明蜡质含量与蒸腾速率、叶温呈显著正相关, 与叶片卷曲度呈负相关。但也有些学者提出了不同的观点, 如张娟等<sup>[10]</sup>研究了 19 个不同来源的小麦品种在灌浆后期旗叶蜡质含量与其水分利用效率的关系, 其结果是蜡质含量与水分利用效率呈不显著相关关系。Kim 等<sup>[11]</sup>对 18 个芝麻品种的研究结果表明水分胁迫下只有部分品种蜡质总量增加, 且烷类和醛类成分的变化显著不同。表明叶片表皮蜡质含量的增加并不意味着植物蒸腾速率的降低和抗旱性的必然增强<sup>[12-13]</sup>, 因此, 多种环境条件可能共同影响植物表皮蜡质的合成<sup>[14-15]</sup>。

紫花苜蓿是一种优良的多年生豆科作物, 在我国草地农业生产中发挥着极其重要的作用。但由于我国的水资源问题突出, 干旱严重制约着紫花苜蓿的大面积推广。揭示水分胁迫条件下紫花苜蓿的适应性规律, 对选育抗旱紫花苜蓿品种具有非常关键的作用。本文旨在探讨表皮蜡质组分及数量与紫花苜蓿抗旱性的关系, 为选育抗旱紫花苜蓿品种提供理论基础, 同时也为改良作物抗性提供新的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

在前期试验中选择 6 个抗旱性不同的紫花苜蓿品种(新疆大叶、敖汉、中苜、三得利、皇后、德福)<sup>[16]</sup>, 并通过试验筛选出 2 个抗旱性差异较大的品种, 敖汉(强抗旱)和三得利(弱抗旱)作为试验材料。

### 1.2 培养基质

河沙、蛭石、中性紫色土按 1 : 1 : 1 比例混合, 补充 N、P、K 及微量元素, 每盆装基质 2.5 kg (20 cm×15 cm)。紫花苜蓿种子经 HgCl<sub>2</sub> 消毒后, 在培养皿中发芽, 选择健康幼苗移栽至培养盆, 于温室大

棚培养(气温在 10~25 ℃), 每盆 5 株。苗期正常浇水, 保持土壤含水量为田间最大持水量的 75%。

### 1.3 试验处理

设温度和水分胁迫两种处理, 温度处理设 25 /20 (D/N)和 35 /30 两个水平; 土壤水分胁迫处理设正常水分(土壤含水量保持在田间持水量的 70%~80%)和水分胁迫处理(土壤含水量保持在 30%~40%的田间持水量)。紫花苜蓿生长 2 个月后(分枝期), 调整水分胁迫处理含水量达到处理水平, 然后按温度处理分别置于两个光照培养箱培养, 每天 17:00 称重后补充损失水分, 并更换光照培养箱, 以减少培养箱造成的误差。重复 3 次, 共处理 10 d。每株分别自上而下采 3 片展开叶片, 即每盆 15 片, 用于蜡质分析。同时采集叶片测定抗旱生理生化指标。

### 1.4 扫描电镜样品的制备与观察

自植株上部采集第 2 片展开叶片, 从叶中间沿叶脉切割, 分正反两面, 距中间叶脉 0.1 cm 处剪取样品, 粘在样品台上, 进行离子溅射镀金膜, 将镀金后的材料放入扫描电子显微镜(S3000-N, Hitachi)下进行形态观察。

### 1.5 蜡质分析方法

参考 Kim 等<sup>[11]</sup>的方法, 用气相色谱仪测定蜡质含量。用正己烷浸提叶表皮蜡质, 用氮吹仪蒸发干浸提液, 在 100 ℃下用 50 μL 的 BSTFA 诱导 20 min, 并将多余的 BSTFA 在氮吹仪下蒸发。将产物溶于 1 mL 正己烷, 然后进行蜡质分析。GC 毛细管柱长 12 m, 直径 0.2 mm; 以氮气为载气; FID 检测器; 柱膜和 FID 检测器的温度分别为 300 ℃和 320 ℃; 初温 80 ℃, 每分钟 15 ℃升温至 260 ℃, 保持 10 min。然后每分钟 5 ℃升温至 320 ℃, 保持 15 min。蜡质量化基于 FID 峰值, 并将 C<sub>16</sub> 烷作为内部标准加入原始提取物中。外部标准为 C<sub>27</sub>、C<sub>29</sub>、C<sub>31</sub>、C<sub>33</sub> 的烷类化合物。利用气谱-质谱联用仪鉴定未知蜡质组分。用单位叶面积上的微克数来表示(μg cm<sup>-2</sup>)蜡质含量。

### 1.6 生理生化指标的测定

利用 LI-6400 光合系统仪于上午 10:00 在相同叶位(自植株顶部第 2 片展开叶片)测定叶片光合速率、蒸腾速率、气孔导度、胞间二氧化碳浓度等指标, 并计算单叶水分利用效率(WUE=叶片的光合速率/蒸腾速率); 采用酸性茚三酮法测定叶片游离脯氨酸含量<sup>[17]</sup>; 采用称重法测定叶片相对含水量<sup>[18]</sup>。

### 1.7 数据分析

采用 SPSS(13.0)统计分析数据, 显著水平为

$P < 0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 紫花苜蓿叶表皮蜡质晶体结构

扫描电镜结果显示, 紫花苜蓿叶表皮存在致密的蜡质层, 蜡质晶体结构成片状, 多数垂直于叶片呈不规则排列, 无特殊的晶格方向(图 1)。叶片正反面蜡质晶体结构无显著差异。敖汉品种蜡质层片状外缘相连, 形成许多近似平行于叶片的晶体, 零星分布于其他晶体之上(图 1-A~D); 而品种三得利无此现象(图 1-E~H)。

经土壤水分胁迫和高温胁迫(35 /30 )处理后, 紫花苜蓿叶表皮蜡质晶体结构无显著变化。

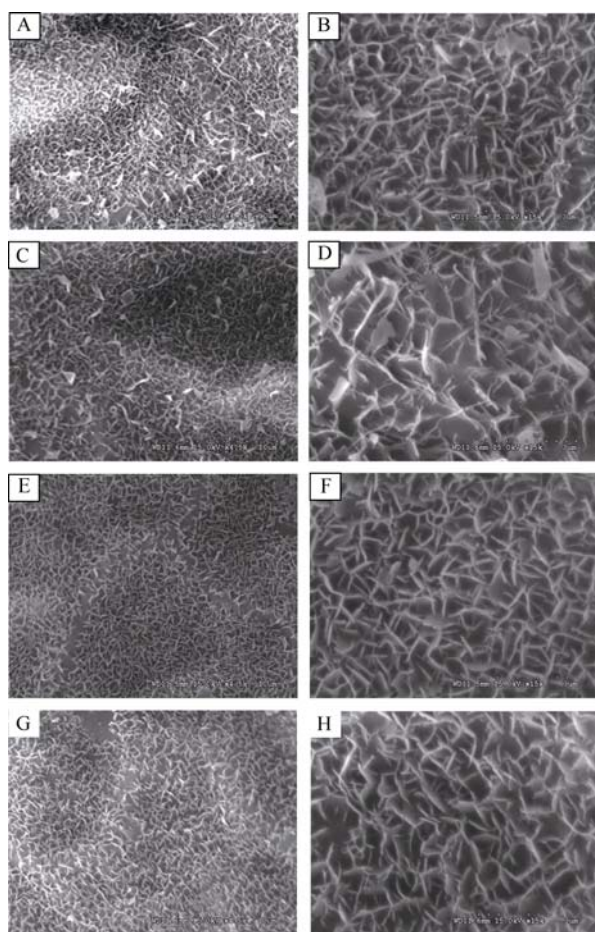


图 1 紫花苜蓿叶表皮蜡质晶体结构扫描电镜观察

Fig. 1 Cuticular wax crystallization patterns of alfalfa viewed by scanning electron microscope

A~B: 敖汉叶片背面; C~D: 敖汉叶片正面; E~F: 三得利叶片反面; G~H: 三得利叶片正面。电镜扫描标尺分别为 10  $\mu\text{m}$  和 3  $\mu\text{m}$ 。

A~B: abaxial leaf surface of Aohan; C~D: adaxial leaf surface of Aoha; E~F: abaxial leaf surface of Sanditi; G~H: adaxial leaf surface of Sanditi. Scanning electron microscope was viewed under 10  $\mu\text{m}$  and 3  $\mu\text{m}$ .

### 2.2 紫花苜蓿叶片表皮蜡质含量及组分

常温处理下(25 /20 ), 敖汉品种叶表皮蜡质含量为 15.89  $\mu\text{g cm}^{-2}$ , 水分胁迫处理后含量无显著变化, 而三得利叶表皮蜡质含量由 6.48  $\mu\text{g cm}^{-2}$  显著下降为 4.89  $\mu\text{g cm}^{-2}$  ( $P < 0.05$ )。高温处理下, 水分胁迫处理后敖汉品种叶表皮蜡质含量由 16.45  $\mu\text{g cm}^{-2}$  显著下降为 9.91  $\mu\text{g cm}^{-2}$  ( $P < 0.05$ ), 而三得利无显著变化(7.85  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) ( $P > 0.05$ )。

紫花苜蓿叶表皮蜡质主要有烷、醇、酯类及其他少量未知物质组成(图 2)。常温和高温处理下, 敖汉蜡质组成中烷类占 3.38%和 3.33%, 醇占 83.08%和 82.96%, 酯类占 0.24%和 0.19%; 三得利蜡质组成中烷类占 1.98%和 2.87%, 醇占 84.98%和 79.97%, 酯类占 0.15%和 0.08%。水分胁迫处理后, 除三得利高温处理植株外, 其余处理叶片蜡质组成中烷类增加, 醇类下降, 酯类增加。

### 2.3 紫花苜蓿叶片气体交换参数

水分胁迫下, 敖汉(高温处理)和三得利(常温和高温处理)叶片光合速率、蒸腾速率、气孔导度及胞间二氧化碳浓度显著下降( $P < 0.05$ ); 常温处理下的敖汉品种除胞间二氧化碳浓度显著下降外( $P < 0.05$ ), 其余气体交换参数无显著变化( $P > 0.05$ )(图 3)。水分胁迫使紫花苜蓿叶片水分利用效率提高( $P < 0.05$ ), 但常温处理下的敖汉变化不显著( $P > 0.05$ )。

高温处理后紫花苜蓿叶片光合速率、蒸腾速率、气孔导度、胞间二氧化碳浓度整体呈下降趋势。其中敖汉水分胁迫条件下的各参数下降速率显著高于正常水分条件下( $P < 0.05$ ); 而三得利除光合下降速率无显著差异外, 其余参数下降速率均为正常水分条件下高于水分胁迫条件下( $P < 0.05$ )。

### 2.4 紫花苜蓿叶片相对含水量和脯氨酸含量

水分胁迫处理后, 紫花苜蓿叶片相对含水量下降; 脯氨酸含量增加, 其中常温条件下敖汉增加 217%, 三得利增加 658% (图 4)。高温处理后, 叶片相对含水量无显著变化, 而脯氨酸含量显著低于常温植株, 且水分胁迫后的增加幅度显著减少( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

植物表皮蜡质层是植物自我防护的第一道屏障, 在植物生长发育、适应外界环境作用方面具有重要的生态学研究意义<sup>[19]</sup>。Barthlott 等<sup>[20]</sup>将植物蜡质层分为 23 类, 其中由蜡质分子自组装形成的蜡质类晶体结构是最主要结构, 而类晶体结构中片状和管状

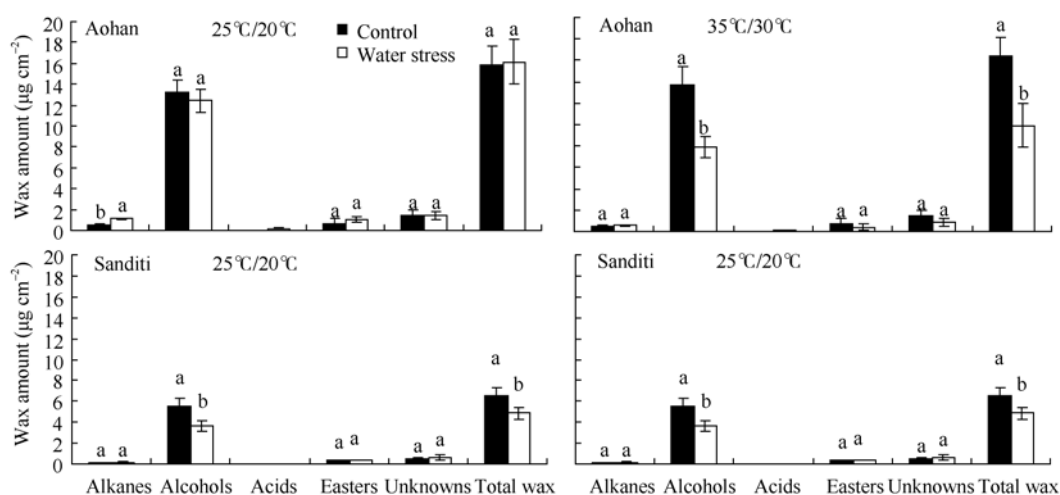


图 2 水热胁迫下敖汉和三得利叶片表皮蜡质含量及组分变化规律

Fig. 2 Leaf cuticular wax constituents and amount in Aohan and Sanditi under soil water and air temperature stressed conditions  
同指标数据柱上小写字母不同表示在  $P=0.05$  水平上差异显著。

Bars represented by different small letters are significantly different at  $P=0.05$ .

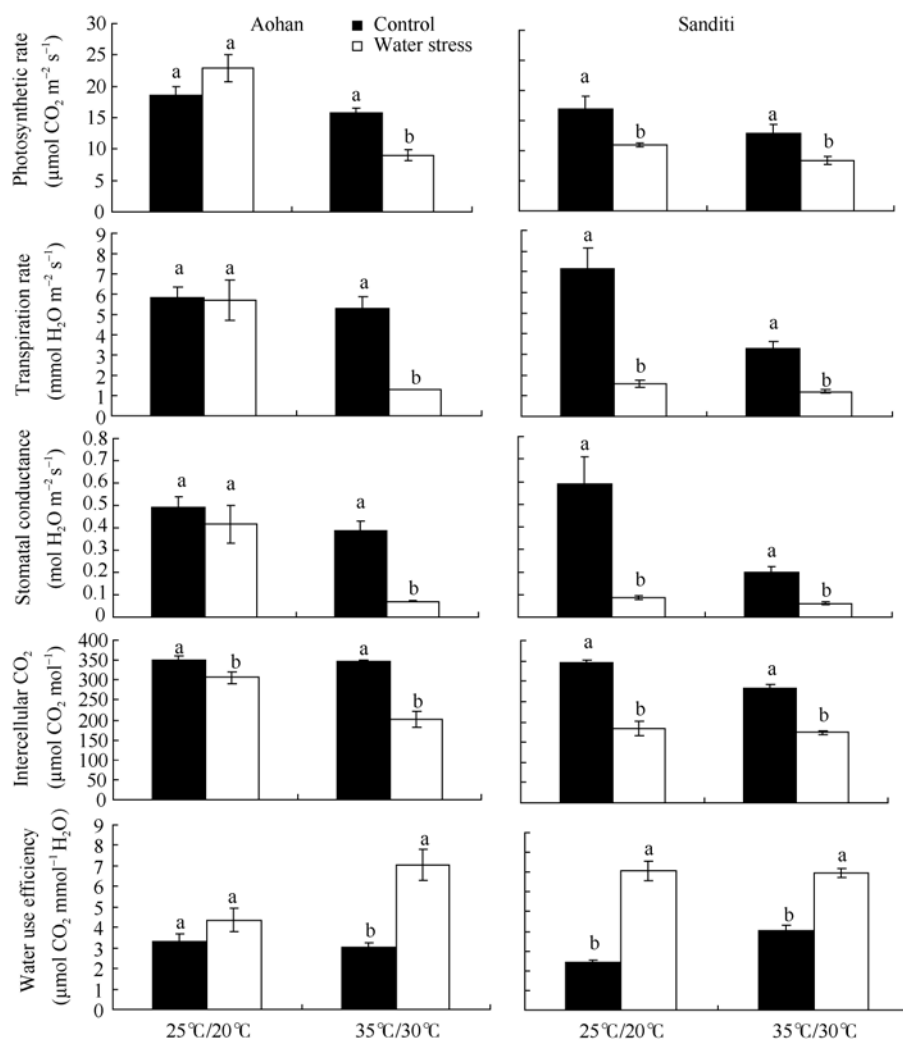


图 3 水热胁迫下敖汉和三得利叶片气体交换参数的变化规律

Fig. 3 Gas exchange indexes in alfalfa leaves as influenced by soil water and air temperature stresses  
同指标数据柱上小写字母不同表示在  $P=0.05$  水平上差异显著。

Bars represented by different small letters are significantly different at  $P=0.05$ .

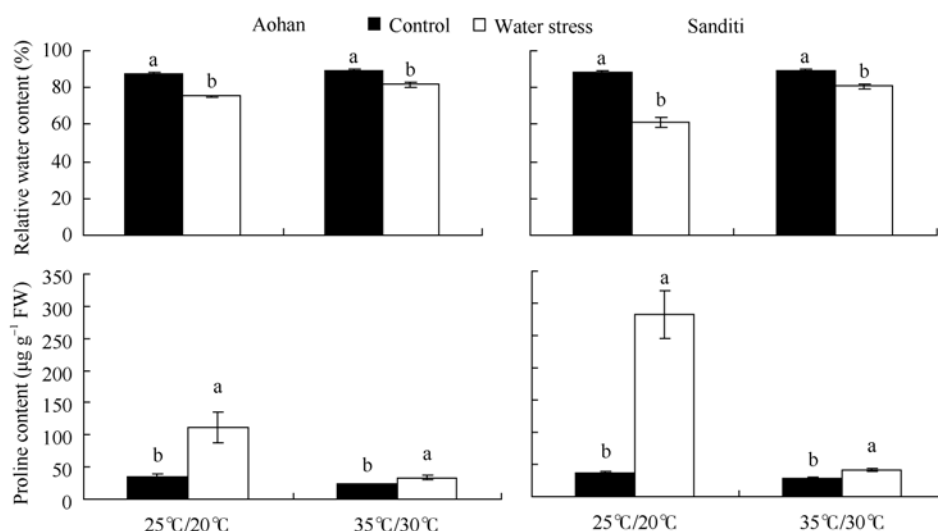


图 4 水热胁迫下敖汉和三得利叶片相对含水量和脯氨酸含量变化规律

Fig. 4 Leaf relative water content and proline content in Aohan and Sanditi as influenced by soil water and air temperature stresses  
同指标数据柱上小写字母不同表示在  $P=0.05$  水平上差异显著。

Bars represented by different small letters are significantly different at  $P=0.05$ .

是两种主要的晶体类型。扫描电镜结果显示, 紫花苜蓿叶表皮存在致密蜡质层, 蜡质晶体结构呈片状(图 1)。敖汉(强抗旱)叶表皮平行于叶片的一些晶体片层结构(图 1-A~D)可能增加了叶面对热辐射的反射, 限制水分散失, 提高其抗旱能力。但是, 水热胁迫处理后, 紫花苜蓿叶表皮蜡质晶体结构无显著变化, 说明晶体结构并没有直接参与限制水分散失的过程。Oliveira 等<sup>[21]</sup>的研究结果也表明表皮蜡质限制水分的散失与蜡质的厚度没有直接联系, 而蜡质的化学成分是决定表皮水分散失程度的一个重要因子。有关蜡质晶体结构与叶水分散失过程之间的关系还有待进一步研究。

植物的表皮蜡质成分受环境条件的影响比较大, 光照、温度、相对湿度等均影响蜡质的种类和数量。已有研究结果表明, 光照能诱导大麦幼苗合成醛类物质, 温度和光照均能影响蜡质数量<sup>[22]</sup>。高温处理条件下, 韭葱叶表皮蜡质含量减少, 但伯醇含量增加<sup>[23]</sup>。本试验研究结果表明, 紫花苜蓿叶表皮蜡质主要由烷(1.98%~3.38%)、醇(79.97%~84.98%)、酯类(0.08%~0.24%)及其他少量未知物质组成(7.77%~13.38%)。这一结果与 Zhang 等<sup>[24]</sup>在紫花苜蓿上的研究结果是一致的。水分胁迫处理后, 蜡质变化与品种及环境温度有关。常温条件下, 水分胁迫处理后, 弱抗旱品种蜡质含量下降, 并主要以醇下降为主, 强抗旱品种蜡质总量无显著变化, 但其组分中烷含量显著上升。说明蜡质组分中烷类物质可能主要起限制水分散失的作用。Kosma 等<sup>[25]</sup>研究也认为水分

胁迫处理后植物通过大量合成烷烃以增加蜡质含量来应对外界干旱环境。水热胁迫处理后, 强抗旱品种蜡质含量下降, 并主要以醇下降为主, 弱抗旱品种蜡质总量、组分均无显著变化。说明植物基因型、环境温度及土壤水分胁迫共同影响叶表皮蜡质的沉积。

植物叶表皮较高的蜡质含量被认为与幼苗的抗旱性和水分利用效率有关<sup>[26]</sup>。本试验中, 敖汉叶表皮蜡质总量显著高于三得利品种, 这与其较高的抗旱性是一致的。Zhang 等<sup>[24]</sup>将豆科植物的一个转录因子 *WXPI* 基因转入紫花苜蓿中, 诱导了蜡质相关基因的表达, 转基因植株叶片的单位面积蜡质含量比野生型高 1/3 左右, 抗旱性提高。Sanchez 等<sup>[3]</sup>研究认为豌豆叶表皮蜡质含量较高的品种可有效反射热辐射, 植物冠层温度降低, 减缓热胁迫。

本研究中, 水分胁迫处理后(常温条件下), 强抗旱品种气体交换参数无显著变化(除胞间二氧化碳浓度显著下降外), 而弱抗旱品种叶片光合速率、蒸腾速率、气孔导度及胞间二氧化碳浓度均显著下降。尽管本研究并未发现紫花苜蓿叶片表皮蜡质含量与各气体交换参数之间存在显著相关关系(数据未列出), 但不同品种气体交换参数与蜡质含量变化规律是一致的。说明叶表皮蜡质可能参与了控制水分散失的过程。而在水热胁迫处理后, 紫花苜蓿叶片光合速率和蒸腾速率下降, 水分利用效率提高, 叶片脯氨酸含量增加, 相对含水量下降。说明在严重胁迫条件下紫花苜蓿主要通过关闭气孔和渗透调节来限制水分散失, 而由蜡质层参与的角质层蒸腾作用所

占比例较小, 对限制水分散失作用相对较小<sup>[27-28]</sup>。

## 4 结论

紫花苜蓿叶表皮存在致密的蜡质层, 呈片状结构。强抗旱品种(敖汉)蜡质含量高于弱抗旱品种(三得利)。水热胁迫处理后, 其蜡质晶体结构无显著变化, 蜡质含量变化因品种而异。蜡质组分中烷类物质可能主要起限制水分散失的作用。水分胁迫和水热互作胁迫条件下, 紫花苜蓿叶表皮蜡质参与限制水分散失的机制不同。因此, 在进行植物表皮蜡质研究时, 应针对研究目的, 控制好环境条件以取得有效结果。

## References

- [1] Li D-Q(李德全), Guo Q-F(郭清福), Zhang Y-Q(张以勤), Zou Q(邹琦), Cheng B-S(程炳嵩). Studies on the physiological characteristics of drought resistance in winter wheat. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1993, 19(2): 125–132 (in Chinese with English abstract)
- [2] Febrero A, Fernandez S, Molina-Cano J, Araus J. Yield, carbon isotope discrimination, canopy reflectance and cuticular conductance of barley isolines of differing glaucousness. *J Exp Bot*, 1998, 49: 1575–1581
- [3] Sanchez F J, Manzanares M, Andres E F, Tenorio J L, Ayerbe L. Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. *Eur J Agron*, 2001, 15: 57–70
- [4] Ni Y(倪郁), Guo Y-J(郭彦军). Progress in the study on genes encoding enzymes involved in biosynthesis of very long chain fatty acids and cuticular wax in plants. *Hereditas* (遗传), 2008, 30(5): 561–567 (in Chinese with English abstract)
- [5] Bondada B R, Oosterhuis D M, Murph J B, Kyung S K. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultra structure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract, and boll. *Environ Exp Bot*, 1996, 36: 61–69
- [6] Samdur M Y, Manivel P, Jain V K, Chikani B M, Gor H K, Desai S, Misra J B. Genotypic differences and water-deficit induced enhancement in epicuticular wax load in peanut. *Crop Sci*, 2003, 43: 1294–1299
- [7] Huang L(黄玲), Zhang Z-B(张正斌), Cui Y-T(崔玉亭), Liu M-Y(刘孟雨), Chai S-X(柴守玺), Chen Z-B(陈兆波). Relationship between wax content and water use efficiency of leaf and yield in wheat. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2003, 23(4): 41–44 (in Chinese with English abstract)
- [8] Zhang Z-F(张志飞), Rao L-Q(饶力群), Xiang Z-X(向佐湘), Hu X-M(胡晓敏), Wang X-J(王晓杰). Epidermis wax content and drought resistance among different tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) varieties. *Acta Bot Boreali-Occident Sin* (西北植物学报), 2007, 27(7): 1417–1421 (in Chinese with English abstract)
- [9] Zhang Z-B(张正斌), Shan L(山仑). Studies on relationship between drought resistance physiological traits and leaf curl degree and wax of wheat. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1998, 24(5): 608–612 (in Chinese with English abstract)
- [10] Zhang J(张娟), Zhang Z-B(张正斌), Xie H-M(谢惠民), Dong B-D(董宝娣), Hu M-Y(胡梦芸), Xu P(徐萍). The relationship between water use efficiency and related physiological traits in wheat leaves. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2005, 31(12): 1593–1599 (in Chinese with English abstract)
- [11] Kim K S, Park S H, Jenks M A. Changes in leaf cuticular waxes of sesame (*Sesamum indicum* L.) plants exposed to water deficit. *J Plant Physiol*, 2007, 164: 1134–1143
- [12] Ristic Z, Jenks M A. Leaf cuticle and water loss in maize lines differing in dehydration avoidance. *J Plant Physiol*, 2002, 159: 645–651
- [13] Goodwin S M, Jenks M A. Plant cuticle function as a barrier to water loss. In: Jenks M A, Hasegawa P M, eds. *Plant Abiotic Stress*. Oxford: Blackwell, 2005
- [14] Mamrutha H M, Mogili T, Jhansi Lakshmi K, Rama N, Kosma D, Udaya Kumar M, Jenks M A, Nataraja K N. Leaf cuticular wax amount and crystal morphology regulate post-harvest water loss in mulberry (*Morus* species). *Plant Physiol Biochem*, 2010, 48: 690–696
- [15] Koch K, Hartmann K D, Schreiber L, Barthlott W, Neinhuis C. Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability. *Environ Exp Bot*, 2006, 56: 1–9
- [16] Kang J-M(康俊梅), Fan F-C(樊奋成), Yang Q-C(杨青川). Study of drought resistance appraisal on 41 different alfalfa cultivars. *Acta Agrest Sin* (草地学报), 2004, 12(1): 21–23 (in Chinese with English abstract)
- [17] Li H-S(李合生). Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment (植物生理生化实验原理和技术). Beijing: Higher Education Press, 2006. pp 250–256 (in Chinese)
- [18] Zou Q(邹琦). Instruction of Plant Physiological Biochemical Experiment (植物生理生化实验指导). Beijing: China Agriculture Press, 1995. pp 36–37 (in Chinese)
- [19] van Maarseveen C, Han H, Jetter R. Development of the cuticular wax during growth of *Kalanchoe daigremontiana* (Hamet et Perr. de la Bathie) leaves. *Plant Cell Environ*, 2009, 32: 73–81
- [20] Barthlott W, Neinhuis C, Cutler D, Ditsch F, Meusel I, Theisen I, Wilhelmi H. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Bot J Linn Soc*, 1998, 26: 237–260
- [21] Oliveira A F M, Meirelles S T, Salatino A. Epicuticular waxes from *caatinga* and *cerrado* species and their efficiency against water loss. *An Acad Bras Cienc*, 2003, 75: 431–439
- [22] Giese B N. Effects of light and temperature on the composition of epicuticular wax of barley leaves. *Phytochemistry*, 1975, 14: 921–929
- [23] Maier C G A, Post-Beittenmiller D. Epicuticular wax on leek in vitro developmental stages and seedlings under varied growth

- conditions. *Plant Sci*, 1998, 134: 53–67
- [24] Zhang J Y, Broeckling C D, Blancaflo E B, Sledge M, Sumne L W, Wang Z Y. Overexpression of *WXP1*, a putative *Medicago truncatula* AP2 domain-containing transcription factor gene, increases cuticular wax accumulation and enhances drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa*). *Plant J*, 2005, 42: 689–707
- [25] Kosma D K, Bourdenx B, Bernard A, Parsons E P, Lu S, Joubes J, Jenks M A. The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of *Arabidopsis*. *J Plant Physiol*, 2009, 151: 1918–1929
- [26] Johnson D A, Richards R A, Turner N C. Yield relations, gas exchange, and surface reflectances of near-isogenic wheat differing in glaucousness. *Crop Sci*, 1983, 23: 318–325
- [27] Burghardt M, Riederer M. Cuticular transpiration. *Biol Plant Cuticle*, 2006, 23: 292–311
- [28] Svenningsson M, Liljenberg C. Changes in cuticular transpiration rate and cuticular lipids of oat (*Avena sativa*) seedlings induced by water stress. *Physiol Plant*, 1986, 66: 9–14