

基于指标综合分析的苹果砧木耐镉性评价

岳松青, 曹辉, 荀咪, 张玮玮*, 杨洪强*

山东农业大学园艺科学与工程学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

摘要: 以小金海棠(*Malus xiaojinensis*)、新疆野苹果(*M. sieversii*)、崂山柰子(*M. prunifolia*)、八棱海棠(*M. × robusta*)、山定子(*M. baccata*)和平邑甜茶(*M. hupehensis* var. *pingyiensis*)砧木实生苗为试材, 经镉处理后检测根长、鲜重、干重、根系活力、细胞死亡数、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性, 分析叶片过氧化氢(H_2O_2)和叶绿素相对含量。结果表明, 镉处理后, 新疆野苹果的根长、鲜重和根系活力下降幅度, 以及细胞死亡率、MDA含量和叶片 H_2O_2 含量的增加幅度均最高; 山定子干重下降幅度和叶片 H_2O_2 含量增加幅度最低; 八棱海棠根系细胞死亡率增加幅度最低, 根系POD和SOD活性提高幅度最大; 崂山柰子叶绿素相对含量降低幅度最大, 八棱海棠和山定子变化不显著。在主成分分析的基础上, 利用隶属函数对各砧木所测指标进行综合分析, 显示六种苹果砧木耐镉能力由强到弱的顺序为: 八棱海棠>山定子>平邑甜茶>崂山柰子>小金海棠>新疆野苹果。

关键词: 苹果砧木; 根系活力; 细胞死亡率; 耐镉性; 主成分分析; 隶属函数

镉(Cd)是一种毒性很强的重金属, 在工业化过程中进入农业环境和农产品, 通过食物链富集, 危及人体健康(Grembecka和Szefer 2013)。已有研究表明Cd²⁺可以通过Zn²⁺、Mg²⁺、Fe²⁺、Mn²⁺等离子通道或者离子载体进入植物体内, 引起叶绿素解体, 抑制叶片气孔开放, 抑制光合作用和蒸腾作用(迟春宁和丁国华2017; Pilon等2009; Savvas等2013)。当镉进入细胞后会引起细胞膜过氧化和膜电位去极化, 严重影响细胞质膜的组成、结构和透性(陈伟等2013), 使细胞膜内物质渗透到细胞膜外, 外部有毒物质进入细胞, 导致细胞代谢紊乱, 影响植物生长(Anjum等2016)。镉等重金属胁迫能抑制植物体内一些保护酶的活性, 产生大量的活性氧自由基, 损伤主要生物大分子, 引起膜脂过氧化等(迟春宁和丁国华2017)。

镉胁迫会导致多种生理生化指标和细胞学性状发生错综复杂的变化, 主成分分析可以把单一且关系错综复杂的指标转换成新的个数较少的且彼此独立或不相关的综合指标, 有助于比较准确地了解各指标和性状的综合表现, 同时根据各自贡献率大小可以确定各指标和性状相对重要性。在此基础上, 采用隶属函数法, 可以科学地对各指标和植株耐镉性进行综合评价(杨进文等2013)。苹果(*Malus* spp.)是全球四大水果之一, 我国苹果产量和栽培面积均居世界之首。栽培苹果主要利

用砧木进行嫁接繁殖(Zhou等2016)。本试验利用苹果栽培适用的6种代表性苹果砧木, 在水培条件下进行镉胁迫处理, 分析砧木的形态和生理变化, 并利用主成分分析结合隶属函数计算评价它们的耐镉性能, 为苹果耐镉砧木的筛选和利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

试验在山东农业大学温室和山东省高校果树生物学重点实验室进行, 试材为小金海棠(*Malus xiaojinensis* Cheng et Jiang)、新疆野苹果[*M. sieversii* (Ledeb.) M. Roem.]、崂山柰子(*M. prunifolia* (Willd.) Borkh.]、八棱海棠(*M. × robusta* Rehd.)、山定子(*M. baccata* (L.) Borkh.]和平邑甜茶(*M. hupehensis* (Pamp.) Rehd. var. *pingyiensis* Jiang]六种苹果砧木。将它们的种子在4°C下层积40 d后, 播种在穴盘内, 在温室内培养出苗后定植于7.5 cm×7.5 cm×10 cm花盆中, 盆栽土壤为草炭土、蛭石和珍珠岩按照3:1:1的体积比均匀混和而成。当幼苗长至第6片真叶出现时, 用1/2Hoagland营养液预处

收稿 2018-12-11 修定 2019-04-03

资助 国家自然科学基金(31772251和31801838)和山东省自然科学基金(ZR2018ZC08N3和ZR2017BC024)。

* 共同通讯作者: 张玮玮(zhangww@sdaau.edu.cn)、杨洪强(hqyang@sdaau.edu.cn)。

理10 d, 待各砧木幼苗重新长出白根开始处理。每种砧木选取12棵长势一致的幼苗, 共计72棵, 在去离子水中饥饿24 h后, 放入含有 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CdSO₄营养液的水培盆(47 cm×35 cm×15 cm)中, 对照为不含镉的1/2Hoagland营养液培养, 培养14 d后, 取样测定。营养液用H₂SO₄调节pH为 6.0 ± 0.1 , 每4 d更换一次营养液, 培养期间采用气泵正常通气。

1.2 指标测定

根系活力采用红四氮唑(2,3,5-triphenyl-2*H*-tetrazolium chloride, TTC)法测定, 根系细胞死亡率用伊文思兰染色法测定(Steffens和Sauter 2005), 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量用硫代巴比妥酸法测定, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性用四唑氮蓝(nitro blue tetrazolium, NBT)法测定, 过氧化物酶(peroxidase, POD)活性用愈创木酚法测定(赵世杰等2002), 叶绿素相对含量用SPAD-502PLUS叶绿素仪测定, 过氧化氢(H₂O₂)含量用硫酸钛沉淀法测定。

1.3 数据处理

利用Microsoft Excel进行计算, 利用SPSS 19.0软件进行主成分分析, 利用隶属函数法对各砧木的耐镉性进行综合评价。

1.3.1 镉敏感系数

$$\text{镉敏感系数} = \frac{\text{处理测试值}}{\text{对照测试值}} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.2 镉敏感系数标准化处理

$$X_i = (X_i - \bar{X})/S \quad (2)$$

式中 X_i 为标准化后的各指标值, X_i 为实际各指标值, \bar{X} 为算数平均值, S 为标准差。

1.3.3 隶属函数值

$$U(Z_{ij}) = \frac{Z_{ij} - Z_{j\min}}{Z_{j\max} - Z_{j\min}} \quad (3)$$

式中的 $U(Z_{ij})$ 为第*i*个砧木的第*j*个综合指标隶属函数值, Z_{ij} 为第*i*个砧木的第*j*个综合指标得分; $Z_{j\max}$ 和 $Z_{j\min}$ 为第*j*个综合指标得分的最大值和最小值。

1.3.4 权重

$$W_j = P_j / \sum_{j=1}^n P_j \quad (4)$$

式中, W_j 表示第*j*个公因子在所有公因子中所占的重要程度, P_j 表示第*j*个公因子的贡献率。

1.3.5 综合评价值

$$D = \sum_{i=1, j=1}^n [U(Z_{ij}) \times W_j] \quad (5)$$

式中, D 值为依据隶属函数值和权重计算得到的耐镉性综合评价值。

2 实验结果

2.1 镉对苹果砧木根长、鲜重和干重的影响

由表1可知, 镉处理下六种苹果砧木的根长、鲜重和干重均不同程度下降。其中, 新疆野苹果的下降幅度最大, 根长、鲜重和干重的下降幅度分别为37.89%、38.56%和44.59%; 小金海棠根长的下降幅度仅次于新疆野苹果, 为29.25%; 平邑甜茶的鲜重和崂山柰子的干重下降幅度也仅低于新疆野苹果, 分别为31.32%和35.98%; 八棱海棠根长和鲜重的下降幅度最低; 山定子干重的下降幅度最低。因此, 以形态指标表征的六种苹果砧木耐镉能力来看新疆野苹果的耐镉性最差, 八棱海棠的耐镉性最好。

2.2 镉对苹果砧木根系活力的影响

由图1可知, 在镉处理下, 六种苹果砧木根系

表1 镉处理对苹果砧木幼苗形态指标的影响

Table 1 Effect of cadmium treatment on morphological indexes of apple rootstock seedlings

种	根长			鲜重			干重		
	对照/cm	镉处理/cm	变幅/%	对照/g (FW)	镉处理/g (FW)	变幅/%	对照/g (DW)	镉处理/g (DW)	变幅/%
小金海棠	215.56 ^a	152.51 ^b	-29.25	2.40 ^a	1.76 ^b	-26.87	0.91 ^a	0.63 ^b	-31.46
新疆野苹果	257.02 ^a	159.64 ^b	-37.89	2.21 ^a	1.36 ^b	-38.56	0.83 ^a	0.46 ^b	-44.59
崂山柰子	381.04 ^a	294.15 ^b	-22.80	2.28 ^a	1.60 ^b	-29.85	0.78 ^a	0.50 ^b	-35.98
八棱海棠	330.28 ^a	300.46 ^a	-9.03	2.10 ^a	1.85 ^a	-12.26	0.99 ^a	0.89 ^a	-10.79
山定子	317.77 ^a	280.43 ^a	-11.75	1.68 ^a	1.44 ^b	-14.43	0.63 ^a	0.57 ^a	-9.03
平邑甜茶	146.12 ^a	115.04 ^b	-21.27	1.24 ^a	0.85 ^b	-31.32	0.67 ^a	0.59 ^a	-12.13

对照和处理数值后用小写字母标识表示在0.01水平上差异显著, 下表同。

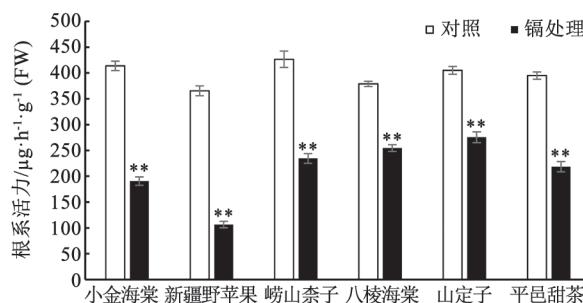


图1 镉处理对六种苹果砧木根系活力的影响

Fig.1 Effect of cadmium treatment on root activities of six apple rootstocks

处理柱形上用**标识表示与对照相比在0.01水平上差异显著，下图同。

活力都显著下降。与对照相比，小金海棠幼苗根系活力下降53.91%，新疆野苹果下降70.86%，崂山柰子下降45.00%，八棱海棠下降32.83%，山定子下降31.99%，平邑甜茶下降44.67%。根系活力下降幅度越大，说明根系受伤害越严重，耐镉性能越差。因此，以根系活力表征的六种苹果砧木耐镉能力由高到低依次是山定子、八棱海棠、平邑甜茶、崂山柰子、小金海棠、新疆野苹果。

2.3 镉对苹果砧木根系细胞相对死亡率的影响

图2显示，六种苹果砧木的根系细胞死亡率在镉处理后都显著提高。与对照相比，小金海棠的根系细胞死亡率提高65.36%，新疆野苹果提高78.11%，崂山柰子提高62.40%，八棱海棠提高24.14%，山定子提高29.92%，平邑甜茶提高37.39%。镉处理后细胞死亡率提高幅度越大，表明植株受镉伤害的程度越大，对镉耐受能力也越低。因此，根据根系细

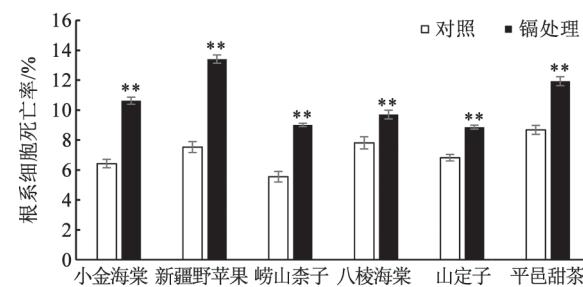


图2 镉处理对六种苹果砧木根系细胞死亡率的影响

Fig.2 Effect of cadmium treatment on root cell mortalities of six apple rootstocks

胞死亡率提高幅度可知，六种苹果砧木耐镉能力由高到低依次是八棱海棠、山定子、平邑甜茶、崂山柰子、小金海棠、新疆野苹果。

2.4 镉对苹果砧木幼苗根系MDA含量以及POD和SOD活性的影响

由表2可知，六种苹果砧木幼苗根系的MDA含量在镉胁迫下都显著提高。与对照相比，小金海棠MDA含量提高15.82%，新疆野苹果提高126.94%，崂山柰子提高28.13%，八棱海棠提高22.38%，山定子提高47.06%，平邑甜茶提高51.68%。MDA含量提高幅度越大，细胞膜受到的氧化伤害越大，植株耐镉性越差，根据MDA含量变化可知，六种苹果砧木耐镉能力由高到低依次是小金海棠、八棱海棠、崂山柰子、山定子、平邑甜茶、新疆野苹果。

表2显示，镉处理后四种砧木的POD活性显著提高，其中八棱海棠提高幅度最大，比对照提高了58.92%，新疆野苹果提高了24.99%，平邑甜茶提高14.31%。表2还显示，六种苹果砧木的SOD活性在镉

表2 镉对苹果砧木幼苗根系MDA含量、POD活性和SOD活性的影响

Table 2 Effect of cadmium on MDA content, POD activity and SOD activity in apple rootstock roots

种	MDA含量			POD活性			SOD活性		
	对照/ μmol·g⁻¹ (FW)	镉处理/ μmol·g⁻¹ (FW)	变幅/%	对照/ U·mg⁻¹ (FW)	镉处理/ U·mg⁻¹ (FW)	变幅/%	对照/ U·mg⁻¹ (FW)	镉处理/ U·mg⁻¹ (FW)	变幅/%
小金海棠	68.18 ^b	78.96 ^a	15.82	68.64 ^a	66.99 ^a	-2.41	122.33 ^b	152.23 ^a	24.45
新疆野苹果	68.29 ^b	154.99 ^a	126.94	60.53 ^b	75.65 ^a	24.99	62.93 ^b	95.28 ^a	51.40
崂山柰子	28.40 ^b	36.40 ^a	28.13	68.09 ^a	66.77 ^a	-1.95	59.61 ^b	102.18 ^a	71.41
八棱海棠	55.54 ^b	67.98 ^a	22.38	71.53 ^b	113.67 ^a	58.92	105.18 ^b	215.30 ^a	104.69
山定子	25.88 ^b	38.06 ^a	47.06	73.40 ^a	76.01 ^a	3.57	91.75 ^b	149.03 ^a	62.43
平邑甜茶	25.88 ^b	39.26 ^a	51.68	60.68 ^b	69.37 ^a	14.31	110.43 ^b	141.67 ^a	28.29

处理下均显著高于对照,其中小金海棠高出24.45%,新疆野苹果高出54.40%,崂山柰子高出71.41%,八棱海棠高出104.69%,山定子高出62.43%,平邑甜茶高出28.29%。SOD活性提高幅度由高到低依次是八棱海棠、崂山柰子、山定子、新疆野苹果、平邑甜茶、小金海棠。

2.5 镉对苹果砧木叶片H₂O₂含量及叶绿素相对含量的影响

镉胁迫产生的过量H₂O₂若未及时清除,可通过Haber-Weiss反应和Fenton反应产生·OH,破坏力会更强,损害细胞结构,逐渐破坏细胞功能。由表3可知,镉处理显著提高了六种砧木叶片H₂O₂含量,与对照相比,小金海棠叶片H₂O₂含量提高77.11%,新疆野苹果提高169.62%,崂山柰子提高109.67%,八棱海棠提高44.34%,山定子提高23.49%,平邑甜茶提高126.86%,提高幅度从低到高依次是山定子>八棱海棠>小金海棠>崂山柰子>平邑甜茶>新疆野苹果。

叶绿素含量下降也是植物受到伤害的重要表现,镉处理显著降低了小金海棠、新疆野苹果、崂山柰子和平邑甜茶的叶绿素相对含量,其中崂山柰子下降幅度最大。

2.6 苹果砧木的镉敏感系数

利用式(1)求得苹果砧木各指标的镉敏感系数(表4),该表显示,根系活力的镉敏感系数山定子最高,新疆野苹果最低;根系细胞死亡率和MDA含量的镉敏感系数新疆野苹果最高,八棱海棠最低;根系POD和SOD活性的镉敏感系数均是八棱海棠最高,小金海棠最低;叶片H₂O₂含量的镉敏感系数新疆野苹果最高,山定子最低;叶绿素相对含量的镉敏感系数八棱海棠最高,崂山柰子最低;根长、鲜重和干重的镉敏感系数八棱海棠最高,新疆野苹果最低。镉敏感系数反映了植株对胁迫的敏感程度,而敏感程度与植株的适应性即对胁迫的忍耐性密切关联,但是六种砧木各指标镉敏感系数的大小不尽相同。而且前述部分根据各单项指标所

表3 镉对苹果砧木叶片H₂O₂含量及叶绿素相对含量的影响

Table 3 Effect of cadmium on H₂O₂ content and relative chlorophyll content in apple rootstock leaves

种	叶片H ₂ O ₂ 含量			叶绿素相对含量		
	对照/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	镉处理/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	变幅/%	对照/%	镉处理/%	变幅/%
小金海棠	18.99 ^b	33.63 ^a	77.11	46.94 ^a	42.97 ^b	-8.46
新疆野苹果	13.98 ^b	37.70 ^a	169.62	40.71 ^a	35.47 ^b	-12.88
崂山柰子	16.27 ^b	34.11 ^a	109.67	56.85 ^a	47.77 ^b	-15.98
八棱海棠	10.09 ^b	14.57 ^a	44.34	43.21 ^a	42.10 ^a	-2.56
山定子	14.09 ^b	17.40 ^a	23.49	47.07 ^a	45.65 ^a	-3.03
平邑甜茶	5.35 ^b	12.15 ^a	126.86	36.76 ^a	32.30 ^b	-12.13

表4 苹果砧木生理生化指标的镉敏感系数

Table 4 Cadmium coefficients of physiological and biochemical indexes of apple rootstocks

指标	小金海棠	新疆野苹果	崂山柰子	八棱海棠	山定子	平邑甜茶
根系活力	46.09	29.14	55.00	67.17	68.01	47.73
根系细胞死亡率	165.36	178.11	162.40	124.14	129.92	137.39
MDA含量	135.82	226.94	128.13	121.82	147.06	151.68
POD活性	97.59	124.99	98.05	158.92	103.57	114.31
SOD活性	124.45	151.40	171.41	204.69	162.43	128.29
H ₂ O ₂ 含量	177.11	269.35	209.67	144.34	123.49	226.86
叶绿素相对含量	91.54	87.12	84.02	98.21	96.97	87.87
根长	70.75	62.11	77.20	90.97	88.25	78.73
鲜重	73.13	61.44	70.15	87.74	85.57	68.68
干重	68.54	57.41	73.02	91.30	88.21	75.87

进行的六种苹果砧木耐镉能力排序并不一致, 说明用单一指标评价各砧木耐镉性存在片面性, 需要将各指标的变化综合起来分析。

2.7 苹果砧木耐镉性能的综合评价

2.7.1 各指标敏感系数主成分分析

对六种苹果砧木10个单项指标的敏感系数进行主成分分析得到表5, 由该表可知, 第1主成分的贡献率为72.027%, 第2主成分的贡献率为14.422%, 前2项主成分的累计贡献率已达到86.449%, 因此, 可以用这2个主成分作为反映苹果砧木敏感性的2个综合指标。第1主成分中贡献率最大的是干重、鲜重、根长和根系活力的敏感系数; 第2主成分中贡献率最大的是根系POD的敏感系数, 其次为SOD活性的敏感系数。

2.7.2 六种苹果砧木耐镉性综合评价值

对根系活力、根系细胞死亡率、根系MDA含量、POD活性、SOD活性、叶片H₂O₂含量和叶绿素相对含量的敏感系数根据公式(2)进行标准化后, 依次用 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 、 X_7 、 X_8 、 X_9 和 X_{10} 表示, 并用 Z_1 、 Z_2 分别代表上述2个综合指标的得分, 根据各指标在主成分中的特征向量(表5), 可得到2个综合指标的得分方程:

$$Z_1=0.134X_1-0.126X_2-0.100X_3+0.055X_4+0.088X_5-0.126X_6+0.114X_7+0.135X_8+0.136X_9+0.137X_{10}$$

$$Z_2=-0.136X_1-0.02X_2+0.329X_3+0.606X_4+0.381X_5+0.187X_6+0.126X_7-0.034X_8-0.012X_9-0.028X_{10}$$

由该方程求出每个砧木的2个综合指标得分值(Z_1 和 Z_2), 根据综合指标得分值, 由公式(3)算出6个苹果砧木综合指标的隶属函数值(U_1 和 U_2), 再由2个综合指标的贡献率(分别为72.027%、14.422%), 根据公式(4)算出2个主成分的权重(W_1 和 W_2 分别为

表5 各指标主成分的特征向量及累计贡献率

Table 5 Eigenvectors and cumulative contribution rates of principal components

指标	第1主成分	第2主成分
根系活力	0.134	-0.136
根系细胞死亡率	-0.126	-0.022
MDA含量	-0.100	0.329
POD活性	0.055	0.606
SOD活性	0.088	0.381
叶片H ₂ O ₂ 含量	-0.126	0.187
叶绿素相对含量	0.114	0.126
根长	0.135	-0.034
鲜重	0.136	-0.012
干重	0.137	-0.028
方差贡献率/%	72.027	14.422
累积贡献率/%	72.027	86.449

83.317%和16.683%), 最后利用公式(5)求得各苹果砧木的综合评价值(D), 得表6。

耐镉能力综合评价值(D)是将各指标综合分析后得出, 该值越高表明砧木的耐镉能力越强。由表6可见八棱海棠的 D 值为0.998, 山定子为0.736, 平邑甜茶为0.390, 崂山柰子为0.370, 小金海棠为0.304, 新疆野苹果为0.167, 因此得出六种砧木耐镉性由高到低的顺序为: 八棱海棠>山定子>平邑甜茶>崂山柰子>小金海棠>新疆野苹果。

3 讨论

不同的植物种类和品种在重金属镉胁迫下会产生不同的反应(黄运湘等2011; Hartke等2013; 肖旭峰等2017), 六种苹果砧木各指标在镉处理下的不同表现取决于它们对镉伤害的耐性。在水培溶液中进行镉处理, 根系最先受到影响(刘媛等

表6 六种苹果砧木各综合指标得分值、隶属函数值及综合评价值

Table 6 Composite indicators, membership function values and comprehensive evaluation values of six apple rootstocks

	小金海棠	新疆野苹果	崂山柰子	八棱海棠	山定子	平邑甜茶
Z_1	-0.386	-1.395	-0.264	1.367	0.948	-0.270
Z_2	-0.995	1.270	-0.609	1.249	-0.604	-0.311
U_1	0.365	0	0.410	1	0.848	0.408
U_2	0	1	0.171	0.991	0.173	0.302
D	0.304	0.167	0.370	0.998	0.736	0.390

2016; 陈瑛等2009; 何俊瑜等2011), 大量镉积累在根系中, 直接影响细胞的分裂和生长, 导致根系生长受到抑制、根系活力降低。在镉处理下, 六种苹果砧木根系活力都显著下降, 根系细胞死亡率均显著提高, 其中新疆野苹果根系活力下降程度和根系细胞死亡率提高程度均最大。根系活力是根系生命力旺盛的反映, 根系细胞死亡率则是生命力衰竭的表现, 从根系生命力可见, 新疆野苹果最容易受到镉胁迫伤害, 亦即它的耐镉能力最差, 综合评价值(D)也是这一结果, 而且主成分分析确定的第1主成分的作用主要由根系活力贡献, 可见反映根系生命力的指标能够更好地体现植株对胁迫的忍耐性。

植物在镉胁迫下会积累活性氧, 活性氧使细胞膜受到氧化伤害, 但在轻度胁迫情况下, 植物细胞通过抗氧化酶系统来清除活性氧, 从而减轻逆境对植物细胞膜的伤害; 如果镉胁迫加重, O_2^- 和 H_2O_2 等活性氧大量积累, 膜脂质过氧化作用加强, 会造成MDA含量大量升高(陈晶等2016; 陈爱葵等2013)。在本试验中, 镉胁迫使六种基因型砧木的MDA含量均显著升高, 但各砧木的升高程度呈现差异, 表明不同苹果砧木细胞膜系统受到镉胁迫伤害的程度各不相同, 亦即耐镉性能存在差异。

植物耐镉性是一个复杂的生物性状(He等2013; Xin等2013)。镉胁迫下植物内发生一系列的不同程度的生理形态变化, 反映这些变化的指标也从不同层面反映了植物耐镉能力的高低(陈瑛等2009)。本研究所测干重、鲜重、根长、MDA含量、SOD活性、POD活性、根系细胞死亡数、根系活力、叶片过氧化氢含量、叶绿素相对含量在各胁迫下均有变化, 它们相对于对照的变化程度(敏感系数)均可从各自角度反映植株对镉胁迫的忍耐或适应性。但植物最终显示的耐镉性能是多种生理生化反应和细胞学效益的综合体现, 所测单一指标只能反映植物耐镉性能的一个侧面的, 而根据侧面的结果比较不同砧木的耐镉能力会出现偏差甚至错误。主成分分析可将多个指标综合测评后合并成少数几个综合指标(主成分), 并且可以根据贡献率确定出各综合指标的权重。本研究通过主成分分析将原来10个单项指标转换为2个相互独立的综合

指标, 第1主成分由干重、鲜重、根长和根系活力为主导, 第2主成分中由根系POD、SOD活性和MDA含量为主导。干重、鲜重和根长是直观的形态学指标, 直接表现出各砧木在镉胁迫下生长能力; 根系活力是根系生命力的直接体现指标, 不仅反映了植物根系与其所处环境之间的动态关系, 根的活力水平及其生长情况也直接影响地上部的营养状况及产量水平, 因此, 用这几个指标可以代表第1主成分来评价不同苹果基因型的耐镉性。MDA作为植物体内膜脂过氧化的最终产物, 其含量水平通常可反映植株遭受氧化胁迫的程度(陈晶等2016), POD和SOD是植物体活性氧清除系统的重要组成部分, 根系的磨损伤程度和抗氧化能力作为第2主成分来评价耐镉性。然后根据它们的权重并结合隶属函数值求得各苹果砧木的综合评价值, 最后依据综合评价值确定出六种苹果砧木的耐镉性顺序, 更客观地反映了不同砧木之间的差异。

参考文献(References)

- Anjum SA, Tanveer M, Hussain S, et al (2016). Osmoregulation and antioxidant production in maize under combined cadmium and arsenic stress. Environ Sci Pollut Res, 23: 11864–11875
- Chen AK, Wang MY, Liu XH, et al (2013). Research progress on the effect of cadmium on rice and its absorption and tolerance mechanisms. Ecol Sci, 32: 514–522 (in Chinese with English abstract) [陈爱葵, 王茂意, 刘晓海等(2013). 水稻对重金属镉的吸收及耐性机理研究进展. 生态科学, 32: 514–522]
- Chen J, Pang SQ, Zhao XL (2016). Effects of exogenous auxins on growth and antioxidation system in maize seedlings under cadmium stress. Plant Physiol J, 52: 1191–1198 (in Chinese with English abstract) [陈晶, 庞思琪, 赵秀兰(2016). 外源生长素对镉胁迫下玉米幼苗生长及抗氧化系统的影响. 植物生理学报, 52: 1191–1198]
- Chen W, Zhang MM, Song YY, et al (2013). Inhibitory effect of heavy metal stress on the seed germination of four turfgrass types. Acta Arctia Sin, 21: 556–563 (in Chinese with English abstract) [陈伟, 张苗苗, 宋阳阳等(2013). 重金属胁迫对4种草坪草种子萌发的影响. 草地学报, 21: 556–563]
- Chen Y, Li TQ, Yang XE (2009). Effects of Cd on growth characteristics of root systems of pakchoi with different genotypes. Plant Nutr Fert Sci, 15: 170–176 (in Chinese with English abstract) [陈瑛, 李廷强, 杨肖娥(2009). 镉

- 对不同基因型小白菜根系生长特性的影响. 植物营养与肥料学报, 15: 170–176]
- Chi CN, Ding GH (2017). Research progress of the molecular biology in heavy metal tolerance of plant. Biotechnol Bull, 33: 6–11 (in Chinese with English abstract) [迟春宁, 丁国华(2017). 植物耐重金属的分子生物学研究进展. 生物技术通报, 33: 6–11]
- Grembecka M, Szefer P (2013). Comparative assessment of essential and heavy metals in fruits from different geographical origins. Environ Monit Assess, 185: 9139–9160
- Hartke S, da Silva AA, de Moraes MG (2013). Cadmium accumulation in tomato cultivars and its effect on expression of metal transport-related genes. Bull Environ Contam Tox, 90: 227–232
- He J, Ma C, Ma Y, et al (2013). Cadmium tolerance in six poplar species. Environ Sci Pollut Res, 20: 163–174
- He J, Ren Y, Wang Y, et al (2011). Root morphological and physiological responses of rice seedlings with different tolerance to cadmium stress. Acta Ecol Sin, 31: 522–528 (in Chinese with English abstract) [何俊瑜, 任艳芳, 王阳阳等(2011). 不同耐性水稻幼苗根系对镉胁迫的形态及生理响应. 生态学报, 31: 522–528]
- Huang YX, Wang ZK, Yuan H, et al (2011). Physiological responses of soybean (*Glycine max*) to cadmium stress and its tolerance mechanism. J Agro-Environ Sci, 30: 1514–1520 (in Chinese with English abstract) [黄运湘, 王志坤, 袁红等(2011). 大豆对镉胁迫的生理反应及耐镉机理探讨. 农业环境科学学报, 30: 1514–1520]
- Liu Y, Ma WC, Zhang W, et al (2016). Effect of cadmium stress on root vigor and accumulation of elements Ca, Mg, Mn, Zn, Fe in *Salix variegata*. Chin J Appl Ecol, 27: 1109–1115 (in Chinese with English abstract) [刘媛, 马文超, 张雯等(2016). 镉胁迫对秋华柳根系活力及其Ca、Mg、Mn、Zn、Fe积累的影响. 应用生态学报, 27: 1109–1115]
- Pilon M, Cohu CM, Ravet K, et al (2009). Essential transition metal homeostasis in plants. Curr Opin Plant Biol, 12: 347–357
- Savvas D, Ntatsi G, Barouchas P (2013). Impact of grafting and rootstock genotype on cation uptake by cucumber (*Cucumis sativus L.*) exposed to Cd or Ni stress. Sci Hortic, 149: 86–96
- Steffens B, Sauter M (2005). Epidermal cell death in rice is regulated by ethylene, gibberellin, and abscisic acid. Plant Physiol, 139: 713–721
- Xiao X, Xie Q, Cai L, et al (2017). Physiological responses to Cd, Pb pollution and expression analysis of antioxidative genes in celery. J Nucl Agr Sci, 31: 1864–1871 [肖旭峰, 解庆娓, 蔡玲等(2017). 芹菜对镉、铅胁迫的生理响应及抗氧化酶基因表达特性分析. 核农学报, 31: 1864–1871]
- Xin J, Huang B, Yang J, et al (2013). Role of roots in cadmium accumulation of two water spinach cultivars: reciprocal grafting and histochemical experiments. Plant Soil, 366: 425–432
- Yang JW, Zhu JG, Wang SG, et al (2013). Drought-resistance of local wheat varieties in Shanxi Province of China: a comprehensive evaluation by using GGE biplot and subordinate function. Chin J Appl Ecol, 24: 1031–1038 (in Chinese with English abstract) [杨进文, 朱俊刚, 王曙光等(2013). 用GGE双标图及隶属函数综合分析山西小麦地方品种抗旱性. 应用生态学报, 24: 1031–1038]
- Zhao S, Shi G, Dong X (2002). Plant Physiology Experimental Guide. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press (in Chinese) [赵世杰, 史国安, 董新纯(2002). 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科学技术出版社]
- Zhou J, Wan H, Qin S, et al (2016). Net cadmium flux and gene expression in relation to differences in cadmium accumulation and translocation in four apple rootstocks. Environ Exp Bot, 130: 95–105

Evaluation of cadmium tolerance for apple rootstocks based on index comprehensive analysis

YUE Song-Qing, CAO Hui, XUN Mi, ZHANG Wei-Wei*, YANG Hong-Qiang*

College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, State Key Laboratory of Crop Biology, Taian, Shandong 271018, China

Abstract: The seedlings of six apple (*Malus xiaojinensis*, *M. sieversii*, *M. prunifolia*, *M. × robusta*, *M. baccata* and *M. hupehensis* var. *pingyiensis*) rootstocks were used as the materials. After cadmium treatment, root length, fresh weight, dry weight, root activity, cell death rate, malonaldehyde (MDA) content, and activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in roots were detected. Hydrogen peroxide (H_2O_2) content and relative chlorophyll content in leaves were measured. Results show that the extents of root length, fresh weight and root activity declined, the extent of root cell mortality increased, and the increase ranges of MDA and H_2O_2 contents in *M. sieversii* were the highest after cadmium treatment. The increase range of dry weight and the increase extent of H_2O_2 content in *M. baccata* were the lowest. The increase range of MDA in *M. xiaojinensis* was the lowest. The activities of POD and SOD in roots of *M. × robusta* increased more than those in others. The decrease of relative chlorophyll content in *M. prunifolia* was the largest, but the difference between *M. × robusta* and *M. baccata* was not significant. Based on the principal component analysis (PCA), the index of rootstocks was analyzed using membership function. Taken together, the order of cadmium tolerances of six apple rootstocks was as follows: *M. × robusta* > *M. baccata* > *M. hupehensis* var. *pingyiensis* > *M. prunifolia* > *M. xiaojinensis* > *M. sieversii*.

Key words: apple rootstock; root activity; cell mortality; cadmium tolerance; principal component analysis; membership function

Received 2018-12-11 Accepted 2019-04-03

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31772251 and 31801838), and the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2018ZC08N3 and ZR2017BC024).

*Co-corresponding authors: Zhang WW (zhangww@sdau.edu.cn), Yang HQ (hqyang@sdau.edu.cn).