

# 糜子叶片表皮蜡质的组分及晶体结构分析

李芮, 刘晓宇, 刘乐, 隗正阳, 贾亚涛,  
关露露, 吴洪启, 李春莲, 汪勇, 王中华

(西北农林科技大学农学院/旱区作物逆境生物学重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** 在植物的生长发育中, 植物表皮蜡质能够保护植物免受外来生物和非生物胁迫的侵害。本研究选取榆黍1号、雁黍7号、陇糜8号、晋黍9号和宁糜10号5个糜子品种材料, 利用气相色谱(GC)技术对不同品种及不同生长发育时期糜子叶片的表皮蜡质成分进行分析从而了解糜子叶片表皮蜡质的组成, 并对不同品种糜子蜡质晶体结构进行扫描电镜观察。结果表明, 不同糜子品种叶片表皮蜡质含量不同, 高蜡品种榆黍1号蜡质总含量是低蜡品种宁糜10号的1.4倍。不同糜子品种蜡质组成成分相同, 均以碳链长度分布范围为 $C_{22}$ - $C_{35}$ 的烷烃、初级醇、萜类物质等20种化合物为主。初级醇是糜子叶片表皮蜡质的主要组成成分, 占蜡质总含量的67.46%; 其中 $C_{32}$ 醇含量最高, 占初级醇含量的82.73%。糜子不同生长发育时期蜡质组成比较相似, 均含有初级醇、烷烃及萜类物质; 且蜡质总量随生长发育时间的延长不断增加。扫描电镜观察表明, 叶片表皮蜡质晶体结构为片状和少量球状。

**关键词:** 糜子; 叶表皮; 蜡质组分; 晶体结构; 初级醇

**中图分类号:** S565.5      **文献标志码:** A

## Analysis of cuticular wax components and crystal structures on the leaves of broomcorn millet

LI Rui, LIU Xiaoyu, LIU Le, WEI Zhengyang, JIA Yatao, GUAN Lulu,  
WU Hongqi, LI Chunlian, WANG Yong, WANG Zhonghua

(State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Agronomy,  
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** During plant growth and development, cuticular wax can protect plants from exotic biotic and abiotic stresses. In order to understand the cuticular wax composition and crystal structure at different growth and development stages of broomcorn millet, we used five varieties of broomcorn millet (Yushu 1, Yanshu 7, Longmi 8, Jinshu 9, and Ningmi 10) as materials to analyze the cuticular wax components by gas chromatography (GC), and observed the structure of cuticular wax crystal by scanning electron microscope. Finally, the total wax content of high wax variety, Yushu 1, was 1.4 times that of low wax variety Ningmi 10. Twenty compounds including alkanes, primary alcohols, and triterpenoids were identified by GC-MS, and the carbon chain length of these components were ranged from  $C_{22}$ - $C_{35}$ . The content of primary alcohols was the highest in broomcorn millet leaves accounting for 67.46% of the total and the main compound was  $C_{32}$  alcohol, which accounted for 82.73% of primary alcohols. The wax components of broomcorn millet were similar at different growth stages, which contained primary alcohols, alkanes, and triterpenoids, and the total amount of wax increased with the growth. Based on the observation using scanning electron microscope, the wax crystal structures with platelets generally existed in the leaves of broomcorn millet.

**Keywords:** broomcorn millet; leaf cuticular; wax component; wax crystal structure; primary alcohol

植物表皮蜡质即植物积累在植物细胞壁外侧的脂溶性结构,其广泛存在于植物与空气直接接触的表面,并在植物表面形成一道天然薄膜,具有保护植物免受物理损伤、病虫害入侵、紫外线灼伤等作用,同时也防止植物非气孔性水分散失、提高植物光合效率<sup>[1-5]</sup>。因此探究植物表皮蜡质的组成变化对了解植物抗逆性具有重要意义。在植物生长发育过程中,蜡质的含量、组分和晶体结构与环境条件密切相关,干旱及阳光充足的情况下蜡质含量会显著增加,同时也会造成蜡质晶体结构的改变<sup>[6]</sup>。表皮蜡质晶体结构也会因不同植物或同种植物不同器官而存在不同的形状,如片状、圆柱状、管状等<sup>[7-9]</sup>。蜡质组成中含有大量的伯醇和萜类化合物,会呈现片状的晶体结构,而含有大量的二酮、仲醇和二醇等化合物则会呈现柱状晶体<sup>[6]</sup>。植物表皮蜡质通常由多种化合物组成,已有研究证实,脂肪醇、烷烃、醛、酮、酯、脂肪酸、萜类、酚类、固醇等化合物在水稻、小麦、玉米、高粱等作物中普遍存在<sup>[10-13]</sup>。

糜子(*Panicum miliaceum* L.)在我国干旱半干旱地区广泛种植,同时也是重要的粮食作物,其叶片上、下表面均有较厚的角质膜且分布有大量蜡质,气孔分布于叶表面且下陷<sup>[14]</sup>。糜子的生理代谢、生长发育、产量及品质均受干旱的影响。目前关于糜子抗旱方面的研究多集中于糜子对干旱逆境的生理生态响应<sup>[15]</sup>、抗旱遗传资源<sup>[16-17]</sup>及抗旱基因<sup>[18]</sup>等方面,而有关糜子表皮蜡质的研究鲜有报道。糜子、水稻等作物不同的器官表皮蜡质性状也影响着作物的抗旱性。因此,研究糜子表皮蜡质组成及晶体结构,将为糜子抗旱性研究和品种选育提供一条新的思路和途径。本研究选取 5 种糜子品种作为试验材料,采用气相色谱-质谱联用仪对不同品种及不同时期糜子叶片表皮蜡质组成成分、含量进行测定与分析,并利用扫描电子显微镜观察叶片表皮蜡质的晶体结构,以了解糜子蜡质的组成及晶体形态,为进一步探究糜子蜡质组成与抗旱性的关系及其蜡质合成途径的分子机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为普通糜子品种榆黍 1 号、雁黍 7 号、陇糜 8 号、晋黍 9 号和宁糜 10 号,种植于西北农林科技大学科研试验田。为了检测不同品种糜子叶片表皮蜡质含量,分别提取开花期的榆黍 1 号、雁黍 7 号、陇糜 8 号、晋黍 9 号和宁糜 10 号旗叶叶片表皮蜡质进行气相色谱分析,并利用扫描电子显微镜

观察不同品种糜子旗叶叶片的晶体结构。为了分析不同生长发育时期糜子叶片表皮蜡质含量的变化情况,取榆黍 1 号在出苗生长 15 d(三叶期)、20 d、25 d、30 d、35 d(开花期)和 40 d(灌浆期)的植株上部发育完好的叶片,分别提取表皮蜡质并进行气相色谱分析。所有进行气相色谱分析的样品均取 4 个生物学重复。

### 1.2 糜子叶片表皮蜡质的提取

将糜子样品小心剪成小段置于 50 mL 烧杯中,在通风橱内向烧杯中倒入氯仿直至将样品完全浸没。镊子轻翻叶片后将叶片取出,以保证蜡质完全溶解。在烧杯中用玻璃注射器加入 10  $\mu\text{L}$  浓度为 1  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的  $\text{C}_{24}$  烷烃作为内标,放置于通风橱中以使氯仿自然挥发。待氯仿挥发至 10 mL 左右,用玻璃漏斗将其过滤至 15 mL 样品瓶中,同时使用氯仿漂洗烧杯 3 次,并将漂洗液全部过滤至样品瓶。将其置于通风橱中自然挥发,待挥发至 1 mL 时用胶头滴管转入 GC 样品瓶中,同时漂洗过滤液样品瓶并全部转入 GC 样品瓶。在通风橱中使用氮气恒温吹干仪将样品吹干后,用玻璃注射器加入 30  $\mu\text{L}$  吡啶和 30  $\mu\text{L}$  双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺,立刻盖好瓶盖。在 70 $^{\circ}\text{C}$  反应 50 min 后使用氮气将反应液吹干,再加入 1 mL 氯仿回溶,以供 GC-MS 分析。

### 1.3 蜡质成分色谱分析

对于蜡质组成成分的检测与分析使用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS-QP2010,日本岛津)。将检测出的离子峰通过质谱数据库进行搜索和比对,对蜡质各组分进行定性分析并得到标准样品图。利用 Lab Solution 软件对蜡质各组分离子峰进行积分,计算峰面积,根据  $\text{C}_{24}$  内标的含量定量分析蜡质各组分化合物。同时糜子叶片样品采用扫描仪进行叶片表面扫描,并用 Image J 软件计算表面积。蜡质含量的计算公式为:表皮蜡质绝对含量 = 各蜡质组分化合物离子峰面积/内标离子峰面积  $\times$  内标加入量/样品表面积;蜡质相对含量 = 蜡质绝对含量/蜡质总含量  $\times 100\%$ 。

### 1.4 扫描电子显微镜观察

选取表面未被破坏且平整的不同品种糜子叶片,用镊子轻放于白纸上并用回形针固定。将固定好的叶片放置于烘箱中干燥,待水分完全散失后进行扫描电子显微镜观察并拍照。扫描电子显微镜使用方法:在扫描电子显微镜样品盘上粘贴适量导电胶,将水分完全散失的叶片样品取出,刀片切取 2 mm  $\times$  2 mm 样品并粘贴至导电胶上。将样品盘抽真空并喷金镀膜,即可进行扫描观察。

## 2 结果与分析

### 2.1 糜子叶片表皮蜡质组成成分分析

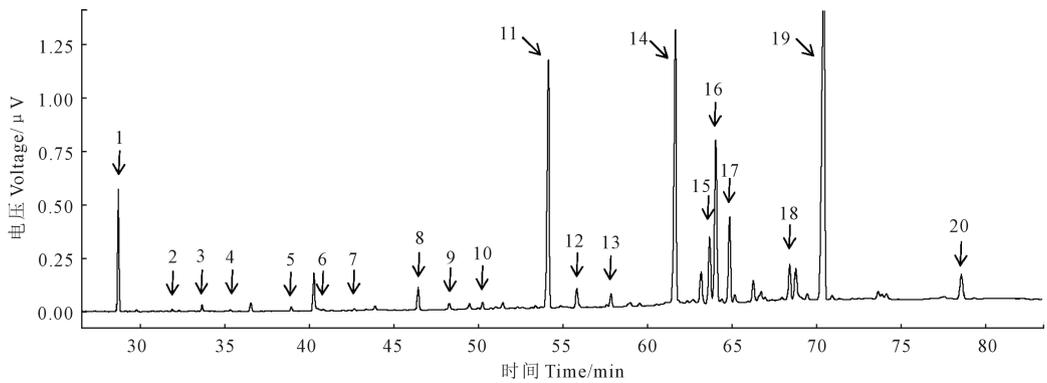
由图1可见,气相色谱离子峰图显示不同离子峰均独立分布,表明糜子叶片表皮蜡质中各类化合物均被很好分离,而且不同品种间叶片表皮蜡质组成比较相似。经质谱数据库检索,共鉴别出20种化合物,主要分为烷烃、初级醇和萜类。其中,烷烃类化合物有11种,碳链长度为 $C_{25}$ - $C_{35}$ ;初级醇类化合物有7种,均为偶数碳原子( $C_{22}$ - $C_{34}$ );萜类物质有2种,分别为 $\beta$ -Amyrin和 $\alpha$ -Amyrin。

### 2.2 糜子叶片表皮蜡质各组分含量分析

通过定量分析发现,初级醇含量在各糜子品种叶片表皮蜡质的各组分含量中占比最高,其次是烷烃,并含有少量的萜类(表1)。品种间叶片总蜡质含量存在明显差异,其中榆黍1号蜡质总含量最高,为 $25.87 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,宁糜10号蜡质总含量最低,为

$17.99 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ (表1)。初级醇含量也有显著差异,其中榆黍1号初级醇含量显著高于其他各品种。初级醇平均约占蜡质总量的67.46%,其中陇糜8号最低为65.41%,榆黍1号最高为71.09%;烷烃平均约占总量的29.01%,其中榆黍1号最低为26.05%,陇糜8号最高为31.03%。

对初级醇不同长度碳链化合物分析表明, $C_{32}$ 醇含量最高,约占初级醇总量的82.73%;其次是 $C_{30}$ 和 $C_{34}$ 醇,分别占总量的7.70%和6.18%。此外, $C_{28}$ 醇含量较低,占总量的1.83%,而 $C_{22}$ 醇、 $C_{24}$ 和 $C_{26}$ 醇含量极低,均小于1%(图2)。对烷烃不同长度碳链化合物分析表明, $C_{33}$ 烷烃含量最高,约占烷烃总量的36.92%;其次是 $C_{31}$ 烷烃和 $C_{34}$ 烷烃,分别占总量的30.49%和18.17%。而 $C_{27}$ 、 $C_{29}$ 、 $C_{30}$ 、 $C_{32}$ 、 $C_{35}$ 烷烃含量相对较少,约小于5%。此外,糜子叶片表皮蜡质中 $C_{25}$ 、 $C_{26}$ 和 $C_{28}$ 烷烃含量极低,均小于1%(图3)。



注:1:内参;2: $C_{25}$ 烷烃;3: $C_{22}$ 醇;4: $C_{26}$ 烷烃;5: $C_{27}$ 烷烃;6: $C_{24}$ 醇;7: $C_{28}$ 烷烃;8: $C_{29}$ 烷烃;9: $C_{26}$ 醇;10: $C_{30}$ 烷烃;11: $C_{31}$ 烷烃;12: $C_{28}$ 醇;13: $C_{32}$ 烷烃;14: $C_{33}$ 烷烃;15: $\beta$ -Amyrin;16: $\alpha$ -Amyrin;17: $C_{34}$ 烷烃;18: $C_{35}$ 烷烃;19: $C_{32}$ 醇;20: $C_{34}$ 醇。

Note: 1: Internal standard; 2:  $C_{25}H_{52}$ ; 3: Docosanol; 4:  $C_{26}H_{54}$ ; 5:  $C_{27}H_{56}$ ; 6: Tetracosanol; 7:  $C_{28}H_{58}$ ; 8:  $C_{29}H_{60}$ ; 9: Hexacosanol; 10:  $C_{30}H_{62}$ ; 11:  $C_{31}H_{64}$ ; 12: Octacosanol; 13:  $C_{32}H_{66}$ ; 14:  $C_{33}H_{68}$ ; 15:  $\beta$ -Amyrin; 16:  $\alpha$ -Amyrin; 17:  $C_{34}H_{70}$ ; 18:  $C_{35}H_{72}$ ; 19: Dotriacontanol; 20: Tetratriacontanol.

图1 糜子叶片表皮蜡质气相色谱图(放大倍数 $10^5$ )

Fig.1 GC profile of cuticular wax of broomcorn millet leaves (magnification  $10^5$ )

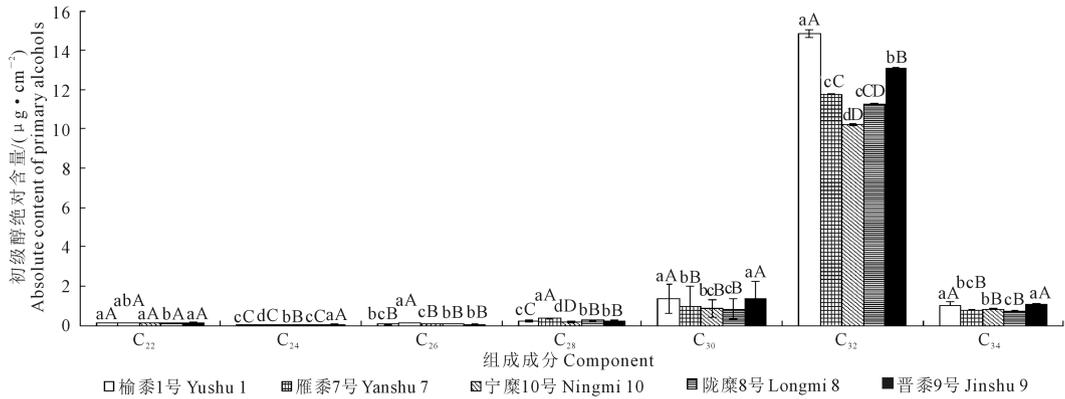
表1 糜子生长发育35 d叶片表皮各组分含量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \pm \text{SD})$

Table 1 Content of cuticular wax component in broomcorn millet leaves of 35 d

蜡质成分 Wax component	含量 Content	晋黍9号 Jinshu 9	陇糜8号 Longmi 8	宁糜10号 Ningmi 10	雁黍7号 Yanshu 7	榆黍1号 Yushu 1
烷烃 Alkanes	AC	7.09 $\pm$ 0.49aA	6.28 $\pm$ 0.24aAB	4.98 $\pm$ 0.16bB	6.67 $\pm$ 0.66aA	6.74 $\pm$ 0.49aA
初级醇 Primary alcohols	RC	29.32 $\pm$ 0.83abA	31.03 $\pm$ 0.58aA	27.68 $\pm$ 0.32bcA	30.98 $\pm$ 0.73abA	26.05 $\pm$ 0.53cA
三萜 Triterpenoids	AC	16.08 $\pm$ 0.88bB	13.25 $\pm$ 0.98cdCD	12.34 $\pm$ 0.49dD	14.15 $\pm$ 0.56cC	18.39 $\pm$ 0.36aA
总量 Total	RC	66.47 $\pm$ 1.06bA	65.41 $\pm$ 1.02bA	68.60 $\pm$ 0.66abA	65.71 $\pm$ 0.44bA	71.09 $\pm$ 0.65aA
	AC	1.02 $\pm$ 0.18aA	0.72 $\pm$ 0.003bA	0.67 $\pm$ 0.06bA	0.71 $\pm$ 0.08bA	0.73 $\pm$ 0.01bA
	RC	4.22 $\pm$ 0.67aA	3.56 $\pm$ 0.01abA	3.72 $\pm$ 0.11abA	3.31 $\pm$ 0.12abA	2.82 $\pm$ 0.11bA
	Total	24.19 $\pm$ 0.09bA	20.26 $\pm$ 0.12cB	17.99 $\pm$ 0.07dC	21.54 $\pm$ 0.06cB	25.87 $\pm$ 0.10aA

注:同行不同字母代表不同品种间差异,小写字母表示在 $P<0.05$ 水平显著差异,大写字母表示在 $P<0.01$ 水平显著差异。AC代表绝对含量,RC代表相对含量。下同。

Note: Different letters in the same line represent differences among different varieties, lowercase letters mean significant difference at  $P<0.05$  level, uppercase letters mean significant difference at  $P<0.01$  level. AC stands for absolute content, RC stands for relative content. The same below.



注:不同字母代表同一物质不同品种间差异,小写字母表示在  $P < 0.05$  水平显著差异,大写字母表示在  $P < 0.01$  水平显著差异。下同。

Note: Different letters in the same substance represent different varieties, lowercase letters mean significant difference at  $P < 0.05$  level, uppercase letters mean significant difference at  $P < 0.01$  level. The same below.

图 2 糜子生长发育 35 d 叶片中不同链长初级醇的绝对含量

Fig.2 Absolute content of different carbon chain length of primary alcohols in leaves of 35 d

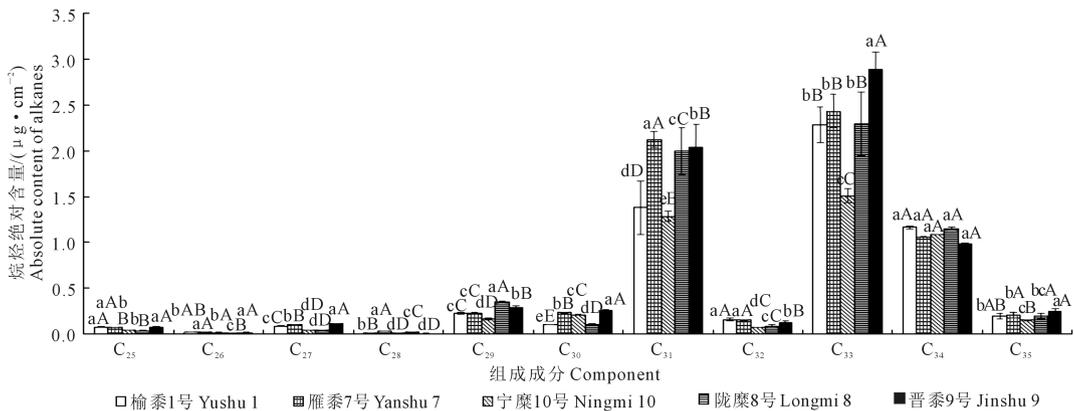


图 3 糜子生长发育 35 d 叶片中不同链长烷烃的绝对含量

Fig.3 Absolute content of different carbon chain length of alkanes in leaves of 35 d

### 2.3 不同糜子品种旗叶叶片表皮蜡质晶体结构观察

扫描电镜观察结果表明,糜子旗叶叶片表面覆盖有大量的蜡质晶体,晶体类型主要呈片状。叶片上、下表面的蜡质晶体密集度具有明显的差异,呈片状的蜡质晶体紧密而均匀地分布于整个叶片的上表面,叶片下表面的片状蜡质晶体很少,整个表面相对比较平滑。不同糜子品种间叶片表皮蜡质晶体密集程度存在显著差异,其中榆黍 1 号和晋黍 9 号叶片上表面蜡质晶体分布最为紧密,宁糜 10 号则相对稀疏。并且榆黍 1 号叶片下表面含有少量颗粒状蜡质晶体而其他品种则相对比较平滑(图 4)。

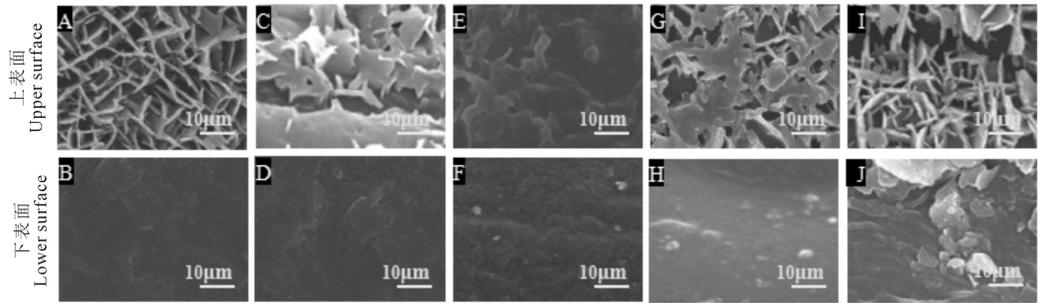
### 2.4 糜子不同生长发育时期叶片表皮蜡质组分分析

以榆黍 1 号为例,从表 2 可知,糜子叶片不同生长发育时期蜡质组成比较相似,均含有初级醇、烷烃及萜类物质;并且各发育时期均以初级醇含量最高,其次为烷烃含量,而萜类物质含量最低(表 2)。

不同的是,各发育时期糜子叶片总蜡质含量以及各组分含量均有显著差异。在生长发育 15 d 时,由于糜子处于生长发育初期阶段,蜡质合成活动进行得缓慢,造成蜡质总量积累较少。随着糜子的生长发育,蜡质合成活动逐渐活跃,叶片蜡质不断积累,在 20、25、30、35 d 和 40 d 时的蜡质总含量分别是 15 d 时的 1.5、1.7、1.9、2.4 和 2.6 倍(表 2)。各蜡质组分含量总体也表现出随着糜子的生长发育而不断增加的趋势。其中初级醇的含量在发育 15~25 d 期间稳定升高,在 25 d 时达到  $13.79 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,占总蜡质含量的 74.46%;25~30 d 期间稍有降低,在 30 天时降至  $12.95 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,占总含量的 64.91%;30~35 d 期间出现初级醇绝对含量快速增加的过程,在 35 d 含量最高为  $18.39 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,占总含量的 71.09%;而在发育后期即 35 d 之后逐渐降低(表 2)。烷烃含量的变化也表现出相似的模式,在发育 15~20 d 期间,烷烃含量稳定升高,在 20 d 时达到  $5.71 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,占总含量的 36.60%;在 20~25 d 期间稍有降低,25 d 时降至  $4.06 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,占总含量的 21.92%;

而在 25 d 之后稳定增加,烷烃绝对含量快速增加过程出现在 35~40 d,在 40 d 时含量最高为  $11.31 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,占总蜡质含量的 40.52%(表 2)。萜类物质

绝对含量同蜡质总量变化相同,即随着生长发育不断增加,在 40 d 时含量最高,为  $0.77 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ (表 2),但相对含量随生长发育不断降低。



注: A 和 B: 晋黍 9 号叶片; C 和 D: 陇糜 8 号叶片; E 和 F: 宁糜 10 号叶片; G 和 H: 雁黍 7 号叶片; I 和 J: 榆黍 1 号叶片。

Note: A and B: Leaves of Jinshu 9; C and D: Leaves of Longmi 8; E and F: Leaves of Ningmi 10; G and H: Leaves of Yanshu 7; I and J: Leaves of Yushu 1.

图 4 糜子叶片表皮蜡质晶体结构

Fig.4 Crystal structure of cuticular wax on broomcorn millet leaves

表 2 榆黍 1 号不同时期叶片表皮各组分含量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \pm \text{SD})$

Table 2 Content of leaf cuticular wax component in different sampling stages of Yushu 1

蜡质成分 Wax component	含量 Content	取样时间 Sampling time/d					
		15	20	25	30	35	40
烷烃 Alkanes	AC	$2.85 \pm 0.23\text{E}$	$5.70 \pm 0.46\text{D}$	$4.06 \pm 0.34\text{E}$	$6.28 \pm 0.52\text{aAcBC}$	$6.74 \pm 0.49\text{bB}$	$11.30 \pm 0.25\text{aA}$
	RC	$26.81 \pm 0.52\text{dC}$	$36.54 \pm 0.60\text{bA}$	$21.92 \pm 0.96\text{dD}$	$31.48 \pm 0.92\text{cB}$	$26.05 \pm 0.53\text{dCD}$	$40.52 \pm 0.55\text{aA}$
初级醇 Primary alcohols	AC	$7.19 \pm 0.73\text{FE}$	$9.24 \pm 0.90\text{eD}$	$13.79 \pm 0.68\text{cC}$	$12.95 \pm 0.52\text{dC}$	$18.39 \pm 0.36\text{aA}$	$15.81 \pm 0.78\text{bB}$
	RC	$67.64 \pm 0.33\text{cBC}$	$59.23 \pm 1.02\text{eD}$	$74.46 \pm 0.87\text{aA}$	$64.91 \pm 0.88\text{dC}$	$71.09 \pm 0.65\text{bAB}$	$56.69 \pm 0.94\text{fD}$
三萜 Triterpenoids	AC	$0.58 \pm 0.11\text{cA}$	$0.62 \pm 0.04\text{bcA}$	$0.67 \pm 0.09\text{bA}$	$0.72 \pm 0.03\text{abcA}$	$0.73 \pm 0.01\text{abA}$	$0.77 \pm 0.05\text{aA}$
	RC	$5.46 \pm 0.35\text{aA}$	$3.97 \pm 0.11\text{bB}$	$3.62 \pm 0.11\text{bcB}$	$3.61 \pm 0.22\text{bcB}$	$2.82 \pm 0.11\text{cB}$	$2.76 \pm 0.24\text{cB}$
总量 Total		$10.63 \pm 0.12\text{fF}$	$15.60 \pm 0.09\text{eE}$	$18.52 \pm 0.05\text{dD}$	$19.95 \pm 0.06\text{cC}$	$25.87 \pm 0.10\text{bB}$	$27.89 \pm 0.09\text{aA}$

### 3 讨论与结论

本研究结果表明,糜子叶片的表皮蜡质主要由 20 种有机化合物组成,包括 11 种烷烃、7 种初级醇、以及 2 种三萜类物质。所选用材料为黄土高原区种植普通糜子品种榆黍 1 号、雁黍 7 号、陇糜 8 号、晋黍 9 号和宁糜 10 号,不同品种糜子间蜡质成分及各化合物所占比例比较相似,说明糜子叶片表皮蜡质组成成分在不同糜子品种间是相对稳定的。但不同品种的蜡质总含量却存在着明显的差异,使这些品种呈现出高蜡和低蜡的特征,比如高蜡品种榆黍 1 号蜡质总含量是低蜡品种宁糜 10 号的 1.4 倍。

在禾本科主要粮食作物中,玉米叶片蜡质成分为烷烃、醇、醛、酯类和脂肪酸,其中醇、脂肪酸和酯为最主要成分,蜡质组分的碳链分布主要集中在  $\text{C}_{25}$ - $\text{C}_{48}$ <sup>[11]</sup>;小麦叶片蜡质中初级醇、烷烃和二酮为主要成分,蜡质组分的碳链分布主要集中在  $\text{C}_{25}$ - $\text{C}_{31}$ <sup>[9,12]</sup>;高粱叶片蜡质成分为醛、烷烃、初级醇、脂肪酸和酮类物质<sup>[13]</sup>。而本研究表明,糜子不同品种及不同生长发育时期叶片表皮蜡质均以初级脂肪醇为主,  $\text{C}_{32}$  醇含量最高;其次是烷烃,  $\text{C}_{33}$  及  $\text{C}_{31}$  烷烃含量相对较高;萜类含量最低。这与水稻、玉米及

高粱等作物的蜡质组成有一定的差别,暗示糜子蜡质合成与调控途径与水稻、玉米及高粱等作物不同<sup>[19-22]</sup>。糜子蜡质组成相对简单,初级醇和烷烃是其主要的蜡质成分,约占总蜡质含量的 95% 以上(表 1),说明糜子蜡质的生物合成主要集中在初级醇和烷烃的合成,具体的合成机制值得进一步讨论和探究。

观察扫描电子显微镜的结果,我们发现不同糜子品种旗叶叶片的上、下表面蜡质晶体的疏密及结构均有显著差异,上表面呈比较密集的片状,下表面呈稀疏的颗粒状或平滑表面。不同糜子品种之间蜡质晶体疏密程度有明显的差别,榆黍 1 号和晋黍 9 号叶片表皮蜡质分布最为紧密,宁糜 10 号则相对稀疏。同时,Barthlott 等<sup>[23]</sup>研究证明,蜡质组成中含有大量的伯醇和萜类化合物会呈现片状的晶体结构,而含有大量的二酮、仲醇和二醇等化合物则会呈现柱状晶体。本研究发现,糜子叶片表面的蜡质呈片状结构,这与叶片蜡质成分中初级醇的含量最高相对应。

环境的变化很大程度影响着植物表皮蜡质的合成及蜡质的晶体结构。植物表皮蜡质含量在受环境胁迫如干旱等条件下会显著增多,且蜡质晶体分布更为密集<sup>[24]</sup>。本研究中,糜子不同品种及不同

发育时期叶片表皮均覆盖有丰富的蜡质并且在叶片表面形成片状晶体结构,说明这些蜡质对于糜子应对干旱等逆境胁迫起着重要的作用。

不同生长发育时期糜子叶片表皮蜡质含量也存在差异,糜子从三叶期(15 d)到灌浆期(40 d)叶片表皮蜡质含量逐渐增加(表 2)。其他作物中也有相似的研究结果,如汪勇等<sup>[12]</sup>研究发现,在小麦叶片发育早期,初级醇的含量最高,发育中后期,烷烃和二酮含量快速增加,总蜡质含量从苗期到开花灌浆期呈现持续增加的趋势。王聪等<sup>[25]</sup>研究发现,大麦叶片蜡质也随生长发育进程而呈现逐渐增加的趋势。前人的研究表明,糜子叶片的净光合速率、气孔导度、水分的蒸腾速率等会因为其在苗期、拔节期和孕穗期受到干旱胁迫而较大程度地降低,但在灌浆期,蒸腾速率、气孔导度等的降低幅度明显减小,并且净光合速率基本不变<sup>[26-27]</sup>。本研究中检测到的叶片表皮蜡质逐渐增加的现象与这些光合生理检测结果有很好的对应性,可能就是糜子在生长发育过程中对干旱胁迫做出的适应性反应以及产生的生理效应,这些生理指标与蜡质合成的关系值得进行更深入的研究,这对于提高糜子的抗旱性进而提高糜子的产量具有重要的研究价值。

本研究表明,不同糜子品种叶片表皮蜡质含量有显著差异,但不同糜子品种蜡质组成成分相同,均以碳链长度分布范围为  $C_{22}$ - $C_{35}$  的烷烃、初级醇、萜类物质等 20 种化合物为主。初级醇是糜子叶片表皮蜡质的主要组成成分,其中  $C_{32}$  醇含量最高。同时,糜子不同生长发育时期蜡质组分含量也有显著差异,即蜡质总量随生长发育时间不断增加,但蜡质组成相同,以初级醇为主。扫描电镜观察表明,叶片表皮蜡质晶体结构为片状和少量球状,并且蜡质晶体结构的密集程度与叶片表皮蜡质含量多少相对应。本研究首次对糜子叶片蜡质的发育进行了研究,分析了糜子不同生长发育时期的蜡质成分变化,为今后研究糜子蜡质组分的合成机理奠定了基础。

#### 参 考 文 献:

[1] Dominguez E, Heredia-guerrero J A, Heredia A. The biophysical design of plant cuticles: an overview [J]. *New Phytologist*, 2011, 189: 938-949.  
 [2] Eigenbrode S D, Espelie K E. Effects of plant epicuticular lipids on insect herbivores [J]. *Annual Review of Entomology*, 1995, 40:171-194.  
 [3] Solovchenko A, Merzlyak M. Optical properties and contribution of cuticle to UV protection in plants: experiments with apple fruit [J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2003, 2: 861-866.  
 [4] Yeats T H, Rose J K C. The formation and function of plant cuticles [J]. *Plant Physiology*, 2013,163(1):5-20.  
 [5] Kunst L, Samuels A L. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax [J]. *Progress in Lipid Research*, 2003,42(1):51-80.  
 [6] Koch K, Ensikat H J. The hydrophobic coatings of plant surfaces: Epicu-

ticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly [J]. *Micron (Oxford, England: 1993)*: 2008, 39(7): 759-772.  
 [7] Stephen G, Wen M, David B, et al. The cytochrome P450 enzyme CYP96A15 is the midchain alkane hydroxylase responsible for formation of secondary alcohols and ketones in stem cuticular wax of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(3): 653-667.  
 [8] Mao B G, Cheng Z J, Lei C L, et al. Wax crystal-sparse leaf2, a rice homologue of wax2/g11, is involved in synthesis of leaf cuticular wax [J]. *Planta*, 2012, 235(1), 39-52.  
 [9] 罗文巧,吴洪启,赵帅,等. 小麦品种 CP98(11)不同器官表皮蜡质组分和蜡质晶体结构的差异分析[J]. *西北植物学报*, 2017,(3): 82-87.  
 [10] 李灵之,马杰,向建华,等. 植物角质层内外蜡质的差异及其与抗逆性的关系[J]. *植物生理学报*, 2011,47(7), 680-684.  
 [11] 宋玉伟,杨伟林. 玉米幼苗叶表面蜡质含量及成分对干旱胁迫的响应[J]. *玉米科学*, 2016,24(2):91-95.  
 [12] Wang Y, Wang M L, Sun Y L, et al. FAR5, a fatty acyl-coenzyme A reductase, is involved in primary alcohol biosynthesis of the leaf blade cuticular wax in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(5):1165-1178.  
 [13] 李晓婷. 高粱属植物叶角质层蜡质特征及其与生长发育指标的关系研究 [D]. 重庆:西南大学,2019.  
 [14] 慕芳,冯佰利,王鹏科,等. 糜子叶表面抗旱结构的扫描电镜观察 [J]. *河北农业科学*, 2010, 14(11), 65-67.  
 [15] Zhang P P, Feng B L, Wang P K, et al. Leaf senescence and activities of antioxidant enzyme in different broomcorn millet cultivars (*Panicum miliaceum* L.) under simulated drought condition [J]. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 2012,10(2): 438-444.  
 [16] 张盼盼,冯佰利,王鹏科,等. 糜子芽期抗旱性指标鉴定与利用研究[J]. *河北农业科学*, 2010, 14(11): 22-27.  
 [17] 张盼盼,冯佰利,王鹏科,等. PEG 胁迫下糜子苗期抗旱指标鉴定研究[J]. *中国农业大学学报*, 2012, 17(1): 53-59.  
 [18] 胡银岗,林凡云,王士强,等. 糜子抗旱节水相关基因 PmMYB 的克隆及表达分析[J]. *遗传*, 2008, 30(3): 373-379.  
 [19] 胡继超,姜东,曹卫星,等. 短期干旱对水稻叶水势、光合作用及干物质分配的影响[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(1), 63-67.  
 [20] Cochard H, Coll L, Leroux X, et al. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut [J]. *Plant Physiology*, 2002, 128(1), 282-290.  
 [21] Kolodziejek I, Koziol J, Waleza M, et al. Ultrastructure of mesophyll cells and pigment content in senescing leaves of maize and barley [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2003, 22(3), 217-227.  
 [22] 张盼盼. 糜子抗旱性鉴定及抗旱指标筛选 [D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2010.  
 [23] Barthlott W, Neinhuis C, Cutler D, et al. Classification and terminology of plant epicuticular waxes [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2008, 126(3): 237-260.  
 [24] Sánchez F J, Manzanares M, De Andrés E F, et al. Residual transpiration rate, epicuticular waxload and leaf colour of pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature [J]. *European Journal of Agronomy*, 2001, 15(1): 57-70.  
 [25] 王聪,王嘉欢,汪勇,等. 大麦表皮蜡质的组分及晶体结构分析[J]. *麦类作物学报*, 2018, 38(6):693-700.  
 [26] 冯晓敏,张永清. 水分胁迫对糜子植株苗期生长和光合特性的影响 [J]. *作物学报*, 2012, 38(8): 1513-1521.  
 [27] 刘紫娟,李萍,宗毓铮,等. 干旱胁迫对糜子生理及产量的影响 [J]. *山西农业科学*, 2016, 44(9): 1279-1283.