

3种景天植物叶片结构特征与抗寒性的关系*

王倩¹ 关雪莲¹ 胡增辉¹ 卢存福² 冷平生^{1**}

(¹北京农学院园林学院 北京 102206)

(²北京林业大学生物科学与技术学院 北京 100083)

摘要 为了解景天植物的抗寒机理,以露天栽培越冬的苔景天、胭脂红景天、联合勘察加景天为材料,采用光学显微与电子显微技术分析景天植物叶片结构特征变化与抗寒性的关系。结果表明:3种景天植物叶肉细胞间隙大,通气组织发达,维管束周围以及表皮细胞内分布粘液细胞。低温胁迫后抗寒性强的苔景天类囊体的结构受到影响较小,叶绿体形状没有发生明显的变化;胭脂红景天叶绿体受到低温伤害,部分叶绿体变形;抗寒性弱的联合勘察加景天叶绿体受到严重伤害,由原来的纺锤形变为圆球形,类囊体已经解体或正在解体。在低温胁迫后3种景天的淀粉粒减少,粘液细胞数量增多且颜色加深,叶表皮细胞外覆盖蜡质增多,苔景天的蜡质层最厚,而联合勘察加景天蜡质最少,苔景天叶肉细胞液泡中囊泡数量增多。因此,在低温胁迫下苔景天叶绿体表现出较高的稳定性,叶肉细胞液泡中囊泡较多,叶表皮细胞外覆盖较厚的蜡质层,可能是其具有较强抗寒性的原因。图3 参16

关键词 景天;抗寒性;显微结构;超微结构

CLC Q949.751.102 : Q945.78

Relationship Between Cold Tolerance and Leaf Structure of the Three Species of *Sedum**

WANG Qian¹, GUAN Xuelian¹, HU Zenghui¹, LU Cunfu² & LENG Pingsheng^{1**}

(¹College of Landscape Architecture, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

(²College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract In order to understand the structure adaptation mechanism of *Sedum* plant to cold stress, we investigated with light microscope and electronic microscope the leaf structures of wintering *Sedum acre*, *S. spurium* cv. *coccineum*, and *S. kamtschaticum* subsp. *ellacombianum* planted in outdoor field of Beijing region. The results showed that there were visible intercellular space and well developed aerenchyma in mesophyll. A lot of mucilage cells were found in the epiderm and around the vascular tissue. The low temperature from autumn (Oct. 12) to winter (Dec. 1), did not influence the thylakoid structure of *S. acre*, or obviously injured its chloroplasts, while the structure of some chloroplasts in the leaves of the other two *Sedum* plants was damaged. Especially in the leaves of *S. kamtschaticum* subsp. *ellacombianum*, the shape of chloroplast changed from fusiform to spheriform, and the thylakoid were disintegrated. Low temperature also led to decreased starch grains, increased mucilage cells with darkened color, and thickened waxiness layer on the epiderm in all the three *Sedum* plants. The *S. acre* showed much thicker waxiness layer and more vesicles in vacuole of mesophyll cells than the other two *Sedum* plants. The results suggested that the stronger resistance to cold stress of *S. acre* may result from its higher stability of chloroplast structure, larger increasing vesicles in vacuole of mesophyll cells, and visibly thicker waxiness layer on the epiderm. Fig 3, Ref 16

Keywords *Sedum*; cold tolerance; microstructure; ultrastructure

CLC Q949.751.102 : Q945.78

景天科景天属植物 (*Sedum* L.) 大多原产温带,在我国约有130种,分布广泛,遍及全国,但多处于野生状态。由于景天植物可观叶观花,对立地条件要求不高,多作为宿根花卉在

露地绿化应用,近些年开始广泛应用在屋顶绿化、道路绿化中。北方地区冬季寒冷而漫长,景天地上部分能够露地栽培越冬的种类极少,因此筛选抗寒性强的景天种类对丰富园林植物材料,发挥景天养护成本低、景观效果好的优点,及推动生态园林建设具有十分重要的意义。

国内外对景天植物的研究主要集中于高山景天的药用化学成分方面,而景天科植物属CAM类型植物,具有特殊的光合作用途径,对环境的适应性强,随着景天在园林绿化领域应用的增多,对其在逆境胁迫下的研究开始受到重视。相关学者对于干旱胁迫、盐碱胁迫与低温胁迫下景天植物的生理

收稿日期 Received: 2012-03-26 接受日期 Accepted: 2012-05-07

*国家自然科学基金项目(31071817)与北京市属高等学校人才强教计划(PXM2009-014207-076874)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31071817) and the Funding Project for Academic Human Resources Development in Institutions of Higher Learning Under the Jurisdiction of Beijing Municipality (No. PXM2009-014207-076874)

** 通讯作者 Corresponding author (E-mail: lengpsh@tom.com)

生化指标变化进行了分析^[1-4],如王倩等(2010)通过露天越冬试验,比较了7种景天植物在冬季的表现,发现苔景天具有较强的抗寒性,地上部分在北京能安全越冬,胭脂红景天到1月份地上部分枯死,联合勘察加景天抗寒性最弱,到12月底地上部分枯死^[5]。由于景天植物是肉质叶茎,持水性强,其组织结构与其抗寒性应存在密切关系,但相关研究很少^[6-7]。因此,我们以苔景天、胭脂红景天、联合勘察加景天为材料,分别用光学显微镜和电子显微镜观察其组织结构,研究景天科植物组织结构中与抗寒性有关的因素,以了解景天植物抗寒机理,对丰富植物的抗寒性研究也具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用露天种植在北京农学院科技园试验地的抗寒性强的苔景天(*Sedum acre*),中等抗寒的胭脂红景天(*Sedum spurium* cv. *coccineum*)以及抗寒性弱的联合勘察加景天(*Sedum kamtschaticum* subsp. *ellacombianum*) 3种景天作为试验材料。在2010年10月12日(气温15℃)和2010年12月1日(气温-4℃)分别采集3种景天植物成熟叶片,对叶片的组织化学结构特征进行光学显微镜与电子显微镜观察。

1.2 试验方法

光学显微镜观察:采用石蜡切片法。采取发育良好、着生位置一致的成熟叶片5片,将叶片切成5 mm×5 mm的小块,FAA固定24 h以上。经各级酒精脱水后,再经纯酒精:二甲苯

(V/V, 1:1)—二甲苯—二甲苯进行透明,然后进行透蜡和包埋。将包埋好的材料进行切片,切片厚度8 μm。在干净的载玻片上滴一滴粘片剂,加入适量的蒸馏水,将切好的蜡带轻放在液面上,放置于37℃展片台上充分展开,待水分干后放在37℃的恒温箱中过夜干燥。采用番红-固绿染色。切片干燥后,经过脱蜡—复水—染色—脱水—透明后封片。在DMBA450型生物数码显微镜下观察。

透射电镜观察:取叶片1 mm²,用4%戊二醛前固定4 h, pH 7.2磷酸缓冲液冲洗,1%锇酸后固定12 h,逐级酒精丙酮梯度脱水,环氧树脂Epon812包埋,超薄切片,片厚80 nm,柠檬酸铅、醋酸铀双重染色, HITACHI-7500型透射电镜观察超微结构变化。

扫描电镜观察:取供试材料的叶片(剪成小块)用FAA固定,清洗,乙醇逐级梯度脱水(30%, 50%, 70%, 85%, 95%, 100%),每次10-15 min,自然干燥后,粘于双面胶上,用KYKY-2800型扫描电子显微镜配套的离子溅射仪喷金处理后,置扫描电镜(工作电压10 kV)下观察。

2 结果与分析

2.1 3种景天叶片显微结构变化

由图1可知,3种景天的叶由表皮、叶肉细胞和维管束组成,上、下表皮均为单层细胞;叶肉细胞排列疏松,比较10月份与12月份的叶肉细胞,后者细胞间隙普遍更大,均出现了质壁分离现象,其中胭脂红景天与联合勘察加景天质壁分离

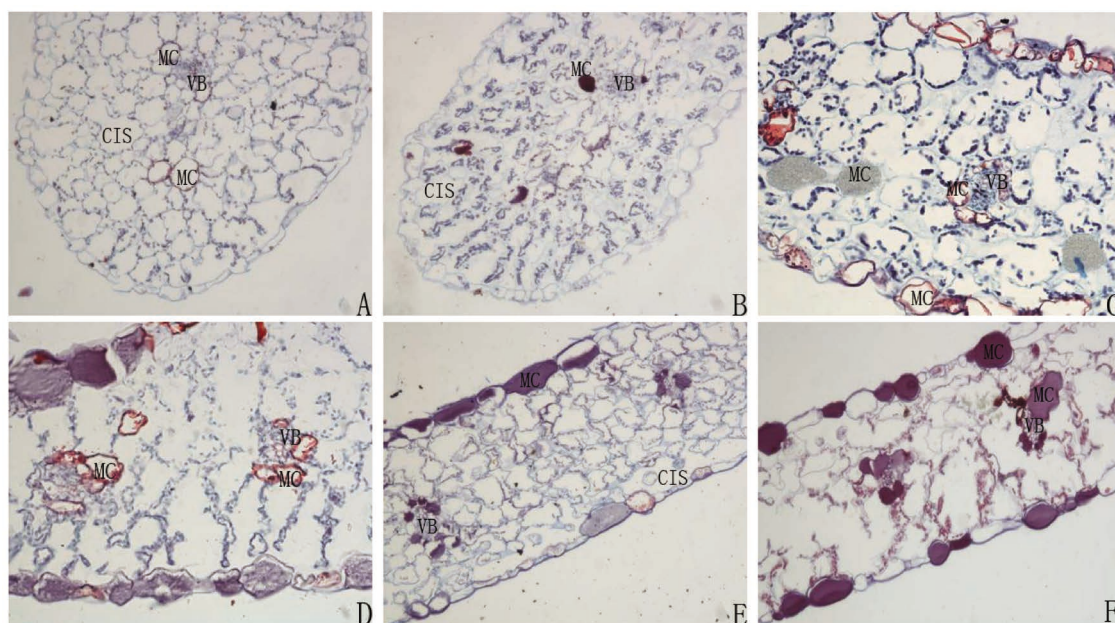


图1 3种景天叶片光学显微镜观察(横切结构)

Fig. 1 Leaves of *Sedum* observed with optical light microscope (transverse structure)

MC: 粘液细胞; VB: 维管束; CIS: 细胞间隙。A、B分别为15℃(×100)和-4℃(×100)的苔景天; C、D分别为15℃(×200)和-4℃(×200)的胭脂红景天; E、F分别为15℃(×100)和-4℃(×100)的联合勘察加景天
MC, mucous cell; VB, vascular bundle; CIS, vascular bundle. A, B are *S. acre*. at 15℃(×100) and -4℃(×100), respectively; C, D are *S. spurium* cv. *coccineum*. at 15℃(×200) and -4℃(×200), respectively; E, F are *S. kamtschaticum* subsp. *ellacombianum* at 15℃(×100) and -4℃(×100), respectively

严重, 叶肉细胞多破损, 表明受到冻害的影响。苔景天表皮细胞内未观察到粘液细胞, 只在维管束周围有粘液细胞零散分布, 且在12月份颜色明显变深。胭脂红景天与联合勘察加景天表皮细胞内和维管束周围均分布较多粘液细胞, 到12月份受冻后, 粘液细胞颜色变深且数量明显增加, 胭脂红景天叶肉中出现了灰色细胞, 与粘液细胞大小相近。

2.2 3种景天叶片超微结构变化

在10月份, 苔景天叶绿体基粒片层清晰, 叶绿体基质中存在淀粉粒和质体小球(嗜锇颗粒)。线粒体紧密地围绕在叶绿体周围, 形状有球形、椭圆形、棒状等。叶肉细胞的液泡边缘处出现许多囊泡(小泡)。到12月份, 气温降到摄氏零度以下, 叶肉细胞呈棱形, 出现轻微质壁分离, 叶绿体数量有所减少, 淀粉粒消失, 而叶绿体结构变化不明显, 基粒片层与间质片层排列仍然整齐有序, 叶肉细胞的液泡边缘处囊泡分布依然很多(图2A, B, C, D, E, F)。

在10月份, 胭脂红景天叶绿体基质中存在大量淀粉粒。在叶肉中有粘液细胞存在, 粘液细胞充满均一的粘液, 有少量叶绿体分布在细胞壁周围, 其中没有淀粉粒, 也没有明显的基粒和基质片层结构。受冻后, 叶肉细胞明显萎缩, 形状呈不规则长条形, 出现质壁分离, 液泡变小, 叶绿体等聚集到细胞中央, 淀粉粒消失, 基粒片层与间质片层依然可见, 但片层比较稀疏, 叶绿体有轻微的膨胀, 同时叶绿体膜也遭到破坏。粘液细胞略萎缩, 但形状变化不大, 有叶绿体与细胞核存在, 向细胞中央聚集, 粘液比受冻前密度更高, 颜色更深(图2G, H, I, J, K)。

联合勘察加景天叶绿体基质中分布少量质体小球, 未见淀粉粒, 叶绿体基粒与基质片层比较稀疏。受冻后, 叶肉细胞形状呈不规则长条形, 叶绿体膨胀, 由原来的纺锤形变为圆球形, 叶绿体内基粒与基质片层肿胀且模糊不清, 同时叶绿体膜也遭到严重破坏(图2L, M, N, O)。

2.3 3种景天叶表面特征变化

3种景天叶表面气孔分布均匀, 有少量蜡质分布, 气孔突起, 张开, 其中联合勘察加角质层最明显; 受冻后, 3种景天植物气孔张开程度明显减小, 叶表面蜡质层明显增密增厚, 其中苔景天叶表面蜡质层最厚, 联合勘察加景天最薄(图3)。

3 讨论

3.1 粘液细胞与景天抗寒性的关系

3种景天植物均发现了粘液细胞, 多分布在表皮细胞内和维管束周围, 且受冻后粘液细胞数量增加。粘液细胞可能与低温胁迫有密切关系。祁如虎等(1998)报道在低温下唐古特红景天的叶表皮细胞全部或大部分变为异细胞(粘液细胞), 认为存在于表皮细胞内的异细胞形成了正常叶肉细胞与外界环境间的一层屏障, 在因低温胁迫水分散失时避免正常叶肉细胞过多的水分损失^[6]。卢存福等(2003)用光镜细胞化学研究唐古特红景天抗冻能力时指出, 粘液细胞多糖(或糖蛋白)含量丰富, 可能是通过释放蛋白质、多糖(或糖蛋

白)到质外体系统, 作为一种冰核聚物质, 以调控质外体水的结冰过程, 使结冰时细胞脱水过程更加缓慢, 以避免骤然的冰冻胁迫造成的细胞突然大量失水或胞内结冰造成对细胞的伤害^[7]。此外, 粘液细胞可能同时发挥渗透调节功能, 外渗物质增多会增加质外体水液的浓度, 起到降低其冰点的效果。随着温度降低, 景天粘液细胞颜色变深, 应是内含物如糖蛋白等浓度增加所致。在3种景天植物中, 苔景天粘液细胞相对要少, 可能与苔景天耐寒性较强有关。据王倩(2010)报道, 苔景天的半致死温度低至-23.4℃, 而胭脂红景天与联合勘察加景天半致死温度分别为-9.8℃和-3.2℃^[5], 当低温胁迫进一步加剧时, 苔景天粘液细胞可能会增多, 但需要进一步实验证实。

胭脂红景天叶肉细胞之间存在等同于异细胞大小的浅灰色细胞(图1C), 根据其大小形态判断它们可能是正在发育过程中的粘液细胞, 这些浅灰色的细胞中存在叶绿体(图2G, I)。初庆刚等(2001)认为粘液细胞发育的过程中不见任何质膜、液泡膜或细胞器等, 没有观察到粘液在质膜外积累的情况^[8]; 卢存福等(2003)研究表明, 唐古特红景天叶片内的含多糖或糖蛋白丰富的现象并不出现于含有叶绿体等其它细胞器的细胞中, 而是形成特有的粘液细胞^[7]。我们推测, 粘液细胞可能是从正常细胞发育而来, 随着低温胁迫加强, 正常细胞内细胞器的区隔化会逐渐被打破, 细胞器逐渐解体消失, 有利增加胁迫调节能力的多糖和糖蛋白增多, 水分减少, 当发育成熟后就成为充满均一内含物的粘液细胞。

3.2 细胞结构与景天抗寒性的关系

3种景天都具有较大的叶肉细胞间隙(图1; 图2A, D, G), 且在受冻后都出现不同程度的质壁分离现象(图1B, D, F; 图2E, F, K)。Lichtenthaler等(1969)观察高山植物 *Dendrosaeao kenicodendron* 冰冻叶片, 外层叶片冰点为-0.5℃, 能耐受-5℃--15℃的低温, 胞内水被排放到细胞间隙结冰, 由于细胞间隙大, 即使叶肉细胞85%的水流入周围的细胞间隙也不会充满^[9]。显然, 较大的细胞间隙为细胞外结冰提供了空间, 有利于防止细胞内结冰, 从而减轻低温胁迫的危害, 对增强植物耐寒能力具有重要作用。

苔景天和胭脂红景天叶肉细胞内含有大量叶绿体(图1A, C), 同时观察到线粒体紧密地围绕在叶绿体周围(图2B, C, E, F), 在其他多种高山植物中也观察到此现象, 甚至出现叶绿体“吞噬”线粒体的现象^[10-11]。线粒体与叶绿体距离近可能有利于缩短两者之间代谢物质、能量和气体的运输和交换距离, 提高能量利用效率, 加快同化和异化速度, 从而适应特殊的生境^[12]。

在苔景天叶肉细胞液泡边缘中发现大量囊泡(小泡)(图2C, F), 杨凤仙等(2001)观察到低温胁迫下的棉花叶肉细胞液泡中出现多膜状结构或小泡, 并认为这是叶肉细胞对低温的适应性变化, 液泡中的这些变化可以防止细胞结冰^[13]。这些囊泡的存在可能会对细胞液浓度起到一定的调节作用, 苔景天之所以具有较强的抗寒性, 可能与此有密切的关系。

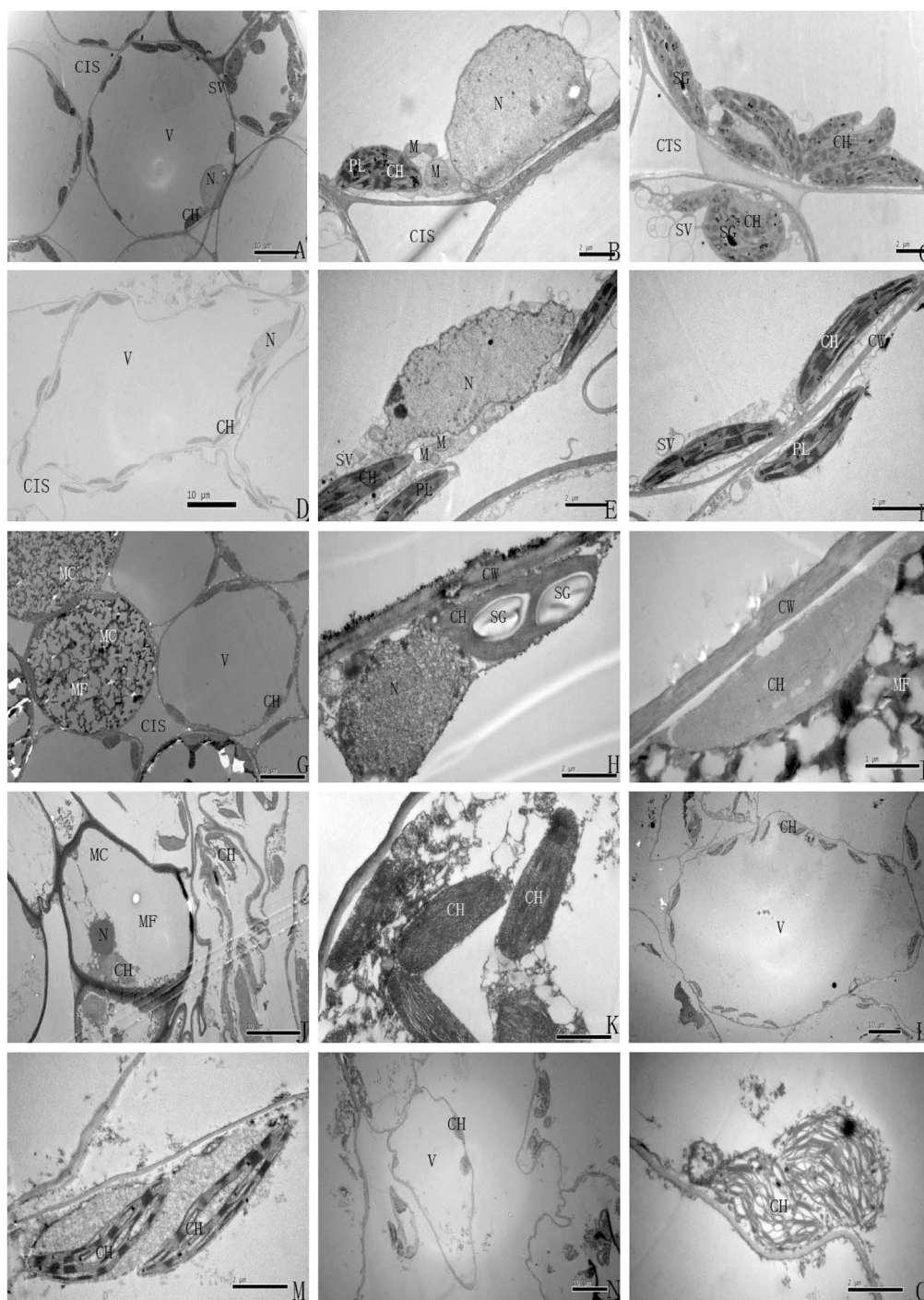


图2 3种景天叶片透射电镜观察

Fig. 2 Leaves of *Sedum* observed with transmission electron microscopy

CH: 叶绿体; CW: 细胞壁; MC: 粘液细胞; MF: 粘液; M: 线粒体; PL: 质体小球; SG: 淀粉粒; SV: 囊泡; CIS: 细胞间隙; N: 细胞核; V: 液泡。A、B、C、F分别为15℃苔景天的叶肉细胞、细胞核、叶绿体、叶绿体; D、E分别为-4℃苔景天叶肉细胞、细胞核; G、H、I分别为15℃胭脂红景天叶肉细胞和粘液细胞、细胞核和叶绿体、粘液细胞中的叶绿体; J、K分别为-4℃胭脂红景天叶肉细胞和粘液细胞、叶绿体; L、M分别为15℃联合勘察加景天叶肉细胞、叶绿体; N、O分别为-4℃联合勘察加景天叶肉细胞、叶绿体

CH, chloroplast; CW, cellwall; MC, mucous cell; MF, mucilage; M, mitochondrion; PL, lastoglobulus; SG, starch grain; SV, vesicle; CIS, vascular bundle; N, nucleus; V, vacuole. A, B, C, F are mesophyll cell, nucleus, chloroplast, chloroplasts of *S. acre* at 15℃, respectively; D, E are mesophyll cell, cell nucleus of *S. acre* at -4℃, respectively; G, H, I are mesophyll cell, cell nucleus and chloroplasts and idioblasts, chloroplasts in mucous cell of *S. spurium* cv. *coccineum* at 15℃, respectively; J, K are mesophyll cell and idioblasts, chloroplasts of *S. spurium* cv. *coccineum* at -4℃, respectively; L, M are mesophyll cell, chloroplasts of *S. kamschaticum* subsp. *ellacombianum* at 15℃, respectively; N, O are mesophyll cell, chloroplasts of *S. kamschaticum* subsp. *ellacombianum* at -4℃, respectively

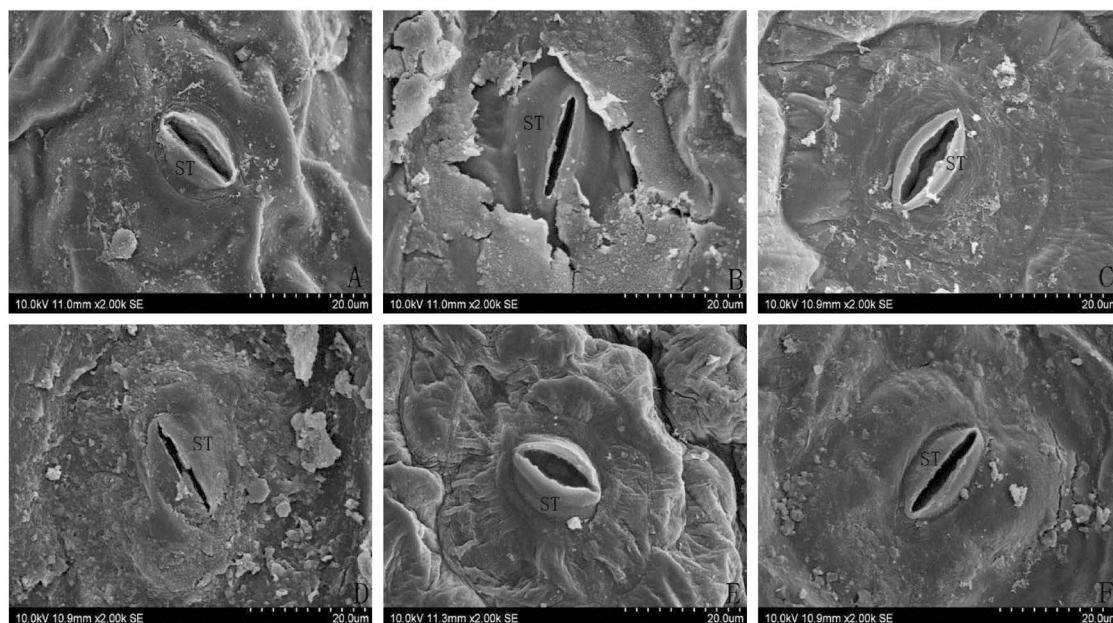


图3 3种景天叶片扫描电镜观察

Fig. 3 Leaves of *Sedum* observed with scanning electronic microscope

ST: 气孔。A、B分别为15 °C和-4 °C苔景天的气孔；C、D分别为15 °C和-4 °C胭脂红景天的气孔；E、F分别为15 °C和-4 °C联合勘察加景天的气孔

ST, stoma. A, B are stoma of *S. acre* at 15 °C and -4 °C, respectively; C, D are stoma of *S. spurium* cv. *coccineum* at 15 °C and -4 °C, respectively; E, F are stoma of *S. kamtschaticum* subsp. *ellacombianum* at 15 °C and -4 °C, respectively

3.3 蜡质层与景天抗寒性的关系

3种景天植物在低温胁迫后蜡质层明显增厚(图3B, D, F),且蜡质层的多少与景天抗寒性密切相关,抗寒性强的苔景天蜡质层厚,而抗寒性弱的联合勘察加蜡质层薄。蜡质是由亲脂性的疏水物质组成,在植物表面形成一层防止水分散失的蜡被^[14]。Jefferson等(1989)和Premchandra等(1992)指出,植物水分损失主要受到表皮蒸发和气孔蒸腾作用的调控,叶表面的蜡质突起物和气孔周围的蜡质对表皮蒸发和气孔蒸腾有着重要影响^[15-16]。因此,当植物在干旱与低温胁迫下,植物叶表面蜡质层会增多,从而减少水分的消耗,对维持植物的活性是有利的。对低温胁迫而言,厚蜡质层对叶片可能还有保温作用。

4 结论

本试验观察结果表明,3种景天植物抗寒性与占比高的细胞间隙、淀粉粒积累、粘液细胞以及蜡质层有关。在低温胁迫下,苔景天叶绿体表现出高的稳定性,叶肉细胞液泡中存在大量囊泡(小泡)来防止细胞结冰,叶表面厚的蜡质层降低蒸腾作用,从而达到较强的抗寒性。

参考文献 [References]

- 马进. 3种野生景天对逆境胁迫生理响应及园林应用研究[D]. 南京林业大学, 2009 [Ma J. Studies on the physiological responses to osmotic stress and landscape application of three wild *sedum* Plants [D]. Nanjing Forestry University, 2009]
- 宋海鹏, 刘君, 李秀玲. 干旱胁迫对5种景天属植物生理指标的影响[J]. 草业科学, 2010, 27 (1): 11-15 [Song HP, Liu J, Li XL. Effect of drought stress on physiological indexes of 5 *Sedum* species [J]. *Pratacult Sci*, 2010, 27 (1): 11-15]
- 田晓艳, 刘延吉, 张蕾. 4种景天属植物抗盐胁迫能力的差异[J]. 草地和草坪, 2010, 30 (3): 57-60 [Tian XY, Liu YJ, Zhang L. Effects of salt stress on four *Sedum* species [J]. *Grassland Turf*, 2010, 30 (3): 57-60]
- 王倩, 冷平生, 关雪莲. 九种景天植物在越冬期间生理生化指标的变化[J]. 北方园艺, 2010 (19): 114-117 [Wang Q, Leng PS, Guan XL. Changes of physiological and biochemistry characteristics 9 varieties of *Sedum* during autumn and winter [J]. *Northern Hort*, 2010 (19): 114-117]
- 王倩, 冷平生, 何敬房. 9种景天植物的低温半致死温度及其抗寒性研究[A]. 见: 张启翔主编. 中国观赏园艺研究进展2010 [C]. 北京: 中国林业出版社, 2010 [Wang Q, Leng PS, He JF. The LT₅₀ and cold adaptability of 9 species/cultivars of *Sedum* during autumn and winter [A]. In: Zhang QX ed in chief. *Advances in Ornamental Horticulture of China*, 2010 [C]. Beijing: Chinese Forestry Press, 2010]
- 祁如虎, 李有忠, 方建平. 16种高山植物叶片内的异细胞及其生态学意义[J]. 西北植物学报, 1998, 18 (2): 270-276 [Qi RH, Li YZ, Fang JP. The idioblasts and their ecological significance in leaves of 16 alpine plants [J]. *Acta Bot Bor-Occid Sin*, 1998, 18 (2): 270-276]
- 卢存福, 陈玉珍, 简令成. 高山植物唐古特红景天粘液细胞及叶肉细胞表面糖蛋白与抗冻性的关系[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9 (1): 16-20 [Lu CF, Chen YZ, Jian LC. Roles of mucilage cells and glycoproteins at mesophyll cell surface in the freezing tolerance of a alpine plant, *Rhodiola algida* var. *tangutica* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2003, 9 (1): 16-20]
- 初庆刚, 胡正海. 油樟油细胞和粘液细胞发育的超微结构[J]. 林业科

- 学, 2001, **37** (4): 19-25 [Chu QG, Hu ZH. Developmental ultrastructure of oil and mucilage cells in *Cinnamomum longepaniculatum* [J]. *Sci Silv Sin*, 2001, **37** (4): 19-25]
- 9 Lichtenthaler HK. Plastoglobuli and lipochinongehalt der chloroplasten von *Cereus peruvianus* (L.) [J]. *Mill Planta*, 1969, **87**: 304-310
- 10 何涛, 吴学明, 张改娜, 王学仁, 贾敬芬. 不同海拔火绒草叶绿体超微结构的比较[J]. 云南植物研究, 2005, **27** (6): 639-643 [He T, Wu XM, Zhang GN, Wan XR, JIA JF. Comparative study on chloroplast ultrastructure of *Leontopodium leontopodioides* grown at different elevations [J]. *Acta Bot Yunnanica*, 2005, **27** (6): 639-643]
- 11 杜军华, 吴学明, 刁治民, 罗桂花, 吴健. 达坂山蚤缀和裸茎金腰叶绿体超微结构的研究[J]. 西北植物学报, 2001, **21** (5): 1031-1034 [Du JH, Wu XM, Diao ZM, Luo GH, Wu J. The study of ultrastructure of chloroplast on *Arenaria tapanchanensis* and *Chrysosplenium nudicaule* in alpine plant [J]. *Acta Bot Bor-Occid Sin* (西北植物学报), 2001, **21** (5): 1031-1034]
- 12 何涛, 吴学明, 贾敬芬. 青藏高原高山植物的形态和解剖结构及其对环境的适应性研究进展[J]. 生态学报, 2007, **27** (6): 2574-2583 [He T, Wu XM, Jia JF. Research advances in morphology and anatomy of alpine plants growing in the Qinghai-Tibet Plateau and their adaptations to environments [J]. *Acta Ecol Sin*, 2007, **27** (6): 2574-2583]
- 13 杨凤仙, 董俊梅, 杨晓霞. 低温胁迫下棉叶叶绿体、液泡超微结构的变化[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2001 (2): 116-117 [Yang FX, Dong JH, Yang XX. Variations of the ultrastructure of the leaf cell of cotton under low temperature [J]. *J Shanxi Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 2001 (2): 116-117]
- 14 李婧婧, 黄俊华, 谢树成. 植物蜡质及其与环境的关系[J]. 生态学报, 2011, **31** (2): 565-574 [Li JJ, Huang JH, Xie SC. Plant wax and its response to environmental conditions: an overview [J]. *Acta Ecol Sin*, 2011, **31** (2): 565-574]
- 15 Jefferson PG., Johanson DA, Runbaugh MD, Runbaughk HA. Water stress and genotypic effects on epicuticular wax production of alfalfa and crested wheat grass in relation to yield and excised leaf water loss rate [J]. *Can J Plant Sci*, 1989, **69**: 481-490
- 16 Premchandra GS, Saneoka H, Fujita K, Ogata S. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficit in sorghum [J]. *Exp Bot*, 1992, **43** (1): 1569-1576