

基于光合色素含量和叶绿素荧光参数的 杞柳叶片 Cd 积累能力预测

王树凤¹, 王松², 舒婉钦^{1,3}, 陈光才^{1,①}

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400; 2. 台州市林业技术推广总站, 浙江 台州 318000;
3. 中南林业科技大学林学院, 湖南 长沙 410004)

摘要: 以杞柳 (*Salix integra* Thunb.) 4 个品种 ‘大红头’ (‘Dahongtou’)、‘一枝笔’ (‘Yizhibi’)、‘黄皮柳’ (‘Huangpiliu’) 和 ‘庄坞柳’ (‘Zhuangwuliu’) 为材料, 比较了低浓度 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂) 和高浓度 ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂) Cd 处理下叶片的光合色素含量、叶绿素荧光参数和 Cd 含量变化, 探讨叶片 Cd 含量与光合色素含量和叶绿素荧光参数间的相关性, 并基于逐步回归函数, 构建叶片 Cd 含量预测模型。结果显示: 低浓度和高浓度 Cd 处理均导致杞柳叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素以及类胡萝卜素含量出现不同程度的下降, 其中, 类胡萝卜素含量降幅较大, 降幅最高达 59.71% (‘庄坞柳’)。不同浓度 Cd 处理使杞柳叶片 PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m)、相对电子传递速率 ($rETR$) 和 PS II 实际光量子产额 [$Y(II)$] 出现不同程度的降低, 抑制了 PS II 反应中心的活性; Cd 处理下 ‘大红头’、‘一枝笔’ 和 ‘庄坞柳’ 叶片调节性能量耗散的量子产额 [$Y(NPQ)$] 和非调节性能量耗散的量子产额 [$Y(NO)$] 明显增加, 光保护能力增强。双因素方差分析结果显示: Cd 处理对杞柳叶片光合色素含量和叶绿素荧光参数有极显著影响, 但品种仅对最大荧光 (F_m)、初始荧光 (F_0)、 F_v/F_m 值和非光化学淬灭系数 (qN) 有显著或极显著影响; 品种和 Cd 处理对叶片 Cd 含量有显著或极显著影响。相关性分析结果显示: 杞柳叶片 Cd 含量与叶绿素 a 含量 (X_1)、叶绿素 b 含量 (X_2)、总叶绿素含量 (X_3)、类胡萝卜素含量 (X_4)、 F_0 值 (X_5) 和 F_v/F_m 值 (X_6) 存在极显著相关性 (相关系数绝对值大于 0.8)。基于 6 个变量进行多元逐步回归, 初步构建了杞柳叶片 Cd 含量 (Y) 预测模型 $Y = 1\,928.761 - 128.842X_1 - 2\,005.500X_6$ ($R^2 = 0.850$)。

关键词: 杞柳; Cd 积累; 光合色素含量; 叶绿素荧光参数; 预测模型

中图分类号: Q945.78; S564+.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)03-0065-10

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.03.08

Prediction of Cd accumulation ability in leaves of *Salix integra* based on photosynthetic pigment contents and chlorophyll fluorescence parameters WANG Shufeng¹, WANG Song², SHU Wanqin^{1,3}, CHEN Guangcai^{1,①} (1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, China; 2. Taizhou Forestry Technology Extended Station, Taizhou 318000, China; 3. College of Forestry, Central South University of Forestry & Technology, Changsha 410004, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(3): 65-74

Abstract: Taking four cultivars of *Salix integra* Thunb. namely ‘Dahongtou’, ‘Yizhibi’, ‘Huangpiliu’ and ‘Zhuangwuliu’ as materials, variations of photosynthetic pigment contents, chlorophyll fluorescence parameters and Cd content in leaves under low concentration ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂) and high concentration ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂) of Cd treatments were compared, the correlations of Cd content with photosynthetic pigment contents and chlorophyll fluorescence parameters of leaves were discussed,

收稿日期: 2021-12-07

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31770653)

作者简介: 王树凤 (1977—), 女, 山东寿光人, 博士, 副研究员, 主要从事林木抗逆生理生态学研究。

①通信作者 E-mail: guangcaichen@sohu.com

引用格式: 王树凤, 王松, 舒婉钦, 等. 基于光合色素含量和叶绿素荧光参数的杞柳叶片 Cd 积累能力预测[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(3): 65-74.

and a prediction model for Cd content in leaves was constructed based on stepwise regression function. The results show that low concentration and high concentration of Cd treatments both lead to decrease of contents of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll and carotenoid of *S. integra* leaves to different degrees, in which, the decrement of carotenoid content is relatively large, which reaches as high as 59.71% (‘Zhuangwuliu’). Different concentrations of Cd treatments lead to decrease of maximum photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m), relative electron transport rate ($rETR$) and effective quantum yield of PS II [$Y(II)$] of *S. integra* leaves to different degrees, and inhibit the activity of PS II reactive center; quantum yield of regulated energy dissipation [$Y(NPQ)$] and quantum yield of non-regulated energy dissipation [$Y(NO)$] of leaves of ‘Dahongtou’, ‘Yizhibi’ and ‘Zhuangwuliu’ evidently increase under Cd treatment, and photoprotection ability increase. The result of two-way ANOVA shows that Cd treatment has extremely significant effects on photosynthetic pigment contents and chlorophyll fluorescence parameters of *S. integra* leaves, but cultivar has significant or extremely significant effects only on maximum fluorescence (F_m), initial fluorescence (F_o), F_v/F_m value and nonphotochemical quenching coefficient (qN); cultivar and Cd treatment have significant or extremely significant effects on Cd content in leaves. The correlation analysis result shows that there are extremely significant correlations (the absolute values of correlation coefficients are greater than 0.8) of Cd content with chlorophyll *a* content (X_1), chlorophyll *b* content (X_2), total chlorophyll content (X_3), carotenoid content (X_4), F_o value (X_5) and F_v/F_m value (X_6) of *S. integra* leaves. Multiple stepwise regression is conducted based on six variables, and the prediction model $Y = 1\,928.761 - 128.842X_1 - 2\,005.500X_6$ ($R^2 = 0.850$) for Cd content (Y) in leaves of *S. integra* is preliminarily established.

Key words: *Salix integra* Thunb.; Cd accumulation; photosynthetic pigment content; chlorophyll fluorescence parameter; prediction model

镉(Cd)是生物毒性极强的重金属元素之一,土壤中的Cd很容易被植物根系吸收并转运到地上部,进入食物链,导致动物或人类产生多种疾病^[1,2]。植物Cd含量不仅关系食品安全,而且可以预测土壤重金属污染程度,是利用植物对重金属污染土壤进行修复的基础^[3,4]。采用常规化学方法检测植物重金属含量,虽然准确性好、灵敏度高,但也存在破坏性取样、测试周期长、化学试剂消耗量大等缺点,无法实现植物重金属积累能力的快速判断。因此,探索并建立快速、有效评估植物重金属积累能力的方法,对筛选高效修复植物以及预测土壤重金属污染程度具有重要意义^[5,6]。

目前,植物中重金属含量监测或预测的方法大多基于植物叶片或植被反射光谱建立,国内外针对多种农作物和草本植物建立了各种光谱反演模型用于监测或预测植物中重金属含量^[3-6]。光谱数据的测定多应用于农业遥感等领域,在大尺度监测土壤重金属污染和植物重金属含量方面具有无可比拟的优点。然而,光谱反演模型中反射率的信号除了来自目标植物本身,还包含了土壤和杂草等混合信号,在监测和预测过程中产生不稳定性^[7],而且大多缺乏与植物内在遗传和生理特征的关联^[7,8],无法满足对植物重金属积累能力和生理响应的准确判断。此外,当前大

多数光谱反演模型是基于农作物建立的,针对木本植物的模型很少^[9,10]。因此,除了进一步扩展光谱反演模型的应用范围,还有必要同时从多角度,特别是植物生理特征等方面探索木本植物重金属含量预测方法。

对重金属光谱反演模型的参数分析发现,植物对重金属污染敏感的波段大多集中在可见光-红边波段,其中波长350~716 nm是表征叶片色素的波段^[11]。叶绿素含量和叶绿素荧光参数是表征植物光合作用和生长状况的重要指标,在农业上被广泛用于农作物的营养状况和产量监测^[8,12]。如:利用叶绿素荧光图像预测辣椒(*Capsicum annuum* Linn.)叶片氮含量,用于监测辣椒生长过程中的营养状况^[13];衡亚蓉等^[8]应用小麦(*Triticum aestivum* Linn.)上部叶片叶绿素荧光参数进行产量预测和评价。此外,叶绿素含量和叶绿素荧光参数对环境胁迫具有极高的敏感性,可用于监测环境污染^[14]和植物受胁迫等级^[15]等方面。通过监测重金属胁迫下叶片的叶绿素含量变化,可以确定重金属胁迫水平,从而实现对土壤重金属污染的监测^[14]。但在评价和预测植物重金属含量方面,目前大多数研究的关注点在重金属胁迫对叶片叶绿素含量及叶绿素荧光参数的影响^[9],对叶片重金属含量与叶绿素含量和叶绿素荧光参数间相关性的

研究不足。相关研究结果^[16]表明:树木叶片 Mn 的积累能力与叶绿素荧光参数有关,其中 PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)可反映叶片 Mn 含量和毒性。上述研究证实,叶片叶绿素含量和叶绿素荧光参数与叶片矿质元素含量间存在必然的相关性。基于此,作者推测植物叶片中重金属含量可能与叶绿素含量及叶绿素荧光参数间存在一定相关性。因此,本文以研究基础较好的杞柳(*Salix integra* Thunb.)^[17,18]不同品种为材料,研究不同浓度 Cd 处理下叶片光合色素含量和叶绿素荧光参数的变化,分析叶片 Cd 含量与光合色素和叶绿素荧光参数间的相关性,探讨基于光合色素含量和叶绿素荧光参数预测叶片 Cd 积累能力的可行性,为快速、有效评价杞柳地上部 Cd 积累能力提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为杞柳 4 个品种‘大红头’(‘Dahongtou’)、‘一枝笔’(‘Yizhibi’)、‘黄皮柳’(‘Huangpiliu’)和‘庄坞柳’(‘Zhuangwuliu’),材料均来自山东省鱼台县清河镇杞柳种植基地(东经 116°50′、北纬 35°10′),其中,‘大红头’和‘一枝笔’对 Cd 具有较高的耐性和积累能力^[17,18]。

1.2 方法

1.2.1 材料培养 试验在中国林业科学研究院亚热带林业研究所(东经 119°95′、北纬 30°05′)试验大棚内进行。于 2019 年 3 月,剪取杞柳 1 年生枝条(长度约 15 cm,直径 1.0~1.5 cm),扦插于 15 L 塑料盆(长 50 cm、宽 35 cm、高 15 cm)中的泡沫板上(株距和行距均为 5 cm),扦插后采用自来水培养 3 周,之后更换为 Watson 等^[19]改进的营养液(pH 5.5)进行预培养,连续不断充气,整个试验期间采用自然光照(光照时间 11~13 h·d⁻¹),温度 15℃~27℃。

1.2.2 试验设计 扦插苗在营养液中预培养 1 周后,选取生长基本一致的苗木进行 CdCl₂ 处理。根据前期研究结果^[18]设置对照(0 μmol·L⁻¹ CdCl₂)、低浓度 Cd 处理(10 μmol·L⁻¹ CdCl₂)和高浓度 Cd 处理(50 μmol·L⁻¹ CdCl₂)3 个处理组。每个处理 3 盆(每盆即为 1 个重复),每盆 20 株苗木,每个品种 5 个单株,4 个品种共计 180 株苗木。每周更换营养液 2 次,培养 21 d。

1.2.3 叶绿素荧光图像采集 苗木经 CdCl₂ 处理 21 d 后,选取植株从上至下第 5 至第 7 枚功能叶片并标记,然后对标记的功能叶片进行叶绿素荧光图像参数的采集。

使用 IMAGING-PAM 叶绿素荧光成像系统(德国 Walz 公司)采集叶绿素荧光图像。首先对标记的功能叶片暗适应 30 min,测量光、光化光、饱和脉冲光强度分别设置为 20、55 和 280 μmol·m⁻²·s⁻¹。测量程序采用 Imaging Win 软件内置的动力学曲线模式,测量完成后,对获得的荧光图像进行分析并获取最大荧光(F_m)、初始荧光(F_0)、PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)、PS II 实际光量子产额[Y(II)]、调节性能量耗散的量子产额[Y(NPQ)]、非调节性能量耗散的量子产额[Y(NO)]、非光化学淬灭系数(q_N)、光化学淬灭系数(q_P)和相对光合电子传递速率($rETR$)。采集叶绿素荧光图像后,将标记的功能叶片分为 2 份,一份用于测定光合色素含量,另一份用于测定 Cd 含量。

1.2.4 光合色素含量测定 称取 0.5 g 新鲜叶片,在研钵中加入液氮研磨至粉末,加入 20 mL 体积分数 80%丙酮提取色素,使用 TU-1810 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)测定提取液在波长 663、645 和 470 nm 处的吸光度,然后根据 Wellburn^[20]的公式计算叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素以及类胡萝卜素含量。

1.2.5 叶片 Cd 含量测定 新鲜叶片于 105℃ 杀青 30 min,75℃ 烘干至恒质量,粉碎。准确称取 0.2 g 样品粉末,加入 10 mL HNO₃-HClO₄(体积比 4:1)混合液消解,然后使用 ICAP-7400 电感耦合等离子体发射光谱仪(美国 ThermoFisher 公司)测定叶片 Cd 含量^[21]。

1.3 数据处理和分析

采用 SPSS 20.0 软件对叶片光合色素含量、叶绿素荧光参数以及叶片 Cd 含量等 14 个指标进行双因素方差分析以及 LSD 多重比较检验,采用 OriginLab 2018 软件作图。采用 R 语言 cor()、corplot() 函数对 14 个指标进行 Pearson 相关性分析及作图,选取相关性极强的指标构建回归模型;采用 step AIC() 函数进行逐步回归,并依据赤池信息量准则(Akaike information criterion, AIC)进行参数选择,选出与叶片 Cd 含量最相关的 X 值带入模型,利用 R 语言中的 car 包进行回归模型诊断和检验^[22]。

2 结果和分析

2.1 Cd 对杞柳叶片光合色素含量的影响

双因素方差分析结果(表1)显示:品种对杞柳叶片光合色素含量的影响不显著,但 Cd 处理对光合色素含量均有极显著($P < 0.01$)影响,二者的交互作用对叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 和总叶绿素以及类胡萝卜素含量有显著($P < 0.05$)或极显著影响。说明在不同浓度

Cd 处理下,杞柳叶片光合色素的响应存在基因型差异。

不同浓度 Cd 处理对杞柳不同品种叶片光合色素含量的影响见图1。结果显示:随着 Cd 浓度提高,‘大红头’、‘一枝笔’、‘黄皮柳’和‘庄坞柳’4个品种叶片光合色素含量均呈下降趋势,但低浓度 Cd 处理($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CdCl}_2$)下,‘一枝笔’叶片叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 和总叶绿素含量下降不显著,其中,叶绿素 *b* 含量仅较对照($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CdCl}_2$)降低了 2.89%;其

表1 品种和 Cd 处理对杞柳叶片光合色素含量影响的双因素方差分析¹⁾

变异来源 Source of variation	叶绿素 <i>a</i> 含量 Chlorophyll <i>a</i> content			叶绿素 <i>b</i> 含量 Chlorophyll <i>b</i> content			总叶绿素含量 Total chlorophyll content			类胡萝卜素含量 Carotenoid content		
	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2	<i>F</i>	<i>P</i>	η^2
品种 Cultivar (C)	0.514	0.677	0.060	0.800	0.506	0.091	0.658	0.586	0.076	2.490	0.201	0.172
Cd 处理 Cd treatment (T)	167.030	<0.001	0.933	62.967	<0.001	0.840	128.451	<0.001	0.915	113.170	<0.001	0.904
C×T	4.472	0.004	0.528	3.854	0.008	0.491	4.512	0.003	0.530	2.783	0.034	0.410

¹⁾ *F*: *F* 值 *F* value; *P*: *P* 值 *P* value; η^2 : η^2 值 η^2 value.

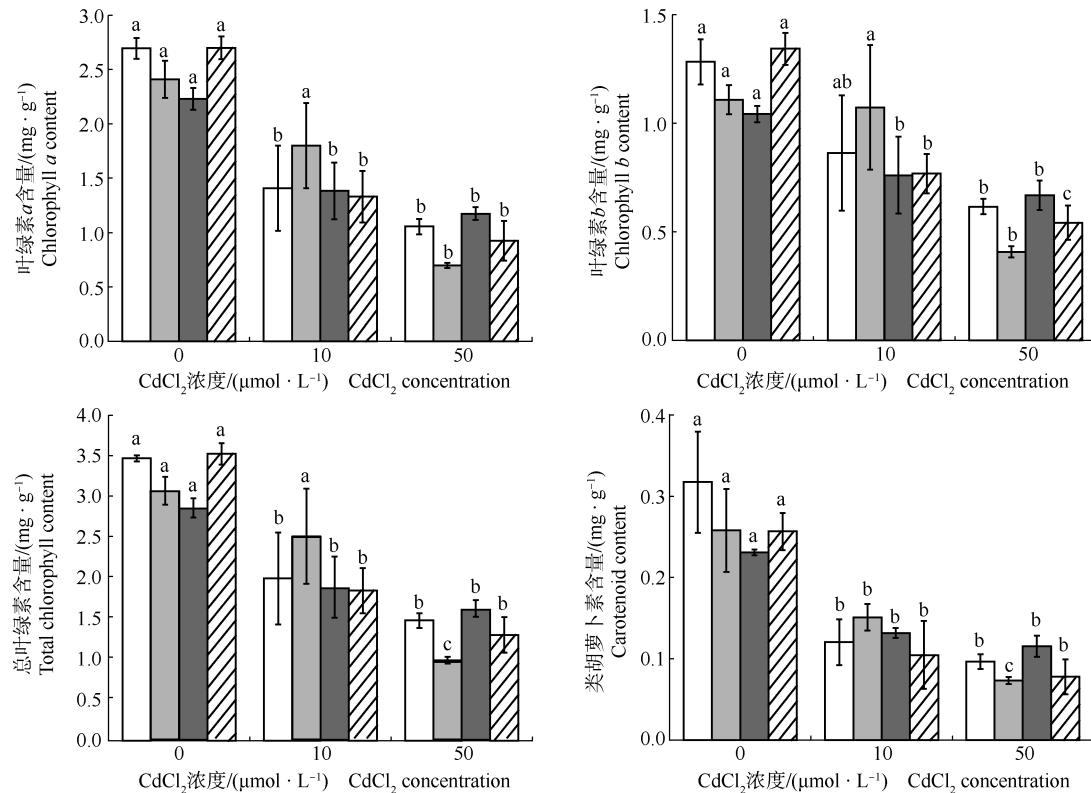


图1 Cd 处理对杞柳不同品种叶片光合色素含量的影响
□: ‘大红头’ ‘Dahongtou’; ▒: ‘一枝笔’ ‘Yizhibi’; ■: ‘黄皮柳’ ‘Huangpiliu’; ▨: ‘庄坞柳’ ‘Zhuangwuliu’. 同一品种不同小写字母表示在不同浓度 Cd 处理间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases of the same cultivar indicate the significant ($P < 0.05$) difference among Cd treatments with different concentrations.

图1 Cd 处理对杞柳不同品种叶片光合色素含量的影响
Fig. 1 Effects of Cd treatment on photosynthetic pigment contents in leaves of different cultivars of *Salix integra* Thunb.

他3个品种在低浓度 Cd 处理下叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素以及类胡萝卜素含量总体显著 ($P < 0.05$) 下降,其中,‘庄坞柳’叶片4种色素含量较对照降低了42.98%~59.71%。在高浓度 Cd 处理($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CdCl}_2$)下,‘一枝笔’叶片叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素以及类胡萝卜素含量均低于其他品种,且与低浓度 Cd 处理间有显著差异,而其他3个品种叶片4种色素含量在低浓度和高浓度 Cd 处理间总体差异不显著,其中,‘黄皮柳’叶片4种色素含量较对照降低了10.24%~13.54%。说明杞柳叶片光合色素含量对 Cd 浓度的敏感性存在品种差异,‘一枝笔’叶片光合色素对低浓度 Cd 处理不敏感,可以维持相对较高的色素含量,但对高浓度 Cd 的耐性不及‘大红头’、‘黄皮柳’和‘庄坞柳’。

2.2 Cd 对杞柳叶片叶绿素荧光参数的影响

双因素方差分析结果(表2)显示:品种仅对杞柳叶片 F_m 、 F_o 、 F_v/F_m 和 qN 值有显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 影响,Cd 处理对叶绿素荧光参数均有极显著影响,二者的交互作用对 F_v/F_m 、 $Y(\text{II})$ 、 $Y(\text{NPQ})$ 、 $Y(\text{NO})$ 、 qP 和 $rETR$ 值有极显著影响,对 F_m 、 F_o 和 qN 值的影响不显著。

F_m 和 F_o 值是反映植物在开始进行光合作用之前

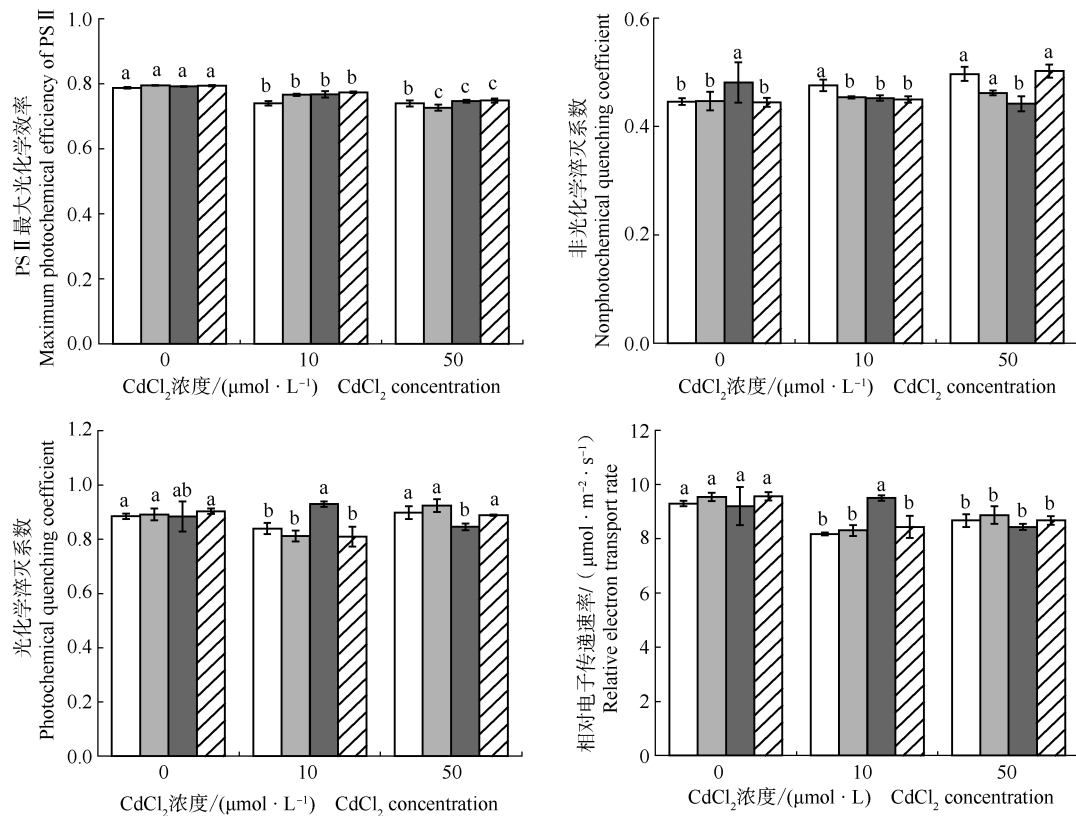
的背景值,因此,本文仅分析 Cd 处理对其余7个叶绿素荧光参数的影响,结果见图2和表3。结果(图2)显示:与对照($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CdCl}_2$)相比,4个品种叶片的 F_v/F_m 值在低浓度($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CdCl}_2$)和高浓度($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CdCl}_2$)Cd 处理下均显著降低,但不同品种叶片的 F_v/F_m 值对不同 Cd 浓度的响应不同,‘大红头’叶片的 F_v/F_m 值在低浓度和高浓度 Cd 处理间差异不显著,而其他3个品种叶片的 F_v/F_m 值随着 Cd 浓度的提高显著降低。说明 Cd 处理明显抑制了杞柳叶片光合作用,导致 PS II 最大光化学效率下降。‘大红头’、‘一枝笔’和‘庄坞柳’叶片 qN 值随着 Cd 处理浓度提高呈升高的趋势;而‘黄皮柳’叶片 qN 值在低浓度和高浓度 Cd 处理下较对照显著降低。‘大红头’、‘一枝笔’和‘庄坞柳’叶片 qP 值在低浓度 Cd 处理下显著降低,但在高浓度 Cd 处理下与对照无显著差异;而‘黄皮柳’叶片 qP 值在低浓度 Cd 处理下与对照差异不显著,但在高浓度 Cd 处理下显著降低。说明 Cd 处理并未导致‘黄皮柳’叶片明显的光损伤;虽然 Cd 处理对‘大红头’、‘一枝笔’和‘庄坞柳’造成了一定程度的光损伤,但由于相应的热耗散也增加,植物仍有能力消耗过剩的光能。同时发现,Cd 处理抑制了‘大红头’、‘一枝笔’和‘庄坞柳’

表2 品种和 Cd 处理对杞柳叶片叶绿素荧光参数影响的双因素方差分析¹⁾

Table 2 Two-way ANOVA for the effects of cultivar and Cd treatment on chlorophyll fluorescence parameters of leaves of *Salix integra* Thunb.¹⁾

变异来源 Source of variation	F_m			F_o			F_v/F_m		
	F	P	η^2	F	P	η^2	F	P	η^2
品种 Cultivar (C)	3.405	0.034	0.299	6.754	0.002	0.458	14.481	<0.001	0.644
Cd 处理 Cd treatment (T)	28.469	<0.001	0.703	91.343	<0.001	0.884	247.663	<0.001	0.954
C×T	0.666	0.678	0.143	1.277	0.305	0.242	8.326	<0.001	0.675
变异来源 Source of variation	Y(II)			Y(NPQ)			Y(NO)		
	F	P	η^2	F	P	η^2	F	P	η^2
品种 Cultivar (C)	2.276	0.105	0.222	2.679	0.070	0.251	2.012	0.139	0.201
Cd 处理 Cd treatment (T)	30.119	<0.001	0.715	12.105	<0.001	0.502	36.846	<0.001	0.754
C×T	7.499	<0.001	0.652	6.437	<0.001	0.617	9.100	<0.001	0.695
变异来源 Source of variation	qN			qP			$rETR$		
	F	P	η^2	F	P	η^2	F	P	η^2
品种 Cultivar (C)	3.676	0.026	0.315	0.933	0.440	0.104	2.103	0.126	0.208
Cd 处理 Cd treatment (T)	1 579.940	<0.001	0.992	12.010	<0.001	0.500	29.941	<0.001	0.714
C×T	1.817	0.138	0.312	10.182	<0.001	0.718	7.135	<0.001	0.641

¹⁾ F_m : 最大荧光 Maximum fluorescence; F_o : 初始荧光 Initial fluorescence; F_v/F_m : PS II 最大光化学效率 Maximum photochemical efficiency of PS II; $Y(\text{II})$: PS II 实际光量子产额 Effective quantum yield of PS II; $Y(\text{NPQ})$: 调节性能量耗散的量子产额 Quantum yield of regulated energy dissipation; $Y(\text{NO})$: 非调节性能量耗散的量子产额 Quantum yield of non-regulated energy dissipation; qN : 非光化学淬灭系数 Nonphotochemical quenching coefficient; qP : 光化学淬灭系数 Photochemical quenching coefficient; $rETR$: 相对电子传递速率 Relative electron transport rate. F: F 值 F value; P: P 值 P value; η^2 : η^2 值 η^2 value.



□: ‘大红头’ ‘Dahongtou’; □: ‘一枝笔’ ‘Yizhibi’; ■: ‘黄皮柳’ ‘Huangpiliu’; ▨: ‘庄坞柳’ ‘Zhuangwuliu’. 同一品种不同小写字母表示在不同浓度 Cd 处理间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases of the same cultivar indicate the significant ($P < 0.05$) difference among Cd treatments with different concentrations.

图 2 Cd 处理对杞柳不同品种叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig. 2 Effects of Cd treatment on chlorophyll fluorescence parameters of leaves of different cultivars of *Salix integra* Thunb.

表 3 Cd 处理下杞柳不同品种叶片 PS II 反应中心的能量分配策略¹⁾

Table 3 Allocation strategy of energy of PS II reaction center of leaves of different cultivars of *Salix integra* Thunb. under Cd treatment¹⁾

CdCl ₂ 浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) CdCl ₂ concentration	大红头 Dahongtou			一枝笔 Yizhibi		
	Y(II)	Y(NPQ)	Y(NO)	Y(II)	Y(NPQ)	Y(NO)
0	0.616±0.008a	0.139±0.003b	0.246±0.006b	0.629±0.009a	0.135±0.003b	0.236±0.012b
10	0.540±0.005c	0.169±0.002a	0.292±0.006a	0.549±0.001b	0.162±0.006a	0.289±0.006a
50	0.571±0.015b	0.165±0.001a	0.264±0.015a	0.585±0.002a	0.146±0.006b	0.269±0.015a
CdCl ₂ 浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) CdCl ₂ concentration	黄皮柳 Huangpiliu			庄坞柳 Zhuangwuliu		
	Y(II)	Y(NPQ)	Y(NO)	Y(II)	Y(NPQ)	Y(NO)
0	0.607±0.047a	0.155±0.028a	0.238±0.019a	0.607±0.047a	0.133±0.001b	0.234±0.008b
10	0.630±0.006a	0.133±0.000a	0.237±0.005a	0.556±0.027a	0.160±0.011a	0.284±0.017a
50	0.558±0.008b	0.151±0.004a	0.290±0.011a	0.572±0.011a	0.168±0.008a	0.260±0.004ab

¹⁾ Y(II): PS II 实际光量子产额 Effective quantum yield of PS II; Y(NPQ): 调节性能量耗散的量子产额 Quantum yield of regulated energy dissipation; Y(NO): 非调节性能量耗散的量子产额 Quantum yield of non-regulated energy dissipation. 同列中不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P < 0.05$) difference.

叶片的 $rETR$ 值, 导致 $rETR$ 值在低浓度和高浓度 Cd 处理下均显著降低; 而‘黄皮柳’叶片 $rETR$ 值仅在高浓度 Cd 处理下显著降低。

$rETR$ 值的降低必然对 PS II 反应中心的能量分配产生影响, Cd 处理下 4 个品种叶片 PS II 反应中心的能量分配策略(表 3)显示: 随着 Cd 浓度提高, ‘大

红头’、‘一枝笔’和‘庄坞柳’叶片 $Y(NPQ)$ 和 $Y(NO)$ 值均有不同程度的升高,说明这3个品种在 Cd 处理下光能出现过剩,光保护能力增强;而‘黄皮柳’叶片 $Y(NPQ)$ 和 $Y(NO)$ 值变化不大,说明‘黄皮柳’在 Cd 处理下受到的光损伤相对较小。同时发现,Cd 处理导致4个品种叶片 $Y(II)$ 值有不同程度降低,但4个品种在 Cd 处理下的 $Y(II)$ 值仍达到 0.540~0.630,说明 PS II 反应中心仍然具有较高的活性,有超过一半的光量子通过光化学途径转化为能量。

2.3 杞柳不同品种叶片 Cd 积累能力差异

双因素方差分析结果(表4)显示:品种对杞柳叶片 Cd 含量有显著($P<0.05$)影响,Cd 处理对叶片 Cd 含量有极显著($P<0.01$)影响,二者的交互作用对叶片 Cd 含量的影响不显著。

表4 品种和 Cd 处理对杞柳叶片 Cd 含量影响的双因素方差分析¹⁾
Table 4 Two-way ANOVA test for the effects of cultivar and Cd treatment on Cd content in leaves of *Salix integra* Thunb.¹⁾

变异来源 Source of variation	F	P	η^2
品种 Cultivar (C)	3.390	0.034	0.298
Cd 处理 Cd treatment (T)	215.008	<0.001	0.947
C×T	2.490	0.051	0.384

¹⁾ F: F 值 F value; P: P 值 P value; η^2 : η^2 值 η^2 value.

不同浓度 Cd 处理对杞柳不同品种叶片 Cd 含量的影响见图3。结果显示:随着 Cd 浓度提高,4个品种叶片 Cd 含量逐渐升高。与低浓度($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂)Cd 处理相比,‘大红头’和‘一枝笔’叶片 Cd 含量在高浓度($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂)Cd 处理下显著升高,而‘黄皮柳’和‘庄坞柳’叶片 Cd 含量在2个处理间差异不显著。通过对 η^2 值的分析也发现,环境 Cd 浓度可以解释绝大部分的叶片 Cd 含量变异(η^2 值为 0.947),而品种对叶片 Cd 含量变异的解释度较小(η^2 值为 0.298)。说明环境对杞柳叶片 Cd 含量的影响要大于基因型的影响。

表5 回归模型参数及方差分析结果
Table 5 Regression model parameters and result of variance analysis

模型 Model	未标准化回归系数 Unstandardized regression coefficient		标准化回归系数 Standardized regression coefficient	t 值 t value	P 值 P value	R^2
	B 值 B value	标准误 Standard error				
常量 Constant	1 928.761	538.297		3.583	0.001	0.850
叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content	-128.842	25.630	-0.627	-5.027	<0.001	
PS II 最大光化学效率 Maximum photochemical efficiency of PS II	-2 005.500	750.560	-0.333	-2.672	0.012	

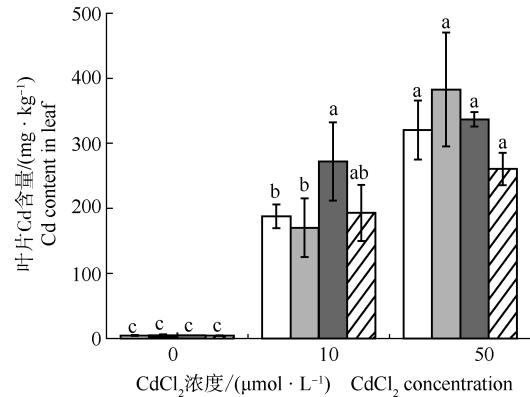


图3 Cd 处理对杞柳不同品种叶片 Cd 含量的影响
Fig. 3 Effects of Cd treatment on Cd content in leaves of different cultivars of *Salix integra* Thunb.

2.4 基于光合色素含量及叶绿素荧光参数构建杞柳叶片 Cd 积累能力评价模型

对杞柳叶片 Cd 含量与光合色素含量和叶绿素荧光参数间的相关性进行分析,选取与叶片 Cd 含量有极强相关性的指标,并基于逐步回归函数构建回归模型,模型参数及方差分析结果见表5,模型有效性检验见图4。

相关性分析结果显示:叶片 Cd 含量与叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素含量以及 F_m 、 F_o 、 F_v/F_m 、 $Y(II)$ 、 $Y(NPQ)$ 、 $Y(NO)$ 、 qN 、 qP 和 $rETR$ 值的相关系数分别为 -0.910、-0.837、-0.896、-0.866、-0.618、0.830、-0.866、-0.497、0.333、0.534、0.734、0.007和 -0.496;且叶片 Cd 含量与光合色素含量以及除 qP 值外的其他叶绿素荧光参数均存在显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)相关性。

选取与叶片 Cd 含量的相关系数绝对值大于 0.8

的6个因子作为预测变量,包括叶绿素 a 含量(X_1)、叶绿素 b 含量(X_2)、总叶绿素含量(X_3)、类胡萝卜素含量(X_4)、 F_v 值(X_5)和 F_v/F_m 值(X_6),以叶片Cd含量为因变量(Y),采用多元逐步回归法进行拟合,每次拟合根据贡献值排除1个变量,初始的AIC值为300.08,随着变量的依次排除,AIC值逐渐减小(298.10~292.38),最终基于 F_v/F_m 值(X_6)和叶绿素 a 含量(X_1)2个变量构建回归模型(表5)。根据未标准化回归系数(偏回归系数),发现叶片叶绿素 a 含量对叶片Cd含量的影响大于 F_v/F_m 值,模型表达式为 $Y = 1\ 928.761 - 128.842X_1 - 2\ 005.500X_6$ ($R^2 = 0.850$)。检验结果(图4)显示:叶片Cd含量的预测值与测定值间呈极显著正相关,相关系数达0.9412,说明本研究建立的模型具有较好的预测价值。

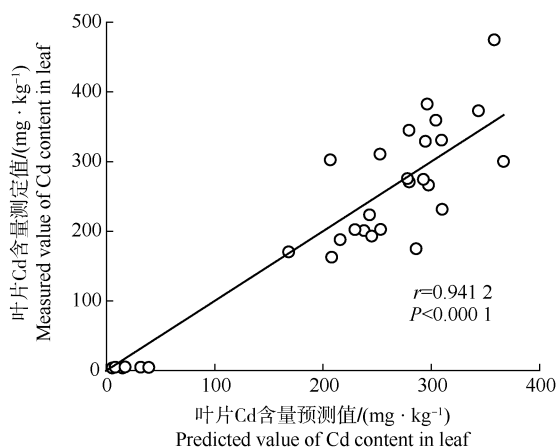


图4 基于预测模型对杞柳叶片Cd含量的预测检验
Fig. 4 Prediction test for Cd content in leaves of *Salix integra* Thunb. based on the prediction model

3 讨论和结论

Cd胁迫下叶片失绿是植株最明显的症状之一^[23,24]。研究表明:Cd导致植物叶片失绿最直接的原因是由于Cd可以替代叶绿素分子中的Mg,形成脱镁叶绿素,从而破坏叶绿素分子结构,导致叶绿素降解、叶片失绿^[25]。本研究中,不同浓度Cd处理(10和50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdCl_2)均可导致杞柳4个品种叶绿素 a 、叶绿素 b 和总叶绿素以及类胡萝卜素含量不同程度的下降,且下降程度随Cd浓度的提高而增加,这与当前大部分研究结果一致。相关研究结果^[26]发现,白柳(*Salix alba* Linn.)不同无性系在50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

CdSO_4 处理条件下,叶绿素 a 和叶绿素 b 以及总叶绿素含量均有不同程度下降,而且叶绿素 a 含量比叶绿素 b 含量下降幅度更大,导致叶绿素 a/b 比值明显下降。本研究也发现,Cd处理下,杞柳叶片叶绿素 a 含量的下降幅度大于叶绿素 b 含量,特别是‘一枝笔’,在低浓度Cd处理下,叶绿素 b 含量与对照无显著差异,说明低浓度Cd处理并未明显引起‘一枝笔’叶片叶绿素 b 含量的降解。Kummerová等^[27]发现,Cd胁迫下,叶绿素 a 比叶绿素 b 具有更快的降解速率。由此可见,叶绿素 a 对Cd胁迫可能具有更高的敏感性。相关性分析结果显示:杞柳叶片的叶绿素 a 含量与叶片Cd含量的相关系数达-0.910,具有极显著($P < 0.01$)负相关关系。类似的结果也在其他树种中发现,Doganlar等^[28]发现,在污染环境生长的夹竹桃(*Nerium oleander* Linn.)叶片的叶绿素含量与Fe、Pb和Zn等金属元素含量呈显著负相关。Grajek等^[29]采用离体叶绿素分子研究 Cd^{2+} 对叶绿素降解的影响,发现随着溶液中 Cd^{2+} 的增加,越来越多的 Cd^{2+} 替代叶绿素结构中的 Mg^{2+} ,破坏叶绿素的结构和功能,导致叶绿素含量进一步下降,而这种下降与溶液中 Cd^{2+} 浓度呈线性关系。因此,推测叶片叶绿素含量下降在一定程度上可以反映叶片Cd浓度的增加。

叶绿素含量变化会影响叶绿素荧光参数,叶绿素荧光参数对重金属极为敏感,已被广泛用于评价植物叶片对重金属的耐受性^[23,30,31]。黄鑫浩等^[30]从能量平衡及分配角度揭示Pb胁迫下木荷(*Schima superba* Gardn. et Champ.)和栎树(*Koelreuteria paniculata* Laxm.)PS II运转状况,提出 $Y(\text{NO})$ 和 $Y(\text{NPQ})$ 值可作为植物Pb胁迫的评价指标。尽管已有大量研究报告重金属诱导叶绿素荧光参数变化,然而,有关叶绿素荧光参数与叶片重金属含量之间相关性的研究并不多。Kitao等^[16]发现,叶绿素荧光参数与叶片Mn的积累能力相关,叶片Mn含量越高, F_v/F_m 值越低, F_v/F_m 值可作为判断Mn毒性的标准。本研究发现,与对照相比,不同浓度Cd处理导致杞柳4个品种叶片 F_v/F_m 值均显著下降,且 F_v/F_m 值与叶片Cd含量呈极显著负相关(相关系数为-0.866),说明 F_v/F_m 值低的叶片往往积累更多的Cd。Pietrini等^[31]基于叶绿素荧光图像,结合能量色散型X射线荧光(ED-XRF)定点测定,发现白柳SS5叶片坏死斑点具有极低的 F_v/F_m 值,同时检测到极强的Cd信号,进一步说明叶片 F_v/F_m 值与Cd含量的相关性。然而,已有研

究^[26]发现,50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdSO₄ 尽管抑制了白柳叶片 PS II 活性,使 F_v/F_m 值下降,但并未改变 F_o 值,认为仅利用 F_v/F_m 值并不能精确评价白柳不同无性系的 Cd 耐性程度,这与 Pietrini 等^[23,32] 的结论相似。由此可见,在利用叶绿素荧光参数评价植物对重金属的耐性和积累能力时,应考虑多种参数,筛选最敏感或相关性最强的参数进行评价。

Rossi 等^[33] 研究了欧洲油菜 (*Brassica napus* Linn.) 地上部 Cd 积累量与生物量、光合参数、叶绿素荧光参数等因子的相关性,发现根系鲜质量和 F_v/F_m 值是影响地上部 Cd 吸收的主要因子,并据此建立回归模型。基于此,本研究在模型构建过程中,选取了与叶片 Cd 含量具有极强相关性(相关系数绝对值大于 0.8)的 6 个因子进行拟合,最终建立基于叶绿素 *a* 含量和 F_v/F_m 值的预测模型,且叶片叶绿素 *a* 含量对 Cd 含量的影响大于 F_v/F_m 值。总体而言,利用该模型对叶片 Cd 含量进行预测,解释率可达 80% 以上 ($R^2=0.850$)。

综上所述,本研究构建了基于叶绿素 *a* 含量和 F_v/F_m 值的杞柳叶片 Cd 含量预测模型,为快速筛选和评价杞柳叶片 Cd 积累能力提供了参考,该模型是对柳属 (*Salix* Linn.) 植物叶片 Cd 含量预测方法的新探索。然而,该模型是基于室内控制条件下建立的,在实际应用过程中,还应进一步扩大使用范围或样本量,如对重金属污染矿区的杞柳叶片 Cd 含量进行预测,或增加杞柳品种的种类,从而进一步验证模型的有效性并优化模型。

参考文献:

- [1] TANHAN P, KRUATRACHUE M, POKETHITIYOOK P, et al. Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by Siam weed [*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson][J]. *Chemosphere*, 2007, 68: 323-329.
- [2] WANG P, CHEN H P, KOPITTKER P M, et al. Cadmium contamination in agricultural soils of China and the impact on food safety[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 249: 1038-1048.
- [3] 顾艳文,李帅,高伟,等.基于光谱参数对小白菜叶片镉含量的高光谱估算[J]. *生态学报*, 2015, 35(13): 4445-4453.
- [4] LIU W W, LI M J, ZHANG M Y, et al. Estimating leaf mercury content in *Phragmites australis* based on leaf hyperspectral reflectance [J]. *Ecosystem Health and Sustainability*, 2020, 6(1): 1726211.
- [5] NAKAMURA K, YASUTAKA T, KUWATANI T, et al. Development of a predictive model for lead, cadmium and fluorine soil-water partition coefficients using sparse multiple linear regression analysis[J]. *Chemosphere*, 2017, 186: 501-509.
- [6] FENG X P, CHEN H M, CHEN Y, et al. Rapid detection of cadmium and its distribution in *Miscanthus sacchariflorus* based on visible and near-infrared hyperspectral imaging [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 659: 1021-1031.
- [7] 张佳菲,万亮,何勇,等.基于快速叶绿素荧光技术的油菜冠层生化参数垂直异质性分析[J]. *智慧农业(中英文)*, 2021, 3(1): 40-50.
- [8] 衡亚蓉,李晓,贺利,等.基于上部叶片叶绿素荧光参数的小麦产量预测与评价[J]. *麦类作物学报*, 2018, 38(6): 701-709.
- [9] EVLARD A, SERGEANT K, FERRANDIS S, et al. Physiological and proteomic responses of different willow clones (*Salix fragilis* × *alba*) exposed to dredged sediment contaminated by heavy metals [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2014, 16: 1148-1169.
- [10] WANG S F, VOLK T A, XU J. Variability in growth and cadmium accumulation capacity among willow hybrids and their parents: implications for yield-based selection of Cd-efficient cultivars [J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 299: 113643.
- [11] 刘来,张文君,王卫红,等.镉污染油菜叶片的反射光谱响应与镉含量估计模型[J]. *中国油料作物学报*, 2019, 41(1): 46-52.
- [12] 李冬梅,吕新,罗宏海,等.基于叶绿素荧光参数的滴滴棉花氮素营养估测模型[J]. *棉花学报*, 2020, 32(1): 63-76.
- [13] 杨一璐,汪小岳,李成光,等.基于叶绿素荧光图像的辣椒叶片氮含量的预测[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2017, 43(1): 108-111.
- [14] MURCHIE E H, LAWSON T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(13): 3983-3998.
- [15] UREK G, RYBKA K, POGRZEBA M, et al. Chlorophyll *a* fluorescence in evaluation of the effect of heavy metal soil contamination on perennial grasses [J]. *PLOS ONE*, 2014, 9(3): e91475.
- [16] KITAO M, LEI T T, KOIKE T. Application of chlorophyll fluorescence to evaluate Mn tolerance of deciduous broad-leaved tree seedlings native to northern Japan [J]. *Tree Physiology*, 1998, 18: 135-140.
- [17] 杨卫东,陈益泰.不同杞柳品种对镉(Cd)吸收与忍耐的差异[J]. *林业科学研究*, 2008, 21(6): 857-861.
- [18] 王树凤,施翔,孙海菁,等.镉胁迫下杞柳对金属元素的吸收及其根系形态构型特征[J]. *生态学报*, 2013, 33(19): 6065-6073.
- [19] WATSON C, PULFORD I D, RIDDELL-BLACK D. Screening of willow species for resistance to heavy metals: comparison of performance in a hydroponics system and field trials [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2003, 5(4): 351-365.
- [20] WELLBURN A R. The spectral determination of chlorophylls *a* and

- b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1994, 144: 307–313.
- [21] 罗夏琳, 胡玉斐, 李攻科. 微波辅助消解-电感耦合等离子体原子发射光谱测定烟草中的重金属[J]. *分析科学学报*, 2016, 32(2): 249–252.
- [22] 张守科, 方林鑫, 王毅, 等. 基于组成型抗性性状的油茶抗茶籽象的评价模型[J]. *林业科学*, 2020, 56(12): 67–74.
- [23] PIETRINI F, ZACCHINI M, IORI V, et al. Screening of poplar clones for cadmium phytoremediation using photosynthesis, biomass and cadmium content analyses [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2010, 12: 105–120.
- [24] KAUR R, YADAV P, SHARMA A, et al. Castasterone and citric acid treatment restores photosynthetic attributes in *Brassica juncea* L. under Cd (II) toxicity [J]. *Ecotoxicology and Environment Safety*, 2017, 145: 466–475.
- [25] PARMAR P, KUMARI N, SHARMA V. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress [J]. *Botanical Studies*, 2013, 54: 45.
- [26] ANSARI A A, GILL S S, GILL R, et al. *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants: Vol. 1* [M]. Cham: Springer International Publishing, 2015: 87–98.
- [27] KUMEROVÁ M, ZEŽULKA Š, KRÁL'OVÁ K, et al. Effect of zinc and cadmium on physiological and production characteristics in *Matricaria recutita* [J]. *Biologia Plantarum*, 2010, 54(2): 308–314.
- [28] DOGANLAR Z B, DOGANLAR O, ERDOGAN S, et al. Heavy metal pollution and physiological changes in the leaves of some shrub, palm and tree species in urban areas of Adana, Turkey [J]. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 2012, 24(2): 65–78.
- [29] GRAJEK H, RYDZYŃSKI D, PIOTROWICZ-CIEŚLAK A, et al. Cadmium ion-chlorophyll interaction: examination of spectral properties and structure of the cadmium-chlorophyll complex and their relevance to photosynthesis inhibition [J]. *Chemosphere*, 2020, 261: 127434.
- [30] 黄鑫浩, 朱凡, 胡丰姣, 等. 基于 Lake 模型的 Pb 胁迫对木荷和栎树幼树叶片叶绿素荧光参数的影响研究 [J]. *生态学报*, 2018, 38(4): 1284–1292.
- [31] PIETRINI F, ZACCHINI M, IORI V, et al. Spatial distribution of cadmium in leaves and its impact on photosynthesis: examples of different strategies in willow and poplar clones [J]. *Plant Biology*, 2010, 12: 355–363.
- [32] PIETRINI F, IANNELLI M A, PASQUALINI S, et al. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel [J]. *Plant Physiology*, 2003, 133: 829–837.
- [33] ROSSI L, BAGHERI M, ZHANG W L, et al. Using artificial neural network to investigate physiological changes and cerium oxide nanoparticles and cadmium uptake by *Brassica napus* plants [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 246: 381–389.

(责任编辑: 郭严冬)

(上接第 64 页 Continued from page 64)

- [25] LIU D, KONG D D, FU X K, et al. Influence of exogenous 5-aminolevulinic acid on chlorophyll synthesis and related gene expression in oilseed rape de-etiolated cotyledons under water-deficit stress [J]. *Photosynthetica*, 2016, 54(3): 468–474.
- [26] ZHANG J, SUI C, LIU H, et al. Effect of chlorophyll biosynthesis-related genes on the leaf color in *Hosta* (*Hosta plantaginea* Aschers) and tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21: 45.
- [27] 王超杰. 小麦淡绿叶突变体 chl1 表型分析、突变基因克隆及功能分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学农学院, 2020: 111–112.
- [28] 姜可以. 花叶矢竹叶绿素生物合成关键基因 *PjPORB* 和 *PjCAO* 的克隆与功能分析 [D]. 杭州: 浙江农林大学林业与生物技术学院, 2013: 36–39.
- [29] 滕炎桐, 叶莲, 何福收, 等. 一个水稻黄叶突变体的叶绿素合成关键基因的表达分析 [J]. *中国农学通报*, 2017, 33(22): 30–35.
- [30] LIU W, FU Y, HU G, et al. Identification and fine mapping of a thermo-sensitive chlorophyll deficient mutant in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Planta*, 2007, 226(3): 785–795.
- [31] WANG H, LIU Z, LUO S, et al. 5-aminolevulinic acid and hydrogen sulphide alleviate chilling stress in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings by enhancing chlorophyll synthesis pathway [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 167: 567–576.
- [32] MCCORMAC A C, FISCHER A, KUMAR A M, et al. Regulation of *HEMA1* expression by phytochrome and a plastid signal during de-etiolation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 2001, 25(5): 549–561.
- [33] 孟昭娟. 外源钙缓解弱光影响番茄叶片类囊体膜蛋白及叶绿素代谢的机制研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学园艺学院, 2017: 29–59.
- [34] BHOR S A, TATEDA C, MOCHIZUKI T, et al. Inducible expression of magnesium protoporphyrin chelatase subunit I (CHLI)-amiRNA provides insights into cucumber mosaic virus Y satellite RNA-induced chlorosis symptoms [J]. *Virusdisease*, 2017, 28(1): 69–80.

(责任编辑: 张明霞)